

# 温度応答性複合ゲル粒子の調製と特性評価

2015年3月

越智 正宣

# 目次

<b>第 1 章</b>	<b>序論</b> .....	<b>1</b>
1.1	Poly( <i>N</i> -isopropylacrylamide) (PNIPAM) ゲルについて .....	1
1.2	PNIPAM ゲルと材料の複合について.....	2
1.3	本研究の目的 .....	3
1.4	本論文の構成 .....	4
<b>第 2 章</b>	<b>逆エマルジョン重合を応用した製法による IPN ゲルビーズの調製と評価</b> .....	<b>6</b>
2.1	第 2 章の概要 .....	6
2.2	実験方法.....	6
2.2.1	材料.....	6
2.2.2	IPN ゲルビーズの調製方法 .....	7
2.2.3	評価方法.....	8
2.3	結果・考察 .....	9
2.3.1	FTIR .....	9
2.3.2	元素分析.....	9
2.3.3	実体顕微鏡観察.....	10
2.3.4	温度応答性評価.....	11
2.3.5	放出実験.....	12
2.4	第 2 章のまとめ.....	14
<b>第 3 章</b>	<b>二重管ノズルを用いた気中滴下法による IPN ゲルカプセルの調製と評価</b> ..	<b>26</b>
3.1	第 3 章の概要 .....	26
3.2	実験方法.....	26
3.2.1	材料.....	26
3.2.2	IPN ゲルカプセルの調製方法 .....	26
3.2.3	評価方法.....	27
3.3	結果・考察 .....	27
3.3.1	実体顕微鏡観察.....	27
3.3.2	FTIR .....	28
3.3.3	元素分析.....	28

3.3.4	温度応答性評価	28
3.3.5	放出実験	29
3.4	第3章のまとめ	29
<b>第4章</b>	<b>結論</b>	<b>37</b>
4.1	本論文のまとめ	37
4.2	今後の展望	38
	<b>【略称・記号】</b>	<b>40</b>
	<b>【参考文献】</b>	<b>43</b>
	<b>【本論文に関する投稿論文】</b>	<b>47</b>

# 第1章 序論

## 1.1 Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) ゲルについて

高分子ゲルとは、高分子が架橋されて 3 次元の網目を作り、それが水などの溶媒を吸収して膨潤したものとして広く定義される [1]. 1960 年代にソフトコンタクトレンズ, 1970 年代に高吸水性ポリマーが開発されたこと, また, 1978 年にゲルの体積相転移現象が発見されたことが大きな転換点となり, ゲルに関する研究が盛んに行われるようになった [2–4]. 体積相転移現象とは外部の環境変化 (溶媒組成, 温度, pH, 特異分子, 光, 電場など) に対して不連続な体積変化を起こす現象である [5]. そのような体積相転移現象を起こすゲルの中でも最も盛んに研究されているのが, 温度応答性高分子である *N*-イソプロピルアクリルアミドポリマー (PNIPAM: poly(*N*-isopropylacrylamide)) を用いたゲルである. PNIPAM は側鎖に親水基と疎水基を同時に持ち合わせるポリマーで, 直鎖ポリマーの場合では 32 °C に下限臨界溶液温度 (LCST: lower critical solution temperature) を持つ [6]. LCST を境に親疎水バランスが大きく変化し, LCST 以下では水に溶解するものの, LCST 以上では水に不溶となる.

重合時に架橋剤を加えてゲル化することで得られる PNIPAM ゲルでは, 水中において体積相転移温度 (VPTT: volume phase transition temperature) を示す [7,8]. 水溶液温度が VPTT 以下では PNIPAM ゲルは膨潤しているのに対し, VPTT 以上では PNIPAM ゲルは収縮する. このような特異な性質をもつため, アクチュエータ, ドラッグデリバリーシステム (DDS), 固定化酵素, 透過制御バルブ, バイオセンサーなど, 様々な分野への応用が期待されている [9,10].

