

温度応答性複合ゲル粒子の調製と特性評価

Preparation and Characterization of Thermoresponse Composite hydrogel Particles

09D5701 越智正宣 指導教員 山本英夫

SYNOPSIS

Thermoresponse interpenetrating polymer network (IPN) hydrogel particles which composed of crosslinked poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) and calcium alginate were prepared. To investigate the effect of the synthesis temperature on the characteristics of the IPN hydrogel, IPN hydrogel beads were prepared via modified inverse emulsion polymerization. Varying the synthesis temperature from 10 to 40 °C led to slight differences in the FTIR and elemental analysis results, whereas significant differences in optical color, thermoresponse behavior, and release properties of vitamin B₁₂ were observed. The IPN beads prepared at low temperature (10 and 20 °C) were transparent and exhibited a large and drastic thermoresponse volume change. On the other hand, the IPN beads prepared at high temperature (30 and 40 °C) were opaque and exhibited a small and gradual thermoresponse volume change. In addition, the diffusion coefficient in the IPN beads prepared at low temperature decreased with increasing solution temperature, whereas the diffusion coefficient in IPN beads prepared at high temperature increased with increasing solution temperature. In addition, applied dripping method using concentric two-fluid nozzles was attempted to prepare the core-shell capsule shaped hydrogel particles. The obtained capsules showed the same trend of the IPN beads prepared via modified inverse emulsion polymerization at high temperature.

Keywords: poly(*N*-isopropylacrylamide), alginate, diffusion, interpenetrating polymer network (IPN)

1. 緒言

N-イソプロピルアクリルアミドポリマー (PNIPAM) ゲルは温度に応答して親疎水バランスが変化し、体積変化を起こすユニークな特徴を持つため、様々な分野への応用研究が行われている。近年では、PNIPAM ゲル単体で用いるのではなく、様々な高分子や無機材料と組み合わせるさらなる機能を加えた材料の研究が盛んに行われている。本研究では、天然高分子であるアルギン酸を複合し、2つの材料の特徴が組み合わさった形で現れる相互侵入網目構造 (IPN) ゲルを作製する。このような PNIPAM を含む IPN ゲルにおける既往の研究では、材料の組み合わせ、割合などの影響はよく検討されている。しかしながら、一定の温度で合成した例しか報告されておらず、合成温度が IPN ゲルの特性に与える影響は検討されていない。また、材料を複合する場合、実験工程が煩雑になりがちのため、実用の面からはシンプルな製法が望まれる。

本研究の目的は、架橋した PNIPAM とアルギン酸カルシウムによる IPN ゲル粒子を作製し、応用展開に必要な温度応答特性、基質拡散特性を検討することで粒子設計方針を示すことである。まず、合成温度が IPN ゲルの特性に与える影響を検討するために、逆エマルジョン重合を応用した製法を用いて IPN ゲルビーズを作製した。様々な合成温度でビーズを作製し、特性評価を行った。加えて、二重管ノズルを用いた気中滴下法を用いてワンステップで IPN ゲルカプセルを作製し、特性評価を行った。

2. 実験方法

2.1. 逆エマルジョン重合を応用した製法による IPN ゲルビーズ作製方法

一般的な逆エマルジョン重合では、攪拌や膜乳化などを用いて水溶液を連続油相に乳化して液滴中で重合を行う。それに対し、本研究ではあらかじめ作製しておいたアルギン酸カルシウムゲルビーズにモノマー等を浸透させたものを水相液滴とみなし、連続油相に乳化して重合を行うことで IPN ゲルビーズを得る。まず、ノズルからアルギン酸ナトリウム (SA) 溶液を塩化カルシウム (CaCl₂) 溶液に滴下し、アルギン酸カルシウムビーズを作製した。次に、このビーズをモノマーである *N*-イソプロピルアクリルアミド (NIPAM)、架橋剤の *N,N'*-メチレンビスアクリルアミド (MBAA)、重合開始剤であるペルオキソ二硫酸アンモニウム (APS)、CaCl₂ を含む溶液に投入して浸透させた。その後、ビーズを取り出して表面の溶液をふき取った後、乳化剤を含むオクタンに乳化させた。そこに重合促進剤の *N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミン (TEMED) を加えることで重合を開始した。そのときの概念図は Fig.1 のようになる。重合は 10–40 °C で 24 時間行い、反応後は水で洗浄した後、0.1M CaCl₂ 溶液中で 50 °C と 10 °C で繰り返し膨潤収縮させることで構造の固定を行った。ここでは NIPAM, MBAA 濃度、および、合成温度を変更して実験を行った。

