松本幸雄

Methods for Preparing Liquid/Liquid Type Multiple-Phase Dispersions

Sachio Matsumoto

This article reviews the work on the technique for preparing a variety of liquid/liquid type multiple-phase dispersions. The major contents are divided into three sections: principle for obtaining multi-lamellar and single compartment liposomes, two-step procedure for emulsification in preparing the water-in-oil-in-water (W/O/W) type multiple-phase emulsions by use of liquid paraffine and ordinary emulsifying agents, and application of the two-step procedure for providing liposome-like lipid vesicle suspensions composed of the mixture of purified soy lecithin and Span 80.

1. はじめに

ニュートン液体やフック固体のように、頭の中で理想化された物体を除いて、実在するあらゆるものはそれぞれ個有の成分をもち、個有の性質と機能を備えている。したがって、多くの場合に、われわれは未知の物体に対しその構成々分について興味をもち、その成分によってそのものの性質や機能を理解しようとする。自然科学の学習においてつちかわれたわれわれこのような態度は、分析された要素に単純な加成性になりたつところの線形の科学に基盤を置いたものである¹⁾。ところが、哺乳動物の血液と筋肉のそれぞれの成分を比較してみると、余程精度の高い要素分析の結果を持たない限り、そこに大きな差異を認めることはできない。

これは極端な例には違いないが、多くの成分組成を有するもの程、その性質や機能は成分の組織形態、すなわち分散状態との関連において考察されることが必要になる。生体膜に関する研究においてその典型の一つを見ることができるが^{2,3)}、生体系に限らず化粧品や食品等でもそれらの物理学的性質は、成分の分散状態に関する知見にもとづいて解釈されなければならない部分がきわめて多い⁴⁾。しかも、その多くは多成分不均一混合系であって、その分散状態を多相平衡のような概念だけで理論的

に演繹することは困難な非線形の系なのである。

筆者は、このような問題を取り扱うとき、可及的に純粋な成分を用いて単純なモデル系を人工的に組み立て、実験によって得られたモデル系の諸性質をその分散状態と対比させることが、複雑な分散系の挙動を説明するのに近似的に有用であることを指摘してきた^{5,6,7)}。この意味から、本稿で筆者に課せられた多相型液／液分散系の調製法に関する記述も、その内容は筆者が参考にし、あるいは自ら作製することを意図してきたモデルとしての分散系に関するものであり、そのいずれもが通常のエマルジョンとは異なった三相以上のいわゆる小胞体構造のものである。そして、これらの系がモデルとしてどの程度有用であるかを明らかにすることは、筆者自身の今後の課題でもある。なお、多相型分散系の一つである W/O/W 型エマルジョンが、すでに医学・薬学の分野で動物実験における薬剤投与に利用されているとする指摘もあるが⁸⁾、未だ本質の十分明らかでない系を実際の応用の場に引き出すのは筆者の立場ではない。

2. リポゾーム

生体成分の中には界面活性を有するものが少なくないが、就中磷脂質については1960年代に入ってから生物学の分野で多くの研究が行なわれた材料である。すなわち、生体としての多くの重要な機能が営まれていると考えられる生体膜の主成分が、種々の磷脂質で構成されているからである。磷脂質そのものの性質に関する研究と同

大阪府立大学農学部，堺市百舌鳥梅町
Department of Agricultural Chemistry, College
of Agriculture, University of Osaka Prefecture,
Mozu-umemachi, Sakai, Osaka, Japan 591

時に、これを用いて生体膜のモデルを調製する試みも行なわれた。その一つが、花井ら⁹⁾ および Mueller や Tien ら¹⁰⁾ によって調製された脂質の黒膜 (Black lipid membrane) であり、他のものが Bangham 一派¹¹⁾ によって、作られたリポゾーム (Liposome) である。特に、後者は、実在の生体顆粒に匹敵するような形態のものであることから、種々の生物実験における材料として利用されている¹²⁾。