ここで, 本論文に関連する PNIPAM ゲルの研究動向について述べる. 研究対象として PNIPAM ゲルが注目され始めたのは, 1980 年代後半にユタ大学のグループ, 東京女子医科大学のグループ, および, ワシントン大学のグループによって温度変化で薬物の放出を on-off 制御できることが報告されてからである [11]. その後, 基礎的なことから応用的なことまで様々な研究が行われ, 「isopropylacrylamide」と「hydrogel」の組み合わせで論文を検索すると, Web of Science では 2206 件, ScienceDirect では 3545 件がヒットする (2015 年 1 月 2 日時点). 基礎的な研究の例として, 重合時の各種パラメータ (モノマー濃度, 架橋剤の種類や濃度, 溶媒組成, 重合温度など) が得られるゲルの特性に与える影響を検討した実験があげられる [12–15]. その中でも, 本論文において着目した要素の一つである重合温度

の影響が検討されたのは 1990 年代後半以降である。水を溶媒とした溶液重合において、様々な重合温度で作製した PNIPAM ゲルの特性 Table 1-1 にまとめた [16–26]。その特性が大きく変わるとしている重合温度には文献によって多少の差があるものの、だいたい 20–25 °C に境がある。高温で合成した PNIPAM ゲルは、見た目は白く、乾燥ポリマーあたりの膨潤率は大きく、膨潤・収縮速度が速く、機械的強度が弱いという特徴がある。また、溶液温度を変化させたときには、少し体積変化量が小さく、緩やかな体積変化を示す。これらの特性や共焦点レーザー走査顕微鏡観察、光散乱、小角中性子散乱などを用いた構造解析の結果から、PNIPAM ゲルは重合温度によって異なるネットワークを形成していると考えられている。つまり、低温でゲルを合成した場合、ネットワークは理想鎖に近い均一な構造をとることで透明なゲルが得られ、高温で合成した場合には、空間の中にポリマー密度の高いタイトな部分とポリマー密度の低いルースな部分が存在する不均一な構造をとり、白濁したゲルが得られると考えられている。これらの差は、重合中の相分離によって説明される。低温で合成した場合には熱化学的に安定な状態で PNIPAM の重合が進行するため、ネットワークは均一な構造を形成する。それに対し、高温で重合した場合には、PNIPAM の高分子化に伴って PNIPAM と水の相互作用が変化し、相分離を起こすことで不均一な構造を形成する。

## 1.2 PNIPAM ゲルと材料の複合について

近年では、ゲルのさらなる高機能化のために、PNIPAM ゲル単体ではなく、他の材料と複合化する研究が盛んである。複合する材料は幅広く、様々な高分子、無機物質などとの複合が報告されている [27–29]。このようなゲルでは、2 つの材料の特徴が複合されるため、例えば、天然高分子と複合すれば生体適合性のよい温度応答性材料、無機物質と複合すれば機械的強度の高い温度応答性材料を得ることができる [30,31]。

本研究では、天然高分子の一つであるアルギン酸に着目した。アルギン酸は海藻由来の多糖類でカルシウムイオンのような多価イオン存在下で即座にゲル化する性質を持つ。また、生物由来のポリマーであり、増粘剤として食品に添加されるように、人体に無毒とされており、生体適合性がよいことが特徴である [32]。古くから今にいたるまで研究例は幅広く、固定化酵素、細胞固定の担体、機能性食品、重金属回収剤などへの応用研究がなされている [33–38]。

これらの材料を、2 つのポリマーネットワークが相互に絡まり合った構造である相互侵入網目構造 (IPN; interpenetrating polymer network) で複合する。(近年ではダブルネットワーク

(DN)と呼ぶ場合もあるが、ここでは IPN で統一する。) IPN ゲルでは、2 つのネットワークの特徴が組み合わさった形で現れると同時に、ゲルが絡み合っているため機械的強度が相補的に向上する [39,40].

ここで、PNIPAM と他のポリマーの組み合わせによる IPN ゲルに関する既往の研究について述べる。このような IPN ゲルに関する研究が始まったのは 1990 年代からである。そこから様々な合成高分子、天然高分子を含む様々なポリマーとの組み合わせが報告されている。例えば、一般的な合成高分子であるアクリルアミドポリマーやアクリル酸ポリマー、ポリビニルアルコール、天然高分子ではアルギン酸やセルロース、キトサンなどとの IPN ゲルがあげられる [41–50]. PNIPAM と PNIPAM による IPN ゲルも報告されている [51,52]. IPN ゲルでは 2 種類のネットワークを組み合わせたゲルであるため、実験パラメータとして、2 種類のポリマーの濃度・割合、それぞれの架橋割合の濃度などがよく検討されている。しかしながら、これらの研究では、一定の温度で合成した例しか報告されておらず、特に高温で合成した例がほとんどない。ゆえに、合成温度によって異なる PNIPAM ゲルの特性が、PNIPAM を含む IPN ゲルにおいて、どのような形で現れるかはわかっていない。