2.2. 二重管ノズルを用いた気中滴下法による IPN ゲルカプセル作製方法

実験装置概念図を Fig.2 に示した。二重管の外管から NIPAM モノマーと MBAA, SA を含む溶液を送液し

た。内管からは溶媒である Tris-HCl 緩衝液を送液した。得られた二層構造の液滴を、APS と TEMED, CaCl₂ を含む受け止め溶液に滴下した。反応は室温 (22 °C ± 1.5 °C) で 90 分間行い、その後は 2.1 と同様の処理を行った。ここでは、壁材溶液中の NIPAM, MBAA, 受け止め溶液中の APS, TEMED の濃度を変更して実験を行った。

2.3. 評価方法

得られた粒子は実体顕微鏡下で観察し、画像解析 (A 像君, 旭化成エンジニアリング) を行うことで粒子外径を測定した。粒子に導入された PNIPAM を定量するために、CHN 元素分析 (EA1110, CE Instruments) を行った。得られた N/C 比より NIPAM と MBAA が投入比通りであると仮定して、PNIPAM/アルギン酸重量比を算出した。また、粒子の温度応答体積変化を評価するために、一定温度で 10 時間保持した後、表面の水をふき取って湿重量を測定した。なお、溶液温度 T (°C) における湿重量を W_T と示す。

IPN ゲル粒子中のゲル内拡散特性を評価するために、25 °C と 40 °C において放出実験を行った。基質にはモデル物質として、水溶性のビタミン B₁₂ (VB₁₂) を用いた。あらかじめ所定温度において VB₁₂ 溶液で 2 日間透析を行った。その後、粒子を取り出して、CaCl₂ 溶液に移し、振盪した。外側溶液中の VB₁₂ 濃度を分光光度計 (361 nm) を用いて経時的に測定し、以下に示した均一球体中における分子拡散の非定常輸送モデルを用いてゲル内拡散係数 D_g を算出した^[1]。

$$\frac{C_{ts}}{C_{es}} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6\alpha(1+\alpha)}{9+9\alpha+\alpha^2q_n^2} \exp\left(\frac{-D_g q_n^2 t}{r^2}\right) \quad \text{式(1)}$$

ただし、C_{ts}、C_{es} は時間 t および、平衡時の外側溶液の基質濃度、C_{eg} は平衡時のゲル粒子内基質濃度、α は有効体積率 (V_s/(K_mV_g))、K_m は分配係数 (C_{eg}/C_{es})、V_s、V_g はそれぞれ外側溶液とゲル粒子の体積、r は粒子の半径であり、q_n は以下の式で得られる正の値である。

$$\tan(q_n r) = \frac{3q_n}{3 + \alpha q_n^2} \quad \text{式(2)}$$

3. 結果・考察

3.1. 逆エマルション重合を応用した製法による IPN ゲルビーズ

データは示していないが、元素分析から得られた PNIPAM/アルギン酸重量比は投入 NIPAM 濃度の増加に伴って直線的に増加し、合成温度の影響はほとんど受けていなかった。この結果より、NIPAM 収率が NIPAM 濃度や重合温度に関わらずほぼ一定であることが示された。

溶液温度 10 °C と 50 °C における IPN ゲルビーズの実体顕微鏡観察写真を Fig. 3 と 4 にそれぞれ示した。溶液温度 10 °C では、合成温度によってビーズの見た

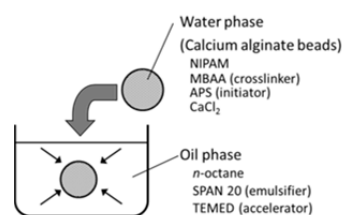


Fig. 1 Schematic diagram for modified inverse emulsion polymerization method

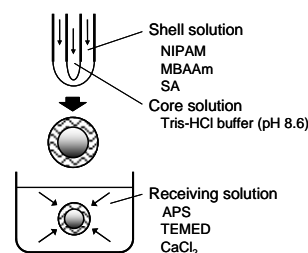


Fig. 2 Schematic diagram of experimental apparatus for dripping method using concentric two-fluid nozzles

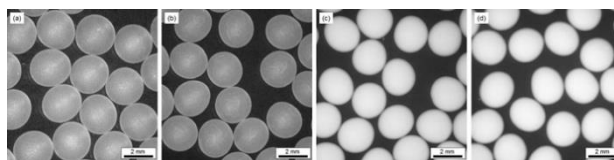


Fig. 3 Stereoscopic photos taken at 10 °C of IPN beads prepared at (a) 10 °C, (b) 20 °C, (c) 30 °C and (d) 40 °C