磷脂質の成膜性は、その状態図から理解することができる。Fig.-1 は、Chapman ら¹³⁾ が得た合成のジパルミトイルホスファチジルコリンの水との2成分系における状態図であるが、一般に磷脂質の結晶を加熱していくと、結晶が融解して等方性の液体に変化するまでに、異方性の液晶状態があらわれる温度領域が存在することがわかる。この温度領域で、磷脂質の脂肪酸部分は融けた状態にあるが、ヘッドグループと呼ばれる親水性部分は2方向に規則的に配列しており、全体としてスメクト型中間相 (Smectic mesophase) に分類される状態にある。このような系に少量の水を加えると、分子相互の規則的配列を乱すことなく水はヘッドグループ間に入り込む、これが mesomorphic lamellar 相である。このまま温度を下げると、磷脂質の脂肪酸部分は結晶化するが、水を分離することはない。これがゲル相である。いっぽう、mesomorphic lamellar 相にさらに水を加えていくと、ゲル相への遷移温度は低下し、やがて一定になると同時に相分離が生じ、mesomorphic lamellar と水との混合状態があらわれる。

Fig.-1 Phase diagram of the 1,2-dipalmitoyl-L-phosphatidylcholine/water system¹³⁾.

Fig.-2 は、水中に分散した lamellar 相の一つを、ユニバー研究所の電顕グループが freeze etching に

より撮影した電顕像で、円環状の幾重もの lamella が一個の粒子を形成している状況がわかる。これが、多重層リポゾーム (Multilamellar liposome) と呼ばれているもので、この lamellar 相の中の一枚の lamella が、磷脂質の2分子膜からなる膜モデルの実体である。

Fig-2 Electronmicrograph of a multilamellar liposome prepared from egg lecithin.

多重層リポゾームは、容易に調製することができる。すなわち、溶媒に溶解させた磷脂質を減圧下に置いて溶媒を揮散除去すると、磷脂質の各分子は容器の内面で2方向に配列した累積膜を形成する。これに電解質水溶液を加え、窒素気流中で振とうすると、累積膜はそのヘッドグループ間に水溶液を取り込んで膨潤し、やがて器壁から順次遊離して多重層リポゾームのサスペンションが生成する。Fig.-2 からも示唆されるように、その層状構造には幾重もの水の相が介在するので、多重層リポゾームのサスペンションは、多相型液/液分散系の一典型であると見なすことができる。

このサスペンションを、さらに窒素気流中で超音波処理すると (例えば、4°C において 20kHz の超音波を約2時間照射)、多重層リポゾームの大部分は一枚膜リポゾーム (Single compartment liposome) と呼ばれる小胞体に変化する。その一個については、一枚の脂質2分子膜に囲まれた直径が 200~600 Å 程度の水の小胞体であって、形は多様である。超音波処理の終ったリポゾームのサスペンションを、例えばセファロース 4 B のカラムに通すと、大きさのほぼ一様な一枚膜リポゾームのフラクションを得ることができる。同時に、小胞体の内部と外部とで組成の異なる水相を設定することが可能であ

るから、このような系を利用して、脂質2分子膜を種々の物質が拡散し透過する状況が観測されるようになっていく¹⁴⁾。いっぽう、小胞体としてはきわめて小さく、非球形であるという形態は、モデル系としては不利な面もあるように思われる。

3. W/O/W 型多相エマルション

一枚膜リポゾーム系において、微細な小胞体を構成する脂質2分子膜は、その状態が平衡にあるので、膜面の大きな曲率の問題を除くと一応熱力学的に安定な系であると考えられる。これに対し、筆者は、通常の乳化操作によって成分的にも形態的にも通常のエマルションと同等の状態の小胞体構造を形成させるための条件を検討することを意図した。通常の乳化操作で多相エマルションが偶然に現れることが見出されているが¹⁵⁾、その機構については不明確であるからである。また、熱力学的には不安定な分散系一般の特質に照らして、多相エマルションのモデルとしての有用性があると考えたからである。

Fig.-3 Two-step procedure for emulsification in preparing the W/O/W type multiple-phase emulsion¹⁶⁾.