IPN ゲルに関するもう一つの課題は、2 つの材料を複合したゲルであるため、製造工程が煩雑になりがちなところである。多くの研究が、3 段階でゲルを作製している [42,44,53–55]. まず 1 段階目として、1 つ目のネットワークを形成し、2 段階目として、そのネットワークに 2 つ目のネットワークの原料モノマーを浸透させる。3 段階目として、2 つ目のネットワークを形成して IPN ゲルを得るというものである。応用展開を考えると、もっとシンプルな製法が求められる。

これらの課題を解決し、応用展開を見据えてミリメートルオーダーの単分散 IPN ゲル粒子の作製を行う。このサイズの単分散粒子は、充填層や移動層、流動層などのカラム操作に最適で、反応プロセスや分離プロセスへの応用が期待できる [56].

### 1.3 本研究の目的

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単分散 IPN ゲル粒子を作製し、応用展開に必要な温度応答特性、ゲル内基質拡散特性を測定することで、IPN ゲル粒子の設計指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、逆エマルション重合を応用した製法により、単分散球形 IPN ゲルビーズを作製した。合成温度を変えて IPN ゲルビーズを作製して特性評価を行うことで、合成温度が

IPN ゲルに与える影響を検討した。加えて、シンプルな製法である二重管ノズルを用いた気中滴下法で IPN ゲルカプセルを作製した。そして、特性評価を行うとともに、逆エマルジョン重合を応用した製法により得られた知見を踏まえてカプセルの構造を検討した。

#### **1.4 本論文の構成**

第 1 章では、本研究で用いる PNIPAM とアルギン酸の特徴、それらにまつわる既往の研究を述べ、本研究の位置づけと目的を明らかにした。第 2 章では IPN ゲル作製における合成温度の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で IPN ゲルビーズを作製し、その特性評価を行う。第 3 章ではシンプルな製法である二重管ノズルを用いた気中滴下法で IPN ゲルカプセルを作製し、その特性評価を行うとともに、第 2 章で得られた知見を踏まえてカプセルの構造を検討した。第 4 章ではそれらの結果をまとめ、本論文で得られた IPN ゲル粒子のさらなる発展への方向性を述べる。

Table 1-1 Properties of chemically crosslinked PNIPAM hydrogel prepared at several polymerization temperature

Properties	Polymerization temperature		Ref
	Low	High	
Appearance	transparent	opaque	Rathjen[16], Kayaman[17], Hirokawa[18], Sayil[19], Sayil[20], Takata[21], Hirokawa[22]
Equilibrium swelling below VPTT (dry gel base)	small	large	Rathjen[16], Sayil[19], Sayil[20], Sayil[23], Takata[21], Hirokawa[22]
Swelling/shrinking speed	slow	fast	Sayil[20], Sayil[23], Takata[21]
Magnitude of thermoresponsive volume change	almost same		Sayil[20]
	large	little small	Takata[21], Hirokawa[22]
Sharpness of thermoresponsive volume change	almost same		Sayil[19]
	sharp	little gradual	Takata[21], Hirokawa[22]
Mechanical strength	strong	weak	Rathjen[16], Sayil[23], Nie[24]
	weak	strong	Sayil[19]
Surface roughness	smooth	rough	Suzuki[25]
Homogeneity by laser scanning confocal microscopy (1-100 $\mu\text{m}$ range)	homogeneous	heterogeneous	Hirokawa[18]
Scattered intensity by dynamic light scattering	low	high	Takata[26]
Scattered intensity by small angle neutron scattering	low	high	Hirokawa[22]

