

学位論文 博士（工学）

糖質系界面活性剤/水混合系の  
低温下での挙動に関する研究

平成 21 年度

慶應義塾大学大学院理工学研究科

小河 重三郎

# <<目次>>

略号.....	v
<b>第1章 序章.....</b>	<b>1</b>
1-1 工業製品としての糖質系界面活性剤.....	1
1-1-1 糖質系界面活性剤の起源-フィッシャーのグルコシル化-	1
1-1-2 ソルビタンエステル系.....	2
1-1-3 ショ糖脂肪酸エステル系.....	2
1-1-4 アルキルポリグリコシド系.....	3
1-1-5 その他の糖質系界面活性剤-バイオサーファクタント-	4
1-2 糖質系界面活性剤/水混合系における相挙動.....	5
1-2-1 液晶 (Liquid crystal).....	5
1-2-2 サーモトロピック液晶 (Thermotropic liquid crystal).....	5
1-2-3 リオトロピック液晶 (Lyotropic liquid crystal).....	7
1-2-4 エマルション (Emulsion).....	10
1-3 低温下における糖質系界面活性剤挙動に関する研究の現状.....	11
1-3-1 サーモトロピック液晶相の低温下での挙動に関する既存報告.....	11
1-3-2 リオトロピック液晶相の低温下での挙動に関する既存報告.....	12
1-3-3 W/O エマルションの低温下での挙動に関する既存報告.....	13
1-3-4 糖質系界面活性剤の水溶液の凍結を伴う中での用途開発研究.....	14
1-4 本論文の研究内容.....	15
<b>第2章 Alkyl <math>\beta</math>-D-glucoside のガラス転移挙動に与える疎水鎖長効果.....</b>	<b>17</b>
2-1 緒言.....	17
2-1-1 ガラス.....	17
2-1-2 ガラス転移.....	18
2-1-3 ガラスの緩和.....	19
2-1-4 液晶ガラス (ガラス性液晶).....	19
2-1-5 Alkyl glycoside 系化合物のガラス形成.....	20
2-1-6 本章の目的.....	23
2-2 試薬・機器・試料作製.....	24
2-2-1 試薬.....	24
2-2-2 機器.....	24
2-2-3 試料作製.....	25
2-3 結果・考察.....	28

2-3-1 Alkyl $\beta$ -D-glucoside (CnGlu) の水和物形成 .....	28
2-3-2 無水 CnGlu 結晶の融解挙動 .....	30
2-3-3 無水 CnGlu のガラス転移挙動 .....	33
2-3-4 偏光顕微鏡 (POM) による無水 CnGlu の相転移挙動の観察 .....	38
2-3-5 XRD 測定による CnGlu の過冷却 SmA 相の構造解析 .....	42
2-3-6 CnGlu の液晶相について .....	46
2-4 結論 .....	48
<b>第3章 Octyl <math>\beta</math>-D-glucoside/水混合物系および octyl <math>\beta</math>-D-thioglucoside /水混合物系のガラス転移挙動 .....</b>	<b>49</b>
3-1 緒言 .....	49
3-1-1 多成分系におけるガラス転移挙動 .....	49
3-1-2 混合物の $T_g$ 予測モデル .....	50
3-1-3 Couchman-Karasz の式 .....	51
3-1-4 水溶液系における $T_g$ 予測の実際 .....	54
3-1-5 界面活性剤を含む多成分系のガラス転移挙動 .....	55
3-1-6 本章の目的 .....	56
3-2 試薬・機器・試料作製 .....	58
3-2-1 試薬 .....	58
3-2-2 機器 .....	58
3-2-3 試料作製 .....	59
3-3 結果・考察 .....	61
3-3-1 C8Glu/水混合物と C8SGlu/水混合物の熱挙動 .....	61
3-3-2 侵入法より作製した試料の昇温下顕微鏡観察 .....	65
3-3-3 $T_g$ 曲線を伴う相平衡図 .....	66
3-3-4 $\Delta C_p$ 挙動におよぼす濃度変化の影響 .....	71
3-4 結論 .....	79
<b>第4章 NaCl 水溶液の凍結融解過程における糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果 .....</b>	<b>81</b>
4-1 緒言 .....	81
4-1-1 相図における共晶形成 .....	81
4-1-1-1 相図 .....	81
4-1-1-2 相図の型 .....	82
4-1-1-3 共晶凝固 .....	84
4-1-1-4 水溶液系における共晶形成 .....	85
4-1-2 生化学分野における共晶形成 .....	87
4-1-2-1 共晶形成による生体組織の損傷 .....	87

4-1-2-2 種々の添加物による共晶形成抑制効果.....	87
4-1-3 本章の目的.....	89
4-2 試薬・機器・試料作製.....	91
4-2-1 試薬.....	91
4-2-2 機器.....	92
4-2-3 試料作製.....	93
4-3 結果・考察.....	94
4-3-1 NaCl 水溶液の凍結融解過程における熱挙動解析.....	94
4-3-2 DSC による糖質系界面活性剤/NaCl 水溶液の凍結融解挙動の分類.....	98
4-3-3 共晶形成抑制挙動と脱ガラス化挙動についての XRD-DSC 同時測定解析.....	100
4-3-4 糖質系界面活性剤 / NaCl 水溶液の融解エンタルピーについての挙動解析.....	104
4-3-5 共晶形成に伴う凍結濃縮挙動解析.....	107
4-3-6 糖質構造の共晶形成抑制効果への影響.....	113
4-3-7 疎水鎖効果の検討.....	115
4-4 結論.....	122
<b>第5章 糖質系界面活性剤が形成する W/O エマルションにおける種々のポリマー水溶液の 氷核生成挙動の検討</b> .....	<b>123</b>
5-1 緒言.....	123
5-1-1 過冷却水溶液における氷核生成.....	123
5-1-2 均質核生成.....	124
5-1-3 不均質核生成.....	126
5-1-4 体積依存核生成と界面依存核生成.....	127
5-1-5 液滴サイズの相違に伴う核生成挙動.....	129
5-1-6 水溶液系における核生成温度 $T_n$ と凝固点降下 $\Delta T_m$ の関係.....	129
5-1-7 エマルション法.....	131
5-1-8 本章の目的.....	132
5-2 試薬・機器・試料作製.....	134
5-2-1 試薬.....	134
5-2-2 機器.....	135
5-2-3 試料作製.....	136
5-3 結果・考察.....	138
5-3-1 エマルション液滴の粒子径制御.....	138
5-3-2 純水の核生成挙動.....	141
5-3-3 種々のポリマー水溶液の核生成温度 ( $T_n$ ) 挙動.....	141
5-3-4 PVA 水溶液の核生成挙動に与える分子量効果の検討.....	142
5-3-5 Bigg の経験式を用いた PVA 水溶液における $T_n$ 上昇挙動の検討.....	144

5-3-6 氷核生成温度 $T_n$ と凝固点降下 $\Delta T_m$ の関係 .....	148
5-3-7 PVA 水溶液において $T_n$ 上昇をもたらす原因について .....	149
5-4 結論 .....	151
<b>第 6 章 種々の糖質系界面活性剤の合成 .....</b>	<b>153</b>
6-1 緒言 .....	153
6-2 試薬・機器 .....	154
6-2-1 試薬 .....	154
6-2-2 機器 .....	154
6-3 非還元性オリゴ糖を親水部とする両親媒性化合物の合成 .....	155
6-3-1 Raffinose 誘導体の合成 .....	155
6-3-1-1 6"- <i>O</i> -dodecylraffinose の合成 .....	155
6-3-1-2 Raffinose 6"- <i>O</i> -dodecanoate .....	158
6-3-2 Trehalose 誘導体の合成 .....	158
6-3-2-1 6- <i>O</i> -dodecyltrehalose の合成 .....	158
6-3-2-2 Trehalose 6- <i>O</i> -dodecanoate の合成 .....	161
6-3-3 Sucrose 誘導体の合成 .....	162
6-3-3-1 Sucrose 6- <i>O</i> -dodecanoate の合成 .....	162
6-4 Alkyl glycoside の合成 .....	164
6-4-1 Alkyl $\beta$ -D-glucoside の合成 .....	164
6-4-1-1 Ethyl $\beta$ -D-glucoside の合成 .....	164
6-4-1-2 その他の alkyl $\beta$ -D-glucoside の合成 .....	164
6-4-2 Octyl $\alpha$ -D-mannoside の合成 .....	167
6-4-3 Octyl $\beta$ -L-guloside の合成 .....	168
6-4-4 Octyl $\beta$ -D-galactoside の合成 .....	169
<b>第 7 章 総括 (第 2 章~第 6 章) .....</b>	<b>171</b>
<b>参考文献 .....</b>	<b>175</b>
<b>本論文に関する研究発表 .....</b>	<b>189</b>
<b>謝辞 .....</b>	<b>191</b>

## 略号

本論文で用いた略号、化合物、測定法の名称と対応を以下に示す。

Table 1 略号、化合物、装置の名称と対応

略号	名称（英語）	名称（日本語）
CnGlu	Alkyl $\beta$ -D-glucoside	アルキル $\beta$ -D-グルコシド
C8Glu	Octyl $\beta$ -D-glucoside	オクチル $\beta$ -D-グルコシド
C8SGlu	Octyl $\beta$ -D-thiogluconide	オクチル $\beta$ -D-チオグルコシド
C12Raf	6''- <i>O</i> -dodecylraffinose	6''- <i>O</i> -ドデシルラフィノース
C12Suc	Sucrose 6- <i>O</i> -dodecanoate	スクロース 6- <i>O</i> -ドデカノエイト
PVA	Polyvinyl alcohol	ポリビニルアルコール
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PVP	Polyvinyl pyrrolidone	ポリビニルピロリドン
DX	Dextran	デキストラン
Span 65	Sorbitan tristearate	ソルビタントリステアレート
DSC	Differential scanning calorimeter	示差走査熱量計
POM	Polarizing optical microscopy	偏光顕微鏡
DTG	Simultaneous DTA-TG measurement	示差熱・熱重量同時測定
DTA	Differential thermal analysis	示差熱分析
TG	Thermogravimetry	熱重量測定
XRD-DSC	Simultaneous XRD-DSC measurement	X線回折-DSC同時測定
NMR	Nuclear magnetic resonances	核磁気共鳴分光法
$T_g$	Glass transition temperature	ガラス転移温度
$T_m$	Melting point	融点
$T_c$	Clearing point	透明点
$T_n$	Nucleation temperature	核生成温度
$\Delta F$	Heat flow change	熱流量変化
$\Delta C_p$	Heat capacity change	比熱変化
SmA	Smectic A phase	スメクチック A 相
C-K equation	Couchman-Karasz equation	—
W/O	Water in Oil	油中水分散型

# 第1章

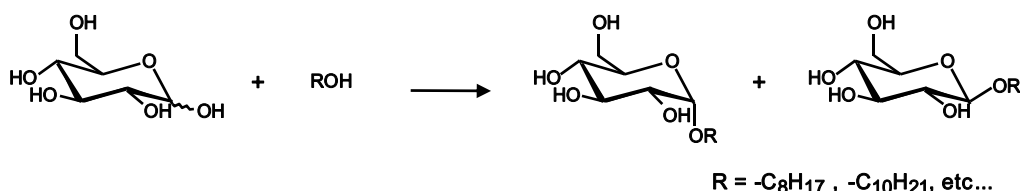
## 序章

### 1-1 工業製品としての糖質系界面活性剤

#### 1-1-1 糖質系界面活性剤の起源—フィッシャーのグルコシル化—

Emil Fischer によりアルキルグルコシドが初めて合成され、その構造が認められてから既に 100 年以上が経過している (Scheme 1-1)。<sup>[1]</sup> 廉価な糖質 (炭水化物) を親水部に持つ界面活性剤は、糖質系界面活性剤とよばれ現在では工業規模で生産されている。<sup>[2-6]</sup>

工業規模で使用される糖質系界面活性剤の種類はまだ数える程であるが、それらは一般に非イオン性で、低毒性、高い生分解性、そして他の成分とも容易に混合できるなどの特性を兼ね揃えていることから、乳化剤、乳化安定剤、分散剤、難溶性物質の溶解助剤、吸収助剤、食用乳化剤、リンス剤、防曇剤、可溶化剤、洗浄剤、起泡剤、消包剤、抗菌剤、結晶調整剤、滑沢剤、サイズ向上剤など多様な用途で使用されている。<sup>[2-6]</sup>



Scheme 1-1 フィッシャーのグルコシル化.

工業規模で使用されている糖質系界面活性剤は現在のところ何れも化学合成品であり、ソルビタンエステル系、シヨ糖脂肪酸エステル系、脂肪酸グルコアミド系、アルキルポリグリコシド系に大別される。<sup>[2,5]</sup> 近年ではヘミセルロースやイヌリンを原料とする糖質系界面活性剤も工業規模での使用が試みられている。<sup>[2]</sup> 以下、本論文に関係するソルビタンエステル系、シヨ糖脂肪酸エステル系、アルキルポリグリコシド系、そしてその他バイオサーファクタントなどについて取り上げ、簡単に説明する。

### 1-1-2 ソルビタンエステル系

1945年、Span という商品名で開発されたソルビタンエステルは、原材料であるソルビトールを酸存在下において脱水することで1,4-ソルビタンとし、その後、塩基触媒を用いて脂肪酸を導入することで合成される界面活性剤である (Figure 1-1 (a))。[6] しかし、この状態のソルビタンエステルは親水性・親油性バランス (HLB) を1~8とする疎水性材料であるため、親水性向上のため、しばしばエチレンオキシドと反応させ高い HLB (10~17) の polyethylene glycol sorbitan fatty acid ester (polysorbate) へと改質される (Figure 1-1 (b))。[2,5] ソルビタンエステルは主に薬剤、食品、化粧品、農薬などの乳化剤、または乳化重合において用いられ、工業生産量はここ数年の間年20,000トン程度の成熟した製品である。[2,5]

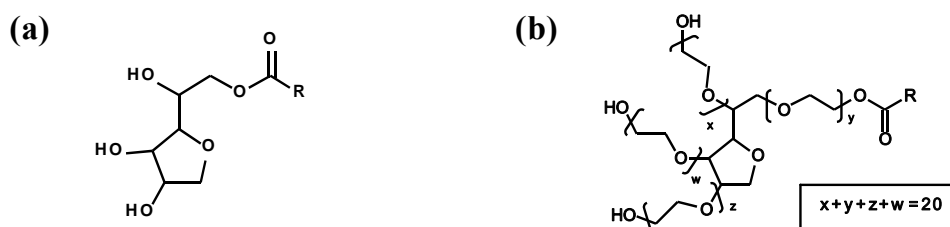


Figure 1-1 (a) 1,4-Sorbitan mono ester の構造。(b) Polysorbate の構造。

### 1-1-3 ショ糖脂肪酸エステル系

1950年代に数多くの研究がなされたシュガーエステルは、1960年代初頭において工業規模での生産が開始した。[7] そして、ショ糖脂肪酸エステルは皮膚に対して温和な特性を有し、また糖質と脂肪酸といった完全なる天然材料で構成されることから、食品や化粧品の賦形剤 (取扱いあるいは成形の向上や服用を便利にするために加える添加剤) として長い間、重要な地位で存在していた。[2] 一般的にはスクロースを dimethyl formamide (DMF) や dimethyl sulfoxide (DMSO) 中に溶解させ、塩基触媒を用いエステル交換反応させることで合成されるが、DMF や DMSO が残存することから複雑な精製過程が必要となる。そのため、より良い製造方法については数多く検討されているが[2-5, 7, 8]、基本的に精製段階においてなんらかの困難が生じていることが報告されている。[2] 比較的近年では、無溶媒および無水系での合成法も検討されている。[2, 5, 7, 8] ショ糖脂肪酸エステルの年間生産量は1992年で1,000トン、2000年で4,000トン、そして近年では10,000トンと、着実に上昇している。[2, 5, 8]

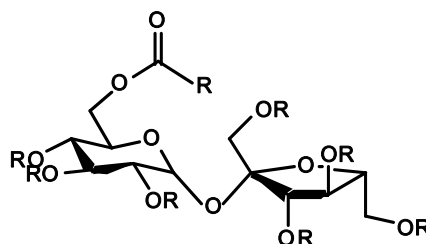


Figure 1-2 Sucrose fatty acid ester の構造。



## 1-1-4 アルキルポリグリコシド系

### ・アルキルポリグリコシド

アルキルポリグリコシドは酸触媒下の大過剰(2-6倍)の脂肪アルコール中で、100-120℃での減圧下において水を留去しながらグルコースのアセタール化を行うことで合成される。その結果、得られる製品は1~3置換体として得られ、アノマー炭素との結合部位では $\alpha$ 結合および $\beta$ 結合から構成される多様な混合物となる(Figure 1-3 (a))。[2,5] そのため、この混合物は総じてアルキルポリグリコシドと呼ばれる。アルキルポリグリコシドの製品特性はアルキル鎖長とグルコースの単位数(重合度: DP)により決定される。

アルキルポリグリコシドは食用乳化剤には用いられないが、[6] 主に化粧品、洗剤、農薬などで使用されており、その製造量は年85,000トンと糖質系界面活性剤の中では最も多い。

[2] この数年間では、5,000トンほどの製造量の増加が見られる。[5]

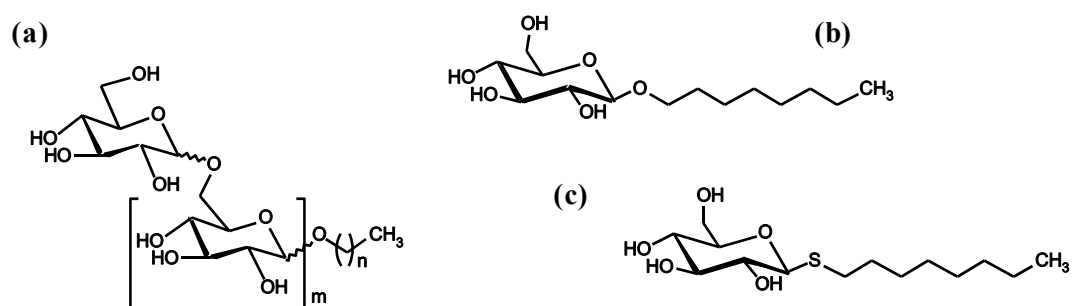


Figure 1-3 (a) Alkyl polyglycoside の構造。(b) Octyl  $\beta$ -D-glucoside の構造。(c) Octyl  $\beta$ -D-thioglucoside の構造。

### ・アルキルグリコシド

工業製品としてのアルキルポリグリコシドは上述したように様々な成分の混合物であるが、生化学用途を始めとした高付加価値(多機能性)を求める研究では、単一の構造を有する化合物の単離が求められ、そして様々な糖質を親水部とする化合物がこれまで数多く合成されている。それらはアルキルグリコシドと総称されるが、糖質ごとにまったく異なる特徴を有するため、アルキルグリコシドの研究は他の系列と比べ特に多様性に富むといえる。

アルキルポリグリコシドに含まれ、また単一の化合物として最も良く研究された化合物が octyl  $\beta$ -D-glucoside である(Figure 1-3 (b))。Octyl  $\beta$ -D-glucoside はタンパク質の高次構造や活性を大きく損なわずして使用できるため、膜タンパク質の可溶化や、結晶化、さらにリポソームの再構成(プロテオミクス)といった生化学用途においてしばしば用いられている。[9-12] また、グルコシド結合部位を酸素(O)から硫黄(S)に変えた octyl  $\beta$ -D-thioglucoside (チオ誘導体)も同じく生化学用途への利用が見られ、界面活性能は octyl  $\beta$ -D-glucoside と

同様であるが、より効果的に用いられる場合があることが多々報告されている。[12,13]

また、単純な直鎖アルコールを疎水鎖とするアルキルグリコシド系界面活性剤に続いて、イソプレノイド型の側鎖を有するアルキルグリコシド系界面活性剤の研究が1990年代の中頃から広まり、現在まですでに数多くの糖質を親水部とする化合物が合成され、その物理化学的挙動や生化学的用途も開拓されてきている。[15] その系列の中で最も単純な構造を持つ3,7-dimethyloctyl  $\beta$ -D-glucosideの構造をFigure 1-4に示す。

イソプレノイド鎖の導入は直鎖アルキルグリコシド系では獲得できなかった、長鎖の疎水鎖を導入したうえでの低温領域における利用を可能としている。従来のアルキルグリコシドは、例えば alkyl  $\beta$ -D-glucoside の場合、C12の疎水鎖長を有した dodecyl  $\beta$ -D-glucoside では、常温付近の温度で結晶化し、一般的な界面活性剤としての機能を失うが、イソプレノイド鎖を疎水鎖とした場合、たとえ長鎖であっても多くの化合物は0  $^{\circ}$ C以下にならないと結晶化しない。これは化合物の分子デザイン戦略が、低温の領域においても長鎖アルキルグリコシドの利用を可能とさせた例である。低温領域での結晶化挙動はFigure 1-14を用いて後述するクラフト点、クラフト境界線が関連する。

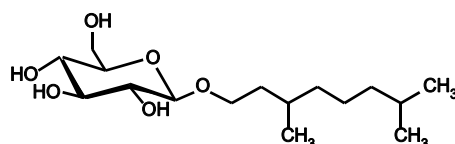


Figure 1-4 3,7-Dimethyloctyl  $\beta$ -D-glucoside の構造。

### 1-1-5 その他の糖質系界面活性剤—バイオサーファクタント—

1960年代の「炭化水素発酵」(石油を原料とする発酵プロセス)の研究に端を発し、菌体外(培地中)に分泌されるバイオサーファクタントは、研究当初、生分解性や安全性に優れた環境低負荷型の界面活性剤として研究が進められた。しかし、現在ではナノテクノロジーやライフサイエンスの分野においてそれらは高度な分子集合体特性と細胞分化誘導などの生理活性を示し、多機能化への道が切り開かれている。近年では、マンノシルエリスリトールリピッド(MEL)とソホロリピッドなどのバイオサーファクタントが酵母によって量産可能となっている(Figure 1-5)。[14]

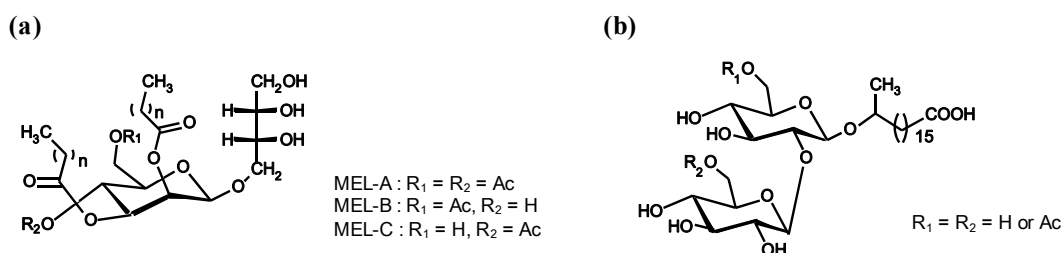


Figure 1-5 (a) Diacylmannosylerythritol lipid (MEL)の構造。(b) Sophorolipid の構造。

## 1-2 糖質系界面活性剤/水混合系における相挙動

### 1-2-1 液晶 (Liquid crystal)

結晶相とも、通常の液体相とも明確に区別され、それらの中間的な状態 (液晶相) をとる物質を総称して液晶と呼ぶ。<sup>[16]</sup> 液晶は液体と同様に流動性を有しているが、分子の配向において秩序があるため、ある種の結晶に見られるような異方性を有する。これらの特性が主として液晶ディスプレイなどにおける光学的用途で用いられることが見出されたため、1974 年代は 5,000 種、1997 年までには 70,000 種の液晶化合物が報告され、近年でも数多くの研究報告が行われている。<sup>[17]</sup>

液晶相の発現は、形成する化合物の種類により大きく二つの要因に分けられ、ひとつは単純な棒状構造を有する化合物の最密充填であり、パッキングの良い状態 (液晶相) を形成する。そしてもう一つが、分子内に両親媒性を有する化合物が形成する "マイクロ相分離" である。<sup>[16]</sup> 多くの界面活性剤は後者により液晶相を形成し、糖質系界面活性剤もその一つである。一般に、界面活性剤単体は結晶相が融解する際に液晶を形成するが、この液晶はサーモトロピック液晶とよばれる。それは温度変化によって構造を変化させる液晶のことである。他方で、溶液中において形成する液晶は、サーモトロピック液晶と対照してリオトロピック液晶とよぶ。リオトロピック液晶は溶液の濃度により、その集合体構造を変化させるため濃度転移型の液晶相の意味を持つ。しかし、多くの場合、リオトロピック液晶も温度変化により構造を変化させるため、サーモトロピック液晶とリオトロピック液晶とは溶媒が存在するかしないかの相違であると理解されている。科学的に特別な意味合いは無くとも、無水状態ではサーモトロピック液晶、溶媒を含んだ系ではリオトロピック液晶に分類され議論が行われる点は注意が必要である。

### 1-2-2 サーモトロピック液晶 (Thermotropic liquid crystal)

無水条件下で形成される糖質系界面活性剤のサーモトロピック液晶の構造は、糖質の親水部と疎水鎖のバランスにより決定される。<sup>[16]</sup> 直鎖アルキル鎖をただ一つ有するアルキルグリコシドのサーモトロピック液晶については 1980 年代から研究が盛んに行われるようになり、多くの化合物がスメクチック A (SmA) 相を形成することが知られている (Figure 1-6)。<sup>[18-24]</sup> SmA 相のモデルとしては、(a) のような炭素鎖がお互いに入り組んだ構造 (interdigitated) を有する SmA<sub>d</sub> 相と、二分子膜のような構造を有する SmA<sub>2</sub> 相が提示されている。\* <sup>[18, 19, 24]</sup> また、SmA 相に分類され、それがらせん構造をもつことに起因すると考えられる現象を示す場合は、キラルスメクチック A 相 (SmA\*) とよばれることがある。

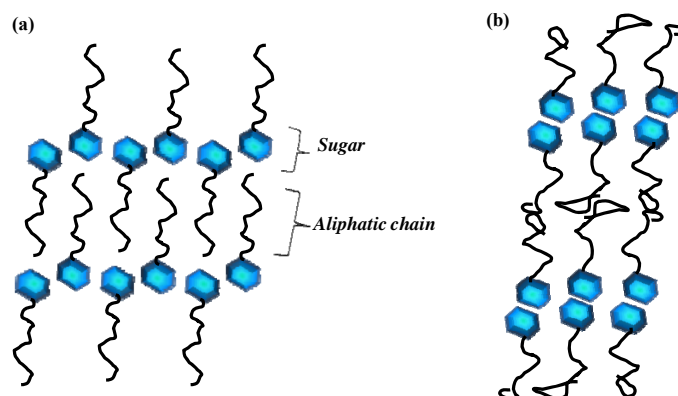
---

\*糖質系界面活性剤の液晶研究について特に精力的に行ってきた Goodby らによれば、ほとんどが(a)の型であると考えられているが、その根拠は単純に親水部の糖質と疎水鎖の交差占有面積において親水部が明らかに大きいという点であった。<sup>[18]</sup> Dorset や Jeffery らは X 線測定の結果から一部の化合物ではモデル(b)が考えられることを提示している。<sup>[19, 24]</sup>

[20, 21] しかし、報告される限り、SmA 相を示す糖質系界面活性剤は総じて SmA\* であるため本論文では SmA 相と同義とする。

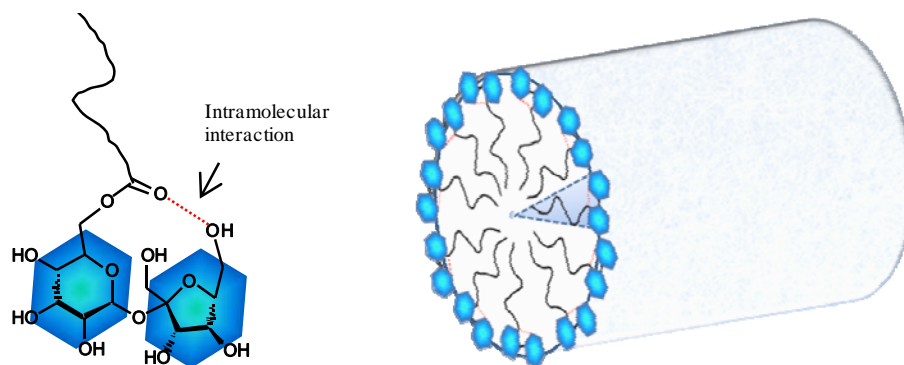
Alkyl  $\beta$ -D-glucoside は疎水鎖の炭素数が C12 程度までであれば SmA 相のみを形成し、dodecyl glucoside (アノマー異性体混合物) でも、glucose 構造のどの位置の水酸基に疎水鎖が導入されていても SmA 相を形成することが知られる。<sup>[16, 20-22]</sup> また、alkyl  $\alpha$ -D-glucoside、dodecyl  $\beta$ -D-maltoside, tetradecyl  $\beta$ -D-lactoside も総じて SmA 相を形成する。<sup>[20-22]</sup> ただし、dodecyl  $\alpha$ -gentiobioside に限ってはキュービック (Q) 相を形成することが認められている。

[20, 21]



**Figure 1-6** 糖質系界面活性剤が形成する典型的なサーモトロピック液晶: (a) SmA<sub>d</sub> 相。 (b) SmA<sub>2</sub> 相。 SmA 相は層状構造を形成することから X 線測定により同定される。<sup>[25]</sup>

一方、シヨ糖脂肪酸エステル of theサーモトロピック液晶相では、アルキルグリコシドでは見られない特異的な挙動を示すことが近年報告されている。シヨ糖脂肪酸エステルは分子内に  $\alpha$ -グルコシド結合を有する二糖であり、それらは複雑な分子内相互作用を形成することにより、親水部の占有面積を増大させ、結果、層状構造の SmA 相ではなく柱状のカラムナー (Col) 相を形成することが近年明らかとなっている (Figure 1-7)。<sup>[20-23]</sup>



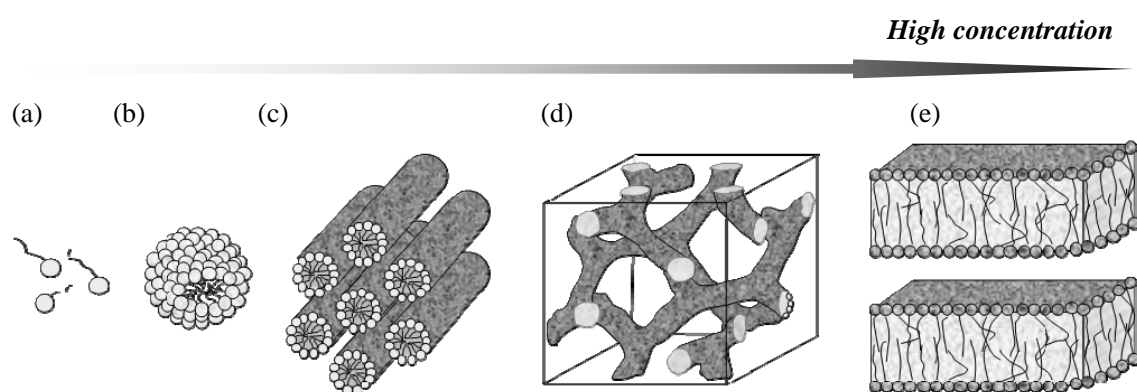
**Figure 1-7** シヨ糖脂肪酸エステルの分子内相互作用に伴う Col 相の出現。

その他チオ誘導体、非環状化合物、フラノシド系化合物、糖セレブロシド、ジアシルグリセロールを疎水鎖とする糖誘導体、古細菌を疎水鎖とする糖誘導体、疎水鎖一つに対し二つの親水部を有する糖誘導体、二置換体のシヨ糖脂肪酸エステルなど枚挙に限りがないほど、糖誘導体のサーモトロピック液晶は広く研究されてきた。[16, 19-23]

### 1-2-3 リオトロピック液晶 (Lyotropic liquid crystal)

温度および濃度により変化するリオトロピック液晶相中で形成される分子集合体構造も、サーモトロピック液晶と同様、糖質の親水部と疎水鎖のバランスに強く影響を受ける。[16] 以下、糖質系界面活性剤/水系のリオトロピック液晶についていくつか説明する。

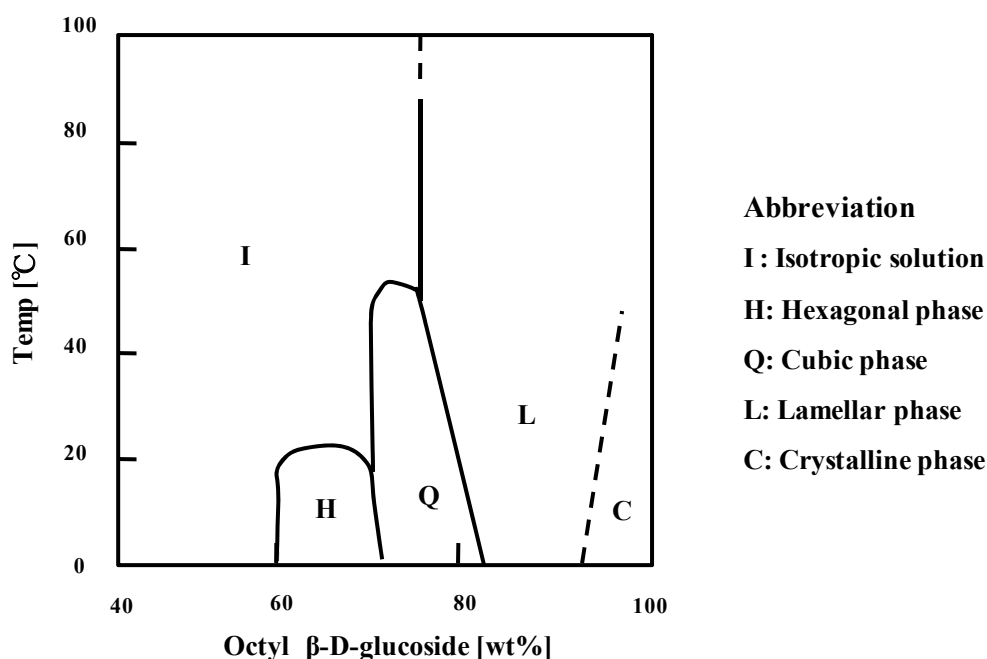
常温において界面活性剤は希薄濃度では単一分子として溶解している (Figure 1-8 (a))。しかし、濃度が臨界ミセル濃度 (cmc : Critical micelle concentration) に相当する濃度となると溶液中における会合が開始し、ミセルを形成する (Figure 1-8 (b))。この cmc では界面活性剤の気-液界面への吸着も飽和に達することから、水溶液の表面張力測定を行うことで cmc は容易に求めることができる。糖質系界面活性剤の cmc も他の界面活性剤の例にもれず疎水鎖に大きく影響を受け、アルキル鎖長が長いほど cmc は低くなる。[26] Alkyl  $\beta$ -D-glucoside を例とするならば、オクチル (C8) からドデシル (C12) まで、炭素数が 2 つ増すごとに cmc は 10 分の一程度まで低下することが報告されている。そして、この cmc は親水部の大きさによる影響がまったく認められていない。例えば、C8 から C12 のグルコシドと二糖マルトースを親水部とするマルトシドの誘導体を比較した場合、それぞれの cmc はアルキル鎖長が同一の場合まったく変わらない値を示す。[27]



**Figure 1-8** Octyl  $\beta$ -D-glucoside の濃度上昇に伴う典型的なリオトロピック液晶挙動。(a) 単一分子溶解。(b) ミセル。(c) ヘキサゴナル。(d) キュービック。(e) ラメラ。

Nilsson らにより報告されている横軸を重量濃度 [wt%]、縦軸を温度 [°C] とする水系にお

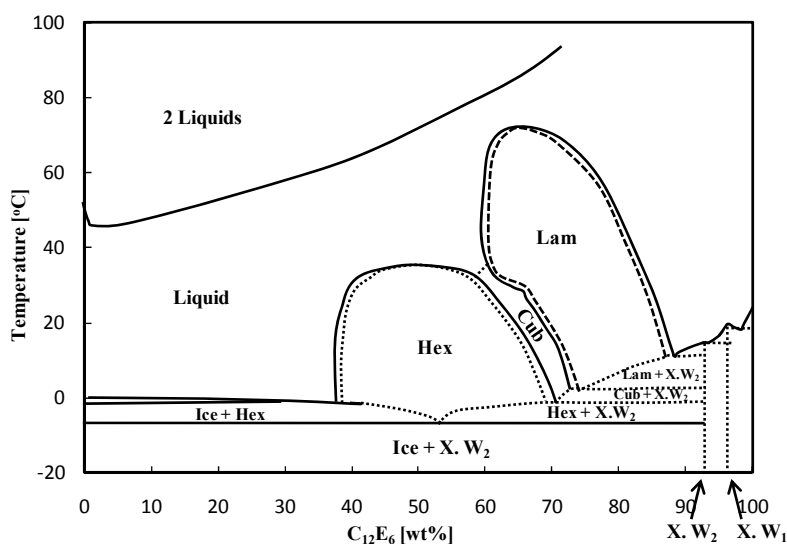
ける octyl  $\beta$ -D-glucoside/水 2 成分系の相図を Figure 1-9 に示した。<sup>[28]</sup> 相図とは様々な相が熱力学的に安定に存在できる濃度と温度の領域を示したものに相当する。例えば 20 °C の温度をみると、octyl  $\beta$ -D-glucoside/水系における等方性溶液はおよそ 60 wt% の濃度まで維持されることがわかる。ミセルを形成する溶液はミセル相 (M: Micelle phase) とよばれることもあるが、光学的に等方性を示す溶液であるため、等方性溶液 (I: Isotropic solution) と記されることが多い。ミセル相を形成する octyl  $\beta$ -D-glucoside 水溶液が 60 wt% 程度の濃度まで高まると、ミセル相はヘキサゴナル相 (H: Hexagonal phase) とよばれる柱状の六方晶を形成し、秩序を持って配向する (Figure 1-8 (c))。ヘキサゴナル相はこの配向性のため、偏光顕微鏡において特徴的な模様が認められる。さらに濃度を増加させると、Sakya らにより示された Ia3d 構造のキュービック相 (Q: Cubic) となり<sup>[29]</sup>、そしておよそ 80 wt% 以上においてラメラ相 (L: Lamellar) を形成する (Figure 1-8 (d))。さらに高濃度領域では結晶相 (C) との共存領域として存在すると考えられている。このように、octyl  $\beta$ -D-glucoside/水 2 成分系相図では 20 °C において濃度変化に伴う等方性溶液、ヘキサゴナル相、キュービック相、ラメラ相、結晶相といった一連の相挙動を認めることができる。



**Figure 1-9** Octyl  $\beta$ -D-glucoside/水 2 成分系相図。<sup>[28]</sup> 低濃度領域から I、H、Q、L、C。

同一の研究者による一連の alkyl  $\beta$ -D-glucoside の相挙動や、マルトシドとグルコシドの相違などの比較は既にいくつか行われている。<sup>[30-33]</sup> その結果、疎水鎖長の増加は、大きな親水部比率を必要とするヘキサゴナル相を縮小させ、そしてラメラ相を拡大させる。また、親水部における糖鎖の増加は、溶解性を著しく向上させている。しかし、測定上の困難も見られ、グルコシドと比較し、オリゴ糖系界面活性剤の相図における相境界はあいまいで

ある。同様の挙動はグルコース、スクロース、ラフィノース、スタキオースを親水部とするラウリン酸エステルの研究においても認められている。<sup>[34]</sup> ショ糖脂肪酸エステル系界面活性剤の疎水鎖長が与える効果については、兼井らにより調べられ、市販品を用いた相図の作成であったが、疎水鎖長の増加に伴い、キュービック相の縮小、ラメラ相の拡大、そして溶解性の減少などが明確に示されている。<sup>[35]</sup> 兼井らの文献に記載されているが、ショ糖脂肪酸エステル、そして他の糖質系界面活性剤では、同じく非イオン性界面活性剤であるポリオキシエチレン系界面活性剤と比較すると温度変化の影響を受けにくい事実が認められる。<sup>[36]</sup> ポリオキシエチレン系界面活性剤の相図の一例を Figure 1-10 に示す。Figure 1-10 では、100 °C 以下の温度領域において、同濃度でいくつもの相を形成することが観察される。Alkyl glucoside については他に分岐構造を含む化合物や不斉中心を有する疎水鎖を持つ化合物、さらにイソプレノイド鎖を有する化合物などについての相図も数多く報告されているが、いずれも温度に対し影響を受けない挙動が認められており、そのような挙動は親水部である糖質の水和特性に起因していることが考えられる。<sup>[15, 28-31, 33-35, 37-40]</sup>



**Figure 1-10** C<sub>12</sub>E<sub>6</sub>/水系の相平衡図。<sup>[36]</sup> Ice: 氷、Hex: ヘキサゴナル相、Lam: ラメラ相、2 Liquids: 二相共存相、X.W<sub>2</sub>, X.W<sub>1</sub>: 水和物結晶。

Figure 1-9 に示した挙動が糖質系界面活性剤においてしばしば見られるリोटロピック挙動であるが、中には octyl β-D-galactoside/水系などで見られるように溶解性の限界による固相の析出ではなく、ゲルとよばれる相を形成する化合物の存在も報告されている。<sup>[41]</sup> ゲル相では疎水鎖の動きが制限されている一方で、親水基間の水は液体と同じく流動性に富んでいることが知られる。一般にゲル相構造としては、Figure 1-11 のような 3 種の構造が報告されている。ゲル相は層状構造を有するため、疎水鎖が流動性に富むラメラ相 L<sub>α</sub> 相の対照として、L<sub>β</sub> 相で示される。

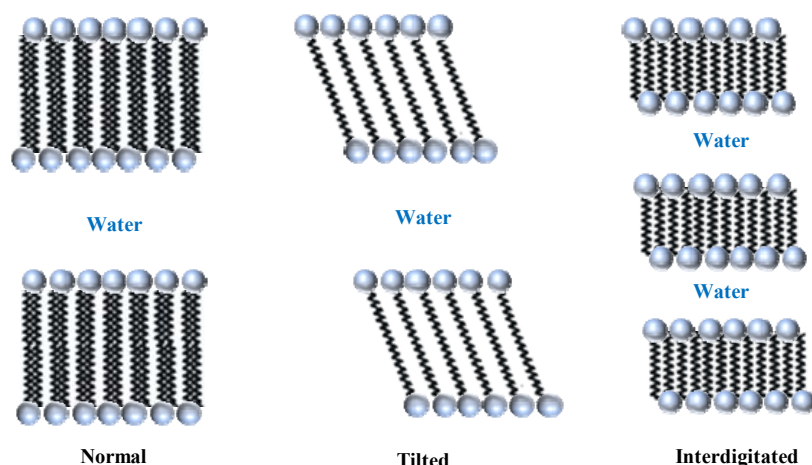


Figure 1-11 提唱されている  $L_{\beta}$  相の構造。アルキル鎖は総じてトランス構造（アルキル鎖の-C-C-C-C-単位のねじれ角を約  $180^{\circ}$  とする構造）を有する。[42]

#### 1-2-4 エマルション (Emulsion)

エマルションは、互いに混ざり合わない二種類の液体（水と油など）のうち、一方の液体が分散相として、他方の連続相液体中で分散しているものをいう。エマルションは、熱力学的に不安定なマクロエマルションと熱力学的に安定なマイクロエマルションの二つの種類に分けられ、さらに水中に油滴が分散したものを O/W 型（Oil in Water 型）、対して油中に水滴が分散したものを W/O 型（Water in Oil 型）という（Figure 1-12）。ソルビタンエステル系やシヨ糖脂肪酸エステル系の界面活性剤は、様々な食用用途に使用されていることから、基礎的な研究もなされ、それらが形成するエマルションが微小空間中において特徴的な油脂結晶化プロセスをもたらすことなどが知られている。例えば、ソルビタンエステル系界面活性剤の一つである Tween 20 を乳化剤とした O/W エマルション中の *n*-ヘキサデカン、冷却されるとバルク中の場合よりも数十 K も低温まで過冷却状態（結晶化せずに液体のままである状態）が維持されるが、シヨ糖脂肪酸エステルをわずかに加えると、結晶化温度は著しく上昇する。それは、シヨ糖脂肪酸エステルが添加されることで、*n*-ヘキサデカンの核生成を促進する場が新たに形成されるためと考えられている。[43]

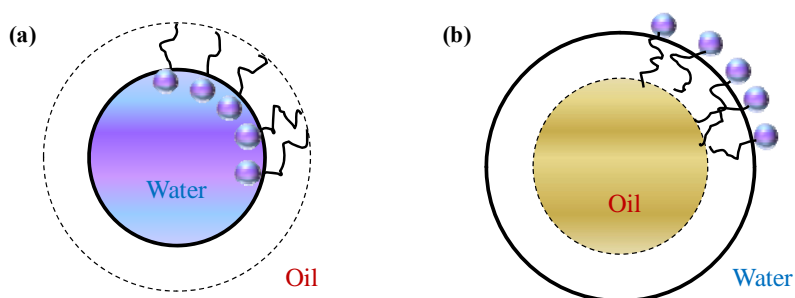


Figure 1-12 エマルションの構造。(a) W/O 型。(b) O/W 型。

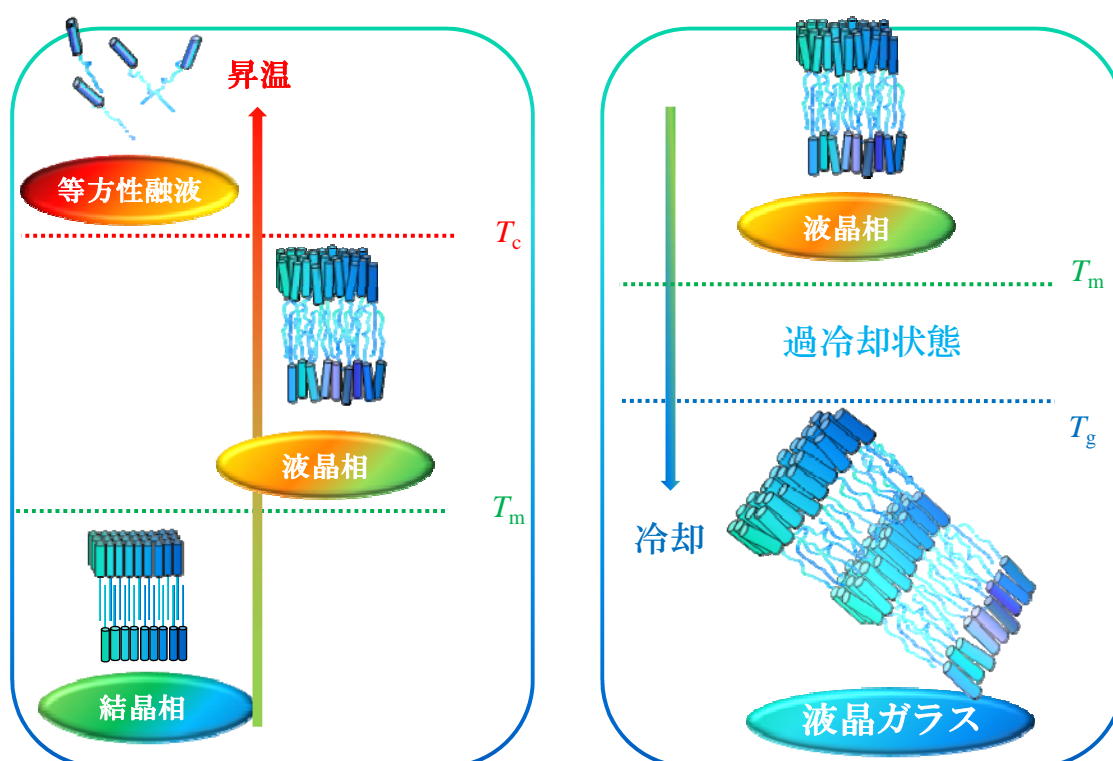


### 1-3 低温下における糖質系界面活性剤挙動に関する研究の現状

#### 1-3-1 サーモトロピック液晶相の低温下での挙動に関する既存報告

前述したようにサーモトロピック液晶は、結晶相が融解することにより初めて出現する。融点以下においては結晶相が熱力学的に最も安定な相であるため、液晶相を融点以下に静置すれば、結晶相が生成することとなる。しかしながら、結晶相の生成は核生成過程を必要とするため、必ずしも融点以下においてすぐには結晶化しない。そのような結晶化プロセスよりも冷却速度が顕著に早い場合、様々な物質はガラス転移温度 ( $T_g$ ) 以下でガラスを形成する。近年になり、糖質を親水部とする糖質系界面活性剤もガラスを形成し、そしてそのガラスはサーモトロピック液晶のような規則性を有した構造を保持していたことが示されている。<sup>[44]</sup> そのような配向性を有したガラスは液晶ガラス (Glassy liquid crystal) とよばれる (Figure 1-13)。<sup>[45]</sup>

この液晶ガラスについては、比較的近年から報告されるようになっており多くの点で不明瞭な部分が存在する。糖質系界面活性剤のサーモトロピック液晶が 1980 年代から盛んに研究されている一方で、液晶ガラスの研究はまだ開始したばかりである。



**Figure 1-13** 温度変化に伴う結晶と液晶と液晶ガラスの関係。  $T_g$ : ガラス転移温度。  $T_m$ : 結晶相-液晶相の相転移温度。  $T_c$ : 液晶相-等方性融液の相転移温度。詳細については第2章を参照されたい。

### 1-3-2 リオトロピック液晶相の低温下での挙動に関する既存報告

糖質系に限らず、界面活性剤が水溶液系においてその界面特性を示すためには、水への溶解性が特に重要である。多くの界面活性剤は高い温度においては水に良く溶解するが、低温においてはしばしば結晶相として析出する。そのような界面活性剤の溶解度の境界をクラフト境界線 (Krafft boundary) という (Figure 1-14)。<sup>[36]</sup> 一般的に定義されるクラフト点、 $T_k$  は温度変化に伴う臨界ミセル濃度 (cmc) 曲線とクラフト境界線が交差する際の温度に相当している。しかし、時として 1% や 15% といった任意の濃度におけるクラフト境界線の温度として使用される場合もある。 $T_k$  は界面活性剤分子中の疎水鎖長の増加に伴い高温側へと推移し、反対に親水基の増大により低温側へと推移していく。糖質系界面活性剤においても、それは顕著に見られ、alkyl  $\beta$ -D-glucoside では炭素数が C11 程度となると 20 °C において不溶となり、さらに炭素数が上昇するとともに  $T_k$  も上昇していくのが認められている。同様に alkyl  $\alpha$ -D-glucoside でもアルキル鎖長の増加に伴い  $T_k$  は温度上昇を伴う傾向は認められているが、この  $\alpha$ -アノマー (異性体) の場合、炭素数を C7 とする同族体ですでに 35 °C 程度の高い  $T_k$  を示す。<sup>[46]</sup>

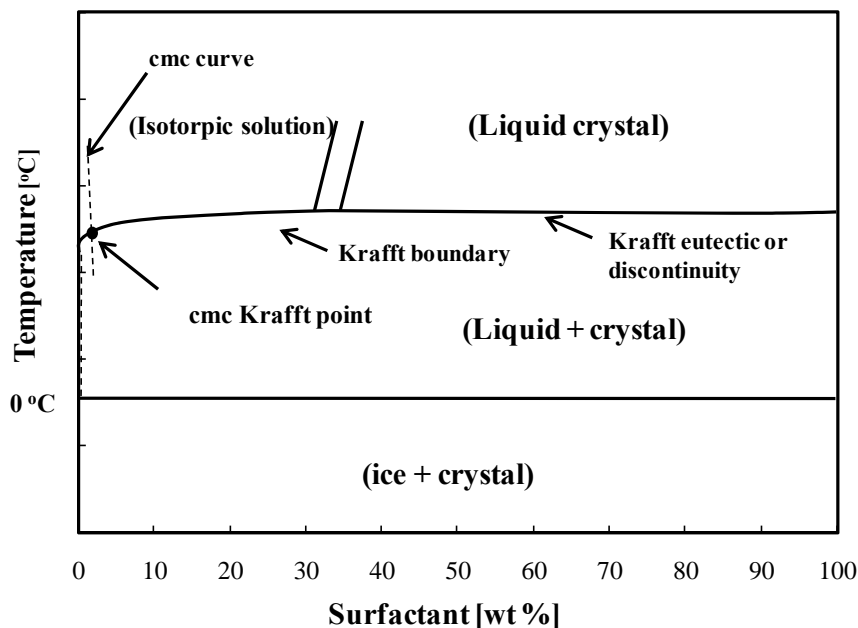


Figure 1-14 界面活性剤/水 2 成分系における  $T_k$ 、クラフト境界線、クラフト共晶点を示した模式図。<sup>[36]</sup>

Figure 1-14 のように、クラフト境界線が低濃度界面活性剤溶液においても 0 °C 以上で認められる場合、それらの温度以下では界面活性剤は析出するため、系内は結晶相と希薄溶液に相分離することとなる。それは Figure 1-14 中の Liquid + Crystal 相に相当する。その一

方で、クラフト境界線が 0 °C 以下である場合、界面活性剤が平衡下において完全に析出しない上限温度は、氷の凝固点降下曲線とクラフト境界線の交点よりも高温に位置する温度領域となる。例えば、Figure 1-10 における 53 wt%程度での-8 °C 付近の交点はその温度である。それより低温では氷と界面活性剤結晶の混合物となる。

それらの交点温度は化合物の種類により大きく異なり octyl trimethylammonium bromide などのイオン性界面活性剤では、交点温度は-33 °C と著しく低温となることが報告されている。<sup>[47]</sup> また、Figure 1-10 にも見られるが、非イオン性界面活性剤であるポリオキシエチレン系界面活性剤ではすでに数多くの交点が測定され、多くの交点温度を含む相図が作成されている。<sup>[48, 49]</sup> その一方で、糖質系界面活性剤と水との混合系ではこれまで 0 °C 以下の交点が調べられた研究例は 1998 年に行われた Bonicelli らによる octyl  $\beta$ -D-glucoside/水系のただ一つであり、さらにこの Bonicelli らによる報告では、クラフト境界線以下の温度領域では構造不明のゲル相の出現が記載されるなど不明瞭な点が指摘される。<sup>[50]</sup> その他、多くの糖質系界面活性剤/水混合系の相図についての報告において 0 °C 以下の検討は行われていない。<sup>[26, 28-41]</sup> すなわち、0 °C 以下において  $T_K$  を有する糖質系界面活性剤/水混合系における相図はいまだ作成されていないものと考えられる。

### 1-3-3 W/O エマルションの低温下での挙動に関する既存報告

ソルビタンエステル系界面活性剤である sorbitan tristearate (Span 65) が形成する W/O エマルションの微小液滴中の水は、-38 °C 程度まで冷却されなければ結晶化しないことが古くから知られている (Figure 1-15)。このような特性は低温下における水溶液の特性を知る上で重要なテクノロジーとなり、それを用いることで様々な物性や、経験則が報告されてきた。<sup>[54-56]</sup> 近年でも様々な溶質の水溶液の水核生成挙動について調べられており<sup>[57-59]</sup>、Span 65 を用いたそれらの研究は今後もさらなる発展が期待される。

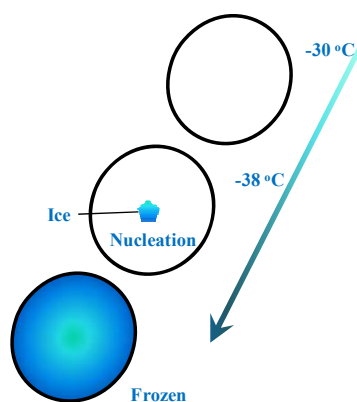


Figure 1-15 エマルション液滴中における-38 °C での均質核生成。

#### 1-3-4 糖質系界面活性剤の水溶液の凍結を伴う中での用途開発研究

これまでの氷点下に関わる糖質系界面活性剤の応用として、いくつかの用途開発研究が報告されている。以下、それらについて総括した。

##### ・凍結融解法によるリポソーム作製の可溶化剤<sup>[60]</sup>

Oku らは、糖質系界面活性剤 octyl  $\beta$ -D-glucoside をリポソームの凍結融解法による作製における可溶化剤として使用した。<sup>[60]</sup> その際 Oku らは、凍結融解法では octyl  $\beta$ -D-glucoside が凍結下において濃縮されている可能性があることを推察しているが、特別な測定による検討は行っていない。

##### ・水溶性タンパクの凍結融解や凍結乾燥過程における安定化剤<sup>[61-63]</sup>

Izutsu らは糖質系界面活性剤、シヨ糖脂肪酸エステルは、他の汎用界面活性剤と異なり、凍結融解過程のみならず凍結乾燥過程においても様々な水溶性タンパク質の安定化に寄与することを報告した。<sup>[61-63]</sup> その際の添加量は、安定化剤として良く知られている天然の糖質に比べ極めて少量で、より高い活性保持を示したため、優れた安定化剤として用いられる可能性がある。しかしながら、これまで、如何なる特性によりシヨ糖脂肪酸エステルが凍結乾燥過程においてタンパク質安定化に寄与しているかについての基礎的な研究はまったく行われておらず、その理由については明らかとなっていない。

##### ・氷の抗凝集剤<sup>[64]</sup>

Kitamoto らは、diacylmannosylerythritol lipid (MEL: Figure 1-5)、poly (oxyethylene) sorbitan dioleate、sorbitan monooleate などの糖質系界面活性剤が氷スラリー中において氷の凝集化を抑制する効果を示すことを報告した。<sup>[64]</sup> 中でも MEL は極めて少量の添加により高い効果を示した。Kitamoto らはこの効果について、各種糖質系界面活性剤が氷の表面に選択的に吸着することで、凝集や成長を抑制していると推察している。しかしながら、糖質系界面活性剤が実際に吸着によりそのような効果を示しているかについてはこれまで実証されていない。

このように、糖質系界面活性剤は上述するような様々な用途において、優れた機能性を示しているが、その中において氷の形成がもたらす影響について考慮した研究例はなく、氷存在下において糖質系界面活性剤がどのような挙動を示すかについては推測の域を超えていないのが現状である。それは、1-3-3 で述べたように、0 °C 以上では数多くの研究がなされている糖質系界面活性剤/水系において、氷点下などの低温下についてはまったく基盤となる研究が行われてこなかったことに起因していると考えられる。

## 1-4 本論文の研究内容

糖質系界面活性剤/水混合系の低温下での挙動に関する研究は、まだ始まったばかりである。1-3-1 で記載したように、サーモトロピック液晶相の低温下での液晶ガラス形成は、現在の液晶化学の進展を鑑みると興味深い挙動と捉えられるべきであるが、いまだ成書においても取り上げられていない認知度の低い領域である。また、1-3-2 で述べたようにリオトロピック液晶相における低温領域での相図作成において、同じく非イオン性界面活性剤であるポリオキシエチレン系界面活性剤の水混合系に対し、糖質系界面活性剤/水混合系では凝固点曲線とクラフト境界線の交点を示した相図がまったく作成されていない点は、1-3-4 で述べた糖質系界面活性剤がもたらすタンパク質の凍結乾燥過程における安定化効果や、氷の凝集抑制効果などに関係している可能性がある。そして、1-3-3 で述べた糖質系界面活性剤 Span 65 を用いた W/O エマルジョン中での氷核生成挙動の研究は、糖質系界面活性剤がもたらしたテクノロジーを利用する試みであり、それらの使用は糖質系界面活性剤の低温下での利用を広めることに繋がるものと考えられる。

これらのことを考慮し、本研究では糖質系界面活性剤/水混合系における低温下での挙動についての全般的な特性について明示すること、および既存のテクノロジーを用いて新たな知見を得る試みを行うことなどを目的とした。本論文により、糖質系界面活性剤のサーモトロピック液晶相が示すガラス転移についての基礎的な性質、それに水を加えた混合系におけるガラス転移挙動の存在、さらにそれらが関連する凍結保護特性などが明らかとされた。また、Span 65 を乳化剤とする W/O エマルジョンを用いた氷核生成挙動の研究において、近年氷点下での使用が注目されている高分子、ポリビニルアルコール (PVA) の水溶液における特異的な氷核生成挙動を見出した。

ここまでが第 1 章の序章の内容となり、続く各章の概要は次の通りである。

## 第 2 章

糖質系界面活性剤のサーモトロピック液晶相が示すガラス転移挙動についてはこれまで少数のみ報告され、そしてその挙動についても深く調べられていなかった。そこで、同一の糖質グルコースを親水部とした一連の alkyl  $\beta$ -D-glucoside を用い、アルキル鎖長の相違がどのような挙動の相違を与えるかについて検討を行った。その過程において、アルキル鎖長と液晶形成能の有無についても検討し、alkyl  $\beta$ -D-glucoside の液晶構造とガラス転移温度との関係性について議論した。

### 第3章

第2章に引き続いて、水混合系におけるガラス転移挙動について検討を行った。本章でも述べた代表的な糖質系界面活性剤である octyl  $\beta$ -D-glucoside と octyl  $\beta$ -D-thioglucoside を用い、それらの 50 wt%以上の濃度での冷却、昇温挙動について調べ、濃度変化に伴うリोटロピック液晶相の相挙動とガラス転移挙動について議論した。その際には混合系におけるガラス転移温度曲線の予測モデルとして知られる Couchman-Karasz の式が適用できるか否かについて調べ、さらにガラス転移温度における比熱変化の濃度変化に伴う挙動について考察した。

### 第4章

凍結下における共晶形成抑制作用は、一般的に凍結保護および凍結乾燥保護特性に関係するものと考えられている。糖質系界面活性剤がタンパク質の安定化などをもたらす原因の一つとして、界面活性能のみならず、そのような一般的な保護特性を有する可能性があると考え、様々な糖質系界面活性剤が NaCl 水溶液で形成される氷と NaCl $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O で構成される共晶形成において抑制効果を示すか否かについて検討した。そして、濃度変化に伴う挙動の相違について示し、それぞれの機構について考察した。

### 第5章

近年、低温下での水溶液における利用が注目を集めている PVA の水溶液の水核生成挙動について、糖質系界面活性剤 Span 65 を乳化剤とする W/O エマルションを用いて検討を行った。他の汎用ポリマーと比較することで、PVA 水溶液の特異的挙動について明示し、そして Bigg の経験式、Rasmussen の経験式などともにその挙動について検討した。

### 第6章

基礎的な物性挙動の検討においては、いかなる構造を有する化合物が、どのような物性挙動を示しているかを明確化することは重要である。本論文では総じて、単一の構造を有する糖質系界面活性剤を使用しており、それらの化合物を用いるにあたり、購入品または合成品を使用した。既存の報告と類似の手法による内容を除き、本研究で使用、またはその過程で合成された、非還元性オリゴ糖を親水部とする糖質系界面活性剤およびアルキルグリコシドの合成法について記載した。

### 第7章

本研究で得られた結果について総括した。

## 第2章

### Alkyl $\beta$ -D-glucoside のガラス転移挙動に与える疎水鎖長効果

#### 2-1 緒言

##### 2-1-1 ガラス

結晶は融点 ( $T_m$ ) で融解し、液体に移るが、その融液を冷却すると、 $T_m$  以下において熱力学的に準安定な過冷却状態 (液体) となる。その過冷却状態を結晶化させることなく冷却すると粘性が増大していき、 $10^{12}$  Pa $\cdot$ s (パルカル秒) 程度の粘度に高まると分子の並進運動が止まり、力学的性質は固体となる。<sup>[1]</sup> 分子運動の停止した過冷却の液体をガラスという。このような状態変化は狭い温度領域で生じるためガラス転移と呼ばれ、その温度は  $T_g$  (ガラス転移点 / ガラス転移温度) で示される。 $T_g$  以上の液体状態では、分子配列 (Configuration) と分子の振動状態 (Vibration) の両方が温度によって変化し、 $T_g$  以下では温度により振動のみが変化すると考えられている。<sup>[1-3]</sup>

ガラスは非晶質の一部であるが、非晶質は必ずしもガラスではない。一般には、ガラス転移現象が認められた非晶質をガラスと呼ぶ。<sup>[1]</sup> 現在では、シリカを始めとする無機物質のみならず、様々な有機化合物もガラスを形成することが知られる。ガラスの構造は、結晶と比較して全体的に原子が不規則に配列していると捉える不規則網目構造説と  $20\text{\AA}$  以下の微結晶から構成されていると捉える微結晶構造説が提案されている (Figure 2-1)。<sup>[1,2]</sup>

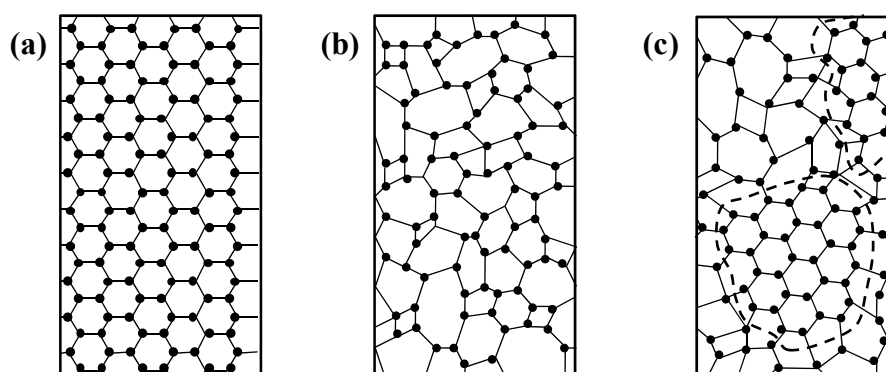


Figure 2-1 (a) 結晶、(b) ガラス (不規則網目構造説)、(c) ガラス (微結晶構造説)。<sup>[1]</sup>

## 2-1-2 ガラス転移

固体から液体、または液体から固体に変化するとき、系は潜熱の吸収または生成を伴うため、体積 ( $V$ )、エンタルピー ( $H$ )、エントロピー ( $S$ ) などの熱力学量は、温度や圧力に対して不連続的な変化を示す。エーレンフェスト (Ehrenfest) は、このような相転移を一次相転移 (First order transition) と分類し、上述した熱力学量を温度で微分したもの ( $dV/dT = \alpha$ : 体積膨張率,  $dH/dT = C_p$ : 比熱) が不連続的に変化する相転移を二次相転移 (Second order transition) と分類した (エーレンフェスト (Ehrenfest) の分類)。<sup>[4]</sup>

ガラス転移では、自由体積、エンタルピー、エントロピーなどの熱力学量は連続的な変化を示す一方で、体積膨張率や比熱は不連続的な変化を示すため、二次相転移と理解される時代があった。しかしながら、ガラス転移における体積膨張率や比熱の変化は温度幅を持って生じることや、二次相転移について定義される Ehrenfest の式、

$$\frac{\Delta\beta}{\Delta\alpha} = \frac{T_g V_g \Delta\alpha}{\Delta C_p} \quad (3-1)$$

( $\Delta\beta$ : 圧縮率の差、 $\Delta\alpha$ : 熱膨張係数の差、 $V_g$ : ガラス状態のモル体積、 $\Delta C_p$ : 比熱の差)

がガラスについてあまり成立しないなど、ガラス転移は二次相転移として熱力学的に取り扱われることもある一方で、真の二次相転移とは言い難いというのが近年の常識となっている様である。<sup>[4]</sup> 実際、 $T_g$  を求める測定では、温度変化 (昇温・冷却) の速度やガラスの熱履歴によって  $T_g$  が変化するというような速度論が含まれ、ガラス転移の検討の際には熱力学的アプローチと速度論的アプローチの両方が必要と考えられている。<sup>[4]</sup>

ガラス転移の検出法としては<sup>[5]</sup>、温度変化に伴う比熱 (熱容量) の変化を測定する熱的測定法が基本的である。その他、温度変化に対する比体積測定、試料に電場をかけた場合の電気双曲子の追従をみる誘電緩和解析、さらに力学物性測定により応力をかけた場合の分子の再配置過程の解析、水分の透過、吸着を用いた解析などがある。Figure 2-2 に示差走査熱量計測定 (DSC) によるガラス転移検出例を示した。DSC 熱曲線では、ガラス転移において明確な段差 (熱流量変化:  $\Delta F$ ) を示すことから、容易に検出することができる。

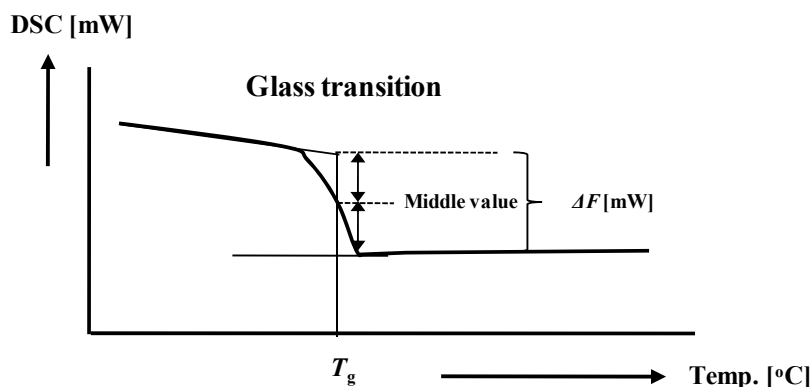


Figure 2-2 DSC による  $T_g$  の検出。熱流量変化 ( $\Delta F$ : mW) の中点の温度を  $T_g$  とした。



### 2-1-3 ガラスの緩和

ガラス状態では、分子の並進運動が観測時間内では止まっているように見えるが、時間がたつにつれて平衡状態に近づこうとしている。すなわち、ガラス転移は非平衡状態と平衡状態の間の緩和現象であり、ガラス状態であっても種々の熱力学量や様々な物性（密度、屈折率、電気抵抗、硬さ、etc）は、時間とともに平衡状態に向かい変化していく。このような現象はガラスの緩和あるいは安定化とよばれる。<sup>[1-3]</sup>

高温の融液を冷却してガラスをつくる場合、 $T_g$  付近では粘度が高いため融液の構造は各温度での平衡状態に相当する構造にまで変化しないまま冷却されガラスとなる。その結果、急冷されて大きな体積（比容）を持つガラスは緩和の始まる温度が高くなり、徐冷されて小さな体積（比容）を持つガラスは緩和の始まる温度が低くなる。<sup>[1]</sup>  $T_g$  近傍のガラス状態では、エンタルピー緩和あるいは体積緩和などの緩和現象が観察されることが良く知られている。

Figure 2-3 に見られるように、長時間  $T_g$  以下に冷却されることで緩和した並進運動のエンタルピーが、 $T_g$  以上になって急激に回復することで、エンタルピー緩和は DSC において吸熱ピーク挙動として検出される。<sup>[4]</sup> 緩速冷却では、急速冷却に比べ  $T_g$  近傍の通過時間が長いため、熱的平衡状態に近づき、より大きなエンタルピー緩和が観察される。

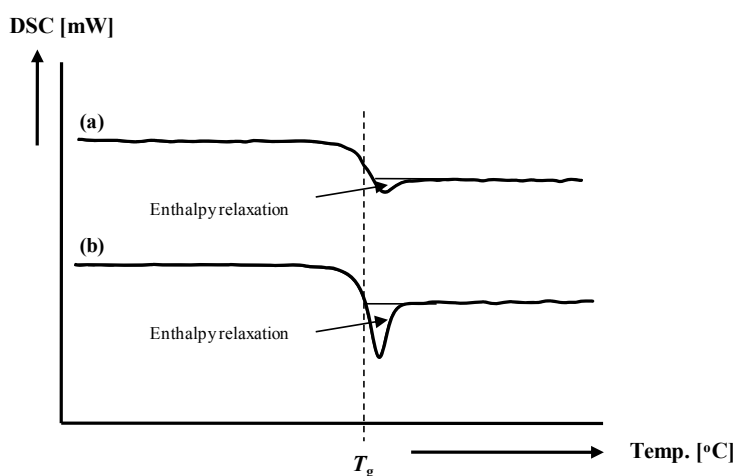


Figure 2-3 DSC によるエンタルピー緩和の検出。(a) 急速冷却した後の昇温曲線。(b) 緩速冷却した後の昇温曲線。

### 2-1-4 液晶ガラス (ガラス性液晶)

分子運動が凍結したガラス状態は、分子の重心位置と配向が同時に凍結したガラス性液体 (glassy liquid)、分子配向の乱れの凍結によるガラス性結晶 (glassy crystal)\*、電子スピ

\* Ethanol, cyclohexanol などの柔粘性結晶 (plastic crystal) で認められる。X 線の研究より、面心立方格子や、体心立方格子の高い対称性を有すが、分子配向においては著しい乱れを有する。結果、光学的に等方性を与える結果を示す。<sup>[7]</sup>

ンの配向の乱れの凍結によるスピングラス (spin glass) など、数多く見出されている。その中で、主として分子の重心位置が凍結しているが、配向に秩序が残っているものとして液晶ガラス (ガラス性液晶 : glassy liquid crystal) がある。液晶ガラスは分子の配向秩序や位置秩序が残っているため、光学的異方性を持つガラスとなる。<sup>[6]</sup>

低分子液晶では、特別な冷却設備を用いない任意条件下での昇降温過程においてガラス転移を示すものはあまり報告されていないが<sup>[6]</sup>、高分子液晶では多くがガラス転移を示し、室温において安定な液晶ガラスを形成する。<sup>[7]</sup> さらに、ガラス転移が明確に現れる高分子液晶では、液晶配向をそのまま保持したガラス状態 (液晶ガラス) を形成することが容易に可能である (Figure 1-13)。その際のガラス状態は、 $T_g$  に最も近い温度域で形成された液晶相の分子配向構造を反映した構造を有する。<sup>[7]</sup>

配向構造を利用した光制御素子には、所望の配向状態が長時間安定であることが求められることから、そのための液晶材料として液晶ガラスの利用が提案されている。配向を固定化した光制御機能性フィルムは、ガラス基板を必要としないことから、素子自体の軽量化を行うことができる。<sup>[7]</sup> また、外部磁場存在下において、 $T_g$  以下にすることにより、構造の維持された非線形の発色団ポリマー材料の作製も試みられている。<sup>[9]</sup> このように、高い  $T_g$  を有する液晶ガラスは実際的な応用がなされる条件下において、様々な特性を有した状態で構造を維持することができる。

### 2-1-5 Alkyl glycoside 系化合物のガラス形成

1-2 で述べたように、alkyl glycoside は無水条件下でサーモトロピック液晶を形成する。Alkyl  $\beta$ -D-glucoside の液晶形成については、Fisher と Helfrich による初期の研究で“二つの融解”挙動が見られることが報告され<sup>[10]</sup>、後に Noller と Rockwell により液晶相の存在が認められた。<sup>[11]</sup> 二つの融解挙動の一例として octyl  $\beta$ -D-glucoside の DSC 昇温曲線を Figure 2-4 に示した。Figure 2-4 において低温側の融解は結晶相から液晶相への転移 (疎水鎖の融解 : chain melting) を示し、高温側の融解は液晶相が等方性溶液へと変化する転移を示している。それぞれの温度はしばしば  $T_m$  (融点 : melting point) ,  $T_c$  (透明点 : clearing point) と呼ばれている。<sup>[11, 12]</sup> このように二つの異なる温度 ( $T_m$ ,  $T_c$ ) における一連の段階的な融解過程より、この過程は二つの融解挙動とよばれている。

このような二つの融解挙動については数多く研究がなされてきた一方で、アルキルグリコシドのガラス転移については比較的近年から研究がなされ、現在まで少数の化合物についてのみガラス転移を示すことが認められている。

最初のアルキルグリコシド類のガラス形性特性について報告されたのは Hoffmann らによる 2000 年であり、無水 alkyl  $\alpha$ -D-glucoside (C7-C10) が過冷却下においてガラス形成を示すことが報告された。<sup>[12]</sup> 同年、Boyd らにより無水 octyl  $\beta$ -D-maltoside、decyl  $\beta$ -D-maltoside などの DSC 測定で、明らかにガラス転移と考えられる熱曲線が示されている

が、Boyd らはそれについて特別な相転移とのみ述べガラス転移であることを言及しなかった。<sup>[13]</sup> それより、アルキルグリコシドにおけるガラス転移という概念が 2000 年までほとんど知られていなかったと推察される。

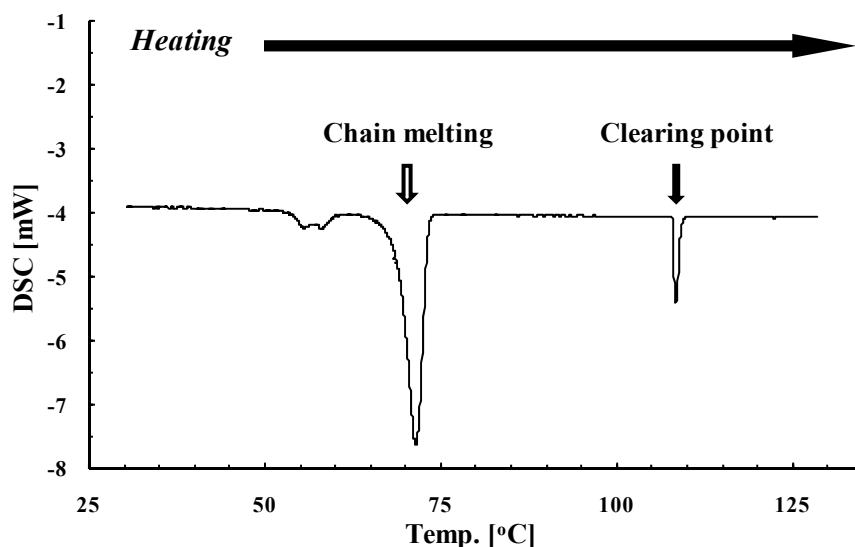
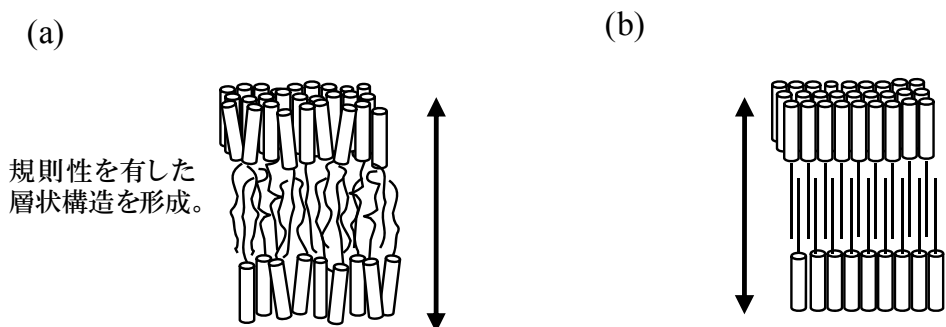
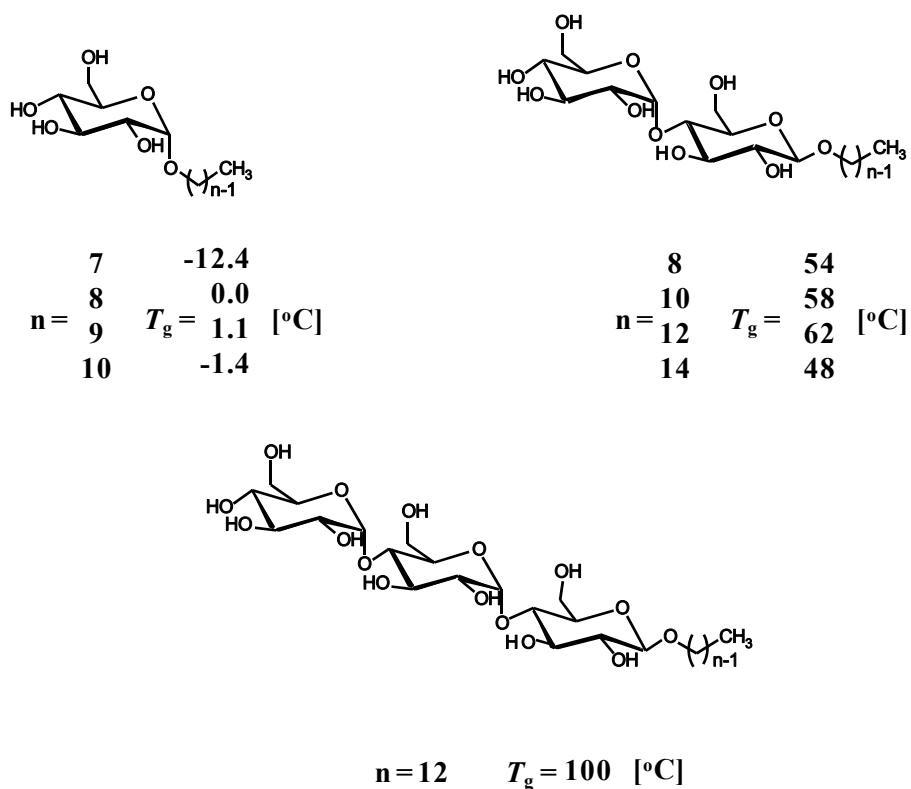


Figure 2-4 Octyl β-D-glucoside の昇温 DSC 曲線。

2004 年となり、Kocherbitov らは octyl β-D-maltoside、decyl β-D-maltoside のガラス転移挙動を認めた上で、alkyl β-D-maltoside のガラス状態が液晶相のように規則的な長軸構造を持つことを小角 X 線散乱 (SAXS) により示し、アルキルグリコシドが液晶ガラスを形成することを明確化した (Figure 2-5)。<sup>[14]</sup> それからほどなくして、Ericsson らにより 2005 年、dodecyl β-D-glucoside、dodecyl β-D-maltoside、dodecyl β-D-maltotrioside の凍結乾燥固体の状態について DSC, X 線回折測定 (XRD), SAXS, 広角 X 線散乱測定 (WAXS) が行われ、dodecyl β-D-maltotrioside、dodecyl β-D-maltoside らの凍結乾燥固体ではガラス転移が認められたが、dodecyl β-D-glucoside では観察されなかったことが報告された。<sup>[15]</sup> また、Ericsson らは同年 tetradecyl β-D-maltoside の凍結乾燥固体が層状の液晶構造を有した状態でガラス化していることを報告している。<sup>[16]</sup> これらが知る限りにおいて報告されている液晶ガラスに関する既存研究であり、これまで研究が盛んに行われてきたアルキルグリコシドの液晶形成挙動についての報告数と比べると、非常に微々たる研究例と言わざるを得ない。ガラス転移が報告されているアルキルグリコシド系界面活性剤の構造とその温度 ( $T_g$ ) を Figure 2-6 に示す。



**Figure 2-5** アルキルグリコシドが形成する液晶ガラスと結晶の模式図。(a) 液晶ガラス（液晶と同様の構造）。(b) 結晶。それぞれ固有の層間距離を有する。



**Figure 2-6** ガラス形成が報告されたアルキルグリコシドの構造とそのガラス転移温度 ( $T_g$ )。 (a) Alkyl  $\alpha$ -D-glucoside.<sup>[12]</sup> (b) Alkyl  $\beta$ -D-maltoside.<sup>[14-16]</sup> (d) Dodecyl  $\beta$ -D-maltotrioside.<sup>[15]</sup>

## 2-1-6 本章の目的

Alkyl  $\beta$ -D-glucoside は、数多くのアルキルグリコシド系化合物の中でも代表的な化合物であり、Figure 2-4 で示したような二つの融解挙動は既に C7 以上の疎水鎖長において見られることが示されている。また、その他、相転移温度、相転移エンタルピー、液晶構造、結晶および液晶構造の層間距離などについても広く研究がなされている。<sup>[10,17-23]</sup> それらによると、それぞれが形成する液晶構造は特別な条件を除いてスメクチック A 相 (SmA 相) である。<sup>[18-20]</sup> それに対し、2-1-5 で記載したように、アルキルグリコシドのガラス転移挙動については現在まで少数のみが調べられ、代表的なアルキルグリコシドである alkyl  $\beta$ -D-glucoside のガラス転移挙動についてもこれまでまったく研究されていない (Figure 2-6 に見られるように、いくつかの alkyl  $\alpha$ -D-glucoside はその  $T_g$  が調べられている)。それよりも、alkyl  $\beta$ -D-glucoside のガラス形成能については、Kocherbitov らはどのような条件下かについては言及していないものの、octyl  $\beta$ -D-glucoside はガラス形成を示さない旨を記述し<sup>[14]</sup>、また Ericsson らの研究において、dodecyl  $\beta$ -D-glucoside 水溶液の凍結乾燥粉末が唯一ガラス化を示さなかったことから<sup>[15]</sup>、alkyl  $\beta$ -D-glucoside はガラス形成を示さないと捉えられていることも考えられる。

本章ではこの alkyl  $\beta$ -D-glucoside が常温以下においてガラス転移を示したことを DSC 測定を通して認め、疎水鎖であるアルキル鎖の長さがそのガラス転移挙動にどのような影響を与えるかについて検討した。このとき、アルキル鎖としては C1 から C12 までのものを用いることとし、DSC 測定に加え、偏光顕微鏡観察することで液晶形成の有無について同定した。そして、最後に X 線回折測定により液晶構造を決定したうえで、疎水鎖長が与える  $T_g$  への効果について考察した。本章で使用した化合物の構造を Figure 2-7 に示した。

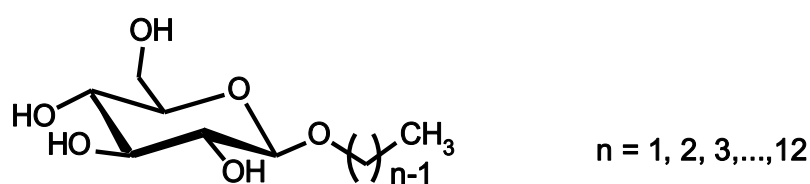


Figure 2-7 異なる疎水鎖長を有する alkyl  $\beta$ -D-glucoside (CnGlu: C1Glu - C12Glu) の構造。

## 2-2 試薬・機器・試料作製

### 2-2-1 試薬

Table 2-1 試薬一覧

試薬名	略称	備考
Methyl $\beta$ -D-glucoside hemihydrate	C1Glu	東京化成工業株式会社。
Ethyl $\beta$ -D-glucoside	C2Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Propyl $\beta$ -D-glucoside	C3Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Butyl $\beta$ -D-glucoside	C4Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Pentyl $\beta$ -D-glucoside	C5Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Hexyl $\beta$ -D-glucoside	C6Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Heptyl $\beta$ -D-glucoside	C7Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Octyl $\beta$ -D-glucoside	C8Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Nonyl $\beta$ -D-glucoside	C9Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Decyl $\beta$ -D-glucoside	C10Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Undecyl $\beta$ -D-glucoside	C11Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Dodecyl $\beta$ -D-glucoside	C12Glu	化学合成により調製（第6章参照）。

### 2-2-2 機器

Table 2-2 機器一覧

機器名	装置名	製作会社
示差走査熱量計 (DSC) *1	DSC-60	株式会社 島津製作所
示差熱・熱重量同時測定装置 (DTG)	DTG-60	株式会社 島津製作所
偏光顕微鏡 (POM)	BH-51	オリンパス株式会社
大型試料冷却加熱ステージ*2	LTS 350	Linkam Sci. Instrum. Ltd.
X線回折装置 (XRD)	D8 ADVANCE	Bruker AXS Corp.

