

放射光を用いた 乳化物の単色X線CT解析

花王株式会社 BC研究センター ケアビューティ研究所
久米 卓志

花王製品の紹介



花王製品(化粧品など)



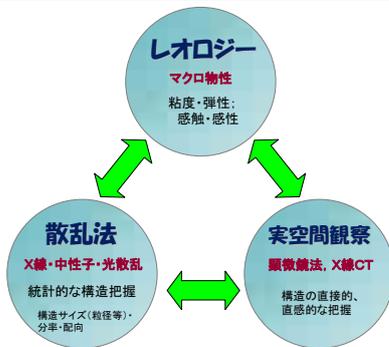
これらの製品には、
水と油と界面活性剤を用いた
乳化物(Emulsion)が応用されて
いる場合が多い。
(世の中では、医薬品や食品などでも)

化粧品の開発に必要な要素



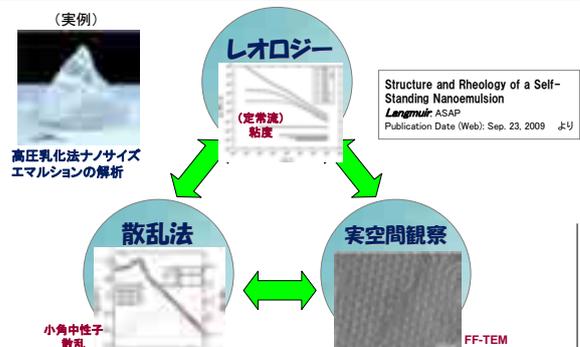
・これらを確認していくためには、対象物の物性や内部構造の情報が不可欠

物性や構造の情報を得るには



・互いに相補的であり、組み合わせることにより詳細に構造の把握が可能となる

物性や構造の情報を得るには



・互いに相補的であり、組み合わせることにより詳細に構造の把握が可能となる

物性や構造の情報を得るには

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

レオロジー

マクロ物性

粘度・弾性:
感触・感性

散乱法

X線・中性子・光散乱

統計的な構造把握

構造サイズ(粒径等)・
分率・配向

実空間観察

顕微鏡法, X線CT

構造の直接的、
直感的な把握

本発表のX線CTは
実空間観察法の
新しい可能性を
有するもの

互いに相補的であり、組み合わせることでより詳細に構造の把握が可能となる

2008.12.22

背景・目的

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

目的 乳化物の構造解析により化粧品や医薬品の安定性や有効性、感触といった物性・機能に関する重要な情報を得る。

従来の乳化物観察法・

直接的観察(実空間測定法): 光学顕微鏡や電子顕微鏡等
統計的観察(逆空間測定法): 光散乱やX線散乱等

課題 乳化物として最も一般的な数 μm ~数百 μm の構造観察の課題の例として・

- ・粒径・形状測定が困難
- ・試料が厚い/高温の場合、粒子が重なったり白濁したりする。
- ・試料厚を薄くすると油滴等の内部構造が押し潰されることがある。
- ・試料を希釈すると粒子の合一・破壊など起こることがある。

乳化物粒子の構成成分を同定できない

- ・系の内部構造に影響を与えにくい
- ・非破壊計測である
- ・3次元でのその場観察が可能

}

という技術である**X線CT測定**を検討した

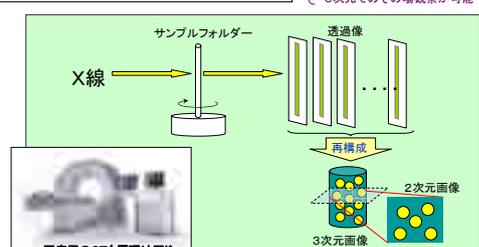
2008.12.22

X線CTとは

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

X線CT (Computed Tomography) とは

- ・系の内部構造に影響を与えにくい
- ・非破壊計測である
- ・3次元でのその場観察が可能



..医療用のCTも原理は同じ

しかしながら、現在汎用CTで観察対象とされている系は、

- ・X線吸収係数の差の大きな成分をもつ物質(電子部品(金属とプラスチック)や生体(骨と筋肉組織))
- ・観察サイズ(分解能)はmmスケール以上

が一般的である。

2008.12.22

放射光 (SPring-8) の利用

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

乳化物などのソフトマターのX線CT測定・解析の研究はあまり例がない

(理由)

- ・X線吸収係数の差が小さく、コントラストが低い
- ・ μm サイズの粒子を観測するための分解能不足
- ・粒子移動(対流)の影響

⇒ 測定が困難

放射光を用いた単色X線CT装置での測定
SPring-8 ビームラインBL-20XUを利用

SPring-8の利点 (市販X線装置と比較して)