## 第2章 逆エマルジョン重合を応用した製法による IPN ゲルビーズの調製と評価

### 2.1 第2章の概要

第2章では PNIPAM とアルギン酸による IPN ゲル作製における合成温度の影響を検討するために、逆エマルジョン重合(逆相乳化重合)を応用した製法で単分散球形 IPN ゲルビーズを調製し、その評価を行った。逆エマルジョン重合を基本にしたのは、この重合方法は重合熱が連続相に移動しやすいので、温度を制御した重合に向いているためである [57]。その逆エマルジョン重合を少し変更して単分散ビーズを作製できるように工夫を施した。一般的な逆エマルジョン重合においては、連続油相中にモノマーを含む水相液滴を乳化し、連続相に重合開始剤を投入することで、液滴の界面から重合が進行する。連続相に液滴を乳化する方法によって、得られる粒子の大きさや粒度分布が決まってしまうため、攪拌速度に関する研究や膜乳化法を用いた研究、マイクロ流路デバイスを用いた乳化法に関する研究などが行われている [58–61]。本研究ではこの乳化の過程が特徴的で、あらかじめ作製しておいた単分散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て連続相に乳化する。そして、連続油相に重合促進剤を投入することで重合を開始する。これにより、アルギン酸カルシウムのネットワークの中で PNIPAM が重合し、IPN ゲルビーズが得られる。また、このときの温度を制御することで、様々な合成温度で IPN ゲルビーズを作製できる。得られた IPN ゲルビーズの特性を評価するために、FTIR, 元素分析, 実体顕微鏡観察, 溶液温度 10 °C から 50 °C における湿重量測定, および, モデル薬物としてビタミン VB<sub>12</sub> の放出実験を行った。

### 2.2 実験方法

#### 2.2.1 材料

- *N*-イソプロピルアクリルアミド (NIPAM) : 興人
- *N,N'*-メチレンビスアクリルアミド (MBAA) : 関東化学
- アルギン酸ナトリウム (SA), 鹿 1 級 : 関東化学
- ペルオキシ二硫酸アンモニウム (APS), 試薬特級 : 和光純薬
- *N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミン (TEMED), 和光特級 : 和光純薬
- 塩化カルシウム (CaCl<sub>2</sub>), 特級 : 関東化学

- ・ トリスヒドロキシメチルアミノメタン(Tris) :Roche
- ・ 1 mol/L 塩酸(HCl), 容量分析用:和光純薬
- ・ *n*-オクタン, 鹿 1 級:関東化学
- ・ SPAN 20: 関東化学
- ・ ビタミン B<sub>12</sub>(VB<sub>12</sub>, シアノコバラミン), 和光特級:和光純薬

NIPAM は, トルエン:ヘキサン=2:3 溶媒で再結晶させたものを用いた. それ以外の試薬は購入したものをそのまま用いた. なお, 実験溶媒にはすべて Tris-HCl 緩衝液(pH 8.6)を用いた.

### 2.2.2 IPN ゲルビーズの調製方法

まず, シリンジポンプを用いて単ノズル(外径=1.26 mm, 内径=0.90 mm)から SA 溶液を滴下した. 液滴は CaCl<sub>2</sub> 溶液で受け止め 24 時間以上硬化し, アルギン酸カルシウムビーズを得た. 次に, このアルギン酸カルシウムビーズ(約 2 mL)を NIPAM, 架橋剤である MBAA, 重合開始剤である APS, CaCl<sub>2</sub> を含む溶液(10 mL)に投入し, 窒素バブリングしながら 0 °C で 1 時間攪拌した. その後, ビーズを取り出し表面の水をふき取りテフロン®PFA ボトルに入ったオクタン(乳化剤 SPAN 20 を含む)に乳化させた. オクタン溶液はあらかじめ窒素雰囲気下で所定温度に保温してある. そこに, 重合促進剤である TEMED を加えることで重合反応を開始し, 24 時間反応を行った. 重合時の実験概念図は Figure 2-1 に示した形になる. また, 実験条件は Table 2-1 に示したとおりで, 合成温度を 10–40 °C, NIPAM 濃度を 4.8–14.4 wt%, それに伴って NIPAM/MBAA 比が一定になるように MBAA 濃度を 0.2–0.6 wt% の範囲で変更した. 反応後はビーズを回収し, 超純水で洗浄を行った. さらに, CaCl<sub>2</sub> 溶液中で 50 °C と 10 °C でそれぞれ 3 回ずつ, 収縮・膨潤させた. 本研究室における検討で, 繰り返し温度応答体積変化させて膨潤させると, 最初の体積には戻らず, 粒子が小さくなることがわかっている. これは, 膨潤・収縮の過程でアルギン酸の架橋点が増加したり, ネットワークがより複雑に絡まり合ったりして, 膨潤しにくくなるためであると考えられる. そして, 2–3 回膨潤・収縮を繰り返すと, それ以降はほぼ一定の体積変化を示すことがわかっている [62]. そのため, 本研究では膨潤・収縮を 3 回行うことで, IPN ゲルビーズが一定の体積変化を起こす状態にした. そして, 評価実験で使うまで 10 °C で保存した.