\*1: 示差走査熱量計 (DSC) の装置較正にあたりインジウム、氷、デカンの融点と融解エンタルピーの数値を用いた。

\*2: 偏光顕微鏡観察 (POM)備え付き大型試料冷却加熱ステージの温度較正にあたり氷、デカンの融点の数値を用いた。

### 2-2-3 試料作製

それぞれの試料作製法を以下に示す。

#### 1) 元素分析 (Table 2-3 関連)

元素分析にあたっては 2 つの異なる乾燥方法により試料を準備した。それぞれの作製法は以下の通りである。50 °C、2h 真空乾燥することで得た各種グルコシドを試料 A とした。それとは別に、エタノール中で還流することで脱水し、その後濃縮乾燥することで得た試料を試料 B とした。

#### 2) 示差走査熱量計 (DSC) 測定

DSC 測定では結晶試料と、融解し、冷却した後の過冷却融液または過冷却液晶の状態を有する試料を用いた。一部の化合物は、融液からの結晶化が困難であったため異なる手法を用い試料作製を行った。本研究における DSC 測定では Figure 2-8 のような密閉された試料パンを使用した (Figure 2-8)。



Figure 2-8 DSC 測定用試料

#### ・ C1Glu と C2Glu を除く結晶試料と、C1Glu から C12Glu までの融液または液晶試料の作製法 (Figure 2-12, 14, 15, 16 関連)

予め重量を調べたアルミパンに各種グルコシドを加え、それを 125 °C の加温ステージ上で、窒素ガス雰囲気下 50 min 静置し、無水状態のグルコシドを作製した (Figure 2-9: (a)、(b))。\* その後、素早くグルコシドの総量を秤量した (Figure 2-9: (c))。秤量の間、僅かに吸水した水分を除去するため、秤量後さらに窒素ガス雰囲気下に静置した (Figure 2-9: (d))。30 min 後、試料パンを取りだし、素早くシールすることで密閉試料を作製した (Figure 2-9: (e))。融液または液晶の状態にするにあたっては 125 °C の加温ステージ上に置き結晶相を完全に融解させることで作製した。結晶試料はその後それぞれの密閉された試料パンを常温または 50 °C にて静置させ、結晶化させることで得た (Figure 2-9: (f))。

\* わずかな吸水によりガラス転移温度 ( $T_g$ ) は低下するため、完全な脱水が求められた。まず、125 °C における等温保持時間と  $T_g$  の関係を、非密閉試料を用いて調べ、 $T_g$  が変化しなくなった際の保持時間が総じて 40 min 程度であったことを確認し、10 min 上乗せの 50 min に設定した。50 min 以上の等温保持では、最も高い  $T_g$  が再現性良く得られた。

• C1Glu, C2Glu の無水結晶試料の作製法 (Figure 2-12 のみに関連)

C1Glu と C2Glu では上述した試料パン中で無水とした融液中において、結晶化させることができなかつたため、別の作製方法を必要とした。後述となるが、C1Glu は水和物結晶を形成しやすいため、エタノール中で還流することで脱水し、その後濃縮および乾燥することで無水の結晶を得た。C2Glu では 50 °C、2h の真空乾燥により乾燥された無水状態の結晶を得た。それぞれ乾燥を行った後、素早くアルミパン中で秤量し密閉した。

• 特殊測定用 C6Glu 試料の作製法 (Figure 2-12 のみに関連)

上述した密閉パン中での結晶化により得た C6Glu 結晶を試料 C とし、試料 C をさらに 80 °C まで昇温させアニーリングさせることで再結晶化させた試料パンを試料 D とした。

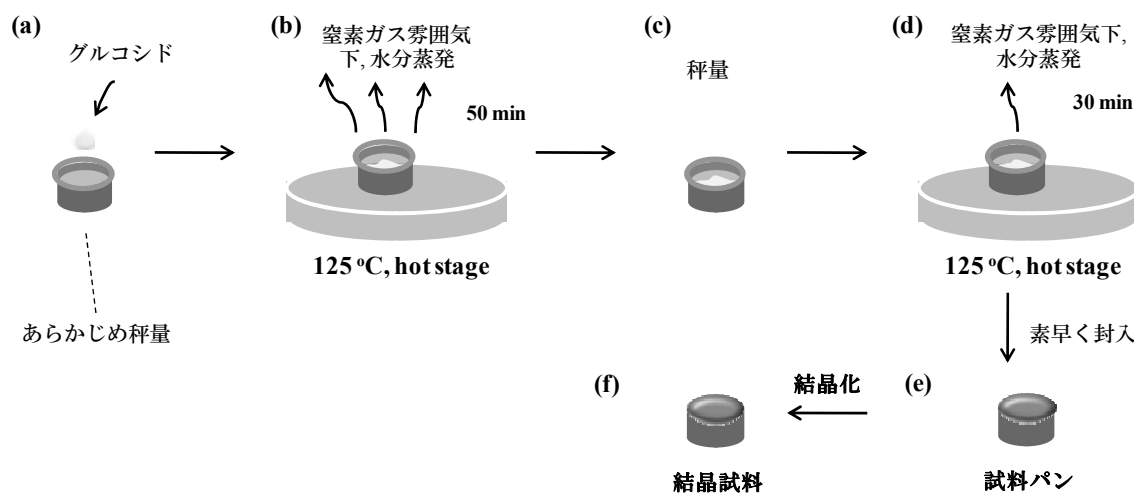


Figure 2-9 無水状態のグルコシドを含む DSC 測定用試料パンの作製法。

3) 示差熱・熱重量同時測定 (DTG)

• C4Glu 試料の作製 (Figure 2-11 関連)

50 °C、2h の真空乾燥により得た試料を A とした。EtOH 中での還流により脱水し、その後濃縮および乾燥することで得た試料を B とした。

• C6Glu 試料の作製 (Figure 2-13 関連)

サンプル管中に加えた C6Glu を 110 °C の油浴に浸すことで完全に融解させた後、液体窒素にて急冷し、その後常温にて五酸化二リン存在下結晶化させた (試料 C)。また、試料 C を五酸化二リン存在下 80 °C 付近に保ちアニーリングを行うことで試料 D を作製した。



#### 4) 偏光顕微鏡 (POM) 観察 (Figure 19-23 関連)

観察試料をスライドガラスとカバーガラスの間に挟みこむことで測定試料とした (Figure 2-10)。液晶試料はしばしば液晶分子のガラス表面への垂直配向により暗視野状態となるため、そのような場合はカバーガラスを適宜押しつぶすことで試料形状を変形させた。<sup>[24]</sup>

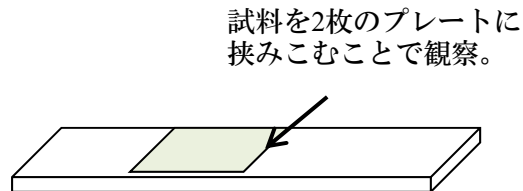


Figure 2-10 POM 観察の試料形態。

#### 5) X線回折 (XRD) 測定 (Figure 2-24 関連)

50 °C、2h 真空乾燥した各グルコシドを結晶試料とした。それぞれの試料をバイアル中に加え、120 ~ 130 °C に設定した油浴中で結晶相を完全融解させることで融液または液晶試料を得た。それぞれ、その後素早く X 線のサンプルホルダーに移しとり結晶、過冷却融液、過冷却液晶試料とした。

## 2-3 結果・考察

### 2-3-1 Alkyl $\beta$ -D-glucoside (CnGlu) の水和物形成

ガラス転移温度 ( $T_g$ ) は水分含量に大きく影響を受けることが知られているため、alkyl  $\beta$ -D-glucoside (CnGlu) のガラス転移挙動を調べるにあたっては、完全に無水の状態を得ることが必要と考えられた。アノマー異性体である alkyl  $\alpha$ -D-glucoside (以後  $\alpha$ -アノマーとよぶ) は、多くが 0.5 水和物や 1 水和物を形成することが報告されていることから<sup>[12, 25]</sup>、CnGlu でも水和物形成の有無について調べるが必要と考えられた。

まず、水和物形成の有無について元素分析を行うことで検討した。50 °C、2h の減圧下で真空乾燥した CnGlu (2-2-3 試料 A) を元素分析した結果を Table 2-3 に示した。その結果、C2Glu, C3Glu そして C5Glu から C12Glu では、元素分析結果は無水和物状態の理論値と C, H 元素分析において 0.30 以内の絶対誤差で一致したが、C1Glu と C4Glu では無水和物の理論値と一致しないことが認められた。すでに C1Glu については 0.5 水和物結晶を形成しやすいことが知られており<sup>[26]</sup>、実際に試料 A の実験値は 0.5 水和物の元素分析計算値と一致を示した。他方で、C4Glu では 0.5 水和物ではなく、0.25 水和物の計算値と一致した (それぞれ Table 2-3 中において、赤字で対応させている)。

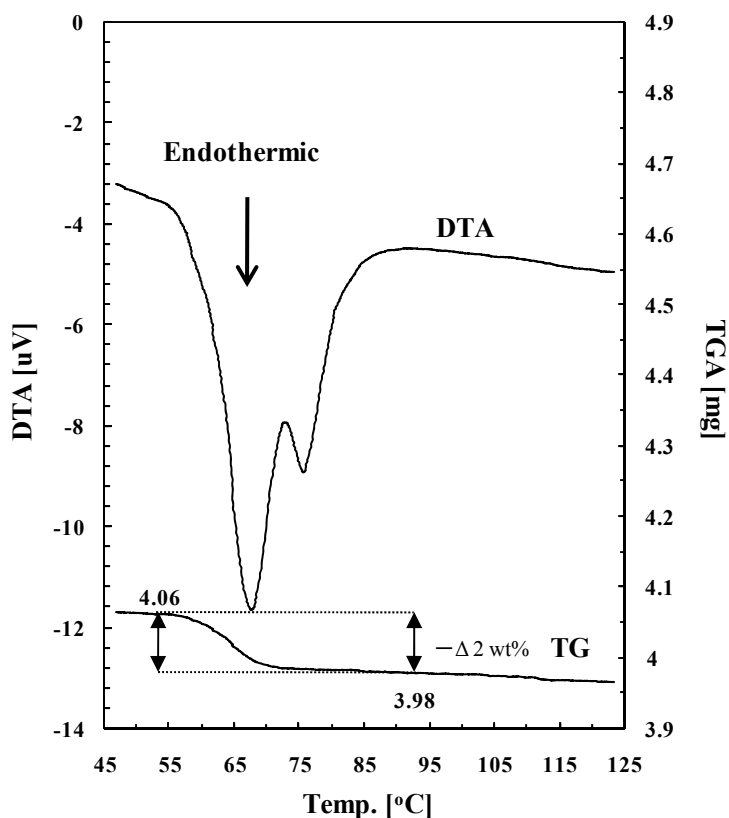
Table 2-3 CnGlu の元素分析結果

Compound	Calculated			Experimental found	
	Anhydrous	0.25 H <sub>2</sub> O	0.5 H <sub>2</sub> O	Sample A*	Sample B†
C1Glu	C, 43.30; H, 7.27	C, 42.32; H, 7.36	C, 41.38; H, 7.44	C, 41.05; H, 7.46	C, 43.40; H, 7.31
C2Glu	C, 45.95; H 7.82	—	—	C, 46.15; H, 7.75	—
C3Glu	C, 48.64; H 8.16	—	—	C, 48.56; H, 8.23	—
C4Glu	C, 50.84; H, 8.53	C, 49.89; H, 8.58	C, 48.97; H, 8.63	C, 49.75; H, 8.79	C, 50.55; H, 8.53
C5Glu	C, 52.79; H 8.86	—	—	C, 52.95; H, 8.77	—
C6Glu	C, 54.53; H 9.15	—	—	C, 54.33; H, 9.06	—
C7Glu	C, 56.10; H, 9.42	—	—	C, 56.34, H, 9.27	—
C8Glu	C, 57.51; H, 9.60	—	—	C, 57.27, H, 9.61	—
C9Glu	C, 58.80; H, 9.80	—	—	C, 58.88, H, 9.74	—
C10Glu	C, 59.97; H, 10.07	—	—	C, 59.94, H, 9.99	—
C11Glu	C, 61.05; H, 10.25	—	—	C, 60.78, H, 10.21	—
C12Glu	C, 62.04; H, 10.41	—	—	C, 61.92, H, 10.38	—

\* 試料 A: 2-2-3 記載。 †試料 B: 2-2-3 記載。

示差熱・熱重量同時測定 (DTG) 装置は、示差熱分析 (DTA) が示す吸熱や発熱ピークの温度付近での重量減少量を、同時に熱重量測定 (TG) で調べることで、水和物の脱水過程を調べることができる。<sup>[12]</sup> そこで、C4Glu について DTG 測定を行い重量減少から水和物形成の有無について検討した。Figure 2-11 は初期重量を 4.06 mg とする C4Glu の試料 A (2-2-3 記載) を 5 °C/min で DTA と TG を同時測定した際の結果を示している。昇温下、DTA 曲線では、66 °C 付近において吸熱が探知され、その付近の温度前後では、TG 曲線において全重量の 2 wt% 分の重量減少が観察された。これが水の脱水過程により生じた変化だと仮定すると C4Glu の分子量は 236.16 であるため、その 2 wt% は 1 mol の C4Glu 結晶中に含まれていた 0.25 H<sub>2</sub>O の水分重量が減少した重量に相当する。これは 0.25 H<sub>2</sub>O の存在を示唆した元素分析の結果と一致している。これらより、50 °C、2h の減圧下で真空乾燥された C4Glu は、4.0 C4Glu・H<sub>2</sub>O の組成を形成しやすいことが示された。

このように C1Glu と C4Glu では 50 °C、2h の真空乾燥では完全な無水状態を得ることはできなかったが、C1Glu と C4Glu の無水和物結晶は、エタノールに溶解させ、還流脱水した後、濃縮乾燥すること得られた (Table 2-3 Sample B)。



**Figure 2-11** 50 °C、2h の真空乾燥で得られた C4Glu の DTG (DTA-TG 同時) 測定。測定条件: 試料量: C4Glu 試料 A, 4.06 mg。窒素ガス雰囲気下、5 °C/min で昇温した。

### 2-3-2 無水 CnGlu 結晶の融解挙動

続いて、無水 CnGlu の融解挙動について示差走査熱量計測定(DSC)により検討した。Figure 2-12 に C1 から C6 までの無水 CnGlu 結晶を、2 °C/min の昇温速度で融解させた際の DSC 曲線を示した。図において、C1Glu から C5Glu の CnGlu では、融解する際に明確なただ一つの吸熱ピークを示すことが認められた。これらの挙動は、結晶相の融解後において相変化は起こらず液晶相は形成していないことを示している。他方で、C6Glu では他の CnGlu と同様にして作製した試料 C では複数の吸熱ピークが認められたが、試料 C を 80 °C においてアニーリングを行った試料 D では単一の吸熱ピークのみを示すことが示された。

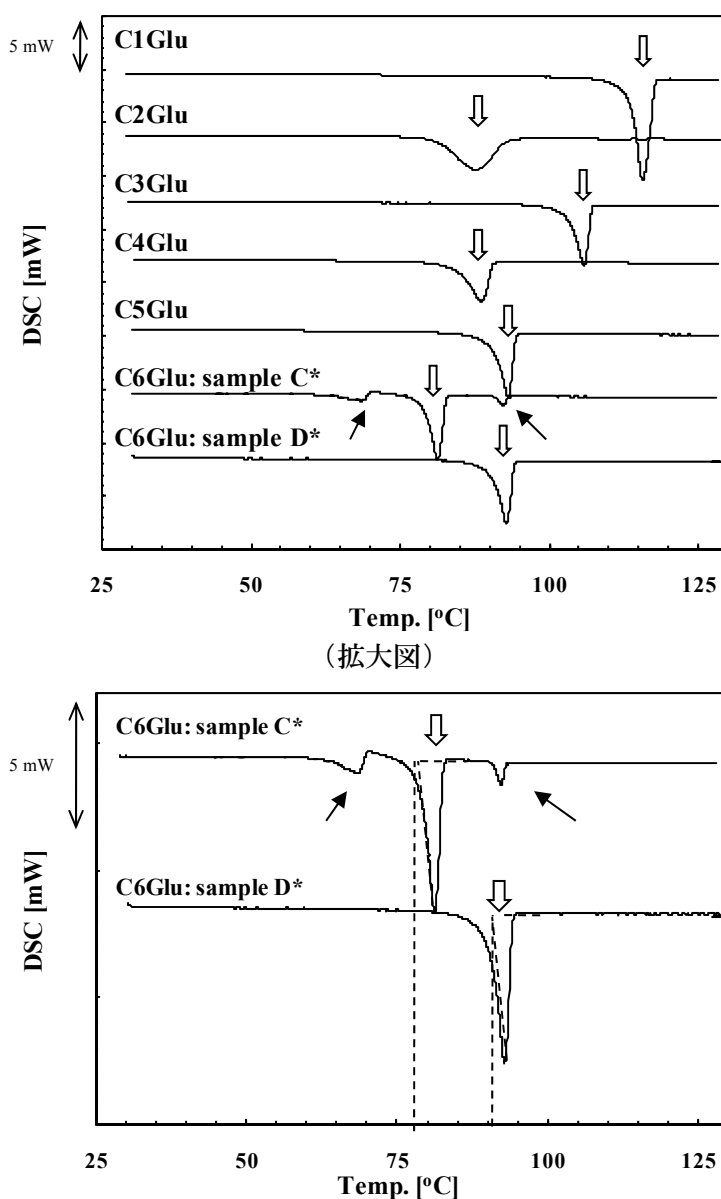
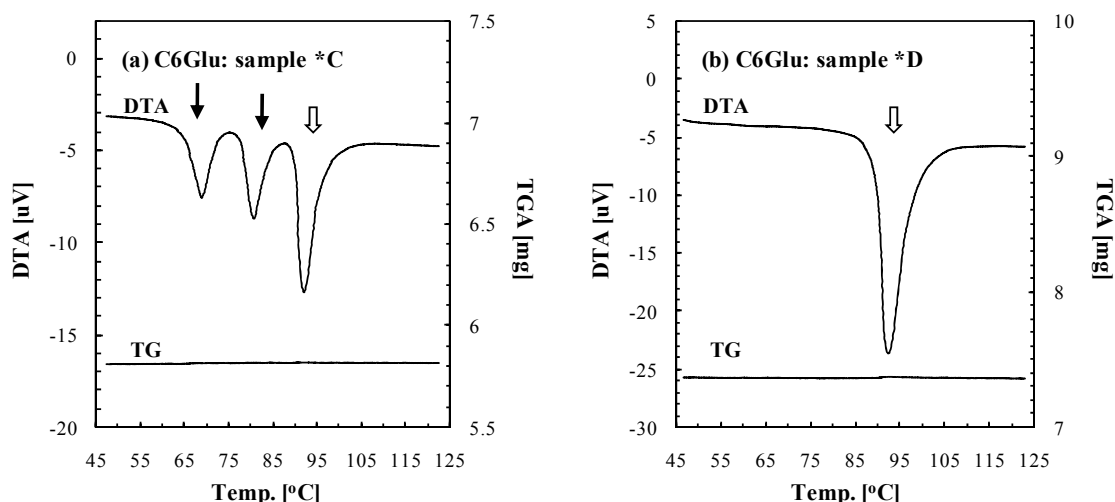


Figure 2-12 C1Glu から C6Glu までの CnGlu 結晶の DSC における融解曲線。測定条件： 試料量 6 - 8 mg。窒素雰囲気下、2 °C/min 昇温。\* 試料 C, D : 2-2-3 記載。

試料 C の吸熱ピークは主たる融解ピークを 78 °C 付近としており、それは試料 D よりも 10 °C 程度低温に位置する。試料 C を 80 °C にてアニーリングして得た試料 D において、主たる融解ピークは認められず、90 °C に見られる小さな融解を示す結晶のみが残ることとなった。その状態で等温放置することで、試料 D のように 90 °C における単一の明確な吸熱ピークを生じたことは、80 °C での等温保持が 90 °C において融解を示す結晶を成長させたことを意味している。すなわち、C6Glu における熱履歴にともなう特異な吸熱ピーク挙動は、C6Glu が異なる結晶相を形成する結晶多形性を有していることに起因すると考えられた。

Kocherbitov らと Ericsson らは、octyl  $\alpha$ -D-glucoside, dodecyl  $\beta$ -D-glucoside などの融解過程では、少量の水の存在により、無水下における結晶相の融解開始温度よりも低温領域において新たな吸熱ピークを示したことを報告している。<sup>[15, 27]</sup> しかしながら、本研究において、それぞれの融解曲線を示した C6Glu の試料パンは密閉されており、試料 C から D を作製するさいにも、重量変化は認められなかった。

しかし、秤量では見極めが困難なごくわずかな水の存在が吸熱ピークをもたらした可能性を考慮し、試料 C と D と同様の履歴を有する C6Glu 試料（同じく試料 C, D で示す）について、DTG 測定を行った。Figure 2-13 は C6Glu 試料 C と C6Glu 試料 D のそれぞれを DTG 測定した際の結果である。Figure 2-13 (a) の C6Glu 試料 C では、幾つかの吸熱ピークが観察され、Figure 2-12 の試料 C の DSC 測定と類似の挙動を示したことが認められたが、その際 TG 曲線において重量変化はまったく示さなかった。同様に、Figure 2-13 (b) の試料 D においても TG 曲線において全く重量変化は認めることはできなかった。これらの結果は、C6Glu の熱履歴による融解挙動の相違は微量の水分が含まれることに起因しておらず、C6Glu の結晶多形性に起因するものであることを明らかとした。



**Figure 2-13** 異なる熱履歴を有する C6Glu 試料の DTG 測定結果。(a) 試料 C。(b) 試料 D。白矢印は同一温度における吸熱ピークを示している。**測定条件:** 試料量 (a) 5.82 mg, (b) 7.37 mg。窒素ガス雰囲気下、5 °C/min 昇温。白矢印は同一温度を示す。\* 試料 C, D : 2-2-3 記載。

続いて Figure 2-14 に C7Glu から C12Glu までの結晶相を融解させた際の DSC 測定結果を示した。C7 以上の疎水鎖を有する CnGlu の多くは二つの融解挙動を示すことは既に報告されており [13, 15, 18-23]、本研究でも同様の吸熱挙動を示すことが観察された。二つの融解は図中、白および黒の太矢印でそれぞれ示されている。2-1-5 で述べたように、無水 CnGlu におけるこのような二つの融解挙動において、低温側の白矢印で示されたピークは結晶格子内における疎水鎖部分の融解、高温側の黒矢印で示されたピークは、長距離構造の消失に相当する。すなわち、白矢印よりも低温側の領域では、結晶として存在し、白矢印と黒矢印のピーク間の温度領域では液晶、そして黒矢印で示されるピーク後は等方性の融液として存在していることとなる。そのため、白矢印は結晶相の融解する温度 ( $T_m$ ) に相当し、黒の太矢印は液晶相が融解する温度 ( $T_c$ : clearing point) に相当する。この場合の結晶相の融解は液晶相への転移であり、完全な等方性融液への転移ではないが、結晶相の融解開始に相当することは事実であるため、Hoffmann らと同様  $T_m$  を使用した。[12]

実線矢印で示された吸熱ピークについては不明瞭な点が多く、あまり理解されていないが、結晶間での構造変化に由来するピークと考えられている。[17, 18, 21, 22] これらの相転移は白い矢印に相当する結晶相の融解が終了しない限り、冷却過程においてわずかな過冷却のもと出現するといった挙動が認められている。先の C6Glu で観察された特異な吸熱ピークはそのような挙動は示さなかったため、これらとは異なるものと理解された。Ericsson らは C12Glu をわずかに吸水させた場合、48 °C 付近に吸熱ピークを示すことを報告しているが [15]、本研究ではそれは見られておらず、本研究で作製した試料が無水状態であることが支持された。

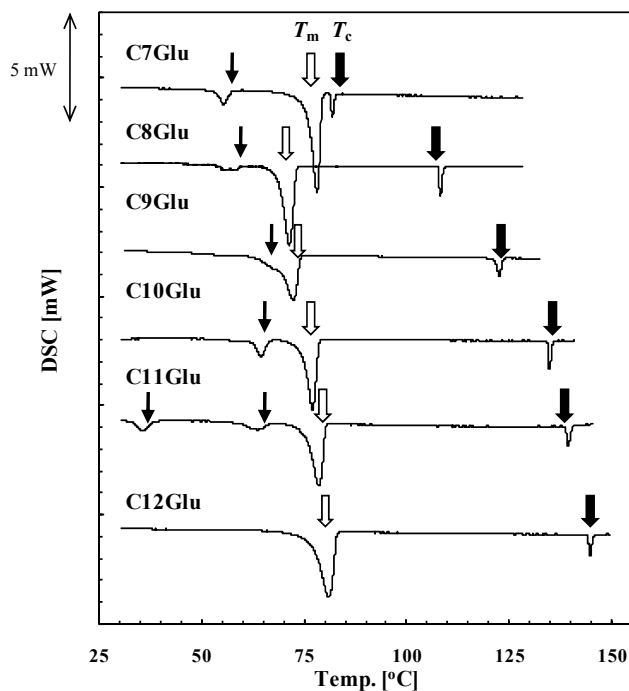


Figure 2-14 CnGlu (C7-C12) の DSC における融解曲線。測定条件： Figure 2-12 参照。

### 2-3-3 無水 CnGlu のガラス転移挙動

C1Glu から C5Glu までの融液を $-10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  の冷却速度で $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  まで冷却し、その後  $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  で昇温させた際の DSC 曲線を Figure 2-15 に示した。図中、C1Glu から C5Glu では、総じてガラス転移を示す明確な段差が認められた。そして、このガラス転移温度は疎水鎖長の増加とともに、低温側へと推移していくことが観察された。これは、液晶形成を示さない無水 CnGlu において、疎水鎖長の増加はガラス形成能を低下させたことを示している。

続いて、C6Glu から C12Glu までの上記と同条件下における DSC 測定結果について Figure 2-16 に示した。図中、C6Glu から C12Glu においても、同様の測定条件によりガラス転移を示すことが認められた。ここで特筆すべきことに、C6Glu から C12Glu では疎水鎖長の増加に伴うガラス転移温度の低下はまったく認められなかった。そして、興味深いことに Figure 2-14 では、C6Glu は“二つの融解挙動”を示さなかったが、Figure 2-16 では他の CnGlu と同じように、ガラス転移とその後一つの吸熱ピークを示すことが観察された。C7 以上の CnGlu が示す吸熱ピークは、先の液晶が等方性融液へと転移する相転移温度  $T_c$  と同一の温度を示しており、それらは液晶相が等方性融液へと転移をしたものと理解された。 $T_c$  は疎水鎖長の減少とともに低下しているため、C6Glu が示す未知ピークもそれらと同じく液晶-等方性融液間の相転移挙動に相当すると考えられた。類似の挙動は pentyl  $\alpha$ -D-thio-glucoside において見られており、それについて Doren らは、冷却過程において再結晶化することなく準安定相の液晶相が先に形成し、それが昇温過程において融解を示したと記述している。[28] 本研究でも C6Glu が示した吸熱ピークは  $T_c$  に相当すると考えた。DSC 測定で得られた  $T_m$ ,  $T_c$ ,  $T_g$  などの各種温度を Table 2-4 にまとめた。また、炭素鎖長の変化に伴う  $T_m$ ,  $T_c$ ,  $T_g$  の挙動について Figure 2-17 と 2-18 に示した。

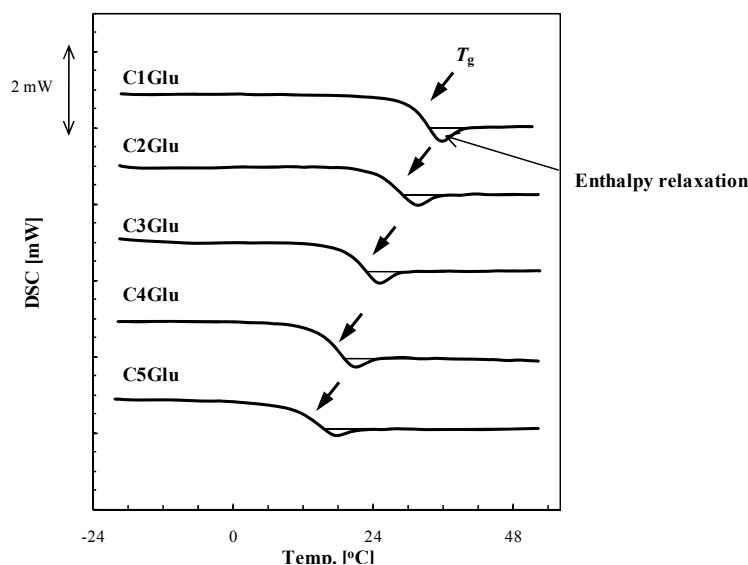


Figure 2-15 C1Glu から C5Glu までの CnGlu のガラス転移挙動。測定条件：試料量 6-8 mg。窒素ガス雰囲気下、 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  で冷却した後、 $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  昇温。

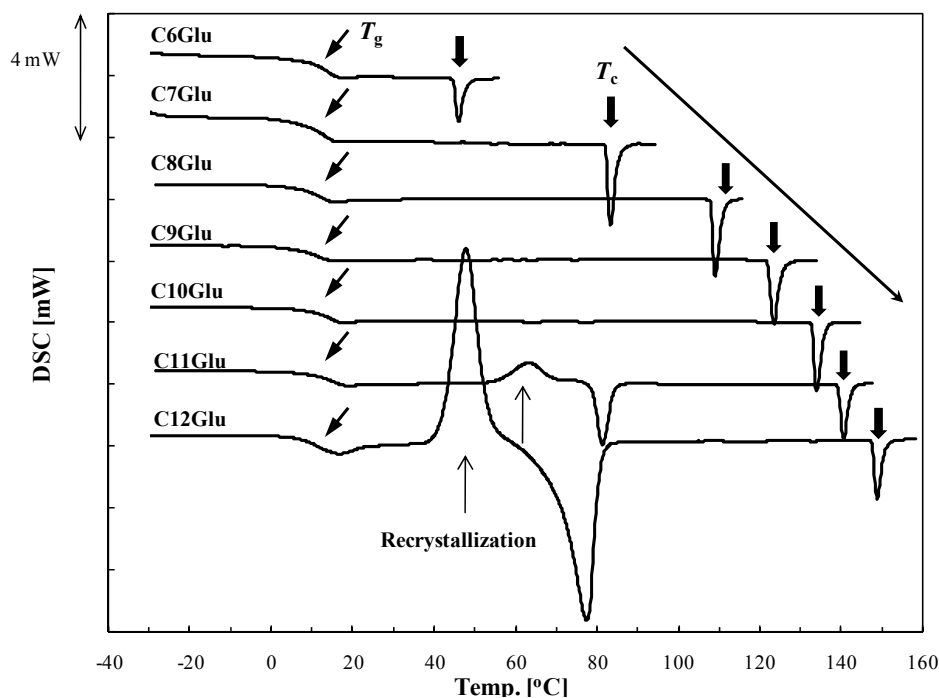


Figure 2-16 C6Glu から C12Glu までの CnGlu におけるガラス転移挙動とその後の融解挙動。  
測定条件： 試料量 6 - 8 mg。窒素ガス雰囲気下、10 °C/min 昇温。

Table 2-4 CnGlu (n = 1, 2, 3, ..., 12) の  $T_m$ ,  $T_c$ ,  $T_g$  値

Compound	$T_m$ [°C]	$T_c$ [°C]	$T_g$ [°C]	$T_g$ [K] / $T_m$ [K]
C1Glu	113.5 (—)	—	31.1	0.787
C2Glu	81.0 (82-84) <sup>ref.[29]</sup>	—	27.2	0.848
C3Glu	103.0 (97-99) <sup>ref.[30]</sup>	—	20.6	0.781
C4Glu	84.3 (84-85) <sup>ref.[30]</sup>	—	16.3	0.81
C5Glu	90.0 (89-91) <sup>ref.[30]</sup>	—	13.0	0.788
C6Glu*	77.0, 88.3 (88-89) <sup>ref.[30]</sup>	44.89 (—)	12.0	0.789, 0.810
C7Glu	75.6 (68-78.3) <sup>ref.[23]</sup>	81.3 (85) <sup>ref.[31]</sup>	12.2	0.810
C8Glu	68.4 (67.07) <sup>ref.[31]</sup>	108.7 (106.38) <sup>ref.[31]</sup>	11.5	0.818
C9Glu	70.5 (65.7-73.3) <sup>ref.[23]</sup>	122.0 (123-126) <sup>ref.[23]</sup>	11.6	0.833
C10Glu	74.8 (73.7) <sup>ref.[13]</sup>	134.3 (132.1) <sup>ref.[13]</sup>	12.1	0.829
C11Glu	75.6 (76.5) <sup>ref.[32]</sup>	138.8 (139) <sup>ref.[31]</sup>	12.2	0.820
C12Glu	76.8 (80.4) <sup>ref.[31]</sup>	143.5 (144.9) <sup>ref.[31]</sup>	12.3	0.820

それぞれの  $T_m$  と  $T_c$  は、DSC 曲線で見られた吸熱ピークにおける、直線性の最も良い部分をベースラインまで外挿することで得た。 $T_g$  は Figure 2-2 に示した手法から求めた。

\*: C6Glu は Figure 2-12 で見られた二つの融点 ( $T_m$ ) を記載した。Figure 2-16 で見られた吸熱ピークについては、2-3-4 からスメクチック A 相-等方性融液間の相転移と断定した。



Figure 2-17 は横軸に  $C_nGlu$  のアルキル鎖長、縦軸を温度とし、 $T_m$ ,  $T_c$ ,  $T_g$  をそれぞれプロットしたものである。C6Glu では異なる結晶構造の融解が考えられたことから、二つの  $T_m$  をプロットした。

まず、 $T_m$  は C1 から C6 までの範囲では、アルキル鎖の炭素数増加に伴い、奇数では高温から、偶数では低温側から C6Glu の  $T_m$  に収束していくことが観察された。このような  $T_m$  において炭素数の偶数または奇数の相違でジグザグの傾向を示すことは、偶奇挙動としてよく知られている。<sup>[33]</sup> 他方で、炭素数が C6 以上となると、偶奇効果は見られず、さらなる炭素数の増加に際して、C8Glu で最小値を得た後わずかに上昇していく挙動が見られた。

一方、C6 以上で観察された  $T_c$  は、アルキル鎖の上昇とともに高温側へと推移していくことが認められた。アルキル鎖の上昇により、疎水性相互作用がより強固となることで、より高温まで液晶相が安定に存在できるようになったと考えられた。

$T_g$  については Figure 2-15, 2-16 で述べたように、C1 から C5Glu まで炭素数の上昇に伴い低下していき、C5 から C12 までの炭素数では、ほとんど相違は見られなかった。これは、C5 以下と C6 以上で炭素数の変化が与える効果が明確に異なっており、C6 以上では  $T_g$  が認められたことから液晶相の形成有無に起因する相違が示されたと考えられる。Figure 2-16 に見られように、C6 以上では  $T_g$  よりも高温側において液晶相-等方性融液の相転移を示していることから、C6 以上の  $C_nGlu$  では  $T_g$  において液晶ガラスを形成しているものと考えられる。この点については 2-3-4 で偏光顕微鏡 (POM) 観察を用いてさらに検討している。

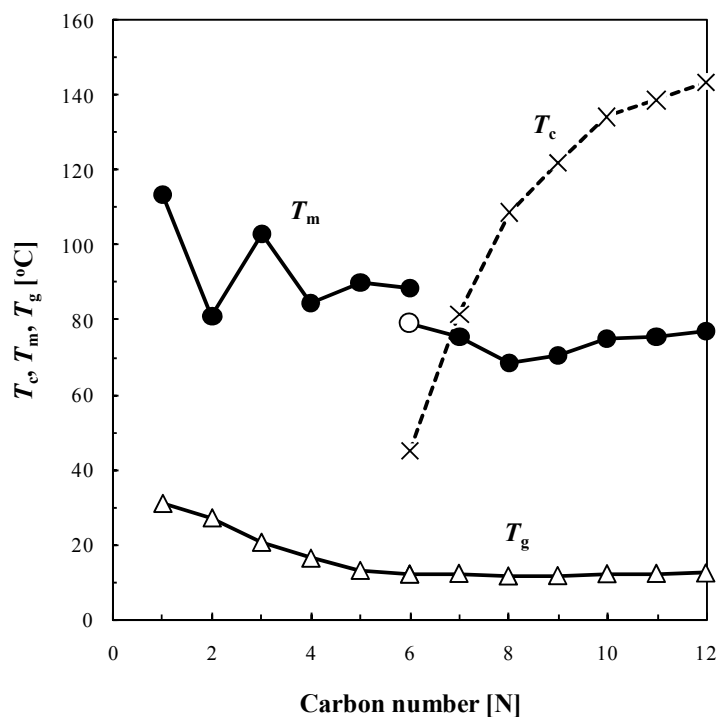


Figure 2-17 アルキル鎖の炭素数[N]と  $T_m$ ,  $T_g$ ,  $T_c$  の関係。

多くの無機ガラスや高分子化合物の  $T_g$  は、その物質の  $T_m$  に大きく依存することが良く知られている。<sup>[1]</sup> 無機ガラスでは  $T_g [K] / T_m [K] = 2/3$  程度を示し、高分子化合物では  $T_g / T_m = 2/3$  または  $1/2$  のものが多く存在することが知られる。Hoffmann らはアルキルグルコシド同族体において  $\alpha$ -アノマー異性体の  $T_g / T_m$  はアルキル鎖を C7 から C10 とする際、0.78 - 0.80 の間で一定であったことを述べた。<sup>[12]</sup> これは上述した物質と類似の挙動と捉えられる。

しかしながら、Figure 2-14 で示されたように、C7Glu より鎖長の長い CnGlu は二つの融解挙動を示し、それは相当する  $\alpha$ -アノマーでも観察されている。それらの化合物において  $T_m$  は結晶相の融解開始に相当することに間違いはないが、 $T_m$  では完全な融液とはならず、あくまで  $T_c$  ですべての規則性を有する構造が消失する。そのため、 $T_g / T_m$  のみならず炭素数の変化に伴う  $T_g / T_c$  値を検討することは重要と考えられる。実際、 $\alpha$ -アノマーの  $T_g / T_c$  は Hoffmann が測定した鎖長の範囲では 0.66 から 0.70 の値を示しており、それは無機ガラスや一部の高分子で見られる  $T_g / T_m = 2/3$  に近い。Hoffmann らが示しているように、 $T_g / T_m$  の関係のみをえて、他の物質と類似の挙動を示したと述べるのは Hoffmann らの結果のみでは言いきれないと考えられる。本研究では二つの融解挙動を踏まえ、 $T_g / T_m$  と  $T_g / T_c$  の二つの関係について注目し、検討した。

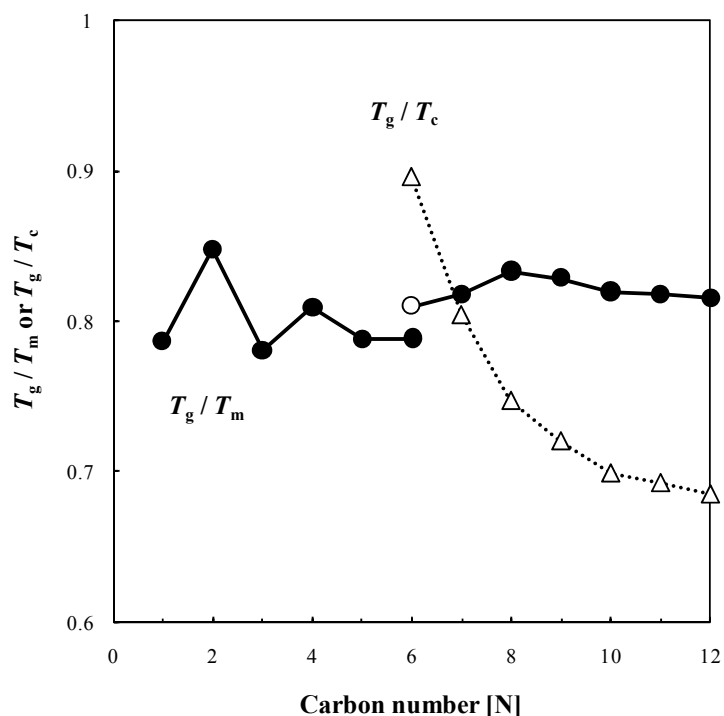


Figure 2-18 CnGlu のアルキル鎖の炭素数[N]と  $T_g / T_m$  および  $T_g / T_c$  の関係。

Figure 2-18 はアルキル鎖の炭素数の変化に伴う  $T_g / T_m$  と  $T_g / T_c$  の関係をプロットした図を示している。この結果は、Hoffmann らの記述と一致することを示した。まず初めに  $T_g / T_c$  を見てみると、疎水鎖長の増加にともない、明らかに減少していくことが認められた。これは、単純に疎水鎖長の増加による  $T_c$  上昇の影響を受けている結果と捉えられた。

他方で、 $T_g / T_m$  を見ると C1 から C6 まで偶奇を伴いながらも C6Glu が示す 0.79 に収束していき、C6 以上では 0.81 から 0.83 の間で大きく変化しない挙動を示した。C6Glu において二つのプロットは、Figure 3-10 から示唆された C6Glu の異なる結晶相の融点から得たものであるが、安定相であった高温の融点よりも、準安定相の低温の融点から得た  $T_g / T_m$  はより C7 以上と連続的な値を示した。これより、低温側の融解は C6Glu が融液から冷却される際に過冷却下で液晶相を形成し、その構造が部分的に維持された状態で結晶化した結晶相の融解に相当する可能性が考えられた。C6Glu では、 $T_c$  が  $T_m$  よりも低温側で認められたため、そのような特異な結晶化挙動を示したと推察された。

Figure 2-18 より、C6Glu より長鎖の同族体において  $T_g / T_m$  は一定値を示し、 $T_g / T_c$  はアルキル鎖長の増加に伴い減少を示す挙動が認められた。 $T_g / T_m$  が重要であることを指し示す根拠は、C1Glu から C12Glu にいたるまで  $T_g / T_m$  が 0.78 から 0.848 の間に収束している点である。Hoffmann らは短鎖のアルキル鎖長を有するグルコシドでは比較していないが<sup>[12]</sup>、本研究により  $T_g / T_m$  の意義が明確に示された。すなわち、Figure 2-14 で見られるように、 $T_m$ 、 $T_c$  という二つの融解挙動を示す CnGlu における  $T_m$  は、単一の融解挙動を示す非液晶形成化合物の  $T_m$  と非常に類似した性質を有するものと考えられる。

## 2-3-4 偏光顕微鏡 (POM) による無水 CnGlu の相転移挙動の観察

### 1) 無水 CnGlu のサーモトロピック液晶の観察

#### ・無水 C6Glu の液晶相観察

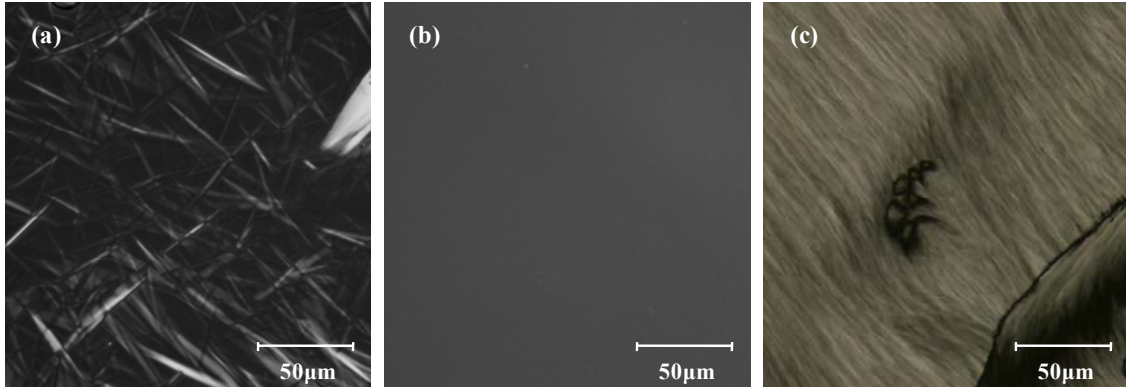
2-3-3 において C6 以上のアルキル鎖を有する CnGlu では液晶相を形成することが確認された。C6Glu における液晶相の形成はこれまで報告されていないため、POM 観察を行うことで無水 C6Glu が液晶相を形成しているかどうかについて検討した。その確認のために、液晶相形成が確認されていない C5Glu と、液晶相形成が示唆された C6Glu を比較対照し、融解時、冷却時そして再結晶化時の画像観察を行った。なお、C6Glu では異なる結晶相の出現が示唆されているが、ここで述べる結晶相とは  $T_m$  を 88 °C とする熱力学的に安定な結晶相である。

Figure 2-19 に C5Glu と C6Glu の (a) 融解、(b) 冷却、(c) 再結晶化過程の POM 画像を示した。結晶相の融解過程を示した画像(a)では、それぞれは等方性融液からの結晶成長する際に観察される針状結晶構造を示した。<sup>[34]</sup> これは、それぞれの結晶が非液晶形成化合物により形成されていることを示すものである。しかしながら、それぞれを冷却した画像(b)は、C5Glu は暗視野であった一方で、C6Glu では異方性の存在を意味する偏光下での模様を示した。そして、それぞれを結晶化させた結晶状態である(c)では、C5Glu は針状結晶が堆積した形態を示した一方で、C6Glu ではスメクチック A (SmA) 相から結晶化が生じる際に観察されるスフェルライト構造を示した。<sup>[34]</sup> これは、C6Glu が冷却過程において再結晶化する前に液晶相を形成し (b)、それが結晶化することでスフェルライト構造を示したと考えられる (c)。これより、C6Glu の液晶形成とその結晶多形性が示されたと言える。

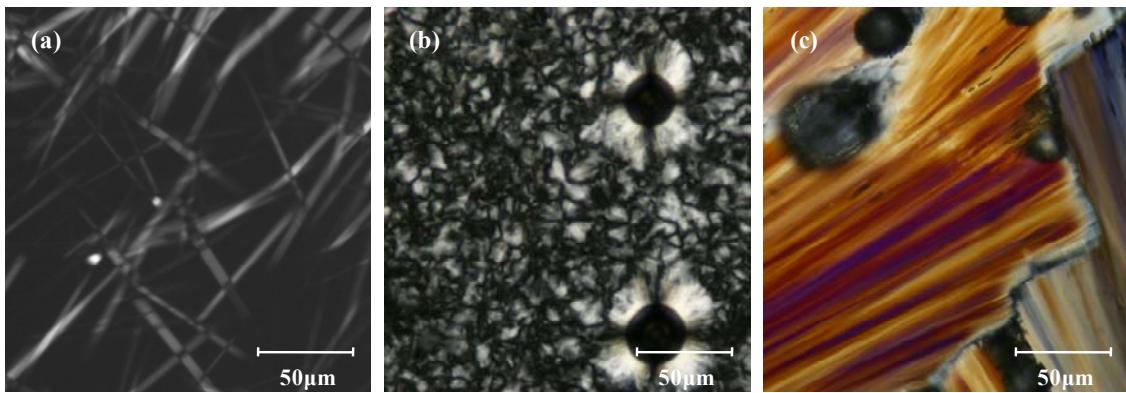
#### ・無水 C6Glu が形成するサーモトロピック液晶相の同定

C6Glu の低温下における異方性相が認められたため、続いてその種類について検討を行った。これまで報告されている無水 CnGlu が示す液晶相は SmA 相であることが知られている。<sup>[18-20]</sup> それらは、昇温 POM 観察において見られるオイリーストリーク構造により見極めることが可能である。本研究において、C7 から C12Glu に至る CnGlu のオイリーストリーク構造 (異方性帯状模様) は、ゆっくりと  $T_c$  付近まで温度を上昇させることで容易に観察することができた。オイリーストリーク構造以外の暗い部分は垂直配向構造であり、これは SmA 相の特徴を示している。<sup>[35]</sup> C6Glu では  $T_c$  は  $T_m$  よりも低温であるため、上述の手法によりオイリーストリーク構造を観察することはできなかった。しかしながら、結晶相を融解させ、気泡存在下において冷却していくと  $T_c$  以下では、気泡の周りでのみ異方性を示し、そしてさらに周辺では垂直配向により暗視野を示すといった、しばしば SmA 相で見られる画像が観察された。<sup>[36]</sup> これより、C6Glu も他の CnGlu と同様に SmA 相を形成していることが明らかとなった。

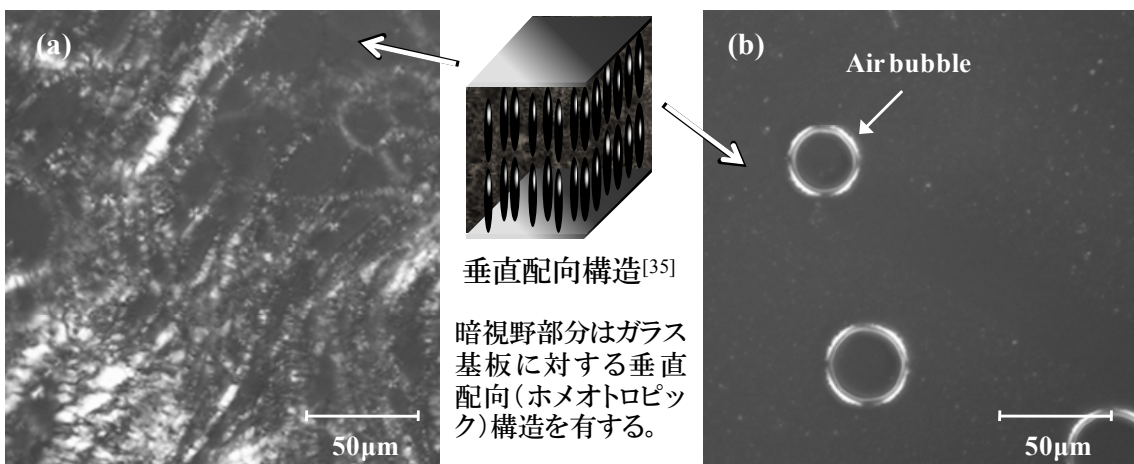
(上) C5Glu



(下) C6Glu



**Figure 2-19** (上) C5Glu と(下) C6Glu の一連の相挙動を示す POM 画像。測定条件: (a)結晶相の融解過程 ( $T_m$  近傍: C5Glu : 90 °C, C6Glu : 88.3 °C)。 (b) 融解後、-10 °C/min で 25 °C まで冷却、同温において観察。 (c) 25 °C 1day 放置後。



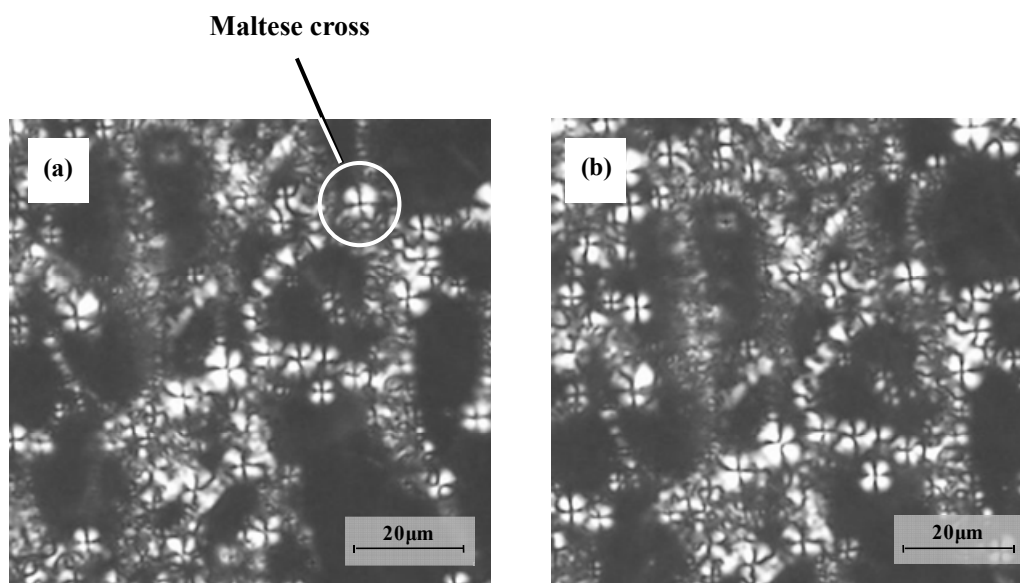
**Figure 2-20** CnGlu の SmA 相の観察。(a) オイリーストリーク構造 (C7Glu) , (b) 垂直配向による暗視野領域が出現 (C6Glu)。測定条件: (a)  $T_c$  まで昇温し撮影 (C7Glu の  $T_c$  : 81.3 °C)。 (b) 融液を  $T_c$  以下の 25 °C まで冷却、撮影 (C6Glu の  $T_c$  : 44.9 °C)。

## 2) SmA 相でのガラス形成挙動の観察

### ・ 薄膜状試料を用いた $T_g$ 前後での POM 画像観察

Figure 2-16 において述べたように、C6 よりも長鎖の CnGlu のガラス転移は相当する  $T_c$  よりも低温側で観察され、液晶相において生じていると考えられる。その考察を実証する目的で、ここでは  $T_g$  以下の温度において POM 観察を行い、ガラス転移温度 ( $T_g$ ) 以下における異方性相の存在の有無について検討した。

Figure 2-21 に、 $T_c$  付近で作製したオイリーストリーク構造を有する C8Glu を冷却した際の POM 画像を示した。(a), (b) は  $T_g$  を 11 °C 付近に有する無水 C8Glu の 25 °C と -50 °C における POM 画像である。(a), (b) ともに SmA 相由来のオイリーストリーク構造とマルターゼクロスの模様が画面中に観察された。両者を比べた結果、(a) の 25 °C と  $T_g$  以下である (b) の -50 °C のそれぞれの画像において、なんら相違は認められなかった。これは、C8Glu の  $T_g$ , 11.5 °C 以下においても液晶構造は変化せず、同様の構造を維持したままガラス化していることを示している。すなわち、本研究で使用した CnGlu は、 $T_g$  以下において SmA 相と同じ構造を有する液晶ガラスを形成していることが明らかとなった。



**Figure 2-21** オイリーストリーク構造とマルターゼクロス模様を示す C8Glu の POM 画像。  
(a) 25 °C. (b) -50 °C. **測定条件:**  $T_c$  付近でオイリーストリーク構造を形成させた後、-5 °C/min  
で冷却。

• 厚膜状の試料を用いた  $T_g$  前後での POM 画像観察

液晶ガラスが存在する根拠を得るため、厚めの試料を用い、 $T_g$  前後の画像を POM により観察した。この際、試料の厚さのため、鮮明なオイリーストリーク構造は得ることはできず、暗視野部は認められなかった。

偏光下に無水 C8Glu の POM 観察を  $T_g$  (11.5 °C) と -50 °C において行ったところ、厚め試料では  $T_g$  以下で Figure 2-22 の点線で囲まれた領域全面において亀裂のような模様が生ずるのが観察された。このような亀裂は、非偏光下の通常光による光学顕微鏡により明確に認められた (Figure 2-23)。亀裂は昇温し  $T_g$  以上となると消失した。これらの事実は、C8Glu が  $T_g$  以下において、ガラスのような機械的な強度となったことを示している。

この結果もまた、CnGlu が液晶ガラスを形成していることを強く支持するものである。

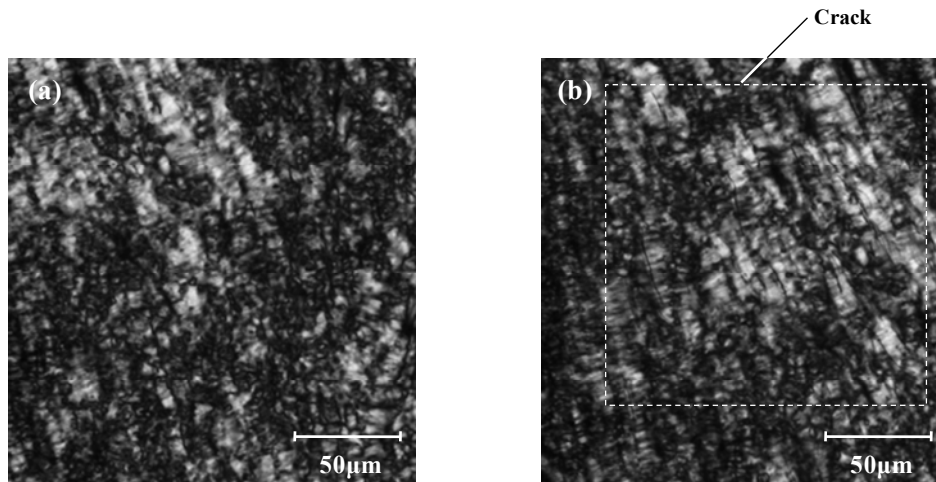


Figure 2-22 厚膜試料における C8Glu の POM 画像。(a) 11.5 °C。(b) -50 °C。

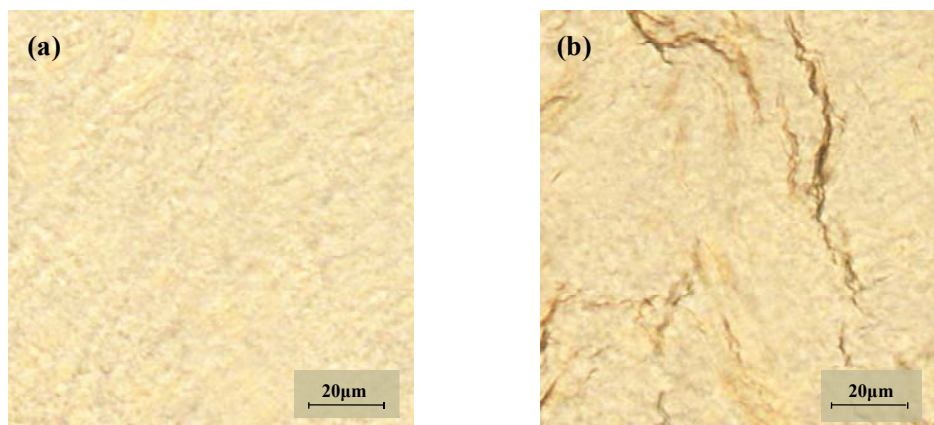


Figure 2-23 厚膜試料における C8Glu の非偏光下画像。(a) 11.5 °C。(b) -50 °C。

### 2-3-5 XRD 測定による CnGlu の過冷却 SmA 相の構造解析

これまでの検討により C6Glu から C12Glu までの CnGlu では SmA 相を形成し、それは  $T_g$  以下においても同様の構造を保持していると考えられた。そこで、ここでは常温における過冷却下 SmA 相を XRD 測定することで、疎水鎖長の相違がそれぞれの CnGlu の SmA 相にどのような影響をおよぼすかを検討し、さらにそれらの  $T_g$  が疎水鎖長の変化によって大きな相違を示さなかった事実はいかなる機構に基づいているのか SmA 相の構造と共に考察した。

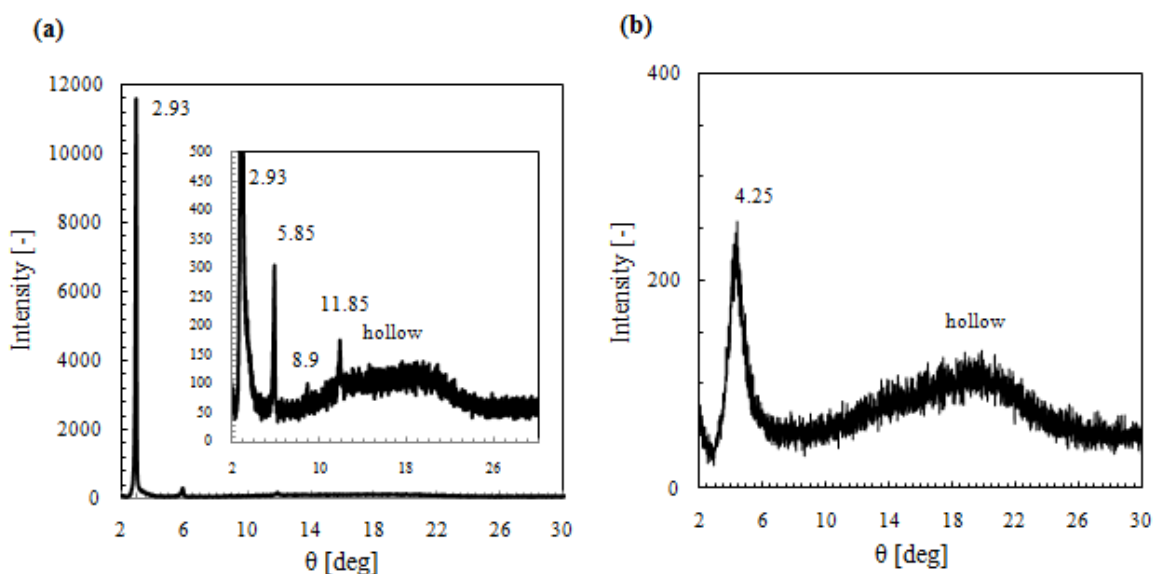
結晶充填構造を検討するにあたり、疎水鎖長のみ異なる誘導体同士の層状構造の層間距離  $d$  を比較する手法は、類似結晶構造を示す化合物において有効な手段であり、これまでも alkyl glycoside 構造の解析に用いられている。<sup>[12,20]</sup> その中では、CnGlu についてもいくつか報告がなされており、検討されている。

Chapman によれば、ラメラ相の層間距離を  $d$  としたとき、疎水鎖の炭素数  $n$  と、単位炭素当たりの増加分  $c$ 、そして親水部構造の寄与に相当する  $k$  を用いることで、

$$d = nc + k \quad (2-1)$$

が得られることを述べられている。<sup>[37]</sup> すなわち、いくつかの炭素数を変化させることで得られたそれぞれの層間距離の線形近似式を得ることで、その傾きから一炭素当たりの寄与  $c$  と、親水部構造の寄与  $k$  が決定されることを述べている。なお、 $k$  には親水部構造の寄与のみならず末端メチル基の寄与も含まれる。

Figure 2-24 に、本研究において行われた常温下の C5Glu の過冷却融液と C10Glu の過冷却液晶相の XRD 測定結果を示した。



**Figure 2-24** (a) C10Glu の過冷却 SmA 相。(b) C5Glu の過冷却融液。測定条件：常温下。X線源: CuK $\alpha$  (1.542 Å, 40 kV and 40 mA)。スキャン速度：9.0 deg/min。



Figure 2-24 において(a)は C10Glu の結晶相を 120 °C まで昇温して融解した後、常温まで冷却することで過冷却 SmA 相を形成した状態で XRD 測定したものである。明らかに大きな強度を示す回折ピークとして 2.93 [deg]が観察され、スケールを変えた挿入図ではさらに 5.85, 8.9, 11.85 [deg]にそれぞれ回折ピークが認められる。また、20 [deg] 周辺は層内の秩序に関するピークであり、ハローは部分的に非晶であることを示し、SmA 相に観察される特徴の一つである。<sup>[38]</sup> それぞれの回折ピークは  $2d \sin\theta = \lambda$  の関係より、それぞれ 30.2, 15.1, 9.94, 7.47 [Å]の距離として算出され、それらは  $30.2 : 30.2 / 15.1 : 30.2 / 9.94 : 30.2 / 7.47 = 1 : 1/2 : 1/3 : 1/4$  とラメラ相の面間隔比に相当することから、SmA が層状構造を有していることがわかる。この C10Glu の SmA 相の層間距離  $d$  は最も低角度側に出現する回折ピークから算出された 30.2 [Å]である。C10Glu を除く C6 から C12 までの C<sub>n</sub>Glu についても同様に解析された。なお、本研究においては C7 から C12 までの C<sub>n</sub>Glu が層状を支持する面間隔比が明確に観察され、C6 では低角側の第一回折ピークに対して 1/2 とする面間隔比を有する回折ピークのみ観察された。

異方性の液晶相の存在が認められなかった C5Glu でも弱いながらもわずかに回折ピークを示すことが観察された。液晶相ほどの配向性は有しておらずとも、4.25 [deg]の回折ピークに相当する 20.8 [Å]を長軸とする規則だった構造で存在していると考えられた。なお、C5Glu の結晶相は 4.25 [deg]とは異なる場所に第一回折ピークを示しており、区別されている。Table 2-5 にそれぞれの SmA 相と結晶相の層間距離  $d$  を示した。Table 2-5 における SmA 相の結果と、Hoffmann らが得た  $\alpha$ -アノマー異性体 (alkyl  $\alpha$ -D-glucoside) の結晶相の  $d$  値について横軸をアルキル鎖の炭素数として Figure 2-25 にプロットした。

Table 2-5 常温下、過冷却下で得られた C<sub>n</sub>Glu の  $d$  値。

Compound	Liquid crystal			Crystal
	$d$ [Å]	$d$ [Å] <sup>Ref. [18]*</sup>	$d$ [Å] <sup>Ref. [20]*</sup>	$d$ [Å]
C5Glu	20.8	—	—	19.4
C6Glu	22.6	—	—	23.6
C7Glu	24.4	22.9	—	27.2
C8Glu	26.3	26.1	25.4	29.7
C9Glu	28.1	27.6	28.1	31.2
C10Glu	30.2	29.5	29.8	34.9
C11Glu	32.0	—	—	36.0
C12Glu	33.7	—	—	36.8

\* Ref.の測定温度は不明。

Figure 2-25 より、本研究で得た C5 から C12 までの CnGlu の SmA 相と C5Glu の融液が示す  $d$  において、(2-1)式は良好に成立したことが認められた。その際の親水部の寄与として 11.2 [Å]が得られた。また、同時プロットした  $\alpha$ -アノマーの結晶相においては、偶数と奇数で挙動は異なるが、それぞれ(2-1)式に良く適合しており、その際の親水部の寄与はそれぞれ 11.0 と 9.4 [Å]であった。偶数の場合においては、本研究の値 11.2 に非常に近い値を示している。他方で、Table 2-5 に示した Ref. [18]の結果を近似した場合  $d = 2.13 N + 8.42$  が得られ、Ref. [20]の結果では  $d = 2.2 N + 7.77$  が得られた。これらは、本研究で得た値 11.2 と大きく異なっているが、Table 2-5 で比較した場合、本研究の結果とこれらの文献値が大きく変わらない点と、文献値には温度が記載されていない点、プロット数が少ない点等を考慮することで、本研究で得られた値は信頼に値するものと言える。本研究で得られた近似直線は  $R^2 = 0.999$  で得られた。

本研究の XRD 測定結果において、C5Glu から C12Glu までの CnGlu で(2-1)式が成立したことから、常温下において形成している液晶相またはわずかに規則性が認められる融液での親水部構造は、すべて同様のものであり、異なる点は疎水鎖部分のみであることが示された。これより、C5 以上の疎水鎖長における CnGlu で  $T_g$  がほとんど変化しなくなったのは、 $T_g$  に対して、疎水鎖間の相互作用の強さはまったく影響を与えておらず、ただ親水部間の相互作用形態がそれらの  $T_g$  を決定しているためであることが示された。C4Glu 以下の融液では XRD において回折ピークは見られなかったため、それらは C5 以上で認められるような規則性だった構造を形成していない。そして、その傾向は炭素数の減少とともに増大するであろうことは容易に想像される。すなわち、C1 から C5 までで見られる疎水鎖長の増加に伴う  $T_g$  の低下挙動は、CnGlu の糖質部分が SmA 液晶相に見られる構造へと近づいていく間での途中の過程に相当する。そして、C5 以上では、疎水性相互作用が強固となり、それにより親水部のコンフォメーションは固定化され、結果それらの  $T_g$  はほとんど定値を示したことが考えられた。

$\alpha$ -アノマー異性体ではこれまで様々の疎水鎖長の化合物の結晶構造が報告されている一方で、本研究で扱っている CnGlu ( $\beta$ -アノマー)では知る限りにおいて、報告されていない。そのため、本研究では CnGlu の C5Glu 以上で形成している糖質構造が如何なるものかについて、 $\alpha$ -アノマーの結晶構造解析の結果を参考とし推察することを試みた。Figure 2-25 において、偶数のものでは(2-1)式における親水部の寄与の項が一致していることから、CnGlu の SmA 相はそれらの結晶構造における親水部構造と類似であると予想した。Figure 2-26 にアノマー異性体の結晶構造を示した。<sup>[39]</sup> 図を見てわかるように、octyl  $\alpha$ -D-glucoside の結晶構造は親水基と親水基とが強固に繋がった head-to-head 型の構造をとっている。