そこで、形態的には一枚膜リポゾームに相当するところの、油膜に囲まれた一個の水の小胞体が水中で個々の分散粒子を構成するような系を高生成率で調製することを試みるために、予備実験の結果から以下のような手順を決めた¹⁶⁾。

まず乳化法について、最初に通常の W/O 型エマルションを調製する（一次乳化）。すなわち、親油性乳化剤を含む油相の一定量に、小胞体内部の成分となるべき水相（内水相）の所定量を徐々に添加しながら攪拌を続ける。この攪拌はどのような装置で行なってもよいが、流動パラフィンのように粘度の高い油に水を分散させるとき、筆者らは低速回転のピンミキサー（88 rpm）を使用した。ついで、得られた W/O 型エマルションを、小胞体の分散媒（外水相）となるべき親水性乳化剤

水溶液と混合し、高速の攪拌機（2000 rpm～3000 rpm）を用いて空気の混入を防ぎながら数分間攪拌する（二次乳化）。以上が二段階乳化法¹⁶⁾と呼んでいる W/O/W 型多相エマルションの調製法であって、特別の技術や装置を必要としない簡単な方法である。Fig.-3 に、二段階乳化法を模式的に示した。

つぎに、この実験を進める上で重要であるのは、二段階乳化法で成分の種類や量を変えて試料を調製しながら、目的とする小胞体の生成率を正確に測定しなければならないことである。そのため、筆者らが考えたのは、ブドウ糖をマーカーとしてその内水相から外水相への移行量を求める方法であった。すなわち、一次乳化の際、

Fig.-4 Schematic illustration of dialysis in measuring the formation of the W/O/W type multiple-phase emulsion. A : Migrated glucose from the inner aqueous-phase globule, B : Inner aqueous-phase globule, C : Outer aqueous-phase, D : Oil layer, E : Oil globule appearing after the rupture of the oil layer¹⁶⁾.

油中に分散させる水相にあらかじめ 0.5% のブドウ糖を溶解しておき、二次乳化が終了した直後の試料の一部を一定量の蒸留水に対して透析し、透析平衡に達したのち蒸留水の一部についてそこに存在するブドウ糖の量を、Nelson-Somogyi の方法¹⁷⁾で分析する。このようにして得られたブドウ糖の量が $a \text{ g/ml}$ であったとすると、W/O/W 型多相エマルションの生成率はつぎのように計算される。

$$\text{生成率}(\%) = 100 - 100 a / [c(v_1 + v_2 + v_3)] \quad \cdots (1)$$

ここに、 c は透析に用いられた試料に含まれるブドウ糖量 (g), v_1 , v_2 , v_3 は同じく透析に用いられた試料中の内水相体積 (ml), 外水相体積 (ml), および蒸留水の体積 (ml) である。Fig.-4 に、この方法が模式的に示さ

れている。

なお、生成した W/O/W 型多相エマルジョン系の小胞体の油膜の厚さは、一枚膜リポゾームの場合と異なり、一次乳化に使用した油相成分の量に比例して変化する筈であるので、つぎのように考えて油膜の厚さの平均値を推定した。すなわち、二次乳化の際、W/O 型エマルジョンの連続相であった油相成分が分散相である水粒子の大きさに比例してその表面に分配されるとすると、W/O 型エマルジョンの分散相体積分率 $\phi_{W/O}$ はつぎのように計算される。

$$\phi_{W/O} = \bar{D}^3 / (\bar{D} + 2\bar{d})^3 \quad \dots\dots\dots (2)$$

ここに、 $\bar{D}$ は小胞体になる分散粒子の平均直径、 $\bar{d}$ は二次乳化によって小胞体表面に形成された油膜の厚さの平均値である (Fig.-3 参照)。したがって、

$$\bar{d} = [(\bar{D}^3 / \phi_{W/O})^{1/3} - \bar{D}] / 2 \quad \dots\dots\dots (3)$$