### 2.2.3 評価方法

化学構造を調べるために FTIR (IRPrestige-21, 島津) を行った。真空乾燥したビーズを用いて KBr タブレットを作成し、透過型で測定した。

導入された PNIPAM 量を求めるために真空乾燥したビーズを用いて CHN 元素分析 (EA1110, CE Instruments) を行った。得られた N/C 比から NIPAM と MBAA が投入比率通りに重合していると仮定して PNIPAM/アルギン酸重量比を計算した。なお、NIPAM と MBAA のモノマーには N がそれぞれ 1 つと 2 つ含まれており、アルギン酸には N が含まれていない。

実体顕微鏡 (WILD M3Z, Leica) 観察を行い、画像解析ソフト (A 像君, 旭化成エンジニアリング) を用いて粒子外径を測定した。

温度応答性は、溶液温度 10 °C から 50 °C における湿重量を測定することで評価した。まず、IPN ゲルビーズを CaCl<sub>2</sub> 溶液中において所定の温度で 10 時間静置した。その後、取り出して素早く表面の水をふき取り、電子天秤 (GH-252, A&D) で重量を測定した。なお、溶液温度 T (°C) における湿重量を W<sub>T</sub> と表記する。

ゲル内基質拡散特性を評価するために、25 °C と 40 °C でビタミン B<sub>12</sub> の放出実験を行った。各溶液温度において、充填から放出まで一貫した温度で行っており、途中で体積変化は起こっていない。まず、50 mg/L の VB<sub>12</sub> 溶液 (CaCl<sub>2</sub> 含む) にビーズを投入し、2 日間透析を行うことで、ビーズ内に VB<sub>12</sub> を充填した。その後、ビーズを取り出し、表面の余分な水分をふき取り、CaCl<sub>2</sub> 溶液の入ったセルに投入した。このセルを水中に沈め、卓上型振とう恒温槽 (パーソナル-11 セット, タイテック) を用いて 120 rpm で振とうした。外側溶液の吸光度 (361 nm) を分光光度計 (V-530, 日本分光) で経時的に測定し、ビーズからの VB<sub>12</sub> の放出を測定した。外側溶液中の VB<sub>12</sub> 濃度の増加から、以下の式に示した均一球体中における分子拡散の非定常モデルを用いてゲル内拡散係数 D<sub>g</sub> [m<sup>2</sup>/s] を算出した [63]。

$$\frac{C_{ts}}{C_{es}} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6\alpha(1+\alpha)}{9+9\alpha+\alpha^2q_n^2} \exp\left(\frac{-D_g q_n^2 t}{r^2}\right) \quad \text{式(2.1)}$$

C<sub>es</sub> は外側溶液の平衡濃度 [g/m<sup>3</sup>]、C<sub>ts</sub> は時間 t における外側溶液の濃度 [g/m<sup>3</sup>]、C<sub>eg</sub> はゲルビーズ中の平衡濃度 [g/m<sup>3</sup>]、K<sub>m</sub> は分配係数 (= C<sub>eg</sub>/C<sub>es</sub>) [-]、r はビーズの半径 [m]、t は経過時間 [s]、V<sub>s</sub> は外部溶液体積 [m<sup>3</sup>]、V<sub>g</sub> はゲルビーズ全体の体積 [m<sup>3</sup>] であり、α は式 (2.2) に示

した有効体積率,  $q_n$  は式(2.3)を満たす, 0 を含まない正の値である.

$$\alpha = \frac{1}{K_m} \frac{V_s}{V_g} \quad \text{式(2.2)}$$

$$\tan(q_n) = \frac{3q_n}{3 + \alpha q_n^2} \quad \text{式(2.3)}$$

なお, 計算負荷の関係上,  $n=100$  まで計算を行った.