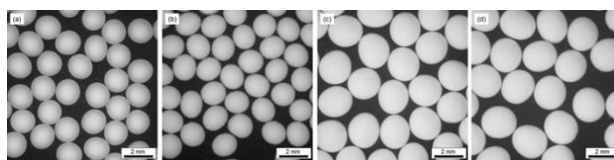


Fig. 4 Stereoscopic photos taken at 50 °C of IPN beads prepared at (a) 10 °C, (b) 20 °C, (c) 30 °C and (d) 40 °C

目が大きく異なっている。低温 (10 °C と 20 °C) で合成したビーズは透明であるのに対し、高温 (30 °C と 40 °C) で合成したビーズは白濁している。架橋した PNIPAM のみのゲルを高温 (約 20–25 °C 以上) で合成した場合、重合中の相分離によって PNIPAM が不均一なネットワークを形成し、見た目には白濁することが知られている^[2-4]。本製法でも、高温で合成したときに PNIPAM が相分離した状態で重合したため、ビーズ全体としても白濁して見えると考えられる。次に、溶液温度 50 °C では、低温で合成したビーズは見た目が大きく変化し、PNIPAM の相転移に伴いゲルが白濁している。また、ビーズはほぼ球形を保ったまま収縮しており、ビーズは等方的に収縮していることが確認できる。それに対し、高温で合成したビーズでは、白濁したままで、小さな体積収縮が観察された。

次に、温度応答体積変化についてである。溶液温度 10 °C での湿重量を基準とした相対湿重量 (W_T/W₁₀) を

Fig. 5 に示した. いずれのビーズにおいても温度上昇に伴って収縮していく様子が観察されたが, その挙動は合成温度によって異なっている. 低温で合成したビーズは PNIPAM の相転移温度である 32 °C 付近で大きく急激な体積収縮が観察されたのに対し, 高温で合成したビーズは小さく緩やかな収縮を示した. 架橋した PNIPAM のみのゲルを様々な温度で合成した報告によると, 高温で合成した PNIPAM ゲルは体積変化が多少鈍化し, その大きさも多少小さくなっているものの, 32 °C 付近では大きな体積変化を起こしていた^[4,5]. よって, 高温で合成したビーズは, 単純な PNIPAM とは異なる特有の温度応答挙動を示している. このような現象は, PNIPAM の均一性の違いに由来するものと考えられる. 低温で合成した IPN ゲルビーズは均一な PNIPAM とアルギン酸カルシウムによるネットワークを形成しており, 2 つのネットワークは IPN 全体にわたってよく絡み合っていると考えられる. その結果, PNIPAM の収縮する力は均等にアルギン酸カルシウムに伝わり, IPN ゲル全体が大きく収縮する. それに対し, 高温で合成したビーズは不均一な PNIPAM とアルギン酸カルシウムによるネットワークである. PNIPAM がタイトな部分では PNIPAM が収縮しても IPN ゲル全体の収縮には影響が少なく, PNIPAM がルーズな部分では IPN ゲル全体に絡み合うネットワークが少ないため, 結果として大きな体積変化を起こさなかったと考えられる.

外部溶液温度 25 °C と 40 °C において, IPN ゲルビーズから VB₁₂ の経時的放出を行い, 式(1)を用いてフィッティングを行った結果, すべての条件でデータと曲線は概ね一致していた. そこで, 計算によって得られたゲル内拡散係数を Fig. 6 に示した. 縦軸がゲル内拡散係数, 横軸は以下の式に示した IPN ゲルビーズ中のポリマー体積率 ϕ である.

$$\phi = \frac{(W_d - W_{d-A}) \times v_N + W_{d-A} \times v_A}{V_p} \quad \text{式(3)}$$

この式の分母は IPN ゲルビーズの体積 V_p , 分子は IPN ゲルビーズ中のポリマー骨格の体積にあたるもので, W_d は真空乾燥後の IPN ゲルビーズ重量, W_{d-A} は真空乾燥後のアルギン酸カルシウムゲルビーズ重量, v_N と v_A はそれぞれ PNIPAM とアルギン酸の部分比容で, 文献値を用いた^[6,7]. なお, PNIPAM/アルギン酸重量比の増加に伴ってポリマー体積率は増加している.