$\phi_{W/O}$ の値は一次乳化の際に人為的に正確に調節されるので、油膜の厚さもかなり任意に調整することが可能である。

さて、筆者らは、油相に流動パラフィンを、乳化剤に合成界面活性剤を用いて W/O/W 型多相エマルジョンの調製を試みた。その結果¹⁰⁾を要約すると、つぎのようである。

- 1) 親油性乳化剤として、Span 20 ないし Span 80 が有効であり、その使用量が多い程 W/O/W 型多相エマルジョンの生成率が向上する。
- 2) 親水性乳化剤には、ポリオキシエチレン系の非イオン性界面活性剤を可及的に少量使用することが高い生成率を得るために必要であって、イオン性界面活性剤はその使用量にかかわらず良い結果を与えない。
- 3) 二次乳化の際、親水性乳化剤水溶液と混合する W/O 型エマルジョンの量が相対的に多い程、試料の生成率は良い。
- 4) 以上の諸条件が具備されると、W/O/W 型多相エマルジョンの生成率と油膜の厚さとは無関係であり、約 300 Å の厚さの油膜を有する試料を、95 % 以上の生成率で得ることもできる。

これらの結果を総合すると、W/O/W 型多相エマルジョンの生成に対する要因の一つは、使用した親油性乳化剤と親水性乳化剤の量比であることに気付く。Fig.-5 は、Span 20 と Tween 20 との組み合わせを用い、種々の条件で調製を試みた W/O/W 型多相エマルジョンの生成率を、Span 20 の Tween 20 に対する重量比で整

Fig.-5 Plot of the W/O/W emulsion formation against the weight ratio of Span 80 to Tween 20 in the W/O/W systems, calculated from the constitution of various W/O/W emulsion samples¹⁰⁾.

理した結果である。Fig.-5 から明らかなように、この乳化剤の組み合わせでは、油膜の厚さや小胞体の分散相濃度には無関係に、系全体の中で親水性乳化剤である Tween 20 の1部に対し親油性乳化剤である Span 20 が10部以上含まれると、目的とする試料の生成率は90 % 以上に達する。これと同様な傾向は、Fig.-6 に示され

Fig.-6 Plot of the W/O/W emulsion formation against the weight ratio of Span 80 to the nonionic emulsifying agents in the W/O/W systems¹⁰⁾.

るように、他の一連の親水性乳化剤を用いた場合にもみられるが、90 % 以上の試料生成率を得るための親油性乳化剤との重量比は、親水性乳化剤の疎水基の種類と鎖長とに関係があることが示唆される。

これに対する筆者らの解釈は、定性的ではあるがつぎのようである。すなわち、二次乳化の際、小胞体表面に

形成される液状の油膜の外側は親油性・親水性両乳化剤の混合膜で覆われると同時に、親水性乳化剤のミセル水溶液である外水相と接することになる。したがって、以後可溶化平衡に達するまで、親油性乳化剤は親水性乳化剤と混合ミセルをつくり、油相から外水相へ移行する。この現象が顕著であると、小胞体表面における油膜状態の保持能力が失われ、結局小胞体の生成率は低下する。このような二次乳化における過渡的な現象が試料の生成率に影響するか否かは、油相中の親油性乳化剤と外水相中の親水性乳化剤の量比によって支配されると考えられるのである。

なお、生成率の高い多相エマルションでも、その広大な油／水界面の界面積を小さくする方向への変化、すなわち熱力学的に不安定な系であることにもづく油膜の破壊が、必然的に連続して生じる。筆者らは、多相エマルションの小胞体構造の持続性を測定する方法を検討し^{18,19)}、持続性の機構について考察を行なっている。また、内水相にあらかじめ水溶性物質を添加しておく、厚い液状の油膜を介して内外水相間に浸透圧が作用する現象も見い出されている²⁰⁾。これには、両乳化剤のミセルが、物質移動の担体として重要な役割を果たしている状況が考えられる。

いっぽう、可食性の W/O/W 型多相エマルションを、オリーブ油、大豆レシチン、Span 80 および蔗糖脂肪酸エステルを用いて、二段階乳化法により調製できることが最近明らかにされたが²¹⁾、その詳細は他の機会に述べる。