- ・高輝度光源
- ・測定時間の短縮
- ・単色光
- ・定量的な線吸収係数の計測可(成分の同定)
- ・幅広いエネルギー範囲
- ・軽元素にもコントラストのあるX線波長を選択可

2008.12.22

SPring-8全体像と使用ビームライン

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

場所: 兵庫県佐用郡



使用ビームライン: BL20XU

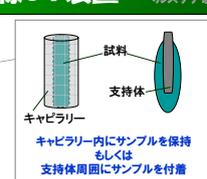
2008.12.22

SPring-8 (BL-20XU) X線CT装置

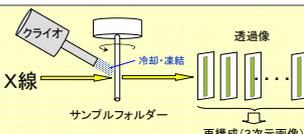
第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会



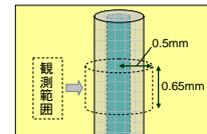
測定装置(フォルダー周り)



試料の保持方法



測定装置(フォルダー周り)



観測範囲

透過像測定枚数 : 900枚 (2000x2000pixels; 0.2°/枚)

測定時間 : 15分間

再構成・解析 : JASRI作成のプログラムを使用

2008.12.22

X線のエネルギー(波長)と輝度(FLUX)について 第8回 SPring-8 ヘルスケア研究会

光子(電磁波の粒子性)

物質による電磁波の吸収は、ミクロ的には物質中の原子・電子にエネルギーを与える現象
⇒電磁波が電子1個に与えるエネルギーは

$$E = h\nu \quad h: \text{プランク定数}$$

$$\nu: \text{電磁波の周波数}$$

エネルギーの塊を粒子の一種(光子: photon)と考えると、波長と光子エネルギーの関係は

$$E = \frac{ch}{\lambda} \quad c: \text{光速}$$

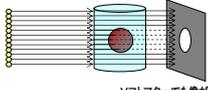
$$\lambda: \text{電磁波の波長}$$

$$E[\text{keV}] = \frac{1.23987}{\lambda[\text{nm}]}$$

(E: keV, nmの単位で表すと)

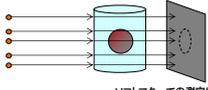
X線のエネルギーと輝度(FLUX)

SPring-8のX線は、
エネルギーは低い: 低元素を透過しにくい
輝度は高い: 測定時間は短い



ソフトマターでも像が得られる

市販装置のX線は、
エネルギーは高い: 低元素を透過しやすい
輝度は低い: 測定時間は長い



ソフトマターでの測定には不利

2008.12.22

実験サンプル(モデル乳化物処方) 第8回 SPring-8 ヘルスケア研究会

OWエマルジョン

		%
水相	油剤 ⁽¹⁾	10.00
	ポリアクリル酸系増粘剤 ⁽²⁾	0.60
	中和剤(KOH)	0.36
	水	89.04
計		100.00

(1) 油剤: hexadecane and/or Br-hexadecane
(2) アクリル酸・メタクリル酸アルキル共重合体 (Lubrizol社 PEMULEN TR-1)

W/Oエマルジョン

		%
油相	シリコンオイル ⁽³⁾	10.50
	シリコン系界面活性剤 ⁽⁴⁾	7.00
水相	グリセリン	5.00
	エタノール	3.50
	硫酸マグネシウム	1.00
	水	73.00
計		100.00

(3) 信越化学 KF-96A-6cs
(4) 部分架橋型ポリエーテル変性シリコーン (信越化学 KSG-210)

ポリアクリル酸系増粘剤+水

RT

↓

KOH+水

↓

せん断(ハネ: 200rpm)

↓

油剤

↓

せん断(ハネ: 200rpm)

シリコンオイル

RT

↓

シリコン系界面活性剤

↓

せん断(ハネ: 200rpm)

↓

水相

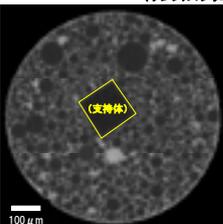
↓

せん断(ハネ: 200rpm)

⇒ エマルジョン作製の1ヶ月後にX線CT測定を実施 2008.12.22

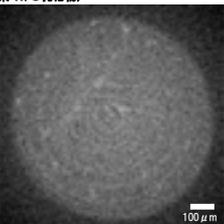
SPring-8と市販X線CT装置の比較 第8回 SPring-8 ヘルスケア研究会

(サンプル: シリコーン/水系 W/O乳化物)