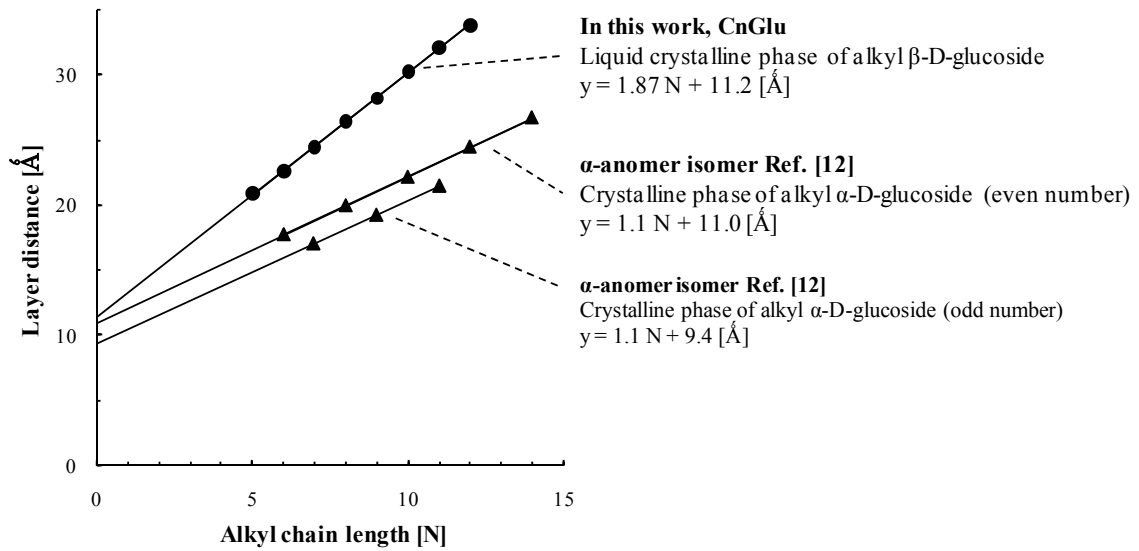


Figure 2-25 CnGlu の SmA 相と  $\alpha$ -アノマーの結晶相の d 値の比較。

おそらく、CnGlu の SmA 相においても同様の head-to-head の構造を取り、その強固な水素結合により、C5 以上のアルキル鎖ではそれぞれの  $T_g$  がまったく変わらない結果を示したものと考えられた。

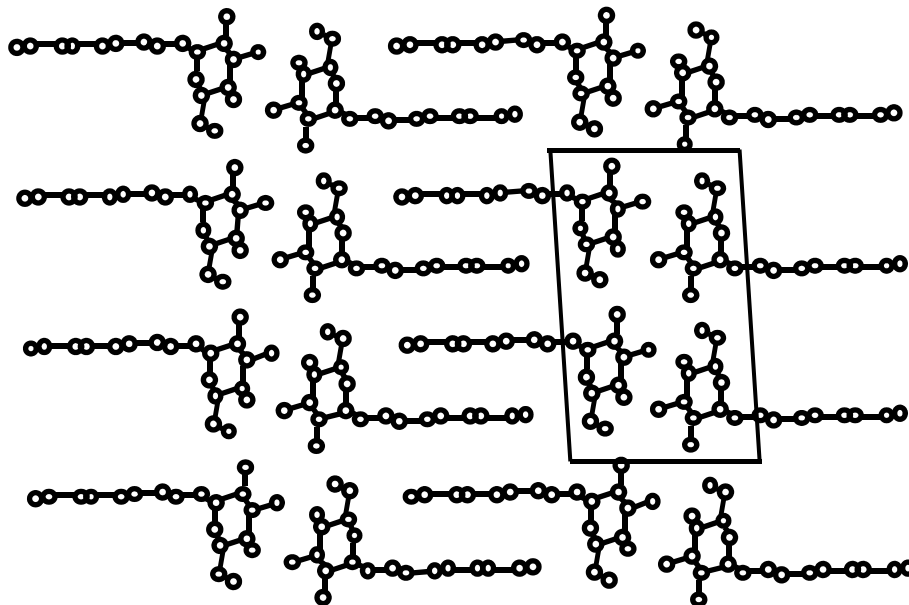


Figure 2-26 Octyl  $\alpha$ -D-glucoside の結晶構造<sup>[39]</sup>

### 2-3-6 CnGlu の液晶相について

一般に二成分系の溶液が相変化を示す場合、系全体の自由エネルギーは減少することとなり、それは、

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2-2)$$

が負であることを意味する。ここで  $\Delta G$  は Gibbs の自由エネルギー変化、 $\Delta H$  はエンタルピー変化、 $T$  は絶対温度 [K]、 $\Delta S$  はエントロピー変化を示す。ここで、親水基間の親和力（水和など）は発熱反応であり、系の自由エネルギーは減少する（ $\Delta H < 0$ ）。一方、疎水基は親水基と馴染まず両者の基の互いの接触を最小とするような変化が生じ、溶解熱は吸熱である（ $\Delta H > 0$ ）。その主たる要因は親水基間の水素結合による凝集力において生じており、すなわち、疎水基同士の間働く分子間力（ファンデルワールス力）に比べ水分子間の水素結合による凝集力は大きく、このため水はエンタルピー的に不利な疎水基との接触を避けるため界面を極小とする。その結果、疎水基周辺の水はバルクの自由に運動している水に比べてより構造的な高い氷のような状態となり、系のエントロピーを減少させ(2-2)における自由エネルギーを増加させる不利な方向への変化をもたらす。<sup>[40,41]</sup> すなわち、親水性物質の溶液へ疎水性物質を加えていく場合、 $\Delta H > 0$ ,  $\Delta S < 0$  が伴うこととなる。その結果、疎水性物質の量が増えていくに従い、疎水性物質はなるべく水との接触を少なくしようとし、溶質間の会合の傾向を生じる。これを疎水性相互作用と呼ぶ。界面活性剤の集合体形成は一般にこの疎水性相互作用によるものと考えられている。

ここで、この疎水性相互作用の概念を用いてサーモトロピック液晶について考えてみる。液晶相が等方性の融液へと相転移する  $T_i$  は、疎水鎖長の増加に伴い高温側へと推移していくことが認められた。これは、疎水鎖長の増加に伴う疎水性相互作用の上昇により、等方性の融液への転移温度が上昇したものと考えられた。そして、XRD の結果から得られた過冷却液晶相のスメクチック A 相の層間距離  $d$  において、炭素数の変化に際しても親水部構造に大きな変化は見られなかったが、これは、疎水性相互作用の向上により親水部はアルキル鎖とできる限り離れようとしており、その結果、CnGlu の過冷却液晶相における親水部構造は大きな変化は示さなかったものと考えられた。さらに、液晶ガラスを形成する CnGlu の  $T_g$  がアルキル鎖の上昇に際して大きな変化を示さなかったのは、親水部構造が類似の構造を有していることに起因していると考えられた。この際、アルキル鎖長の増加に伴って疎水性相互作用も上昇していることが考えられる一方で、 $T_g$  は大きな変化を示さなかったことから、疎水性相互作用は  $T_g$  に顕著な寄与は示していないと考えられ、それは疎水性相互作用の凝集力が、親水基間の相互作用に比べて弱いという知見に従うものと考えられた。<sup>[40]</sup>

また、無機ガラスや高分子の多くの物質で認められている  $T_g / T_m$  が定数となる挙動と類似の挙動を、液晶相を形成しない CnGlu の  $T_m$  と、液晶相を形成する CnGlu の疎水鎖の融解と呼ばれる温度である  $T_m$  において一致が認められたのは、液晶相を形成する CnGlu の  $T_m$

が液晶を形成しない  $T_m$  と類似の意味を持つ値であることを示唆している。そして、Figure 2-14 に観察されるように、 $T_m$  と  $T_c$  のそれぞれの温度で認められる融解エンタルピーは  $T_m$  におけるそれに比べ  $T_c$  におけるそれをはるかに下回ることから、液晶を形成する CnGlu の  $T_m$  は液晶を形成しない化合物の結晶相の融解ととらえることが適当であろうと考えられた。

上述したように CnGlu が形成する液晶相は疎水性相互作用が大きく影響を与えていることから、それは水と油の二相状態のように相分離状態を呈していると考えられ、すなわち単一分子レベルでのマイクロ相分離状態であると考えられる。そして、液晶相の融解と考えられる  $T_c$  はそのマイクロ相分離状態の解消に相当する、二相状態の混合挙動と捉えることができると考えられた。

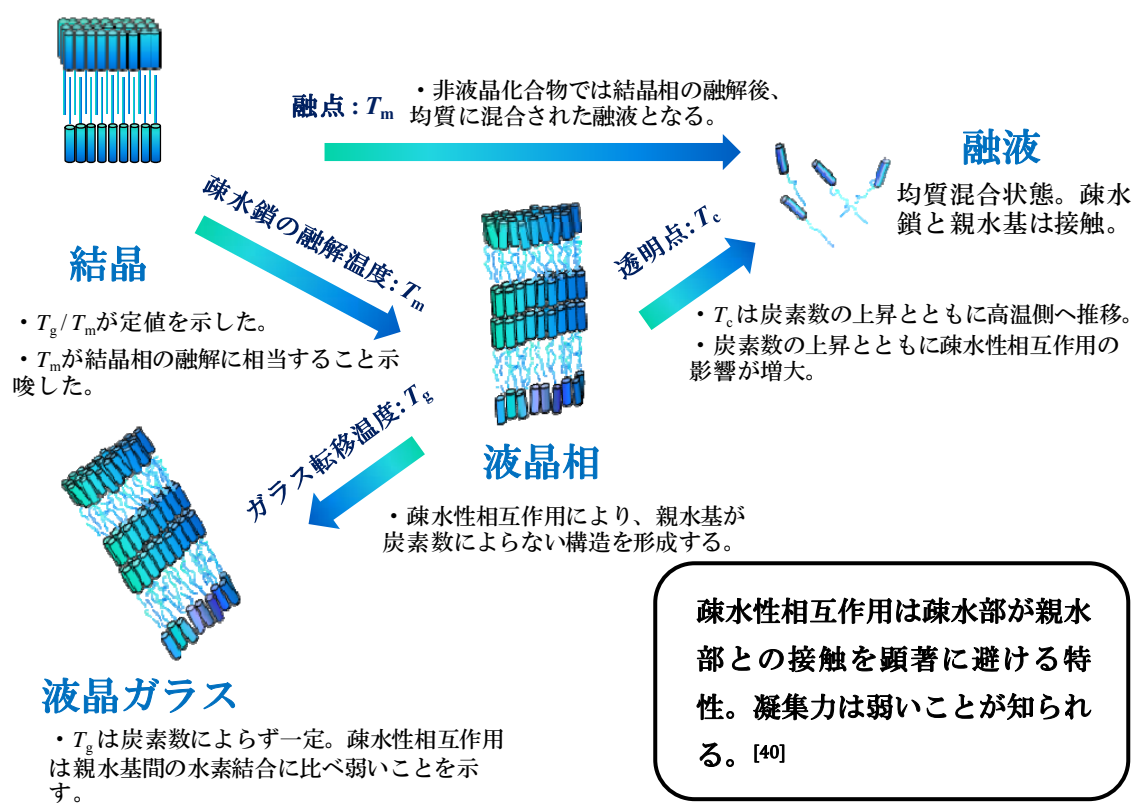


Figure 2-27 液晶相と結晶、融液、液晶ガラスとの相互関係

## 2-4 結論

C1 から C12 までの無水 CnGlu の冷却加温過程について、DSC 測定することで、それぞれの CnGlu においてガラス転移挙動が観察されることを明らかとした。液晶相の存在を明示する二つの融解挙動は C7 以上の CnGlu において認められた。しかし、C6Glu では二つの融解挙動は観察されなかったが、過冷却融液中において SmA 相を形成することが、DSC、POM から認められた。なお、C6Glu では異なる結晶相を形成する結晶多形性を示すことが DSC、DTG、POM により明らかとなった。C5 以下の CnGlu では液晶相の形成は認められなかった。

$T_m$  については C1 から C5 までジグザグに変化する偶奇挙動が観察され、C6Glu の  $T_m$ : 88.3 °C へと収束していくのが認められた。他方で二つの融解挙動を示した C7 以上の CnGlu ではおよそ 65 °C から少しずつ上昇していく傾向を示した。また、C6Glu 以上で認められた液晶相-等方性融液への相転移温度である  $T_c$  は、アルキル鎖の上昇に伴い上昇していく挙動が観察された。そして、 $T_g$  においては C1 から C5 までの CnGlu では、アルキル鎖長の増加に伴って低温へと推移していく挙動が見られたが、C5 以上の CnGlu ではほとんど変化しない結果を示した。また、CnGlu において  $T_g / T_c$  と  $T_g / T_m$  が一定値を示すか否かについて検討した結果、 $T_g / T_c$  ではいかなる関係も認められなかったが、 $T_g / T_m$  はほぼ一定となる傾向を示した。これより、CnGlu が示す  $T_m$  における融解挙動は、液晶形成を示さない一般的な化合物の結晶の融解と非常に類似した挙動を示しているものと考えられた。

C5 から C12 までの CnGlu について常温下、過冷却 SmA 相の XRD 測定を行った結果、液晶相形成が認められた C6 から C12 の CnGlu のみならず C5 においてもある程度の規則性を有することを示す回折ピークの出現が認められた。それぞれの層間距離  $d$  を炭素数  $[N]$  に対してプロットした結果、CnGlu では  $d [\text{Å}] = 1.87 N + 11.2$  の関係を  $R^2 = 0.999$  で示すことが認められた。これは、C5 以上では一つ炭素が増えるごとに  $d$  では 1.87 [Å] の増加を示すが、親水部の寄与に相当する右辺第 2 項はまったく変化していないことを示している。この結果と、上述した C5 以上では  $T_g$  に相違がなかった実験事実とを照合すると、疎水鎖長の増加は C5Glu の融液および C6 以上の CnGlu が形成する過冷却 SmA 相での親水部の構造にまったく影響を与えておらず、 $T_g$  は親水部の構造により決定されていることが明らかとなった。なお、11.2 の値は、すでに報告されている  $\alpha$ -アノマーの結晶構造における親水部が示す寄与と同値であり、それより、CnGlu の過冷却 SmA 相の親水部構造はそれらと同様の構造を示していると予測した。

また、液晶相が示す  $T_c$ 、親水部の構造、 $T_g$ 、さらに  $T_g / T_m$  が定値を示した関係から、疎水鎖の融解と呼ばれる  $T_m$  では、液晶相を形成しない化合物の融点である  $T_m$  と同じく結晶相が融解する挙動を示しており、その後の液晶相は単一分子レベルでのマイクロ相分離状態に相当し、そして  $T_c$  はそのマイクロ相分離状態の解消に相当していると考えられた。

## 第3章

# Octyl $\beta$ -D-glucoside/水混合物系および octyl $\beta$ -D-thio-glucoside /水混合物系のガラス転移挙動

### 3-1 緒言

#### 3-1-1 多成分系におけるガラス転移温度

ガラス転移温度 ( $T_g$ ) は、その前後の温度において様々な物理化学的特性が著しく変化する温度であるため、食品および製剤の長期貯蔵、高分子材料の実用化において特に重要な値である。<sup>[1, 2]</sup> 実際には単一成分では無く、多成分系で用いられるため、様々な混合物の  $T_g$  についての研究は活発に行われている。<sup>[3-9]</sup>

一般に、混合物の  $T_g$  は成分組成によって大きく影響を受ける。中でも混和性が良く、混合することで特異な相互作用を新たに形成しない成分 1, 2 を混ぜ合わせた場合で、成分 1 の  $T_g$  が成分 2 の  $T_g$  に比べて著しく高いとき、混合物の  $T_g$  は成分 1 の増加とともに単調に上昇していく (Figure 3-1)。<sup>[10]</sup> 逆に、成分 2 の増加により  $T_g$  は単調に低下していくこととなる。異物質の添加により  $T_g$  を低下させることを可塑化と言い、その際の添加物は可塑剤と呼ばれる。Figure 3-1 のように、多成分系の  $T_g$  が組成により単調に変動する場合、混合物の濃度- $T_g$  の関係を利用し、濃度未知試料の推算を行うことが可能である。<sup>[11, 12]</sup>

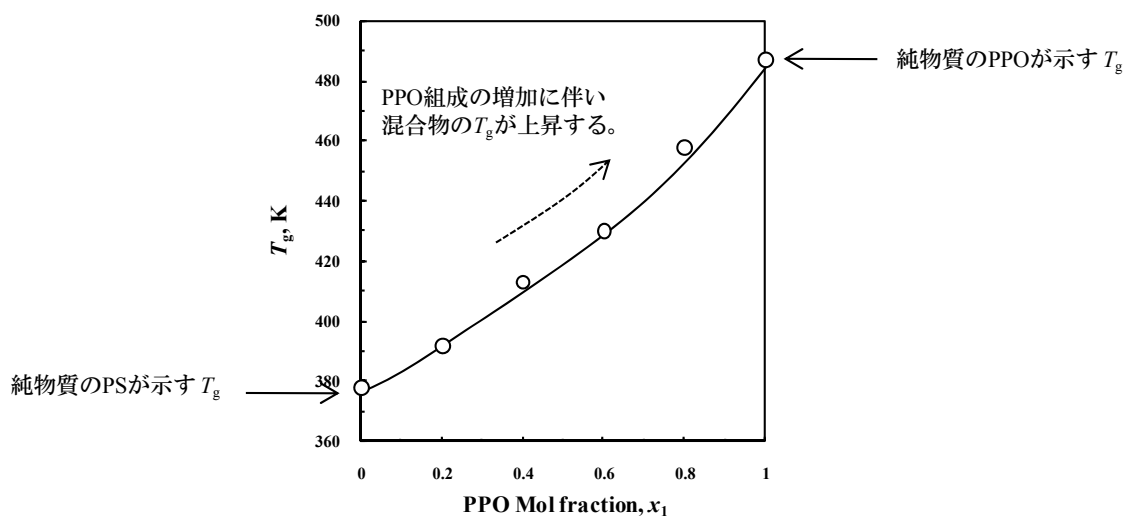


Figure 3-1 Poly (2,6-dimethyl-1,3-phenylene oxide (PPO) / polystyrene (PS) 混合物の濃度- $T_g$  曲線。<sup>[10]</sup>

### 3-1-2 混合物の $T_g$ 予測モデル

純物質成分のパラメーターを用いて、混合物の  $T_g$  を予測する試みは古くからなされている。最も広く知られる  $T_g$  予測モデルは 1952 年に M. Gordon と Taylor により提唱された Gordon-Taylor の経験式で、それは次式で表わされる((3-1)式)。<sup>[13]</sup>

$$T_g = \frac{x_1 T_{g1} + k x_2 T_{g2}}{x_1 + k x_2} \quad (3-1)$$

(3-1)式において、 $x_1, x_2$  は混合物中の成分 1, 2 のモル分率、 $T_{g1}$  と  $T_{g2}$  は成分 1, 2 のガラス転移温度を示している。定数  $k$  は  $(V_2 \alpha_2 / V_1 \alpha_1)$  で定義される定数項で、 $V, \alpha$  はそれぞれの  $T_g$  における自由体積と熱膨張係数である。後に、この(3-1)式は J. M. Gordon らによって、Gibbs と Dimarzio により説明される配位エントロピー理論を用い誘導できることが示された。<sup>[14]</sup> ただし、その際の定数  $k$  は、純物質の  $T_g$  における液相と結晶相の比熱の差を用いて定義されている。

1978 年、Couchman と Karasz らは配位エントロピー理論ではなく、古典的熱力学を用い、さらにガラス転移現象をエーレンフェスト (Ehrenfest) の二次相転移として扱うことで、混合物の  $T_g$  と組成の新たな関係式を導出した。<sup>[10, 15]</sup> それが(3-2)式である。

$$\ln T_g = \frac{x_1 \ln T_{g1} + k x_2 \ln T_{g2}}{x_1 + k x_2} \quad (3-2)$$

(3-2)式における  $k$  は  $\Delta C_{p2} / \Delta C_{p1}$  で定義される定数項で、 $\Delta C_{p1}$  と  $\Delta C_{p2}$  は成分 1, 2 の  $T_g$  における液相とガラス相間の比熱変化  $\Delta C_p$  ( $\Delta C_p = C_p^{liquid} - C_p^{glass}$ ) に相当する。ここでの  $\Delta C_p$  は液相と結晶相間の比熱変化では無い。Couchman は、 $T_{g1} / T_{g2} \approx 1$  という前提が成り立つ場合、(3-2)式は(3-1)式へと誘導でき得ることを述べた (数学的な誘導法については 3-1-3 に記載した)。<sup>[10]</sup> そのため、(3-1)式は Couchman-Karasz の式として用いられることもある。また、Fox により 1955 年に提案された Fox の経験式<sup>[16]</sup> も(3-1)式から誘導できることを Couchman は記述している。<sup>[10]</sup>

上述した、Gordon-Taylor や Couchman-Karasz の式は主として特別な相互作用を形成しない混合物の  $T_g$  予測に良好な結果を示すが、成分間で特に強い相互作用を形成する混合物の  $T_g$  予測には多くの場合成り立たないことが多い。成分間で強い相互作用を形成する混合物は、濃度変化に際し極大値や極小値を示す  $T_g$  曲線を描くことが認められている。<sup>[17-19]</sup> そのような挙動を示す混合物の  $T_g$  予測には(3-1)式の項を部分的に有する Kwei の式<sup>[20, 21]</sup>、Schneider の式<sup>[22, 23]</sup>が用いられることもある。両者の式は純物質成分のパラメーターのみでは無く、実験値に最良適合するようなパラメーターを含み、理論的な意味合いは(3-1)式や(3-2)式に比べ複雑である。<sup>[20-23]</sup>

Williams、Landel、Ferry らにより提唱された粘度に依存する経験式である WLF 式もしばしば  $T_g$  予測に用いられる。<sup>[24]</sup>



### 3-1-3 Couchman-Karasz の式

本節の 3-3-3 で用いる Couchman-Karasz の式について、その理論的背景を以下に示した。Couchman と Karasz はまずガラス転移現象をエーレンフェスト (Ehrenfest) の二次転移として取り扱うことで、組成を変化させた際に、“ $T_g$ におけるエントロピーと体積が連続性を示す”ことを根本原理に据えた。それらのもと、(3-2)式は古典的な熱力学により以下のように誘導された<sup>[10, 15, 25]</sup>。まず、2成分を混合した際の、混合物のモルエントロピー $S$ は、

$$S = x_1 S_1 + x_2 S_2 - R(x_1 \ln x_1 + x_2 \ln x_2) + \Delta S_{\text{mix}} \quad (3-3)$$

で表わされる。ここで  $R$  は気体定数、 $S_1$  と  $S_2$  は成分 1, 2 のモルエントロピー、 $\Delta S_{\text{mix}}$  は混合することで新たに生じる過剰エントロピーに相当する。エントロピーは比熱を用いて、(3-4)式で表わされるため、 $T_g$ における混合物のエントロピーは(3-5)式で示される。ここで  $S_i^0$  は成分  $i$  のガラス転移温度におけるモルエントロピーである。

$$S = S_i^0 + \int_{T_{gi}}^{T_g} \frac{C_{pi}}{T} dT \quad (3-4)$$

$$S(T_g) = x_1 \left\{ S_1^0 + \int_{T_{g1}}^{T_g} \frac{C_{p1}}{T} dT \right\} + x_2 \left\{ S_2^0 + \int_{T_{g2}}^{T_g} \frac{C_{p2}}{T} dT \right\} - R(x_1 \ln x_1 + x_2 \ln x_2) + \Delta S_{\text{mix}} \quad (3-5)$$

もしここで、 $\Delta S_{\text{mix}}$  が単純に構造的なものにのみ起因するのであれば、 $\Delta S_{\text{mix}}$  は  $T_g$  の前後において連続性を示すこととなり、液相  $l$  とガラス相  $g$  では  $S(T_g)^l = S(T_g)^g$  が成り立つこととなる。そのため、

$$x_1 \left\{ \int_{T_{g1}}^{T_g} \frac{C_{p1}^l}{T} dT \right\} + x_2 \left\{ \int_{T_{g2}}^{T_g} \frac{C_{p2}^l}{T} dT \right\} = x_1 \left\{ \int_{T_{g1}}^{T_g} \frac{C_{p1}^g}{T} dT \right\} + x_2 \left\{ \int_{T_{g2}}^{T_g} \frac{C_{p2}^g}{T} dT \right\} \quad (3-6)$$

と書け、右辺を左辺へ移行することで、

$$x_1 \left\{ \int_{T_{g1}}^{T_g} \frac{C_{p1}^l - C_{p1}^g}{T} dT \right\} + x_2 \left\{ \int_{T_{g2}}^{T_g} \frac{C_{p2}^l - C_{p2}^g}{T} dT \right\} = 0 \quad (3-7)$$

が得られる。ここで  $C_p^l - C_p^g = \Delta C_p$  が温度に依存しない値とすると(3-8)式が得られる。

$$\ln \frac{T_g}{T_{g1}} = \frac{x_1 \Delta C_{p2} \ln \left( \frac{T_{g2}}{T_{g1}} \right)}{x_1 \Delta C_{p1} + x_2 \Delta C_{p2}} \quad (3-8)$$

これは、

$$\ln T_g - \ln T_{g1} = \frac{x_1 \Delta C_{p2} (\ln T_{g2} - \ln T_{g1})}{x_1 \Delta C_{p1} + x_2 \Delta C_{p2}} \quad (3-9)$$

と変換され、左辺右項を右辺に移行させることで(3-2)式が得られる。

### <<(3-2)式から(3-1)式への誘導>>

Couchman らは  $T_{g2} / T_{g1} \approx 1$  が成り立つならば、(3-2)式は(3-1)式に変換されうることを記述している。 $T_{g2} / T_{g1} \approx 1$  が成り立ち、さらにすべての組成において  $T_g$  が  $T_{g1}$  と  $T_{g2}$  の間にあるならば、(3-8)式において  $\ln(T_g / T_{g1}) = \ln(1 + (T_g / T_{g1} - 1)) \approx T_g / T_{g1} - 1$  が成り立ち、(3-8)式は、

$$\frac{T_g}{T_{g1}} - 1 = \frac{x_1 \Delta C_{p2} \left( \frac{T_{g2}}{T_{g1}} - 1 \right)}{x_1 \Delta C_{p1} + x_2 \Delta C_{p2}} \quad (3-10)$$

と書ける。この両辺に  $T_{g1}$  を掛けた後、左辺右項を右辺に移行することで、(3-1)式が導出された。これより、限られた条件で Gordon-Taylor と同じ形式を有する Couchman-Karasz の式が用いられることが示された。

### <<Couchman-Karasz の式の 3 成分系への適用>>

Couchman-Karasz の式は 3 成分系の  $T_g$  予測に際して次の式で表わされることが報告されている。

$$T_g = \frac{x_1 T_{g1} + k_1 x_2 T_{g2} + k_2 x_3 T_{g3}}{x_1 + k_1 x_2 + k_2 x_3} \quad (3-11)$$

(3-11)式において  $x_1, x_2, x_3$  は混合物中の成分 1, 2, 3 のそれぞれのモル分率であり、 $k_1$  は  $\Delta C_{p2} / \Delta C_{p1}$ ,  $k_2$  は  $\Delta C_{p3} / \Delta C_{p1}$  で定義される定数項である。<sup>[9]</sup> 理論的には、さらに多成分系にも適用されうる。<sup>[26]</sup>

### <<Pinal モデル>><sup>[27]</sup>

2008 年、Pinal は混合する際に熱の出入りを伴わないような混合物、すなわち(3-12)式が成り立つ混合物という前提のもと、熱力学サイクルを用いることで、ガラス転移に与える混合エントロピーの効果を議論した。その際、限られた条件下において(3-2)式が得られることを述べており、ここではその導出法について記すこととした。

$$C_{p,m}^L = x_1 C_{p1}^L + x_2 C_{p2}^L \quad (3-12a)$$

$$C_{p,m}^G = x_1 C_{p1}^G + x_2 C_{p2}^G \quad (3-12b)$$

(3-12)式において、 $C_{p,m}^L$  は混合物の液相の比熱であり、 $C_{p,m}^G$  は混合物のガラス相の比熱を示している。

Figure 3-2 は、Pinal が検討した熱力学サイクルを示している。Pinal は個々の成分 1, 2 のガラス転移温度以下の温度から ( $T_{g2} > T_{g1} > T$ )、それぞれが液相となる温度 ( $T > T_{g2}$ ) まで上昇させ (Step a)、二つの成分を均一に混合させた後 (Step b)、混合物のガラス転移温度以下となる初期温度 ( $T_{gm} > T$ ) まで低下させる(Step c) プロセスを考えた。

このとき、それぞれの step  $a \sim c$  において伴うエントロピーの変化は次のように示される。

$$\Delta S_{\text{step } a} = x_1 \int_T^{T_{g1}} \frac{C_{p1}^L}{T} dT + x_1 \int_{T_{g1}}^{T_{g2}} \frac{C_{p1}^L}{T} dT + x_2 \int_T^{T_{g2}} \frac{C_{p2}^g}{T} dT \quad (3-13a)$$

$$\Delta S_{\text{step } b} = \Delta S_{\text{mix}} \quad (3-13b)$$

$$\Delta S_{\text{step } c} = \int_{T_{g2}}^{T_{gm}} \frac{C_{p,m}^L}{T} dT + \int_{T_{gm}}^T \frac{C_{p,m}^g}{T} dT \quad (3-13c)$$

ここで、 $a$  から  $c$  の全過程に伴うエントロピー変化を  $\Delta S_{\text{mix}}^r$  とすると、

$$\Delta S_{\text{mix}}^r = \Delta S_{\text{step } a} + \Delta S_{\text{step } b} + \Delta S_{\text{step } c} \quad (3-14)$$

が成り立つ。 $\Delta S_{\text{mix}}^r$  は残余エントロピーに相当する。(3-13)式と(3-14)式から、

$$x_1 \int_{T_{g1}}^{T_{g2}} \frac{\Delta C_{p1}}{T} dT + \Delta S_{\text{mix}} - \Delta S_{\text{mix}}^r \int_{T_{g2}}^{T_{gm}} \frac{\Delta C_{p,m}}{T} dT = 0 \quad (3-15)$$

となり、これより、

$$\ln T_{gm} = \frac{x_1 \Delta C_p \ln T_{g2} + x_1 \Delta C_p \ln T_{g1} - \frac{\Delta S_{\text{mix}} - \Delta S_{\text{mix}}^r}{\Delta C_{p,m}}}{\Delta C_{p,m}} \quad (3-16)$$

が得られ、混合エントロピー効果をゼロとした時、(3-16)式は(3-2)式として得られる。

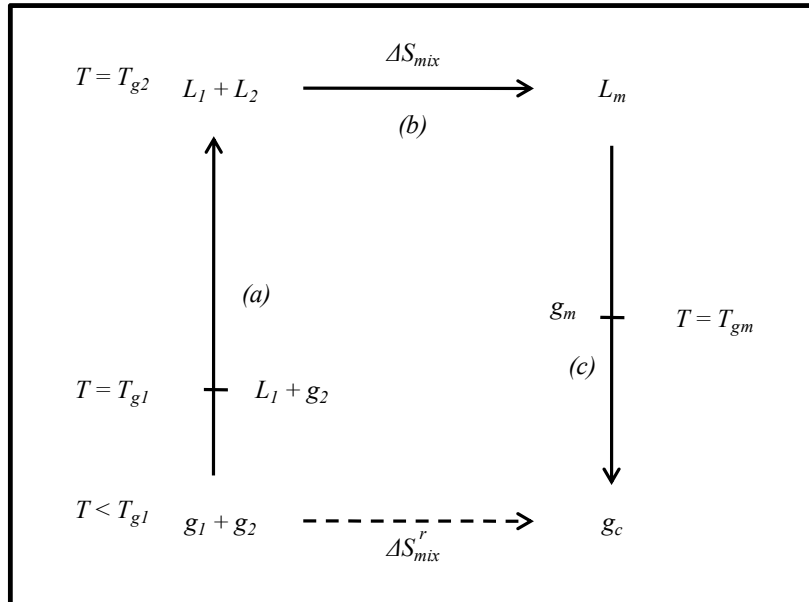


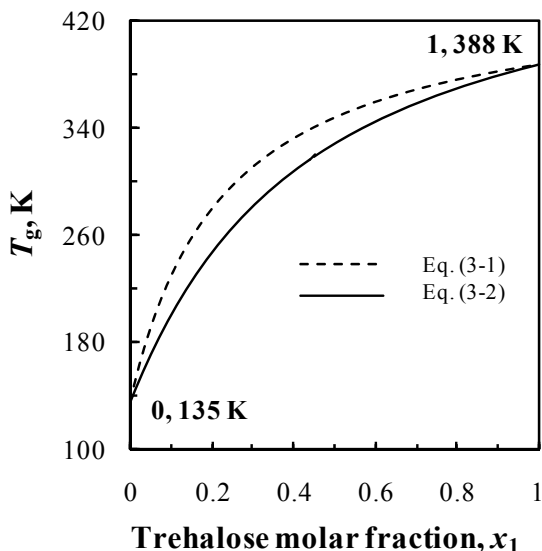
Figure 3-2 ガラス混合物の混合エントロピーを得るために用いられた熱力学的サイクルの模式図

### 3-1-4 水溶液系における $T_g$ 予測の実際

Gordon-Taylor の式も Couchman-Karasz の式も元来は、ポリマーブレンド（混合高分子）の  $T_g$  予測に端を発しているが<sup>[10, 13, 15]</sup>、今日では水溶液系の濃度と  $T_g$  の関係を表す際にも広く用いられている。<sup>[9, 11, 25, 26, 28-40]</sup> 実用上において、例えば高い  $T_g$  を持つアイスクリームやキャンディーなどの設計や、噴霧乾燥操作における最適温度と水分量の推算などでは、(3-1)式は有用である。<sup>[11]</sup> それはこの式が 3 成分以上の溶液の  $T_g$  の推算にも拡張することができるという利便性による。

しかしながら、その際 Gordon-Taylor の式では、(3-1)式における  $k$  が実験値を最良適合する値としてしばしば得られ<sup>[30-34]</sup>、Couchman-Karasz の式では、特に断りなく(3-1)式の形式で使用された結果、実験値に全く適合しないと結論づけられる場合が認められている。<sup>[35, 36]</sup> これらのことから推察すると、水溶液系において、(3-1)式と(3-2)式の理論的な意味合いについてはそれほど考慮されてこなかったものと考えられる。比較的近年になって、Steendam らと Katkov らにより、同一混合物について(3-1)式と(3-2)式の両方を用いた  $T_g$  予測が行われ、その結果全く異なる  $T_g$  予測曲線が描かれたことが報告された。<sup>[26, 29]</sup> Figure 3-3 は Couchman-Karasz のモデルにおいて trehalose/水混合物を(3-1)式と(3-2)式によりシミュレートした結果を示しており、明らかに両式が異なる曲線を描いていることが認められる (Figure 3-3)。<sup>[26]</sup> この事実から、Couchman-Karasz の式を用いて  $T_g$  予測する際は、両式について適合するか否かを確かめる必要があることが理解される。

#### 1. モル分率表示



#### 2. 重量濃度表示

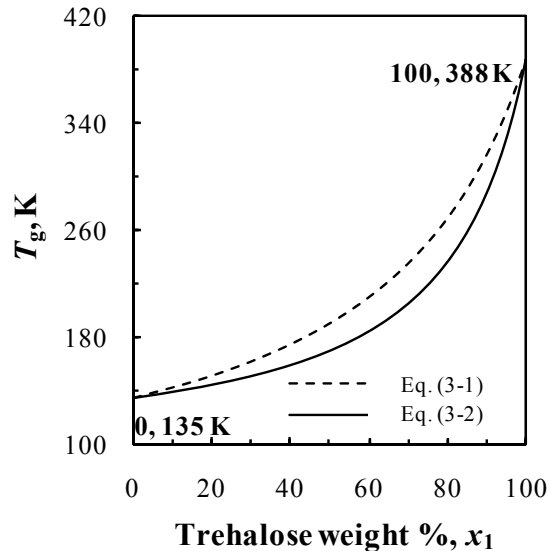


Figure 3-3 (3-1)式, (3-2)式を用いて予測した trehalose/水混合物の濃度- $T_g$  曲線。<sup>[26]</sup>

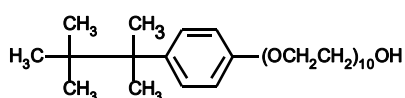
### 3-1-5 界面活性剤を含む多成分系のガラス転移挙動

界面活性剤存在下の多成分系のガラス転移挙動については次のような報告がなされている。非水系における報告としては、diglycidyl ether of bisphenol A epoxy (DGEBA) により作製されたエポキシガラスに対する Triton X-100 (Figure 3-4 (a)) 添加による可塑化、carboxymethyl-cellulose acetate butyrate (CMCB) により作製された薄膜に対する Tween 40, Span 40 添加による可塑化が言及されている (Figure 3-4 (b), (c))。<sup>[41, 42]</sup> 同様の界面活性剤添加による他物質の可塑化は水混合系においても見られ、様々な構造を有する両親媒性グルコース誘導体 (Figure 3-4 (d)) が、複数の糖質により形成されるガラスを可塑化し、 $\beta$ -glucosidase を触媒とする酵素反応において良好な反応培地を作製したことが報告されている。<sup>[43, 44]</sup> これらの可塑効果は、界面活性剤の低いガラス形成能を示唆するものであり、界面活性剤が一般的にガラス形成に対し抑制（可塑）作用を持つことを示している。

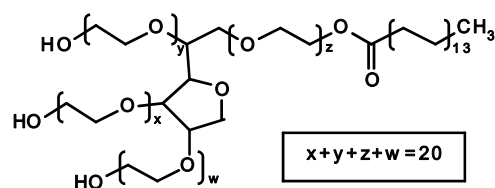
他方で、低い  $T_g$  (135 K, -138 °C) を示す水と混合した際の、界面活性剤/水混合系でのガラス形成について近年興味深い報告がなされている。例えば、高分子界面活性剤である 1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine-*N*-[methoxy (polyethylene glycol) 2000] (DSPE-PEG (2000) Figure 3-4 (e)) はミセル構造を保持した状態でガラスを形成することが認められている。<sup>[45]</sup>

無水状態でガラス転移を示すアルキルグリコシド系界面活性剤の水混合系については、octyl  $\beta$ -D-maltoside/水混合系の 97.7 wt% 以上 (0.65 mol fraction) の限られた濃度領域について報告があるが<sup>[46]</sup>、多量の水を含んだ系での研究はこれまでなされていない (Figure 3-4 (f))。

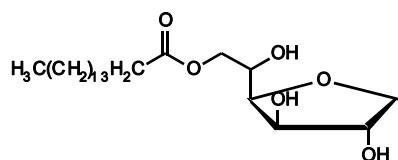
(a)



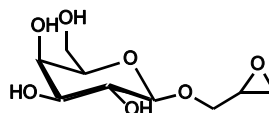
(b)



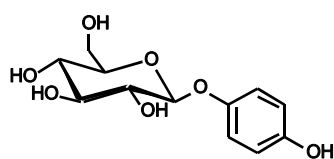
(c)



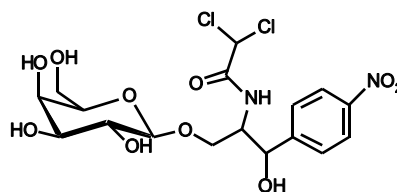
(d1)

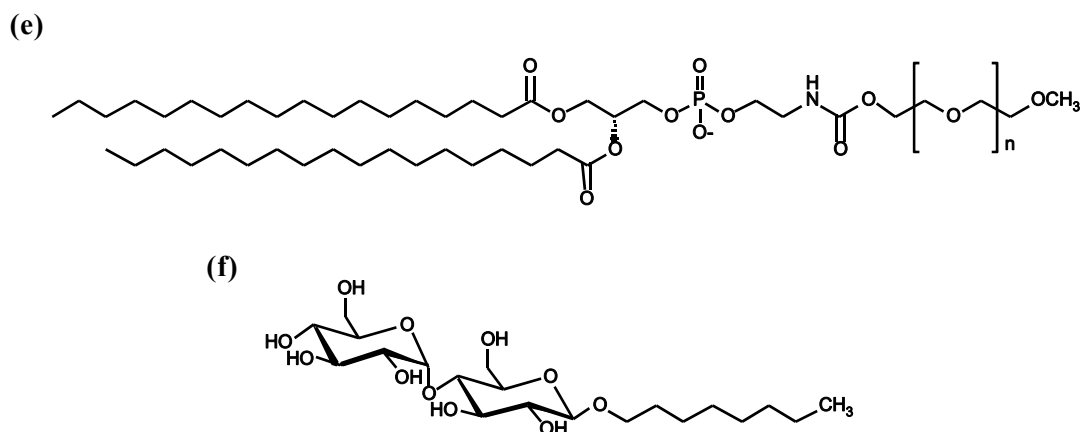


(d2)



(d3)





**Figure 3-4** 多成分系のガラス転移挙動に関連した研究報告がなされている界面活性剤の構造 (a) Triton X-100, (b) Tween 40, (c) Span 40, (d) 報告されている alkyl glycoside の数例 (e) DSPE-PEG (2000), (f) octyl  $\beta$ -D-maltoside。

### 3-1-6 本章の目的

糖質系界面活性剤/水混合物の相挙動は、糖質系界面活性剤の機能性を裏付ける重要な基本特性にあたる。その重要性のため、様々な糖質構造ならびに疎水部構造を有する糖質系界面活性剤について、水系における相挙動は広く研究がなされてきた。<sup>[47-50]</sup>

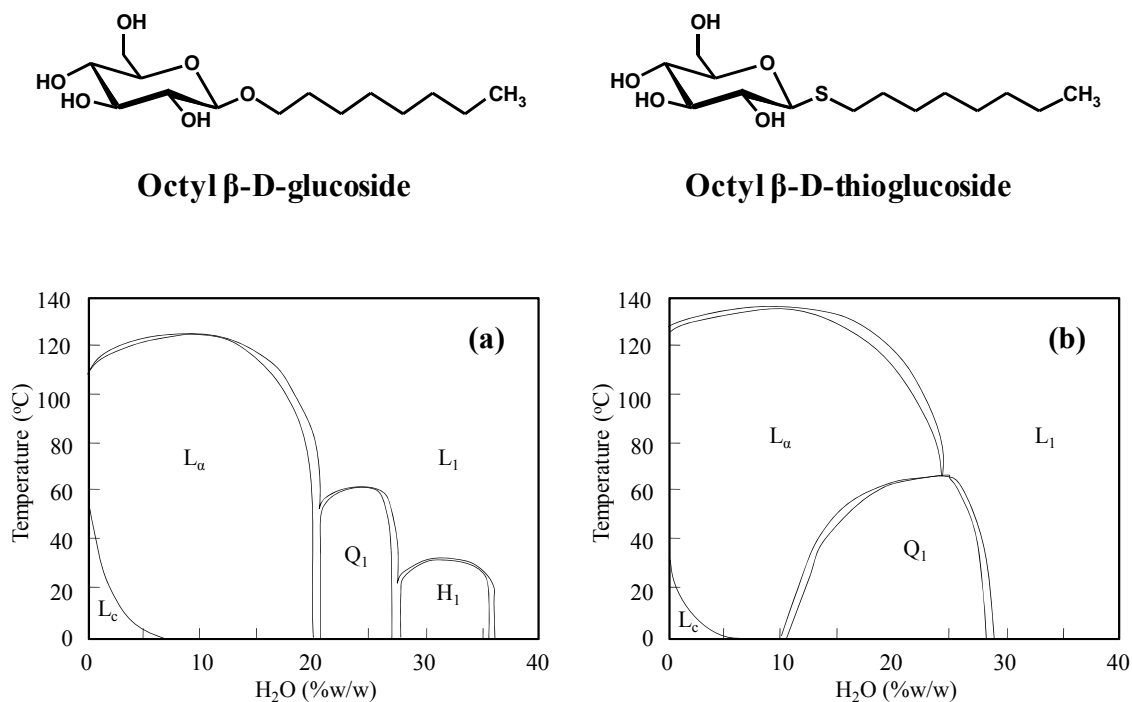
他方でガラス転移は糖質/水混合物、高分子/水混合物では頻繁に見られる挙動であり、その実用上の重要性から、それらの相平衡図にガラス相の存在を示す  $T_g$  曲線を記載することが推奨されている。<sup>[12]</sup> ガラス転移は相挙動の研究に密接に関係する現象であると言える。しかし、糖質系界面活性剤のガラス転移に関連した研究分野は始まったばかりであり、前述したように水との混合物におけるガラス転移挙動についてはまったくなされていない。

すでに工業製品である糖質系界面活性剤のガラス形成特性を理解することは、糖質系界面活性剤の新たな機能性の獲得とともに、新たな用途が開拓される可能性がある。そして、機械的な特性が大きく変化する  $T_g$  の水分量の変化に伴う挙動を知ることは、既存の製造工程のさらなる円滑化に寄与することが期待される。そこで、本章では糖質系界面活性剤/水混合物の水分量の変化に伴う  $T_g$  挙動について検討することとした。

Octyl  $\beta$ -D-glucoside とその類縁化合物である octyl  $\beta$ -D-thioglucoside らは、Figure 3-5 で示したように、グルコースの 1 位の炭素にオクチル鎖が *O*-グルコシド、*S*-グルコシドでそれぞれ結合した構造を有するアルキルグルコシドである。それらは生化学的使用のみならず、その水溶液の相挙動、気-水吸着挙動についての物理化学的な挙動についても広く研究がなされている代表的な糖質系界面活性剤と言える。<sup>[47,50,51,52]</sup> 特に octyl  $\beta$ -D-glucoside/水混合物については、数多くの研究者らによって相平衡図が作成されており、<sup>[53-60]</sup> octyl

$\beta$ -D-thioglucoside/水混合物については Sakya ら<sup>[60]</sup>により報告がなされている（代表的な相平衡図を Figure 3-5 に示した。）。そのような既存の研究報告に対し、新規に  $T_g$  挙動を提示することは、それらの研究の拡張に相当することとなり、多くのアルキルグルコシドを扱う研究者らに容易に受け入れられる内容となるものと考えられる。

そのような背景のもと、本章ではこれら 2 種の octyl  $\beta$ -D-glucoside が、それぞれ水と幅広い濃度領域で混合された系においてガラス転移が認められることを明らかにし、さらに得られたそれぞれの濃度- $T_g$  関係曲線が、Couchman-Karasz の式で予測可能かについて検討した。また、 $T_g$  における濃度変化に伴う比熱変化  $\Delta C_p$  の挙動について調べ、高濃度下の水挙動について検討を行った。



**Figure 3-5** 本章で扱う 2 種の糖質系界面活性剤の構造と報告されている水系相平衡図。<sup>[60]</sup>  
 (a) Octyl  $\beta$ -D-glucoside/水混合物系。(b) Octyl  $\beta$ -D-thioglucoside/水混合物系。

## 3-2 試薬・機器・試料作製法

### 3-2-1 試薬

Table 3-1 試薬一覧

試薬名	略称	備考
Distilled water	-	和光純薬工業株式会社。
Octyl $\beta$ -D-glucoside	C8Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Octyl $\beta$ -D-thioglucoside	C8SGlu	和光純薬工業株式会社。アセトン/ヘキサンにより再結晶したものを使用。

### 3-2-2 機器

Table 3-2 機器一覧

機器名	装置名	製作会社
示差走査熱量計（DSC） <sup>*1</sup>	DSC-60	株式会社 島津製作所
偏光顕微鏡（POM）	BH-51	オリンパス株式会社
大型試料冷却加熱ステージ <sup>*2</sup>	LTS 350	Linkam Sci. Instrum. Ltd.

\*1, \*2 の装置較正は 2-2-2 と同様に行なった。



### 3-2-3 試料作製

示差走査熱量計（DSC）測定および偏光顕微鏡（POM）観察では 50 wt% から 100 wt% の試料が測定に用いられた。各試料は次のように作製された。

#### 1) DSC 測定用試料の作製

##### ・濃縮法（50～80 wt%の試料水溶液の作製）

50 °C、2h 真空乾燥を行った乾燥グルコシドを水に溶解させることで 35 wt% の水溶液を調製した。その水溶液を予め秤量した空のアルミパンに、泡を形成させないように注意深く 10～22  $\mu$ l 程度加え、それを五酸化二リン存在下のデシケーター中で静置することで、乾燥濃縮し（Figure 3-6）、取り出した後、秤量することで濃度を算出した。秤量後、シーラーにより素早く封入した。

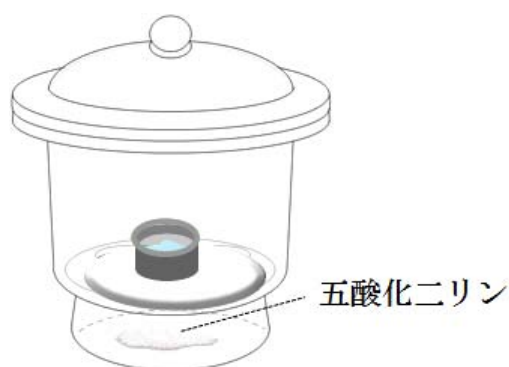


Figure 3-6 濃縮法によるサンプルの作製

##### ・吸水法（50～100 wt%の試料水溶液の作製）

予め重量を調べたアルミパンに 50 °C 2h 真空乾燥した後のグルコシドを秤量し、それを 125 °C の加温ステージで、窒素ガス雰囲気下 50 min 静置し無水状態のグルコシドを作製した（第 2 章 Figure 2-9）。その後、直ちに秤量することでグルコシドの重量を秤量した。

100 wt% の試料の作製に当たっては、秤量後再び 125 °C の加温ステージで、窒素ガス雰囲気下、15 min 静置した後、シーラーにより素早く封入した。他の濃度の試料作製に際しては、マイクロピペッターを用いて直接水を加えた後、Figure 3-6 と同様の方で脱水させる方法で作製した。

## 2) POM 観察用試料の作製

### ・濃度の規定された試料の作製

POM 測定試料は、測定を終えた DSC 測定試料のアルミパンを破壊した後、すぐさま中の試料をガラスプレートとスライドガラスの間に挟み、圧縮することで作製した。

### ・濃度勾配が形成された試料の作製（侵入法） [53-57, 60]

ひとつの試料中に濃度勾配が形成された試料の作製においては、まずガラスプレート上のグルコシドの結晶を加熱ステージにおき、加温することで融液とした。カバーガラスで挟み、二つのガラスを圧縮することで、試料を薄膜化させた。その状態で、二つのガラス間の隙間より純水を染み込ませ、過冷却液晶と接触させた。しばらく静置することで、試料と純水間に濃度勾配が形成され、それを POM 観察試料とした。一連の手順を Figure 3-7 に図示した。

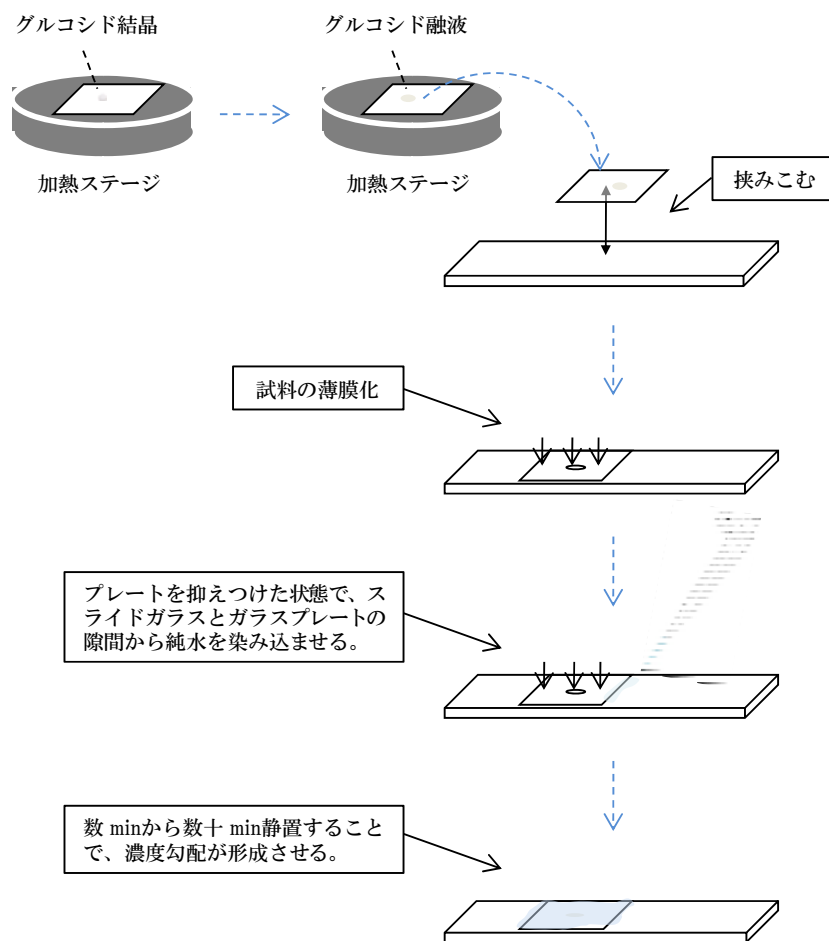


Figure 3-7 侵入法を用いた濃度勾配が形成された試料の作製

### 3-3 結果・考察

#### 3-3-1 C8Glu / 水混合物と C8SGlu / 水混合物の熱挙動

3-1-6 で述べたように、octyl  $\beta$ -D-glucoside (C8Glu) / 水混合物と octyl  $\beta$ -D-thioglucoside (C8SGlu) / 水混合物の相平衡図はすでに多くの研究者らによって作図されているが<sup>[53-60]</sup>、異なる研究者らによって作図された C8Glu/水混合物の相平衡図では、相境界の温度や濃度の不一致が多く見られる。この原因には、異なる試料の使用が考えられたことから、本研究では自身で作製または精製した試料により新たな相平衡図を作成することが必要と考えられ、第一に熱分析に着手した。熱分析は熱の流出を伴う相転移や、比熱（熱流量）の変化として確認できるガラス転移の検出、測定に有効である。<sup>[61]</sup> 3-3-1 では、DSC 測定により、様々な濃度の試料水溶液の温度変化に伴う挙動について調査した。

Figure 3-8 は C8Glu ならびに C8SGlu の水との混合物における DSC 熱曲線が示されており、(a)および(b)は(a1), (b1), (a2), (b2)の熱曲線からそれぞれ構成されている。まず初めに相挙動について着目した。C8Glu/水系では、約 60 wt%以上において液晶-液晶間、液晶-等方性溶液間での相転移に伴う吸熱ピークが出現した (Figure (a))。相転移ピークは図中、白色の矢印で示している。同様に、C8SGlu/水系においても約 66 wt%以上において相転移ピークの出現が認められた (Figure (b))。これらより、Sakya により報告されているように、これらの混合物系において様々な相変化が存在することが示唆された。<sup>[60]</sup> DSC では相転移の存在は示されるが、その相転移がどのようなものかについて同定することはできないため、一般的な手法である偏光顕微鏡 (POM) により相の同定を行った。<sup>[61]</sup>

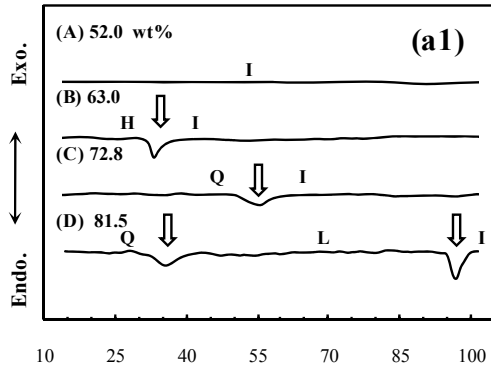
様々な濃度の試料溶液を POM 観察した結果、異なる組織構造を示す 2 種の異方性相の存在が認められた (Figure 3-9)。Figure 3-9 (a)に見られる異方性相は、モザイク様の構造を示しており、大きなドメイン（部分的領域）が観察された。他方で、Figure 3-9 (b)に見られる異方性相は、オイリーストリーク構造を示し、ドメインは、(a)に比べて小さかった。これらの特徴は POM 観察におけるヘキサゴナル相、ラメラ相の一般的な特徴と一致していることから、(a)はヘキサゴナル相、(b)はラメラ相と同定した。<sup>[61]</sup> ラメラ相は第 2 章で示したスメクチック相と類似の組織構造を示しており、POM における差異は観察されない。それらの主な相違は、無水状態についてはスメクチック相という用語を用い、水分存在下でラメラ相と呼ぶといった規則上の観点である。

ところで、Figure 3-8 の(a)系列と(b)系列のそれぞれの熱曲線 C では相転移ピークが観察されているが、POM においてはその温度を前後しても異方性は見られず、画像は黒一色であった (data not shown)。それは、相転移温度の前後で形成している相が、光学的に等方性であることを指し示しており、それより低温側はキュービック相、高温側は等方性溶液と決定した。等方性溶液はキュービック相よりも高温領域に位置する。<sup>[61]</sup>

以上より白色の矢印は、それぞれ Figure 3-8 中で I (等方性溶液), H (ヘキサゴナル相), Q (キュービック相), L (ラメラ相) などで示される相間の相転移であると同定した。

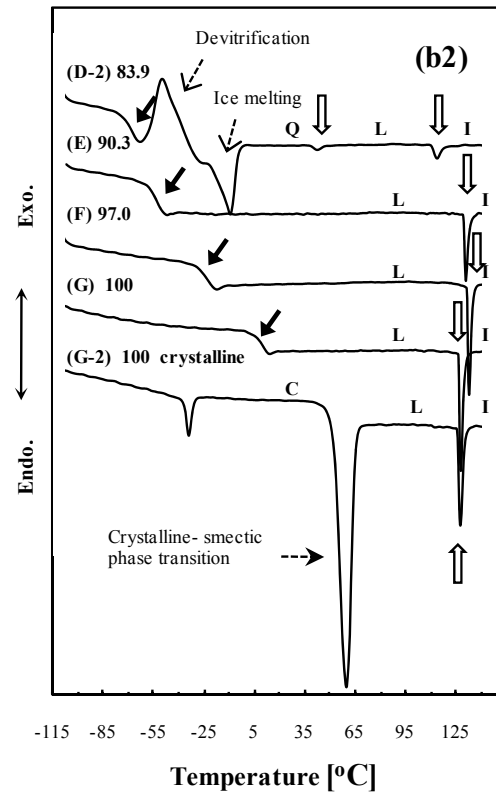
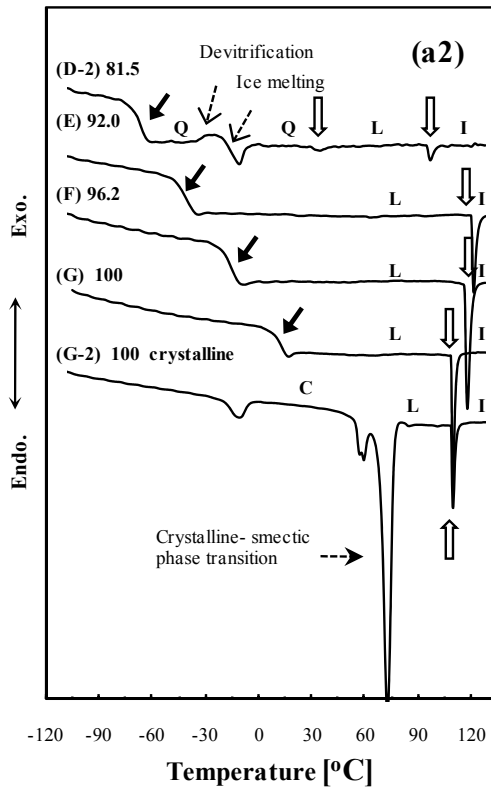
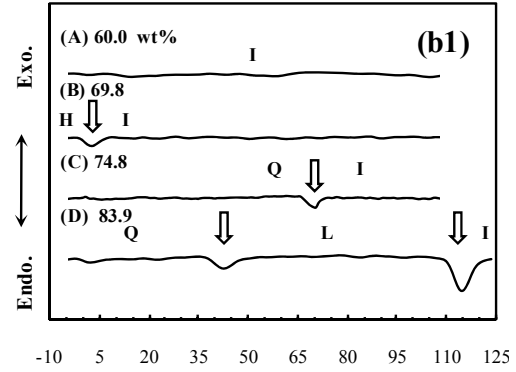
(a) C8Glu / water mixture

DSC [mW]



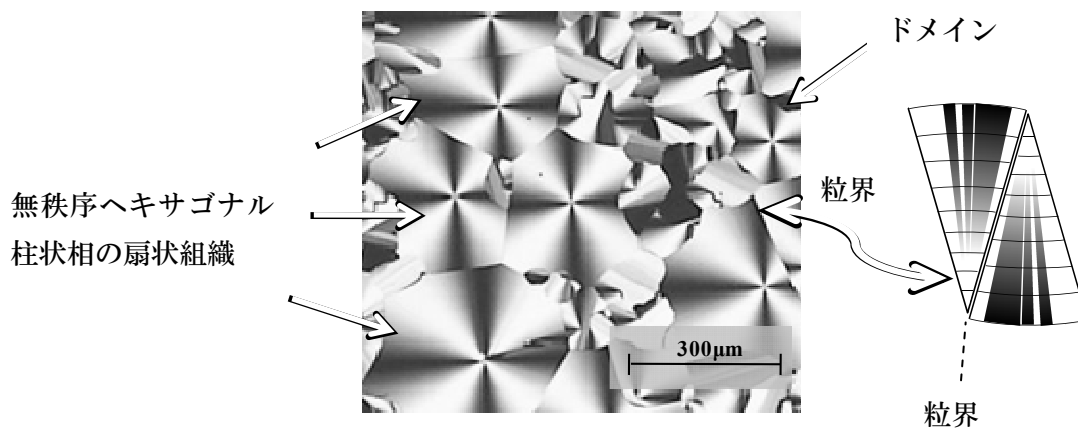
(b) C8SGlu / water mixture

DSC [mW]



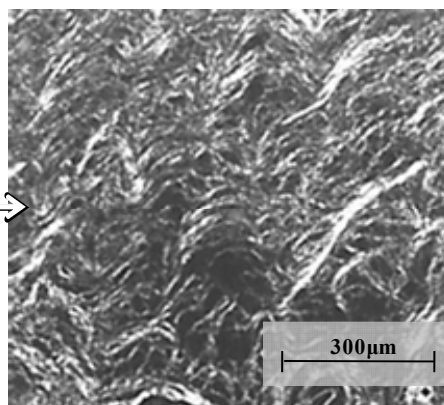
**Figure 3-8** 10 °C /min における昇温過程の DSC 熱曲線。(a) C8Glu/水系。(b) C8SGlu/水系。試料濃度は図中に C8Glu の重量 wt% で表記されている。図中 I, H, Q, L はそれぞれ isotropic solution, hexagonal phase, cubic phase, lamellar phase の略称である。測定条件: (a1), (b1) はそれぞれ -10 °C/min で -20 °C まで冷却した後、昇温した熱曲線であり、(a2), (b2) は熱曲線 G-2 を除き 120 °C から -10 °C/min で -120 °C まで冷却した後、昇温した熱曲線である。G-2 は 25 °C から -10 °C/min で -120 °C まで冷却した後、昇温することで得られた熱曲線である。

(a) ヘキサゴナル相 (25 °C, 63.0 wt% C8Glu 水溶液の POM 画像)

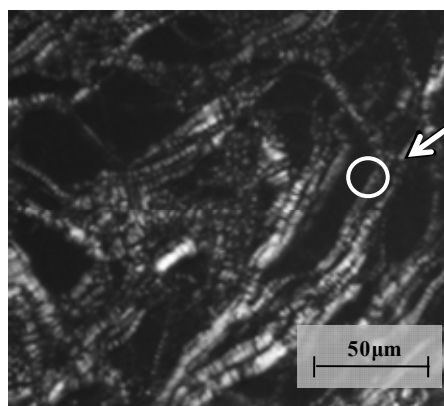
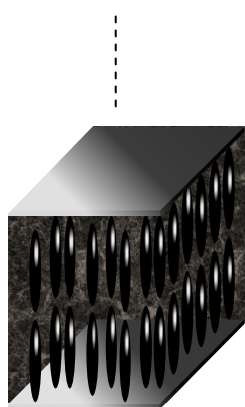


(b) ラメラ相 (70 °C, 90.0 wt% C8Glu 水溶液の POM 画像)

全体的にオイリース  
トリーク組織（異方  
性帯状模様）構造を  
形成。暗視野部分は  
ガラス基板に対する  
垂直配向（ホメオト  
ロピック）構造を有  
する。<sup>[61]</sup>



(拡大図)



小さなドメインを  
形成する。

Figure 3-9 POM による異方性相の組織観察

続いて、Figure 3-8 (b) の低温領域に着目した。

-10 °C/min の冷却速度では、約 80 wt%以上の C8Glu/水混合物と、約 83 wt%以上の C8Sglu/水混合物の冷却過程では、氷は生成せず、-120 °C からの昇温過程で図中の実線矢印で示されるような明確な比熱変化を伴う典型的なガラス転移挙動を認めることができた。約 80 ~ 82 wt%の C8Glu/水系と、約 83 ~ 85 wt%の C8Sglu/水混合系では、昇温過程においてガラス転移が見られた後、氷が結晶化する脱ガラス化挙動を示した。その際、氷はさらなる昇温により融解した。

特筆すべき点として、観察されたガラス転移は、結晶相や、規則性を有さない等方性溶液や融液ではなく、キュービック相、ラメラ相、そしてスメクチック相などの液晶相で出現した点である。ラメラ相やキュービック相の液晶相でガラス転移が生じた根拠は、第 2 章の 2-3-3, 2-3-4 において記載した、スメクチック相におけるガラス転移の出現の根拠と同様である。すなわち、(1) 昇温過程においてガラス転移が認められた後、液晶相が等方性溶液となる相転移が認められた、という事実、および (2) POM において、 $T_g$  を明らかに跨がる温度操作においても、観察される液晶相の組織に変化が見られなかった事実、の 2 点に基づく。(1) は Figure 3-8 の熱曲線 E-G と G-2 により第 2 章と同じように理解され、(2) の証拠となるラメラ相の画像観察結果については Figure 3-10 に示した。92.5 wt% C8Glu/水混合物の  $T_g$  は -47 °C であるが、その温度を明らかに上下する(a)、(b)において、その形状に全く変化は見られなかった。キュービック相におけるガラス転移は、総じて暗視野（黒色）であったため図示していないが、逆にそれが顕微鏡観察における実験的根拠になると考えられた。

これより、C8Glu/水混合物と C8Sglu/水混合物において、キュービック相やラメラ相などのリオトロピック液晶相が形成する幅広い水分含量において、それらの液晶相がガラス転移を示すことが決定づけられた。

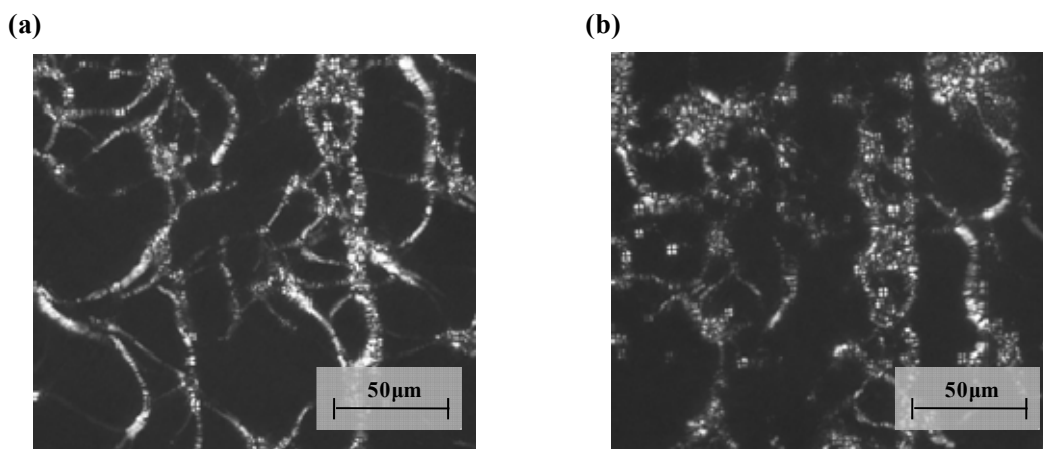


Figure 3-10 ラメラ相 (92.5 wt% C8Glu aq.) の  $T_g$  (-47 °C) を境とする POM 観察画像。(a) 25 °C, (b) -75 °C.