4. 脂質小胞体サスペンション

前述のように、一枚膜リポゾームは、生体膜モデルとしての特質を備えた生物学実験上有用な材料であるが、いっぽうではきわめて微少な非球形の小胞体であることによる欠点をもつ。このことから、筆者らは、リポゾームとしての機能をもつと同時に通常のエマルション粒子の大きさを有する球形脂質小胞体を、簡単な W/O/W 型多相エマルションの調製法を改良して作製することを試みた²²⁾ (Fig. -7)。

この実験に用いた材料は、脂質膜成分として溶媒分画法²³⁾により精製された大豆レシチン、同じく Span 80、脂質の溶媒および W/O 型エマルションの分散媒としての n-ヘキサン、脂質小胞体の分散剤としての一連の親水性界面活性剤等である。これらのうち、n-ヘキサンと親水性界面活性剤は、試料調製の過程で必要ではあるが脂質小胞体を構成する成分ではなく、いずれも調製の途

Fig.-7 Schematic diagram of the procedure for preparing the lipid vesicle systems²²⁾

中の段階で除去される。すなわち、適当量の n-ヘキサンに所定量のレシチンと Span 80 を溶解し、これに小胞体の成分となる水を少量づつ添加しながら攪拌して W/O 型エマルションとする。この操作は一次乳化に相当するものであるが、攪拌は高速で行なう必要がある。得られた W/O 型エマルションを、ロータリーエバポレーターのなす型容器に移し、減圧下に置いて n-ヘキサンを除去する。このとき、n-ヘキサンの蒸発の潜熱によって、試料の温度が低下するのを防ぐようにする。やがて、W/O 型エマルションは、脂質混合物中に水粒子が分散したスラリー状ないしは粘稠なクリーム状のものに変化する。ついで、このものを親水性界面活性剤水溶液の所定量と混合し、脂質小胞体のサスペンションとする。その一部を小胞体生成率測定用試料とし、残部を蒸留水に対して十分に透析し、剰余の界面活性剤を系外に除去すると、リポゾームと同等の脂質小胞体サスペンションが得られることになる。この場合、小胞体の脂質膜は lamellar 構造を有している筈であり、したがってリポゾームと同じ理由により、この小胞体はきわめて安定な状態を保持すると考えられる。Fig.-8 は、上記の透析操作において、脂質小胞体内部にあらかじめ溶解しておいたブドウ糖が透析外液へ移行する量を、W/O/W 型多相エマルションのそれと比較したもので、5 日間の透析に対し脂質膜の破壊によるブドウ糖の透析外液への移行は認められない。なお、小胞体の生成率の測定には、W/O/W 型多相エマルションの項で述べた方法をそのまま用いた。

Fig.-8 Cumulative amounts of glucose which migrated from the dispersed aqueous compartments in a lipid vesicle sample compared to those in a W/O/W emulsion as a function of aging (suspending medium: aqueous solution of 10mM Tween 80, $\bar{d}$: 83 Å for lipid vesicle sample and 350 Å for W/O/W emulsion when $\bar{D} = 1 \mu\text{m}$)²²⁾.

以上の材料および手順によって、脂質小胞体の生成率に対する要因を検討した結果は、つぎのようである。一次乳化ののち、減圧下で W/O 型エマルジョンの分散媒である n-ヘキサンを除去したとき、均一な持続性のあるスラリー状の水/脂質混合物分散系を得ることが、最終的に高い生成率の試料を得るのに必要な条件であり、そのためには小胞体の脂質膜成分となるレシチンと Span 80 との混合比に最適値を選ばなければならない。

Fig.-9 は、脂質小胞体の生成率におよぼすレシチンと Span 80 との混合比の影響を調べた結果であり、90%以上の試料生成率を得るためには、上記両脂質成分の重量

Fig.-9 Effect of the weight fraction in the lipid mixture of soy lecithin to Span 80 on the formation of the lipid vesicle sample (suspending medium: aqueous solution of 10 mM Tween 80, $\bar{d}$: 590 Å when $\bar{D} = 1 \mu\text{m}$)²²⁾.