SPring-8 BL-20XU

- ・サンプル保持方法: ナイロン製支持体使用
- ・クライオ凍結装置使用 (I25K)
- ・使用X線エネルギー: 8keV(単色光)
- ・測定時間・投影数: 15分・900投影



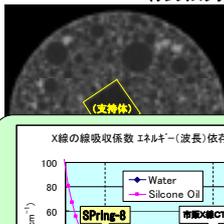
市販X線CT装置
(株式会社エレクトラ製ELESKAN)

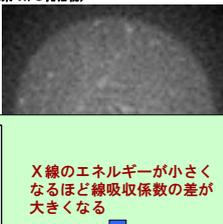
- ・サンプル保持方法: ポリカーボネート製キャビラー使用
- ・室温測定
- ・使用X線エネルギー: 分布あり(5-30keV; 中心20-25keV)
- ・測定時間・投影数: 1時間・600投影

SPring-8での単色X線CT装置による測定の方が
明瞭な像が得られている。 2008.12.22

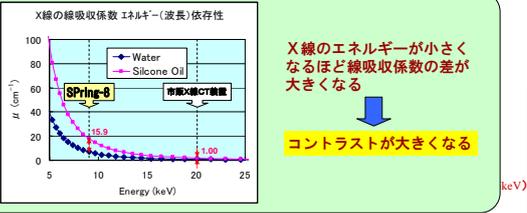
SPring-8と市販X線CT装置の比較 第8回 SPring-8 ヘルスケア研究会

(サンプル: シリコーン/水系 W/O乳化物)





X線の線吸収係数 エネルギー(波長)依存性



(keV)

X線のエネルギーが小さくなるほど線吸収係数の差が大きくなる

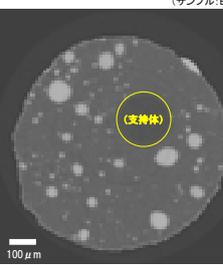
↓

コントラストが大きくなる

SPring-8での単色X線CT装置による測定の方が
明瞭な像が得られている。 2008.12.22

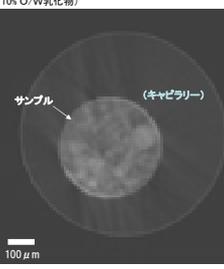
室温測定と凍結(クライオ使用)測定の比較 第8回 SPring-8 ヘルスケア研究会

(サンプル: Br-hexadecane 10% O/W乳化物)



室温測定

- ・サンプル保持方法: 支持体使用
- ・クライオ凍結装置使用 (I25K)

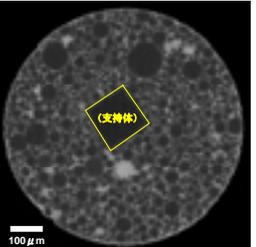


凍結測定
(キャビラリー)

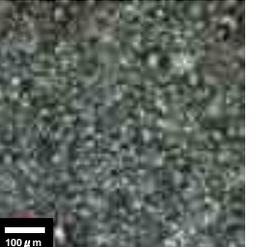
- ・サンプル保持方法: ポリカーボネート製キャビラー使用
- ・室温測定

室温では対流と思われるサンプルの移動のため、明瞭な再構成像が得られない 2008.12.22

W/O型乳化物の測定例 第8回 SPring-8 ヘルスケア研究会



W/O乳化物の再構成スライス像



W/O乳化物の光学顕微鏡像

(サンプル: シリコーン/水系 W/O乳化物)

- ・粒子が重なっていない (厚み0.5 μmの2次元像)
- ・粒子(水相)と外相(油相)のコントラストがほぼ一定
- ・外相(油相)中にゲル状構造の存在がわかる (部分架橋型ポリエーテル変性シリコーン)

- ・粒子が重なって見えている (焦点深度>粒子径)
- ・粒子に明暗があり、コントラストが一定でない
- ・外相(油相)中のゲル状構造の有無は不明確

X線CT測定の方が明瞭な像が得られている。 2008.12.22

W/O型乳化物の測定例

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

W/O乳化物の再構成スライス像

100 μm

W/O乳化物の光学顕微鏡像

100 μm

(サンプル:シリコン/水系 W/O乳化物)

- 粒子が重なっていない (厚み0.5 μmの2次元像)
- 粒子(水相)と外相(油相)のコントラストがほぼ一定
- 外相(油相)中にゲル状構造の存在がわかる (高圧凍結処理による非破壊凍結)

← 粒径が測定可能 (なるべく焦点深度>粒子径)

← 成分同定が可能 (コントラストが一定でない)