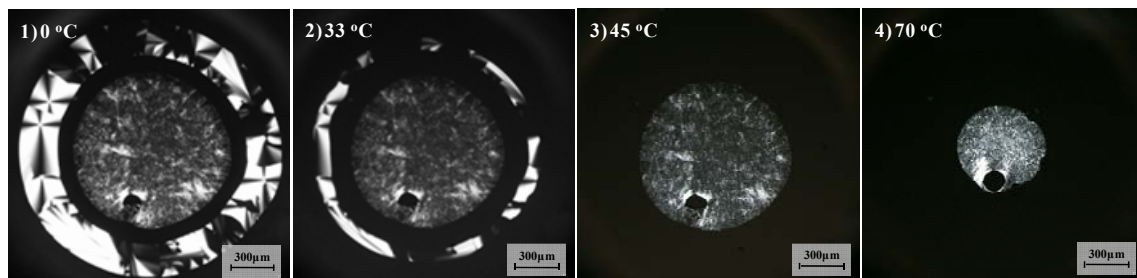
### 3-3-2 侵入法により作製した試料の昇温下顕微鏡観察

濃度変化に伴う一連の相挙動を定性的に確認する手段として侵入法により作成した濃度勾配が形成された試料のPOM観察が知られている。<sup>[53-57, 60]</sup> 本研究でもC8Glu/水とC8SGlu/水の両混合物の侵入法試料を顕微鏡観察することで、相挙動の解析を行った。

Figure 3-11 (a), (b)に2つのグルコシドへ水を侵入させることで作製した試料の昇温過程を顕微鏡観察した結果を示した。侵入法により作成された試料は、作製後、昇温、冷却を行うことで表面がなだらかな同心円の多相構造が容易に得られた。(a), (b)における1)の画像では、濃度は円の中心から外側へ低くなっている。Figure 3-9の組織観察の検討結果より、(a)の0°Cと(b)の-20°Cでは外側から、等方性溶液、ヘキサゴナル相、キュービック相(または等方性溶液)、ラメラ相を形成していることがわかる。

まず、C8Glu/水混合物系の昇温測定結果を見ていくと、(a)の1) 0°Cから5°C/minで昇温させた場合、30°C付近からヘキサゴナル相は消失していく挙動が見られた。その後はラメラ相が観察された。(b)のC8SGlu/水混合物系においては、-20°Cから5°C/minで昇温させた場合、0°C付近からヘキサゴナル相は消失し、その後はラメラ相のみが認められた。光学的に等方性を示すキュービック相と等方性溶液は、偏光下では相境界は認めることは困難であった。(b)では試料や保持時間によっては-20°Cに到達する前または-20°Cで氷が生成することもあり(Figure 3-11 (b4))、そのような氷を生成させず冷却がなされた時のみヘキサゴナル相を観察することができた。

(a) C8Glu/水混合物系



(b) C8SGlu/水混合物系

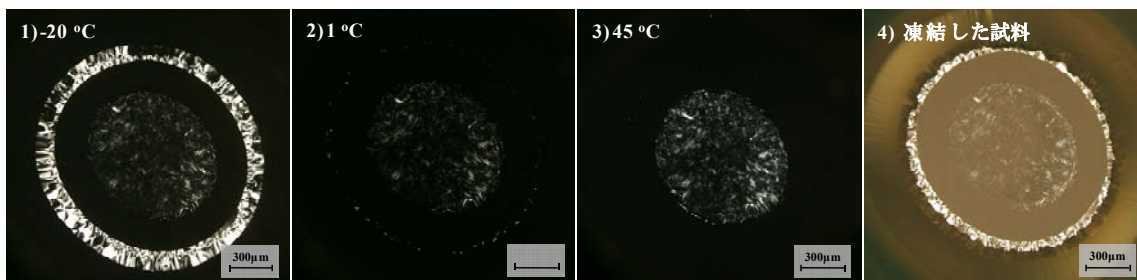
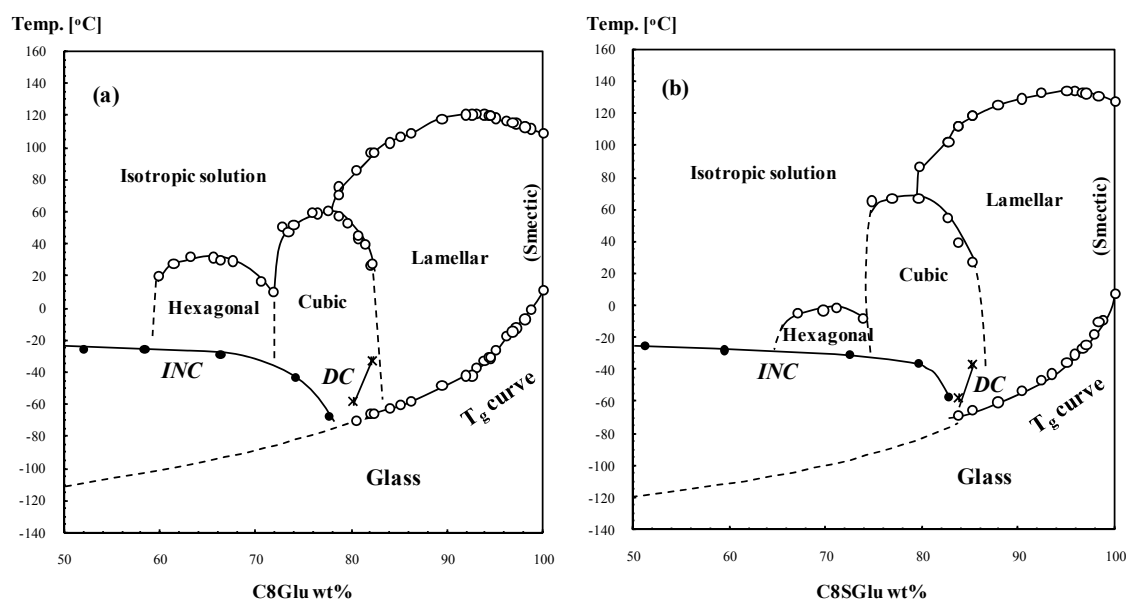


Figure 3-11 侵入法により作製した試料の昇温顕微鏡観察。

### 3-3-3 $T_g$ 曲線を伴う相平衡図

3-3-1 および 3-3-2 で得られた実験結果を基に、C8Glu/水 2 成分混合物と C8SGlu/水 2 成分混合物の相平衡図を Figure 3-12 の(a), (b)に作成した。図中には、それぞれの混合物の濃度変化に伴う相挙動、 $T_g$  曲線、氷の核生成温度曲線 (INC)、そして脱ガラス化温度曲線 (DC) が示されている。

多くの研究者により作図されている C8Glu/水混合物の相平衡図や、Sakya らにより作図されている C8SGlu/水混合物の相平衡図では、90 wt%以上の高濃度領域において結晶相（またはゲル相）が存在することが示されている（Figure 3-5）。<sup>[53-58,60]</sup> しかしながら、本研究の測定条件である 120 °C と -120 °C 間の 10 °C/min の速度による冷却・加温過程では、結晶相は出現せず、代わりに、ガラス転移が認められた。ガラス転移は、熱力学的に結晶相が安定な温度領域を早い速度で冷却することにより、結晶化を避けることで得られる現象である。



**Figure 3-12**  $T_g$  曲線、氷の核生成温度曲線 (ice nucleation curve: INC)、脱ガラス化温度曲線 (devitrification curve: DC) を含むグルコシド濃度 50 ~ 100 wt% の範囲を描いた相平衡図。(a) C8Glu/水 2 混合物。(b) C8SGlu/水混合物。 $T_g$  は第 2 章と同様、熱流量変化の半分の大きさの温度で得た値をプロットした。INC と DC は Figure 3-8 の脚注に記載した測定条件での 5 回の測定結果の平均値をプロットした。破線は推測される線である。\*

\* DSC 測定は温度変化に伴う相転移を検出するため、わずかな濃度変化に伴って相転移温度が急激に変化する領域では相転移はピークとして感知できない。よって、破線のように相境界が描かれると推測することができる。 $T_g$  曲線において実験値を延長した破線は、3-3-4 で扱う”原型”の Couchman-Karasz の式 ((3-2)式) により予測した線を記述した。



## 1) リオトロピック液晶相挙動

Figure 3-12 で示された両 2 成分混合物の相平衡図では、濃度変化に伴って様々なリオトロピック液晶を形成することが認められた。(a)の C8Glu/水混合物では、0 °C において濃度上昇に伴い等方性の溶液からヘキサゴナル相、キュービック相、ラメラ相へと推移することが認められた。また、(b)に見られるように、C8SGlu/水混合物においても、-20 °C では濃度上昇に伴い、同じく等方性の溶液からヘキサゴナル相、キュービック相、ラメラ相へと変化することがわかった。C8Glu/水混合物の濃度変化に伴うこの一連の相変化挙動は、0 °C 以上で作成された他の研究者らの相平衡図と一致している。<sup>[53-60]</sup> C8SGlu/水混合物では、これまで 0 °C 以下において研究されておらず、本研究によりこの混合物においてヘキサゴナル相を形成することが見出された。<sup>[60]</sup>

Figure 3-12 の(a)と(b)を比較することで、C8Glu の *α*-グリコシド結合を *β*-グリコシド結合に変えただけの化合物である C8SGlu の相平衡図では、ヘキサゴナル相-等方性溶液の相転移温度は、C8Glu/水混合物で見られる温度よりも全体的に低温にシフトしており、キュービック相においては反対に全体的に高温側へとシフトしていることが認められた。ヘキサゴナル相は円筒状であり、キュービック相は球状であるため、水溶液中で C8SGlu が C8Glu よりも球状の集合体を形成しやすいことが示唆された。

Israelachvili らにより考案された臨界充填パラメーター (*P*) は化合物の分子形状と自己組織体の集合形態を関係づける概念である。<sup>[63]</sup> *P* は次式で示される。

$$P = \frac{v}{a_0 l_c} \quad (3-17)$$

ここで、*v* は疎水基体積、*l<sub>c</sub>* は疎水基鎖長、*a<sub>0</sub>* は親水基の占有断面積である。ここで、*P* < 1/3 以下では球状ミセルを形成し、1/3 < *P* < 1/2 で棒状ミセルを形成する傾向を示す (Figure 3-13)。

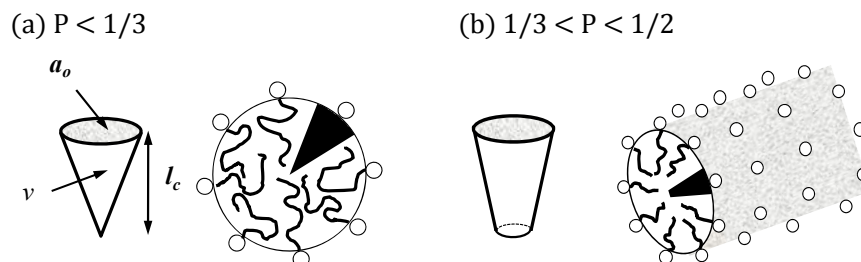


Figure 3-13 分子の充填形状と会合体の構造<sup>[63, 64]</sup>

C8Glu と C8SGlu は親水部の糖と疎水鎖の結合部位が *O* と *S* の違いのみ有し、疎水基の *v* と *l<sub>c</sub>* は同じオクチル鎖である。そこで、C8Glu と C8SGlu の *P* の違いは *a<sub>0</sub>* のみに起因することとなる。*a<sub>0</sub>* については表面張力測定から、C8Glu は 47.0<sup>[65]</sup>、C8SGlu は 54.3<sup>[52]</sup> と報告されており、すなわち、*a<sub>0</sub>* において C8SGlu > C8Glu となるため、*P* においては C8SGlu < C8Glu となる。これより、C8SGlu は C8Glu に比べ、より球状に近いミセルを形成すると推察され、

C8SGlu が球状のキュービック相の形成を促進し、ヘキサゴナル相の形成において逆に抑制した結果に適合する。

## 2) ガラス転移挙動

Figure 3-12 において、約 80 wt%以上の C8Glu/水混合物と、約 84 wt%以上の C8SGlu/水混合物では濃度変化に伴う  $T_g$  曲線が観察された。それらを高温側で形成しているリオトロピック液晶相と照らし合わせると、それぞれの混合物系で観察されるガラス転移はキュービック相、ラメラ相、そしてスメクチック相などの液晶相で生じていることが認められる。 $T_g$  はグルコシド濃度の上昇に伴って高温側へと推移していき、両グルコシドは水混合系においてガラス形成を顕著に促進していることが示された。すなわち、水系において両グルコシドは可塑剤ではなく、硬化剤としての特性を有することが示された。ここで、キュービック相とラメラ相を境とする濃度領域においても  $T_g$  曲線は不連続的变化を示していないことから、 $T_g$  に対して液晶構造の相違が与える影響は小さいと推察された。

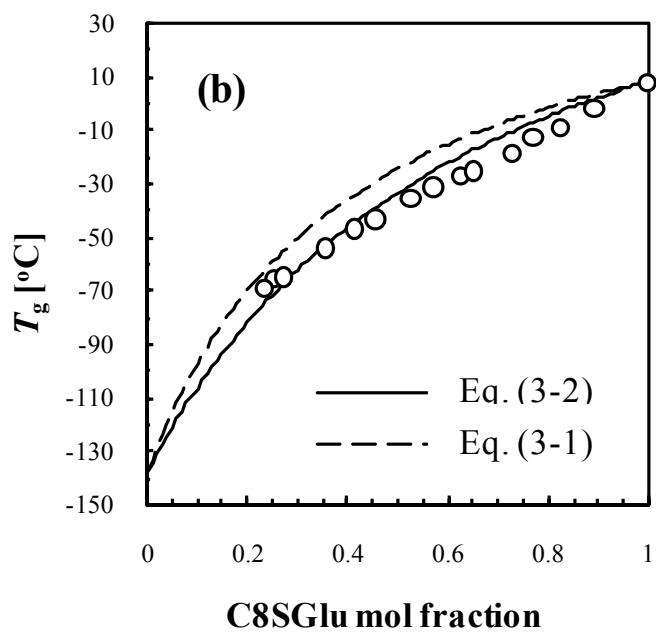
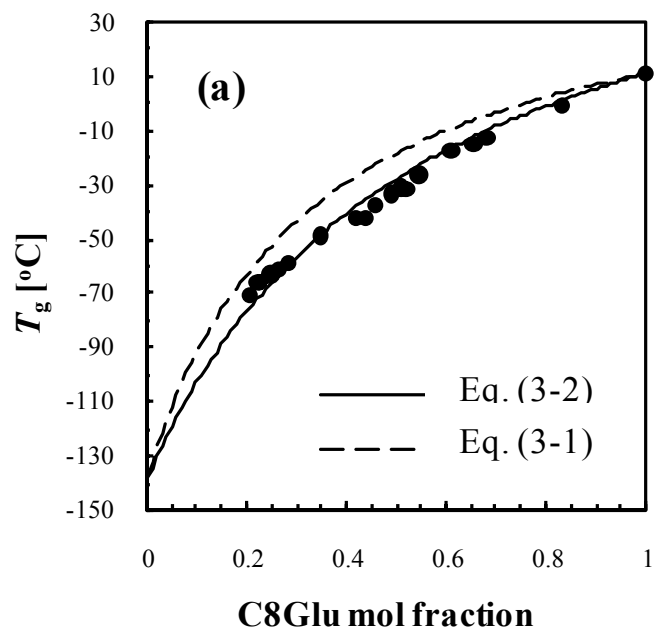
続いて、これらのグルコシド/水混合物に、多成分系の  $T_g$  を予測するモデルとして知られる Couchman-Karasz (C-K) の式が適用可能かについて検討した。3-1-2 ~ 3-1-4 で述べたように C-K 式としては次の 2 つの形式が知られている。

$$T_g = \frac{x_1 T_{g1} + k x_2 T_{g2}}{x_1 + k x_2} \quad (3-1)$$

$$\ln T_g = \frac{x_1 \ln T_{g1} + k x_2 \ln T_{g2}}{x_1 + k x_2} \quad (3-2)$$

(3-1), (3-2)式で、 $x_1, x_2$  は成分 1, 2 のモル分率、 $T_{g1}, T_{g2}$  は成分 1, 2 のガラス転移温度、そして  $k$  は  $\Delta C_{p2}/\Delta C_{p1}$  で示される定数であり、 $\Delta C_{p2}$  と  $\Delta C_{p1}$  は成分 1, 2 のガラス転移における比熱変化の大きさを示す定数である。(3-2)式は Couchman と Karasz が古典的熱力学の下に誘導した原型式であり、(3-1)式は限定条件下において(3-2)式から変形された改良式であるため、以後(3-2)式を"original"、(3-1)式を"modified"として議論を進めていくこととする。

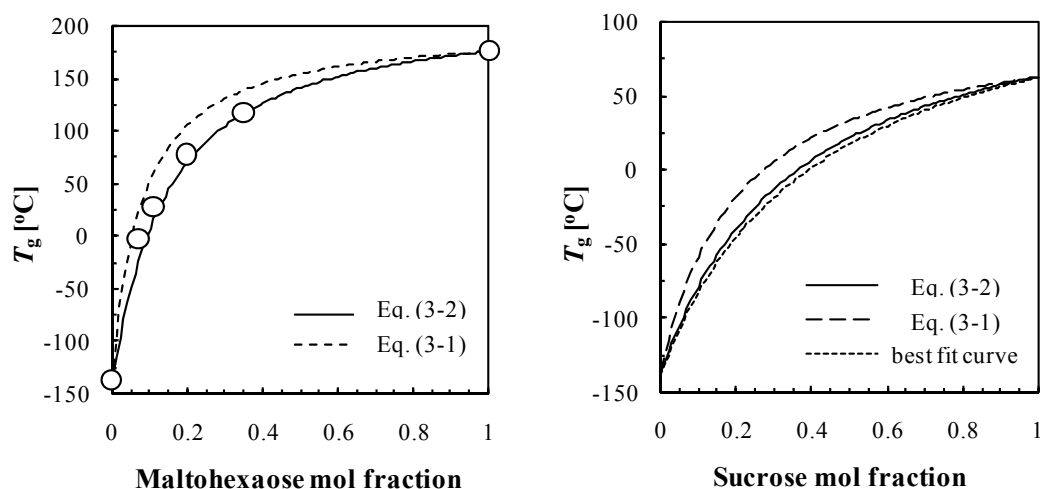
Figure 3-14 の(a)と(b)は、2 種の C-K 式により予測された  $T_g$  曲線と実験結果を合わせて示した図である。C-K 式を用いての  $T_g$  予測においては、無水 C8Glu の実験値  $\Delta C_{p1} = 142.2$  J/mol K、 $T_{g1} = 284.6$  K (11.4 °C)、無水 C8SGlu の実験値  $\Delta C_{p1} = 126.5$  J/mol K、 $T_{g1} = 281.3$  K (8.1 °C) を使用した。純水は、 $\Delta C_{p2} = 35.0$  J/mol K<sup>[66]</sup>、 $T_{g2} = 135$  K (-138.2 °C)<sup>[67]</sup>の文献値を用いた。その結果、"original"の C-K 式(3-2)は得られた全濃度の  $T_g$  において、比較的に良く一致していることが認められ、一方で"modified"の C-K 式(3-1)では、まったく実験値と一致する結果を示さなかった。これらの結果から、"original"の C-K 式は、"modified"の C-K 式に比べて、明らかにこれらの混合物の  $T_g$  予測に妥当な式であることが示された。



**Figure 3-14** “Original”C-K 式(3-2)と”modified”C-K 式(3-1)を用いて予測された  $T_g$  曲線と実験結果の比較。(a) C8Glu/水混合物。(b) C8SGlu/水混合物。それぞれのプロットは実験結果を示している。

C-K式を用いて水溶液系の  $T_g$  予測を試みている報告例を見ると、“modified”を使用している報告が多く存在する。<sup>[9, 35-38]</sup> しかしながら、Couchman によれば、“modified”の C-K 式は、 $T_{g1}/T_{g2} \approx 1$  という限定条件の下、“original”の C-K 式から誘導される式であるため<sup>[10]</sup>、このモデルを用いるならばそれを考慮すべきであると考えられる。<sup>†</sup>  $T_{g1}/T_{g2}$  について着目すると、無水 C8Glu の  $T_g$  は 284.4 K、無水 C8SGlu の  $T_g$  は 281.3 K であるため、純水の文献値の  $T_g = 135$  K を用いると、 $T_{g1}/T_{g2}$  は 2.11, 2.09 と算出される。これらの値は明らかに“modified”に適用可能な  $\approx 1$  よりも大きい値と言える。

Orford らはマルトヘキサオース/水混合物の  $T_g$  は 0.40 以下のモル分率において、“modified”の C-K 式では全く適合できなかったことを報告し<sup>[35]</sup>、類似の報告に、Roos らのスクロース/水混合物についての報告がある。<sup>[36]</sup> それぞれの混合物の  $T_{g1}/T_{g2}$  は、マルトヘキサオース系では  $448/135 = 3.32$  で、スクロース系では  $335/135 = 2.48$  となり、それらは 1 から全く異なる値であった。そこで Orford らと Roos らの実験結果と(3-2)式の“original” C-K 式を用いてそれぞれの混合物の  $T_g$  を予測すると、実験値と予測値は良く適合したことが確認された (Figure 3-15)。これらを本研究の混合物の結果と合わせて考えると、 $T_{g1}/T_{g2}$  が 1 より大きい値を示す傾向にある炭水化物/水混合物の  $T_g$  予測においては“original”の式を用いるべきである、と Couchman の原文に立ち返り推奨された。



**Figure 3-15** “Original” C-K 式と “modified” C-K 式を用いて予測した  $T_g$  曲線と実験結果の比較。(a) マルトヘキサオース/水混合物。プロットは Orford らの測定結果を転載した。<sup>[35]</sup> (b) スクロース/水混合物。Best fit curve は Roos らの測定結果における最適適合曲線である。<sup>[36]</sup> C-K 式を用いての  $T_g$  予測に際して、無水マルトヘキサオースにおいては、 $\Delta C_{p1} = 485.0$  J/mol K、 $T_{g1} = 448.0$  K、無水スクロースにおいては  $\Delta C_{p1} = 205.4$  J/mol K、 $T_{g1} = 335.2$  K の文献値を使用した。純水は Figure 3-15 同様  $\Delta C_{p2} = 35.0$  J/mol K<sup>[66]</sup>、 $T_{g2} = 135$  K (-138.2 °C)<sup>[67]</sup> の文献値を用いた。

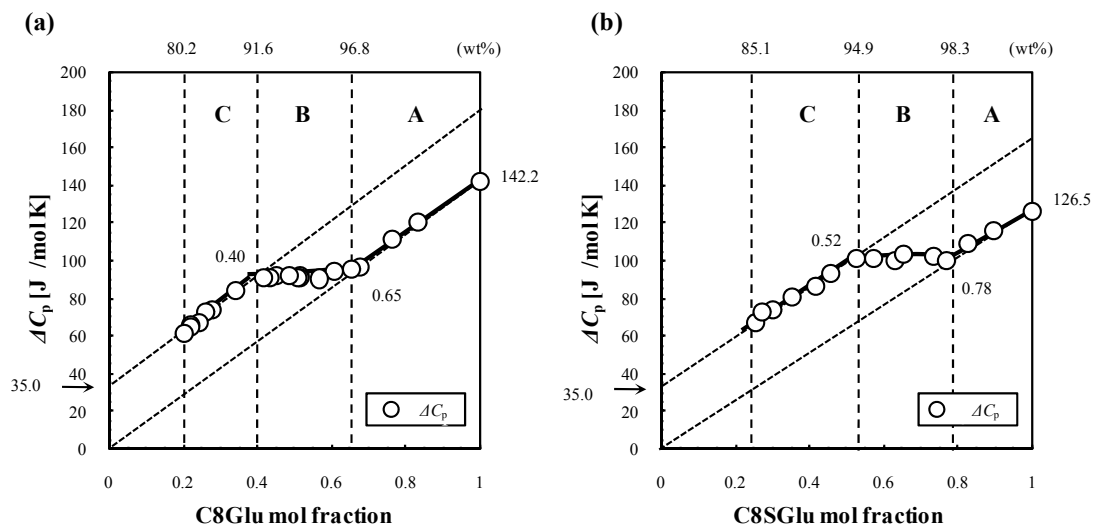
<sup>†</sup> 数学的な誘導方法については 3-1-3 に記載している。

### 3-3-4 $\Delta C_p$ 挙動におよぼす濃度変化の影響

続いて、本研究で扱っている 2 種の混合物系において、 $T_g$  における比熱変化  $\Delta C_p$  が濃度変化に伴いどのような挙動を示すかについて検討を行った。

Figure 3-16 (a), (b) にグルコシドの濃度変化に伴う  $\Delta C_p$  挙動を図示した。両図において、得られた曲線は二つの屈曲点を示した。1.0 モル分率から濃度を低下させていくと、一つ目の屈曲点まで  $\Delta C_p$  は減少し、その後水平状態を示し、さらにモル分率を減少させていくと、二つ目の屈曲点から再び  $\Delta C_p$  は減少した。これらの特徴的な挙動より、 $\Delta C_p$  曲線を Figure 3-16 のように三つの領域 A, B, C に分類した。

両混合物系において、領域 C の  $\Delta C_p$  曲線を 0 モル分率まで外挿すると、その外挿値は 35.0 J/mol K 程度となり、それは Sugisaki らが報告する純水のガラス転移で実験的に得られる  $\Delta C_p$  と一致を示した。<sup>[66]</sup> しかし、同じ領域 C における  $\Delta C_p$  曲線を 1.0 モル分率まで外挿すると、明らかに無水グルコシドが示した  $\Delta C_p$  の値を上回る値を示した。また、領域 A を 0 モル分率まで外挿すると 35.0 J/mol K ではなく 0 に到達した。これらの結果は、混合物の  $\Delta C_p$  が純水と無水グルコシドの両実験値を用いた単純な一次関数によって表すことができないことを指し示している。



**Figure 3-16** 濃度変化に伴う 2 種のグルコシド/水混合物系の  $\Delta C_p$  挙動。(a) C8Glu/水混合物。(b) C8SGlu/水混合物。なお、図内の  $\Delta C_p$  は、次のように換算された。

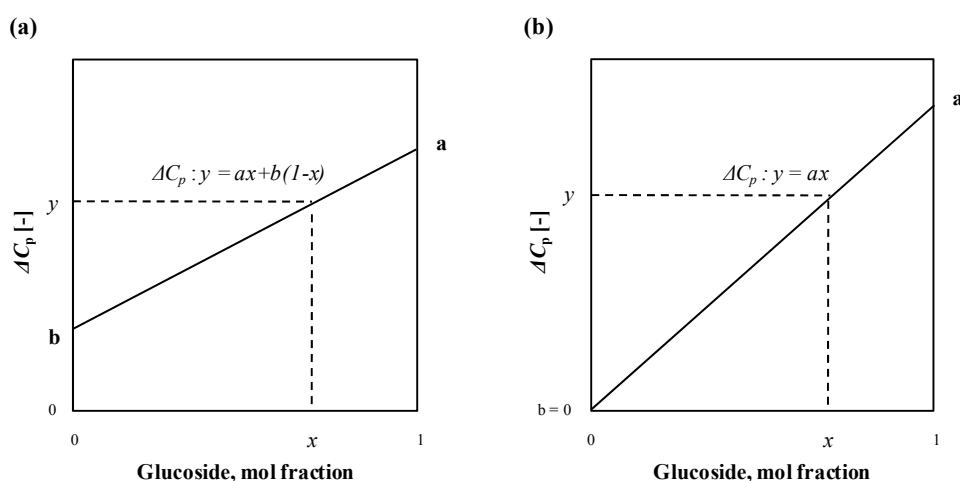
$$\Delta C_p [J / g K] = \Delta F [mW] / (W_{sample} [g] \times scan\ rate [^{\circ}C / s]) \quad (3-18a)$$

$$\Delta C_p [J / mol K] = \Delta C_p [J g K] (MW_1 [g] \times x_1 + MW_2 [g] \times x_2) \quad (3-18b)$$

$\Delta F$  はガラス転移における熱流量の変化量[mW]であり、昇温速度 (scan rate) は 10 °C/min = 10 / 60 °C/s,  $MW_1$ ,  $MW_2$  はグルコシドと純水のモル重量である [ $MW_1$ : 292.19 (C8Glu), 308.16 (C8SGlu),  $MW_2$ : 18.02 (純水)]。

ここで、Figure 3-17 に Figure 3-16 で見られた関係について模式図を用いて説明することとする。仮に、 $\Delta C_p$  を a, b とする純物質の成分 1, 2 によって、 $\Delta C_p$  が Figure 3-17 (a) のように  $\Delta C_p: y = ax + b(1-x)$  として得られるならば、この混合物の  $\Delta C_p$  は成分 1, 2 が理想的に混合していると考えられる。このような場合、両者の寄与はそれぞれのモル分率に依存することとなる。しかし、Figure 3-17 では純物質の  $\Delta C_p$  を結んだ直線では表すことはできなかったことから、これには当てはまらない。

また、Figure 3-17 (b) のように  $\Delta C_p: y = ax$  で表わされる系ならば、成分 2 は混合物の  $\Delta C_p$  に寄与しておらず、 $\Delta C_p$  は成分 1 にのみ寄与を受けていると言うことができる。このとき、 $\Delta C_p$  は成分 1 のモル分率にのみ依存する。Figure 3-16 で領域 A をモル分率 0 へと外挿した場合においてはこのような傾向が見られていることから、この領域においての水は  $\Delta C_p$  に寄与していないと考えることができる。このような  $\Delta C_p$  の挙動を説明する上での知見を得るべく、ラメラ相-等方性溶液間の相転移挙動についても検討を行った。



**Figure 3-17** グルコシド濃度と  $\Delta C_p$  の関係。(a) 混合物の  $\Delta C_p$  が純物質成分が示す二種の  $\Delta C_p$  により一次関数で示される場合。(b) 混合物の  $\Delta C_p$  が一つの純物質成分の一次関数で示される場合。

Figure 3-18 に C8Glu/水混合物、C8SGlu/水混合物のラメラ相-等方性溶液間の相転移エンタルピー ( $\Delta H$ ) と相転移温度の結果を横軸を濃度としてプロットした。図を見て明らかのように、 $\Delta H$  は全体的に水分含量の増加に伴い減少していく傾向を示した。しかしながら、水分添加に伴う減少量の割合、すなわちグラフにおける直線の傾きは変化を示し、屈曲点を示すことが認められた。その屈曲点濃度は C8Glu/水系においては 0.65 であり、C8SGlu/

水混合系においては 0.75 であった。これらは Figure 3-16 で見られた一つ目の屈曲点の濃度と良く一致した。

また、特筆すべきこととして、領域 A の  $\Delta H$  曲線を 0 モル分率まで外挿した値はゼロとなり、それは Figure 3-16 で観察された挙動に類似の結果である。Figure 3-17 において述べたように、これは領域 A に存在する水は  $\Delta C_p$  のみならず、 $\Delta H$  に対しても水は全く寄与していないことを示している。このような領域 A における水の非寄与について解釈するため、著者は炭水化物/水混合物系で報告されている”非浸透性の水”の概念 (non-percolated water concept) ”に着目した。[68, 69]

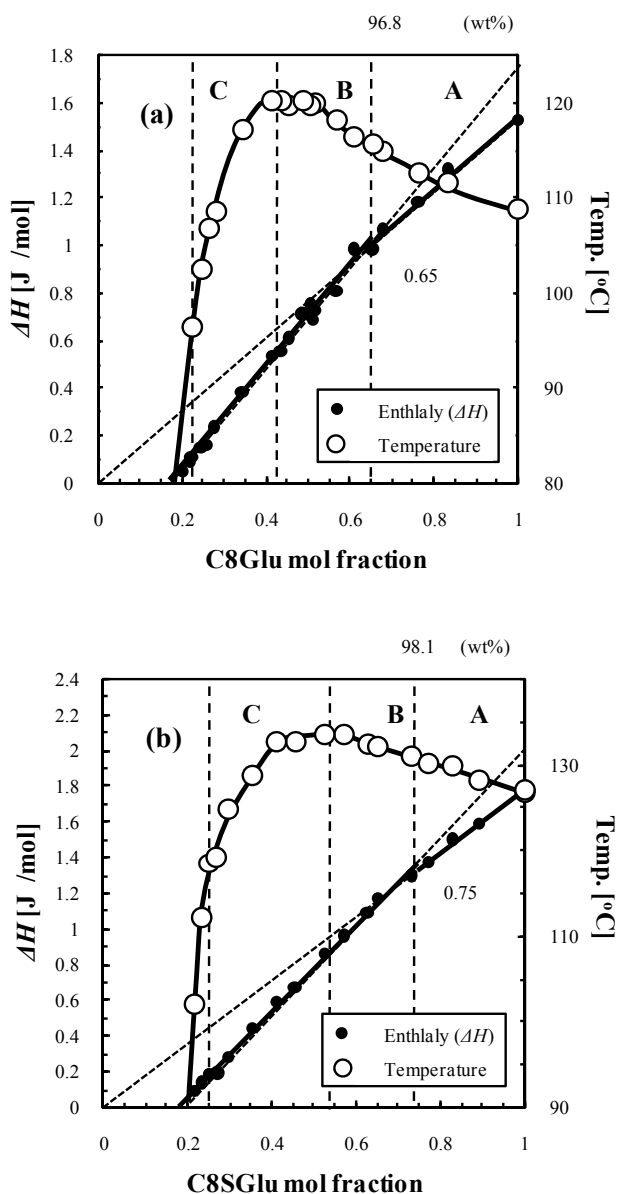


Figure 3-18 ラメラ相-等方性溶液とスメクチック相-融液間の相転移挙動とグルコシドモル分率の関係。(a) C8Glu/水混合物系。(b) C8SGlu/水混合物系。

<<非浸透性の水（Non-percolated water concept）>>[68, 69]

非浸透性の水“non-percolated water”の存在を論じる前に、その存在を指し示す実験またはシミュレーションによって報告されている結果について文献を引用し以下に示した。

<<比体積>>[68]

炭水化物の分子充填を示す値として、比体積  $V_{sp}$  がある。 $V_{sp}$  は密度  $\rho$  の逆数として定義され、濃度変化に伴い変化を示す。仮に成分 1, 2 の比体積を  $V_{sp1}$ ,  $V_{sp2}$  とすると、理想的に両成分が混ざり合う場合の混合物比体積  $V_{sp, ideal}$  は、(3-19)式のように  $V_{sp1}$ ,  $V_{sp2}$  の二つのパラメーターの一次関数で表わされるはずである。

$$V_{sp, ideal} = x_1 V_{sp1} + (1 - x_1) V_{sp2} \quad (3-19)$$

しかし、糖質の濃度変化に伴う  $V_{sp}$  の変化の挙動は Figure 3-19 の模式図のようになることが報告されており、図から明らかなように(3-19)式は成り立っておらず、80 wt%程度で屈曲点を有していることが観察される（これらの傾向について、実験結果とシミュレーション結果において一致したことが報告されている）。すなわち、グルコース、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース、マルトペンタオースなどと水の混合物では、80 wt%より低濃度の糖質濃度では、水添加により顕著な上昇が線形的に認められるようになる一方で、それ以上の高濃度における濃度変化は  $V_{sp}$  にほとんど影響を与えないことを示している。水の減少に伴って  $V_{sp}$  の変化が小さくなっていく挙動については、炭水化物濃度の増加に伴い平衡状態に到達しにくい条件となっているためと考えられている。

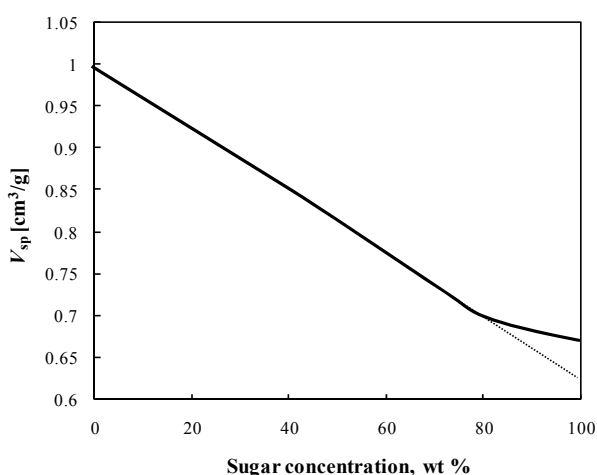


Figure 3-19 幾つかの糖質-水混合物系において観察されている比体積の濃度依存挙動の模式図（310 K）。[68]



### <<自由体積>>

自由体積  $V_f$  はいくつかの異なる定義が示されているが<sup>[70]</sup>、ここでは炭水化物と水らの分子が持つ van der Waals 力が規定している体積 (X 線回折により規定される) が占有していない体積として定義する。<sup>[68]</sup> このとき、全体の体積  $V$  における自由体積の分率 (占める割合)  $f$  は、

$$f = 100 \times (V_f/V) \quad (3-20)$$

で示される。この  $f$  について幾つかの系で炭水化物濃度の変化に伴う挙動が調べられており、それは模式的に Figure 3-20 のように示される。Figure 3-20 はグルコース、マルトースの挙動について模式的に示した図であるが、スクロース、マルトテトラオース、マルトペンタオースなどについてもスケールの違いこそあれ、同様の挙動が報告されている。

すなわち、 $f$  は 80 wt% までの水分含量では、水分含量の増加により減少していくが、80 wt% 以上では炭水化物濃度の上昇に伴い、 $f$  は著しく上昇していく。なお、小さい  $f$  は分子充填が効率的に行われているということであり、大きい  $f$  は隙間となる空間が大きくなることを示している。 $f$  について糖質のサイズで比較すると、100 wt% において 0.7 前後の  $f$  を示すグルコースやマルトースに対してより高分子量を有するマルトテトラオースやマルトペンタオースの水混合系では  $f$  は 1.4 や 1.6 程度の値を示し、隙間の全体積が大きくなることが明らかとなっている。

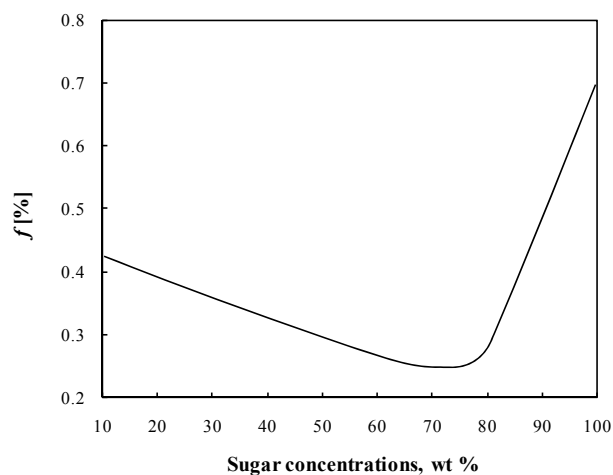


Figure 3-20 幾つかの糖質-水混合物において観察されている自由体積の濃度依存挙動の模式図 (290 K)。<sup>[68]</sup>

### <<非浸透性の水クラスター>>

上述した“比体積”、“自由体積”の結果は次のように説明される。<sup>[68]</sup>

低濃度な炭水化物/水混合系では、水は系内に均一的に浸透しており、水は連続性を有している状態と言える。その際、比体積は連続的に減少していき、自由体積も小さくなっていく (Figure 3-19, 20)。しかし、炭水化物濃度が上昇し、炭水化物同士が接近し合うと、水を介さない強固な相互作用を生じることになる。この時、水は連続性を有しておらず、水は炭水化物が形成するマトリクス中で生じた一部の隙間でクラスターを形成していると考えられ、すなわち、水は浸透していない“non-percolated”の水となる。さらにこの時、水は隙間の数だけ分散しているのではなく、一部の隙間は空となる。さらに炭水化物濃度が上昇すると、隙間間の水も減少していき、隙間の数が多くなっていく。その結果、比体積の減少は顕著に見られなくなり (Figure 3-19)、自由体積は隙間の数だけ大きくなる (Figure 3-20)。このような 80 wt%以上の炭水化物/水混合物で認められる、水の非寄与効果は本研究の Figure 3-16 と 18 の領域 A で見られる挙動と類似しているように考えられる。

#### <<非浸透性の水概念の C8Glu/水混合物、C8SGlu/水混合物への適用>>

ここで本研究で扱っているグルコシド/水混合物系について、水分量の減少過程の観点から検討することとする。Figure 3-18 を見てわかるように、C8Glu/水混合物系および C8SGlu/水混合物系ではそれぞれ、水とグルコシドのモル比が 4:1 よりラメラ相を形成される。ラメラ相は層間距離 (d-spacing) により定義される構造特性を有するが (Figure 3-21)、水分量の減少により小さくなっていくことが Sakya らにより示されている。<sup>[60]</sup> この時、水分量の減少に伴い d-spacing は比例的に減少していくことが認められる (Figure 3-21)。Nillson らは、C8Glu/水混合物の d-spacing は 84.7 wt%以下において糖質部分の占有面積が大きく変化しないことを報告しているが<sup>[54]</sup>、Figure 3-21 で示した結果は、同様の傾向が C8Glu/水混合物、C8SGlu/水混合物系のさらに高濃度領域まで拡張されうること示唆している。すなわち、これらの濃度領域においてラメラ構造は層間距離を除き特別な変化を示していないことが示唆される。それは、Figure 3-18 の  $\Delta H$  の挙動からも領域 A に至るまでの濃度領域で直線性の良い変化が見られていることと一致している。つまり領域 B や C における水の減少は、層間に存在するバルク水が減少していくことであると考えられる。この濃度の水がバルクであると述べる根拠は、Figure 3-16 の C 領域におけるモル分率ゼロへの外挿が 35.0 J/mol K の Sugisaki らが報告する実験値へと外挿された実験的事実に基づく。

しかし、領域 A の濃度では、さらなる水の除去は濃度変化に伴う  $\Delta H$  の傾きを大きく変え、さらに水の寄与はあたかも無いかのような挙動が観察されている (Figure 3-16, 18)。これは領域 A の水は混合物内において非浸透下で存在しているためと考えられる。領域 A での水の減少は、層間の水ではなく、グルコシド分子が形成する二分子膜構造の隙間に存在するクラスター化した水が除去されていく過程であり、そのため  $\Delta C_p$  や  $\Delta H$  において非寄与的な挙動を示していたと考えられる。

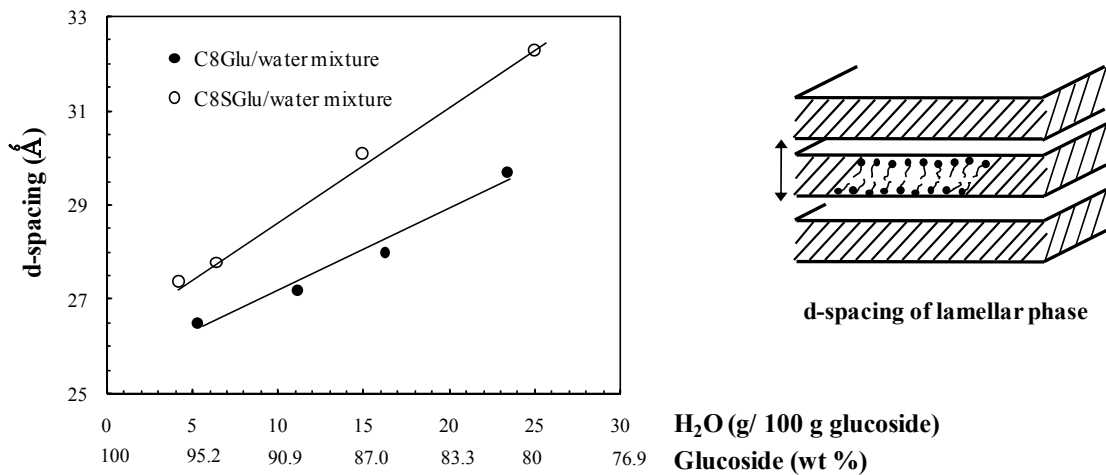


Figure 3-21 Sakyra らによる X 線回折測定から得られた C8Glu/水混合物系、C8SGlu/水混合物系の d-spacing と水分含量の関係 (25 °C)。[60]

また、Figure 3-16 で述べたように、領域 B における濃度変化は  $\Delta C_p$  に明確な変化をもたらさず、水平となる挙動を示した。ここで、この領域 B の  $\Delta C_p$  が純水とグルコシドにより 1 mol 当たり同程度の  $\Delta C_p$  の寄与を受けていたと考えると、確かに領域 B は水平となる結果が得られることとなる。しかし、これは現実的には考えにくい。何故ならば、そのような場合、Figure 3-17 (a)に見られるように領域 B の  $\Delta C_p$  は  $y = ax + b(1-x)$  で表わされ、さらにその時  $a = b$  は成り立つこととなる。この時、C8Glu/水混合物系では  $a = b = 95$ 、C8SGlu/水混合物系では  $a = b = 100$  となり、それぞれ値は純物質の値から大きく異なっており、このようになる理論的根拠はなんら考えることはできない。それよりも、領域 B における  $\Delta C_p$  は、Figure 3-16 の屈曲点に相当する二つの組成の寄与を受けていると考えるべきと思われる。この領域においてなんらかの平衡が存在することは他の研究者によって述べられていないが、非浸透性の水の概念を考慮することにより、筆者らは領域 B においては非浸透性の水を有する混合物と、水が浸透している混合物の両混合物が共存していると想定した。

また、領域 A と C で異なる挙動を示すことを定性的にはあるが説明するものとして Figure 3-18 で示した相転移温度がある。Figure 3-18 より、相転移温度はモル分率の上昇に伴い、一旦増加し、その後再び低下していく挙動を示した。その変曲を示した温度が領域 B の濃度領域に存在していることは、上述した非浸透性の水と浸透性の水を含む異なる組成が混在していることを示唆するものと考えられる。何故ならば、領域 C の途中から B、A に至るまで二分子膜構造は保持され、大きな構造の変化は報告されていないにも関わらず、領域 B のような濃度において最大温度が観察されるのは、二分子膜を形成する成分以外の水が構造変化していると考えられるのが妥当と考えられるためである。

このように、著者は“non-percolated water concept”を用いることで、C8Glu/水混合物系とC8SGlu/水混合物系の  $\Delta C_p$  挙動について説明する一つの仮説を提案した (Figure 3-22)。

領域 C: 水は浸透しており、水の減少は層間の水を減少させることに相当する。

領域 B:  $\Delta C_p$  曲線の屈曲点に相当する 2 つの濃度間の組成が共存している。水の減少は浸透している水の減少に相当するため、 $\Delta H$  の増加量には影響しない。

領域 A: 水は非浸透下にあり、 $\Delta C_p$  や  $\Delta H$  の大きさはグルコシドのモル分率に依存する。

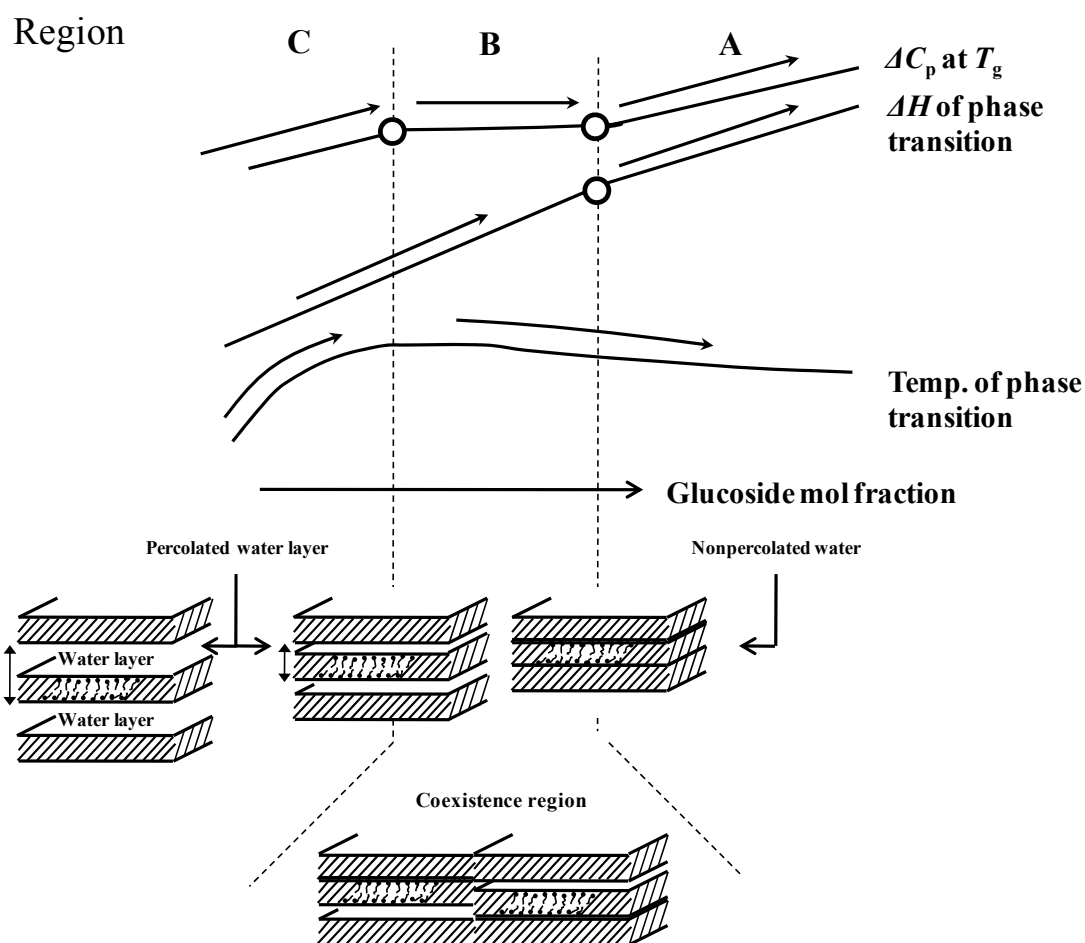


Figure 3-22 Octyl  $\beta$ -D-glucoside/水混合物系における水の状態変化と実験結果の関係を示した模式図。

### 3-4 結論

C8Glu/水混合物系および C8SGlu/水混合物系について DSC 測定することで、それぞれの混合物系において幅広い濃度範囲でガラス転移が観察されることを明らかにした。さらに、DSC に POM 観察を加えた検討により、それぞれのガラス転移がキュービック相、ラメラ相、スメクチック相などの液晶相において見られることを明らかとした。

$T_g$  曲線、氷の結晶化温度曲線 (INC, DC)、リオトロピック挙動を示した相平衡図から、 $T_g$  曲線が顕著な濃度依存的挙動を示すことが認められた。それぞれの混合物系において、混合物の  $T_g$  は水分含量の減少に伴い高温側へと推移した。すなわち、C8Glu および C8SGlu が硬化剤としての特性を示す化合物であることが認められた。

得られた  $T_g$  値を、2 種の C-K の式により予測された  $T_g$  曲線と比較した結果、“original”の C-K 式はそれぞれの混合物系の  $T_g$  を良く予測できることが示された。反対に“modified”の C-K 式では全く適合する値を示さなかった。既存の糖質/水混合物系で報告されている結果を含め、2 種の成分間の  $T_g$  が大きく異なる糖質水溶液では“original”の C-K 式を用いることが妥当であろうことを Couchman の論文を参考に提示した。

濃度変化に伴う  $T_g$  での  $\Delta C_p$  挙動を調べた結果、2 種のグルコシド/水混合系の  $\Delta C_p$  は、グルコシドと水の  $\Delta C_p$  を用いた単純な一次関数によって示すことができないことが明らかとなった。 $\Delta C_p$  は濃度変化に伴って明確な 2 つの屈曲点を示し、それぞれの屈曲点を境として、高濃度側から三つの領域 A, B, C に分けられた。ラメラ-等方性溶液間の相転移エンタルピー ( $\Delta H$ ) の濃度変化挙動を調べた結果、一つの屈曲点が得られ、それは  $\Delta C_p$  で観察された領域 A, B の境界濃度に相当した。 $\Delta C_p$  および、 $\Delta H$  は領域 A からグルコシド濃度 0 へと外挿すると、それぞれ 0 の値が得られ、それより領域 A における  $\Delta C_p$  と  $\Delta H$  への水の寄与はほとんど無いと考えられた。炭水化物/水混合物系で報告されている“非浸透性の水”の概念 (non-percolated water concept) を用いてこれらの結果の考察に当たり、領域 C では水は系内に連続的に浸透しており、領域 A ではすべての水が非浸透下にあり、領域 B では領域 A-B, B-C の境界に相当する組成、すなわち浸透している水と非浸透下の水を有する組成が共存していると考えられた。すなわち、領域 A と C において、それぞれの水の状態は大きく異なることが示された。

この研究により、アルキルグリコシド系界面活性剤と水との混合系の幅広い濃度範囲におけるガラス転移挙動が初めて見出された。本研究では  $O$  または  $S$  とするグリコシド結合を有するオクチルグリコシドに着目し、それぞれにおいて類似の挙動を示すことを認めたが、アルキルグリコシドには多種多様の構造があり、中にはオリゴ糖を親水部とする化合物も多く存在する。異なる糖質を親水部とすることで、ガラス転移温度などに大きな影響をもたらすことが容易に考えられ、今後それらの検討を行うことで、アルキルグリコシド系界面活性剤のガラス形成特性を基とする新規な用途が考案されることが期待される。



## 第4章

# NaCl 水溶液の凍結融解過程における糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果

### 4-1 緒言

#### 4-1-1 相図における共晶形成

##### 4-1-1-1 相図

多数の原子の集合体で、化学組成と物理的状态が空間的に一様な（均一な）巨視的性質を持つものを相という。相は固相、液相、気相の三つに大別される。そして、様々な相が熱力学的に安定に存在できる圧力と温度の領域を示したものを相図（状態図、相平衡図）という。Figure 4-1 に水の相図を示した。<sup>[1]</sup> 熱力学的平衡下では、相を構成する任意の成分  $i$  の化学ポテンシャルはすべての相において等しくなければならないため、すべての相図は任意の系において、自由度  $F$ （温度、圧力など）、成分数  $C$ 、平衡にある相の数  $P$ （固-液平衡など）において  $F = C - P + 2$  以下の関係を示す（Gibbs の相律）。よって、Figure 4-1 の三相共存となる三重点  $T_0$  では、自由度  $F = 1 - 3 + 2 =$  ゼロであり、すなわち、ただ一つの圧力、温度の組み合わせを示すこととなる。

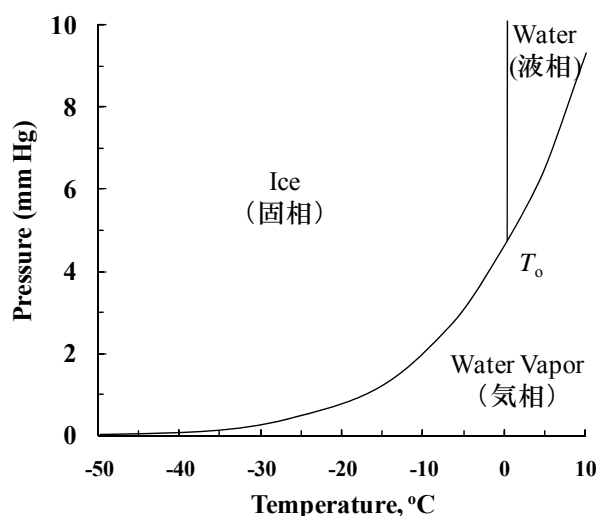


Figure 4-1 水の相図。固相、液相、気相の三相が共存している温度を三重点  $T_0$  と呼ぶ。<sup>[1]</sup>

#### 4-1-1-2 相図の型

二成分系で、横軸 (x 軸) に濃度、縦軸 (y 軸) に温度を取ると、2次元平面の相図が作成される。一般に、二成分系の相図はその型により五つの基本型に分けられている。<sup>[2,3]</sup> その中で、全率固溶型、相互溶解型を除く共晶型 (共融型)、包晶型 (化合物生成型)、偏晶型 (化合物生成型) は自由度がゼロとなる三相共存点 (共晶点) を有することから、共晶と呼ばれる物理的混合物が形成される。以下に共晶型、包晶型について記述した。

##### <<共晶型相図>>

代表的な共晶型相図である benzene/naphthalene 二成分系相図を Figure 4-2 に示した。<sup>[4]</sup> この図において、AB と BC はそれぞれそれより低温において benzene または naphthalene が結晶化する曲線を示している。水溶液系では AB は凝固点曲線、BC は溶解度曲線と呼ばれている。DBE の直線は benzene の固体と naphthalene の固体の混合物が融解または溶解する温度であり、それ以下の温度では両成分は完全な固体となっている。ABC より高温の領域は均一な液相であり、ABD と BCE で囲まれた領域は固-液共存領域に相当する。点 B は AB、BC の両曲線の交点に相当し、 $F = 2 - 3 + 2 = 1$  となるため、圧力一定下では自由度はゼロとなる。そのため、点 B は単一の温度を示すこととなる。この点 B を共晶点 (共融点) と呼び、これ以下の温度では共晶 (または共融混合物) と呼ばれる固相が形成することとなる。

$S_1$  の温度と組成の試料を冷却した場合について考える。試料溶液は冷却されると、 $S_1$  から AB 上の X へと到達した際、固体の benzene を析出する (この時、過冷却は無いものと仮定する)。すると、benzene が減少した分だけ、溶液中の naphthalene 濃度は増加するため、平衡温度は AB 上に沿って高濃度側および低温へと推移していく。そして、さらに濃縮が進み点 B (BC 上) に到達すると、その時 benzene と同時に naphthalene が析出することとなり、すべての benzene と naphthalene は点 B の組成を変えることなく固化していく。この 2 種類の固相が混合する物理的混合物が共晶である。共晶が化学的混合物ではなく、物理的混合物である根拠の一例としては、共晶を形成する組成 (共晶組成) である 20 wt% KCl 水溶液を急冷し、その後 -70 °C で凍結乾燥することで得た試料を電子顕微鏡により観察すると、氷の球状晶と KCl のランダム形状の結晶がそれぞれ観察されるといった報告例が挙げられる。<sup>[5]</sup>

##### <<包晶型相図>>

二成分系において溶質と溶媒は、水溶液系では“水和物”、非水溶液系では“溶媒和物”と呼ばれる一つかそれ以上の異なる化合物をしばしば形成する。その際、二成分間に新たな化合物が安定に生成できる系の相図を偏晶型、あまり安定で無く、融点よりも低い温度で分解してしまう系の相図を包晶型と呼ぶ。

Figure 4-3 は包晶型の代表例である NaCl/水二成分系相図を示している。<sup>[4]</sup> この系では、



非調和融点(包晶点)と呼ばれる点Cの0.15 °C以下において  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  を安定な固相とし、そのため BC は  $\text{NaCl}$  の溶解度曲線ではなく  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  の溶解度曲線に相当している。そのため、点Bの共晶点では氷の凝固点曲線と  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  の溶解度曲線が交差することとなり、形成される共晶は  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  と氷(氷)から構成される物理的混合物となる。

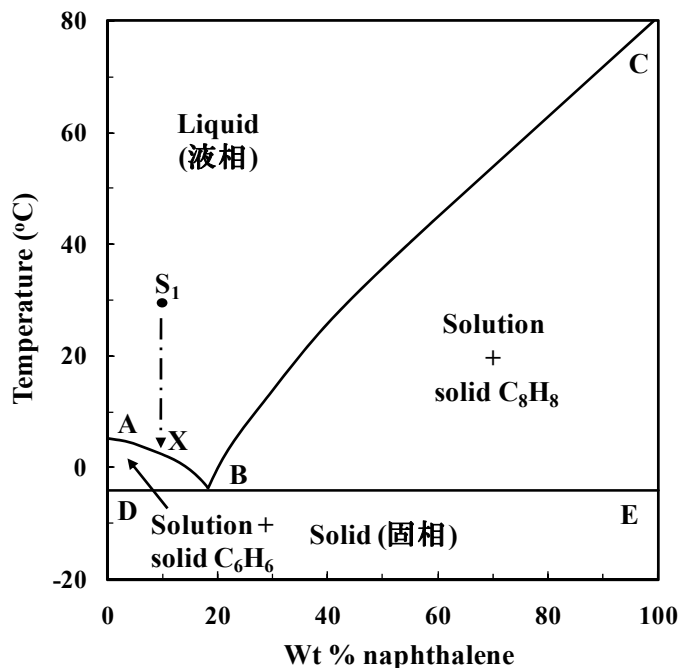


Figure 4-2 代表的な共晶型である benzene/naphthalene 二成分系相図。[4]

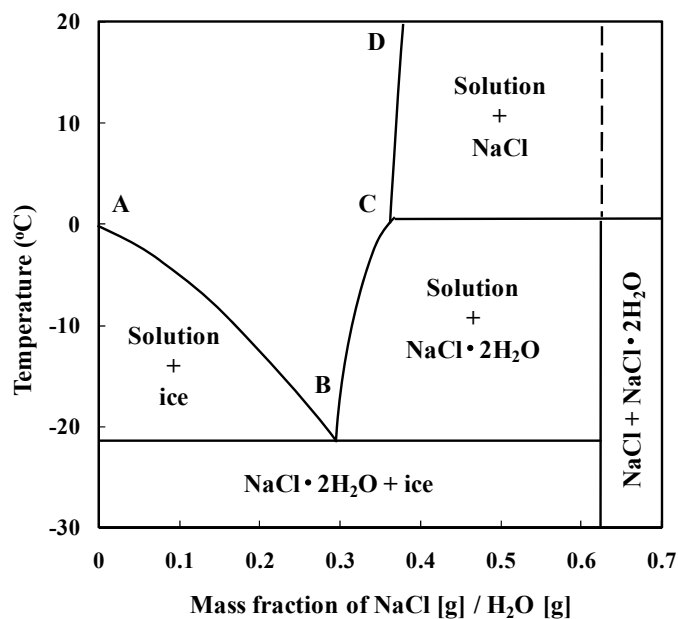
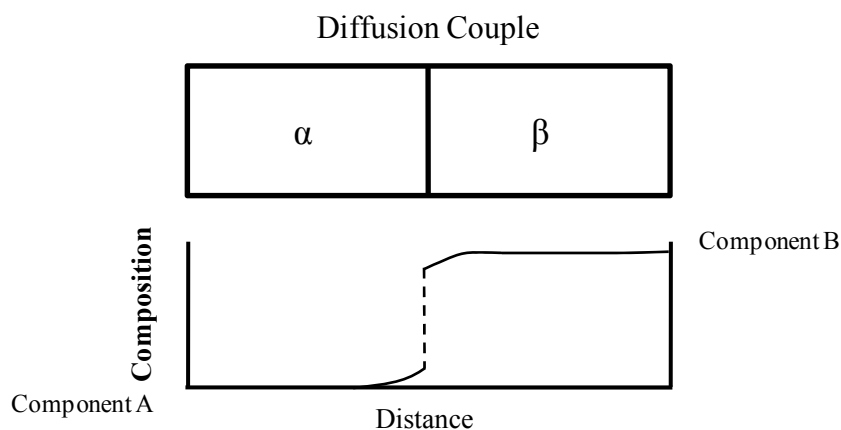


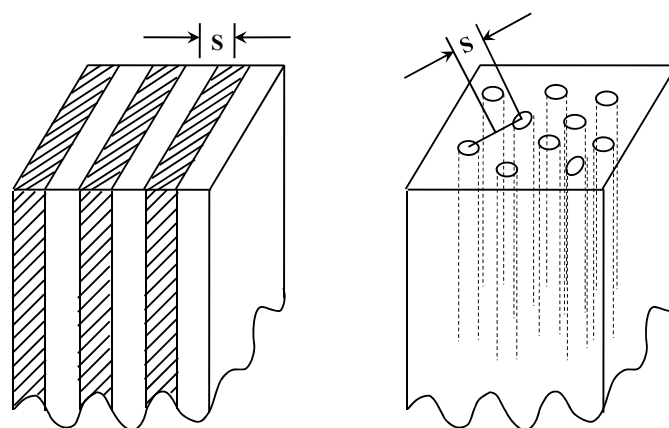
Figure 4-3 代表的な包晶型である  $\text{NaCl}$ /水二成分系相図。[4] 点Bにおける  $\text{NaCl}$  と水の重量比は 23.3 : 76.7 である (23.3 wt%  $\text{NaCl}$  水溶液)。

### 4-1-1-3 共晶凝固

共晶はマクロにおいては同一組成での固化により形成すると考えられるが、その実質は物理的混合物であるためミクロな構造においては二つの固相が完全に分離した形状を示している。<sup>[6]</sup> すなわち、ミクロ視野においては Figure 4-4 に示されたように、成分 A, B がそれぞれ  $\alpha$  相、 $\beta$  相といった固相を形成する場合、界面付近のみ成分 A, B は混在した形となり、界面より遠い領域では、ほぼ成分 A, B は純物質で存在することとなる。これは、共晶の固化過程が、片一方の固相 ( $\alpha$  相) が形成する際に、成分 B が排斥され、他方の固相 ( $\beta$  相) が形成する際に、成分 A が排斥されるといった協働的な過程を含むことに起因する。その結果、マクロ視野においては一見、均一な組成で固化しているように見られる。また、この協働的な固化過程により共晶の微細構造は様々な形状を示す。共晶の微細構造として良く知られる、間隔の等しい層状または棒状の微細構造の模式図を Figure 4-5 に示した。



**Figure 4-4** 成分 A, B が  $\alpha$  相、 $\beta$  相をそれぞれ形成する場合の共晶温度以下の温度における組成プロファイルの模式図。<sup>[6]</sup>



**Figure 4-5** 層状または棒状の微細構造を有する共晶組織の模式図。(左) 層状。(右) 棒状。二つの相の中心は同一の距離  $s$  を有する。<sup>[6]</sup>

#### 4-1-1-4 水溶液系における共晶形成

##### <<二成分水溶液系>>

水溶液系では多くの混合成分が水の結晶格子中に固溶できないため (D<sub>2</sub>O は除く) [7]、ほとんどの系において共晶を形成する。\* 例えば、非常に相互の溶解性が高い水/エタノール二成分系でも-120 °C 程度の低温においてエタノールとエタノール水和物から構成される共晶を形成する。[8] その一方で、水溶液系では様々な水和物が形成されることから、系の共晶点は溶質と水との相互作用形態により大きく変動するといった特徴も見られる。例えば、エタノールと同程度の分子量を持つ ethylene oxide は単一成分では融点を-111 °C に持ち、また常温において水に良く溶解する性質を示すが、ethylene oxide•6.91 H<sub>2</sub>O の水和物の形成により、それと水との共晶点は-4.1 °C という高温を示す。[9] また、アルカリ金属/水二成分系を見てみると、イオン半径は Li < Na < K < Rb < Cs の順となるが、それぞれのアルカリクロリド/水二成分系の共晶点は-74.8 [10], -24.1, -10.8[11], -16.4[11], -23.3 °C[11]と、順列において規則性は一致していない。Table 4-1 はいくつかの二成分系水溶液の共晶点温度を示しているが[12]、様々な電解質/水二成分系、有機化合物/水二成分系において共晶が形成されることがわかる。

Table 4-1 水と様々な溶質の共晶点温度[12]

溶質	共晶点 (°C)
Monosodium citrate	-2.0
Disodium citrate	> -12.0
Trisodium citrate	-6.9
Sodium carbonate	-4.1
Sodium hydrogen carbonate	-2.3
Sodium nitrate	-18.5
Monopotassium citrate	-2.2
Dipotassium citrate	-15.6
Tripotassium citrate	< -40.0
Potassium carbonate	-36.5
Potassium hydrogen carbonate	-6.0
Calcium chloride	-55.0
Magnesium chloride	-33.6
Hydrochloric acid	-86.0
Anhydrous sucrose	-13.9
D-fructose dihydrate	-9.7
Glycerol	-46.5

\*水の場合、フッ素 (F) や塩素 (Cl) などの特定の不純物は NH<sub>3</sub>、HF、HCl などが水分子と置換して水の結晶格子点に入りこむと考えられている。これらの不純物は ppm オーダーの濃度であっても水の性質に大きく影響することが知られる。[7]

## <<三成分系水溶液>>

三成分系の共晶形成は二成分系における考え方に比べ複雑である。<sup>[13,14]</sup> それは水と二つの溶質 A, B から成る三成分系では、最終的に三成分の固相から成る共晶が形成されるが、その過程に水と A からなる共晶、または水と B からなる共晶の形成を含んでいることに起因する。三成分系における共晶の生成過程について以下に記述する。

ここでは簡略化のため、凍結開始時は水のみが結晶化してくる成分とし、相変化は過冷却を含まない平衡下で生じるものとする。そのような場合、氷の形成に伴い溶質濃度は増加していくこととなるが、この時の成分 A と B の重量比は常に一定のままであり見かけ上、水/溶質 (A, B 比を一定とする) の準二成分系に変換される。冷却が進み、準二成分系における共晶点に到達すると、成分 A, B の析出しやすさが  $A > B$  である場合、今度は水と共に成分 A が結晶化していくこととなる。すなわち氷と成分 A の共晶が形成することに相当する。しかし、氷と成分 A の析出により液相では成分 B 濃度が上昇するため、氷と成分 A の共晶点は凝固点降下現象によって低下していくこととなり、すなわち氷と成分 A のすべては一定温度で固化しない。この点が二成分系における共晶形成と大きく異なる点と言える。さらに冷却し、最終的に成分 B が析出する温度となる三成分系の共晶点に到達すると、全ての成分が初めて固化する ( $F = 0$ )。

いくつかの三成分水溶液系の共晶点を、構成する二つの水二成分系の共晶点とともに Table 4-2 に記載した。それぞれの温度を比較すると、三成分系の共晶点は、二成分系における共晶点よりも、一部のものはずかかに、また一部のは顕著に低温側へと推移していることが認められる。また、Table 4-2 の entry 5 に当たる  $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{水}$  三成分系はしばしば生化学分野で利用されるバッファー溶液である。このバッファー溶液を冷却するとまず  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  と氷が析出し、析出する固相に対して液相側に存在する  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  の濃度は上昇していく。冷却が進み、三成分系の共晶組成へ到達したとき、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  と  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  のモル比は 57 : 1 となり、pH 7 とする組成比 0.74-1 とは大きく異なる。<sup>[15]</sup> 結果、リン酸ナトリウムバッファー溶液における  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  の結晶化は、溶液の pH を 7 から 4 程度まで低下させ、緩衝液としての機能に大きな問題を生じさせることが報告されている。<sup>[16]</sup> 凍結過程における共晶形成を良く理解することの重要性を提示する一例として紹介した。

Table 4-2 水と様々な溶質の共晶点温度

溶質	二成分系の共晶点 (°C)	溶質	二成分系の共晶点 (°C)	三成分系の共晶点 (°C)
NaCl	-21.2	KCl	-10.7	-24.0 <sup>[14]</sup>
NaCl	-21.2	Mannitol	-3.5	-23.5 <sup>[14]</sup>
NaCl	-21.2	Glycine	-3.0	-26.0 <sup>[14]</sup>
NaCl	-21.2	Glycerol	-46.5	-80 <sup>[13]</sup>
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	-9.7	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	-0.5	-9.9 <sup>[15]</sup>
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	-2.7	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	-13.7	-16.7 <sup>[15]</sup>

## 4-1-2 生化学分野における共晶形成

### 4-1-2-1 共晶形成による生体組織の損傷

生体組織は、Na や K などのイオンを多く含んでいる。そのため、生体組織が冷却され、氷の結晶化が開始すると、凍結の進行とともに高濃度となった未凍結液相中では共晶が形成することとなる。このような共晶の形成は、細胞や酵素などの生体組織に対し直接的に損傷を与えることが数多く報告されている。<sup>[17-20]</sup> Han らは AT-1 ネズミ前立腺腫瘍細胞株の凍結融解過程において、NaCl•2H<sub>2</sub>O / 氷共晶形成前後における細胞の生存率は 63.9%から 17.8%へと激減したことを報告した。<sup>[17]</sup> Wang らは MCF-7 ヒト乳癌細胞株の凍結融解過程における生存率を調べ、glycine / 氷共晶形成により大きく生存率が減少したことを認めている。<sup>[18]</sup> また、Heber らはチラコイド膜を含んだ NaCl 水溶液を凍結させる際、添加するアミノ酸により、融解後のチラコイド膜による光リン酸化活性が保持される場合とされない場合とがあることを述べた<sup>[21]</sup>。後に Chen らは不活性化した系では総じて何らかの共晶が形成されやすいことを指摘した。<sup>[19]</sup> さらに、微生物 *S. cerevisiae* IAM4-264 においても凍結下での共晶形成がその後の生存率を低下させることが報告されている。<sup>[20]</sup> これらの実験事実から、共晶形成が細胞損傷等を高める原因となるとの考えは近年では一般的な見方となっている。<sup>[22]</sup>

### 4-1-2-2 種々の添加物による共晶形成抑制効果

チラコイド膜がいくつかのアミノ酸添加により、凍結融解過程において活性が保持されたことは前述した。このアミノ酸のように、凍結融解過程において細胞障害を和らげる作用や、生理活性保持効果をもたらす物質は凍結保護剤 (cryoprotectant) とよばれている。また、凍結と乾燥過程を含む凍結乾燥過程において安定化を示す物質は凍結乾燥保護剤 (lyoprotectant) とよばれる。これらの安定化剤の役割は保存または貯蔵する際の生体組織の種類や、安定剤の種類により様々であるが、一般に共晶形成を抑制する物質は両者の性質を兼ね揃えていると考えられている。<sup>[22, 23]</sup>

凍結下での保護剤の添加による共晶形成抑制は、水溶液の凍結融解過程を熱分析することでその作用を調べることができる。Figure 4-6 に本研究において行われた NaCl 水溶液の共晶形成に対するスクロースの抑制効果を示した示差走査熱量計 (DSC) 測定の結果を示した。Figure 4-6 (a) のスクロース無添加における DSC 熱曲線では、-21 °C 付近に NaCl•2H<sub>2</sub>O / 氷共晶の融解に伴う吸熱ピークが観察されており、冷却過程において NaCl•2H<sub>2</sub>O / 氷共晶が形成したことが理解される。しかし、スクロースを添加していき、その量を徐々に増やしていくと共晶の吸熱ピークは (b), (c) と明らかに小さくなっていき、(d) においては完全に消失したことが認められる。これは、スクロースの添加により凍結および融解過程全般において NaCl•2H<sub>2</sub>O / 氷共晶の形成が完全に抑制されたことを示すものである。

水溶液の凍結融解過程で形成する様々な溶質と氷から成る共晶に対して、種々の物質が

抑制作用を示したことについてはこれまで広く研究がなされており、例えば、 $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  / 氷共晶に対しては、グリセロールや糖質、アミノ酸、polyethylene glycol (PEG)、polyvinyl pyrrolidone (PVP)、ficoll、dextran などの高分子が、凍結融解過程において共晶形成を抑制したことが報告されている。 [20,24-27]

ここで、注意すべき点として、添加物を加えることによる凍結融解過程の共晶形成の抑制はあくまで非平衡下において見られる挙動であり、その抑制の有無は測定条件（冷却、昇温条件、濃度、試料容量、etc）に大きく依存することである。例えば、Table 4-2 に示したようにグリセロール/ $\text{NaCl}$ /水三成分系では、平衡下において $-80\text{ }^\circ\text{C}$  で三成分の固相から成る共晶を形成する。 [13] しかし、測定条件によっては、グリセロールの添加により三成分の共晶のみならず、 $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /氷からなる共晶すらも析出せず水溶液を凍結融解させることが可能となる。測定条件が大きく影響を及ぼすことがわかる他の例としては PEG/ $\text{NaCl}$ /水三成分系がある。 [28] PEG/水二成分系、 $\text{NaCl}$ /水二成分系ではそれぞれ PEG/氷の共晶と  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /氷の共晶を形成するが、少量の PEG の添加により  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /氷の共晶形成は抑制される。逆に PEG/氷の共晶形成も  $\text{NaCl}$  の少量の添加により抑制される。しかしどちらかが過剰量含まれている場合は、過剰な方の物質と氷から構成される共晶が形成されてしまう。つまり、この系ではある特定の濃度条件においてのみ、すべての共晶形成が抑制される結果が得られるということとなる。多くの糖質や高分子性の安定化剤添加系では、未凍結相中でのガラス形成が共晶形成抑制効果に寄与していると考えられている。 [23-25]

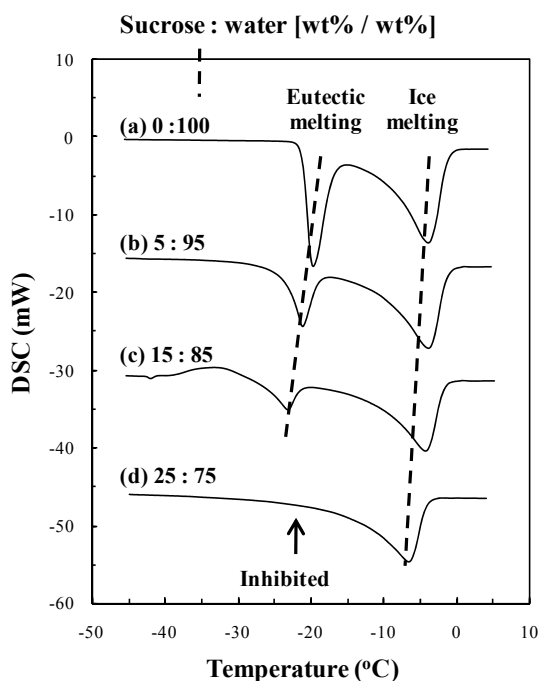
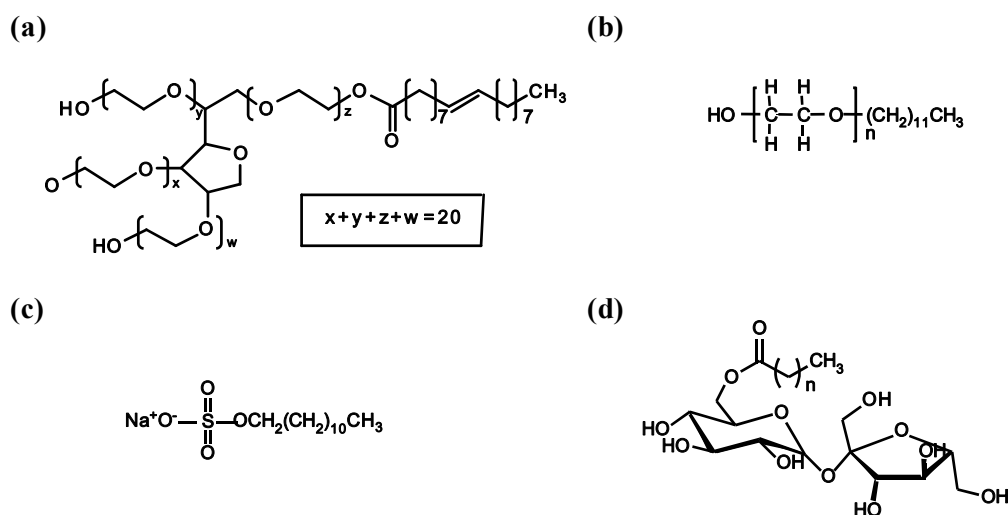


Figure 4-6 スクロース添加による  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /氷の共晶形成抑制効果を示した DSC 融解熱曲線。NaCl 濃度 1.5 mol / kg 一定下、(a)から(d)へとスクロース濃度を増加させている。

### 4-1-3 本章の目的

種々の界面活性剤はタンパク質水溶液の凍結融解または凍結乾燥において安定化剤として作用することが報告されている。<sup>[23, 29-32]</sup> しかしながら、これまで報告されているそれらの安定化効果は主としてタンパク質が容器表面へ吸着する事や、タンパク質同士の凝集抑制などの界面活性剤の特性に起因したものであり、それらは poly sorbate から sodium dodecyl sulfate (SDS) までの様々な界面活性剤に共通して認められ、界面活性剤の種類による差別化はなされていない (Figure 4-7 にそれぞれの構造式を示した)。<sup>[29, 30]</sup> その一方で、L-lactate dehydrogenase や  $\beta$ -D-galactosidase などのタンパク質水溶液の凍結乾燥過程においては、糖質を親水部とするシヨ糖脂肪酸エステルはタンパク質の活性を顕著に保持した一方で、poly sorbate や SDS などでは活性を保持するというよりもかえって失活させた報告がいくつかなされている。<sup>[31, 32]</sup> しかしながら、この理由についてはこれまで深く検討はなされておらず、糖質系界面活性剤が如何なる理由により凍結乾燥過程におけるタンパク質の活性保持に寄与したかについては不明瞭なままであった。

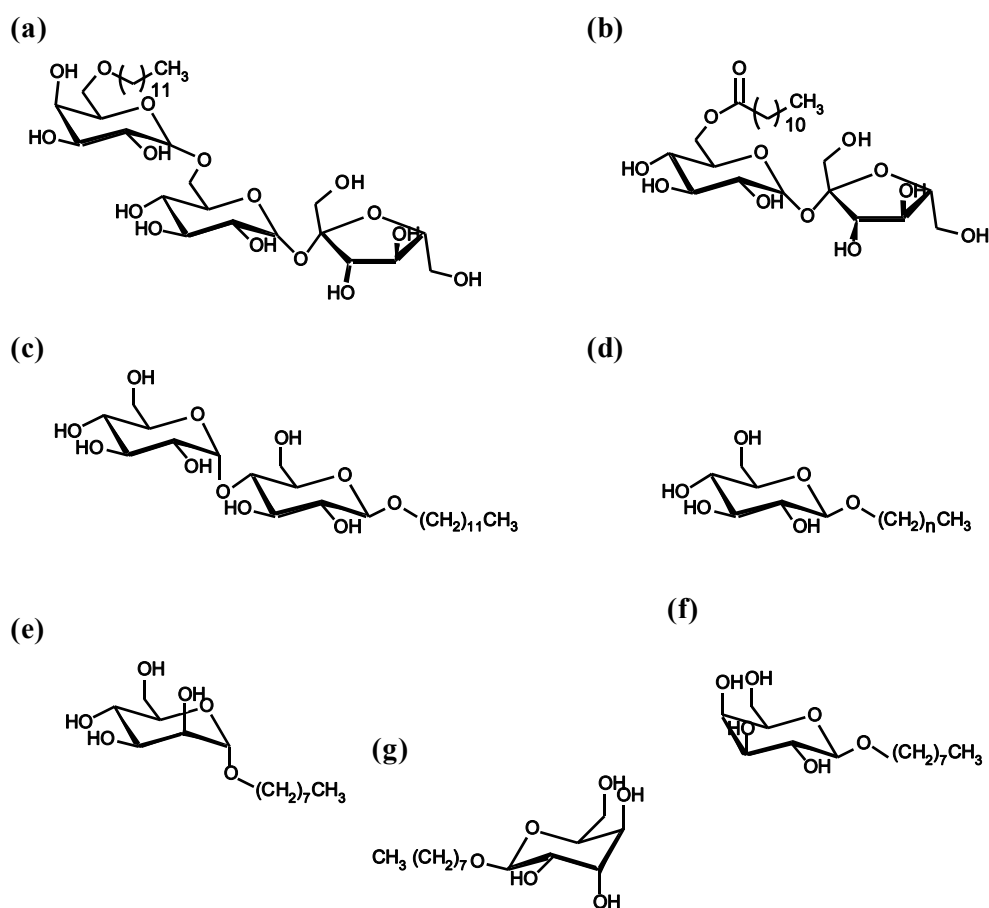


**Figure 4-7** タンパク質の凝集抑制効果が認められている代表的界面活性剤。<sup>[29-32]</sup> (a) Poly sorbate (Tween 80). (b) Brij 35 (alkyl polyethylene glycol ether). (c) Sodium dodecyl sulfate (SDS). (d) Sucrose fatty acid ester.

前述したように、凍結下において共晶形成を抑制する添加物が凍結融解・凍結乾燥過程において優れた安定化剤となり得るという考えは一般的に受け入れられている考え方である。<sup>[18, 23]</sup> 著者は糖質系界面活性剤がタンパク質水溶液の凍結乾燥過程において安定化剤としての作用を示したことから、糖質系界面活性剤は共晶形成を抑制するといった一般的な安定化剤としての機能性を有している可能性があると考えた。特に、天然の糖質は凍結融解・凍結乾燥過程において様々な生体組織に損傷を与える凍結下における共晶形成を抑制

する代表的な安定剤であり<sup>[24-24]</sup>、糖質系界面活性剤は親水部にその糖質を有することから、天然の糖質が示すような共晶形成抑制作用を有することが考えられた。そこで、種々の糖質系界面活性剤が共晶形成に対してどのような影響を与えるかについて検討を行うことを試みた。

本章の以下の節では、種々の糖質系界面活性剤が NaCl 水溶液において共晶形成を抑制したことを示した上で、そして XRD-DSC 同時測定による相転移挙動の同定、DSC 測定による融解エンタルピー挙動の検討などを行い、ガラス形成を基盤とした糖質系界面活性剤の共晶形成抑制機構を提示した。また同時に、糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果に及ぼす親水部構造と疎水鎖構造の影響について調査を行うことで、異なる構造を有する糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果について評価した。本章で扱った糖質系界面活性剤の構造を以下にまとめた (Figure 4-8)。



**Figure 4-8** 本章で扱う糖質系界面活性剤の構造。(a) 6''-*O*-dodecylraffinose (C12Raf). (b) Sucrose 6-*O*-dodecanoate (C12Suc). (c) Dodecyl  $\beta$ -D-maltoside (C12Mal). (d) Alkyl  $\beta$ -D-glucoside (CnGlu). (e) Octyl  $\alpha$ -D-mannoside (C8Man). (f) Octyl  $\beta$ -D-galactoside (C8Gal). (g) Octyl  $\beta$ -D-guloside (C8Gul).