まず, 溶液温度 25 °C の場合にはポリマー体積率の増加に伴ってゲル内拡散係数が減少している. これはポリマー骨格が障害として作用するためである^[8]. しかし, ポリマー体積率が大きくなるにつれて合成温度による差が出ており, 高温で合成したビーズは, ポリマー体積率が増加してもゲル内拡散係数があまり減少しなかった. そして, IPN ゲルビーズ中のポリマー体積率が同程度でも, 高温で合成したビーズのゲル内拡散係数の方が大きくなるという現象が観察された. この現象もゲルの均一

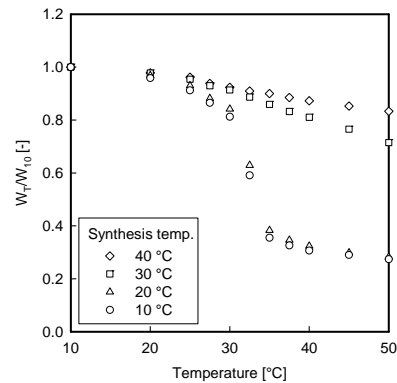


Fig. 5 Relative wet weight of IPN beads as a function of solute temperature (initial NIPAM monomer concentration: 9.6 wt%)

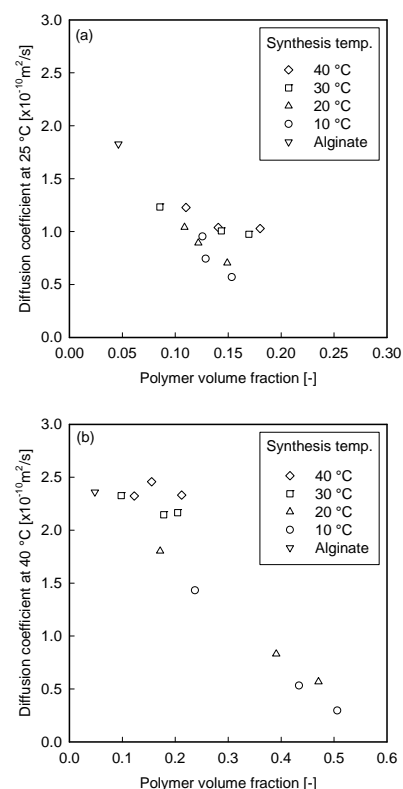


Fig. 6 Diffusion coefficient of VB₁₂ in the IPN beads at surrounding solution temperature of (a) 25 °C and (b) 40 °C

性の違いで説明できる. 様々なゲル内拡散を調べた報告によると, 不均一なゲルの方がゲル内拡散係数が大きくなることが示されている^[8-11]. 本研究では, 高温で合成したビーズは不均一な PNIPAM とアルギン酸による IPN ゲルであるため, 拡散係数が大きくなったと考えられる. 次に溶液温度 40 °C の場合であるが, このとき低温で合成したビーズは大きく収縮し, ゲル中のポリマー体積率が増加しているため, 横軸のスケールが溶液温度 10 °C のときと異なっている. 低温で合成したビーズはポリマー体積率の増加に伴って拡散係数が減少しているが, 高温で合成したビーズはポリマー体積率が増加しても拡散係数がほとんど変化していない. 低温で合

成したビーズは PNIPAM とアルギン酸がよく絡み合っているため、溶液温度が高くなるとネットワークが均等に収縮して、基質の拡散が制限されると考えられる。それに対して、高温で合成したビーズでは、溶液温度が高くなると PNIPAM がタイトな部分とルースな部分で異なる構造変化を示すことで、不均一性が増大し、ポリマー体積率が増加しても拡散係数が減少しなかったと考えられる。それらの結果、低温で合成したビーズは、溶液温度 25 °C より 40 °C の方がゲル内拡散が抑制されていたのに対し、高温で合成したビーズでは溶液温度 25 °C より 40 °C の方がゲル内拡散が促進されていた。

3.2. 二重管ノズルを用いた気中滴下法による IPN ゲルカプセル

この製法では、二重管から滴下された液滴が受け止め溶液中で反応し、アルギン酸カルシウムの形成とともに PNIPAM が重合する。その際、NIPAM モノマーが受け止め溶液中に漏出してしまったため、投入 NIPAM 量に比べて導入される PNIPAM 量が大幅に少なくなるため、導入される PNIPAM 量についての検討が必要である。そこで、導入される PNIPAM 量と重合初速度の関係について考察した。一般的なラジカル重合において、重合反応初期の重合速度は次式で表される^[12]。

$$R_p = k_p (f k_d / k_t)^{0.5} [M][I]^{0.5} \quad \text{式(4)}$$

ここで、 k_p , k_d , k_t はそれぞれ重合における成長、開始、停止反応の速度定数、 f は開始剤効率、 $[M]$ はモノマー (NIPAM, MBAA) 濃度、 $[I]$ は重合開始剤 (APS) 濃度である。そこで、横軸に $[M][I]^{1/2}$ 、縦軸に PNIPAM/アルギン酸重量比をとったものを Fig. 7 に示した。PNIPAM/アルギン酸比は $[M][I]^{0.5}$ に比例していることがわかる。このことから、求められる PNIPAM 量の IPN ゲルカプセルの作製は、モノマー濃度と重合開始剤濃度を調節することで可能なことが示された。