## 2.3 結果・考察

### 2.3.1 FTIR

FTIR スペクトルを Figure 2-2 に示した. 比較のためにアルギン酸カルシウムと直鎖 PNIPAM のスペクトルも示している. アルギン酸カルシウムでは  $1620 \text{ cm}^{-1}$  と  $1417 \text{ cm}^{-1}$  にカルボキシル塩の非対称, 対称伸縮に由来するピークが観察された [64]. PNIPAM ではアミド I, アミド II, およびメチル基由来のピークがそれぞれ  $1650 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1550 \text{ cm}^{-1}$  および  $1387 \text{ cm}^{-1}$  と  $1367 \text{ cm}^{-1}$  に観察された [65]. 一方, IPN ゲルビーズでは PNIPAM とアルギン酸カルシウムのピークが両方観察された. 投入 NIPAM 投入濃度を比較すると ((b)と(c), (d)と(e)), 投入濃度が高い方がより PNIPAM のピークが大きく, アルギン酸のピークが目立たなくなっている. また, 重合温度を比較すると ((b)と(d), (c)と(e)), ピークにはほとんど差がみられない. よって, 本研究の重合温度範囲内では IPN ゲルを構成する PNIPAM とアルギン酸の構造や結合に変化はないと言える.

### 2.3.2 元素分析

元素分析結果をもとに計算した PNIPAM/アルギン酸重量比を Figure 2-3 に示した. 横軸は投入 NIPAM 濃度, 縦軸は N/C 比から計算した PNIPAM/アルギン酸重量比である. 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ている. また, 合成温度の影響はほとんど受けていない. これらは, NIPAM 収率が投入 NIPAM 濃度や重合温度に関わらずほぼ一定であることを示しており, NIPAM 収率は約 82%であった.

### 2.3.3 実体顕微鏡観察

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 Figure 2-4 と 2-5 にそれぞれ示した。まず、溶液温度 10 °C では、合成温度によってビーズの見た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。諸言で述べたように、架橋した PNIPAM ゲルを高温で合成した場合には、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。本手法でも、アルギン酸カルシウムの中で PNIPAM の重合が進行するが、その際、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 の場合、低温で合成したビーズにおいても PNIPAM の相転移に伴いゲルが白濁した。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、わずかな収縮が観察された。

これらの写真を画像解析ソフトの円形粒子解析によって求めた粒子径をまとめたものを Figure 2-6 に示した。横軸は NIPAM 濃度、縦軸が粒子径である。比較のために、PNIPAM を導入する前のアルギン酸カルシウムビーズもプロットしている。図に値は示していないが、アルギン酸カルシウムゲルビーズの変動係数 (C.V.) は 1.8 % なのに対し、IPN ゲルビーズはいずれの溶液温度においても 1.4–2.8 % の間に収まっており、溶液温度の変化によってほとんど差は見られなかった。よって、逆エマルジョン重合を応用した製法によって、単分散かつ、サンプルに偏りのないビーズを作製できたと言える。次に、溶液温度 10 °C における IPN ゲルビーズの粒子径は、アルギン酸カルシウムゲルビーズと同等か、それより小さくなっている。直感的には、アルギン酸カルシウムに PNIPAM を導入すると、粒子径が大きくなると思われるが、実験方法のところで述べたように、IPN ゲルビーズを何度か膨潤収縮させる間に粒子が小さくなるため、このような結果になっている。また、NIPAM 濃度の上昇に伴って、少し粒子径が増加している。これは IPN ゲルビーズ中の PNIPAM 量が増加したことで、アルギン酸の架橋が制限されたためであると考えられる。なお、合成温度の差は特に見られなかった。溶液温度 50 °C における粒子径は、低温で合成したビーズが大きな体積収縮によって粒子径が小さくなっているのに対し、高温で合成したビーズはあまり体積収縮しないため、少し粒子径が小さくなる程度であった。

### 2.3.4 温度応答性評価

IPN ゲルビーズの 10 °C での湿重量を基準とした相対湿重量 ( $W_T/W_{10}$ ) を Figure 2-7 と 2-8 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, その挙動は合成条件によって異なっている.

合成温度の影響を表しているのが Figure 2-7 である. 低温 (10 °C と 20 °C) で合成したビーズは VPTT 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 (30 °C と 40 °C) 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, VPTT 付近では大きな体積変化を起こしていた[21,22]. よって, 高温で合成した IPN ゲルビーズは, 単純な PNIPAM とは異なる特有の温度応答挙動である.