## 4-2 試薬・機器・試料作製

### 4-2-1 試薬

Table 4-3 試薬一覧

試薬名	略称	備考
Distilled water	-	和光純薬工業株式会社。
塩化ナトリウム	NaCl	和光純薬工業株式会社。
ラフィノース	Raf	和光純薬工業株式会社。
スクロース	Suc	和光純薬工業株式会社。
グルコース	Glu	和光純薬工業株式会社。
6"- <i>O</i> -dodecylraffinose	C12Raf	化学合成により調製（第6章参照）。
Dodecyl $\beta$ -D-maltoside	C12Mal	和光純薬工業株式会社。エタノール/クロロホルムにより再結晶したものを使用。
Sucrose 6- <i>O</i> -dodecanoate	C12Suc	化学合成により調製（第6章参照）。
Nonyl $\beta$ -D-glucoside	C9Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Octyl $\beta$ -D-glucoside	C8Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Heptyl $\beta$ -D-glucoside	C7Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Hexyl $\beta$ -D-glucoside	C6Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Pentyl $\beta$ -D-glucoside	C5Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Butyl $\beta$ -D-glucoside	C4Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Propyl $\beta$ -D-glucoside	C3Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Ethyl $\beta$ -D-glucoside	C2Glu	化学合成により調製（第6章参照）。
Methyl $\beta$ -D-glucoside 0.5 H <sub>2</sub> O	C1Glu	東京化成工業株式会社。
Octyl $\beta$ -D-mannoside	C8Man	化学合成により調製（第6章参照）。
Octyl $\beta$ -D-guloside	C8Gul	化学合成により調製（第6章参照）。
Octyl $\beta$ -D-galactoside	C8Gal	化学合成により調製（第6章参照）。

## 4-2-2 機器

Table 4-4 機器一覧

機器名	装置名	製作会社
示差走査熱量計 (DSC) *1	DSC-60	株式会社 島津製作所
X線回折-DSC 同時測定装置 (XRD-DSC) *2	XRD-DSC II	株式会社 リガク
偏光顕微鏡 (POM)	BH-51	オリンパス株式会社
大型試料冷却加熱ステージ*3	LTS 350	Linkam Sci. Instrum. Ltd.
全自動デジタル表面張力計*4	CBVP-A3	協和界面科学株式会社
Wilhelmy plate 法用 ガラスプレート (フック付き)	—	協和界面科学株式会社
熱電対型温度計*5	CT1200D (センサーLK-300S)	株式会社 島津製作所

\*1, \*3 の装置較正は 2-2-2 と同様にして行った。

\*2: XRD-DSC 同時測定では容器は密閉されていないため、外気の影響を強く受け、低温下における測定では装置較正は行えなかった。

\*4: 表面張力測定は取扱説明書に従い分銅により較正した。また、その際のガラスプレートを用いて測定した純水の表面張力は 72.0 mN/m と文献値と一致した。

\*5: 熱捕捉測定 (TAM: thermal arrest measurement) で使用した熱電対型温度計の温度較正には、純粋な氷の融点と NaCl・2H<sub>2</sub>O/ 氷共晶の共晶点の数値を用いた。

### 4-2-3 試料作製

DSC 測定、XRD-DSC 同時測定、POM 観察、表面張力測定、TAM 測定では様々な濃度の NaCl 水溶液と、糖質または糖質系界面活性剤/NaCl 水溶液を試料溶液として用いた。それぞれの試料は次のように作製した。

#### 1) NaCl 水溶液の調製

50 °C、2h 真空乾燥を行った NaCl を任意の水に超音波処理とボルテックス攪拌を用い、完全に溶解させることで様々な濃度の NaCl 水溶液を調製した。

#### 2) DSC、XRD-DSC 同時測定、POM 測定用試料の作成

50 °C、2h 真空乾燥を行った Suc、または各種糖質系界面活性剤を水または NaCl 水溶液に加温、超音波処理することで完全に溶解し、様々な濃度の試料溶液を調製した。なお、Raf は乾燥せずに使用した。DSC 測定に際しては、それらの水溶液を空のアルミパンに 7~9  $\mu$ l 程度加え、シーラーにより素早く封入することで試料とした。XRD-DSC 同時測定に際しては、調製した試料溶液をそのままサンプル容器に注ぎ測定試料とした。POM においてはスライドガラスとカバーガラスの間に挟みこむことで観察試料とした。DSC と POM の試料形態は Figure 2-8, 2-10 と同様にした。

#### 3) 表面張力測定用試料溶液の作製

50 ml メスフラスコに任意量の糖質系界面活性剤を加えた後、水または NaCl 水溶液に完全に溶解させ、良く攪拌することで濃度 [mol/l] の規定された均一溶液を調製した。希薄溶液の調製に際しては、形成した気泡をドライヤーにより破壊した後、メスピペットにて 30 ml 分取し新たな 50 ml メスフラスコに加え、同濃度の水または NaCl 水溶液を加えメスアップすることで調製した。順次、希釈を繰り返すことで様々な濃度の希釈溶液を調製した。

#### 4) 熱捕捉測定試料の作製

50 °C、2h 真空乾燥を行った無水 Glu または C5Glu を任意量試験管に秤量し、2~3 ml の NaCl 水溶液に均一に溶解することで測定試料とした。

## 4-3 結果・考察

### 4-3-1 NaCl 水溶液の凍結融解過程における熱挙動解析

本研究では共晶形成に関する多くの研究で使用されている DSC 測定により、糖質または糖質誘導体を含む NaCl 水溶液の凍結融解過程について検討を行った。DSC 測定では総じて、常温から  $-13\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  の速度で所定温度まで冷却し、その後その温度で 10min の等温保持後、比較的緩やかな昇温度度速度である  $3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  で昇温する測定条件で固定した。

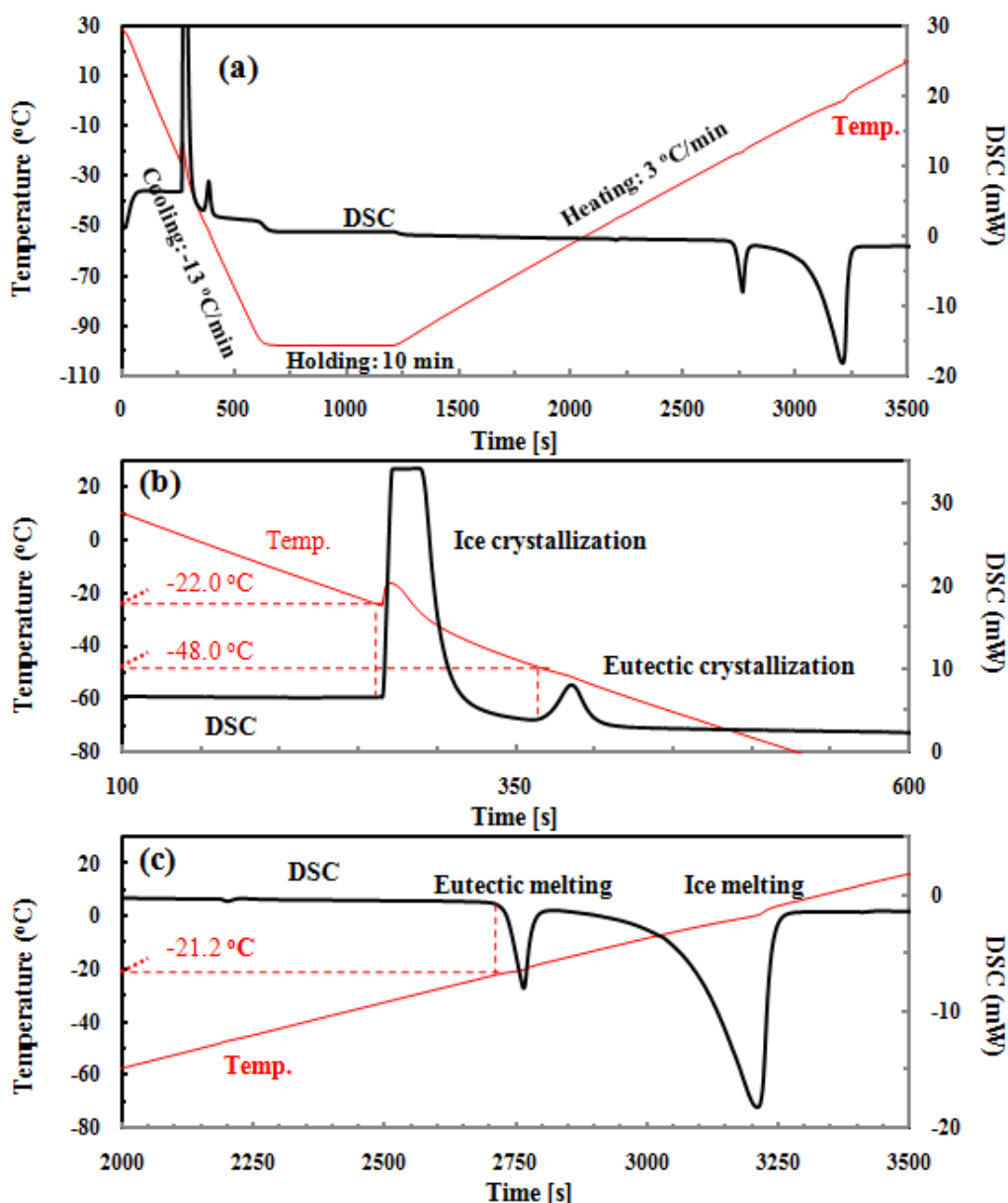


Figure 4-9 1.0 mol / kg NaCl 水溶液の凍結融解過程を示した DSC 熱曲線。(a) 全体図。(b) 拡大図: 凍結過程。(c) 拡大図: 融解過程。測定条件: 4-3-1 本文中記載。

まず初めに、純粋な NaCl 水溶液の凍結融解過程について検討した。Figure 4-9 に 1.0 mol / kg NaCl 水溶液を凍結融解させた際の DSC 熱曲線を示した。ここで、(a)は凍結融解挙動の全過程を示した図であり、(b), (c)は凍結挙動と融解挙動をそれぞれ拡大したものである。冷却過程では、まず氷が-22.0 °C 付近より結晶化し、その後 NaCl・2H<sub>2</sub>O と氷から構成される共晶が-48.0 °C 付近で結晶化することが観察された。また、融解過程では-21.2 °C で共晶の融解が開始し、その後ややブロードの吸熱ピークとして氷の融解が観察された。冷却過程において氷が初めに結晶化したことは、初期水溶液は共晶組成 (23.3 wt% NaCl 水溶液, 5.2 mol / kg NaCl 水溶液) よりも顕著に低濃度であること、そして融解過程における吸熱ピークの大きさを比較することで理解された。上述したように、共晶は-48.0 °C 付近から結晶化しているが、それは共晶の結晶化が生じる上で、融解温度の-21.2 °C に対し-30 °C 程度の過冷却を必要としたことを示している。Hvidt らにより行われた-2 °C/min における冷却測定においてもこれと同程度の過冷却が報告されており<sup>[33]</sup>、本研究で観察された過冷却度は冷却速度に起因したものでないと考えられた。よって、添加物を含まない純粋な NaCl 水溶液の冷却過程では、共晶は明らかな非平衡下において生じるということが理解された。なお、共晶は NaCl・2H<sub>2</sub>O の析出が始まることで形成するため過飽和下での結晶化プロセスに相当するが、共晶の非平衡の程度を示す指標として“過冷却”を使用している資料があったため<sup>[6]</sup>、本研究でも便宜上使用した。

つづいて、NaCl 濃度を 0, 1.0, 2.0, 3.0 mol / kg と変化させた場合の融解曲線を Figure 4-10 に示した。

純水の融解過程を示した(a)は、0 °C における氷の融解のみを示したが、NaCl が存在する(b), (c), (d)では総じて-21.2 °C からの共晶の融解ピークを示した。結晶が融解する際の潜熱の吸収に相当するピーク面積は、共晶の融解では NaCl 濃度の増加に伴い上昇することが認められたが、氷の融解ピークは反対に小さくなっていく様が観察された。これらの吸熱ピークを用いて定量的な解析が可能かについて検討するため、本研究では Figure 4-11 のように吸熱ピークを[I], [II], [III]の三つの面積に分割し、氷と共晶の融解エンタルピーを算出することを試みた。

Figure 4-12 は NaCl 濃度変化に伴う [I], [II], [I] + [II] + [III], [III] + [II]の諸値の関係をプロットしたものである。図中の白丸は Hvidt らにより得られた文献値をプロットしたものに相当する。<sup>[33]</sup> 初めに、面積[I]について着目すると、[I]は 3.0 mol / kg ではわずかに逸脱しているものの、0.0 から 2.5 mol / kg までは NaCl 濃度に対し線形的に上昇することが観察された。このことから、先ほど述べた共晶が大きな過冷却のもと結晶化するという事項が、融解エンタルピーにおいて特に問題となるような影響を及ぼしていないことが示唆された。また、0.0 から 2.5 mol / kg までの近似直線を共晶組成である 5.2 mol / kg (23.3 wt% NaCl 水溶液) まで外挿すると、5.2 mol / kg NaCl 水溶液の全融解エンタルピー-[I] + [II] + [III]に到達することが認められた。5.2 mol / kg NaCl 水溶液は理論上共晶のみが形成すると考えられる共晶組成である。すなわち、上述した結果は、2.5 mol / kg までの初期 NaCl 濃度において、

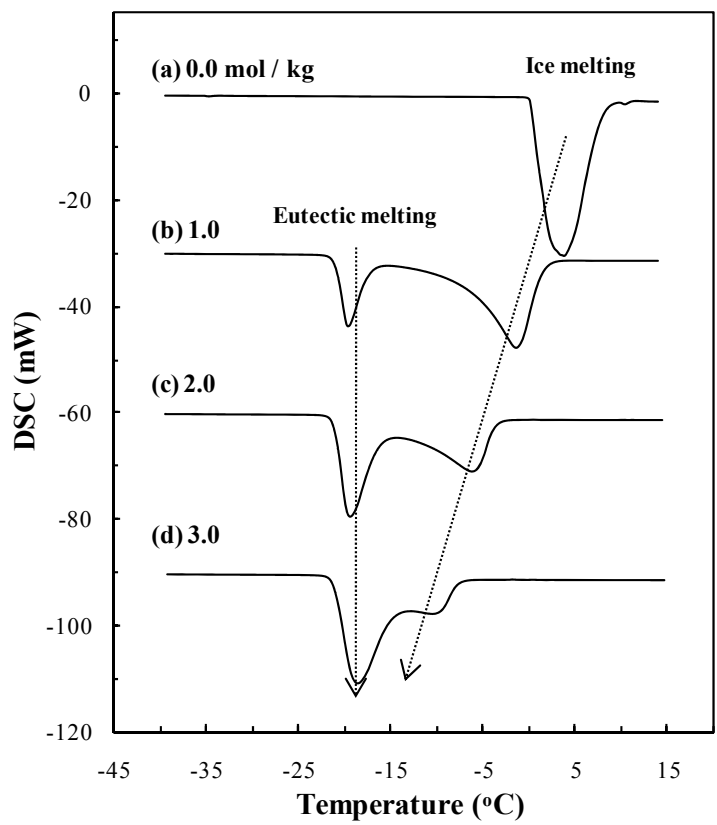


Figure 4-10 0.0, 1.0, 2.0, 3.0 mol / kg NaCl 水溶液の昇温過程を示した DSC 熱曲線。測定条件: Figure 4-9 と同じ。

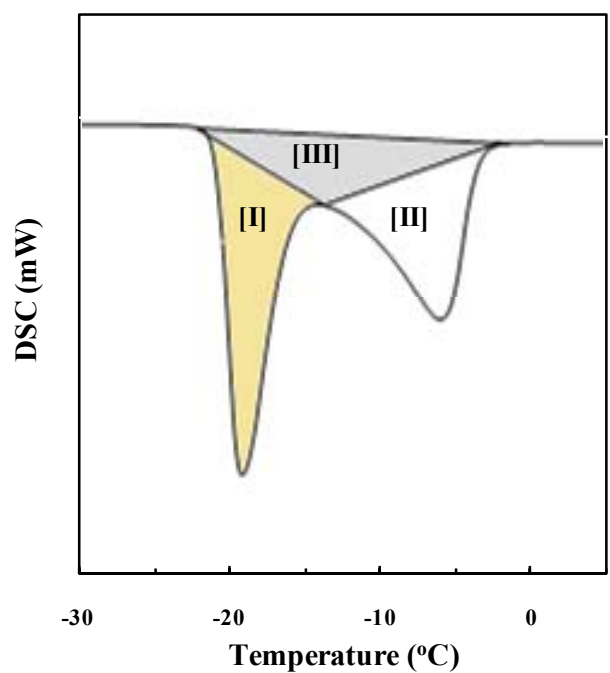


Figure 4-11 吸熱エンタルピーの分割方法。(Eg, 2.0 mol / kg NaCl 水溶液)

Figure 4-11 の[I]による融解エンタルピーの算出法は、共晶融解エンタルピーを正確に見積ることができるかと捉えることができる。一見、Figure 4-11の方法では、共晶の融解エンタルピーと氷の融解エンタルピーが面積(III)で重複していることが問題と考えられたが、結果的には良好な結果を指し示すものと結論づけられた。また、NaCl 水溶液の融解過程で得られる吸熱エンタルピーはすべて共晶と氷の融解エンタルピーで構成されていると考えられるため、氷の融解エンタルピーは全融解エンタルピーと[I]の差分として得られることとなり、それは[III] + [II]に相当することとなる。

これらの検討から、本研究では面積 [I] を共晶の融解エンタルピー、面積 [III] + [II] を氷の融解エンタルピーとするのが適当と考え、以後そのように取り扱うこととした。

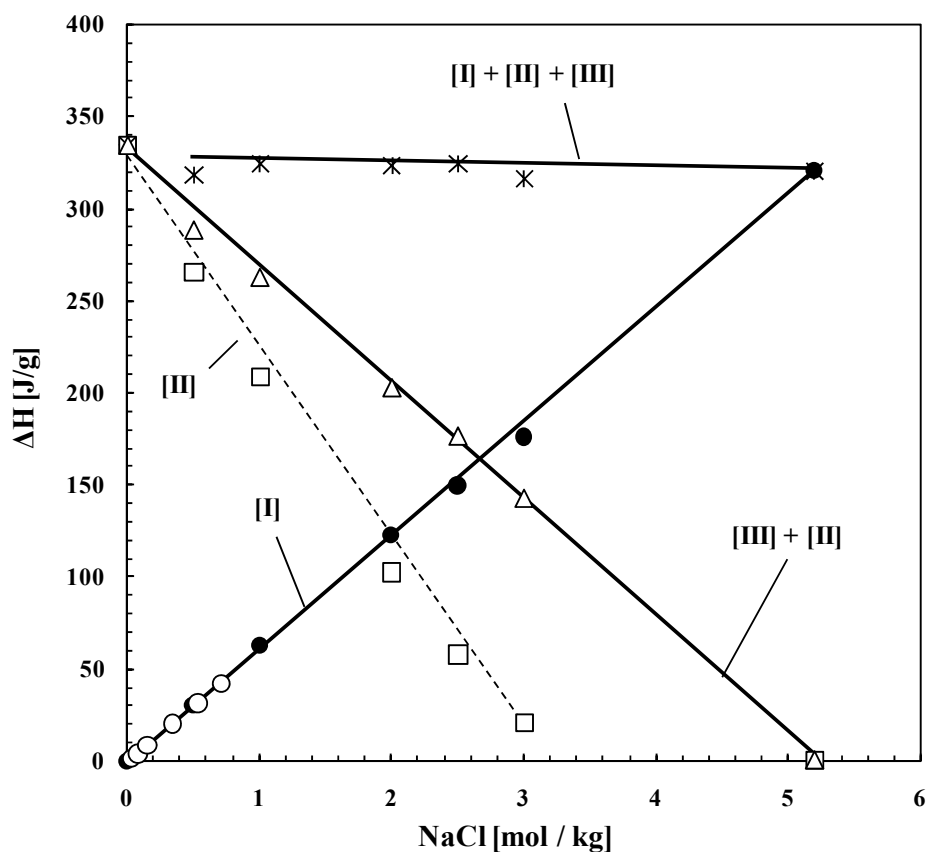


Figure 4-12 NaCl 濃度変化に伴う各種エンタルピー変化。それぞれの値は三つの試料を測定した際の平均値をプロットした。本文に記載した理由から、[I]は共晶融解エンタルピー、[III] + [II]は氷の融解エンタルピーに相当すると考えられた。

#### 4-3-2 DSC による糖質系界面活性剤/NaCl 水溶液の凍結融解挙動の分類

つづいて、NaCl 水溶液に糖質系界面活性剤を添加した際の三成分系における凍結融解挙動について検討を行った。Octyl  $\beta$ -D-galactoside (C8Gal) を除いて、試験した糖質系界面活性剤、6''-*O*-dodecylraffinose (C12Raf), sucrose 6-dodecanoate (C12Suc), dodecyl  $\beta$ -D-maltoside (C12Mal), alkyl  $\beta$ -D-glucoside (CnGlu), octyl  $\alpha$ -D-mannoside (C8Man), octyl  $\beta$ -D-guloside (C8Gul) の添加は総じて類似の挙動を示すことが認められた。代表的な熱挙動を示すものとして、C6Glu と水の重量比を 1:9 とした水溶液で NaCl 濃度を様々に変えた場合の一連の昇温熱曲線を Figure 4-13 に示した。

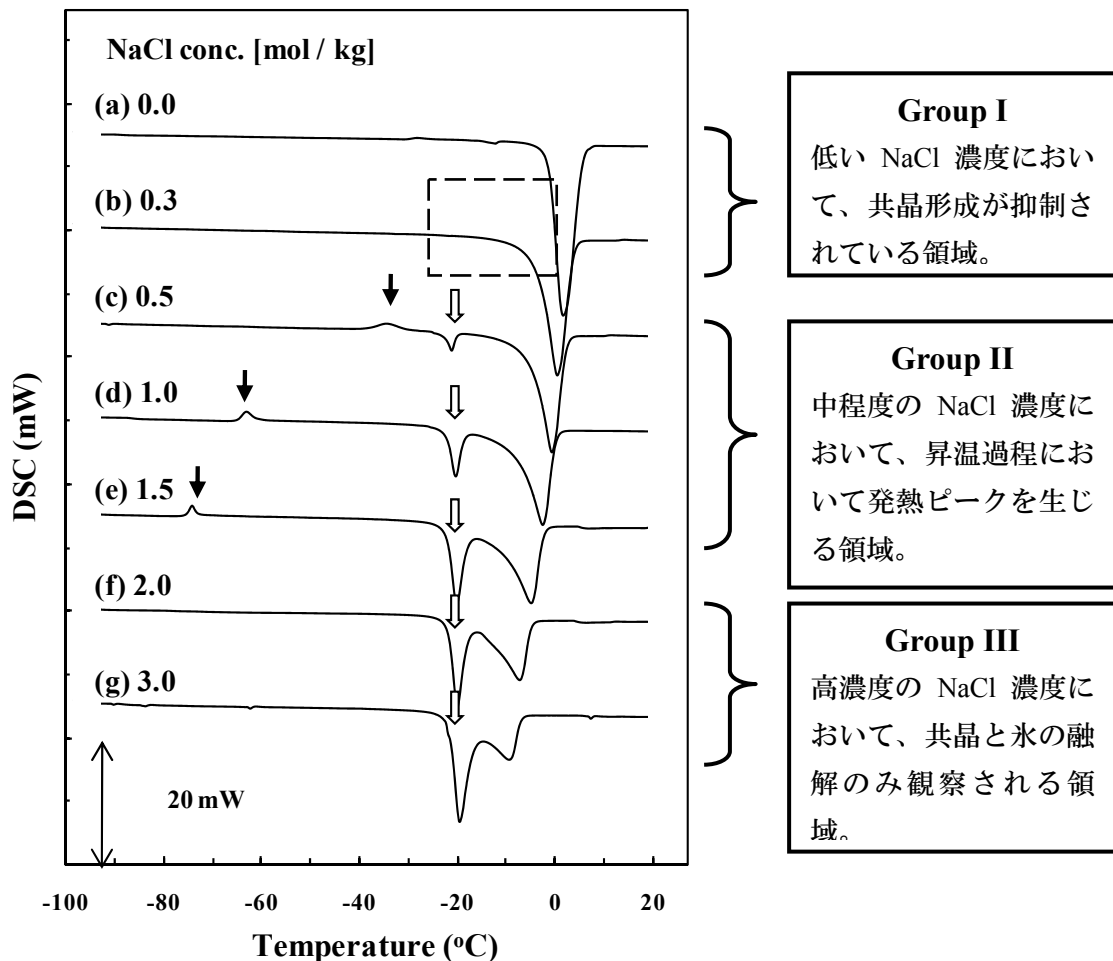


Figure 4-13 様々な濃度の C6Glu/NaCl/水三成分系を凍結させた後の一連の融解挙動を示した DSC 熱曲線。C6Glu/水の重量比は 1:9 で固定した。測定条件: Figure 4-9 記載。



Figure 4-13 より、糖質系界面活性剤の添加系での NaCl 水溶液の凍結融解過程は、純粋の NaCl 水溶液とは大きく異なる挙動を示した。添加剤無しの NaCl 水溶液の場合では、共晶の吸熱ピーク面積は NaCl 濃度に依存して上昇したが (Figure 4-12)、一定量の糖質系界面活性剤存在下では、NaCl 濃度が低濃度の場合、共晶の融解ピークは観察されず、すなわち共晶の形成が完全に抑制されたことが示された (Figure 4-13 (b))。

NaCl 濃度がやや高くなった Figure 4-13 (c), (d), (e) では、昇温熱曲線中に発熱ピークが認められ、その後、共晶の融解ピークが観察された。このような挙動は Figure 4-10 の NaCl 水溶液においては観察されておらず、糖質系界面活性剤がもたらした効果と理解される。発熱ピークは、NaCl 濃度の増加に伴って低温側へと推移していくことが観察された。

さらに NaCl 濃度が高くなると (Figure 4-13 (f), (g))、発熱ピークは観察されず、純粋な NaCl 水溶液で見られるように、共晶と氷の融解ピークのみが認められる挙動を示した。

このような濃度変化に伴う DSC 熱曲線の変化は、グルコース/NaCl/水系やスクロース/NaCl/水系においても類似の挙動を示したことが報告されている。<sup>[25,34]</sup> また、昇温過程における発熱ピークについてはグリセロール/NaCl/水系や hydroxyethyl starch/NaCl/水系においても観察されており、発熱エンタルピーと吸熱エンタルピーの見地から、発熱ピークは共晶の結晶化によるものであると考察されている。<sup>[27]</sup> このエンタルピーの見地とは、例えば Figure 4-13 (c)において発熱ピークと共晶の融解ピークの面積が同程度であることから、同物質の結晶化と融解に相当するであろうという考えである。本研究においても、この考えのもとで、Figure 4-13 (c)の発熱は共晶の結晶化によるものと推察された。しかしながら、Figure 4-13 (d)や(e)では、発熱ピークの大きさと融解ピークの大きさは大きく異なり、この考え方は適用できなかった。その一つの理由には、相転移に伴う潜熱の温度依存特性が挙げられる。<sup>[26,27,33,35]</sup> 温度  $T$  における潜熱  $L(T)$  は次の式により示される。

$$L(T) = L_0 + \int_{T_0}^T [C_{p(l)} - C_{p(s)}] dT \quad (4-1)$$

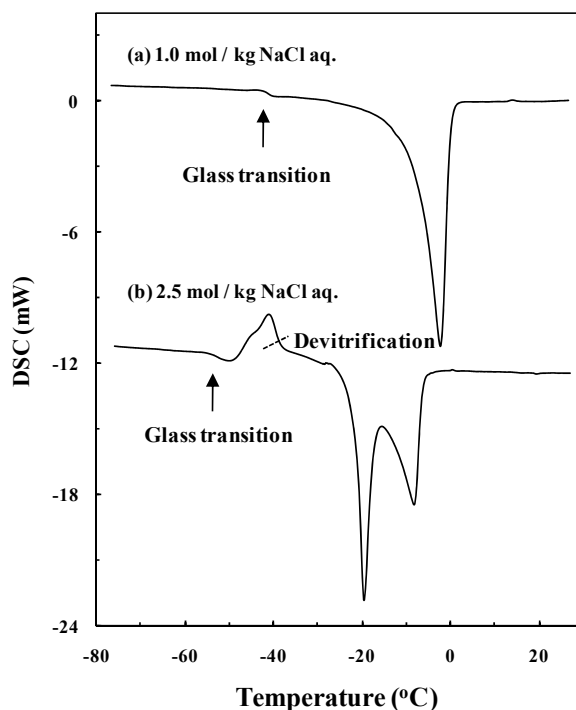
(4-1)式において、 $L(T)$  は温度  $T$  での潜熱 [J]、 $L_0$  は融解エンタルピー [J]、 $C_{p(l)}$ 、 $C_{p(s)}$  はそれぞれ液相と固相の比熱を示している。NaCl $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O/氷共晶の結晶化エンタルピーの温度依存挙動は -40 °C 程度までの実験値と、-50 °C までの近似による計算値が報告されているが<sup>[24-26]</sup>、それ以下の温度での諸値はこれまで報告されておらず、(d), (f) について上述した見解での考察は行えない。Figure 4-13 について、著者は昇温挙動を以下の三つに分類した。

- Group (I) : 低濃度の NaCl 濃度試料で見られ、共晶の融解ピークが観察されないグループ。Figure 4-13 (a), (b) に相当。
- Group (II) : 中程度の NaCl 濃度試料で見られ、発熱ピークを示した後、共晶の融解を示すグループ。Figure 4-13 (c), (d), (e) に相当。
- Group (III) : 高い NaCl 濃度試料で見られ、共晶の融解と氷の融解の二つの挙動のみ観察されるグループ。Figure 4-13 (f), (g) に相当。

### 4-3-3 共晶形成抑制挙動と脱ガラス化挙動についての XRD-DSC 同時測定解析

4-3-3 では、XRD-DSC 同時測定を行うことにより、Group (I)において共晶が形成していないことの同定、ならびに Group (II)で見られる発熱ピークの同定を行った。XRD-DSC は、同一条件下の試料を DSC と X 線回折により測定できる測定装置であり、熱履歴によって構造が変化する試料の測定に特に有効な手法として知られている。<sup>[36, 37]</sup> これまで Figure 4-13 に見られるものと類似の発熱ピークについて複合測定により同定した報告はあるものの<sup>[34]</sup>、同時測定において同定した研究例は他に無く、本研究が最初の例である。

XRD-DSC 同時測定の試料水溶液には、Group (I)の解析にあたり C12Raf/NaCl/水三成分系試料 (C12Raf/水の重量比 1:3, NaCl 1.0 mol / kg 水溶液) を使用し、Group (II)の発熱ピークの同定にあたっては、発熱が顕著に認められた C12Raf/NaCl/水三成分系試料 (C12Raf/水の重量比 1:3, NaCl 2.5 mol / kg 水溶液) を用いた。Figure 4-14 (a), (b)にそれぞれの DSC-60 を用いて測定した DSC 結果を示した。特筆すべき点として、Figure 4-14 (a)の-40 °C 付近と、(b)の-50 °C 付近の発熱ピークの手前では、ベースラインの低下が観察され、ガラス転移が生じていることが認められた。つまり、(a)では-40 °C 以下において系内はガラス状態にあり、(b)の発熱ピークは昇温過程においてガラス転移の後に結晶化する脱ガラス化であることが示唆された。ガラス転移は糖質系界面活性剤の重量比を高めることで顕著に見られるようになり、検出されるか否かは検出能に起因すると考えられる。



**Figure 4-14** DSC 熱曲線。(a) C12Raf/NaCl/水三成分系 (C12Raf/水の重量比 1:3, NaCl 1.0 mol / kg 水溶液)。(b) C12Raf/NaCl/水三成分系 (C12Raf/水の重量比 1:3, NaCl 2.5 mol / kg 水溶液)。**測定条件:** Figure 4-9 記載。

Figure 4-15 に純粋な NaCl 水溶液の融解過程における XRD-DSC 同時測定結果を示した。なお、この結果は株式会社リガクより頂いた資料を記載した。XRD-DSC 同時測定の結果は、右側に DSC、左側に XRD の結果が示され、温度は DSC の縦軸に相当するが、XRD ではスキャンに時間を要するため、すべてが同一温度で行われているわけではない。XRD のスキャン温度領域は XRD 結果の右側に添えて記載されている。なお、DSC の温度は試料が密閉されていないため、外気の影響を大きく受け、実際の温度から逸脱する場合がある。

Figure 4-15 の -50 °C において XRD では氷に由来する五つの回折ピーク (22.5, 24.1, 25.8, 33.4, 39.8 [deg]) の他に、NaCl•2H<sub>2</sub>O/氷共晶に由来する回折ピークが 30.7, 34.5, 35.8, 36.8 [deg]の四つの領域で認められる (拡大図における★)。それらの共晶由来の回折ピークは、DSC において共晶の融解が認められた後、完全に消失し、氷由来の回折ピークも氷の融解とともに消失したことが確認される。これより、DSC と XRD が同時に同一試料を測定できていることが理解される。

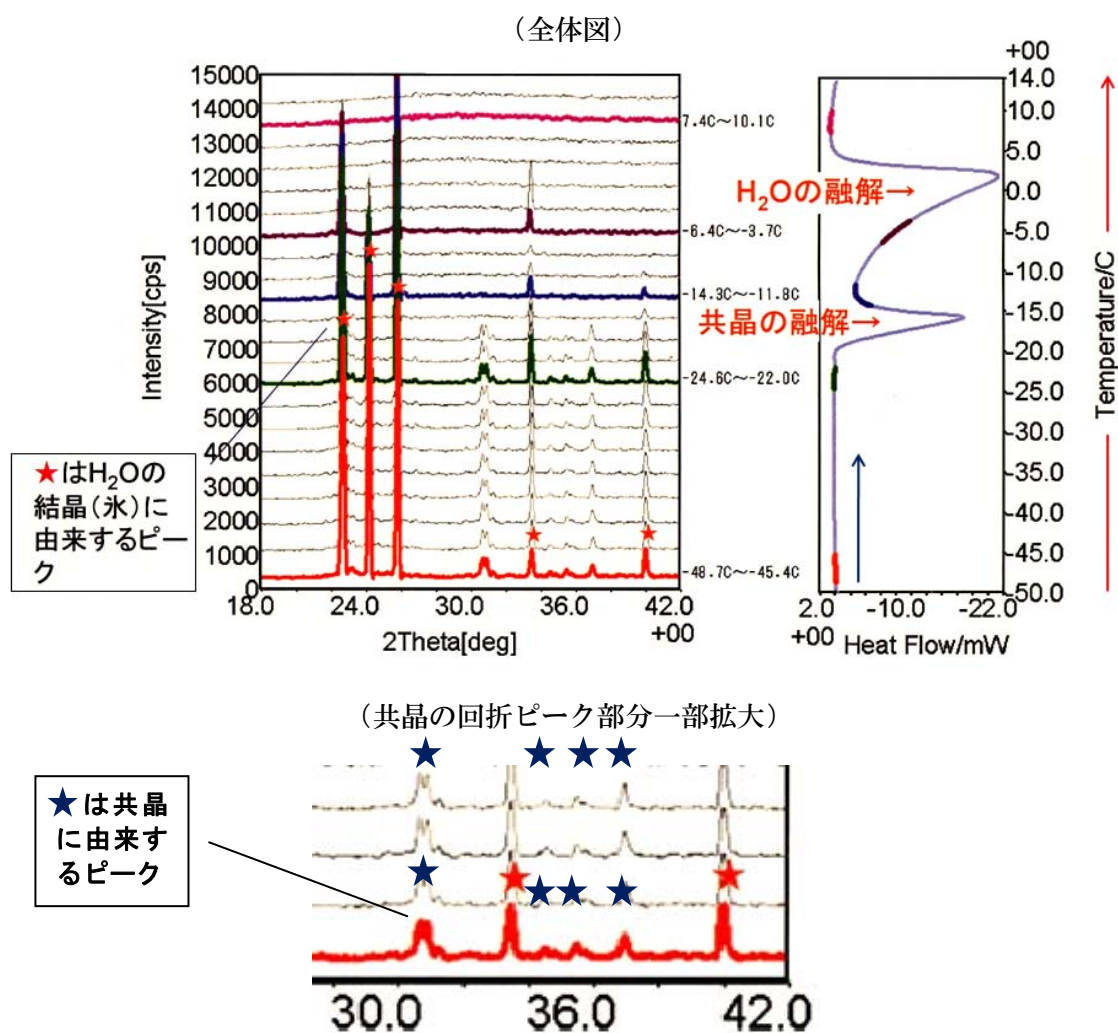


Figure 4-15 1.5 mol / kg NaCl 水溶液の XRD-DSC 同時測定結果。

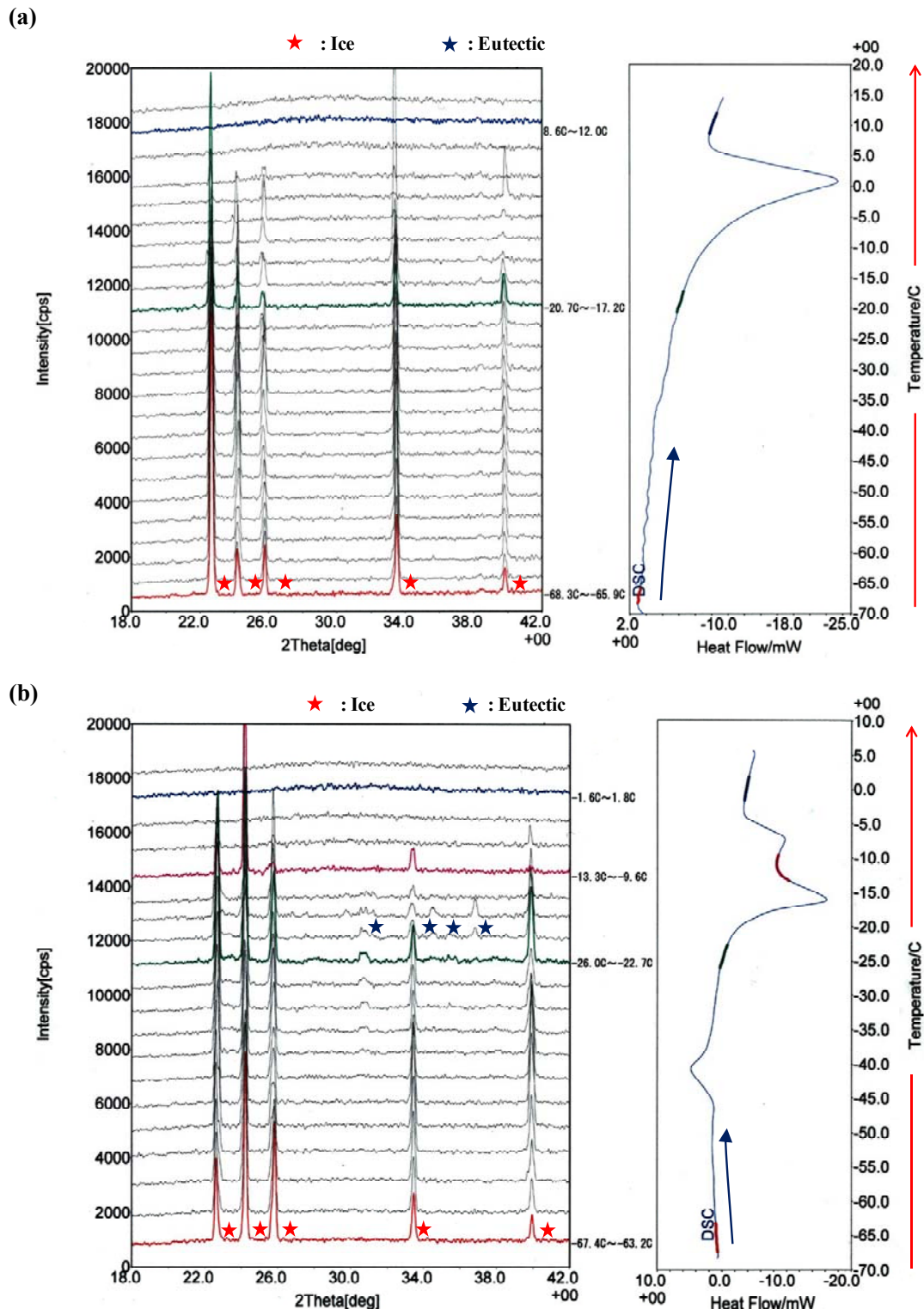
つづいて、Figure 4-16 (a)に Figure 4-14 (a)を示した試料を XRD-DSC 同時測定した結果を示した。この試料では DSC の昇温過程においてただ一つの吸熱ピークのみを示し、それは Figure 4-14 (a)と同様の挙動であった。それに対し、XRD においては氷由来の回折ピーク (symbol: ★) のみが認められ、他の回折ピークは何ら認めることはできなかった。これより、吸熱ピークは氷の融解に相当することが示され、この試料では共晶が形成しないことが明らかに示された。

つづいて、DSC 測定で Figure 4-14 (b)を示した試料の XRD-DSC 同時測定した結果を Figure 4-16 (b)に示した。冷却後、-70 °C における XRD では氷由来の回折ピーク (symbol: ★) がはっきりと認められた。その後、昇温し DSC において発熱ピークが観察された後の XRD は、Figure 4-15 で見られた共晶の回折ピークと同位置に新たな回折ピークが出現し (symbol: ★)、それは-21 °C 付近からの吸熱ピークによって消失することが観察された。この結果より、発熱ピークは共晶の結晶化であることが明確に示され、そして発熱ピーク以前では共晶の形成が完全に抑制されていたことが示された。

前述したように、Figure 4-14 の DSC 曲線では(a), (b)それぞれにガラス転移が認められていた。しかしながら、XRD-DSC 同時測定の DSC 熱曲線では Figure 4-14 と同様の吸熱挙動を示したにも関わらずガラス転移はわずかに認められるのみであった。その理由として、DSC での測定は密閉されたアルミパンを試料としている一方で、XRD-DSC 同時測定では X 線を照射するためにパンは密閉にすることはできず、外部雰囲気の影響を受けるなどで検出感度が低くなるものと考えられた。ガラス転移挙動については、DSC-60 による単独 DSC 測定の結果が、より信頼できるものと判断した。

DSC 単独測定と、XRD-DSC 同時測定の結果より、Group (I), Group (II)における特異な挙動は以下のように説明された。Group (I) : 冷却過程において氷のみが形成し、低温下においてはガラス化することで共晶の結晶化が抑制された。そして、2 °C/min や 3 °C/min 等の昇温速度条件下では共晶の結晶化を生じることなく融解された。すなわち、このグループでは凍結融解過程全般において、共晶形成が完全に抑制されていた。Group (II) : 冷却過程において氷のみが形成し、同じく低温下においてはガラス化している。昇温下、2 °C/min や 3 °C/min 等の昇温速度条件下においては、ガラス転移温度 ( $T_g$ ) を超えた後、共晶の結晶化が生じ、共晶はさらなる昇温により融解する。このグループでは冷却過程においてのみ共晶形成が完全に抑制されていた。

これらの Group (I)と(II)の相違が生じた原因として、NaCl の混合量の差異の影響が考えられた。Dextran、PVP、lactose、スクロースの NaCl 水溶液では、NaCl 濃度の増加が  $T_g$  を低下させたことが報告されている。<sup>[38]</sup> 同様に、C12Raf/水溶液における NaCl 添加に伴う  $T_g$  の低下は、 $T_g$  以上における同一温度での粘性を低下させ分子運動性を上昇させるため<sup>[38]</sup>、試料(a), (b)を比較した時、NaCl 濃度が高い(b)では共晶が結晶化しやすくなった可能性が考えられた。これは、Figure 4-14 (a), (b)のガラス転移温度において、(b)の方が低い温度を示していることから支持されている。



**Figure 4-16** XRD-DSC 同時測定。(a) C12Raf/NaCl/水三成分系 (C12Raf/水の重量比 1:3, NaCl 1.0 mol / kg 水溶液)。(b) C12Raf/NaCl/水三成分系 (C12Raf/水の重量比 1:3, NaCl 2.5 mol / kg 水溶液)。測定条件 : -6.0 °C/min で -70 °C まで冷却した後、2 °C/min で氷の融解の終了まで昇温した。

#### 4-3-4 糖質系界面活性剤 / NaCl 水溶液の融解エンタルピーについての挙動解析

Figure 4-6 のスクロース/NaCl/水三成分系では、同一濃度の NaCl 水溶液に対し、加えるスクロース量を徐々に増やしていくことで、共晶の融解ピークが小さくなっていくことが認められている。これは、たとえ共晶の融解ピークが生じている系であっても、添加剤によって一部の共晶形成は抑制されうることを示している。

この事実を受け、ここでは Figure 4-11 の分割法により Group (II)や Group (III)で見られる共晶の融解エンタルピーと水の融解エンタルピーが、純粋の NaCl 水溶液の場合と比べてどのように変化したかについて調査し、糖質系界面活性剤の効果を検討することとした。Figure 4-17 (a), (b)に C12Raf/NaCl/水系及び C6Glu/NaCl/水系の結果をそれぞれ示した。

Figure 4-17 (a), (b)で純粋な NaCl 水溶液を凍結融解した際に得られた氷および共晶の融解エンタルピーを比較として実線の直線で示しており、そのため糖質系界面活性剤による効果はその直線からの逸脱部分に相当すると考えることができる。傾向として、(a), (b)に全く相違は見られなかったため、以下、両図についてまとめて説明する。

まず、Group (I)では共晶形成が完全に抑制されているのみならず、氷の融解エンタルピーも無添加系に比べて減少していることが認められる。これは糖質系界面活性剤が共晶のみならず、氷の結晶化も一部抑制していることを示している。

4-1-1-2 で記したように、希薄溶液からの共晶形成は、氷の形成により未凍結相の濃度が NaCl $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O/氷共晶の組成まで高められた後に初めて NaCl $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O が結晶化することで生じる。このことを考慮すると、Figure 4-17 の Group (I)で共晶形成が抑制されたのはガラス化により氷の結晶化が一部抑制され、その結果として未凍結相において共晶が形成できる程度の NaCl 濃度まで到達できなかったためと考えることができる。

Group (II)は昇温過程において共晶が初めて形成した領域であるが、この時、共晶形成の融解エンタルピーは純粋の NaCl 水溶液で認められるエンタルピーと比べて明らかに小さいことが認められた。これは、共晶が形成した中において、一部の共晶の形成は抑制されていたことを示している。またその一方で、Group (II)では氷の融解エンタルピーは純粋の NaCl 水溶液と比べてわずかに小さい傾向を示した。これは Group (I)で述べた考察と一見矛盾するものとなっている。なぜならば、Group (II)の結果は、氷の結晶化が一部抑制され、共晶組成に完全に到達していないと考えられるにも関わらず、共晶の形成が生じていることを示しているためである。この一見矛盾と捉えられる問題について、著者は過冷却を伴う場合の共晶形成という観点により説明できると考えた。

Figure 4-18 は成分 A, B から成る二成分系において、それぞれ固相  $\alpha$ ,  $\beta$  を形成する場合の共晶型相図の模式図である。曲線 2-4 は曲線 3-2 の延長線に相当し、溶解度曲線に相当する。そのため、この相図において、共晶組成は  $F = 0$  となる点 2 の  $\circ$  であるが、 $\beta$  相は 3, 2, 4 の曲線の低温領域ならば理論的にはどこでも析出が可能であり、もし曲線 2-4 の低温領域で析出した場合は、系の組成が共晶組成に満たない低濃度（例えば  $\bullet$ ）でも  $\beta$  相が析出することができる。<sup>[6]</sup>

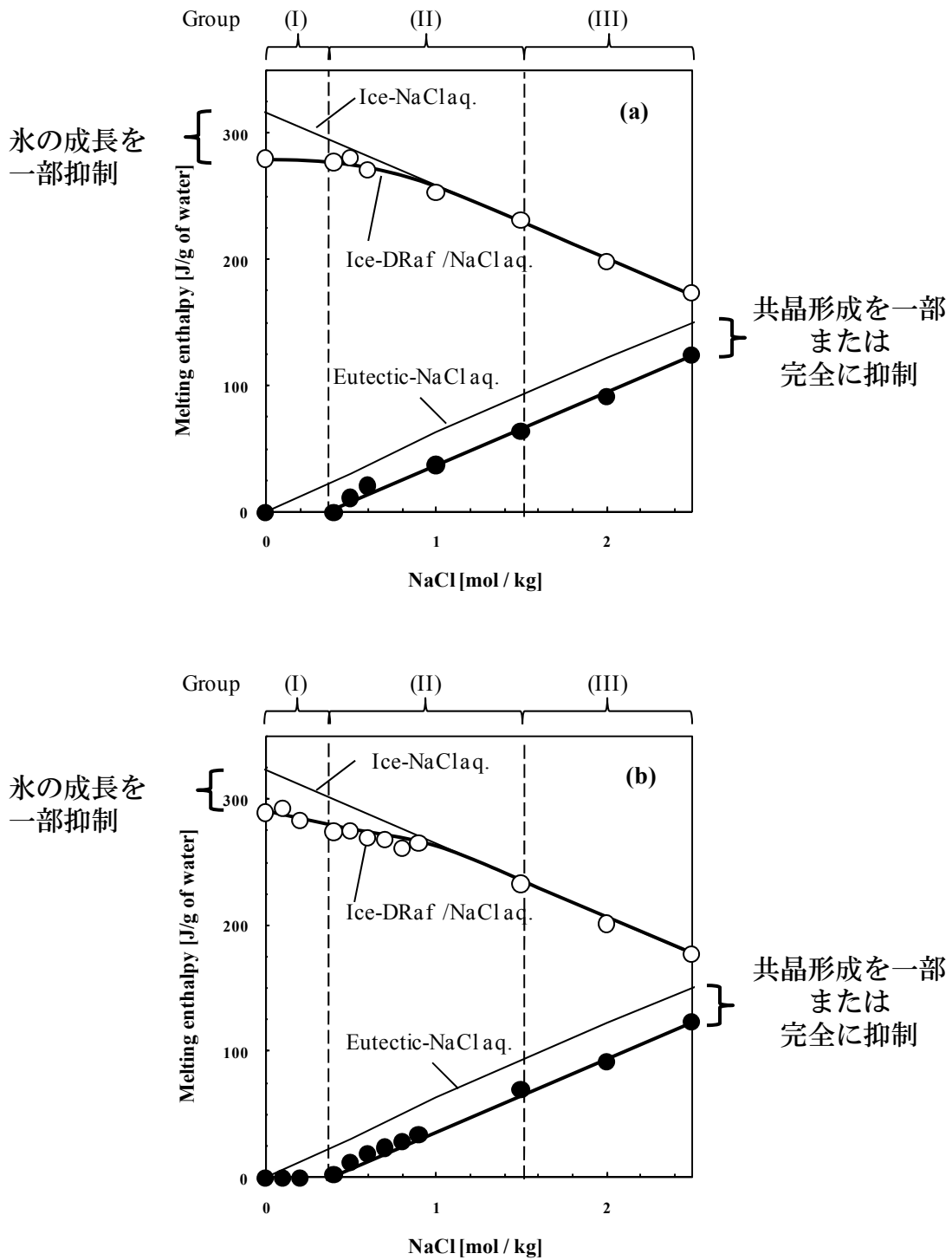


Figure 4-17 糖質系界面活性剤/NaCl/水三成分系の凍結融解過程における氷と共晶の融解エンタルピー。(a) C12Raf/NaCl/水三成分系。(b) C6Glu/NaCl/水三成分系。○: 氷の融解エンタルピー。●: 共晶の融解エンタルピー。

その後形成される組成は様々な因子が関係するため推測の域を出ないが、 $-21.2\text{ }^{\circ}\text{C}$  よりも低温ならば共晶組成よりも低濃度の組成で  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  が形成することは十分考えられ、氷と共晶の結晶成長の兼ね合いにより、結果として Group (II) では氷の結晶化が一部抑制された可能性が考えられた。

最後の Group (III) は、Group (II) に比べると明確であり、共晶形成のみが抑制されていることが認められる。また、その抑制量は  $\text{NaCl}$  濃度変化に際して大きな変化は示していないことから、C12Raf と C6Glu は初期  $\text{NaCl}$  濃度に関係無く、それぞれ共晶の形成を一定量抑制する作用を有していることがうかがえる。Group (III) において氷の融解エンタルピーが純粋な  $\text{NaCl}$  水溶液と同程度の量を示していることについては、初期  $\text{NaCl}$  濃度の増加により、共晶の結晶成長における物質の運動性が向上し<sup>[38]</sup>、より相図に近い組成において結晶化が進行したためと考えられた。 $\text{NaCl}$  濃度の増加に伴う系の粘性低下は、Group (II) では  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  でガラス転移を示した一方で、Group (III) では冷却過程において氷のみならず共晶も結晶化している事実により支持される。

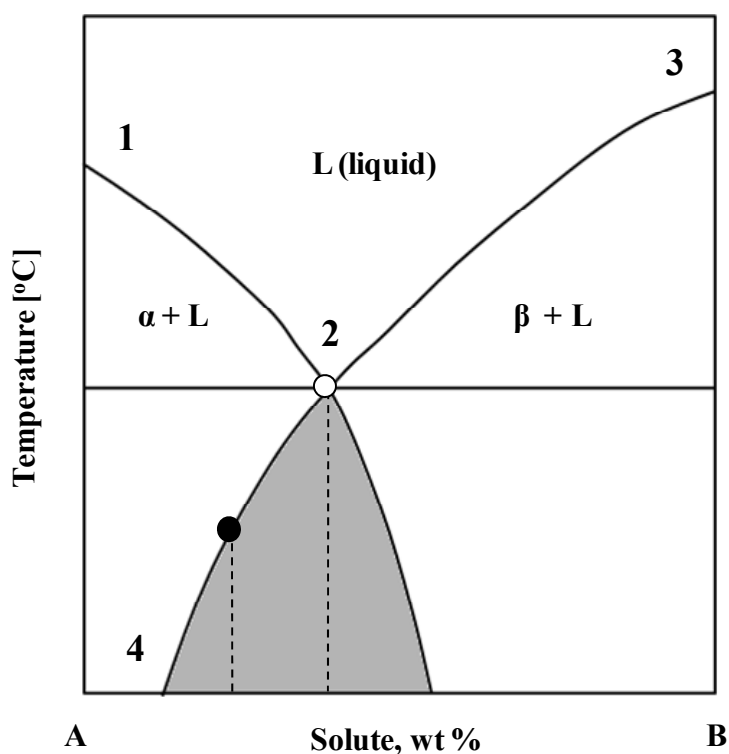


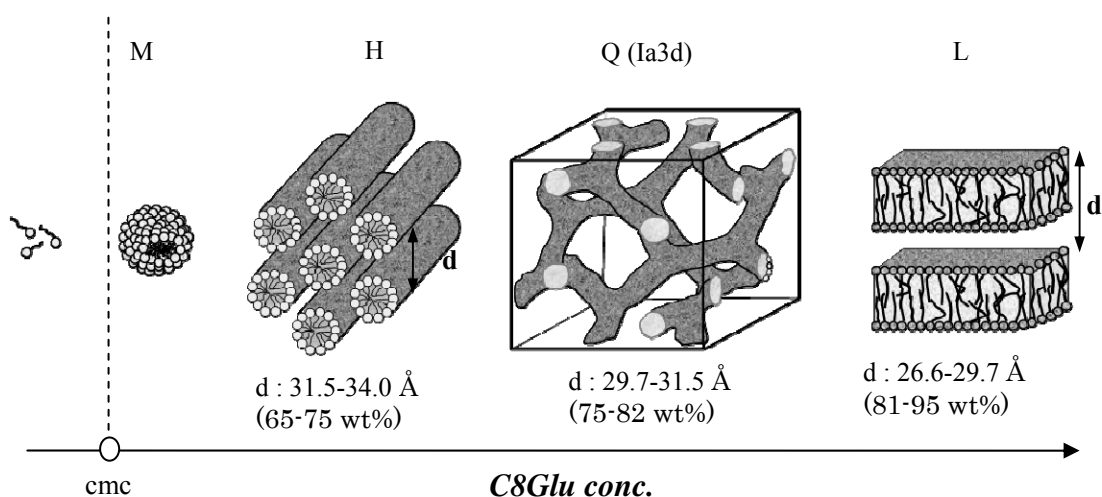
Figure 4-18 共晶が形成しやすい領域の模式図。[6]



#### 4-3-5 共晶形成に伴う凍結濃縮挙動解析

Figure 4-17 において、Group (II)および Group (III)では、共晶の結晶化が生じた系においても、糖質系界面活性剤は同程度の共晶形成抑制効果を示すことが観察されている。一般に、三成分系における二成分の共晶形成は、未凍結相中において他の溶質の濃度を上昇させると考えられるが、そのような共晶形成過程において糖質系界面活性剤がどのような集合体挙動を示すかについては明らかとなっていない。そこで、本節では XRD-DSC 同時測定により共晶形成に伴う糖質系界面活性剤の層間距離の推移を追跡し、共晶形成が与える影響について調査し、さらに糖質系界面活性剤がどのような相状態において一部の共晶形成を抑制しているかについて検討することとした。

ここで、XRD-DSC 同時測定を行う試料としては、常温において形成する様々な濃度での液晶構造のサイズを定義する層間距離  $d$  が既に報告されている C8Glu/水系を選択した。<sup>[39]</sup> Sakya らの報告によれば、C8Glu/水系において濃度が上昇していくと単分子溶解状態から、臨界ミセル濃度 (cmc) を経てミセル集合体を形成し、その後はヘキサゴナル相、キュービック相、ラメラ相といった液晶相を形成する。その際、それぞれの液晶構造が示す層間距離は、ラメラ、キュービック、ヘキサゴナル相の順に大きくなることが報告されている。Figure 4-19 に常温下での C8Glu/水系の濃度変化に伴うリोटロピック相挙動と、層間距離  $d$  の関係を示した。共晶形成の影響を検討する C8Glu/NaCl 水溶液試料としては、挙動の変化が認められる範囲において低濃度であることが好ましかったため、DSC 単独測定において Group (III)に分類され、なおかつ溶液中でミセル相を形成していると考えられる C8Glu/水の重量比を 1:9 とする 2.0 mol / kg NaCl 水溶液を試料として用いた。



**Figure 4-19** 25 °C における C8Glu/水系の濃度変化に伴う液晶構造とその層間距離。<sup>[39]</sup> M: ミセル相. H: ヘキサゴナル相. Q: キュービック相. L: ラメラ相. cmc: 臨界ミセル濃度.  $d$ : 集合体の層間距離に相当.

Figure 4-20 (a), (b)に C8Glu/NaCl/水三成分系の試料 (C8Glu/水の重量比 1:9, NaCl 2.0 mol kg 水溶液) を凍結融解した際の、凍結過程と融解過程の結果をそれぞれ示した。(a)は氷が既に形成している状態より-2 °C/min で冷却した際の凍結過程を示しており、-17 °C から冷却された後、2.0 min ほどで共晶の結晶化が開始することが DSC 熱曲線から観察された。共晶の結晶化開始時においては、XRD は氷由来の回折ピークのみを示したが、共晶の結晶化由来の発熱が終了する温度付近では  $2\theta = 3.0$  [deg] 付近の低角領域に、新たな回折ピークを示した (symbol: ★)。それはさらに冷却されることで-50 °C では  $2\theta = 3.1$  [deg]へと推移した (symbol: ☆)。この  $2\theta = 3.0$  と  $2\theta = 3.1$  [deg] は  $2d = 2\lambda \sin 2\theta$  ( $\lambda = 1.54$  nm) の関係から、それぞれ  $d = 29.5$  Å と  $28.5$  Å の規則性を有する C8Glu の集合体が形成していることを示しており、それは Sakya らが報告する C8Glu/水系の層間距離の結果と比較した場合、ラメラ相の層間距離に相当している。<sup>[39]</sup> Figure 4-19 で見られるように、C8Glu/水系におけるラメラ相は 82 wt%以上で形成される高濃度相であり、共晶の結晶化によって、初期濃度を 10 wt%とする C8Glu/NaCl 水溶液は濃縮され、最終的にはラメラ相のような高濃度相を形成している可能性が示唆された。

その後の融解挙動に相当する Figure 4-20 (b)は(a)に引き続き、2.0 °C/min で 3 °C まで昇温させた際の結果を示したものであり、-50 °C から-30 °C までの昇温過程では DSC, XRD において特別な変化は見られなかった。しかし-30 °C 付近になると、低角度における X 線回折ピークは再び  $2\theta = 3.1$  [deg] (symbol: ☆) から  $2\theta = 3.0$  [deg] (symbol: ★)へと変化し、共晶の融解が開始される温度付近になると、共晶の融解に先立ち、低角度の回折ピークはより低角側へと推移していき、共晶の融解に際して完全に消失する挙動を示した。このような共晶の融解により XRD の回折ピークがより低角度側へと推移していく挙動は、より大きな層間距離を有する集合体への推移とすることができ、Figure 4-19 における高濃度相から低濃度相へと推移していく挙動に相当すると考えられた。これは、共晶の融解により希釈された未凍結相が、より低濃度な液晶相へと転移していることを示唆するものである。

ところで、Figure 4-20 における XRD の結果では 1 次回折ピークしか観察されておらず、凍結下において繰り返し単位を有する相を形成しているのか、または 1 次回折ピークに相当する有限サイズの棒状ミセル相などの状態で存在しているか判別することは不可能である。Jeffery らは、濃度勾配が形成された相の XRD 回折測定において、1 次回折ピーク以外が観察されなかったことを報告しており<sup>[40]</sup>、凍結により濃度勾配が生じていると考えられる本研究の系においても同様の結果が得られた可能性が考えられた。著者はつづいて、XRD において層間距離が変化する際の温度領域における DSC 熱曲線について着目した。

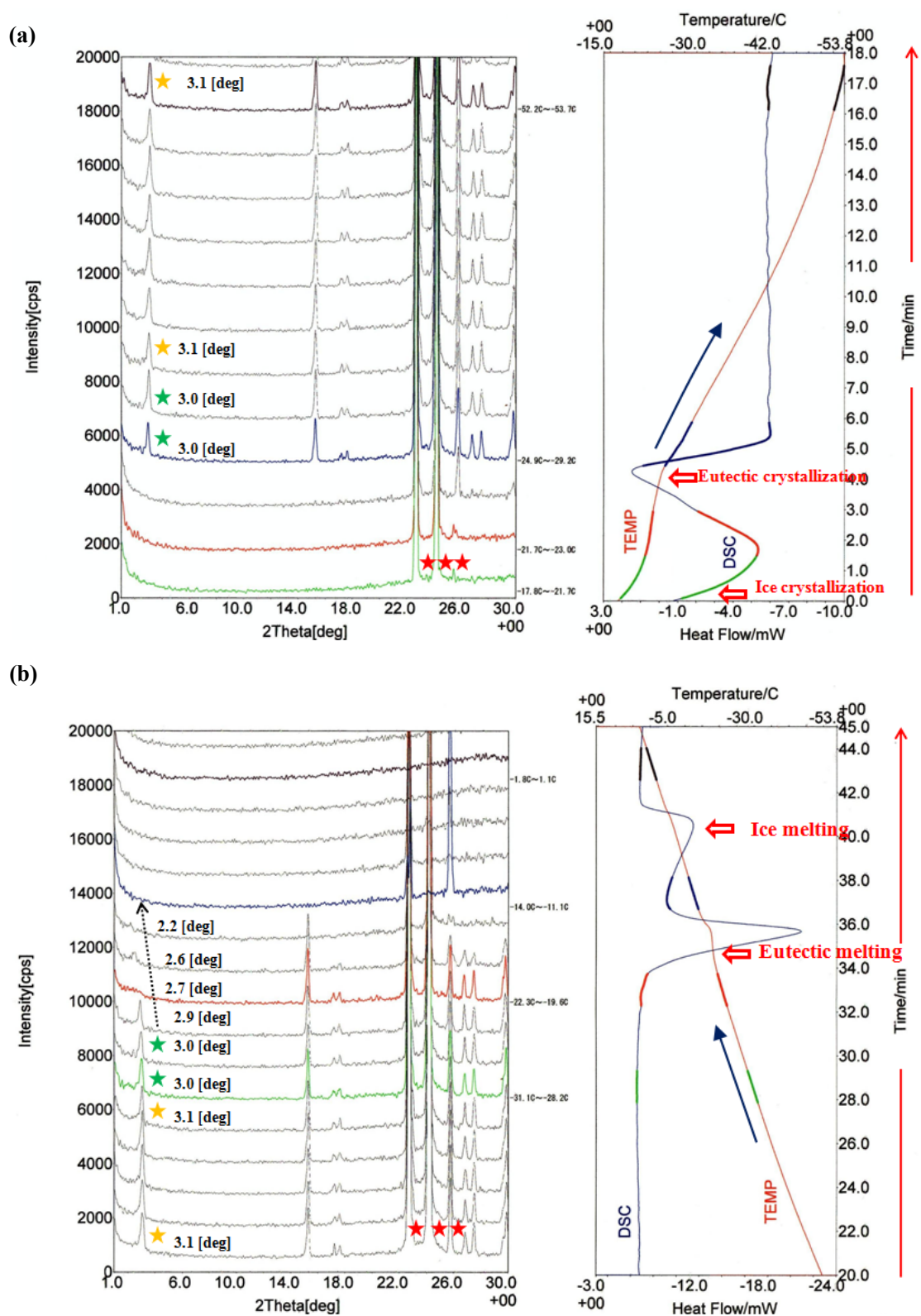


Figure 4-20 C8Glu/NaCl/水三成分系のXRD-DSC同時測定 (C8Glu/水の重量比 1:9, NaCl 2.0 mol kg 水溶液)。(a) 凍結過程。測定条件: 氷を形成下-17 °C から-2.0 °C/min で-50 °C まで冷却した。(b) 融解過程。測定条件: (a)につづいて 2 °C/min で 3 °C まで昇温した。

Figure 4-21 は Figure 4-1 (b)において共晶の融解が開始する直前から終了までの拡大図を、層間距離 (Å) を添えて示したものである。ここで、層間距離の変化を示した前後の温度における DSC 熱曲線上では、なんらかの相転移に起因すると考えられる吸熱挙動がいくつか観察されることが明らかとなった。そこで、先のガラス転移の検出において、XRD-DSC 装置備え付けの DSC よりも、DSC-60 による DSC 結果の方が高い精度を示すことが示唆されたため、DSC-60 による DSC 測定を行うことで吸熱ピークが明確に観察されるものと考えた。

Figure 4-22 はやや濃度を高めた C8Glu/水の重量比 2:8, NaCl 2.0 mol / kg 水溶液とする C8Glu/NaCl/水三成分系試料を融解させた際の DSC 熱曲線を示しており、Figure 4-21 と同じく三つの吸熱ピーク様はそれぞれ -27 °C, -24 °C, -22 °C 付近において観察されることが認められた。濃度変化に伴う液晶-液晶間相転移は一次相転移であり、それは吸熱を伴う挙動を示すことが知られている。[41] すなわち、吸熱ピークの存在は、共晶の融解により希釈された未凍結相中において、より低濃度で形成される液晶相へ一次相転移していることを示すものと考えられる。

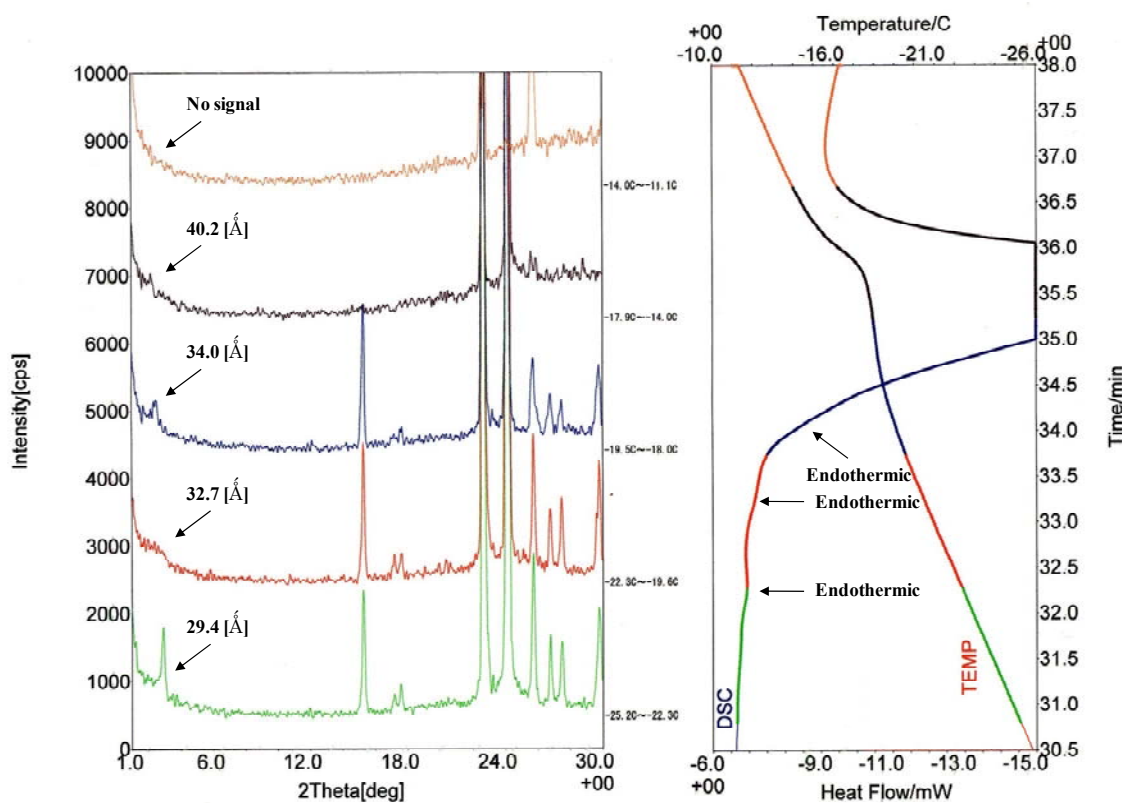
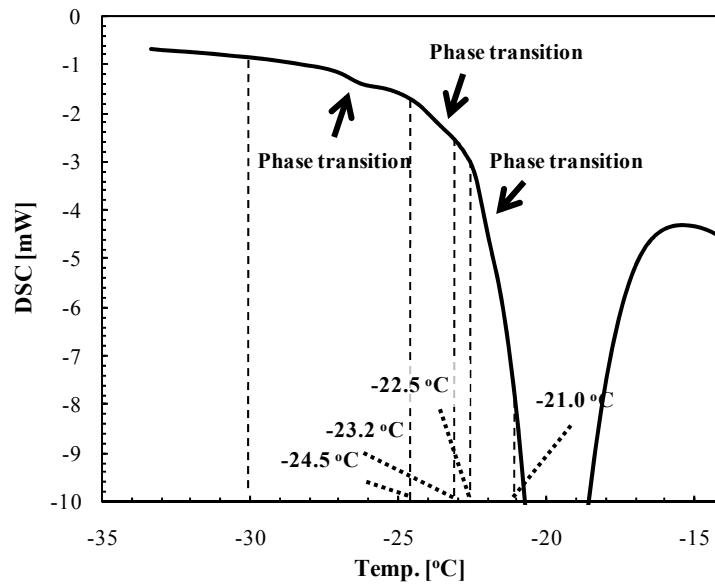
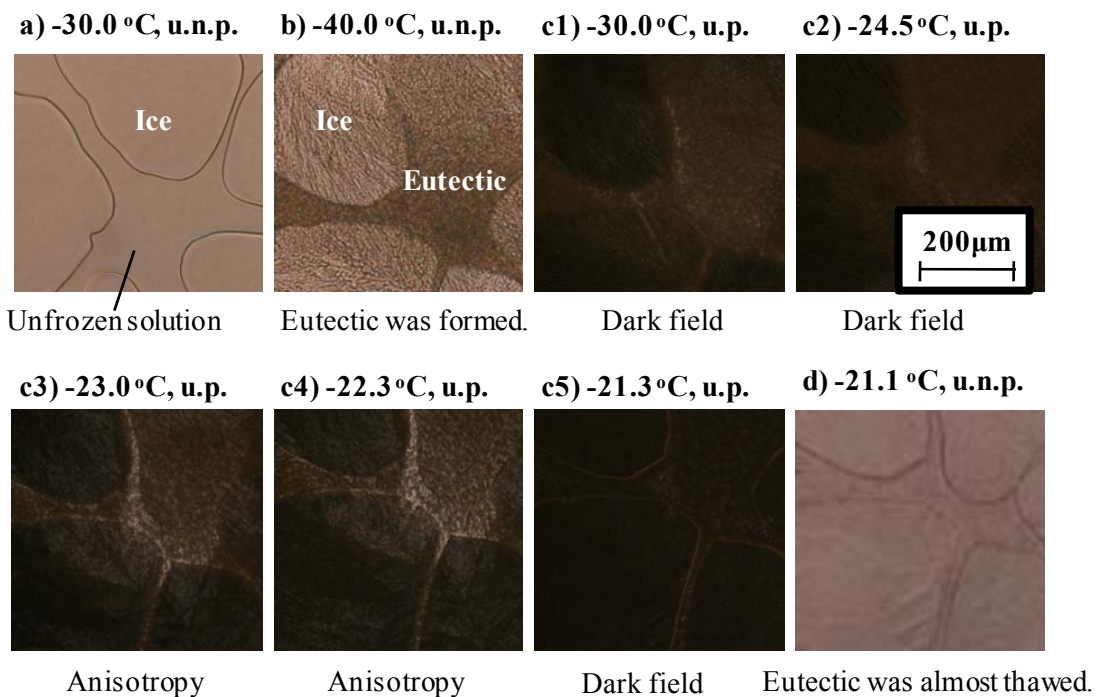


Figure 4-21 共晶の融解前後における層間距離と吸熱ピーク挙動の関係。(Figure 4-20 (b)の拡大図。) DSC 熱曲線の色と XRD の色は同じ測定時間に相当している。



**Figure 4-22** DSC-60 による C8Glu/NaCl/水三成分系 (C8Glu/水の重量比 2:8, NaCl 2.0 mol / kg 水溶液) の DSC 単独測定。



**Figure 4-23** 顕微鏡による C8Glu/NaCl/水三成分系 (C8Glu/水の重量比 3:7, NaCl 4.0 mol / kg 水溶液) における共晶の融解挙動観察。u.n.p.: 非偏光下における画像観察。u.p.: 偏光下における画像観察。

この共晶形成に伴う液晶間-液晶間相転移挙動の推察を支持するべく、さらに偏光顕微鏡により共晶形成の前後で、異方性相が出現するか否かについて観察を行った。ミセル相およびキュービック相は光学的に等方性であるため、偏光下では暗視野を示し、ヘキサゴナル相やラメラ相は異方性を示す。<sup>[42]</sup> そのため、共晶の融解過程において異方性相が観察されたならば、それは共晶形成とその融解による濃縮および希釈によって、未凍結相中では液晶間-液晶間相転移が生じていることの裏付けとなると考えられる。

Figure 4-23 に C8Glu/NaCl/水三成分系 (C8Glu/水の重量比 3:7, NaCl 4.0 mol / kg 水溶液) における共晶形成前後の組織画像について非偏光下と偏光下において光学顕微鏡観察した結果を示した。Figure 4-23 の(a), (b), (d)はそれぞれ非偏光下の顕微鏡画像であり、(c)はすべて偏光下における画像である。

まず、(a)のような氷が大きく成長し、氷間の未凍結相が容易に観察可能な状態から冷却したところ、 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  において共晶の形成が観察された。画像(b)における黒色の小さな結晶が共晶に相当する。Hans らによる共晶の顕微鏡画像も同様の形状を報告している。<sup>[18]</sup> (c1) ~ (c5)の過程は(b)の状態から  $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  で昇温させた際の一連の移り変わりを示している。(c1), (c2)の画像では、全体的に暗視野となり、異方性相の存在は認められなかった。しかし、 $-23.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  付近の(c3)、(c4)になると、画像の様相は変わり、異方性相の出現が認められた。そして、それは $-22.3\text{ }^{\circ}\text{C}$  付近で消失し、再び暗視野へと戻る挙動を示した。微細な構造を形成する共晶の存在のためか、(c3), (c4)における異方性相の同定は行えなかったが、最も高温に位置する吸熱ピーク付近の温度では XRD-DSC により  $34.0\text{ \AA}$  の層間距離が得られており、それは Sakya らが報告するヘキサゴナル相の層間距離に近い (Figure 4-19)。それより、(c3), (c4)はヘキサゴナル相に相当し、より希釈されることで暗視野を示した相は等方性のミセル相と考えられた。また、融解過程においてヘキサゴナル相が形成するよりも低温においては暗視野を示したことから等方性のキュービック相が形成していたと考えられた。これらの一連の観察により、共晶形成に伴う濃縮相において液晶間-液晶間相転移が生じていることが実証された。そして、共晶の形成はミセル相ではない、より高濃度なりオトロピック相に相当する液晶相中で抑制されていることが示された。

しかしながら、XRD-DSC におけるラメラ相の出現について、顕微鏡観察では支持されず、また Group (III)における共晶形成がガラス化により抑制されているかについては確証を得ることはできなかった。XRD-DSC 測定において、 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下で低角領域に回折ピークはわずかな変化を示しているため、ガラス転移が存在するならば少なくとも $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下において存在していると考えられるが、DSC 熱曲線上では認められることができなかった。糖質や高分子はガラス形成により  $\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{水}$  の共晶形成を抑制していると考えられている一方で<sup>[24, 25, 27]</sup>、同じく同じ共晶形成を抑制するプロリンの添加系ではガラス転移は認められなかったことが報告されている。<sup>[26]</sup> 本研究の Group (III)における共晶形成抑制機構は Group (I)や Group (II)とは異なる可能性も考えられ、さらなる系統的な検討が必要とされる。

#### 4-3-6 糖質構造の共晶形成抑制効果への影響

この節ではそれぞれの糖質系界面活性剤の有する糖質構造の相違が、共晶形成抑制効果にどのような影響を与えるかについて検討を行った。糖質系界面活性剤添加による共晶形成抑制効果は Group (II), (III)でも観察されたが、凍結保存や凍結乾燥保存においては完全に共晶形成を抑制することが望ましいと考えられるため、一定量の糖質系界面活性剤  $x$  [mol / kg] が完全に共晶を抑制できる最大 NaCl 濃度  $y$  [mol / kg] (Group (I)の NaCl 濃度範囲に相当) により、それぞれの化合物が示す共晶形成抑制効果を評価することとした。

##### 1) 界面活性剤初期濃度の共晶形成抑制効果への影響

まず初期濃度により糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果に相違が見られるかについて調査した。Figure 4-24 はそれぞれの糖質系界面活性剤濃度  $x$  [mol / kg] において、共晶形成が完全に抑制された際の NaCl 水溶液の最大濃度  $y$  [mol / kg] を示している。

Figure 4-24 より、3種の糖質系界面活性剤 C12Raf, C12Suc, C8Glu において、完全に共晶形成が抑制された最大 NaCl 濃度は、調査した濃度範囲では、糖質系界面活性剤濃度に対して正比例して増加することが認められた。これより、Group (I)における共晶形成抑制効果において初期濃度の影響はなく、異なる重量であっても、mol 当たりで比較を行えば糖質系界面活性剤の評価は可能であることが示された。なお、Figure 4-24 から見てわかるように、親水部の糖骨格が単糖から二糖、二糖から三糖と多くなればなるほど、抑制効果も増加していることが認められた。

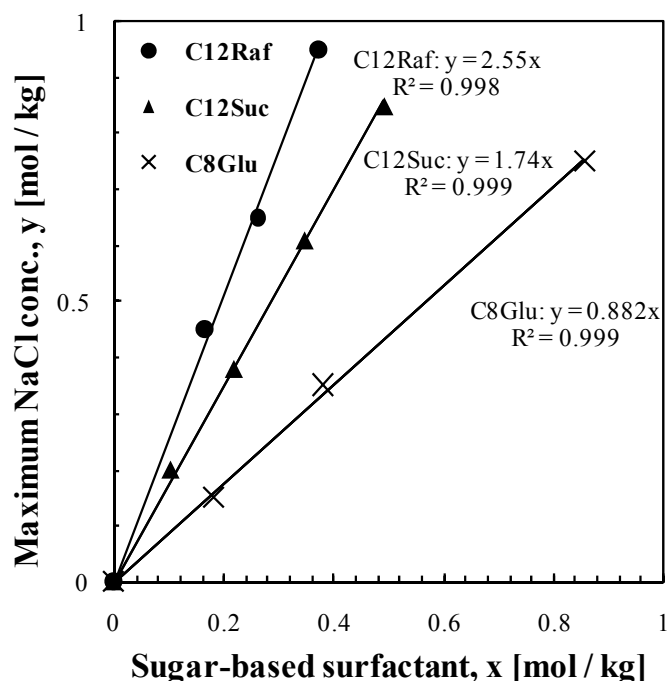


Figure 4-24 糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果における初期濃度依存性。

## 2) 糖質構造の共晶抑制効果への影響

共晶形成抑制効果の初期濃度依存性が認められなかったことから、水と糖質系界面活性剤の重量比を 1:9 とする種々の水溶液において、単位 mol / kg あたりの糖質系界面活性剤により、共晶形成が完全に抑制される最大 NaCl 濃度 mol / kg により、糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果 [y / x] の評価を行った。

親水部をラフィノース、スクロース、マルトース、グルコース、マンノース、グロース及びガラクトースとする糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果について、1 mol / kg に換算した際の、共晶形成抑制効果について比較した結果を Figure 4-25 に示した。その結果、明らかに、種々の糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果は、親水部を構成する糖質単位数に依存していることが認められた。単糖を親水部とする糖質系界面活性剤は C8Gal を除き 0.9 程度を示し、二糖の C12Suc と C12Mal は 1.7 程度の共晶形成抑制効果を示した。これらの結果から、糖質系界面活性剤が示す共晶形成抑制効果は多くの場合、糖質の単位数に依存し、同じ糖質単位数を有する場合、糖質の種類に依存しないことが示唆された（糖質構造について Figure 4-7 を参照のこと）。

糖質系界面活性剤は、糖質構造の種類により溶液中で選択的に金属イオンと相互作用を示すことが報告される一方<sup>[43, 44]</sup>、共晶形成抑制効果は同じ糖質構成数で比較した場合大きく変化しておらず、糖質と金属イオンとの特異的な相互作用により共晶形成を抑制しているのではないと考えられた。すなわち、Group (I) では 4-3-3, 4-3-4 で考察したように、系全体をガラス化することにより共晶形成を抑制したものと考えられる。なお、C8Gal では、他の単糖類に比べ半分程度の共晶形成抑制効果を示したが、C8Gal は常温において  $L_{\beta}$  相を形成することが報告されており<sup>[45, 46]</sup>、ゲル化が共晶形成に対し不都合な結果をもたらしたと考えられる。完全にゲル化した C8Gal/NaCl/水三成分系の試料の凍結融解過程では共晶形成抑制効果は認められなかった。

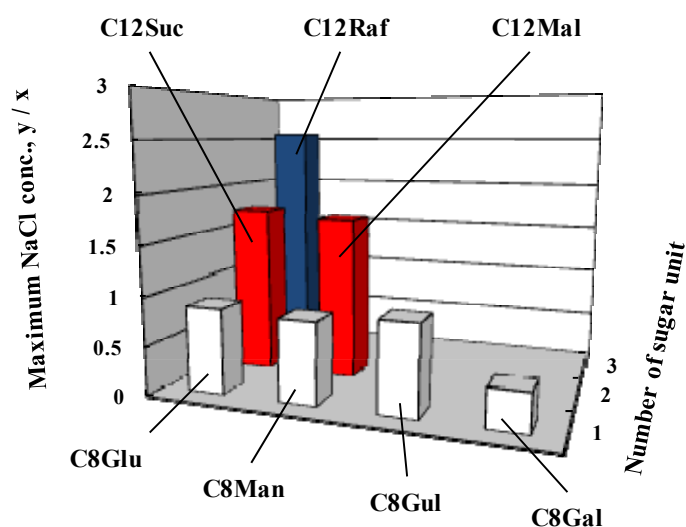


Figure 4-25 種々の糖質を親水部とする糖質系界面活性剤 1 mol / kg により、完全に共晶形成が抑制された NaCl 濃度, y / x [mol / kg]。



### 4-3-7 疎水鎖効果の検討

#### 1) 臨界ミセル濃度の決定による集合体形成の同定

本節では共晶形成抑制効果において、糖質系界面活性剤が天然の糖質と比較してどのような相違があるかについて調査した。そして、その相違の違いとなる疎水鎖の影響についても検討を行った。まず、それらの検討にあたっては、集合体形成の有無を考慮することが重要と考えられたため、まず常温における C12Raf 水溶液, C12Suc 水溶液, および疎水鎖長の異なる各種 CnGlu (alkyl  $\beta$ -D-glucoside) の水溶液の表面張力測定を行うことで分子集合体ミセル形成能について調べた。また、NaCl 濃度の影響を調べるため、異なる NaCl 濃度において C9Glu 水溶液の表面張力測定も行った。それぞれの結果を Figure 4-26, 27 に示した。

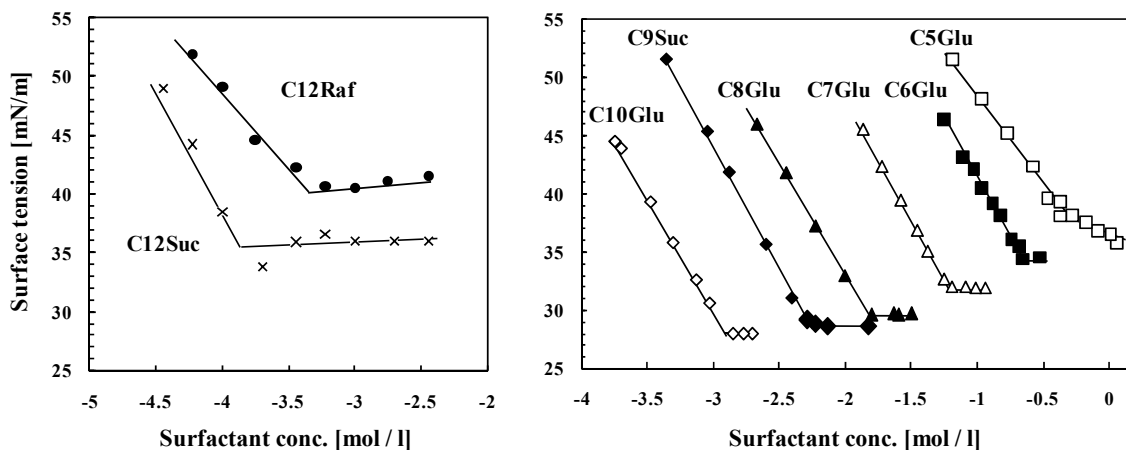


Figure 4-26 C12Raf, C12Suc, 各種 CnGlu の水溶液の 25 °C における表面張力。測定条件：測定は溶液を試料容器に加え、15 min 静置した後開始し、経時変化を追跡することで、1h の経時変化が 0.1 mN/m 以下になった時の値を測定値とした。

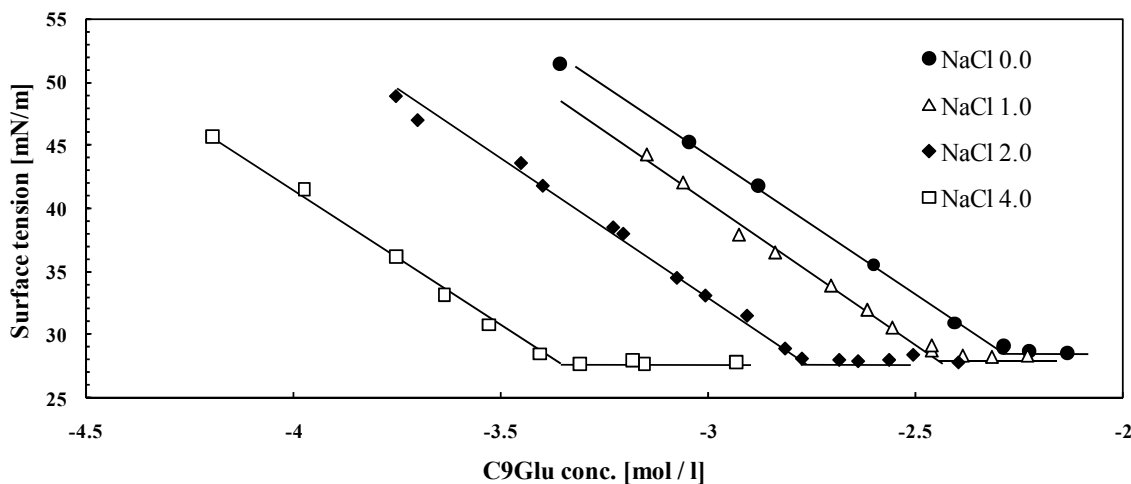


Figure 4-27 異なる NaCl 濃度 [mol / kg] における C9Glu 水溶液の 25 °C における表面張力。測定条件：Figure 4-26 記載。

表面張力測定では、低濃度から濃度上昇させていく際に、cmc 以上の濃度では界面活性剤の気-液界面への吸着はそれ以上進行しなくなるため表面張力は一定となる。そのため、Figure 4-26, 27 における各種糖質系界面活性剤水溶液は C5Glu を除き、総じて一定値を示すことが認められ、その事実よりそれぞれが常温において、ミセル集合体を形成することが示された。cmc は図示されているような表面張力 vs. 対数濃度の屈曲点として決定された。また、cmc 以下の低濃度領域における傾き ( $\delta\gamma/\delta \log C$ ) と、(4-2a)式で示される Gibbs の吸着式から得られる表面張力低下の最小値を(4-2b)式に代入することで、それぞれの水溶液の気-液界面における一分子あたりの最大分子占有面積  $A$  [ $\text{\AA}^2$ ]が得られる。<sup>[47]</sup>

$$\gamma_{\text{cmc}} = -\left(\frac{1}{2.303RT}\right)\left(\frac{\delta\gamma}{\delta \log C}\right) \quad (4-2a)$$

$$A_{\text{min}} = \frac{1}{N \gamma_{\text{cmc}}} \times 10^{16} \quad (4-2b)$$

(4-2a), (4-2b)式において、 $\gamma_{\text{cmc}}$  は cmc における表面張力値 [mN/m]、R は気体定数、N はアボガドロ定数である。Figure 4-26, 4-27 で得られた cmc,  $\gamma_{\text{cmc}}$ ,  $A_{\text{min}}$  を Table 4-5 にまとめた。C5Glu では表面張力値において一定値は示さなかったが、表面張力測定結果において明確な屈曲点を示していることから、それ以上の濃度での会合体の形成が推察され、他と同様に cmc,  $\gamma_{\text{cmc}}$ ,  $A_{\text{min}}$  をもとめ、それを Table 4-5 に記載した。表面張力値が一定とならない濃度領域は、propylene oxide, ethylene oxide の共重合体の濃度変化に伴う表面張力挙動でも報告されており、単量体での溶解状態からのミセルへの転移領域に相当すると考えられている。<sup>[48]</sup>

**Table 4-5** 表面張力測定結果のまとめ

	cmc	$\gamma_{\text{cmc}}$	$A_{\text{min}}$
	mM	mN/m	$\text{\AA}^2$
C5Glu	531.6	38.1	63.2
C6Glu	232.2	34.4	49.4
C7Glu	59.3	32.0	45.0
C8Glu	12.9	30.6	47.9
C9Glu	5.0	29.0	44.3
C10Glu	1.3	28.0	48.4
C12Raf	0.49	40.2	72.8
C12Suc	0.16	33.9	46.1

C9Glu	cmc	$\gamma_{\text{cmc}}$	$A_{\text{min}}$
NaCl [mol/kg]	mM	mN/m	$\text{\AA}^2$
0	5.00	29	44.3
1	3.80	28.4	43.4
2	1.58	28.1	45.2
4	0.42	27.7	42.3

※ C5Glu: 531.6 mM = 0.591 mol / kg = 12.9 wt%.