← 外相(油相)中のゲル状構造の発現は不明確

X線CT測定のほうが明瞭な像が得られている。

2008.12.22

W/O型乳化物の測定例

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

W/O乳化物の再構成スライス像

100 μm

3D再構成画像

(サンプル:シリコン/水系 W/O乳化物)

↑

外相(油相)を残して表示

2008.12.22

W/O型乳化物の測定例

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

W/O乳化物の再構成スライス像

100 μm

3D再構成画像

(サンプル:シリコン/水系 W/O乳化物)

↑

内相(水相)を残して表示

2008.12.22

構造の体積分率(水相比率)の計測

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

(サンプル:シリコン/水系 W/O乳化物)

W/O乳化物のX線CT再構成スライス像

100 μm

↓

3D画像

この図では100~200枚目の100枚分

空隙率(=水相比率)計算

2値化処理

ノイズ(孤立点)除去

↓

頻度(ヒストグラム)積算処理

	計算値	配合量
水相比率	83.2%	82.5%

再構成画像より内部構造の体積分率の計測が可能

2008.12.22

O/W型乳化物の測定例

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

O/W乳化物の再構成スライス像

50 μm

3D再構成画像

(サンプル:Br-hexadecane 10% O/W乳化物)

2008.12.22

線吸収係数と成分同定

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

(サンプル:Br-hexadecane 10% O/W乳化物)

50 μm

線吸収係数(cm⁻¹)

線吸収係数計算値 (at 8keV)
Br-hexadecan 25.5cm ⁻¹
水相 10.3cm ⁻¹

再構成画像より得られたX線の線吸収係数が配合成分の線吸収係数の計算値にほぼ一致 → 内部構造の成分同定が可能

2008.12.22

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

粒径解析

W/O乳化物の再構成スライス像

この粒子の粒径を測定

(支持体)

100 μm

(サンプル:シリコーン/水系 W/O乳化物)

粒径: 45.3 μm

粒子が球形であれば、最大の断面のスライス像から粒径が推定できる

2008.12.22

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

粒径解析

(サンプル: Br-hexadecane 10% O/W乳化物)

この粒子の粒径を測定

3軸不等楕円体近似による粒径測定

楕円体の3軸長さ

- 36 μm
- 37 μm
- 47 μm

約33000 μm³

3軸不等楕円体近似をした油滴粒子のポリゴンデータ (鳥瞰図)

再構成画像より内部構造の3次元サイズの計測が可能

2008.12.22

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

油を混合したエマルションの観察

油剤量10% O/Wエマルション

油剤: Br-hexadecane/hexadecane混合系 (C16Br)

C16=0% 25% 50% 75% 100%

滴の吸収係数

水相の吸収係数

C16Br: C16Br 比 57:43

C16: C16Br 比 0:100

C16Br: C16Br 比 87:33

C16: C16Br 比 90:50

画素値(線吸収係数)より計算して組成比を推定

C16BrとC16は相溶液であるにも関わらず、吸収係数が異なる液滴が観察された。

2008.12.22

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

まとめ

SPring-8にてモデル乳化物を用いた単色X線CT測定を実施した。

- ・クライオによる凍結法を用いることで、市販装置では困難な乳化物のX線CT測定が可能となった。
- ・測定した乳化物のCT再構成画像から、内部構造の3次元計測や成分同定が可能であることを示せた。

これらは、今後、化粧品や医薬品の開発だけでなく、より広く材料物性解析にも非常に有効な手法となることが期待される。

- ・しかしながら、現状では凍結時のアーティファクトも散見され、乳化物等のソフトマター系のX線CT解析には、凍結固定条件の工夫などの検討が必要である。

2008.12.22

第8回 SPring-8
ヘルスケア研究会

謝辞

この研究における放射光実験は、(財)高輝度光科学研究センターにより承認された重点産業利用課題(2007A1894, 2007B1797, 2008A1798)として実施しました。

また、この研究は以下の方々との共同で行いました。

(花王ケアビューティ研)	(高輝度光科学研究センター)
織田政紀 博士(*)	八木直人 博士
岸本裕子 氏	上杉健太郎 博士
吉田友和 氏	鈴木芳生 博士
長澤英広 氏(*)	竹内晃久 博士
川田裕三 氏	
岡田隼二 氏	
佐野友彦 博士(**)	

(*) 花王(中国)研究開発中心有限公司
(**) 花王 生物研

なお、市販X線CT装置での測定には、**京都工業繊維大 陣内浩司 准教授**および研究室の方々のご協力をいただきました。

2008.12.22