分率を 0.35 から 0.65 の範囲に設定しなければならないことがわかる。この範囲の組成を有する脂質混合物は、膜状態において高い力学的強度を有するものと考えられる²⁴⁾。他の要因には、二次乳化の操作に相当するところの、脂質小胞体サスペンションの調製の際に使用する親水性界面活性剤の種類と濃度の問題がある。**Tale-1** は、この操作に用いた界面活性剤の種類と濃度および脂質小胞体の生成率の関係をまとめたもので、W/O/W 型多相エマルジョンの場合と同様、界面活性剤濃度の減少とともに試料生成率は増加し、最適値を越えてさらにその濃度が減少すると小胞体の分散が劣化するが、この場合イオン性の界面活性剤も使用できることが多相エマルジョン系の場合と異なる点である。なお、二次乳化後の透析によって、親水性界面活性剤がどの程度除去されるかについては、未だ正確な測定を行っていないが、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を用いて調製し、2 日間透析した試料について誘電測定が行なわれた結果、SDS の残存は認められていない²⁵⁾。

Table-1 Effect of type and concentration of the hydrophilic surfactants used for dispersing the water-in-lipid mixture system into water on the formation of the lipid vesicle samples (weight fraction of lecithin to Span 80 : 0.5)²²⁾.

Concentration of surfactant in the aqueous medium (mM)	Vesicle formation (%)				
	SDS	CTA-Br*	POE**	Twe en80	Na-Chl oro***
2.5	98	85	—	—	—
5	98	79	—	90	97
10	53	69	99	96	94
20	0	47	98	90	—
30	0	36	97	79	—
40	0	5	55	19	—
50	0	11	34-83	10	—

* Cetyl trimethyl ammoniumbromide

** Polyoxyethylene oleyl ether

*** Sodium copper chlorophyllin

W/O/W 型多相エマルジョンの場合と同様、脂質小胞体でも生成率とは無関係に脂質膜の厚さを調節することが可能である。例えば、n-ヘキサンに溶解させるレシチンと Span 80 の量を少なくして W/O 型エマルジョンを作り、減圧下での n-ヘキサンの除去を注意深く行なえば、きわめて濃厚な水/脂質混合物型分散系が得られ、このものは薄い脂質膜からなる小胞体を調製する素材となる。この場合も、脂質膜の厚さは、n-ヘキサン除

去後の系の分散相体積分率を $\phi_{w/o}$ とし、分散粒子の直径を D とすれば、(3) 式から推定することができる。**Table-2** は、 $\phi_{w/o}$ を変えて調製した試料の生成率を示したもので、脂質 2 分子膜に相当する厚さの系が高い生成率で得られている点は、この実験の目的からして重要である。また、 $\phi_{w/o}$ を小さくすると、厚い脂質膜に囲まれた小胞体が生成するが、その膜の実体は、脂質 2 分子膜の倍数の厚さをもった lamellar 構造のものである筈である。

Table-2 Interrelationship between the volume fraction of the aqueous compartment in the water-in-lipid mixture system $\phi_{w/o}$ the thickness of the lipid layer $\bar{d}$ on the surface of the aqueous compartments, and the formation of the lipid vesicle samples²²⁾.

$\phi_{w/o}$	$\bar{d}$ (Å)		Vesicle formation (%)
	$\bar{D} = 1 \mu\text{m}$	$\bar{D} = 2 \mu\text{m}$	
0.714	590	1180	99
0.800	380	760	96
0.834	310	620	71
0.875	230	460	92
0.900	180	360	98
0.923	135	270	97
0.952	83	166	96

Weigh fraction of lecithin to Span 80 : 0.5
Suspending medium : aqueous solution of 10 mM Tween 80