Figure 4-28 に C5-C10 の疎水鎖を有する CnGlu の分子占有面積を縦軸に、疎水鎖の炭素数 [N] を横軸にプロットした。図から見て明らかな様に、C6 から C10 の疎水鎖を有する CnGlu は、偶数と奇数の相違により偶奇挙動を示した。また、その際の分子占有面積はアルキル鎖の増加に伴い低下していく挙動を示した。C5Glu では C6 以上の疎水鎖長で見られる偶奇挙動から大きく逸脱する挙動を示し、さらにその分子占有面積も顕著に大きい値を示した。

Gibbs の吸着膜の偶奇に伴う挙動の相違について、Fazio らは赤外線を用いた周波数発生分光法 (SFG : Sum-frequency generation spectroscopy) や表面第 2 高調波発生 (SHG : Surface second harmonic generation) 法により *n*-alkyldimethylphosphine ( $n = 8 - 12$ ) について調べ、偶奇の相違により分子占有面積が異なるのは、アルキル鎖のゴーシュ欠陥の総量が増加することに起因していることを報告している。<sup>[49]</sup> また、そのゴーシュ欠陥の量は、界面に吸着する分子の数が增加することにより、減少していくことも報告されている。<sup>[49]</sup> 本研究でも偶奇挙動が観察されていることから、界面に吸着している CnGlu が形成する単分子膜中のゴーシュ欠陥の量が分子占有面積に大きく影響を与えていると考えられる。

特別な場合を除き、アルキル鎖の上昇は疎水性相互作用を増大させるため、その結果、エネルギー的に不利な構造であるゴーシュ欠陥の量は減少していくことが考えられる。すなわち、偶奇の解消は見られずとも、C6Glu と C8Glu、C7Glu と C9Glu のように、同じ系列の CnGlu を比較した場合、炭素数の上昇とともにゴーシュ欠陥の総量は減少し、結果より密なパッキング構造を有するトランス構造の増加により分子占有面積は低下すると考えられる。それは、界面に吸着する分子数の増加により、ゴーシュ欠陥の総量が減少していく傾向と同様と考えられる。C8Glu と C10Glu では大きく分子占有面積に変化が見られないのは、それぞれ十分な長さの疎水鎖長を有することから、ゴーシュ欠陥による影響は減少し、結果、単分子膜の疎水鎖構造のわずかな変化は親水部の分子占有面積に相違をもたらさなかったと考えられる。

大きく逸脱を示した C5Glu ではゴーシュ欠陥の量が極端に多いことが考えられるが、octaethyleneglycol *n*-alkyl ether では C9 から C15 の間の分子占有面積は連続的な変化を示していることから<sup>[50]</sup>、C5Glu のみ極端な値を示した理由は cmc に到達していない濃度であり、飽和吸着時に得られた分子占有面積ではないためと考えられる。すなわち、C5Glu 水溶液では 531.6 mM 以上で会合体形成は示唆される一方で、その濃度は cmc には満たない濃度であると考えられた。

Figure 4-29 は NaCl 濃度変化に伴う C9Glu 水溶液の cmc の変位を示したものであるが、NaCl 濃度の上昇に伴い cmc は顕著に低下していることが認められた。非イオン性界面活性剤水溶液では、NaCl の存在により、単一分子として溶解している界面活性剤分子の疎水鎖は塩析し、結果その水溶液での cmc は低下することが知られている。<sup>[51, 52]</sup> C9Glu 水溶液の表面張力測定においてもそれらと同様の挙動を示したものと考えられる。他の糖質系界面活性剤も非イオン性であり、特別な電荷を有さないため、高濃度 NaCl 存在下ではミセル形成が促進されると推察された。

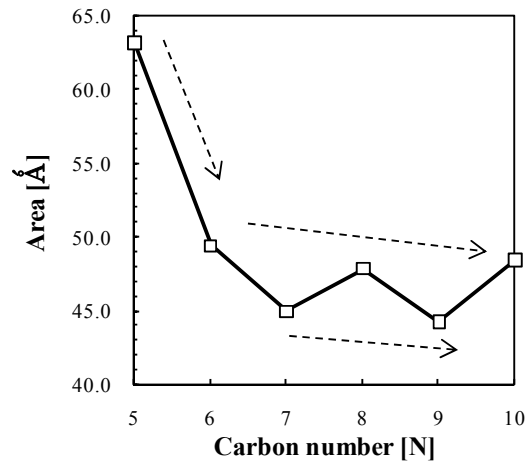


Figure 4-28 C<sub>n</sub>Glu のアルキル鎖長変化に伴う分子占有面積の関係。

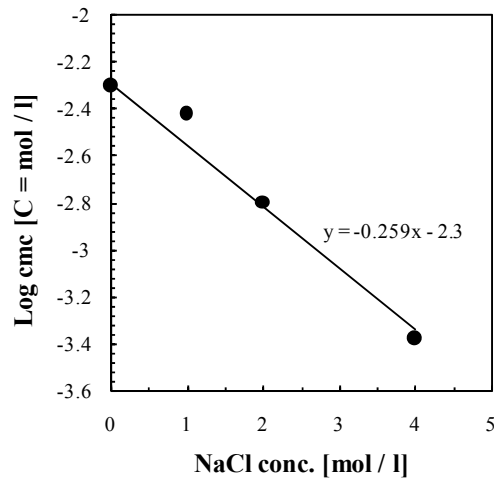


Figure 4-29 C<sub>9</sub>Glu の cmc に及ぼす NaCl 濃度の影響。

つづいて、cmc の温度依存性について検討した。C<sub>8</sub>Glu、C<sub>9</sub>Glu、または C<sub>10</sub>Mal (decyl β-D-maltoside) では純水中における cmc は、常温からの温度低下により上昇していくことが報告されている。<sup>[53]</sup> それらの値について、氷点下以下の温度では得られていないため、-21 °C 以下となる NaCl/水 2 成分系の共晶点以下の糖質誘導体挙動を検討するには考慮すべき事項と考えた。糖質系界面活性剤といえる glucosyl alkane や glucosyl alkylbenzene などの水溶液における凝固点曲線が示す、正則溶液において得られる凝固点曲線より逸脱する濃度と、常温における表面張力測定から得られた cmc では、化合物間で相対的な関係性が認められている (化合物の構造を Figure 4-30 に示した)。<sup>[54]</sup> そこで、本研究では共晶の凝固点に与える C<sub>5</sub>Glu の効果と Glu (グルコース) の効果を比較し、C<sub>5</sub>Glu が示した Glu からの逸脱した濃度により、会合体形成した濃度について検討することとした。

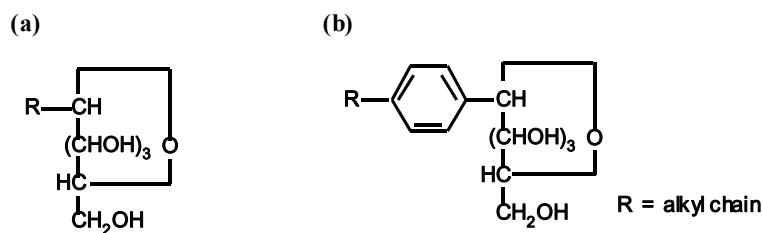


Figure 4-30 (a) Glucosyl alkane および(b) glucosyl alkylbenzene の構造。

Figure 4-31 に 5.2 mol / kg NaCl 水溶液中における C5Glu および Glu の凝固点測定の結果を示した。(右)に示した経時変化に伴う温度変化を調べるにより、屈曲を示す近傍で近似した二つの直線の交点として融点(平衡凝固点)を得、(左)に濃度変化に伴う融点をプロットした。その結果、5.2 mol / kg NaCl 水溶液中において、C5Glu 系では 0.30 mol / kg 程度の濃度で Glu 系で得られる値から逸脱することが認められた。Glucosyl alkane 水溶液などの凝固点測定において、逸脱濃度は常温での cmc と近いことが報告されていることから、C5Glu は 5.2 mol / kg NaCl 水溶液中で、7.0 wt%において会合体が形成していることが示唆された。これは、25 °C における表面張力測定から得られた値の 12.9 wt% に比べて低い濃度であった。他方で、Figure 4-30 (b)と同様の測定を純水で行った場合、-3.0 °C、1.5 mol / kg において C5Glu は Glu 水溶液から逸脱し、それは 27.2 wt%の濃度であった。それは、12.9 wt% よりも高濃度を示している。これらの結果は、低温になればなるほど、会合体形成はしにくくなるが、大過剰の NaCl の存在下では、C5Glu は低温ながらも、常温下の純水中の場合と比較して、会合体をより形成しやすい傾向を有していることを示している。

以上の検討より、C12Raf, C12Suc そして C5Glu から C10Glu までの CnGlu は 10 wt% などの濃度では -21 °C 以下でミセルまたは会合体を形成していると考えられた。

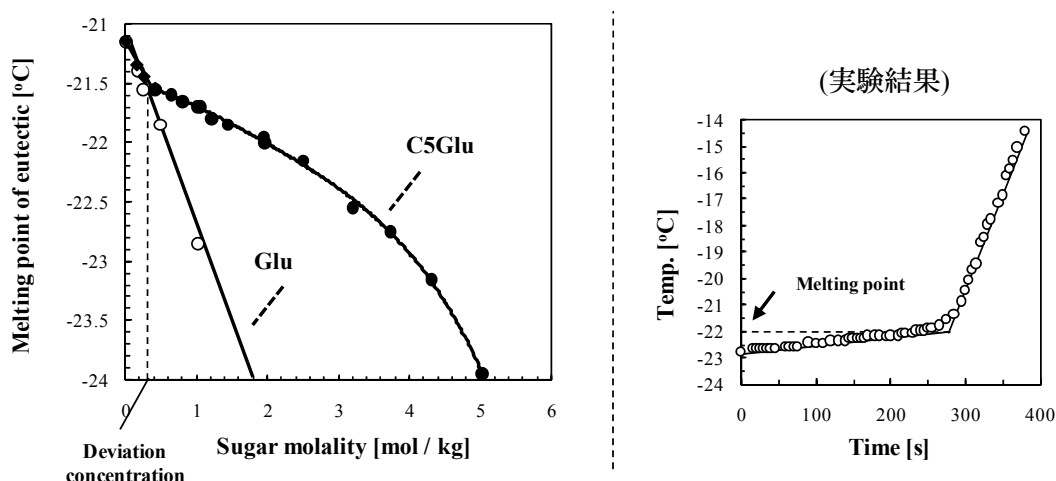


Figure 4-31 (左) 5.2 mol / kg NaCl 水溶液の共晶に対し C5Glu が与える凝固点降下。(右) 融解法による凝固点の決定。[55] (Eg., 5.2 mol / kg NaCl 水溶液における 1.0 mol / kg の Glu 水溶液の凝固点測定。)

## 2) 共晶形成抑制効果に与える疎水鎖長効果

分子集合体を形成することが認められた糖質系界面活性剤 C12Raf および C12Suc と、集合体形成能を有さない糖質 Raf および Suc との比較結果を Figure 4-32 にそれぞれ示した。

Figure 4-32 (a), (b)より、天然の糖質 Raf, Suc は測定した範囲において、初期濃度に大きく依存しない結果を示した。そしてこの時、それぞれの糖質の共晶形成抑制効果はそれぞれの傾きから 3:2 と算出され、糖質単位数が大きく影響を与えることが示された。それらをそれぞれを親水部とする糖質系界面活性剤と比較した場合、共晶形成抑制効果は同様に傾きから 1.6 倍程度大きいことが示された。

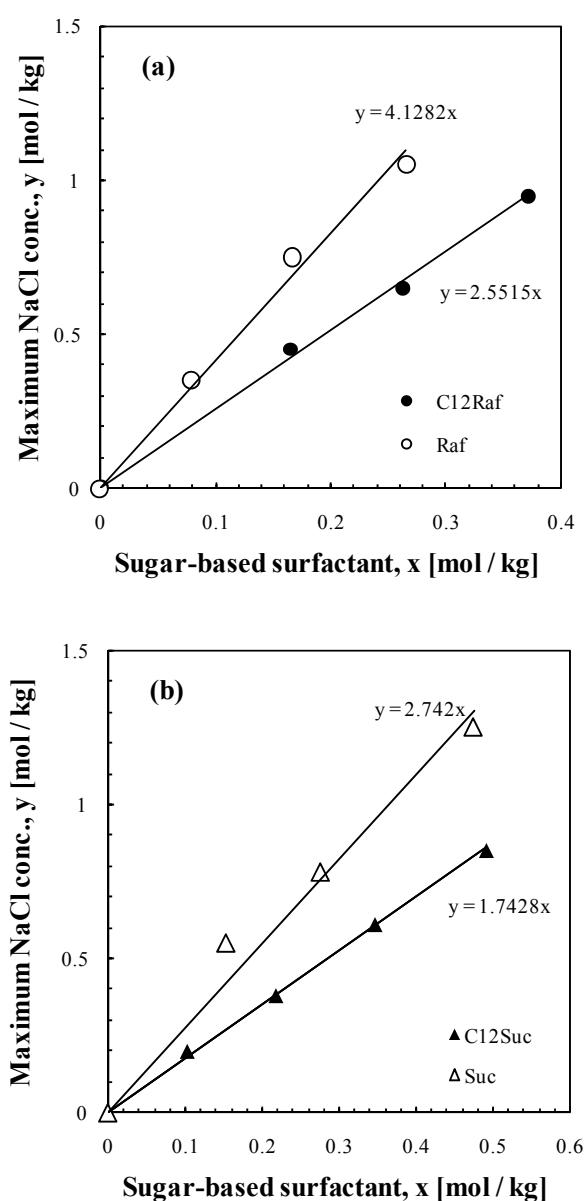


Figure 4-32 天然の糖質と糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果の比較。(a) C12Raf vs. Raf, (b) C12Suc vs. Suc.

つづいて、天然の糖質と集合体形成をする糖質系界面活性剤を用いて、集合体形成がどのような影響を与えるのかについて検討した。Figure 4-33 に、疎水鎖長を C1 から C9 とする CnGlu の共晶形成抑制効果について示した。ここでの共晶形成抑制効果は Figure 4-25 と同様、1 mol / kg の CnGlu が示す完全に共晶形成を抑制できる最大 NaCl 濃度で評価している。

Figure 4-25 から、C1 から C5 までは、アルキル鎖長の増加とともに共晶形成抑制効果は減少し、C5 以上では C9 まで大きく変化しないことが認められた。C5Glu は Figure 4-31 における会合体形成が認められており、会合体を形成する CnGlu では共晶形成抑制効果は大きく変化していないことが明らかとなった。他方で、会合体を形成しないと考えられる C4 以下の CnGlu ではアルキル鎖の減少とともに、1 mol / kg あたりより多くの共晶を抑制できることが示された。4-3-4 で述べたように、Group (I)における共晶形成抑制効果は氷が形成した後のガラス形成によると考えられる。様々な疎水鎖を有するアルキグリコシドは、糖質が形成する  $T_g$  を低下させることが報告されており<sup>[56]</sup>、Figure 4-32 においてもアルキル鎖長の増加により系のガラス形成能を低下させているものと考えられた。しかし、疎水鎖長が集合体形成を示す長さには達した場合は、疎水鎖同士の強力な疎水性相互作用により、未凍結 NaCl 水溶液と接触している親水部構造は、炭素数に関係なく同様の構造を形成しており、結果的にそれぞれは同程度のガラス形成能を有し、そして同程度の共晶形成抑制効果を示したものと考えられた。

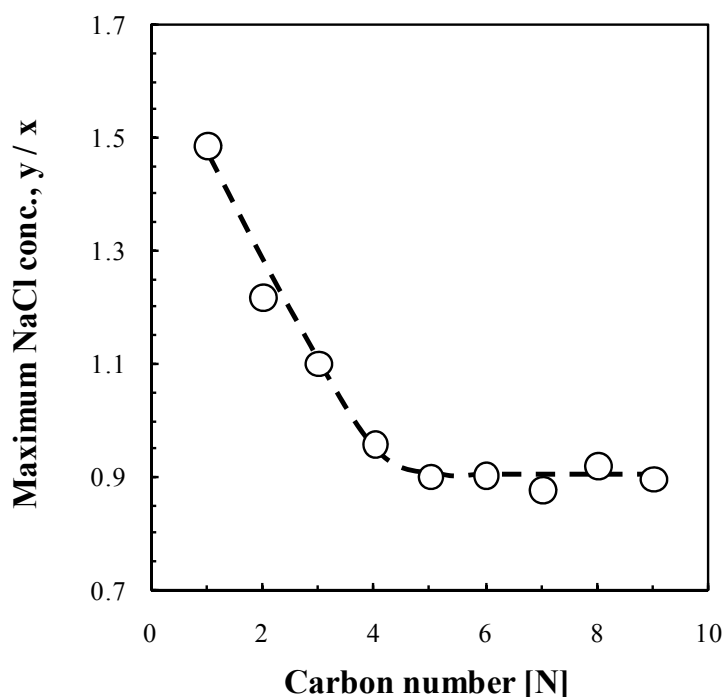


Figure 4-33 CnGlu (N = 1, 2, ..., 9) の共晶形成抑制効果と炭素数の関係。

#### 4-4 結論

種々の糖質系界面活性剤を含む NaCl 水溶液の凍結融解過程を DSC 測定することで、糖質系界面活性剤が NaCl $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O/氷という共晶の形成を抑制する効果を有することが認められた。一定量の糖質系界面活性剤を添加した場合、その溶液の抑制挙動は、NaCl 濃度変化に伴い以下の三つの濃度領域に区分された。

Group (I): NaCl 濃度が低く、一部の氷の成長とともに共晶形成が完全に抑制される濃度領域。共晶形成は系のガラス化により抑制されていると考えられる。

Group (II): NaCl 濃度が中程度であり、共晶が昇温過程において形成する。さらに、凍結融解過程において一部の共晶形成は抑制されている濃度領域。冷却過程における共晶形成抑制は Group (I)と同じくガラス化によると考えられる。

Group (III): NaCl 濃度が高く、昇温過程において共晶と氷の融解ピークのみ認められる。しかしながら、一部の共晶は抑制されている濃度領域。この Group (III)において、糖質系界面活性剤は共晶の形成と融解により濃縮および希釈され、その間、ミセル-ヘキサゴナル相転移などの液晶-液晶間相転移を示すことが示された。

さらに、種々の糖質系界面活性剤の共晶形成抑制効果を比較した結果、それらの共晶形成抑制効果は親水部の糖質を構成する糖質骨格数に大きく依存していることが示された。すなわち、単糖に比べ二糖が、二糖に比べて三糖がより高い共晶抑制効果を示した。

また、天然の糖質と、相当するその糖質に疎水基を導入した糖質系界面活性剤が示す共晶形成抑制効果について比較した結果、天然の糖質は、それぞれの糖質系界面活性剤よりも 1.6 倍程度高い効果を示すことが認められた。天然の糖質への疎水鎖の付与は、会合体形成を示さない糖質では共晶形成抑制効果を顕著に低下させ、アルキル鎖長が会合体形成を示す長さに到達した場合、それ以上の鎖長の増加は共晶形成抑制効果に相違を与えない結果を示した。

これらの結果から、既に知られている界面活性剤の界面特性においては疎水鎖長の増加はそれらに大きな変化をもたらす一方で、共晶形成抑制効果においては疎水鎖ではなく、親水部が大きく寄与していることが示され、界面活性能、共晶形成抑制能といったそれぞれの機能性を有する分子デザイン設計が相反せず、両立させることが可能であると理解された。すなわち、より高い界面活性能と共晶形成抑制効果を示す糖質系界面活性剤のデザインする場合、より長い疎水鎖とより多くの糖骨格を有する糖質系界面活性剤を選択すれば良いことが明らかとなった。

糖質系界面活性剤が示す共晶形成抑制効果は、タンパク質の凍結乾燥過程における糖質系界面活性剤の安定化剤として機能性を裏付ける特性の一つといえ、糖質系界面活性剤の疎水鎖や親水部構造を考慮することで、タンパク質の凍結乾燥過程における糖質系界面活性剤添加による安定化効果は大きく変化することが考えられる。今後、そのような系統的な研究が行われることを期待する。



## 第5章

# 糖質系界面活性剤が形成する W/O エマルションにおける種々のポリマー水溶液の水核生成挙動の検討

### 5-1 緒言

#### 5-1-1 過冷却水溶液における水核生成

純水は平衡凝固点（融点： $\Delta T_m$ ）を  $0\text{ }^\circ\text{C}$  ( $273.15\text{ K}$ ) に持つが、小さな液滴を冷却した場合にはそれより低い温度になってもすぐには凍結せず液体の状態が維持される。この平衡凝固点以下における液体のままている状態を過冷却状態といい、それは水の凝固が核生成過程を経ることに起因して生ずる準安定状態である。

水和物形成や溶質の析出が生じない系において、平衡凝固点以下の水溶液中では水が最も安定な相である。しかしながら、氷の生成過程で小さいサイズの氷クラスターが生じる場合は、新たな氷-水界面の表面自由エネルギーの生成を伴うため、系内は一時的にエネルギー的に不利となる。その結果、氷クラスターは水に戻り、引き続き過冷却状態が維持される。安定な氷の形成には、表面自由エネルギーの増加分を補う大きな氷クラスターの生成が必要となる。<sup>[1]</sup>

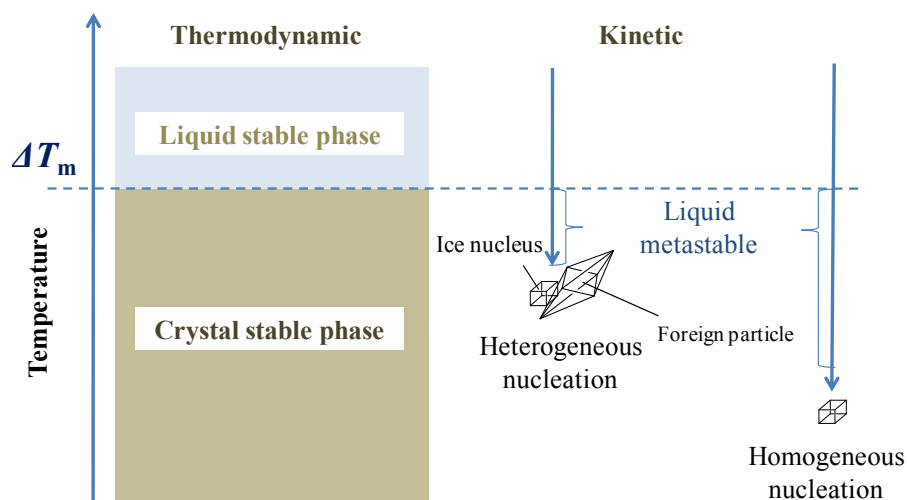


Figure 5-1 異なる核生成機構を比較した模式図。 $\Delta T_m$ は液体の平衡凝固点（融点）。

水溶液が凍結するには、核となる氷クラスターの生成が必要であるが、この核生成過程には二つの場合が存在する。<sup>[1]</sup> 氷クラスターが異物質の上で形成した場合、その氷核生成過程は“不均質核生成 (heterogeneous nucleation)”という。また、氷クラスターが水分子同士の揺らぎによってのみ形成された場合、その氷核生成過程は“均質核生成 (homogeneous nucleation)”という。二つの異なる核生成過程の違いを Figure 5-1 に模式的に示した。

### 5-1-2 均質核生成

過冷却状態の水では常に構造的変化が生じており、それは局所的に密度、温度、圧力などの各パラメーターに揺らぎを与えている。これらの揺らぎは、液相中において氷クラスターが絶え間なく形成と消失を繰り返していることにより生じている。その氷クラスターがある種の臨界サイズを超えて形成すると、それは氷核となり、その後の成長は熱力学的に安定となって氷が形成する。その安定機構については以下のように説明される。<sup>[1]</sup>

まず、過冷却状態の水と氷のそれぞれの化学ポテンシャルを  $\mu_L$ ,  $\mu_S$ 、水と氷との単位体積当たりの自由エネルギー差を  $\Delta G_V$ 、その際生成した氷核中の水分子のモル数を  $n_s$  とすると、

$$\Delta G_V = n_s(\mu_S - \mu_L) \quad (5-1)$$

となる。ここで、氷核の単位面積当たりの界面自由エネルギーを  $\sigma$  とし、半径  $r$  の氷核が生成するときの自由エネルギー変化を考えると、

$$\Delta G(r) = (4/3) \pi r^3 \Delta G_V + 4 \pi r^2 \sigma \quad (5-2)$$

が与えられる。(5-2)式において、右辺第一項は体積変化に起因する自由エネルギー変化であり、右辺第二項は界面自由エネルギー変化に相当する。(5-2)式を半径  $r$  で微分し、極大値  $r^*$  を得ると次式が得られ、その際の  $\Delta G_{crit}$  は(5-4)式で表わされる。

$$r^* = -2 \sigma / \Delta G_V \quad (5-3)$$

$$\Delta G_{crit} = 16 \pi \sigma^3 / 3 (\Delta G_V)^2 \quad (5-4)$$

(5-3)式で、 $r^*$  は生成する氷核の臨界半径であり、この大きさ以上の氷核はエネルギー的に安定し成長することができ、それにより初めてマクロな意味での“氷”となることのできる (Figure 5-2)。

単位体積当たりの液体中で生じる臨界半径を有する氷核の数  $n(r_{LS}^*)$  は、ボルツマン定数を用いることで次式のように近似的に表わされる。

$$n(r_{LS}^*) \cong n_0 \exp\left(\frac{-\Delta G^*}{kT}\right) \quad (5-5)$$

ここで、 $n_0$  は液体中に単位体積当たり存在する水分子数に相当する。 $k$  はボルツマン定数、である。氷の形成されやすさを示す重要な概念として氷核生成頻度 (または核生成速度)

があるが、それはこれらの氷核がさらに大きくなる際の速度に相当し、Turnbull と Fisher はこの速度を  $\frac{kT}{h} \exp\left(-\frac{\Delta g}{kT}\right)$  に近似できると考えた。ここで、 $h$  はプランク定数、 $\Delta g$  は氷-水界面を水分子が通過する際の活性化エネルギーに相当する。それより、連続的に成長できる氷核の生成頻度、 $J_{LS}$  は、

$$J_{LS} \cong \frac{n_0 kT}{h} \exp\left(-\frac{\Delta g}{kT}\right) \exp\left(\frac{-\Delta G^*}{kT}\right) \quad (5-6)$$

で示され、 $\frac{n_0 kT}{h} \exp\left(-\frac{\Delta g}{kT}\right)$  を定数  $K$  に置き換えることで、(5-6)式はしばしば、

$$J_{LS} \cong K \exp\left(\frac{-\Delta G^*}{kT}\right) \quad (5-7)$$

と簡略化される。

ここで、 $J$  は単位体積当たりの核生成頻度に相当するため、試料当たりの核生成頻度は、全溶液当たりの核生成頻度となるためそれは溶液量に比例することとなる。よって、体積  $V$  の試料における氷核生成頻度  $J_{vol-total}$  は(5-8)式で示される。

$$J_{vol-total} = V J_{LS} \quad (5-8)$$

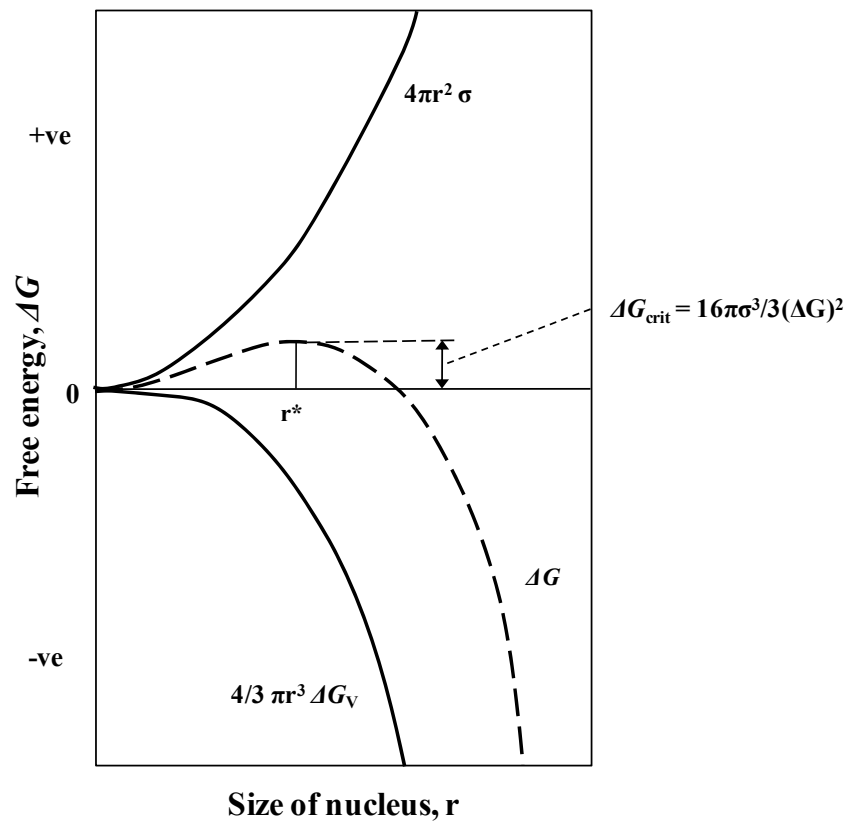


Figure 5-2 氷核生成における氷核の大きさと自由エネルギーの関係。[2]

### 5-1-3 不均質核生成

氷核生成において、均質核生成が起こることは極めて希であり、多くの場合、容器の壁面や溶液中に存在する異物質を核生成場と介する不均質核生成により生ずる。異物質表面における氷核生成では自由エネルギー変化  $\Delta G$  は以下の式で表わされる。<sup>[1]</sup>

$$\Delta G = V_S \Delta G_V + A_{SL} \sigma_{SL} + A_{SP} (\sigma_{SP} - \sigma_{PL}) \quad (5-9)$$

ここで、 $S, L, P$  はそれぞれの固相、液相、異物質粒子を意味している。 $A_{SP}$  は異物質と接する氷核の表面積に相当する。この(5-9)式における右辺第三項のため、不均質核生成は均質核生成に比べて、エネルギー的に有利となり、その結果、小さい過冷却（より高温において）において核生成を生じることができる。

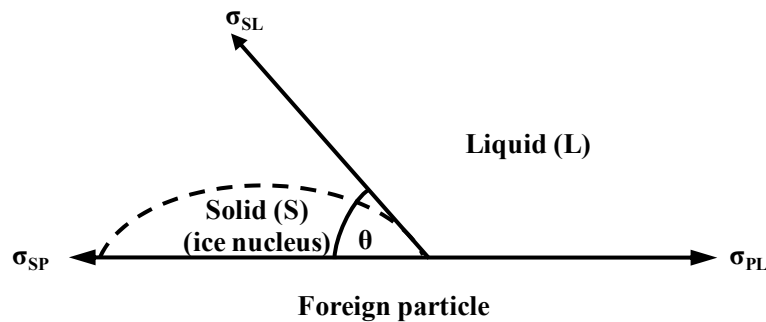


Figure 5-3 三相間の界面における界面張力の関係。<sup>[2]</sup>

ここで、Figure 5-3 のように異物質粒子とその上で生成した氷核の接触角を  $\theta$  とすると、氷、水、異物質のそれぞれの間の界面自由エネルギー間では、

$$\sigma_{SP} - \sigma_{PL} = -\sigma_{SL} \cos \theta \quad (5-10)$$

が成り立つ。<sup>[2]</sup> 均質核生成において臨界半径を有する氷核を形成するのに必要な自由エネルギー  $\Delta G_{crit}$  と不均質核生成における自由エネルギー  $\Delta G'_{crit}$  は、

$$\Delta G'_{crit} = \varphi \Delta G_{crit} \quad (5-11)$$

$$\varphi = \frac{(2 + \cos \theta)(1 - \cos \theta)^2}{4} \quad (5-12)$$

の関係があることが Volmer により示されており、 $\theta = 180^\circ$  のとき  $\cos \theta = -1$  であるため、 $\varphi = 1$  となり、

$$\Delta G'_{crit} = \Delta G_{crit} \quad (5-13)$$

となる。<sup>[2]</sup>  $\theta$  と  $\varphi$  の関係を Figure 5-4 に示した。

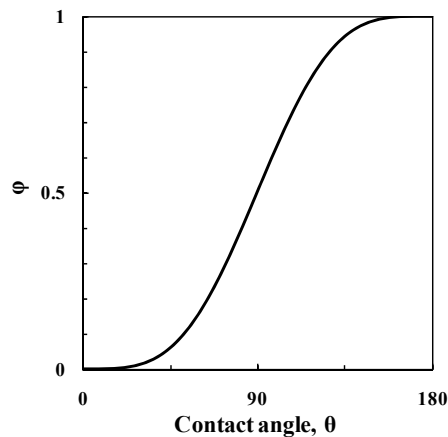


Figure 5-4 均質核生成と不均質核生成間の自由エネルギー比と接触角の関係。[2]

Figure 5-4 より不均質核生成過程では、異物質と氷核との接触角（濡れやすさ）により氷クラスター形成時の自由エネルギーは大きく影響を受ける。[2] さらに、異物質の粒子サイズも重要であり、異物質が球状の構造を有しているとした場合、たとえその粒子表面の性質が  $\phi$  を大きく減少させる  $\theta$  を示しても、粒子サイズが少なくとも半径 10 nm 以上でなければ、効果的な不均質核生成は生じないと算出されている。[3] また、広範囲の  $\theta$  において異物質粒子のサイズ依存性は  $\mu\text{m}$  程度において頭打ちを示し、それ以上では大きく変化しなくなることも算出されている。

非常に効率的に氷核形成を促進させる異物質は、食品の凍結保存、生体物質の凍結保存、凍結乾燥、凍結濃縮、氷スラリーの作成時などにおいて、凍結させるまでに必要なエネルギーを減少させることから、特定の異物質については氷核形成促進剤（または氷核生成物質、氷核活性物質）とよばれ近年環境低負荷物質として広く研究が行われている。[4-6]

なお、不均質核生成において、表面積  $S$  の試料での氷核生成頻度  $J_{\text{surf-total}}$  は単位面積当たりの氷核生成頻度  $J_S$  を用いて(5-14)式で示される。

$$J_{\text{surf-total}} = S J_S \quad (5-14)$$

#### 5-1-4 体積依存核生成と界面依存核生成

容器壁面による不均質核生成は、微小重力空間などを除き、通常の状態では避けることはできない。また、容器表面以外でも、液体が外気と接する気液界面などで不均質核生成を生じる可能性がある。そのため、多くの液体における核生成頻度は、溶液中における核生成頻度  $J_V$  と液滴界面における核生成頻度  $J_S$  の総和になると考えられる。[7]

$$J = J_V V + J_S S \quad (5-15)$$

ここで  $V$  と  $S$  はそれぞれ溶液中の体積、表面積に相当する。ここで、界面における核生成頻度は一定と仮定した。(5-15)式は、 $J_V V$  が  $J_S S$  に比べて著しく大きいならば、測定された

液滴の核生成は溶液中で生じ、逆に  $J_s S$  が  $J_v V$  よりも著しく大きいならば、液滴の核生成は液滴表面で生ずることを意味するものである。Tabazadeh らは、気体中で氷核生成が生じる場合について熱力学的考察を行い、

$$\sigma_{VS} - \sigma_{VL} < \sigma_{SL} \quad (5-16)$$

が成り立つとき、界面核生成は支配的になることを示した ( $V$ : 気相 (Vapor))。[8] また、液滴の周りが気体ではなく、油の場合においては  $V$  の代わりに  $O$ : 油相とし、

$$\sigma_{OS} - \sigma_{OL} < \sigma_{SL} \quad (5-17)$$

が成り立つとき、界面核生成が支配的となることを述べた。[7]  $\sigma_{OS}, \sigma_{OL}$  はそれぞれ気-固、気-液の界面張力に相当する。

Tabazadeh らは、W/O (water in emulsion) エマルション中の液滴での核生成挙動と、外気と接した水滴における核生成挙動の既存の研究結果について検討を行い、一部の結果は界面における不均質核生成が支配的であり、また一部の結果は溶液中における均質核生成が支配的であろうと推察を行った。[7] その後、Durant らや Shaw らによる研究において、界面と接触していない溶液中の異物質は、溶液中における場合よりも大きい不均質核生成頻度を示したことで、Tabazadeh により提示された氷の界面核生成の重要性は明確化した。[9,10] 2007 年、Hindmarsh らにより行われたスクロース水溶液液滴についての、ビデオカメラ撮影による核生成挙動の検討から、溶液中または界面から開始する二つの異なる核生成過程が存在することが初めて直接的な観察によって証明され、液滴の界面における氷核生成が明らかとされた。[11]

(5-15)式に見られるように、液滴中における核生成は、溶液の体積量に大きく依存するため体積依存核生成 (volume-dependent nucleation) とよばれ、界面における不均質核生成過程は界面依存核生成 (surface-dependent nucleation) とよばれ、用語として区別される。[12] 体積依存核生成と界面依存核生成の模式図を Figure 5-5 に示した。

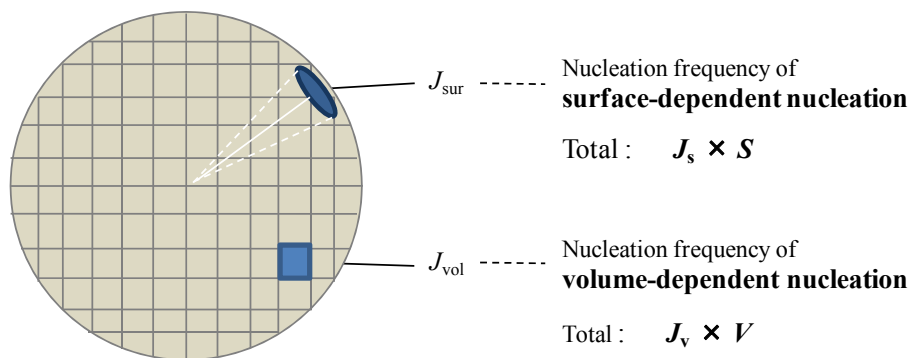


Figure 5-5 体積依存核生成と界面依存核生成。

### 5-1-5 液滴サイズの相違に伴う核生成挙動

溶液の界面では、界面依存核生成が生じるため、界面は測定試料ごとに同一の形状を有していることが望まれる。測定試料ごとに異なる場合、それぞれの界面依存核生成頻度は大きく異なることとなる。また、例えば界面が同一であっても試料サイズの相違は、(5-15)式に見られるように核生成頻度に大きく影響を与えるため、結果、核生成挙動は変化していく。

液滴サイズの相違に伴う核生成温度の移り変わりは、Bigg により 1953 年に報告され、水核生成温度  $T$  と液滴体積  $V$  の間に、

$$\ln(1/V) = aT + b \quad (5-18)$$

の関係があることが認められた。<sup>[13]</sup> ここで定数  $a, b$  は実験条件により決定される定数である。その後、様々な研究者により液滴サイズと核生成温度の関係が調べられ、同一界面下では直径 0.1 cm までの液滴において(5-18)式が成り立つことが報告されている。<sup>[1,3]</sup> (5-18)式において  $a, b$  が実験条件により異なるのは、Tabazadeh ら<sup>[7]</sup> が述べているように一部の核生成測定では界面依存核生成が支配的であるなどの理由によるものと考えられる。

### 5-1-6 水溶液系における核生成温度 $T_n$ と凝固点降下 $\Delta T_m$ の関係

水溶液の核生成挙動の研究は、これまで広く研究がなされているが、そのパイオニオと考えられる研究は 1972 年に Rasmussen と MacKenzie により報告された。その中において、Rasmussen と MacKenzie はエマルジョン中の水溶液の均質核生成において凝固点降下  $\Delta T_m$  と過冷却度  $\Delta T_n$  の間に一つの経験式が認められることを示した。<sup>[14]</sup> それが、(5-19)式である。

$$\Delta T_n = k \Delta T_m \quad (5-19)$$

ここで、 $\Delta T_n = T_{n,H_2O} - T_n$ ,  $\Delta T_m = T_{m,H_2O} - T_m$ ,  $k$  は定数である。一例として、NaCl 水溶液の水核生成における  $\Delta T_n$  と  $\Delta T_m$  の関係を Figure 5-6 に示した。NaCl 水溶液系における  $\Delta T_n$  は NaCl 濃度によらず  $\Delta T_m$  の 1.6 倍ほどの値を示していることが認められる。この場合、 $k$  は 1.6 の定数となる。Rasmussen らは NaCl や  $NH_4F$  などのイオン性化合物、グルコース、グリセロール、エチレングリコールなどの非イオン性化合物、そして polyethylene glycol (PEG), polyvinyl pyrrolidone (PVP) などの高分子の様々な水溶液までこの経験式に従うことを報告した。その際、定数  $k$  は溶質が高分子量になるほど大きい値となる傾向を示した。その後、エマルジョン以外の試料や、AgI などの水核形成促進剤を含む不均質核生成系でも上述の経験式は成り立つことが報告された。<sup>[15-19]</sup> さらに、それらに対する理論的な検討も数々行われてきた。<sup>[3,20-23]</sup>

近年、Kimizuka らは低分子量化合物から高分子量化合物に至るまで、溶質の 25 °C にお

ける水溶液中の自己拡散係数  $D_0$  と  $k$  に統一的な規則性が見られることを報告した。<sup>[24, 25]</sup> それは、様々な水溶液の 25 °C における  $D_0$  の対数に対し、定数  $k$  値は線形の関係を示すものであった (Figure 5-7)。しかし、このような関係が見られた理由については現在まで明らかとなっていない。

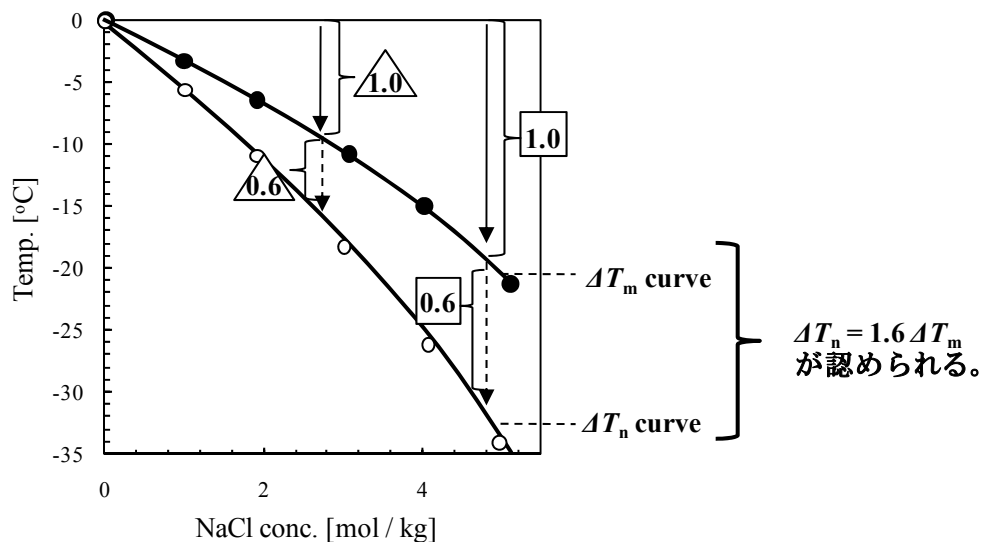


Figure 5-6 NaCl 水溶液エマルションにおける  $\Delta T_m$  と  $\Delta T_n$  の関係。<sup>[14]</sup>

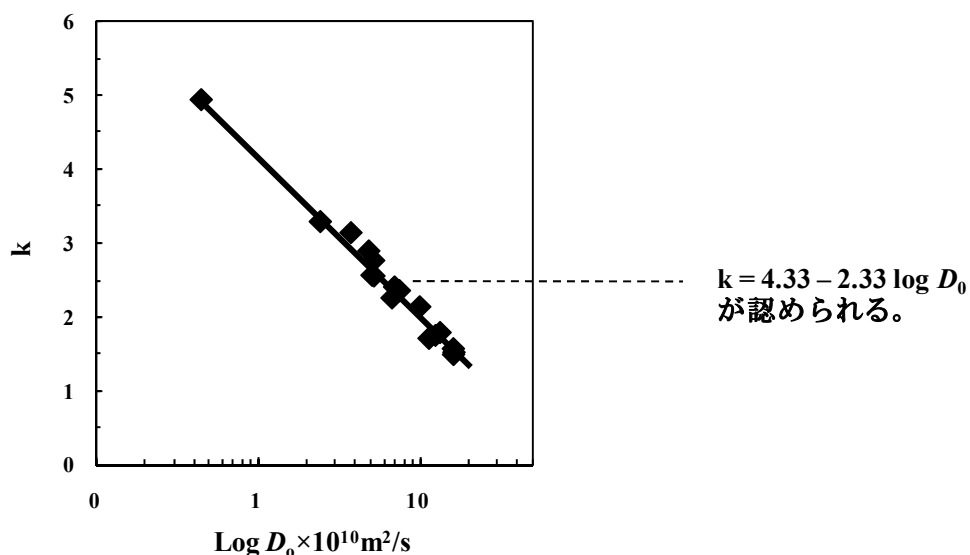


Figure 5-7 25 °C における溶質の水溶液中での自己拡散係数  $D_0$  と、(5-19)式に適用される定数  $k$  の関係。<sup>[24]</sup>



### 5-1-7 エマルション法

水溶液を冷却していく際の核生成挙動を調べるにあたり、混入した異物質（塵、ほこり）を介する不均質核生成は、想定外の解析困難な結果をもたらすこととなる。そのため、多量の試料溶液を無数に分割し、異物質の影響を一部の液滴に制限したエマルション化試料は、核生成挙動の基礎研究に広く用いられてきた。<sup>[12, 14, 17, 18, 24-37]</sup> 試料の分割がもたらす効果を示した概念図について Figure 5-8 に示した。Figure 5-8 (a)のバルクの水では、異物質によって引き起こされる一つの氷核により残りの水もすべて凍結するが、Figure 5-8 (b)の無数の小さな液滴試料に分割されたエマルション中では、有限個の異物質はいくつかの試料液滴において不均質核生成を示すが、その他の無数の液滴では異物質を含まず均質核生成を示すこととなる。

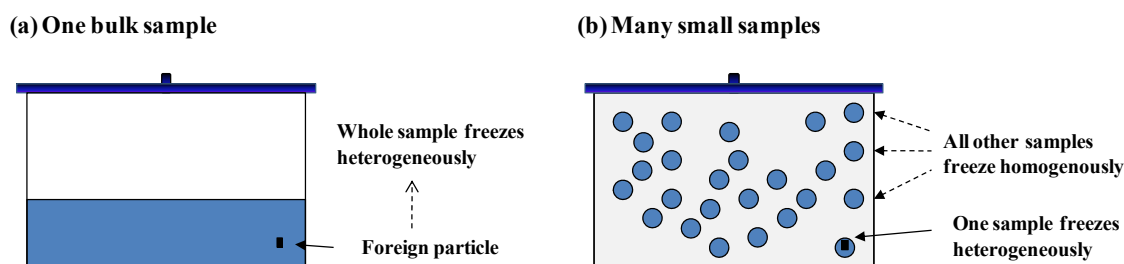


Figure 5-8 多量のバルク水と小さく分割された試料での核生成挙動。

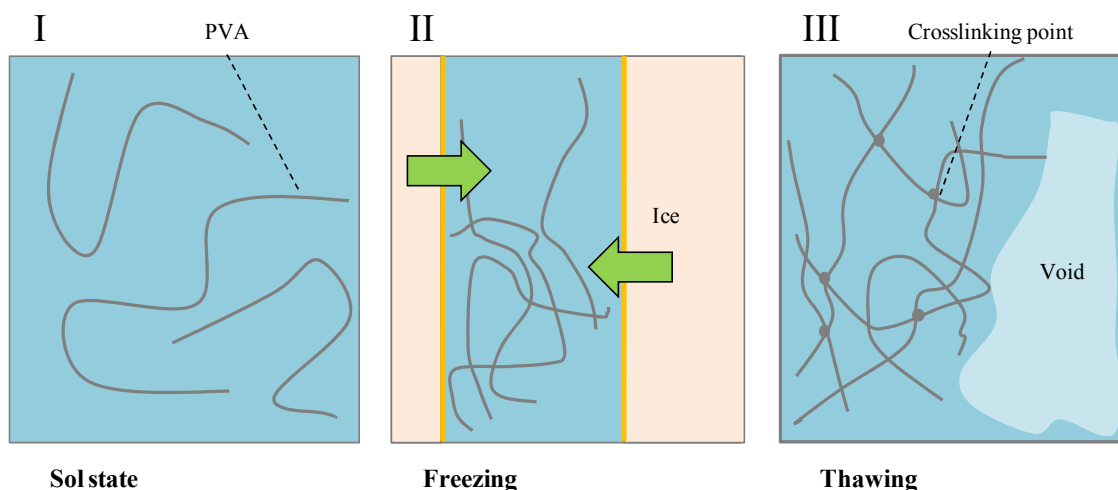
さらにエマルション中に液滴は無数に存在するため、一度の測定により無数の試料を測定したことに相当し、単一試料の核生成測定のように数十や数百といった同一測定を行う必要は無く、利便性の点でも優れている。<sup>[17, 18, 35-37]</sup> このような理由から、示差走査熱量計（DSC）測定によりエマルションを冷却し、氷が生成された際の潜熱の放出によって得られる発熱ピークを基に核生成挙動を調べる試みは簡便かつ最上の手法と考えられている。<sup>[12, 38]</sup> しかし、溶質を疎水性物質とする場合は、それらのエマルションへの影響が懸念されるため、その限りではない。<sup>[15]</sup>

直径数  $\mu\text{m}$  の小さい液滴サイズのエマルション液滴を用いることで  $-38\text{ }^\circ\text{C}$  程度までの過冷却を維持できるため、大きな過冷却下での水や氷の様々な物性、高圧下における水の状態変化などの数々の研究にエマルション液滴は用いられている。<sup>[39-41]</sup>

### 5-1-8 本章の目的

Polyvinyl alcohol (PVA)は代表的なポリマーの一つであり多くの分野で幅広く使用されている。<sup>[42]</sup> また PVA は、適当な条件下において物理的に架橋されたハイドロゲルを形成する特性を有しており<sup>[43-46]</sup>、低毒性であり、かつ良好な生体適合性を示すことから、このマトリックス（ゲル）を用いた様々な生物医学や薬学への応用、例えば、生理活性分子や細胞輸送のための足場（scaffold）、細胞や生体高分子の固定化が試みられている。<sup>[48-50]</sup>

これらの応用が期待される PVA 物理ゲルは、多くの場合、凍結/融解処理により作製される（Figure 5-9）。凍結/融解処理により作製されるゲルは一般に低温ゲルとよばれる。作製される低温ゲルの特性は凍結融解処理の条件に大きく依存するため、良好な性能を有する低温ゲルについての規格化された作製方法を確立するために、この低温ゲル化プロセスの機構については数多く研究がなされてきた。<sup>[44, 47, 49, 51, 52]</sup>



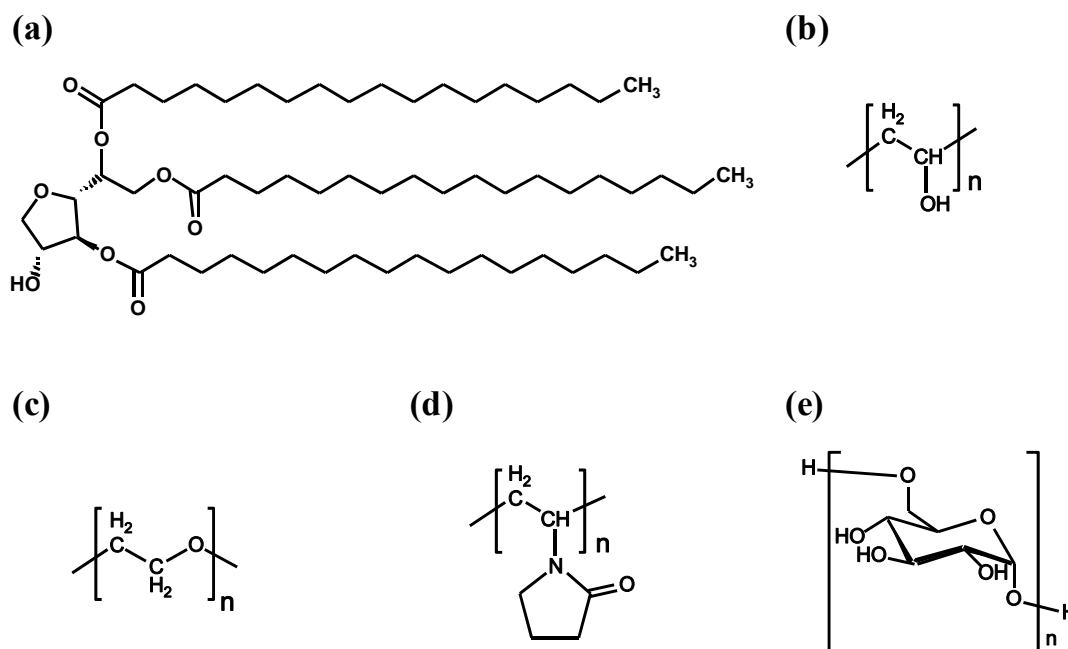
**Figure 5-9** PVA 水溶液の凍結/融解過程における低温ゲル化。<sup>[52]</sup> [I] ゲルの存在しない透明な溶液状態。[II] 温度の冷却とともに氷が形成し、そして氷に押し出された PVA 分子間は接触し、結果、水酸基間で水素結合が形成される。[III] 緩い網目状の架橋構造が形成される。一部では氷が形成することで PVA 分子は押し出されるため、水みの領域となる。緩い網目状の架橋構造中では、高分子鎖は常に弾性拘束を受け、部分的に熱変動は制限され、固定されている（物理的架橋の形成）。

他方で、近年脚光をあびる PVA の特性として、PVA による氷の再結晶化（凝集）防止や結晶成長抑制効果がある。これらは PVA 分子が氷の結晶表面へ選択的に吸着することでもたらされる特性と考えられており、他の汎用ポリマーである polyethylene glycol (PEG) や polyvinyl pyrrolidone (PVP) の水溶液では観察されない特性である。<sup>[53-56]</sup> この特性は不凍タンパク質や不凍糖タンパク質 (AF(G)Ps) が示す特性に類似していることから、PVA や PVA 誘導体は血液、組織、臓器の低温保存の分野において AF(G)Ps の安価な代替品として使用

されることが期待されている。[53-58]

これらを見るとPVAの低温利用に向けての研究は一般的になりつつあると考えられるが、凍結の最初の現象にあたる PVA 水溶液の氷核生成挙動についての基礎的な研究は他のポリマー水溶液に比べあまりなされていないのが実情である。[14, 25, 30, 31, 35, 36, 59] Wowk らによると、PVA は *Pseudomonas syringae* やいくつかの有機物の氷核形成促進剤によって引き起こされる不均質核生成を抑制することが示されているが、その際同量の polyglycerol の添加時に比べ、多くの原因不明の小さな氷の粒が形成されたことが報告されている。[60] また、PVA 水溶液の氷核生成は PVA が存在しない水溶液のそれよりも高い温度で起こったという報告も認められている。[61] それらについての説明はこれまでなく、PVA 水溶液のこれらの氷核生成挙動は依然として明らかにされていない。また、前述したように、エマルション液滴を用いた核生成挙動の調査方法は溶質の添加効果を調べる上で良く確立した手法であり、多くのポリマー水溶液についてはその手法を用いた氷核生成挙動の検討がなされているが [14, 25, 30, 31, 35]、PVA 水溶液においてははまだエマルションを用いた氷核生成挙動の検討はなされていなかった。

本研究では Tabazadeh らにより体積依存核生成が支配的となると考えられた、油相を *n*-heptane、乳化剤を糖質系界面活性剤 sorbitan tristearate (Span 65) として作製された W/O エマルションを用い<sup>[7]</sup>、PVA 水溶液中の氷核生成挙動について検討を行った。Figure 5-10 に本章で用いた化合物の構造を示した。



**Figure 5-10** 本節で扱った乳化剤 Span 65 と各種ポリマーの分子構造。(a) Sorbitan tristearate (Span 65). (b) Polyvinyl alcohol (PVA). (c) Polyethylene glycol (PEG). (d) Polyvinyl pyrrolidone (PVP). (e) Dextran (DX).