次に、VB₁₂ の放出実験を行った結果、式(1)を用いたフィッティング曲線は概ね一致していたため、得られたゲル内拡散係数を Fig. 8 に示した。溶液温度 25 °C のときはポリマー体積率の上昇に伴って拡散係数が減少しているのに対し、溶液温度が 40 °C のときにはポリマー体積率が大きくなっても拡散係数はほとんど変化しなかった。そして、この傾向は逆エマルジョン重合を応用した製法において高温で合成したビーズと同様のものであった。また、ここではデータは示していないが、温度応答特性を測定した結果においても、高温で合成したビーズと同様の傾向を示していた。そのため、気中滴下法で作製した IPN ゲルカプセルは不均一な PNIPAM とアルギン酸によって構成されていると考えられる。

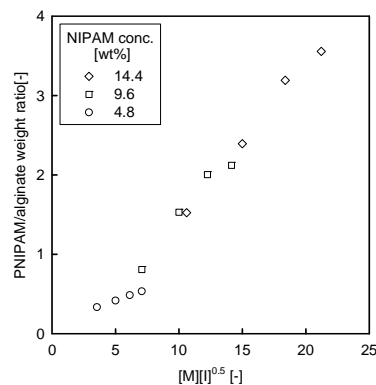


Fig. 7 Relationship between the initial polymerization rate and the PNIPAM alginate weight ratio

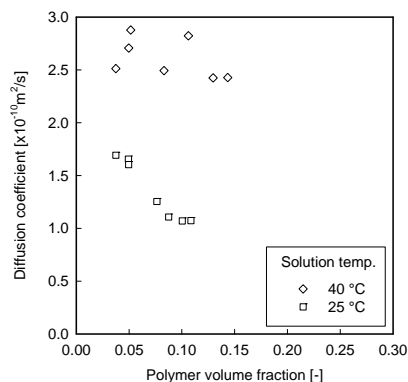


Fig. 8 Diffusion coefficient of VB₁₂ in the IPN capsules

4. 結言

架橋した PNIPAM とアルギン酸カルシウムによる IPN ゲル粒子を作製し、特性評価を行った。まず、逆エマルジョン重合を応用した製法で、合成温度が IPN ゲルの特性に与える影響を検討した。低温で合成したビーズは見た目が透明で、VPTT 付近で大きく鋭い体積変化を示した。それに対し、高温で合成した IPN ゲルビーズは見た目が白濁し、小さくならかな体積変化を起こした。ゲル内拡散係数を調べた結果、高温で合成したビーズは、低温で合成したビーズに比べて同じポリマー体積率でも拡散係数が大きかった。そして、溶液温度を上げると、低温で合成したビーズは、ゲル内拡散が抑制されていたのに対し、高温で合成したビーズはゲル内拡散が促進されていた。また、二重管ノズルを用いた気中滴下法で作製した IPN ゲルカプセルは、不均一な PNIPAM とアルギン酸による IPN を形成しており、高温で合成した IPN ゲルビーズと同じ性能を示した。

【参考文献】

- [1] R. Dembczynski, T. Jankowski, *Biochem. Eng. J.* **2000**, 6, 41. [2] N. Kayaman et al., *J. Appl. Polym. Sci.* **1998**, 67, 805. [3] Ç. Sayil, O. Okay, *Polym. Bull.* **2000**, 45, 175. [4] Y. Hirokawa et al., *Macromolecules* **2008**, 41, 8210. [5] S. Takata et al., *Polymer* **2002**, 43, 3101. [6] A. S. Dubovik et al., *Macromolecules* **2000**, 33, 8685. [7] M. L. Moya et al., *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2012**, 23, 903. [8] B. Amsden, *Macromolecules* **1998**, 31, 8382. [9] A. H. Muhr, J. M. V. Blanshard, *Polymer* **1982**, 23, 1012. [10] R. J. Phillips, *Biophys. J.* **2000**, 79, 3350. [11] N. Lorén et al., *Biomacromolecules* **2009**, 10, 275. [12] M. Kamachi, *Adv. Polym. Sci.* **1987**, 82, 207.