お わ り に

化粧品分野におけるエマルジョンの研究は、化粧用クリームの歴史とともに非常に古いものであり、そこには多くの興味ある知見や技術上の情報が集積されているように思われる。いっぽう、エマルジョンは、成分組成の多様性と形態の特異性から、最近、生物学の分野から環境汚染の防御の問題にいたるまで、広い応用範囲をもつものとして注目されている材料でもある。このことは、最初に述べたように、複雑な非線形の系を、好むと好まざるとにかかわらず扱わなければならない必然性が、多くの研究の分野に析出していることを意味する。このような問題とかかわり合っている筆者も含めた多くの研究者にとって、化粧品研究の分野の成果に期待するところがきわめて大きい。

最後に、筆者に本稿の執筆をすすめて下さった(株)クラブコスメテックス 鈴木一成博士に対し、厚く御礼を申し上げる。

文 献

- 1) 柴谷篤弘, “反科学論” p.57, (1973) みすず書房
- 2) H. TiTien, “Bimolecular Lipid Membranes” in R. J. Good *et al* (ed.) “Techniques of Surface and Colloid Chemistry” Vol. 1, p. 109, (1972) Marcel Dekker, Inc., New York.
- 3) D.M. Small, J. Colloid Interface Sci., **58**, 581 (1977)
- 4) 松本幸雄, “乳化食品における油相成分の分散状態とその測定の意義” 松本幸雄編 “食品の物性” 第3集 p.1 (1977) 食品資材研究会
- 5) 松本幸雄, 化学と生物, **12**, 670 (1974)
- 6) 松本幸雄, 化学と工業, **28**, 488 (1975)
- 7) 松本幸雄, 化学, **31**, 332 (1976)
- 8) 竹口紀晃, 私信
- 9) T. Hanai, D.A. Haydon and J. Taylor, Proc. Roy. Soc. (London), **A 281**, 377 (1964)
- 10) P. Mueller, D.O. Rudin, H. TiTien and W.C. Wescotte, Nature, **194**, 979 (1962)
- 11) A.D. Bangham, M.M. Standish and J. C. Watkins, J. Mol. Biol., **13**, 238 (1965)
- 12) A.D. Bangham, Progr. Biophys. Mol. Biol., **18**, 29 (1968)
- 13) D. Chapman, R.M. Williams and B.D. Ladroore, Chem. Phys. Lipids, **1**, 445 (1967)
- 14) 井上圭三, “リポゾーム実験法と応用” 別冊蛋白質・核酸・酵素 “生体膜実験法 下” p. 185, (1974) 共立出版.
- 15) P. Sherman, “General Properties of Emulsions and Their Constituents” in P. Sherman (ed.) “Emulsion Science” p.206, (1968) Academic Press, London; 佐々木恒孝, 花井哲也, 光井武夫訳 “エマルジョンの科学” p. 210, (1971) 朝倉書店.
- 16) S. Matsumoto, Y. Kita and D. Yonezawa, J. Colloid Interface Sci., **57**, 353 (1976)
- 17) N. Nelson, J. Biol. Chem., **153**, 375 (1944); M. Somogyi, *ib id.*, **195**, 19 (1952)
- 18) Y. Kita, S. Matsumoto and D. Yonezawa, J. Colloid Interface Sci., **62**, 87 (1977).
- 19) 喜多淑子, 松本幸雄, 米沢大造, 日本化学誌, No. 6, 748 (1977).
- 20) 喜多淑子, 松本幸雄, 米沢大造, *ib id* 印刷中

- 21) 松本幸雄, 植田芳朗, 喜多淑子, 米沢大造, 日本
農芸化学会関西支部第301回講演会講演, 1977年
7月.
- 22) S. Matsumoto, M. Kohda and S. Murata,
J. Colloid Interface Sci., **62**, 149 (1977).
- 23) M. Faure, Bull. Soc. Chim. Biol., **32**, 503
(1950)
- 24) J. V. Boyd and P. Sherman, J. Colloid Interface
Sci., **34**, 76 (1970); J. V. Boyd, Dechema
Monograph, **77**, 125 (1974)
- 25) 花井哲也, 私信
(昭和52年8月5日受理)