## 5-2 試薬・機器・試料作製

### 5-2-1 試薬

Table 5-1 試薬一覧

試薬名	略称	備考
Distilled water	-	和光純薬工業株式会社。
<i>n</i> -Heptane		和光純薬工業株式会社。
Sorbian tristearate	Span 65	和光純薬工業株式会社。
Polyvinyl alcohol, MW 1,700	PVA1.7	Sigma-Aldrich Japan K.K。 ケン化度 98.7 mol %。*
Polyvinyl alcohol, MW 13,200	PVA13	Japan VAM & POVAL Co. Ltd。 ケン化度 98.3 mol %。*
Polyvinyl alcohol, MW 17,600-26,400	PVA22	和光純薬工業株式会社。 ケン化度 98.0 mol %。*
Polyvinyl alcohol, MW 39,600-48,400	PVA44	和光純薬工業株式会社。 ケン化度 97.9 mol %。*
Polyvinyl alcohol, MW 89,000-98,000	PVA93	Sigma-Aldrich より購入。 ケン化度 99.7 mol %。*
Polyethylene glycol, MW 15,000-25,000	PEG20	和光純薬工業株式会社。
Polyvinyl pyrrolidone, MW 35,000	PVP35	和光純薬工業株式会社。
Dextran, MW 32,000-45,000	DX38	和光純薬工業株式会社。

高分子の分子量 (MW) については商品の規格をそのまま使用した。

\* ケン化度は  $^1\text{H-NMR}$  測定により methylene 基 ( $-\text{CH}_2-$ ) と PVA 分子中にわずかに残存する acetyl 基 ( $\text{CH}_3\text{CO}-$ ) の比から算出した。ケン化度 (saponification) :  $(3y) / (2x + 3y) \times 100$  (Figure 5-11)。

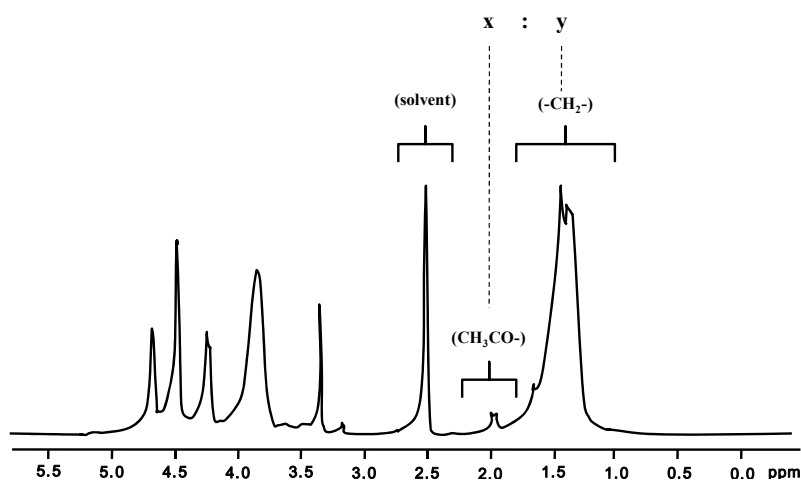


Figure 5-11  $^1\text{H-NMR}$  による PVA のケン化度の決定 (重 DMSO)。[62]

## 5-2-2 機器

Table 5-2 本章の機器

機器名	装置名	製作会社
示差走査熱量計 (DSC) *1	DSC-60	株式会社 島津製作所
<sup>1</sup> H-NMR*2	MVX-300	VARIAN Inc.
光学顕微鏡	BH-51	オリンパス株式会社
レーザー粒径解析システム PAR-III 動的光散乱: DLS*3	DLS	大塚電子株式会社
毛細管粘度計*4	粘度計キャノンフェンス ケ不透明液用 (逆流型)	草野科学株式会社
毛細管粘度計*4	キャノン・フェンスケ逆流	柴田科学株式会社
エースホモジナイザー	AM 型	株式会社 日本精機製作所
SPG 膜	SPG (Shirous Porous Glass)	SPG テクノ株式会社
熱電対型温度計*5	CT1200D (センサーLK-300S)	株式会社 島津製作所

1\* 示差走査熱量計 (DSC) 測定の装置の較正にあたっては、インジウム、氷の融点と (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の 223.1 K における強誘電体 (ferroelectric) 相転移点の数値を用いた。[34]

2\* 重 DMSO の溶媒ピーク 2.50 ppm を基準値とした。

3\* 動的光散乱 (DLS) 測定には、*n*-heptane の屈折率 1.387 と、粘度 0.4169 mPa•s を用いた。

4\* 粘度測定においては、純水の粘度 0.905 mPa•s により確認した。

5\* の温度較正は 4-2-2 と同様にして行った。

### 5-2-3 試料作製

示差走査熱量計（DSC）測定、光学顕微鏡観察、動的光散乱（DLS）測定では、様々な濃度のポリマー水溶液をエマルション化した試料を用い、また熱捕捉測定（TAM）、粘度測定では様々な濃度のポリマー水溶液を試料溶液として使用した。

#### 1) 種々のポリマー水溶液の調製

50 °C、2h 真空乾燥した種々のポリマーを蒸留水に溶解させることで調製した。PVA では容器を密閉にし、120 °C まで加温することで完全に溶解させた。試料濃度は、溶媒の蒸発量も考慮し重量比により決定された。それぞれの試料は重量モル濃度 [mol / kg] または重量濃度 [wt %] により表記した。

#### 2) W/O エマルションの作製

W/O エマルションは *n*-heptane 20 ml に 500 mg の Span 65 を溶解し、試料溶液 10 ml を加え、市販のホモジナイザーにより 6 min 12,000 rpm の機械的攪拌により混合することで調製した（Figure 5-12）。エマルションの液滴のサイズ分布は、500 倍の倍率による光学顕微鏡観察と、セル中で 30 倍に希釈された試料溶液を DLS 測定することで決定した。DSC と光学顕微鏡の測定または観察する試料の形態は Figure 2-8, 2-10 と同じとした。

ホモジナイザーで混合後、粒径サイズが大きいことが確認された試料については、孔径 5  $\mu$ m の孔を持つ SPG 多孔質膜を用いた膜乳化を 10 回を行うこと（ポンピングすること）により均質化した（Figure 5-13）。<sup>[63]</sup> DSC 測定においては、6  $\mu$ l 程度をアルミパン中に封入することにより試料とした。

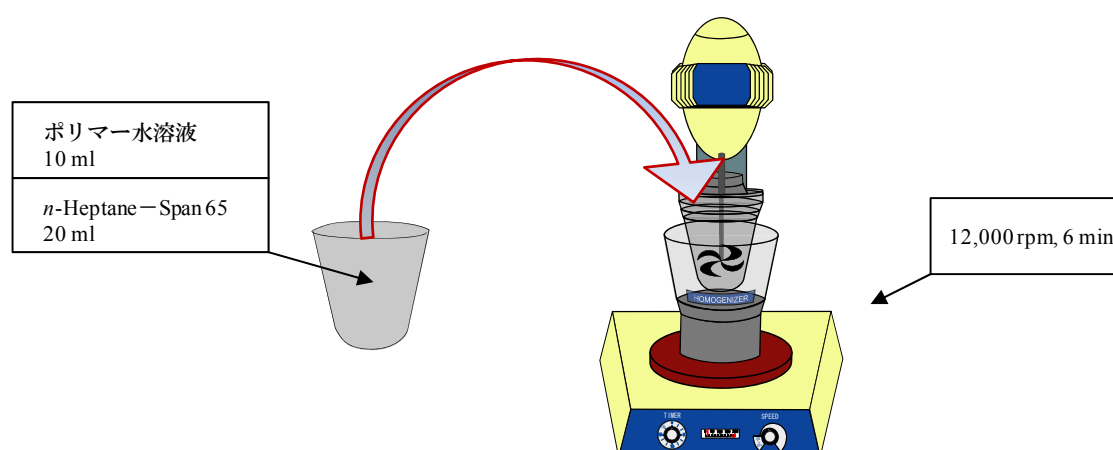
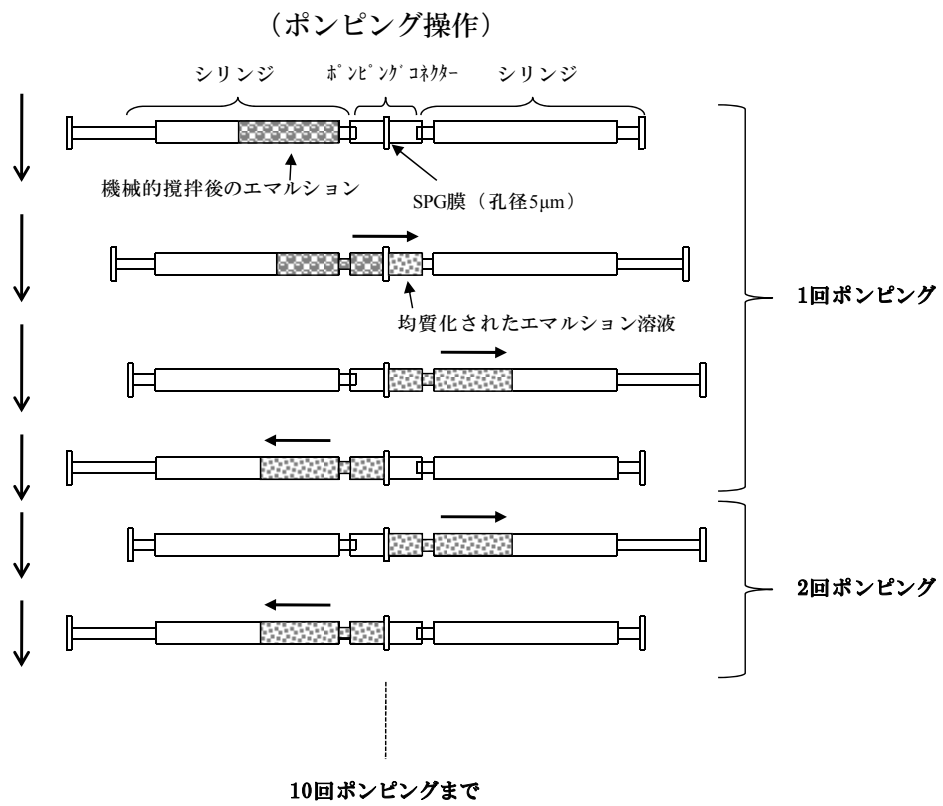


Figure 5-12 ホモジナイザーによる機械的攪拌を用いた W/O エマルションの作製。



(SPG膜による膜乳化過程模式図)

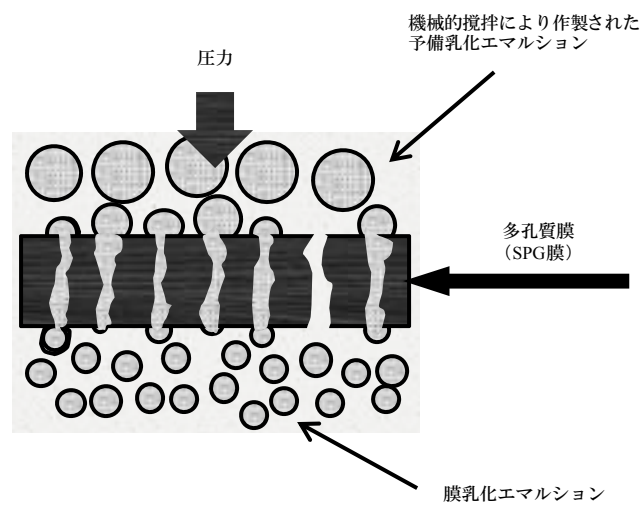


Figure 5-13 SPG膜を使用した膜乳化によるエマルジョン粒径の均質化。[63]

## 5-3 結果・考察

### 5-3-1 エマルション液滴の粒子径制御

(5-18)式に見られるように、液滴中の核生成温度 ( $T_n$ ) は液滴の大きさに影響を受けることが知られている。そのため、様々なポリマー水溶液における  $T_n$  を測定するにあたっては、エマルション液滴の粒子径は均一であることが必要と考えられた。

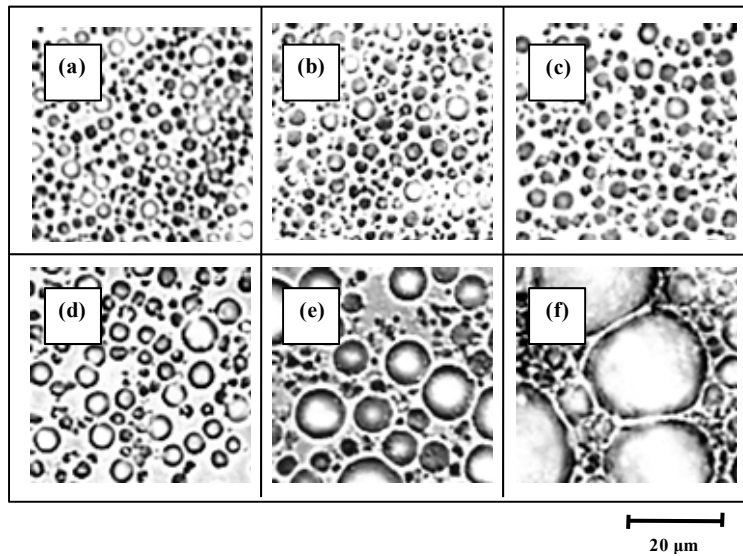
Figure 5-14 にホモジナイザーを用い、様々な濃度の polyvinyl alcohol (PVA) 水溶液をエマルション化した際の光学顕微鏡画像を示した。多くの研究では、エマルション液滴の粒子径は、ホモジナイザーによる機械的攪拌のみにより制御されることが報告されており、本研究においても polyethylene glycol (PEG20), polyvinyl pyrrolidone (PVP35), dextran (DX38) などの溶質の場合、直径 3.5  $\mu\text{m}$  程度の粒子径が揃ったエマルションが得られた (化合物の略称の後の数字は分子量 (単位千) を示している。)。しかしながら、PVA22 水溶液で形成されたエマルションの場合、濃度の上昇とともに粒子径の大きなエマルションが作製される傾向が認められた (Figure 5-14)。一般に、体積  $V$  の液体を半径  $R$  の分散相にする際に必要な最小エネルギー  $\Delta G_{\text{em}}$  は、

$$\Delta G_{\text{em}} = \sigma \frac{3V}{R} \quad (5-20)$$

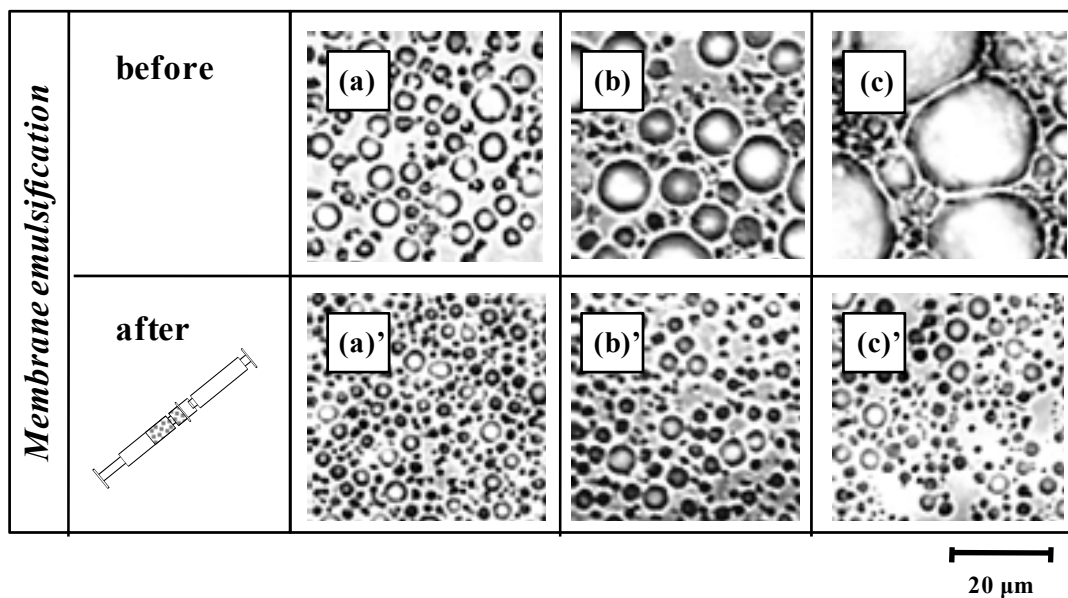
と書ける。ここで  $\sigma$  は液-液間の界面張力である。本研究ではすべて同一の界面活性剤を用いているため、 $\sigma$  に大きな相違はないと考えられる。しかし、(5-20)式は加えたエネルギーが全て液体を分散させるエネルギーに用いられた場合の最小エネルギーを示した式であり、機械的攪拌では多くのエネルギーは、熱や粘性消散により費やされることが知られている。<sup>[64]</sup> PVA 水溶液では同重量濃度の他のポリマー水溶液に比べて明らかに高い粘性が認められ、その結果粘性消散が増大することで、液滴の均質化にはさらに高エネルギーが必要と考えられた。そこで、ホモジナイズの回転数を上昇させることで、加えるエネルギーを増大させ、さらなる均質化を試みたが、装置限界の 16,000 rpm の回転数においても均質な液滴サイズのエマルションを得ることはできなかった。そこで、1.2 mmol / kg 以上の濃度における PVA 水溶液のエマルションの調製においては、機械的攪拌後さらに SPG 多孔質膜を用いた膜乳化を試みることにした。均一な細孔径を有する膜に分散相液体を通過させる膜乳化法は、エマルションの粒径制御を可能とする一つの技術として知られている。<sup>[63]</sup>

Figure 5-15 に膜乳化前後におけるエマルション液滴サイズの変化を示した。同じ濃度における膜乳化前後の (a), (a)', (b), (b)', (c), (c)' を比べてわかるように、膜乳化前は PVA 濃度の上昇に伴いエマルション液滴サイズは大きくなっていくことが観察されたが、膜乳化後にはそれぞれ同程度の均質なサイズへと粒子径が制御されたことが認められた。PVA 水溶液では濃度変化に伴い、他のポリマー水溶液とは異なる濃度上昇に伴う肥大化が観察されたが、SPG 膜を用いた膜乳化により均質な粒子径を有するエマルションを得ることができた。これにより、水溶液の核生成挙動を検討する上での(5-18)式に起因する問題は解消された。





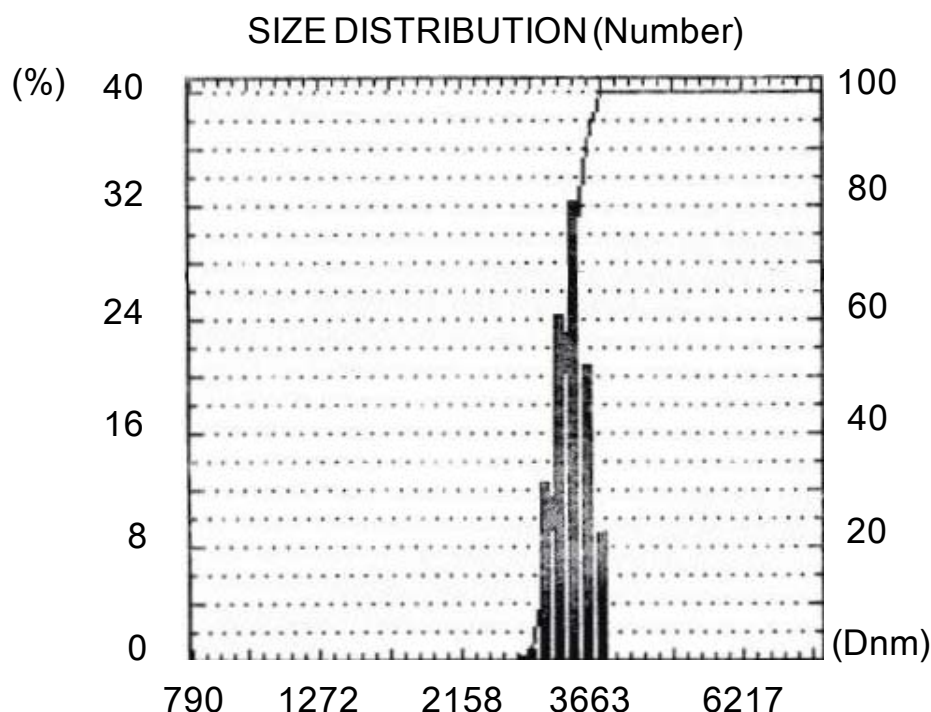
**Figure 5-14** PVA22 濃度の異なるホモジナイズ後のエマルジョン。(a)  $2.7 \times 10^{-2}$  mmol / kg。 (b)  $1.1 \times 10^{-1}$  mmol / kg。 (c)  $4.6 \times 10^{-1}$  mmol / kg。 (d) 1.2 mmol / kg。 (e) 5.1 mmol / kg。 (f) 8.0 mmol / kg。



**Figure 5-15** PVA 水溶液のエマルジョン。(before) ホモジナイズ後と(after) 膜乳化後の光学顕微鏡画像。(before) 膜乳化前: (a) 1.2 mmol / kg。 (b) 5.1 mmol / kg。 (c) 8.0 mmol / kg。(after) 膜乳化後: (a)' 1.2 mmol / kg。 (b)' 5.1 mmol / kg。 (c)' 8.0 mmol / kg。

なお、エマルション液滴の粒子サイズ確認のため、レーザー粒径解析システム PAR-III における DLS (動的光散乱) モードにより、種々のエマルションの平均粒子径分布測定を行った。エマルション濃度が高い場合、DLS 測定は行えなかったため 30 倍程度に希釈した溶液で測定した。

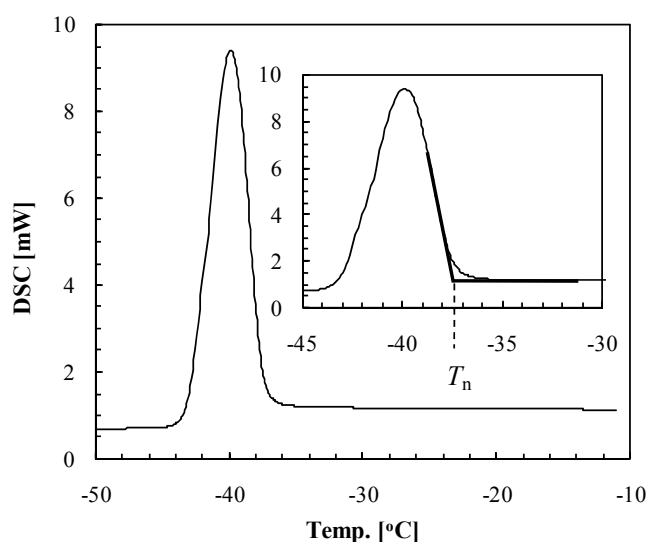
Figure 5-16 は PVA 1.2 mmol / kg 水溶液のエマルションを膜乳化により均質化した後の粒子径分布を示している。その結果、平均粒子径は 3.36  $\mu\text{m}$ 、かつ狭い粒子径分布で存在することが示された。これらの粒子径は溶質の種類、濃度により若干異なったが、溶媒 *n*-heptane を用いた場合、すべてにおいて 5  $\mu\text{m}$  以下の平均粒子径が得られた。



**Figure 5-16** DLS による PVA 1.2 mmol / kg 水溶液エマルションの粒子径分布測定。個数分布。平均粒子径 3.36 nm。ANLYSIS METHOD を AUTO 1 (修正 NNLS 法 : NNLS は散乱強度分布)で行った。**測定条件** : DLS では核生成温度の測定試料の原液の状態ではあまりに濃厚であり、測定は行えない。そのため、エマルションを 30 倍程度に希釈することが求められた。その際にしばしばエマルションは凝集化、破壊が生じやすく、スターラーによる攪拌はそれを助長し、数度の測定を行うことで再現性確認をした。

### 5-3-2 純水の核生成挙動

Figure 5-17 に示差走査熱量計 (DSC) により純水を用いて作製したエマルションを 5 °C/min で冷却した際の凍結挙動について示した。冷却過程において、発熱ピークが観察され、氷の結晶化が確認された。本研究では他の報告と同様、発熱直後の直線性の良い部分をベースラインまで外挿することで氷核生成温度 ( $T_n$ ) を得た。[14,33,34,36] その結果、-37.6 °C という値が得られ、これは直径約 3.5  $\mu\text{m}$  程度のエマルション液滴中における純水の均質核生成温度として報告されている-38 °C 付近と一致している。[14,30]



**Figure 5-17** 純水の氷核生成挙動についての DSC 測定。挿入図は-30 ~ -45 °C の温度範囲を拡大した図である。測定条件：6  $\mu\text{l}$  の試料を-5 °C/min で冷却。

### 5-3-3 種々のポリマー水溶液の核生成温度 ( $T_n$ ) 挙動

Figure 5-17 と同様にして得た PVA22, PEG20, PVP35, DX38 の 4 種のエマルション中のポリマー水溶液における氷核生成温度 ( $T_n$ ) を、横軸をポリマー濃度として Figure 5-18 にプロットした。その結果、明らかに PVA22 と他の 3 種のポリマー水溶液とは異なる挙動を示すことが観察された。PEG20、PVP35、DX38 の場合、濃度の上昇に伴い、 $T_n$  は低下していく挙動を示したが、PVA22 を添加した系では、およそ 1.0 mol / kg までの間、濃度の対数に対して  $T_n$  は線形的に上昇していき、それはおよそ 1.0 ~ 2.0 mol / kg 程度において頭打ちとなった後、それ以上の濃度では低下していく挙動を示した。PVA22 水溶液では、全濃度範囲において純水の  $T_n$  よりも高い温度であるため、不均質核生成が支配的であると考えられた。

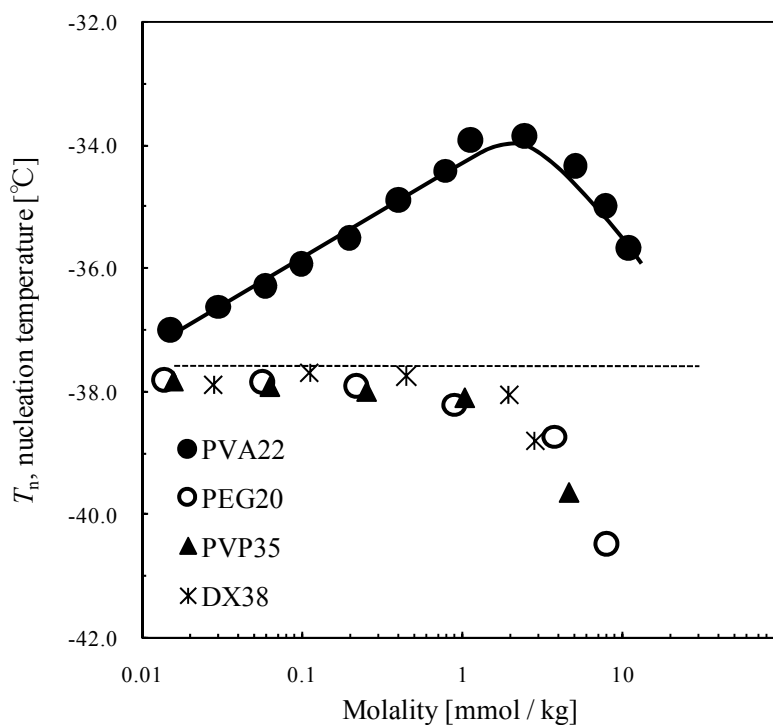


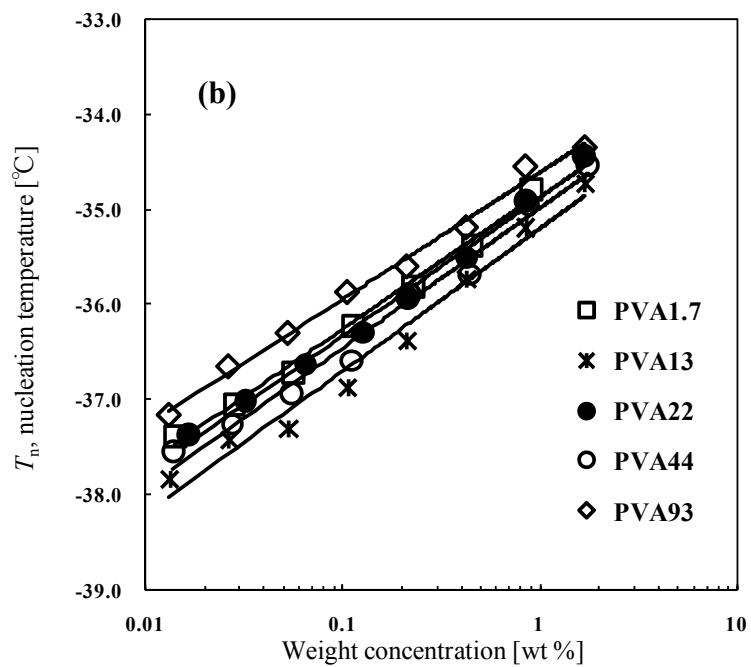
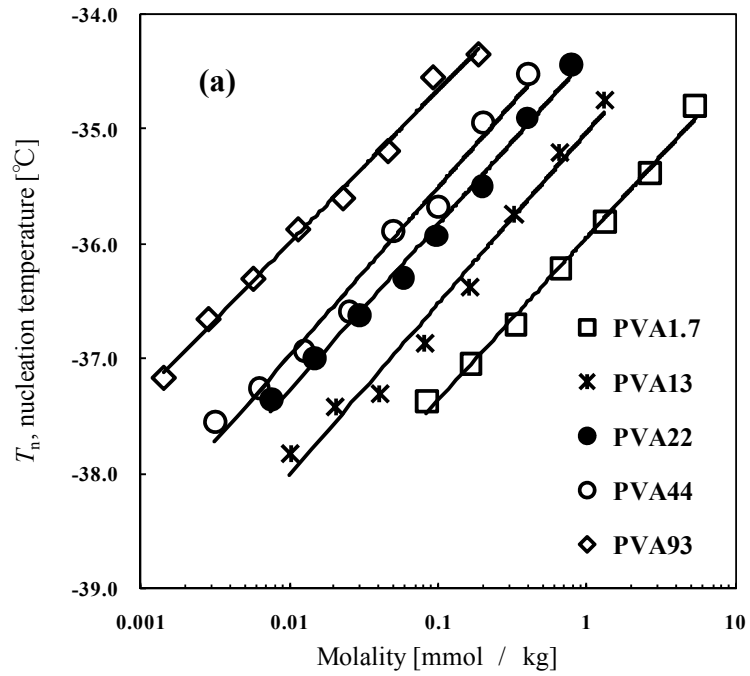
Figure 5-18 4種のポリマーの  $T_n$  に与える影響。点線は純水の  $T_n$  を示している。

#### 5-3-4 PVA 水溶液の核生成挙動に与える分子量効果の検討

PVA 水溶液で見られた濃度変化に伴う特異な核生成挙動に対し、PVA の分子量がどのような影響を与えるかについて、異なる PVA 分子量を用いて検討した。

Figure 5-19 (a)は PVA 水溶液の重量モル濃度 [mmol / kg] の対数と  $T_n$  の関係を示している。それぞれの分子量の PVA では、 $T_n$  は重量モル濃度の対数の変化に対して線形的に上昇することが認められた。その際、高分子量の PVA の方が低分子量の PVA よりも同濃度においては、顕著に高い  $T_n$  上昇をもたらした。

その一方で、 $T_n$  に対し、それぞれの重量 wt% を横軸としてプロットしたとき、同 wt% 濃度においてそれぞれの相違はそれほど認められなかった。また、分子量の大小による傾向とは一致せず、さらに、Table 5-1 で示したケン化度の大小とも傾向は異なった。それぞれの商品は異なる製造元由来であることから、PVA の純度において若干相違が存在し、結果相違が観察されたと考えられた。この Figure 5-19 (b)の結果より低濃度領域において見られる  $T_n$  の上昇は PVA の分子量ではなく、PVA の重量 wt% に強く影響を受けることが示され、これより  $T_n$  の上昇において高分子効果は認められないことが明らかとなった。



**Figure 5-19** 異なる分子量を有する PVA の  $T_n$  への影響。(a) 重量モル濃度の対数と  $T_n$  の関係。(b) 重量 wt % の対数と  $T_n$  の関係。

### 5-3-5 Bigg の経験式を用いた PVA 水溶液における $T_n$ 上昇挙動の検討

Kanno らは溶質分子中の OH 基の数がメタノール, エチレングリコール, グリセロール, 糖質と多くなるにつれて、より低い核生成温度を示すことを報告した。<sup>[31, 32]</sup> それは、Figure 5-19 で見られる同じく OH 基を有する PVA の効果に対するものと、一見逆の挙動と捉えられる。しかしながら、Kanno らの報告における OH 基の数の増加に伴い核生成温度が低下していく挙動は、モル濃度に対して線形的な挙動を示すものであり、本研究における対数濃度に対しての線形的な  $T_n$  の上昇挙動とは根本的に異なっている。そのため、PVA 水溶液で見られた特異な挙動は Kanno らの結果と矛盾するものではない。

他方で氷核形成促進剤としての機能を示す *Pseudomonas syringae* が含まれた水溶液では、*Pseudomonas syringae* の氷核生成タンパクの単量体分子量の増大に伴い、 $T_n$  が対数的に上昇していく挙動が観察されており、それは Figure 5-19 と類似な挙動といえる。<sup>[19]</sup> それより、Figure 5-19 のような濃度の対数変化に対し線形的な  $T_n$  上昇が観察される挙動は、不均質核生成系において共通して観察される挙動と考えられた。

ここで、先に示した(5-18)式と(5-15)式を用いて PVA による  $T_n$  上昇挙動について検討する (両式は以下に再掲載している)。まず、Bigg が報告した核生成温度への体積依存挙動を示す(5-18)式では<sup>[13]</sup>、体積  $V$  の対数に対し、核生成温度は線形的に変化することを示している。

$$\ln(1/V) = aT + b \quad (5-18)$$

また、異物粒子が存在しない液滴中における氷核生成頻度は、(5-15)式より体積依存核生成と界面依存核生成の二つに分配される。

$$J = J_V V + J_S S \quad (5-15)$$

ここで、氷核形成促進剤として働く PVA の氷核生成サイトの全面積を  $S_P$ 、その単位面積当たりの氷核生成頻度を  $J_P$  とすると、液滴中の PVA 水溶液における氷核生成頻度は、

$$J = J_V V + J_S S + J_P S_P \quad (5-21)$$

となる。ところで、 $S_P$  は PVA 同士が互いに重なりあわない濃度領域では、PVA 含量に比例すると考えられるため、 $S_P$  は濃度  $c$  [wt %] に比例することとなり、

$$J_P S_P = J_{P-wt} c V \quad (5-22)$$

と変換できると考えられる。ここで  $J_{P-wt}$  は単位体積当たり 1 wt% の PVA が示す氷核生成頻度とした。これを(5-21)式に代入すると(5-23)式が得られる。

$$J = J_V V + J_{P-wt} c V + J_S S \quad (5-23)$$

ここで、PVA は非常に低濃度の場合、液滴の性質に大きく影響を与えないと仮定すると  $J_V$  と  $J_S$  は定数  $J_{\text{const}}$  に置き換えられ、(5-24)式が得られる。

$$J = J_{p\text{-wt}} c V + J_{\text{const}} \quad (5-24)$$

濃度  $c$  の上昇は、単位体積当たりの氷核生成頻度を  $c$  倍させることとなるが、単位体積当たりの氷核生成頻度  $J_{p\text{-wt}}$  に対しては、濃度変化は体積  $V$  を  $c$  倍させることに置き換えることができる ( $ab \times c = a \times bc$ )。すなわち、PVA 濃度  $c$  において(5-18)式は

$$\ln\left(\frac{1}{V_c}\right) = \ln\left(\frac{1}{cV}\right) = \ln\left(\frac{1}{c}\right) + \ln\left(\frac{1}{V}\right) = aT + b \quad (5-25)$$

となり、本研究において  $V$  は定数であるため  $b - \ln(1/V) = b'$  とすれば、

$$\ln\left(\frac{1}{c}\right) = aT + b' \quad (5-26)$$

と置き換えることができる。(5-26)式は PVA 濃度の対数に対し、氷核生成温度が線形的に上昇していくことを指し示しており、それは Figure 5-19 の結果と一致する。このように、Bigg の経験式、液滴の体積一定の条件下、さらに溶質が非常に低濃度な溶液では純水と性質が変わらないという仮定を用いることで、氷核形成促進剤の対数変化に対し  $T_n$  が線形的に上昇していく関係式が導出された。

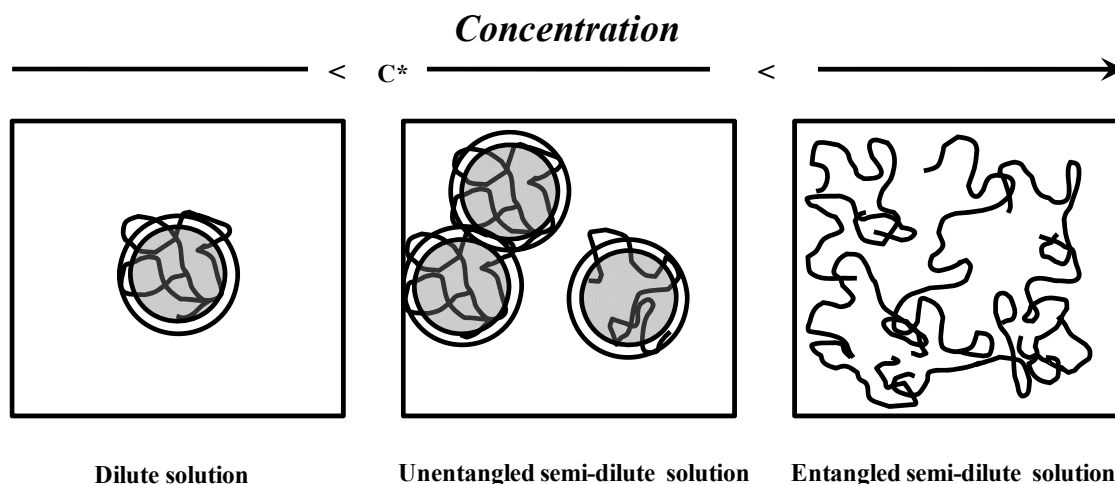
なお、(5-22)式から  $cV = (J_p \times S_p) / J_{p\text{-wt}}$  であり、体積が一定ならば、 $J_p / J_{p\text{-wt}}$  は  $S$  と  $V$  の間を取り持つ定数であるため(5-26)式は、

$$\ln\left(\frac{1}{S}\right) = aT + d' \quad (5-27)$$

へと書きかえられ、これは、体積一定下の容器中において、存在する氷核形成促進剤が同種（同一の不均質核生成頻度を有する）ならば、 $T_n$  はその表面積の対数に対して線形の関係を示すことを意味している。2001年に行われた Okawa らの、AgI の総面積を算出した上での  $T_n$  測定では、表面積の対数の上昇に対し  $T_n$  は線形的に上昇していくことが示されており、(5-27)式が成立することが認められている。<sup>[65]</sup> しかし、(5-18)式から(5-27)式が導出されたことからみてわかるように、本質的には Bigg の経験式と違いはないと考えられる。

ところで、PVA 自体が氷核形成促進剤として働いていると考えるとき、PVA 分子は分子間の相互作用が開始することにより、その氷核形成促進剤としての効果は減少すると考えられる。Figure 5-18 の PVA22 水溶液では、1.0 mol / kg 付近において  $T_n$  上昇は頭打ちしており、その原因の一つに PVA 分子同士の分子間相互作用が考えられた。そこで、PVA の重なり合い濃度  $C^*$  を、粘度測定により決定し検討することとした。<sup>[66, 67]</sup>  $C^*$  とは、高分子（高分子鎖）同士が互いに接触し始める濃度と定義され、 $C^*$  以下では個々の分子が多量の水を包含した糸毬状態で水中に分散して存在していると考えられる（Figure 5-20）。 $C^*$  以上では、ポ

リマーのコイル同士が接触することで、濃度上昇に伴う溶液の粘度変化に対し異なる挙動が観察されはじめるため、粘度測定から  $C^*$  が決定される。その手法を以下に示す。



**Figure 5-20** 重なりあい濃度  $C^*$  前後での水溶液中のポリマー状態。

溶媒の粘度を  $\eta_0$ 、それに対する溶液の相対粘度を  $\eta_{rel}$  とすると、実際の粘度  $\eta$  を用いることで、(5-28)式が書ける。

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_0} \quad (5-28)$$

そして、相対粘度は溶媒の粘度よりも大きいため、溶液と溶媒の粘度の差、比粘度  $\eta_{sp}$  は、

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 \quad (5-29)$$

となる。この比粘度を濃度 0 へと外挿した値は固有粘度  $[\eta]$  (intrinsic viscosity) と定義され、それは濃度変化における分子の広がりを示すパラメーターに相当する。定義より  $[\eta]$  は (5-30)式で得られる。

$$\left[ \frac{\eta_{sp}}{c} \right]_{c=0} = [\eta] \quad (5-30)$$

希薄溶液では  $\ln [1 + x] = x - x^2/2$  であるから(5-31)の近似式が書け、それより、(5-32)式が得られる。

$$\ln \eta_{rel} = \ln(\eta_{sp} + 1) = \eta_{sp} - \frac{\eta_{sp}^2}{2} + \dots \quad (5-31)$$

$$\left[ \frac{\ln(\eta_{rel})}{c} \right]_{c=0} = [\eta] \quad (5-32)$$



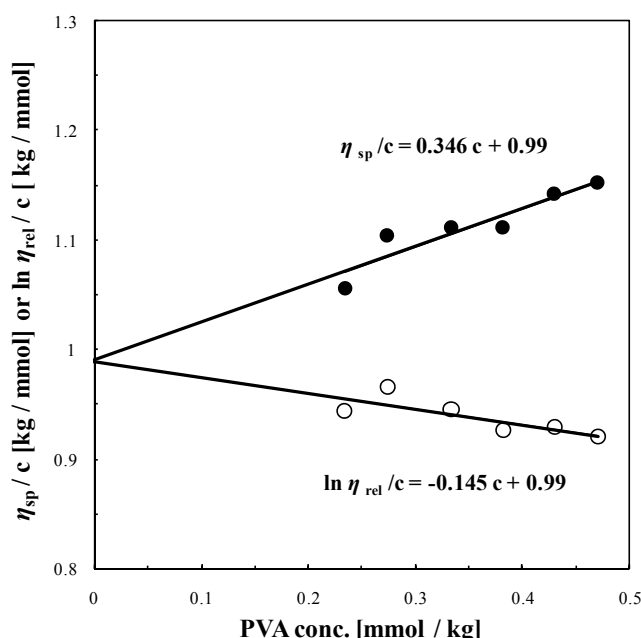
ここで、相対粘度の対数を濃度で除した値( $\ln \eta_{rel} / c$ )はインヘレント粘度と呼ばれる。(5-30)と(5-32)より、比粘度とインヘレント粘度は、濃度をゼロに近づけることで $[\eta]$ へと外挿されることを示している。

Figure 5-21 に PVA22 水溶液の固有粘度測定の結果を示した。それぞれの直線の傾きの差は  $0.35 - (-0.15) = 0.50$  となり、典型的な高分子水溶液の挙動と一致した。 $[\eta]$ はそれぞれの切片に相当することから、 $0.99 \text{ [kg / mmol]}$ として得られた。古典的な手法では重なり合い濃度は、

$$C^* = [\eta]^{-1} \quad (5-33)$$

で求められ、本研究の PVA22 水溶液の  $C^*$ は  $1/[\eta] = 1/0.99 = 1.01 \text{ mmol/kg}$  と算出された。

Takigawa らは、DMSO 混入下ではあるが PVA 水溶液において、 $-40 \text{ }^\circ\text{C}$  までの  $C^*$ を求め、 $C^*$ に明確な濃度依存性は観察されなかったことを述べている。これより、本研究での PVA22 水溶液の  $C^*$ は常温であるが、低温下においても大きく変動しないことが予想される。Figure 5-18 において氷核生成温度  $T_n$ の頭打ちを示す濃度と比較した結果、それは  $C^*$ 付近の濃度と一致している。次節の 5-3-6 においてこの頭打ちには他の要因も考えられることを述べているが、この一致から、少なくとも  $C^*$ までは濃度の対数に対し線形的な挙動を示すであろうことは示され、 $C^*$ 以下にて PVA 分子がなんらかの形で氷核形成促進剤として作用していることが示された。



**Figure 5-21** PVA22 水溶液の固有粘度 $[\eta]$ の決定。測定条件 :  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  にて行った。測定は同一試料について 4 回行った。

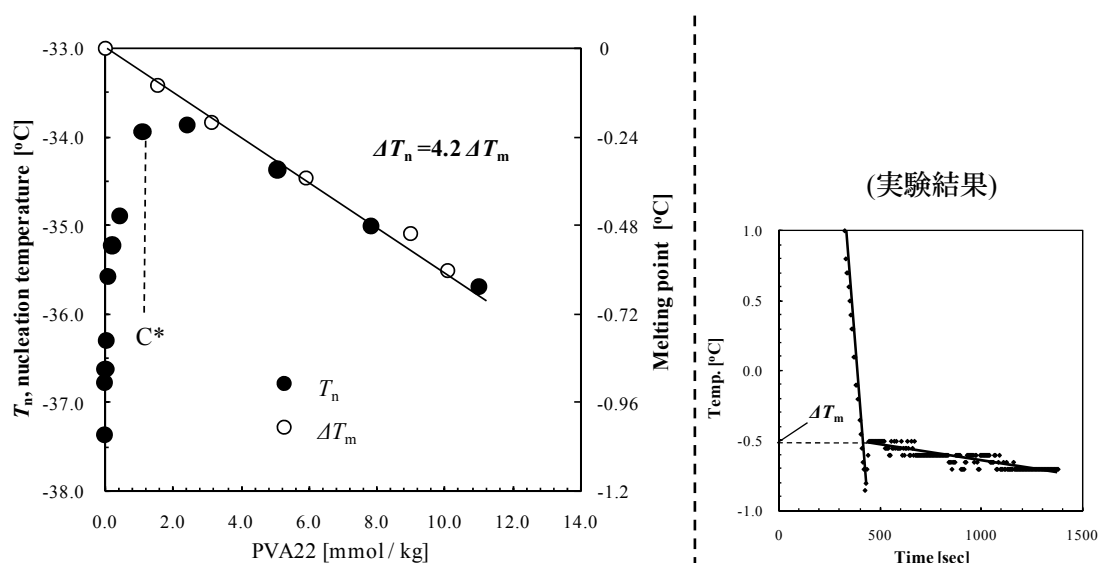
### 5-3-6 氷核生成温度 $T_n$ と凝固点降下 $\Delta T_m$ の関係

5-1-6 で述べたように、多くの溶質の水溶液系において、平衡凝固点降下  $\Delta T_m$  と氷核生成温度  $T_n$  の間に(5-19)式が成り立つことが報告されている（下記再掲載）。<sup>[14]</sup>

$$\Delta T_n = k \Delta T_m \quad (5-19)$$

$\Delta T_n$  は純水の核生成温度（-37.6 °C）から水溶液の核生成温度を引いた値である。この(5-19)式は均質核生成系のみならず、不均質核生成系においても成り立つことがしばしば認められているため、PVA 水溶液においても考慮すべき要項であると考えられた。Figure 5-22 に PVA22 水溶液における  $T_n$  と  $\Delta T_m$  の関係を示した。

Figure 5-22 から PVA22 水溶液では、3.0 mmol / kg 以上において濃度変化に伴う  $T_n$  の減少度  $\Delta T_n$  は  $\Delta T_m$  の値を 4.2 倍としたとき良く成立することが認められた。この関係性が得られたことから、 $C^*$ 以上の濃度における  $T_n$  の下降は、凝固点が低下することに大きく影響を受けていることが示された。



**Figure 5-22** (左) PVA22 水溶液の  $T_n$  と  $\Delta T_m$  の関係。(右) Moulin 法による  $\Delta T_m$  決定。熱捕捉測定による凝固点降下の決定：2 ml の試料溶液を加えた試験管を-20 °C の冷媒に浸し -0.7 °C/min 程度の速度で冷却し凍結させた。その際、温度勾配が生じないように攪拌により系内の温度を一定に保った。経時変化を確認し、Moulin 法により  $\Delta T_m$  を決定した。<sup>[68]</sup> 融解過程での測定では高濃度 PVA 水溶液中でゲル化が生じたため測定は適当ではない判断した。

### 5-3-7 PVA 水溶液において $T_n$ 上昇をもたらす原因について

最後に、PVA 水溶液において  $T_n$  上昇、すなわち不均質核生成が観察された理由について検討した。まず、PVA が W/O エマルション中で氷核形成促進剤として作用している原因は二つのケースが考えられる。一つは、W/O エマルションの Span 65 の界面に吸着することで、(5-15)式の界面依存核生成の項を上昇させる作用を示す場合である。そして、もう一つが AgI や *Pseudomonas syringae* のような異物質表面で見られる効果を PVA 分子が示している場合である。

まず、界面依存核生成項への影響を与える場合、PVA が他のポリマーに比べて界面張力を大きく低下させることが考えられる。PVA はそのケン化度が低い場合、自身でエマルションを形成することが知られている。<sup>[69]</sup> しかしながら、本研究で使用した PVA は完全ケン化型に近い PVA であり、そのようなケン化度の高い PVA は paraffin の界面張力をあまり低下させないことが示されている。<sup>[70]</sup> また、もし仮に Span 65 への界面吸着が原因とするならば、Table 5-1 に見られるわずかなケン化度の相違が影響を与えると考えられるが、Figure 5-19 を見る限りにおいてそのような傾向は観察されなかった。これらの理由から、本研究において PVA は界面依存核生成に対し他のポリマーと同様、大きな影響を与えていないと考えられる。

他方で、PVA 分子が不均質核生成を生じる場合、PVA が異物質粒子として溶液中に存在し、それが氷核生成を促進することになる。仮に、PVA が低温において溶解度が低下し、不溶物が析出した場合、PVA は異物質となり得るが、Figure 5-18 (b)から明らかなように、 $T_n$  上昇は 0.01 wt%程度から開始することとなり、それはあまりにも溶解度が低すぎる事となる。もし、そのような溶解度を示すものならば、他の研究者らにより既に報告はなされていると推察される。そのため、この考えは現実的ではない。

それよりも 5-1-8 で述べたように PVA は他の汎用ポリマーと異なり、水溶液中において容易に物理架橋による水ゲルを形成する化合物として知られており、それこそが他のポリマーと区別される特徴と考えられた。しかしながら、carboxymethylcellulose も水溶液中で水ゲルを形成する代表的な化合物であるが、carboxymethylcellulose 水溶液中での水ゲルの形成は、 $T_n$  をゲル形成前（ゾル：溶液）に比べ僅かに減少させ、また熟成させることにより粘性を増大させた場合も、熟成させる前に比べ  $T_n$  を減少させるといった挙動が Blond らにより報告されている（Blond らの報告はエマルションではなく、バルクの溶液を用いて検討している）。<sup>[59]</sup> この carboxymethylcellulose 水溶液における氷核生成挙動を参考とするならば、PVA 水溶液の高粘度特性、また良く知られる水ゲル化は  $T_n$  の上昇における直接的な原因とはならず、逆に  $T_n$  減少をもたらす作用を示す事となる。さらに、carboxymethylcellulose 水溶液において、ゲル化は  $T_n$  上昇をもたらさなかった一方で、ゲルおよびゾルの状態は、純水の  $T_n$  より顕著に高い温度を示していた。これは、水ゲル化や粘性の増加をもたらす分子間相互作用は、氷核形成促進剤としての特性を軽減さ

せており、一見透明に見られるゾル中において不均質核生成を生じる原因があることを示唆している。

本研究では  $T_n$  上昇領域ははるかに  $C^*$  以下の濃度から開始しており、常温では高分子鎖同士は相互作用を生じていないと考えられる (Figure 5-20)。氷点下以下におけるゾル-ゲル転移については Ohkura らにより DMSO/水混合系において温度依存性が調べられており、 $0\text{ }^\circ\text{C}$  以下における最小ゲル化濃度はまったく変化しなかったことが報告されている。<sup>[71]</sup> この事実は、 $C^*$  以下では氷核生成が開始するまでの間、少なくともハイドロゲル化は生じることは起こり得ないことを示唆するものといえる。本研究においても、PVA 水溶液の調製のさいには、 $0.20\text{ }\mu\text{m}$  のフィルターを通過させ、ハイドロゲルの有無について検討したが、このフィルター通過は PVA 水溶液の  $T_n$  上昇挙動に特別な相違を与えなかった。以上の検討より、PVA 水溶液の  $T_n$  上昇挙動においてハイドロゲル形成は関係していないと考えた。

庄らはサイズ排除クロマトグラフィー多角度光散乱 (SEC-MALS) 法により、 $C^*$  以下の完全ケン化型の PVA (MW: 94,000) が、 $10\text{ }^\circ\text{C}$  において  $30\text{ nm}$  程度の会合体を形成していることを報告している。<sup>[72]</sup> すなわち、PVA 分子は分子内において強固な水素結合を形成し、 $C^*$  以下であっても直径数  $10\text{ nm}$  を超える会合体を形成している。分子間相互作用によるこの PVA の会合体はマイクロゲルと呼ばれる。<sup>[67]\*</sup> 5-1-3 で述べたように効果的な不均質核生成においては少なくとも半径  $10\text{ nm}$  以上の粒子サイズが必要と考えられているが<sup>[3]</sup>、このマイクロゲルのサイズはそれに相当している。これより、著者は PVA 水溶液にみられた  $T_n$  上昇挙動は、溶液中で存在するこのマイクロゲルにより生じているであろうと推察した。

---

\*一般に、マイクロゲルは内部架橋された高分子微粒子をいい、狭義には  $100\text{ nm}$  以下の超微粒子と定義される。

## 5-4 結論

エマルション中の種々のポリマー水溶液の氷核生成挙動についてDSCを用いて調査した。その結果、PEG20, PVP35, DX38 などの高分子では、濃度の増加とともに  $T_n$  は下降を示したが、PVA22 の場合においてのみ、低濃度領域で  $T_n$  が上昇していく挙動が認められた。その際、 $T_n$  上昇は PVA22 の濃度の対数に対し、線形的な上昇挙動を示した。また、PVA22 水溶液では、1.0 ~ 2.0 wt% 程度において  $T_n$  上昇の頭打ちが認められ、それ以上の濃度において  $T_n$  は下降する挙動を示した。

この  $T_n$  上昇挙動について検討を行うため、異なる分子量の PVA を用いて検討した結果、分子量の影響は小さいことが認められた。それより、PVA 水溶液で見られる  $T_n$  上昇において高分子効果は認められないことが示された。また、PVA 分子を異物質とした場合、PVA 水溶液における  $T_n$  上昇挙動は Bigg の経験式に従うことが認められた。

PVA22 水溶液の 1.0 wt % は  $C^*$  に相当したことから、それ以上の濃度で見られる  $T_n$  下降挙動は高分子鎖の重なり合いに起因すると当初考えられた。しかし、その後の  $T_n$  下降挙動は  $\Delta T_n = k \Delta T_m$  の Rasmussen らの経験式において定数  $k = 4.2$  とすることで成立したことから  $\Delta T_m$  降下が最も大きな原因と考えられた。

最後に PVA 水溶液における  $T_n$  上昇効果の原因について検討し、 $T_n$  上昇効果は  $C^*$  よりもはるかに低濃度で認められていることから、PVA の特性として良く知られるハイドロゲルが原因ではなく、近年報告されているマイクロゲルの存在によるものであると考えられた。

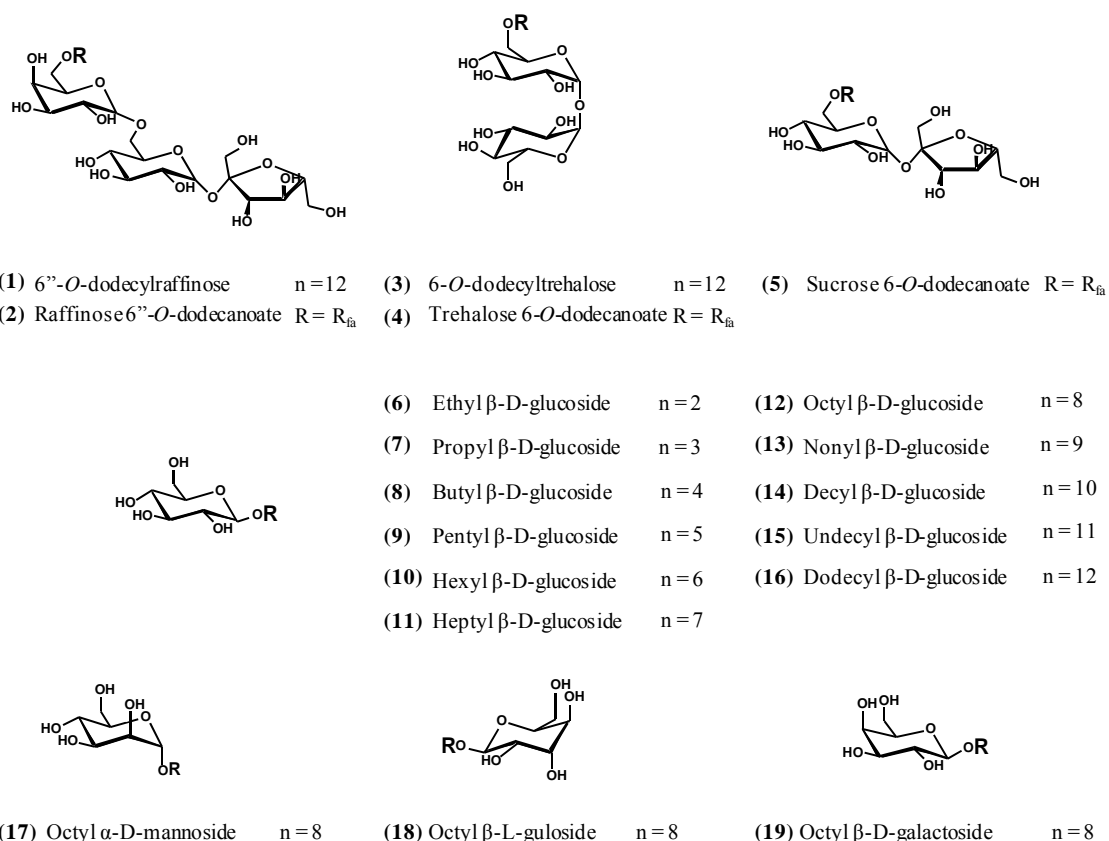


# 第6章

## 種々の糖質系界面活性剤の合成

### 6-1 緒言

本研究において使用した糖質系界面活性剤は市販品とみずから合成したものがある。そして、合成品の中には、文献に従い、それに準じて行ったものも多々存在する。ここでは新規に確立した、または既知の方法と一部異なる手法を用いて合成した化合物を以下に記載した。合成した化合物の構造と名称を Figure 6-1 に示す。



R<sub>fa</sub>: C<sub>11</sub>H<sub>23</sub>CO-

R<sub>n</sub>: CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n-1</sub>-      n = 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12

Figure 6-1 本研究で合成された化合物一覧。

## 6-2 試薬・機器

### 6-2-1 試薬

Table 6-1 試薬一覧 (50 音順)

試薬名	略称	備考
イオン交換樹脂 [H+型] DOWEX 50WX4-100	—	The Dow Chemical Company。
塩化クロリド	TrCl	Merck & Co., Inc.。
塩酸-メタノール試薬 10	—	東京化成工業株式会社。
1-臭化ドデシル	DoBr	和光純薬工業株式会社。
臭化ベンジル	BnBr	和光純薬工業株式会社。
L-グルコース	—	東京化成株式会社。
水素化ナトリウム 油性 Assay 50 ~ 72 %	NaH	関東化学株式会社。
テトラ- <i>n</i> -ブチルアンモニ ウムヨージド	TBAI	東京化成株式会社。
パラジウム 10 wt% / 炭素上 (wetted with ca. 55 % water)	Pd / C	Sigma-Aldrich。
ポロントリフルオライドジエ チルエーテレイト	—	Sigma-Aldrich。
ラウリン酸ビニル	—	東京化成株式会社。
$\beta$ -Glucosidase	—	東京化成株式会社。Lot. T4CGN。
Novozym 435, Immobilized lipase from <i>Candida antarctica</i>	—	Novozymes Japan。Lot. LC200221。
ビオプラーゼ SP-10	—	ナガセケムテックス株式会社。Lot. 2735199。
リパーゼ PS IM アマノ けいそう土固定化	—	和光純薬工業株式会社。Lot. ALJ0767。
Lypozyme TL IM	—	Novozymes Japan。

### 6-2-2 機器

Table 6-2 機器一覧

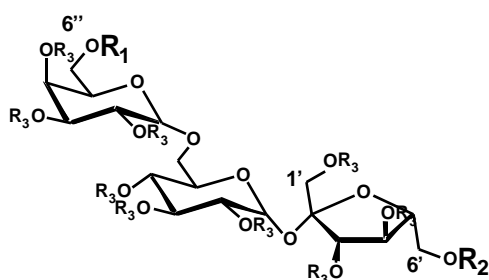
機器名	装置名	製作会社
LSI-RI Detector	RI-98	ラボシステム機器
MALDI-TOF MS	—	Ultraflex Bruker Instruments Inc.
NMR	MVX-300	VARIAN Inc.



## 6-3 非還元性オリゴ糖を親水部とする両親媒性化合物の合成

### 6-3-1 Raffinose 誘導体の合成

#### 6-3-1-1 6''-O-dodecylraffinose(1)の合成



(20) : R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H (Raffinose)

(21a) : R<sub>1</sub> = Tr, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H

(21b) : R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = Tr, R<sub>3</sub> = H

(22) : R<sub>1</sub> = Tr, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = Bn

(23) : R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = Bn

(1) : R<sub>1</sub> = (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H

**Scheme 6-1** 6''-O-dodecylraffinose の合成。(21) : (i) TrCl / pyridine, (22) : (ii) NaH, BnBr, TBAI / DMF, (23) : (iii) HCl in MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, (24) : (iv) NaH, DoBr / THF, (v) H<sub>2</sub>, 10 wt% Pd/C / EtOH, THF.

#### 6-3-1-1-1 6''-O-tritylraffinose(21a), 6'-O-tritylraffinose(21b)<sup>[1]</sup>

減圧下、80 から 110 °C へ徐々に加温していくことで乾燥させたラフィノース (20) 10.00 g (19.8 mmol) を蒸留ピリジン 120 ml にて 70 °C で溶解させた後、氷浴下で TrCl 5.61 g (20.1 mmol) を少しずつ加えることで反応を開始した。反応は TrCl 添加終了後、常温にて 21 h、攪拌して行った。

少量の水を加えることで反応を停止させ、およそのピリジンと少量の水を留去後、トルエンを加えピリジンを共沸により除去し、さらに 60 °C で減圧させることでピリジンを完全に留去した。得られた固形物に純水 60 ml を加え、70 °C まで加温し、さらに最小量の水にて溶解させた後、一晚室温にて静置した。吸引ろ過により不溶物を得、加温、減圧下にて乾燥した。ジエチルエーテルで洗浄を 2 回行い、不溶物を得、乾燥することで 8.94 g の粗生成物を得た。これを アセトン/クロロホルム/メタノール/水 (4:9:4:1 [v/v]) の展開溶媒によりシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことで、同展開溶媒で R<sub>f</sub> = 0.40 および 0.31 を示す 4.1 g (5.48 mmol) の化合物(21a)と 1.14 g (1.52 mmol) の化合物(21b)をそれぞれ分取した。\*化合物の構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR, HPLC, TLC、さらに全アセチル化した後の <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR を文献と対比することにより確認した。<sup>[1]</sup>

収率 : (21a) 27.7 % (Ref [1] : 9.4 %), (21b) 7.7 % (Ref [1] : 1.7 %)

(21a) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD); δ (ppm) = 3.3-4.2 (m, 19H, H-2, 3, 4, 5, 6, 1', 2', 3', 4', 5', 6', 2'',

\*文献に比べ、目的物を得るまでの日数の短縮と、収率の大幅な向上を達成した。

3", 4", 5", 6"), 5.0 (d, 1H, H-1"), 5.4 (d, 1H, H-1), 7.2-7.5 (m, 15H, 3 × Ph).

(21b) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD); δ(ppm) = 3.3-4.2 (m, 19H, H-2, 3, 4, 5, 6, 1', 2', 3', 4', 5', 6', 2", 3", 4", 5", 6"), 4.75 (d, 1H, H-1"), 5.4 (d, 1H, H-1), 7.2-7.5 (m, 15H, 3 × Ph).

HPLC 条件は以下の通りである。カラム : Inertsil NH<sub>2</sub> (ジーエルサイエンス株式会社), 流速 : 1.0 ml / min, 温度 : 40 °C, 検出器 : RI, 溶離液 : アセトニトリル / H<sub>2</sub>O = 80 / 20 [v / v]を使用し、それぞれの化合物が単一ピークであることを確認した。

#### 6-3-1-1-2 1', 2, 2", 3, 3', 3", 4, 4', 4", 6'-deca-*O*-benzyl-6"-*O*-tritylraffinose(22)

水素化ナトリウム 1.07 g (26.6 mmol)を加えアルゴン置換したセプタムによる密閉容器に、0.99 g (1.33mmol) の化合物 21a を完全に溶解した蒸留 DMF 40 ml 溶液を、セプタムを通して注入し、アルコール化を開始した。室温下 2 h 攪拌した後、臭化ベンジル 3.09 ml (26.6 mmol)と TBAI 0.200 g (0.541 mmol)を加え 80 °C に加温した。反応開始から 40 min 程で濃黄色の溶液となり、さらに 1 h 後油浴温度を 50 °C まで下げた。同温度にて 2 日間反応後、氷冷下で少量の水を加え反応を終了した。

トルエンとの共沸により DMF を加温下減圧濃縮することで完全に留去した。得られた残渣を酢酸エチル 80 ml / 水 (20,40,40) ml で分液処理し、酢酸エチル相を取り、硫酸ナトリウム (無水) を加え乾燥した。ろ別後、溶液を濃縮、乾燥することで無定形物 3.50 g を得た。それを酢酸エチル / ヘキサン (1 : 4) を展開溶媒としてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することで、酢酸エチル / ヘキサン (1 : 2) で R<sub>f</sub> 値 0.75 付近の濃いブロット部分を分取することで 1.86 g の化合物(22)をガラス状物質として得た。化合物の構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR と TLC により確認した。

収率 : (22) 84.9 %

(22) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>Cl); δ (ppm) = 3.0-4.1 (m, 19H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6, 1', 1', 2', 3', 4', 5', 6', 6', 2", 3", 4", 5", 6"), 4.2-4.8 (m, 20H, 10 × -CH<sub>2</sub>-Ph), 5.0 (d, 1H, 1"), 5.4 (d, 1H, 1), 7.0-7.4 (m, 65H, 13 × Ph).

#### 6-3-1-1-3 1', 2, 2", 3, 3', 3", 4, 4', 4", 6'-deca-*O*-benzylraffinose(23)

1.83 g (1.11 mmol) の化合物(22)を、蒸留塩化メチレン 24 ml に完全に溶解し、その後、2.0 ml の HCl-メタノール (市販の塩酸-メタノール試薬 10 を蒸留-MeOH にて 5 倍希釈した) を加え、窒素雰囲気下、常温にて 4 h スターラーで攪拌した。

反応終了後、クロロホルムで希釈した後、飽和食塩水と飽和炭酸ナトリウム水溶液で洗浄し、クロロホルム相を硫酸ナトリウム (無水) で乾燥した。ろ別後、溶液を減圧濃縮し、

残渣を酢酸エチル / ヘキサン (1 : 2) によりシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することで、 $R_f$  値 0.30 付近に位置する目的物(23)を 1.42 g (1.00 mmol)のガラス状物質として得た。化合物の構造および純度は  $^1\text{H-NMR}$  と TLC により確認した。

収率 : (23) 90.1 %

(23) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{Cl}$ ) = 3.0-4.1 (19H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6, 1', 2', 3', 4', 5', 6', 6', 2'', 3'', 4'', 5'', 6'', 6''), 4.2-4.8 (m, 20H,  $10 \times -\text{CH}_2-\text{Ph}$ ), 5.0 (d, 1H, H-1''), 5.4 (d, 1H, H-1), 7.0-7.4 (m, 50H,  $10 \times \text{Ph}$ ).

#### 6-3-1-1-4 6''-*O*-dodecylraffinose (1)

化合物(23) 4.4 g (3.15 mmol) を乾燥テトラヒドロフラン 44 ml に完全に溶解し、この溶液に 60 % NaH 1.26 g (31.5 mmol) を加えアルゴン雰囲気下とした反応容器に氷冷下、セブタムを通して注入した。室温にて 1 h 攪拌した後、乾燥テトラヒドロフランをさらに 44 ml と 1-臭化ドデシル 7.57 ml (31.5 mmol) を続けて注入した。2 h 還流下攪拌した後、少量の水を滴下することで反応を終了させ、加温、減圧濃縮により溶媒を留去した。残渣を水 / 酢酸エチルにて分液処理し、有機相を分取し、硫酸ナトリウム (無水) により乾燥を行った。ろ別後、溶液を加温下減圧濃縮した。

得られた残渣をエタノール / テトラヒドロフラン (= 3 : 1) の混合溶媒 147 ml に溶解させ、常圧の水素雰囲気下 10 wt% Pd/C 1.23 g の触媒と混合攪拌することで接触還元を行った。5 h 反応を行った後、エタノールにより希釈した後、セライトを通じろ過することで、溶液を得、加温下減圧濃縮した。得られた残渣 9.4 g をアセトン / クロロホルム / メタノール / 水 (4 : 9 : 4 : 1 [v/v]) の展開溶媒によりシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことで、目的化合物(1)を 1.48 g (2.20 mmol)得た。化合物の構造および純度は  $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、HPLC、TLC、元素分析によって同定した。

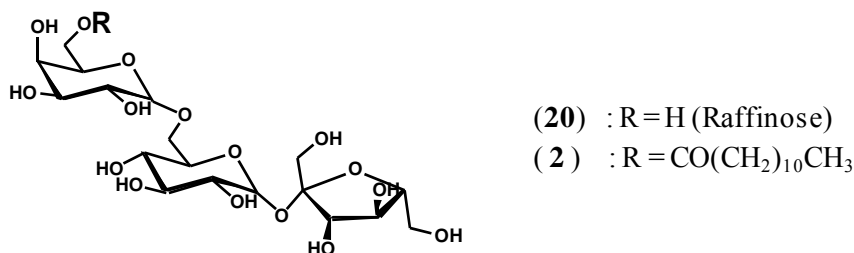
収率 : (1) 70.0 %

(1) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) = 0.90 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.30 (m, 18H,  $9 \times -\text{CH}_2\text{-chain}$ ), 1.6 (m, 2H,  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 3.3-4.2 (m, 21H, 2, 3, 4, 5, 6, 1', 2', 3', 4', 5', 6', 2'', 3'', 4'', 5'', 6'', d), 5.0 (d, 1H, H-1''), 5.4 (d, 1H, H-1).  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 104.6, 100.2, 93.4, 83.5, 79.0, 75.2, 74.3, 73.2, 73.0, 72.6, 71.8, 71.3, 71.2, 71.1, 70.5, 70.3, 68.5, 64.1, 63.2, 33.1, 30.8, 30.6, 30.5, 27.2, 23.8, 14.5. M.p. ; 220 °C. Elemental analysis ; Calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{O}_{16}$  : C, 53.56; H, 8.39; Found : C, 53.28 ; H, 8.73. MALDI-TOF-MS ; Calcd  $[\text{M}+\text{Na}^+]$ : 695.4, Found : 695.07.

HPLC 条件は以下の通りである。カラム : Inertsil  $\text{NH}_2$  (ジーエルサイエンス株式会社) , 流速 : 1.0 ml / min, 温度 : 40 °C, 検出器 : RI, 溶離液 : アセトニトリル /  $\text{H}_2\text{O}$  = 80 / 20 [v /

v]を使用し、化合物が単一ピークであることを確認した。

### 6-3-1-2 Raffinose 6''-O-dodecanoate (2)の合成<sup>[2]</sup>



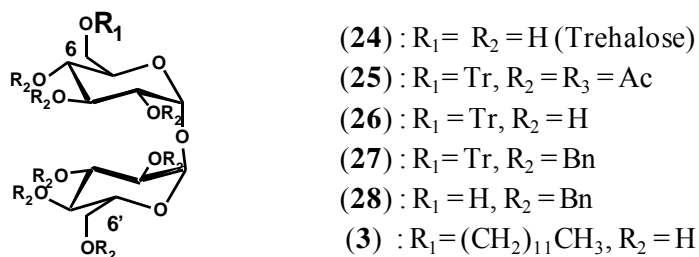
**Scheme 6-2** Raffinose 6''-O-dodecanoate (2) の合成。(2) : (i) Vinyl laurate, *T. Lanuginosus* lipase (Lipozyme TL IM) / pyridine, *tert*-butyl alcohol.

Morales らの方法により、目的の化合物(2)は良好な収率と純度で得られた。<sup>[3]</sup>

(2) : <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 0.90 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.30 (m, 16H, 8×-CH<sub>2</sub>-chain), 1.6 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 2.36 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-CO-) 3.3-4.2 (m, 19H, 2, 3, 4, 5, 6, 6', 1', 2', 3', 4', 5', 6', 6'', 3'', 4'', 5'', 6'', 6''), 4.98 (d, 1H, H-1''), 5.40 (d, 1H, H-1).

## 6-3-2 Trehalose 誘導体の合成

### 6-3-2-1 6-O-dodecyltrehalose(3)の合成



**Scheme 6-3** 6-O-dodecyltrehalose の合成。(25) : (i) TrCl / pyridine, (ii) Ac<sub>2</sub>O, (26) : (iii) NaOMe / MeOH, (27) : (iv) NaH, BnBr, TBAI / DMF, (28) : (v) HCl in MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, (3) : (vi) NaH, DoBr / THF, (vii) H<sub>2</sub>, 10 wt% Pd/C / EtOH, THF.

#### 6-3-2-1-1 2,2',3,3',4,4',6'-septa-*O*-acetyl-6-*O*-trityltrehalose (25)

3.92 g (10.3 mmol) のトレハロース二水和物(24)を蒸留ピリジン 40 ml に溶解し、TrCl を 9.54 g (34.2 mmol) を加えた後、90 °C にて 7 h 攪拌した。その後、氷浴中において無水酢酸 18.7 g (183 mmol)を加え、室温下スターラーで攪拌した。アセチル化が完全に終了したことを TLC により確認した後、氷浴下、メタノールを加えることで無水酢酸を分解した。ろ別により不溶物を除去した後、ろ液をトルエンとの共沸により減圧濃縮し、さらにクロロホルム / 水にて分液処理を行い、有機相を抽出し、硫酸ナトリウム (無水) を加え脱水した。ろ別により硫酸ナトリウムを除去し、ろ液を減圧濃縮することで得た残渣 10.9 g を酢酸エチル / ヘキサン (3 : 2)を展開溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することで化合物(25) 5.65 g (6.43 mmol) を得た。化合物の構造および純度は  $^1\text{H-NMR}$  と TLC により確認した。

収率 : (25) 62.4 % (Ref. [3] 47.3 %)†

(25) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{Cl}$ );  $\delta$  (ppm) = 1.75-2.13 (m, 21H, 7× OAc), 3.06 (m, 2H, H-6', 6'), 4.00-4.32 (m, 4H, H-5, 5', 6, 6'), 5.0-5.55 (m, 8H, H-1, 2, 3, 4, 1', 2', 3', 4'), 7.18-7.40 (m, 15H, 3× Ph).

#### 6-3-2-1-2 6-*O*-trityltrehalose(26)

0.330 g (0.38 mmol) の化合物(25)を乾燥テトラヒドロフラン 3 ml、蒸留メタノール 3 ml の混合溶媒に溶解させた後、0.91 M の NaOMe / MeOH 溶液を 0.3 ml 滴下し、室温にて攪拌した。1.5 h の後、DOWEX 50WX4-100 イオン交換樹脂 (H<sup>+</sup>型) を加え、pH 試験紙にて液性が pH 7 となったことを確認した後、ろ別により樹脂を除去し、ろ液を減圧濃縮することで化合物(26)を 0.222 g (0.38 mmol)得た。化合物の構造および純度は  $^1\text{H-NMR}$  と TLC により確認した。

収率 : (26) 100 %

(26) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ );  $\delta$  (ppm) = 1.80-4.20 (m, 12H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6', 2', 3', 4', 5', 6'), 5.20 (d, 1H, H-1'), 5.29 (d, 1H, H-1), 7.18-7.55 (m, 15H, 3 × Ph).

† Ref. [3]では乾燥 trehalose を反応に用いているが、乾燥トレハロースは蒸留ピリジンに溶解させるのは困難であった。トレハロースの不溶物が多い場合、二置換体を形成する傾向を示したため、本研究ではトレハロース二水和物の状態で使用し、ピリジン中へ溶解しやすくした状態で、TrCl を大過剰を加え反応させた。

#### 6-3-2-1-3 2,2',3,3',4,4',6'-septa-*O*-benzyl-6-*O*-trityltrehalose (27)

氷浴下アルゴン雰囲気下にて 6-*O*-trityltrehalose 1.37 g (2.35 mmol) を蒸留-DMF 37 ml に溶解し、NaH 0.84 g (21 mmol) が入っているナスフラスコ中にセプタムを通して注入した。常温においてスターラーで攪拌することで反応を開始した。2 h 後、臭化ベンジル 2.45 ml (21 mmol) を注入し、0.198 g の TBAI を加えた後、1 h の間 80 °C に昇温し攪拌した。その後、反応温度を 50 °C とし、攪拌を続けた。2 日後、氷冷下に、少量の水を加えることで反応を終了させた。

トルエンとの共沸により DMF を加温下減圧濃縮することで完全に留去した。得られた残渣を酢酸エチル 80 ml / 水 (20,40,40) ml で分液処理し、酢酸エチル相を抽出後、硫酸ナトリウム（無水）を加え脱水した。ろ別後、溶液を濃縮、乾燥することで無定形物 3.82 g を得た。それを酢酸エチル / ヘキサン (1:4) を展開溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することで化合物(27)を 2.54 g (2.09 mmol) で得た。化合物の構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR と TLC により確認した。

収率 : (27) 88.9 %

(27) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>Cl); δ (ppm) = 2.98-4.90 (m, 26H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6', 2', 3', 4', 5', 6', 6', 7 × -CH<sub>2</sub>-Ph), 5.22-5.25 (d, 1H, H-1), 5.26-5.34 (d, 1H, H-1'), 7.00-7.45 (m, 50H, 10 × Ph).

#### 6-3-2-1-4 2,2',3,3',4,4',6'-septa-*O*-benzyltrehalose (28)

化合物(27) 1.70 g (1.40 mmol) を蒸留塩化メチレン 25.5 ml に溶解させた後、1% 塩化水素-メタノール溶液を 2.15 ml 滴下した。TLC で反応を追跡し、2 h の後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、飽和食塩水と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液でそれぞれ分液処理し、有機相を抽出後、硫酸ナトリウム（無水）で乾燥した。ろ別後、減圧濃縮することで得た残渣 1.90 g を酢酸エチル / ヘキサン (1:2) を展開溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィー精製することで化合物(28)を 1.24 g (1.28 mmol) で得た。化合物の構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR と TLC により確認した。

収率 : (27) 91.0 %

(28) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>Cl); δ (ppm) = 3.23-4.92 (m, 24H, 2, 3, 4, 5, 6, 6', 2', 3', 4', 5', 6', 6', 7 × -CH<sub>2</sub>-Ph), 5.20-5.30 (m, 2H, H-1, H-1'), 6.80-7.45 (m, 35H, 7 × Ph).

#### 6-3-2-1-5 6-*O*-dodecyltrehalose(3)

化合物(28) 0.42 g (0.420 mmol) をテトラヒドロフラン 4.2 ml に溶解した。別途、アル

ゴン雰囲気下に含有量 60 %の NaH 0.168 g (4.20 mmol) が入っているナスフラスコに氷冷下、セプタムを通して前述のテトラヒドロフラン溶液を注入した。室温にて 2 h 攪拌した後、テトラヒドロフランをさらに 4.2 ml と 1-臭化ドデカン 1.01 ml (4.20 mmol) を注入した後、80 °C まで昇温し 2 h 還流下スターラーで攪拌した。

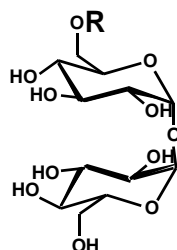
少量の水を滴下し反応を終了させた後、減圧濃縮により溶媒を完全に留去した。得られた残渣を酢酸エチル / 水で分液処理し、有機相を抽出後、硫酸ナトリウム（無水）で乾燥した。ろ別後、減圧濃縮することで得た残渣はエタノール / テトラヒドロフラン (3 : 1) とする混合溶媒 13.8 ml に溶解させた。触媒として 10 wt% Pd/C を 0.117 g 加え、常圧の水素雰囲気下、室温にて 16 h 攪拌することで脱ベンジル化を行った。エタノールで希釈後、セライトろ過することで触媒を除去した。ろ液を減圧濃縮することで 0.923 g の残渣を得た。残渣はメタノール / ヘキサンで分液処理し、メタノール相を取り、減圧濃縮後、メタノール / 酢酸エチルで再沈殿することで化合物(3)を 0.150 g (0.294 mmol) で得た。化合物の構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR、HPLC、TLC により確認した。

収率 : (3) 70.0 %

(3) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD); δ (ppm) = 0.90 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>) 1.30 (m, 18H, O-CH<sub>2</sub>-), 1.60 (m, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.19-4.10 (m, 14H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6', 2', 3', 4', 5', 6', 6'), 5.2 (m, 2H, H-1, H-1').  
M.p. 214-218 °C.

HPLC 条件は以下の通りである。カラム : Inertsil NH<sub>2</sub> (ジールサイエンス株式会社), 流速 : 1.0 ml/min, 温度 : 40 °C, 検出器 : RI, 溶離液 : アセトニトリル / H<sub>2</sub>O = 85 / 15 [v/v] を使用し、化合物が単一ピークであることを確認した。

### 6-3-2-2 Trehalose 6-*O*-dodecanoate(4)の合成



(24) : R = H (Trehalose)

(4) : R = CO(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>CH<sub>3</sub>

**Scheme 6-4** Trehalose 6-*O*-dodecanoate(4) の合成。(4) : (i) Vinyl laurate, Lipase PS IM Amano Immobilized on Diatomaceous Earth / pyridine, *tert*-butyl alcohol.

Chen らが報告している合成法 (lauric acid, Immobilized lipase from *Candida antarctica* /

*tert*-ブチルアルコール / ピリジン = 6/4) では溶媒 (*tert*-ブチルアルコール / ピリジン = 6/4, v/v)へのトレハロースの溶解性が低く、収率は低かった。<sup>[4]</sup> また、Raku らの方法(vinyl laurate, Biopraxe conc. from *Bacillus subtilis* / DMF) では、文献通りの高収率で得られた一方で<sup>[5]</sup>、構造不明の不純物が副生しやすいことが、化合物(4)の水溶液の濁度から示唆された。そこで、本研究では、Scheme 6-4 に示している酵素 Lipase PS IM Amano Immobilized on Diatomaceous Earth を用いて反応を行うこととした。

トレハロース 5.0 g (13.3 mmol)を *tert*-ブチルアルコール 145 ml とピリジン 120 ml 中に溶解させ、50 °C にてでラウリン酸ビニルを 22.3 ml 加えた後、Lipase PS IM Amano Immobilized on Diatomaceous Earth を 2.71 g 加え攪拌することで反応を開始した。

24 h 後、ろ別により酵素触媒を除去し、加温下に、トルエンと共沸させることで、ろ液を減圧濃縮し、溶媒を完全に留去した。さらに、メタノールと酢酸エチルで洗浄することで、過剰の脂肪酸を除去した。不溶性の残渣を、アセトン / クロロホルム / メタノール / 水 (4:9:4:1 [v/v]) の展開溶媒によりシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことで、目的化合物(4)を 3.35 g (6.4 mmol) 得た。化合物の構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR、HPLC、TLC によって決定された。

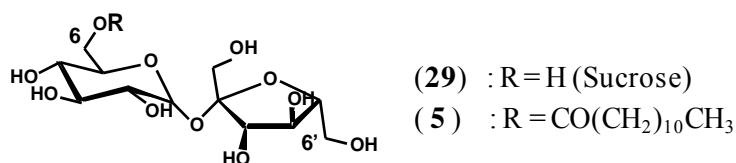
収率 : (4) 48.1 %

(4) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 0.90 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.30 (m, 16H, 8×-CH<sub>2</sub>-chain), 1.60 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 2.38 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-CO-), 3.35-4.40 (m, 12H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6', 2', 3', 4', 5', 6', 6'), 5.15 (dd, 2H, H-1, H-1').

HPLC 条件は以下の通りである。カラム : Inertsil NH<sub>2</sub> (ジーエルサイエンス株式会社) , 流速 : 1.0 ml / min, 温度 : 40 °C, 検出器 : RI, 溶離液 : アセトニトリル / H<sub>2</sub>O = 85 / 15 [v/v] を使用し、化合物が単一ピークであることを確認した。

### 6-3-3 Sucrose 誘導体の合成

#### 6-3-3-1 Sucrose 6-*O*-dodecanoate (5) の合成<sup>[6]</sup>



Scheme 6-5 Sucrose 6-*O*-dodecanoate (5) の合成。(5) : (i) Vinyl laurate, *T. Lanuginosus*



*lipase* (Lipozyme TL IM) / *tert*-pentyl alcohol, DMSO.

モレキュラーシーブ (3Å, 8-12 mesh) にて一晩以上脱水した *tert*-ペンチルアルコール / DMSO (= 8 : 2) の混合溶媒 350 ml にスクロース(29) 3.5 g (10.5 mmol) を溶解させた後、酵素触媒 Lipozyme TL IM を 8.75 g (778.8 μkat) と乾燥剤として脱水に用いたものと同じモレキュラーシーブを加え 40 °C で 30 min 攪拌した。続いて、ラウリン酸ビニル 27.3 ml (10.5 mmol) を注入することで反応を開始した。

24 h の後、ろ別により酵素触媒を除去し、ろ液を加温下に減圧濃縮することでろ液に含まれる *tert*-ペンチルアルコールを留去した。得られた溶液をヘキサン 35.0 ml にて 3 回洗浄を行い過剰のラウリン酸ビニルを除去した。さらに、得られた DMSO が主成分の溶液と同量の水を加えた、さらに同量のシクロヘキサンと 1-ブタノールを加え、シクロヘキサンと 1-ブタノールの混合相を採取した。同操作を三度繰り返すことにより DMSO をできる限り分液処理により除去した。抽出した有機相を減圧濃縮することで残渣を得<sup>‡</sup>、それをメタノール / クロロホルム (= 1 : 3) を展開溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーすることで 1.39 g の無定形固体を得た。酢酸エチルによる数度の洗浄により、微量の DMSO を除去し (<sup>1</sup>H-NMR で確認) <sup>§</sup>、1.21 g (2.27 mmol) の目的化合物 (5) を得た。化合物の構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、HPLC、TLC によって同定した。

収率 : (5) 21.7 %

(5) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 0.90 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.30 (m, 16H, 8×-CH<sub>2</sub>-chain), 1.6 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-), 2.38 (t, 2H, -CH<sub>2</sub>-CO-), 3.26-4.2 (m, 8H, H-1, 2, 3, 4, 5, 6-b, 3', 4', 5', 6'-a, 6'-b), 4.40 (dd, 1H, H-6a), 5.40 (d, 1H, H-1). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO) ; δ (ppm) = 173.2, 104.0, 91.6, 82.8, 77.0, 74.5, 72.8, 71.6, 70.2, 70.0, 63.8, 62.6, 62.2, 33.4, 31.6, 29.4, 29.2, 28.9, 28.6, 24.6, 22.3, 14.1. M.p. ; 151-154 °C (lit. 151-154 °C)<sup>[7]</sup>.

HPLC 条件は以下の通りである。カラム : Inertsil NH<sub>2</sub> (ジーエルサイエンス株式会社) , 流速 : 1.0 ml / min, 温度 : 40 °C, 検出器 : RI, 溶離液 : アセトニトリル / H<sub>2</sub>O = 85 / 15 [v / v] を使用し、化合物が単一ピークであることを確認した。

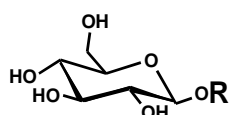
<sup>‡</sup>この酵素反応では異性体も比較的多く生成することが HPLC により認められ、カラム精製の際には、HPLC により分取試料を精査することで純度を確認した。HPLC はカラム : Inertsil NH<sub>2</sub> (ジーエルサイエンス株式会社) , 流速 : 1.0 ml / min, 温度 : 40 °C, 検出器 : RI, 溶離液 : アセトニトリル / H<sub>2</sub>O = 85 / 15 [v / v] を使用した。

<sup>§</sup> DMSO は低温において結晶化するため、ろ別により DMSO を完全に除去するには、一旦減圧を解除し、口過鐘中の温度低下を防ぐことが有効であった。

## 6-4 Alkyl glycoside の合成

### 6-4-1 Alkyl $\beta$ -D-glucoside の合成

#### 6-4-1-1 Ethyl $\beta$ -D-glucoside の合成



(30) : R = H (Glucose)

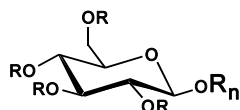
(6) : R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

**Scheme 6-6** Ethyl  $\beta$ -D-glucoside (6) の合成。(6) : (i)  $\beta$ -Glucosidase from almonds / water, ethanol.

Gonçalves らの方法により良好な収率と純度で得た。<sup>[8]</sup> ただし、Scheme 6-6 に記載した生成物の他に異性体の存在が HPLC により確認されており、その精製には、アセトン / クロロホルム / メタノール / 水 (4 : 9 : 4 : 1 [v/v]) の展開溶媒によるシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行った。HPLC により分取試料を調査することで異性体の除去を確認した。化合物の構造は・純度は <sup>1</sup>H-NMR、HPLC、TLC により確認した。HPLC 条件は以下の通りである。カラム : Inertsil NH<sub>2</sub> (ジーエルサイエンス株式会社), 流速 : 1.0 ml / min, 温度 : 40 °C, 検出器 : RI, 溶離液 : アセトニトリル / H<sub>2</sub>O = 85 / 15 [v/v] を使用した。

(6) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ;  $\delta$  (ppm) = 1.22 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.20-4.05 (m, 8H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4.25 (d, 1H, H-1). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ;  $\delta$  (ppm) = 104.1 (C1), 78.1, 77.9, 75.06, 71.61, 66.15, 62.73, 15.45.

#### 6-4-1-2 その他の alkyl $\beta$ -D-glucoside の合成



(31) : R<sub>n</sub> = R = Ac (Penta-*O*-acetylglucose)

(32-41 = 29+n) : R<sub>n</sub> = (CH<sub>2</sub>)<sub>n-1</sub>CH<sub>3</sub>, R = Ac

(7-16 = n+4) : R<sub>n</sub> = (CH<sub>2</sub>)<sub>n-1</sub>CH<sub>3</sub>, R = H

(7) Propyl  $\beta$ -D-glucoside n = 3

(8) Butyl  $\beta$ -D-glucoside n = 4

(9) Pentyl  $\beta$ -D-glucoside n = 5

(10) Hexyl  $\beta$ -D-glucoside n = 6

(11) Heptyl  $\beta$ -D-glucoside n = 7

(12) Octyl  $\beta$ -D-glucoside n = 8

(13) Nonyl  $\beta$ -D-glucoside n = 9

(14) Decyl  $\beta$ -D-glucoside n = 10

(15) Undecyl  $\beta$ -D-glucoside n = 11

(16) Dodecyl  $\beta$ -D-glucoside n = 12

**Scheme 6-7** Alkyl  $\beta$ -D-glucoside (n+4) の合成 (n = 3, 4, ..., 12)。(29+n) : (i) 1-Alcohol, BF<sub>3</sub>-2Et<sub>2</sub>O / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, (n+4) : (ii) NaOMe / MeOH.

## 一般的合成法

蒸留塩化メチレン (120 ml) 中, 化合物(30) (5.0 g, 12.7 mmol)と相当する 1-alcohol (30.0 mmol) を、常温においてボロントリフルオライドジエチルエーテライト (BF<sub>3</sub>-2Et<sub>2</sub>O : 4.86 ml, 30.0 mmol) とともに 7 h、攪拌下で反応させ、その後、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液でクエンチした。塩化メチレンで抽出を行った後、硫酸ナトリウム (無水) により溶液を乾燥し、さらに、ろ液を留去、乾燥した。残渣は常法によりピリジンと無水酢酸を用いて再アセチル化した。反応生成物は分取シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : ヘキサン = 1:2, v/v) により精製し、エタノールで再結晶することで、目的の CnGlu のテトラアセテート(32-41 = 29+n)を白色結晶として得た。

相当するテトラアセテート (6.0 mmol) を蒸留メタノール (11 ml) 中に溶解し、NaOMe / MeOH 溶液 (91 mM : 1.9 ml : 0.173 mmol) を滴下した。3.0 h、攪拌した後、イオン交換樹脂 (DOWEX 50W-X8, 50-100 mesh, H form) により中和した。その生成物溶液より溶媒を減圧留去することで濃縮し、当量の目的物を得た。それを分取シリカゲルカラムクロマトグラフィー (アセトン : クロロホルム : メタノール : 水 = 4:9:4:1) または、アセトン / ヘキサンにより再結晶することで目的の CnGlu を白色粉末にて(7-16 = n+4)を得た (収率: 30 ~ 52.3%)。それぞれの構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、元素分析、TLC により同定した。

収率 : (7) 30.0 %, (8) 42.1 %, (9) 30.3 %, (10) 34.3 %, (11) 30.6 %, (12) 45.3 %, (13) 41.6 %, (14) 43.7 %, (15) 47.4 %, (16) 52.3 %.

(7) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 0.95 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.65 (sextet, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.15-3.90 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4.25 (d, 1H, H-1). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 104.3 (C1), 78.1, 77.9, 75,10, 72.46, 71.62, 62.73, 23.94, 15.45.

(8) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 0.94 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.45 (m, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1.65 (m, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.15-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4.25 (d, 1H, H-1). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 104.3 (C1), 78.1, 77.9, 75,1, 71.62, 70.56, 62.72, 32.88, 23.94, 15.45.

(9) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 0.92 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.45 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-chain), 1.65 (m, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.15-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4.25 (d, 1H, H-1). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 104.3 (C1), 78.1, 77.9, 75,1, 71.62, 70.86, 62.74, 30.488, 29.32, 23.60, 14.40.

(10) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 0.93 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.44 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ -chain), 1.63 (m, 2H,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2-$ ), 3.18-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ), 4.24 (d, 1H, H-1).  
 $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 104.3 (C1), 78.1, 77.9, 75.1, 71.6, 70.9, 62.7, 32.87, 30.75, 26.79, 23.60, 14.40.

(11) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 0.95 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.37 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ -chain), 1.60 (m, 2H,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2-$ ), 3.18-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ), 4.23 (d, 1H, H-1).  
 $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 104.3 (C1), 78.1, 77.9, 75.1, 71.6, 70.9, 62.7, 33.0, 30.8, 30.2, 27.0, 23.7, 14.4.

(12) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 0.95 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.36 (m, 10H,  $\text{CH}_2$ -chain), 1.60 (m, 2H,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2-$ ), 3.18-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ), 4.23 (d, 1H, H-1).

(13) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 0.95 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.36 (m, 12H,  $\text{CH}_2$ -chain), 1.61 (m, 2H,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2-$ ), 3.18-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ), 4.24 (d, 1H, H-1).

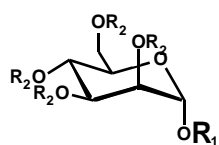
(14) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 0.95 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.36 (m, 14H,  $\text{CH}_2$ -chain), 1.62 (m, 2H,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2-$ ), 3.18-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ), 4.23 (d, 1H, H-1).

(15) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 0.95 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.35 (m, 16H,  $\text{CH}_2$ -chain), 1.61 (m, 2H,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2-$ ), 3.18-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ), 4.23 (d, 1H, H-1).

(16) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 0.95 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.36 (m, 18H,  $\text{CH}_2$ -chain), 1.61 (m, 2H,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2-$ ), 3.18-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6,  $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ), 4.23 (d, 1H, H-1).

Alkyl  $\beta$ -D-glucoside の融点および元素分析結果は、Table 2-3 および 2-4 に記載している。

## 6-4-2 Octyl $\alpha$ -D-mannoside の合成



(42) :  $R_1 = R_2 = H$  (Mannose)

(43) :  $R_1 = R_2 = Ac$

(44) :  $R_1 = (CH_2)_7CH_3$ ,  $R_2 = Ac$

(17) :  $R_1 = (CH_2)_7CH_3$ ,  $R_2 = H$

**Scheme 6-8** Octyl  $\beta$ -D-mannoside (17) の合成。(43) : (i)  $Ac_2O$  / pyridine, (44) : (ii) 1-octanol,  $BF_3 \cdot 2Et_2O$  /  $CH_2Cl_2$ , (17) : (iii) NaOMe / MeOH.

### • D-Mannose pentaacetate(42)

D-Mannose 10 g (5.55 mmol) を 40 °C にてピリジン 50 ml 中に完全に溶解させた後、氷冷下無水酢酸 50 ml を滴下し、反応を開始した。氷冷下 15 h スターラーにて攪拌し、TLC で反応が完全に終了したことを確認した。メタノールを加え過剰の無水酢酸を分解し、トルエンとの共沸留去することで減圧濃縮し、冷水を加え 30 min 放置し、その後クロロホルムを加えた。分液処理することで水相を除去した後、さらにこのクロロホルム相を 5% HCl aq.、水、 $NaHCO_3$  aq.、水で洗浄した後クロロホルム相を硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧濃縮することで 24.7 g (5.37 mmol) の化合物(43)をシロップ状で得た。 $^1H$ -NMR における  $\alpha$ -アノマー ( $\delta$ : 6.08)、 $\beta$ -アノマー ( $\delta$ : 5.86) の定量からそれぞれの異生体は 3 : 1 の比と見積もられた。<sup>[9]</sup>

収率 (43) : 96.7%

(43) :  $^1H$ -NMR (300 MHz,  $CD_3OD$ ) ;

$\alpha$ -isomer ;  $\delta$  (ppm) = 6.08 (1H), 5.2-5.40 (3H), 4.22-4.35 (1H), 4.0-4.16 (2H), 2.21 (1H), 2.18 (6H, 20Ac), 2.09, 2.04, 2.0 (3H, Ac).

$\beta$ -isomer ;  $\delta$  (ppm) = 5.86 (1H), 5.48 (1H), 5.08-5.16 (1H), 4.22-4.35 (1H), 4.0-4.16 (1H), 3.80 (1H), 2.21 (1H), 2.18 (6H, 2Ac), 2.09, 2.04, 2.0 (3H, Ac).

### • Octyl $\alpha$ -D-mannoside(44).

9.8 g (25.1 mmol) の化合物(43)を蒸留塩化メチレン 175 ml に溶解させた後、氷冷下 13 g (15.6 ml; 99.8 mmol) の 1-オクタノールとボロントリフルオライドジエチルエーテライト 10.7 g (9.54 ml; 7.54 mmol) を滴下し、室温にてスターラーで 4 days 攪拌した。クロロホルムを加え希釈した後、 $NaHCO_3$  aq. で洗浄し、抽出したクロロホルム相を硫酸ナトリウムにて脱水した。ろ別後、減圧濃縮することで得られた残渣をピリジン 50 ml に溶解させ、氷冷下無水酢酸 50 ml を滴下することで再アセチル化を行った。室温にて一晩スターラーで

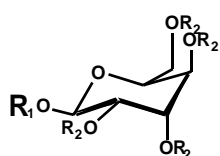
攪拌し、TLCにて反応が完全が進行したことを確認した後、メタノールで30 min クエンチした。減圧濃縮の後、得られた残渣 19.6 g を酢酸エチル / ヘキサン (1:2) とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことで 3.43 g (7.54 mmol) の目的物を含む化合物(44)を得た。構造は  $^1\text{H-NMR}$  により確認した。

化合物(44) 0.96 g (2.09 mmol) を乾燥メタノール 7.7 ml に溶解し、0.91 M に調整した NaOMe / MeOH 溶液を 1.35 ml 滴下することで脱アセチル化を行った。2 days 後、反応が完全に終了したことを TLC で確認した後、DOWEX 50WX4-100 ion-exchange resin (H<sup>+</sup>型) を加え pH を 7 とした。乾燥メタノールで希釈した後、ろ別し、溶液を濃縮することで 0.61 g (2.09 mmol) の化合物(17)をシロップ状で得た。構造は  $^1\text{H-NMR}$  および  $^{13}\text{C-NMR}$  により決定した。

収率 (17) : 30.3 %

(17) :  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 0.95 (t, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 1.37 (m, 10H,  $\text{CH}_2$ -chain), 1.60 (m, 2H,  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 3.30-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ), 4.73 (d, 1H, H-1).  
 $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ;  $\delta$  (ppm) = 101.5 (C1), 74.5, 72.6, 72.2, 68.5, 62.8, 33.0, 30.6, 30.5, 30.4, 27.3, 23.7, 14.4. M. p. ; 48 °C (Ref. [10] : 48 °C).

### 6-4-3 Octyl $\beta$ -L-guloside の合成



(45) :  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$  (Gulose)

(46) :  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{Ac}$

(47) :  $\text{R}_1 = (\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{Ac}$

(18) :  $\text{R}_1 = (\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$

**Scheme 6-9** Octyl  $\beta$ -L-guloside (17) の合成。(46) : (i)  $\text{Ac}_2\text{O}$  / pyridine, (47) : (ii) 1-octanol,  $\text{BF}_3 \cdot 2\text{Et}_2\text{O}$  /  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , (18) : (iii) NaOMe / MeOH.

L-グルース 2.0 g (1.11 mmol) をピリジン 30 ml 中に溶解させた後、氷冷下無水酢酸 10 ml を滴下し、反応を開始した。15 h スターラーにて攪拌し、TLC で反応が完全に終了したことを確認後、氷浴下においてメタノールを加え、クエンチすることで反応を終了させた。トルエン共沸することで減圧濃縮した。酢酸エチル / ヘキサン (1:4, v/v) を展開溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーをすることで主成分のみを単離した。

化合物(46)を 0.99 g (2.51 mmol) を蒸留塩化メチレン 23.5 ml に溶解し、その後、氷冷下 1.0 g (1.2 ml ; 7.7 mmol) の 1-オクタノールとボロントリフルオライドジエチルエーテル 0.82 g (0.734 ml ; 0.59 mmol) を滴下し、室温にてスターラーで 7 h 攪拌した。クロロ

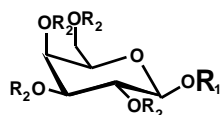
ホルムを加え希釈した後、NaHCO<sub>3</sub> aq.で洗浄し、抽出したクロロホルム相を硫酸ナトリウムにて脱水した。ろ別後、減圧濃縮することで得られた残渣を酢酸エチル / ヘキサン (1:2, v/v)を展開溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーをすることで主成分を分取し、濃縮および乾燥することで化合物(47)を得た。それを乾燥メタノール 1.1 ml に溶解し、0.91 M に調整した NaOMe / MeOH 溶液を 0.20 ml 滴下することで脱アセチル化を行った。5 h 後、反応が完全に終了したことを TLC で確認した後、DOWEX 50WX4-100 ion-exchange resin (H<sup>+</sup>型) を加え pH を 7 とした。乾燥-メタノールで希釈した後、ろ別し、溶液を濃縮することで 0.38 g (0.13 mmol) の化合物(18)をシロップ状で得た。構造は <sup>1</sup>H-NMR および <sup>13</sup>C-NMR により同定した。

収率 (18) 5.2 %

(18) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 0.95 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.37 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-chain), 1.63 (m, 2H, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.30-3.95 (m, 10H, H-2, 3, 4, 5, 6, 6, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4.60 (d, 1H, H-1).  
<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 102.3 (C1), 74.8, 73.1, 71.13, 70.56, 62.54, 33.0, 30.8, 30.6, 30.4, 27.1, 23.7, 14.4.

※ 単離困難な異生体が混在し、分取クロマトグラフィーにおいて大きな損失を被った。

#### 6-4-4 Octyl β-D-galactoside の合成



(48) : R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = Ac (Penta-*O*-acetylgalactose)

(49) : R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = Ac

(19) : R<sub>1</sub> = (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H

化合物(48) 4.0 g (10.2 mmol) を蒸留塩化メチレン 95 ml に溶解させた後、氷冷下 4.00 g (4.80 ml; 3.07 mmol) の 1-オクタノールおよびボロントリフルオライドジエチルエーテル 3.64 g (3.25 ml; 2.56 mmol) を滴下し、室温にてスターラーで 7 h 攪拌した。クロロホルムを加え希釈した後、NaHCO<sub>3</sub> aq.で洗浄し、抽出したクロロホルム相を硫酸ナトリウムにて脱水した。ろ別後、減圧濃縮することで得られた残渣をピリジン 61 ml に溶解させ、氷冷下無水酢酸 30.8 ml を滴下することで再アセチル化反応を開始した。室温にて一晩攪拌し、TLC にて反応が完全に進行したことを確認した後、メタノールで 30 min クエンチした。減圧濃縮の後、得られた残渣 9.3 g を酢酸エチル / ヘキサン (1:2, v/v) とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製をすることで 2.50 g (5.42 mmol) の化合物(49)を得た。

化合物(49) 2.50 g (5.42 mmol) を乾燥-メタノール 10 ml に溶解し、0.91 M に調整した NaOMe / MeOH 溶液を 1.75 ml 滴下することで脱アセチル化を行った。4.5 h の後、反応が完

全に終了したことを TLC で確認した後、DOWEX 50WX4-100 ion-exchange resin (H<sup>+</sup>型) を加え pH を 7 とした。乾燥-メタノールで希釈した後、ろ別し、溶液を濃縮することで当量の化合物(19)を得た。構造および純度は <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、そして元素分析により決定した。

収率 (19) 52.9 %

(19) : <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 4.19 (d, 1H, H-1), 3.89 (dt, 1H, H-α), 3.82 (dd, 1H, H-4), 3.74 (dd, 1H, H-6a), 3.72 (dd, 1H, H-6b), 3.42-3.56 (m, 4H, H-αb, H-2, H-3, H-5), 1.60 (m, 2H, β-CH<sub>2</sub>), 1.20-1.41 (m, 10H, -CH<sub>2</sub>-), 0.95 (t, 3H, -CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ; δ (ppm) = 104.9 (C1), 76.48, 74.99, 72.51, 70.80, 70.20, 62.37, 32.95, 30.79, 30.53, 30.36, 27.07, 23.65, 14.39. C: 57.24, H: 9.664, Crys. By water, C: 57.20, H: 9.674 (Calc, C: 57.51, H: 9.65) 。 M.p. ; 100 °C (Ref [10] : 98 °C)。Elemental analysis ; Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> : C, 57.51; H, 9.65; Found : C, 57.24 ; H, 9.664.



## 第7章

### 総括（第2章～第6章）

初めてアルキルグルコシドが合成されてから 100 年以上の月日が経った今日、糖質系界面活性剤は、日常生活に無くてはならない工業規模で生産される製品にまで発展している。次々と新規な構造を有する化合物が合成され、その物性が調べられている今日であるが、既存製品に目を向け、それらの新規なアプリケーション先を模索することもまた重要と考えられる。

界面活性剤を水溶液の凍結が伴うような低温下で使用する研究例はまだ少数であるが、その中においていくつかの糖質系界面活性剤は、凍結融解法を用いたリポソーム作製の際の可溶化剤や、凍結融解・凍結乾燥過程のタンパク質の安定剤、さらに水の抗凝集剤としての機能を有することが報告されている。また、機能性とは言うに値しないが、新規な機能性を獲得するうえで重要な特性となりえる、サーモトロピック液晶相のガラス転移が近年一部の糖質系界面活性剤において認められている。ただし、低分子量界面活性剤 / 水混合物系のリオトロピック液晶相におけるガラス転移はこれまで報告されていなかった。

ガラス転移温度は、高分子材料の実用上や、食品やタンパク質を含む製剤の貯蔵などにおける安定性に対して特に重要なパラメーターである。また、一部の高分子液晶は、高いガラス転移を有することで、新たな商業的用途を獲得している。

これらを踏まえ、本研究では糖質系界面活性剤単一成分系でのサーモトロピック液晶相の低温下での挙動について第2章で、水との二成分系でのリオトロピック液晶相の低温下での挙動について第3章で、さらにNaClを加えた共晶系の低温下での挙動について第4章、第三成分を油としたエマルションの低温下での挙動について第5章で取り扱い、糖質系界面活性剤が関わる低温下での挙動についての全般的な検討を行った。

本研究で得られた結果は以下の通りである。

#### 第2章

糖質グルコースを親水部としたアルキル鎖を1から12とする alkyl  $\beta$ -D-glucoside (CnGlu) を用い、アルキル鎖長の相違に伴う液晶形成の有無とそれらのガラス転移挙動について検討した。

示差走査熱量計 (DSC) 測定と偏光顕微鏡 (POM) 観察により C6 以上の CnGlu ではスメクチック A 相を形成することを認め、さらに C5 以下の CnGlu では過冷却融液でのガラス転移、C6 以上の CnGlu では過冷却液晶相でのガラス転移を生じた。これより C6 以上で液晶ガラスを形成したことが新規に認められた。スメクチック液晶相から等方性融液への相転移に相当する温度  $T_c$  は、アルキル鎖長の増加に伴い高温側へと推移していくことが観察されたが、それは疎水性相互作用の上昇効果が原因と考えられた。 $T_m$  は C1 から C6 までジグザグの偶奇挙動を伴いながら、C6Glu の値へと収束していき、C7 から C12Glu では 70 ~ 80 °C 程度で大きく変わらない値を示した。 $T_g$  は C1 から C5 へとアルキル鎖長の増加に伴い低温側へと推移し、C5 以上では大きく変化しない挙動を示した。このアルキル鎖の上昇に伴う  $T_g$  の推移は、X 線回折 (XRD) 測定の結果より、疎水性相互作用の上昇により親水部と疎水部ができる限り離れようとした結果、類似な構造を形成したためと考えられた。また、疎水鎖の融解と呼ばれている液晶相形成を示す CnGlu の  $T_m$  は  $T_g / T_m$  において、液晶を形成しない CnGlu と同様の値を示すことが認められたことから、疎水鎖の融解と呼ばれる温度は、結晶相の融解に相当しているものと推察された。これにより、CnGlu が形成する液晶相は、結晶相が完全に融解したマイクロ相分離状態であり、 $T_c$  はそのマイクロ相分離状態が解消された温度であると考えられた。

### 第 3 章

代表的な糖質系界面活性剤である octyl  $\beta$ -D-glucoside (C8Glu) と octyl  $\beta$ -D-thioglucoside (C8SGlu) を用い、50 wt% 以上のそれぞれの水混合物系 (C8Glu / 水混合物系、C8SGlu / 水混合物系) での冷却、昇温挙動について DSC と POM により調べた。その結果、C8Glu / 水混合物系では 80 wt% 以上、C8SGlu / 水混合物系では 83 wt% 以上でキュービック相やラメラ相といったリオトロピック液晶相でガラス転移を示すことを新規に認めた。

それぞれの混合物系のガラス転移温度は、グルコシド濃度の上昇に伴い高温側へと推移していくことが認められ、これより C8Glu と C8SGlu が水系において可塑剤ではなく、硬化剤として作用していることが示された。

また、混合物の  $T_g$  を Couchman-Karasz の式 (C-K 式) を用いて予測した結果、多くの研究で使用されている modified C-K 式ではまったく成立しなかった一方で、Couchman と Karasz が導出した原型の式に相当する original C-K 式では良く成立することが認められた。

さらに、 $T_g$  における比熱変化  $\Delta C_p$  の濃度変化に伴う挙動について調べた結果、C8Glu / 水混合物系と C8SGlu / 水混合物系のそれぞれの系では、高濃度領域から A: 非浸透性の水、B: 非浸透性の水と浸透性の水、C: 浸透性の水を有する領域に区分されうることを、近年の炭水化物 / 水混合物系で提唱されている非浸透性の水概念 (non-percolated water concept) を用いることで提示された。

## 第4章

NaCl 水溶液の凍結融解挙動に与える糖質系界面活性剤の添加効果について DSC および XRD-DSC 同時測定により調査した。その結果、種々の糖質系界面活性剤は NaCl 水溶液の凍結融解過程において、氷と NaCl $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O で構成される共晶形成に対して抑制する効果を示すことが新規に認められた。

一定重量の糖質系界面活性剤存在下、NaCl 濃度を变化させた場合、(A) NaCl 濃度が低濃度で、共晶の形成が完全に抑制される領域、(B) NaCl 濃度が中濃度で、昇温時に共晶の結晶化認められるが、凍結融解過程全般を通じて一部の共晶形成が抑制されている領域、(C) NaCl 濃度が高濃度で、共晶は冷却時に結晶化するが、凍結融解過程全般を通じて一部の共晶形成が抑制されている領域、の三つの濃度領域が認められた。

領域(A)では冷却過程において氷が形成し、その後高濃度となった未凍結相がガラス化することで共晶形成を抑制していることが示された。同様に領域(B)でも、冷却過程で氷の結晶化が生じ、高濃度となった未凍結相はガラス化し、冷却過程での共晶形成は完全に抑制されることが認められた。しかし、その後の昇温過程における脱ガラス化により共晶は結晶化し、それと同時に一部の共晶形成は抑制されるという挙動を示した。領域(C)でも共晶形成が生じた中で、糖質系界面活性剤添加による一部の共晶形成抑制効果が認められているが、領域(B)、(C)における共晶形成抑制効果が如何なる要因により生じるかについては明らかとすることはできなかった。しかし、共晶の形成と融解により、未凍結相中の糖質系界面活性剤の濃度は高濃度化、または低濃度化し、その際に液晶-液晶間相転移を示すことが XRD-DSC 同時測定と冷却加温 POM 観察により認められており、高濃度となった液晶中で共晶の形成が抑制されているものと考えられた。その際の直接的な抑制機構は今後の課題と考えられる。

## 第5章

低温水溶液における利用が注目を集めている PVA 水溶液の氷核生成挙動について、糖質系界面活性剤 Span 65 を乳化剤とする W/O エマルションを用いて検討を行った。エマルション中の種々のポリマー水溶液の氷核生成挙動について DSC を用いて調査した結果、PEG20, PVP35, DX38 などの高分子では、濃度の増加とともに氷核生成温度 ( $T_n$ ) は下降を示したが、PVA22 の場合においてのみ、低濃度領域で  $T_n$  が上昇していく挙動を新規に認めた。その際、 $T_n$  上昇は PVA22 の濃度の対数に対し、線形的な上昇挙動を示した。また、PVA22 水溶液では、1.0~2.0 wt%程度において  $T_n$  上昇の頭打ちが認められ、それ以上の濃度において  $T_n$  は下降する挙動を示した。

この  $T_n$  上昇挙動について検討を行うため、異なる分子量の PVA を用いて検討した結果、分子量の影響は小さいことが認められた。すなわち、PVA 水溶液で見られる  $T_n$  上昇に対し

て高分子量効果は認められなかった。また、PVA 分子を異物質と見なした場合、PVA 水溶液における  $T_n$  上昇挙動は Bigg の経験式に従うことが認められた。

PVA22 水溶液の 1.0 wt % は  $C^*$  に相当したことから、それ以上の濃度で見られる  $T_n$  下降挙動は高分子鎖の重なり合いに起因すると当初考えられた。しかし、その後の  $T_n$  下降挙動は  $\Delta T_n = k \Delta T_m$  の Rasmussen らの経験式において定数  $k = 4.2$  とすることで成立したことから  $\Delta T_m$  降下が最も大きな原因と考えられた。

## 第 6 章

基礎的な物性挙動の検討においては、いかなる構造を有する化合物が、どのような物性挙動を示しているかを明確化することは重要であると考えられ、本論文では総じて、単一の構造を有する糖質系界面活性剤を使用した。特に新規に合成された化合物は、非還元性二糖、三糖と疎水鎖をエーテルで結合した構造を有する糖質系界面活性剤 6''-*O*-dodecylraffinose と 6-*O*-dodecyltrehalose であるが、それぞれはトリチル化、ベンジル化、脱トリチル化、アルキル化といった置換と脱離による反応で合成した。その間、6''-*O*-dodecylraffinose の合成に必要な不可欠な化合物である 6''-*O*-tritylraffinose の合成においては、既存の文献値の 3 倍程度の収率が得られ、さらに精製過程も改良がなされた。他のエステル体化合物は主として既存報告を真似て合成し、親水部をグルコース、マンノース、グロース、ガラクトースなどとするアルキルグリコシドについては、それぞれの全アセチル体をボロントリフルオライドジエチルエーテライトを触媒としてアルキル化し、それを脱アセチル化することで得た。

本研究により糖質系界面活性剤 / 水混合系の低温下での挙動を検討する場合には、ガラス転移挙動を考慮することが重要であることを明らかとした。ガラス転移挙動を考慮することにより、新規な機能が模索され、そしてさらなる挙動の理解が進展することが期待される。

## 参考文献

### 第 1 章

- [1] E. Fisher, Ber. Ditsch. Chem. Ges., 26 (1893) 2400-2412.
- [2] K. Hill, C. L-Ferrenbach, Sugar-based surfactants, fundamentals and applications/143. C. C. Ruiz (Eds), CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2007, Chapter 1, p 1-20.
- [3] D. Balzer, Nonionic surfactant, alkyl polyglucosides/91. D. Balzer, H. Luders (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, 2000, Chapter 9, p 385-526.
- [4] 橋本悟著、界面と界面活性剤—基礎から応用まで—、日本油化学会編、社団法人 日本油化学会、第 2 章第 2 節、2006、p 34-46.
- [5] K. Hill, O. Rhode, Fett. Lipid, 101 (1999) 25-33.
- [6] 加藤友治著、食品の高機能粉末・カプセル技術、古田武、村瀬則郎、安達修二、辻本進、中村哲也監修、第 3 章第 3 節、サイエンスフォーラム、2003、p 110-117.
- [7] C. J. Drummond, C. Fong, I. Krodkiewska, B. J. Boyd, I. J. Baker, Novel Surfactants/114, Marcel Dekker, New York, 2003, Chapter 3. p 95-128.
- [8] 松村秀一、表面、30 (1992) 991-1003.
- [9] Z. Wasylewski, A. Kozik, Eur. J. Biochem., 95 (1979) 121-126.
- [10] M. L. Jackson, B. J. Litman, Biophys. J., 93 (1982) 93-94.
- [11] Y.-M. Kim, W. Ogawa, E. Tamai, T. Kuroda, T. Mizushima, T. Tsuchiya, J. Biochem., 132 (2002) 71-76.
- [12] M. Chami, G. P-Arnaudet, O. Lambert, J.-L. Rank, D. Lèvy, J.-L. Rigaud, J. Struct. Biol., 133 (2001) 64-74.
- [13] T. Tsuchiya, S. Saito, J. Biochem., 96 (1984) 1593-1597.
- [14] 北本大著、界面活性剤・両親媒性高分子の最新機能、國枝博信、坂本一民監修、シーエムシー出版、第 2 章、2005、p 21- 50.
- [15] M. Hato, H. Minamikawa, T. Kato, Sugar-based surfactants, fundamentals and applications /143. C. C. Ruiz (Eds), CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2007, Chapter 10, p 361-411.
- [16] D. Blunk, K. Praefcke, V. Vill, Handbook of liquid crystals, Vo. 3: High molecular weight liquid crystals, D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H.-W. Spiess, V. Vill, (Eds.), Wiley-VCH, 1998, Chapter 5, p 305-340.
- [17] Handbook of liquid crystals, Vo. 1: High molecular weight liquid crystals, D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H.-W. Spiess, V. Vill, (Eds.), Wiley-VCH, 1998, General introduction.
- [18] J. W. Goodby, Mol. Cryst. Liq. Cryst. 110 (1984) 205-209.
- [19] G. A. Jeffrey, L. M. Wingert, Liq. Cryst., 12 (1992) 179-202.

- [20] J. W. Goodby, V. Görtz, S. J. Cowling, G. Mackenzie, P. Martin, D. Plusquellec, T. Benvegno, P. Boullanger, D. Lafont, Y. Queneau, S. Chambert, J. Fitremann, *Chem. Soc. Rev.*, 36 (2007) 1971-2032.
- [21] J. W. Goodby, I. M. Saez, S. J. Cowling, V. Görtz, M. Draper, A. W. Hall, S. Sia, G. Cosquer, S.-E. Lee, E. P. Raynes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 47 (2008) 2754-2787.
- [22] M. K. Singh, N. Jayaraman, *J. Indian Inst. Sci.*, 89-2 (2009) 113-135.
- [23] Y. Queneau, S. Chambert, C. Besset, R. Cheaib, *Carbohydr. Res.*, 343 (2008) 1999-2009.
- [24] D. L. Dorset, *Carbohydr. Res.*, 206 (1990) 193-205.
- [25] J. M. Seddon, *Handbook of liquid crystals, Vo. 1: High molecular weight liquid crystals*, D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H.-W. Spiess, V. Vill, Eds.; Wiley-VCH, 1998, Chapt. 3.7, p 635-679.
- [26] D. Balzer, *Nonionic surfactant, alkyl polyglucosides/91*. D. Balzer, H. Luders (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, 2000, Chapter 5, p 85-278.
- [27] J. A. M.-Bolívar, C. C. Ruiz, *Sugar-based surfactants, fundamentals and applications/143*. C. C. Ruiz (Eds), CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2007, Chapter 3, p 61-104.
- [28] F. Nilsson, O. Söderman, *Langmuir*, 12 (1996) 902-908.
- [29] P. Sakya, J. M. Seddon, R. H. Templer, *J. Phys. II France*, 4 (1994) 1311-1331.
- [30] B. J. Boyd, C. J. Drummond, I. Krodziewska, F. Grieser, *Langmuir*, 16 (2000) 7359-7367.
- [31] H.-D. Dörfler, A. Göpfert, *J. Disper. Sci. Technol.*, 20 (1999) 35-58.
- [32] A. Loewenstein, D. Igner, *Liq. Cryst.*, 13 (1993) 531-539.
- [33] F. Nilsson, O. Söderman, P. Hansson, *Langmuir*, 14 (1998) 4050-4058.
- [34] I. Söderberg, C. J. Drummond, D. N. Furlong, S. Godkin, B. Matthews, *Colloids Surf., A*, 102 (1995) 91-97.
- [35] 兼井典子、今榮東洋子、鬼原薫、田川徹、國枝博信、*日本油化学会誌*、45 (1996) 29-35.
- [36] R. G. Laughlin, *The aqueous phase behavior of surfactants*, Academi Press Inc., Sna Diego, 1994, Chapter 5, p 102-154.
- [37] F. Nilsson, L. Söderman, *Langmuir*. 13 (1997) 3349-3354.
- [38] F. Nilsson, L. Söderman, I. Johansson, *J. Colloid Interface Sci.*, (1998) 131-139.
- [39] B. Boyd, C. J. Drummond, I. Krodziewska, A. Weerawardena, D. N. Furlong, F. Grieser, *Langmuir*, 18 (2001) 6100-6107.
- [40] B. J. Boyd, I. Krodziewska, C. J. Drummond, F. Grieser, *Langmuir*, 18 (2002) 597-601.
- [41] P. Sakya, J. M. Seddon, *Liq. Cryst.*, 23 (1997) 409-424.
- [42] G. J. T. Tiddy, *Physics Reports*, 57 (1980) 1-46.
- [43] 葛城俊哉、金子直樹、佐藤清隆、*日本油化学会誌*、49 (2000) 255-262.
- [44] V. Kocherbitov, O. Söderman, *Langmuir*, 20 (2004) 3056-3061.
- [45] H. Yoshioka, M. Sorai, H. Suga, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 95 (1983) 11-30.
- [46] B. Hoffmann, G. Platz, *Tenside Surfact. Det.*, 38 (2001) 336-344.

- [47] K. Fukada, Y. Matsuzaka, M. Fujii, T. Kato, T. Seimiya, *Thermochim. Acta*, 308 (1998) 159-164.
- [48] L. Zhang, M. Suzuki, T. Inoue, *Langmuir*, 18 (2002) 1991-1998.
- [49] L. Zhang, M. Suzuki, T. Inoue, B. Lindman, *Langmuir*, 18 (2002) 9204-9210.
- [50] M. G. Bonicelli, G. F. Ceccaroni, C. L. Mesa, *Colloid. Polym. Sci.*, 276 (1998) 109-116.
- [51] G. G. Warr, C. J. Drummond, F. Grieser, *J. Phys. Chem.*, 90 (1986) 4581-4586.
- [52] X. Auvray, C. Petipas, R. Anthore, *Langmuir*, 11 (1995) 433-439.
- [53] T. Imura, Y. Hikosaka, W. Worakitkanchanakul, H. Sakai, M. Abe, M. Konishi, H. Minamikawa, D. Kitamoto, *Langmuir*, 23 (2007) 1659-1663.
- [54] D. H. Rasmussen, A. P. Mackenzie, Effect of solute on ice-solution interfacial free energy; calculation from measured homogeneous nucleation temperatures, In "Water Structure at the Water-polymer Interface", H. H. G. Jellinek (Eds.), New York-London, Plenum press, 1972, p 126-145.
- [55] H. Kanno, R. J. Speedy, C. A. Angell, *Science*, 12 (1975) 880-881.
- [56] D. H. Rasmussen, A. P. MacKenzie, *J. Chem. Phys.*, 59 (1973) 5003-5013.
- [57] N. Kimizuka, T. Suzuki, *J. Phys. Chem. B*, 111 (2007) 2268-2273.
- [58] N. Kimizuka, C. Viriyarattanask, T. Suzuki, *Cryobiology*, 56 (2008) 80-87.
- [59] H. Kanno, M. Soga, K. Kajiwara, *Chem. Phys. Lett.*, 443 (2007) 280-283.
- [60] N. Oku, J. Tsudera, K. Kurohane, S. Okada, *Chem. Pharm. Bull.*, 44 (1996) 1928-1930.
- [61] K. Izutsu, S. Yoshioka, T. Terao, *Int. J. Pharm.*, 90 (1993) 187-194.
- [62] K. Izutsu, S. Yoshioka, T. Terao, *Biotechnol. Bioeng.*, 43 (1994) 1102-1107.
- [63] K. Izutsu, S. Yosioka, S. Kojima, *Pharm. Res.*, 12 (1995) 838-843.
- [64] D. Kitamoto, H. Yanagishita, A. Endo, M. Nakaiwa, T. Nakane, T. Akiya, *Biotechnol. Prog.*, 17 (2001) 362-365.

## 第2章

- [1] 作花濟夫著、ガラス科学の基礎と応用、内田鶴圃、1997、第1章、第2章 p 1-41.
- [2] 村瀬則郎著、食品とガラス化・結晶化技術、村瀬則郎、佐藤清隆編、第1篇第1章、p 7-13.
- [3] 小澤丈夫、吉田博久編、最新熱分析、講談社サイエンティフィック、2005、第9章 1. 2、p 190-197.
- [4] 日本熱測定学会編、熱量測定・熱分析ハンドブック、丸善株式会社、第3章 1.3、p 110-112.
- [5] 熊谷仁、食品とガラス化・結晶化技術、村瀬則郎、佐藤清隆編、第1篇第3章、p 23-30.
- [6] 徂徠道夫著、相転移の分子熱力学、朝倉書店、第5章、p 79-129.
- [7] 液晶便覧編集委員会編 液晶便覧 丸善株式会社 2000 第2章 1.3 第6章 5.1 p 28-34、562-564.
- [8] 神戸博太郎編、熱分析、1975、第7章 1.3、p 216-222.
- [9] J.-C. Dubois, P. L. Barny, M. Mauzac, C. Noel, Handbook of liquid crystals, Vo. 3: High molecular weight liquid crystals, D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H.-W. Spiess, V. Vill, Eds.; Wiley-VCH, 1998, Chapter 4, p 207-275.
- [10] E. Fischer, B. Helferich, Justus Liebigs Ann. Chem., 383 (1911) 68-91.
- [11] C. R. Noller, W. C. Rockwell, J. Am. Chem. Soc., 60 (1938) 2076-2077.
- [12] B. Hoffmann, W. Milius. G. Voss, M. Wunschel, S. Smaalen, S. van, Diele, G. Platz, Carbohydr. Res., 323 (2000) 192-201.
- [13] B. J. Boyd, C. J. Drummond, I. Krodkiewska, F. Grieser, Langmuir, 16 (2000) 7359-7367.
- [14] V. Kocherbitov, O. Söderman, Langmuir, 20 (2004) 3056-3061.
- [15] C. A. Ericsson, L. C. Ericsson, S. Ulvenlund, Carbohydr. Res., 340 (2005) 1529-1537.
- [16] C. A. Ericsson, L. C. Ericsson, V. Kocherbitov, O. Söderman, S. Ulvenlund, Phys. Chem. Chem. Phys., 7 (2005) 2970-2977.
- [17] D. L. Dorset, J. P. Rosenbusch, Chem. Phys. Lipids, 29 (1981) 299-307.
- [18] G. A. Jeffery, S. Bhattachargee, Carbohydr. Res., 115 (1983) 53-58.
- [19] J. W. Goodby, Mol. Cryst. Liq. Cryst., 110 (1984) 205-219.
- [20] D. L. Dorset, Carbohydr. Res., 206 (1990) 193-205.
- [21] B. Focher, G. Savelli, G. Torri, Chem. Phys. Lipids, 53 (1990) 141-155.
- [22] D. Häntzschel, J. Schulte, S. Enders, K. Quitzsch, Phys. Chem. Chem. Phys., 1 (1999) 895-904.
- [23] H.-D. Dörfler, A. Göpfert, J. Disper. Sci. Technol., 20 (1999) 35-58.
- [24] 山本潤著、液晶科学実験入門、日本液晶学会編、シグマ出版、2007、第3章、p 23-34.
- [25] V. Adasch, B. Hoffman, W. Milius, G. Platz, G. Voss, Carbohydr. Res., 314 (1998) 177-187.
- [26] G. A. Jeffery, S. Takagi, Acta Crystallor., Sect. B, 33 (1977) 738-742.
- [27] V. Kocherbitov, O. Söderman, Phys. Chem. Chem. Phys., 5 (2003) 5262-5270.



- [28] H. A. van Doren, R. van der Geest, *Carbohydr. Res.*, 198 (1989) 71-77.
- [29] P. M. L. Gonçalves, S. M. Roberts, P. W. H. Wan, *Tetrahedron*, 60 (2004) 927-932.
- [30] K. Kurashima, M. Fujii, Y. Ida, H. Akita, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 26 (2003) 87-98.
- [31] D. Blunk, K. Praefcke, V. Vill, *Handbook of liquid crystals*, Vo. 3: High molecular weight liquid crystals, D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H.-W. Spiess, V. Vill, Eds.; Wiley-VCH, 1998, Chapter 5, p 305-340.
- [32] W. J. D. Grip, P. H. M. B.-Geurts, *Chem. Phys. Lipids*, 23 (1979) 321-325.
- [33] H. Fiedler, R. Wustneck, B. Weiland, R. Miller, K. Haage, *Langmuir*, 10 (1994) 3959-3965.
- [34] I. Dierking, *Textures of liquid crystals*, Wiley-Vch, GmbH & Co. KGaA, 2003, Appendix B, p 163-212.
- [35] 液晶便覧編集委員会編、液晶便覧、丸善株式会社、2000、第2章4.1、p 117-154.
- [36] J. W. Goodby, V. Görtz, S. J. Cowling, G. Mackenzie, P. Martin, D. Plusquellec, T. Benvegnu, P. Boullanger, D. Lafont, Y. Queneau, S. Chambert, J. Fitremann, *Chem. Soc. Rev.*, 36 (2007) 1971-2032.
- [37] D. Chapman, *The structure of lipids by spectroscopic and X-ray techniques*, WileyVCH, New York, 1966, 232-235.
- [38] J. M Seddon, *Handbook of liquid crystals*, Vo. 1: High molecular weight liquid crystals, D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H.-W. Spiess, V. Vill, Eds.; Wiley-VCH, 1998, Chapter 3.7, p 635-679.
- [39] G. A. Jeffery, *Acc. Chem. Res.*, 19 (1986) 168-173.
- [40] 坂本一民著、界面と界面活性剤—基礎から応用まで—、日本油化学会編、社団法人 日本油化学会、2006、第3章第1.1節、p 82-83.
- [41] 中西浩一郎、*現代化学*、2 (1989) 21-28.

### 第3章

- [1] L. Slade, H. Levine, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 30 (1991) 115-360.
- [2] L. H. Sperling, in *Introduction to physical polymer science (Fourth Edition)*, Wiley & Sons, Inc., 2006, p 349.
- [3] D.-X. Li, B.-L. Liu, Y.-s. Liu, C.-l. Chen, *Cryobiology*, 56 (2008) 113-119.
- [4] A. Sikora, V. O. Dupanov, J. Kratochvíl, J. Zámečník, *J. Macromol. Sci. Part B Phys.*, 46 (2007) 71-85.
- [5] J.-A. Seo, S. J. Kim, H.-J. Kwon, Y. S. Yang, H. K. Kim, Y.-H. Hwang, *Carbohydr. Res.*, 341 (2006) 2516-2520.
- [6] Y. Liu, B. Bhandari, W. Zhou, *J. Food Eng.*, 81 (2007) 599-610.
- [7] M. Kolitz, N. C.-Arazi, I. Hagag, J. Katzhendler, A. J. Domb, *Macromolecules*, 42 (2009) 4520-4530.
- [8] S. S. N. Murthy, G. Singh, *Thermochim. Acta*, 469 (2008) 116-119.
- [9] B. Ghanbarzadeh, A. R. Oromiehi, *J. Appl. Polym. Sci.*, 109 (2008) 2848-2854.
- [10] P. R. Couchman, *Macromolecules*, 11 (1978) 1156-1161.
- [11] 高井陸雄著、食品とガラス化・結晶化技術、村瀬則郎・佐藤清隆編、株式会社サイエンスフォーラム、2000年、第2篇第2章、p 15-22.
- [12] A. P. MacKenzie, *Phil. Trans. R. Soc. London Ser. B*, 278 (1977) 167-189.
- [13] M. Gordon, J. S. Taylor, *J. Appl. Chem.*, 2 (1952) 493-500.
- [14] J. M. Gordon, G. B. Rouse, J. H. Gibbs, W. M. Risen, Jr., *J. Chem. Phys.*, 66 (1977) 4971-4976.
- [15] P. R. Couchman, F. E. Karasz, *Macromolecules*, 11 (1978) 117-119.
- [16] T. G. Fox, S. Loshaek, *J. Polym. Sci.*, XV (1955) 371-390.
- [17] A. V. Lesikar, *J. Chem. Phys.*, 63 (1975) 2297-2302.
- [18] K. Hofer, A. Hallbrucker, E. Mayer, *J. Phys. Chem.*, 93 (1989) 4673-4677.
- [19] H. Kanno, *Chem. Phys. Lett.*, 210 (1993) 107-110.
- [20] T. K. Kwei, *J. Polym. Sci., Part C: Polym. Lett.*, 22 (1984) 307-313.
- [21] A. A. Lin, T. K. Kwei, A. Reiser, *Macromolecules*, 22 (1989) 4112-4119.
- [22] H. A. Schneider, *Polymer*, 30 (1989) 771-779.
- [23] H. A. Schneider, *J. Res. Nat. Inst. Stand. Technol.*, 102 (1997) 229-248.
- [24] B. L. Williams, F. Landel, J. D. Ferry, *J. Am. Chem. Soc.*, 70 (1955) 3701-3707.
- [25] D. P. Miller, J. J. de Pablo, H. Corti, *Pharm. Res.*, 14 (1997) 578-590.
- [26] I. I. Katkov, F. Levine, *Cryobiology*, 49 (2004) 62-82.
- [27] R. Pinal, *Entropy*, 10 (2008) 207-223.
- [28] D. Champion, H. Hervet, G. Blond, M. L. Meste, D. Simatos, *J. Phys. Chem. B.*, 101 (1997) 10673-10679.

- [29] R. Steendam, H. W. Frijlink, C. F. Lerk, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 14 (2001) 245-254.
- [30] Y. Roos, *Carbohydr. Res.*, 238 (1993) 39-48.
- [31] Y. Roos, M. Karel, *CryoLetters*, 12 (1991) 367-376.
- [32] S. Cervený, G. A. Schwartz, *Chem. Phys.*, 124 (2006) 194501-01-09.
- [33] T. Chen, A. Fowler, M. Toner, *Cryobiology*, 40 (2000) 277-282.
- [34] G. Blond, D. Simatos, M. Catté, C. G. Dussap, J. B. Gros, *Carbohydr. Res.*, 298 (1997) 139-145.
- [35] P. D. Orford, R. Parker, S. G. Ring, *Carbohydr. Res.*, 196 (1990) 11-18.
- [36] Y. Roos, M. Karel, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 26 (1991) 553-566.
- [37] B. C. Hancock, G. Zografi, *Pharm. Res.*, 11 (1994) 471-477.
- [38] K. Kawai, T. Suzuki, R. Takai, *CryoLetters*, 23 (2002) 79-88.
- [39] J. E. Zimeri, J. L. Kokini, *Carbohydr. Res.*, 48 (2002) 299-304.
- [40] G. A. Frank, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 36 (2007) 1279-1285.
- [41] R. E. Jensen, E. O'Brien, J. Wang, J. Bryant, T. C. Ward, D. A. Lewis, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, 36 (1998) 2781-2791.
- [42] J. A. Júnior, Y. Kwano, D. F. S. Petri, *Mater. Sci. Eng., C*, 29 (2009) 420-425.
- [43] I. Gill, R. Valivety, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39 (2000) 3801.
- [44] I. Gill, R. Valivety, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39 (2000) 3804.
- [45] M. Kastantin, B. Ananthanarayanan, P. Karmali, R. Ruoslahti, M. Tirrell, *Langmuir*, 25 (2009) 7279-7286.
- [46] V. Kocherbitov, O. Söderman, *Langmuir*, 20 (2004) 3056-3061.
- [47] D. Balzer, in *Nonionic surfactant, alkyl polyglucosides*; D. Balzer; H. Liders, Eds.; Marcel Dekker Inc.; New York, 2000, Chapter 9, p 85-278.
- [48] R. G. Laughlin; in *The aqueous phase behavior of surfactants*; R. H. Ottewill, R. L. Rowell, Eds.; Academic press Inc.; San Diego, 1994, Chapter 12, p 368-418.
- [49] M. Hato, *Curr. Opin., Colloid Interface Sci.*, 6 (2001) 268-276.
- [50] B. Hoffmann, G. Platz, *Curr. Opin., Colloid Interface Sci.*, 6 (2001) 171-177.
- [51] A. Capalbi, G. Gente, C. L. Mesa, *Colloids Surf. A.*, 246 (2004) 99-108.
- [52] J. A. M.-Bolíar, J. M. P.-García, C. C. J. Ruiz, *J. Phys. Chem.*, 108 (2004) 12813-12820.
- [53] B. J. Boyd, C. J. Drummond, I. Krodziewska, F. Grieser, *Langmuir*, 16 (2000) 7359-7367.
- [54] F. Nilsson, O. Söderman, *Langmuir*, 12 (1996) 902-908.
- [55] D. Häntzschel, J. Schulte, S. Enders, K. Quitzsch, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 1 (1999) 895-904.
- [56] H.-D. Dörfler, A. Göpfert, *J. Disper. Sci. Technol.*, 20 (1999) 35-58.
- [57] M. G. Bonicelli, G. F. Ceccaroni, C. La Mesa, *Colloid. Polym. Sci.*, 276 (1998) 109-116.
- [58] A. Loewenstein, D. Igener, *Liq. Cryst.*, 10 (1991) 457-466.

- [59] V. Kocherbitov, O. Söderman, L. Wadso, *J. Phys. Chem. B*, 106 (2002) 2910-2917.
- [60] P. Sakya, J. M. Seddon, R. H. Templer, *J. Phys. II France*, 4 (1994) 1311-1331.
- [61] 神部博太郎編集、熱分析、講談社サイエンティフ、1975、第7章。
- [62] 液晶便覧編集委員会編、液晶便覧、丸善株式会社、2000、第2章4.1、p 117-154.
- [63] J. N. Israelachvili, D. J. Mitchell, B. W. Ninham, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, 72 (1976) 1525-1568.
- [64] 社団法人 日本油化学会編、第四版 油化学便覧—脂質・界面活性剤—、丸善株式会社、2001、第7章2、p 539-543.
- [65] S. Matsumura, K. Imai, S. Yoshikawa, K. Kawada, T. J. Uchibori, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67 (1990) 996-1001.
- [66] M. Sugisaki, H. Suga, S. Seki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 41 (1968) 2591-2599.
- [67] D. H. Rasmussen, A. P. MacKenzie, *J. Phys. Chem.*, 75 (1971) 967-973.
- [68] H. J. Limbach, J. Ubbink, *Soft Matter*, 4 (2008) 1887-1898.
- [69] V. Molinero, T. Ćađin, A. William, W. A. Goddard III, *Chem. Phys. Lett.*, 377 (2003) 469-474.
- [70] A. Bondi, *J. Phys. Chem.*, 58 (1954) 929-939.

## 第4章

- [1] P. Mirabel, D. Taleb, *Low-Temperature Chemistry of the Atmosphere*. G. K. Moortgat, A. J. Barnes, G. L. Bras, J. R. Sodeau (Eds.), Springer-Verlag, NATO Scientific Affairs Division, 1994, p. 197-217.
- [2] 前園明一、熱測定、32 (2005) 126-132.
- [3] 小澤丈夫、吉田博久編、最新 熱分析、講談者サイエンティフィック、2005、第3章、p 64-87.
- [4] J. W. Mullin, *Crystallization*, 4th edition, Butterworth-Heinemann, Oxford, 2001, Chapter 4, p 135-180.
- [5] A. P. MacKenzie, *Phil. Trans. R. Soc. London Ser. B*, 278 (1977) 167-189.
- [6] K. A. Jackson, *Kinetic Processes, Crystal Growth, Diffusion, and Phase Transitions in Materials*, Wiley-Vch, Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2004, Chapter 27, p 361-379.
- [7] N. H. Fletcher 著、前野紀一訳、氷の化学物理、共立出版株式会社、1974、第7-9章、p 128-219.
- [8] K. Takaizumi, T. Wakabayashi, *CryoLetters*, 16 (1995) 41-46.
- [9] D. N. Glew, N. S. Rath, *Can. J. Chem.*, 73 (1995) 788-796.
- [10] G. Vuillard, J.-J. Kessis, *Soc. Chim.*, 5<sup>e</sup> SÉRIE (1960) 2063-2067.
- [11] N. J. Chen, J. Morikawa, A. Kishi, T. Hashimoto, *Thermochim. Acta*, 429 (2005) 73-79.
- [12] F. Franks 著、村瀬則郎、片桐千仞訳、低温の生物物理と生化学、北海道図書刊行会、1989、第3章、p 44-72.
- [13] M. L. Shepard, C. S. Goldston, F. H. Cocks, *Cryobiology*, 13 (1976) 9-23.
- [14] K. Ito, *Chem, Pharm. Bull.*, 19 (1971) 1095-1102.
- [15] N. Murase, F. Franks, *Biophys. Chem.*, 34 (1989) 293-300.
- [16] G. Gómez, M. J. Pikal, N. R.-Hornedo, *Pharm. Res.*, 18 (2001) 90-97.
- [17] C.-L. Wang, K. Y. T., B. Han, *Cryobiology*, 57 (2008) 52-59.
- [18] B. Han, J. C. Bischof, *Cryobiology*, 48 (2004) 8-21.
- [19] N. J. Chen, J. Morikawa, T. Hashimoto, *Cryobiology*, 50 (2005) 264-272.
- [20] 早川潔、醗酵工学、63 (1985) 23-30.
- [21] U. Heber, L. Tyankova, K. A. Santarius, *Biochim. Biophys. Acta*, 241 (1971) 578-592.
- [22] R. Goel, K. Anderson, J. Slaton, F. Schmidlin, G. Vercellotti, J. Belcher, J. C. Bischof, *J. Biomed. Eng.*, 131 (2009) 0734003-1-11.
- [23] 伊豆津健一、冷凍、79 (2004) 49-52.
- [24] H. Nicolajsen, A. Hvidt, *Cryobiology*, 31 (1994) 199-205.
- [25] K. Izutsu, S. Yoshioka, S. Kojima, *Chem. Pharm. Bull.*, 43 (1995) 1804-1806.
- [26] P. H. Rasmussen, B. Jorgensen, J. Nielsen, *Thermochim. Acta*, 303 (1997) 23-30.
- [27] M. Jochem, C. H. Körber, *Cryobiology*, 24 (1987) 513-536.

- [28] K. Izutsu, N. Aoyagi, *Int. J. Pharm.*, 288 (2005) 101-108.
- [29] B. S. Chang, B. S. Kendrick, J. F. Carpenter, *J. Pharm. Sci.*, 85 (1996) 1325-1330.
- [30] A. Hillgren, J. Lindgren, M. Alden, *Int. J. Pharm.*, 237 (2002) 57-69.
- [31] K. Izutsu, S. Yoshioka, T. Terao, *Int. J. Pharm.*, 90, (1993) 187-194.
- [32] K. Izutsu, S. Yoshioka, T. Terao, *Biotechnol. Bioeng.*, 43, (1994) 1102-1107.
- [33] A. Hvidt, K. Borch, *Thermochim. Acta*, 175 (1991) 53-58.
- [34] K. Kajiwara, A. Motegi, N. Murase, *CryoLetters*, 22 (2001) 311-320.
- [35] O. I. Mikhalev, A. M. Kaplan, V. I. Trofimov, *Chem. Phys. Lett.*, 121 (1985) 547-550.
- [36] A. Kishi, M. Otsuka, Y. Matsuda, *Colloids Surf., B*, 25 (2002) 281-291.
- [37] T. Arai, A. Kishi, Y. Kobayashi, *Thermochim. Acta*, 325 (1999) 151-156.
- [38] L.-M. Her, M. Deras, S. L. Nail, *Pharm. Res.*, 12 (1995) 768-772.
- [39] P. Sakya, J. M. Seddon, R. H. Templer, *J. Phys. II France*, 4 (1994) 1311-1331.
- [40] Y. J. Chung, G. A. Jeffery, *Biochim. Biophys. Acta*, 985 (1989) 300-306.
- [41] J. S. Clunie, J. F. Goodman, P. C. Symons, *Trans. Faraday Soc.*, 65 (1969) 287-296.
- [42] C. E. Fairhurst, S. F. J. Gray, M. C. Holmes, G. J. T. Tiddy, *Handbook of liquid crystals*, Vo. 3: High molecular weight liquid crystals. D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H.-W. Spiess, V. Vill, (Eds.) Wiley-VCH, 1998, Chapter 7, p 341-392.
- [43] R. Aveyard, B. P. Binks, J. Chen, J. Esquena, P. D. J. Fletcher, *Langmuir*, 14 (1998) 4699-4709.
- [44] P. A. Kooreman, J. B. F. N. Engberts, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 114 (1995) 421-423.
- [45] P. Sakya, J. M. Seddon, *Liq. Cryst.*, 23 (1997) 409-424.
- [46] T. T. Chong, R. Hashim, R. A. Bryce, *J. Phys. Chem. A*, 110 (2006) 4978-4984.
- [47] H. Lange, P. Jeschke, *Nonionic surfactants*, *Surfactant science series*; v. 23. M. J. Schick, (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, 1987, Chapter 1, p 1-44.
- [48] I. F. Paterson, B. Z. Chowdhry, S. A. Leharne, *Langmuir*, 15 (1999) 6187-6194.
- [49] V. Fazio, J. Örtengren, P. Koelsch, A. Andersen, D. Wantke, H. Möhwald, H. Motschmann, *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, 5223 (2004) 38-48.
- [50] M. Ueno, Y. Takasawa, H. Miyashige, Y. Tabata, K. Meguro, *Colloid. Polym. Sci.*, 259 (1981) 761-766.
- [51] A. Ray, G. Némethy, *J. Am. Chem. Soc.*, 15 (1971) 6787-6793.
- [52] P. Mukerjee, C. C. Chan, *Langmuir*, 18 (2002) 5375-5381.
- [53] P. R. Majhi, A. Blume, *Langmuir*, 17 (2001) 3844-3851.
- [54] E. Hutchinson, V. E. Sheaffer, F. Tokiwa, *J. Phys. Chem.*, 68 (1964) 2818-2825.
- [55] B. L. Neindre, B. Vodar, *Experimental thermodynamics volume 2: Experimental thermodynamics of non-reacting fluids*, London, Butterworth, 1975, Chapter 17 I-5, p 846-851.
- [56] I. Gill, R. Valivety, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39 (2000) 3801.

## 第 5 章

- [1] P. V. Hobbs, *Ice Physics*. Oxford University Press, 1974, Chapter 7, p 460-523.
- [2] J. W. Mullin, *Crystallization*, 4th edition, Butterworth-Heinemann, Oxford, 2001, Chapter 5, p 181-215.
- [3] F. Franks, *Water a comprehensive treatise*, Volume 7, Water and aqueous solutions at subzero temperatures. (Eds. F. Franks), Chapter 3, p 215-338.
- [4] G. Missous, B. Thammavongs, V. Dieuleveux, M. Gúeguen, J. M. Panoff, *Cryobiology*, 55 (2007) 6-71.
- [5] N. Cochet, P. Widehem, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 54 (2000) 153-161.
- [6] A. Blondeaux, J.-F. Hamel, P. Widehem, N. Cochet, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 23 (1999) 514-519.
- [7] A. Tabazadeh, Y. S. Djikaev, H. Reiss, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 99 (2002) 15873-15878.
- [8] Y. S. Djikaev, A. Tabazadeh, P. Hamill, H. Reiss, *J. Phys. Chem. A*, 106 (2002) 10247-10253.
- [9] R. A. Shaw, A. J. Durant, Y. Mi, *J. Phys. Chem. B*, 109 (2005) 9865-9868.
- [10] A. J. Durant, R. A. Shaw, *Geophys. Res. Lett.*, 32 (2005) L20814, 1-4.
- [11] J. P. Hindmarsh, A. B. Russell, X. D. Chen, *J. Phys. Chem. C*, 111 (2007) 5977-5981.
- [12] T. Koop, *Z. Phys. Chem.*, 218 (2004) 1231-1258.
- [13] E. K. Bigg, *Proc. Phys. Lond. B*, 66 (1953) 688-694.
- [14] D. H. Rasmussen, A. P. Mackenzie, Effect of solute on ice-solution interfacial free energy; calculation from measured homogeneous nucleation temperatures, In "Water Structure at the Water-polymer Interface". (Eds. H. H. G. Jellinek), New York-London: Plenum press, 1972, p 126-145.
- [15] M. Oguni, C. A. Angell, *J. Phys. Chem.*, 87 (1983) 1848-1851.
- [16] D. S. Reid, A.T.Foin, C.A.Lem, *Cryo-Letters*, 6 (1985) 189-198.
- [17] S. Charoenrein, M. Goddard, D. S. Reid, *Water relationships in food*, (Eds. H. Levine, L. Slade), Plenum Press, New York, 1991, p 191-198.
- [18] S. Özilgen, D. S. Reid, *Lebensm.-Wiss.u-Technol.*, 26 (1993) 116-120.
- [19] K. E. Zachariassen, E.Kristiansen, *Cryobiology*, 41 (2000) 257-279.
- [20] F. Franks, *CryoLetters*, 2 (1981) 27-31.
- [21] J. V. Leyendekkers, R. J. Hunter, *J. Chem. Phys.*, 82 (1985) 1440-1446.
- [22] T. Koop, B. P. Luo, A. Tsis, T. Peter, *Nature*, 406 (2000) 611-614.
- [23] V. I. Khvorostyanov, *J. Phys. Chem.*, 108 (2004) 11073-11085.
- [24] N. Kimizuka, T. Suzuki, *J. Phys. Chem. B*, 111 (2007) 2268-2273.
- [25] N. Kimizuka, C. Viriyarattanask, T. Suzuki, *Cryobiology*, 56 (2008) 80-87.
- [26] H. Kanno, C. A. Angell, *J. Phys. Chem.*, 81 (1977) 2639-2643.

- [27] A. K. Bertram, T. Koop, L. T. Molina, M. J. Molina, *J. Phys. Chem. A*, 104 (2000) 584-588.
- [28] K. Miyata, H. Kanno, K. Tomizawa, Y. Yoshimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 74 (2001) 1629-1633.
- [29] K. Miyata, H. Kanno, T. Niino, K. Tomizawa, *Chem. Phys. Lett.*, 354 (2002) 51-55.
- [30] B. Zobrist, U. Weers, T. Koop, *J. Chem. Phys. A*, 118 (2003) 10254-10261.
- [31] H. Kanno, K. Miyata, K. Tomizawa, H. Tanaka, *J. Phys. Chem. A*, 108 (2004) 6079-6082.
- [32] K. Miyata, H. Kanno, *J. Mol. Liq.*, 119 (2005) 189-193.
- [33] H. Kanno, M. Soga, K. Kajiwara, *Chem. Phys. Lett.*, 443 (2007) 280-283.
- [34] B. Zobrist, C. Marcolli, T. Peter, T. Koop, *J. Phys. Chem. A*, 112 (2008) 3965-3975.
- [35] R. W. Michelmore, F. Franks, *Cryobiology*, 19 (1982) 163-171.
- [36] S. Ganguly, K. S. Adisheshaiah, *Colloids Surf.*, 66 (1992) 105-111.
- [37] S. Gibout, A. Jamil, T. Kousksou, Y. Zéraoui, J. C.-Lasvignottes, *Thermochim. Acta*, 454 (2007) 57-63.
- [38] F. Franks, S. F. Mathias, K. Trafford, *Colloids Surf.*, 11 (1984) 275-285.
- [39] H. Kanno, R. J. Speedy, C. A. Angell, *Science*, 12 (1975) 880-881.
- [40] D. H. Rasmussen, A. P. MacKenzie, *J. Chem. Phys.*, 59 (1973) 5003-5013.
- [41] G. P. Johari, *J. Chem. Phys.*, 107 (1997) 10154-10165.
- [42] 豊島賢太郎著、ポバール、長野浩一、山根三郎、豊島賢太郎共編、高分子刊行会、1970、第3編のII、p 97-170。
- [43] F. Auriemma, C. D. Rosa, R. Ricciardi, F. L. Celso, R. Triolo, V. Pipich, *J. Phys. Chem. B*, 112 (2008) 816-823.
- [44] P. J. Willcox, D. W. Howie, Jr., K.S-Rohr, D. A. Hoagland, S. P. Gido, S. Pudjijanto, L. W. Kleiner, S. Venkatraman, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, 37 (1999) 3438-3454.
- [45] H. Takeshita, T. Kanaya, K. Nishida, K. Kaji, *Physica B*, 311 (2002) 78-83.
- [46] M. Komatsu, T. Inoue, K. Miyasaka, *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 24 (1986) 303-311.
- [47] T. Nakaoki, H. Yamashita, *J. Mol. Struct.*, 875 (2008) 282-287.
- [48] V. I. Lozinsky, I. Y. Galaev, F. M. Plieva, I. N. Savina, H. Jungvid, B. Mattiasson, *Trends Biotechnol.*, 21 (2003) 445-451.
- [49] M. C. Gutiérrez, Z. Y. G-Carvajal, M. Jobbágy, F. Rubio, L. Yuste, F. Rojo, M. L. Ferrer, F. D. Monte, *Adv. Funct. Mater.*, 17 (2007) 3505-3513.
- [50] J. L. Drury, D. J. Monney, *Biomaterials*, 24 (2003) 4337-4351.
- [51] N. A. Peppas, J. E. Scott, *J. Controlled Release*, 18 (1992) 95-100.
- [52] T. Hatakeyama, J. Uno, C. Yamada, A. Kishi, H. Hatakeyama, *Thermochim. Acta*, 431 (2005) 144-148.
- [53] C. Budke, T. Koop, *ChemPhysChem*, 7 (2006) 2601-2606.



- [54] T. Inada, S.-S. Lu, *Cryst. Growth Des.*, 3 (2003) 747-752.
- [55] T. Inada, P. R. Modak, *Chem. Eng. Sci.*, 61 (2006) 3149-3158.
- [56] T. Inada, S.-S. Lu, *Chem. Phys. Lett.*, 394 (2004) 361-365.
- [57] B. Wowk, *Cryobiology*, 50 (2005) 325-331.
- [58] B. Wowk, E. Leitzl, C. M. Rasch, N. M.-Karimi, S. B. Harris, G. M. Fahy, *Cryobiology*, 40 (2000) 228-236.
- [59] G. Blond, *CryoLetters*, 7 (1986) 95-102.
- [60] B. Wowk, G. M. Fahy, *Cryobiology*, 44 (2002) 14-23
- [61] C. B. Holt, *CryoLetters*, 24 (2003) 323-330.
- [62] X. Zhu, Q. Gao, D. Xu, Y. Xu, *J. Polym. Res.*, 14 (2007) 277-282.
- [63] 鈴木寛一著、食品の高機能粉末・カプセル化技術、古田武、村瀬則郎、安達修二、辻本進、中村哲也編、株式会社サイエンスフォーラム、第2部第3節、p 152-156。
- [64] H. J. Butt, K. Graf, M. Kappl, *Physics and chemistry of interfaces*, second, revised and enlarged edition. Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006, Chapter 12, p 265-299.
- [65] S. Okawa, A. Saito, R. Minami, *Int. J. Refrig.*, 24 (2001) 108-117.
- [66] L. H. Sperling, in *Introduction to physical polymer science (Fourth Edition)*, Wiley & Sons, Inc., 2006, Chapter 3.8, p 110-117.
- [67] M. Liu, R. Cheng, C. Wu, *Eur. Polym. J.*, 35 (1999) 1907-1910.
- [68] B. Le Neindre, B. Vodar, *Experimental Thermodynamics Volume 2 : Experimental Thermodynamics of Non-reacting Fluids*. London, Butterworth Chapter 17, 1975, Chapter 17-II, p 846-851.
- [69] M. Domenech-Carbo, B. Teresa, de la C-C. Giovanna, B-G. Juana, L-M.F ernando, del M. Maria J. Romero-Noguera, I. Martin-Sanchez, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 85 (2009) 480.
- [70] J. M. G. Lankveld, J. Lyklema, *J. Colloid Interface Sci.*, 41 (1972) 454-465.
- [71] M. Ohkura, T. Kanaya, K. Kaji, *Polymer*, 33 (1992) 3686-3690.
- [72] 庄清彦、川口正剛、*高分子論文集*、60 (2003) 300-304.

## 第 6 章

- [1] T. Suami, T. Otake, T. Ikeda, R. Adachi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 50 (1977) 1612-1615.
- [2] I. P.-Victoria, J. C. Morales, *Tetrahedron*, 62 (2006) 878-886.
- [3] Z. Szurmai, J. Kerégyártó, J. Harangi, A. Lipták, *Carbohydr. Res.*, 164 (1987) 313-325.
- [4] J. Chen, Y. Kimura, S. Adachi, *LWT Food Sci. Technol.*, 40 (2007) 412-417.
- [5] T. Raku, M. Kitagawa, H. Shimakawa, Y. Tokiwa, *J. Biotechnol.*, 100 (2003) 203-208.
- [6] M. Ferrer, M. A. Cruces, M. Bernabé, A. Ballesteros, F. J. Plou, *Biotechnol. Bioeng.*, 65 (1999) 10-16.
- [7] I. Söderberg, C. J. Drummond, D. N. Furlong, S. Godkin, B. Matthews, *Colloids Surf., A*, 102 (1995) 91-97.
- [8] P. M. Gonçalves, S. M. Roberts, P. W. H. Wan, *Tetrahedron*, 60 (2004) 927-932.
- [9] V. Pozsgay, H. J. Jennings, *J. Org. Chem.*, 53 (1988) 4042-4052.
- [10] P. Bault, P. Gode, G. Goethals, P. Martin, G. Ronco, L. Sychala, and P. Villa, *Communications Presentadas a Las*, 28, (1998) 305-311.

## 本論文に関する研究発表

### 主論文に関連する原著論文

- [1] S. Ogawa, S. Osanai, "Inhibition effect of sugar-based amphiphiles on eutectic formation in the freezing-thawing process of aqueous NaCl solution", *Cryobiology*, 54 (2007) 173-180.
- [2] S. Ogawa, M. Koga, S. Osanai, "Anomalous ice nucleation behavior in aqueous polyvinyl alcohol solutions", *Chemical Physics Letters*, 480 (2009) 86-89.
- [3] S. Ogawa, K. Asakura, S. Osanai, "Glass transition behavior of octyl- $\beta$ -D-glucoside and octyl- $\beta$ -D-thiogluconide/water binary mixtures", *Carbohydrate Research*, submitted.

### 国際学会発表

- [1] S. Ogawa, S. Osanai, "The Effect of sugar-based amphiphile on the aqueous electrolyte systems in the freezing thawing process", 23rd International Carbohydrate Symposium, British Columbia, Canada, July 2006.
- [2] S. Ogawa, S. Osanai, "The behaviors of the alkyl glycosides on electrolyte aqueous solutions", COE-LCC Keio Aachen Joint Symposium, Aachen, Germany, Oct 2006.
- [3] S. Ogawa, S. Osanai, "Lyotropic behavior of alkyl glucosides in the freeze-concentrated state in aqueous NaCl solution", Alberta, Canada, July 2007.
- [4] S. Ogawa, K. Asakura, S. Osanai, "Freeze-thawing behavior of the octyl- $\beta$ -D-glucoside/water system", 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Cryobiology, Sapporo, Japan, July 2009.
- [5] M. Koga, S. Ogawa, S. Osanai, "Anomalous ice nucleation behavior in aqueous polyvinyl alcohol solutions", 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Cryobiology, Sapporo, Japan, July 2009.

### 国内学会発表

- [1] S. Ogawa, S. Osanai, "The Effect of the Sugar-Based Surfactants on Aqueous-Electrolyte Systems in the Freezing-Thawing Process", 第44回日本油化学会, 神奈川, 2005.
- [2] 小河重三郎, 小山内州一, "NaCl水溶液の凍結・融解挙動における糖質系両親媒性化合物の添加効果", 日本化学会第86春季年会, 千葉, 2006.
- [3] 小河重三郎, 小山内州一, "電解質水溶液の凍結・融解過程におけるアルキルグリコシド

の添加効果”, 第 45 回日本油化学会, 千葉, 2005.

[4] 小河重三郎, “糖質誘導体の電解質挟み込み特性評価”, 第 2 回 慶應大×東工大合同 COE 若手フォーラム, 神奈川, 2006.

[5] 小河重三郎, 小山内州一, “凍結濃縮下におけるアルキルグリコシドの電解質取り込み挙動”, 日本化学会第 87 春季年会, 大阪, 2007.

[6] 小河重三郎, 朝倉浩一, 小山内州一, “アルキルグリコシド-電解質-水系の凍結濃縮下におけるリオトロピック特性”, 第 46 回日本油化学会, 京都, 2007.

[7] 前田真由子, 小河重三郎, 小山内州一, “トレハロースを親水部に導入した糖質系両親媒性化合物の合成と物性”, 第 46 回日本油化学会, 京都, 2007.

[8] 小河重三郎, 朝倉浩一, 小山内州一, “両親媒性糖質水溶液の凍結融解挙動”, 第 47 回日本油化学会, 東京, 2008.

[9] 古賀舞都, 小河重三郎, 小山内州一, “両親媒性トレハロース誘導体の相挙動”, 第 47 回日本油化学会, 東京, 2008.

[10] 小河重三郎, 朝倉浩一, 小山内州一, “両親媒性糖質誘導体水溶液の凍結融解挙動”, 日本化学会第 89 春季年会, 東京, 2009.

[11] 古賀舞都, 小河重三郎, 小山内州一, “W/O エマルション中の過冷却液滴の核生成温度に与えるポリビニルアルコールの添加効果”, 日本化学会第 89 春季年会, 東京, 2009.

[12] 小河重三郎, 朝倉浩一, 小山内州一, “オクチル-β-D-グルコシド水溶液系の凍結融解挙動に対する補足的状態図を用いた検討”, 第 48 回日本油化学会, 名古屋, 2009.

[13] 小河重三郎, 朝倉浩一, 小山内州一, “偏光顕微鏡を用いたオクチル-β-D-グルコシド水溶液系の凍結挙動の検討”, 第 48 回日本油化学会, 名古屋, 2009.

[14] 小河重三郎, 小山内州一, “アルキル-β-D-グルコシドのガラス転移挙動に与えるアルキル鎖長の効果”, 第 48 回日本油化学会, 名古屋, 2009.

[15] 総谷哲夫, 小河重三郎, 小山内州一, 朝倉浩一, “両親媒性ラフィノース誘導体を添加した塩化ナトリウム水溶液の凍結融解挙動の解析”, 名古屋, 2009.

## その他

[1] 2009 年 9 月 第 48 回 日本油化学会年会ヤングフェロー賞, 受賞.

[2] 2006 年 10 月 第 2 回 慶應大×東工大 若手フォーラム, COE 研究賞, 受賞.

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なご教授、ご鞭撻、ご指導を賜り、さらに多くの学会で発表させて頂く機会を与えて下さった慶應義塾大学理工学部の小山内州一教授に心より感謝し、深く御礼申し上げます。“何か面白い研究を行おうぜ”というお言葉は、私が研究を行う上での貴重な動機となり、ご指導頂いた7年間で、研究の真の面白さを知ることができました。

本研究を遂行するにあたり、中間報告会等や個人的なディスカッションを通じて数々の貴重なご意見を賜りました慶應義塾大学理工学部の朝倉浩一教授に深く感謝いたします。様々な“モノの”考え方について習得させて頂きました。

本論文の作成にあたり、数々の有益なご意見、ご指導を賜り、さらに示差走査熱量計(DSC)を始めとした数多くの分析装置をお貸し下さいました慶應義塾大学理工学部の松村秀一教授に深く感謝いたします。

本論文の作成ならびに文部科学省21世紀COEプログラム「慶應義塾大学・機能創造ライフコンジュゲートケミストリー(LCC)」における第2回若手フォーラムの開催にあたり、数々の有益なご意見、ご指導を賜りました慶應義塾大学理工学部の今井宏明教授に深く感謝いたします。

博士課程で研究を行うにあたり、文部科学省21世紀COEプログラム「慶應義塾大学・機能創造ライフコンジュゲートケミストリー(LCC)」にご支援いただきましたことに感謝の意を表します。

有意義な研究生生活を行う上で欠かせなかった小山内研究室、朝倉研究室の先輩方、同輩、後輩の皆様、慶應義塾大学の図書館司書、事務の方々に感謝いたします。

最後になりましたが、長期にわたる学生生活を支えて下さいました母京子に対し厚く御礼申し上げます。

2010年2月  
慶應義塾大学大学院理工学研究科  
基礎理工学専攻 生物化学専修  
有機物質化学研究室 小山内 G

小河 重三郎