次に, 投入 NIPAM 濃度の影響を Figure 2-8 に示した. まず, 10 °C で合成したビーズは (Figure 2-8(a)), NIPAM 濃度が 14.4 wt% の場合では VPTT 付近で大きく急激な体積収縮が観察されたが, NIPAM 濃度の低下と共に VPTT 付近での大きく鋭い体積変化が弱くなっていた. IPN ゲルでは, PNIPAM の収縮がアルギン酸によって抑制されることになるため, PNIPAM/アルギン酸比によって体積変化量に違いが生じたものである. また, このような傾向は Moura らが室温で合成した PNIPAM/アルギン酸 IPN ゲルでも観察されていた[45]. 次に, 40 °C で合成したゲルは (Figure 2-8(b)), NIPAM 濃度の増加に伴って少しだけ体積変化量が大きくなったが, それでも小さく緩やかな体積変化しか示さなかった.

これらの重合条件の影響を整理するため, PNIPAM/アルギン酸重量比と溶液温度を 10 °C から 50 °C にしたときの収縮率 (つまり,  $1 - W_{50}/W_{10}$ ) との関係を示した. PNIPAM/アルギン酸重量比の増加に伴ってビーズの収縮率は大きくなっていることがわかる. また, 先述した通り低温で合成したビーズは大きく収縮しているのに対し, 高温で合成したビーズは小さな収縮しか示していない. 合成温度による違いは, 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 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, PNIPAM とアルギン酸カルシウムは 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 IPN 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 がルースな部分では IPN ゲル全体に絡み合うネットワークが少ないため、体積変化が制限されると考えられる。その結果、IPN ゲル全体の収縮が小さくなったと考えられる。

### 2.3.5 放出実験

外部溶液温度 25 °C と 40 °C における VB<sub>12</sub> の経時的放出結果を Figure 2-10 に示した。横軸が時間 t, 縦軸は時間 t における外部溶液濃度 C<sub>t</sub> を平衡外部溶液濃度 C<sub>es</sub> で割って規格化したものである。また、曲線は式(2.1)を用いてフィッティングを行ったものである。いずれの条件においても時間の経過に伴って、IPN ゲルビーズに充填した VB<sub>12</sub> が外部溶液に拡散していくことで外部溶液の VB<sub>12</sub> 濃度が上昇し、一定濃度に到達している様子が観察された。また、いずれの条件でも実験データと曲線は概ね一致していた。そこで、計算のよって得られたゲル内拡散係数を Figure 2-11 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  $\phi$  である。

$$\phi = \frac{(W_d - W_{d-A}) \times v_N + W_{d-A} \times v_A}{V_g} \quad \text{式(2.4)}$$

この式の分母は IPN ゲルビーズの体積  $V_g$ , 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[66,67]。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、溶液温度が 25 °C の場合 (Figure 2-11(a)) を見ると、合成温度に関わらず、ゲル内拡散係数はポリマー体積率の増加に伴って減少している。これはポリマー骨格が障害として作用するためである[68]。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中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。ゲル内拡散係数を測定した例は様々報告例があるが、ポリアクリルアミドゲルやポリビニルアルコールゲルなどのような均一ゲルとアルギン酸やアガロースなどのような不均一ゲルを比較すると、同じポリマー体積率におけるゲル内拡散係数は不均一ゲルの方が大きくなる傾向を示している

[68–70]. また、一つのゲル種において、均一性を変化させてゲル内拡散係数を測定した例においても、同じポリマー体積率におけるゲル内拡散係数は、不均一な方が大きくなることが報告されている [71,72]. 本研究では、これまで検討してきたように、合成温度によって均一性の異なる PNIPAM とアルギン酸による IPN ゲルビーズが得られる. そして、ポリマー体積率は、PNIPAM/アルギン酸比と対応しているため、ポリマー体積率の増加とともに PNIPAM の影響も増加する. ゆえに、ポリマー体積率の大きい範囲では PNIPAM の均一性の影響が大きくなり、不均一な PNIPAM が得られる高温で合成したビーズでは、ゲル内拡散係数が大きくなったと考えられる.

次に溶液温度が 40 °C の場合 (Figure 2-11(b)) であるが、低温で合成したビーズは大きく収縮し、ポリマー体積率が増加しているため、横軸のスケールが異なっている. 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ゲル内拡散係数が大きく減少しているが、高温で合成したビーズはポリマー体積率が増加してもゲル内拡散係数は少し小さくなった程度であった. そして、やはり低温で合成したビーズに比べて高温で合成したビーズの方が同じポリマー体積率でもゲル内拡散係数は大きくなった.

次に、溶液温度の違いがゲル内拡散係数に与える影響を考察するために、溶液温度 25 °C と 40 °C におけるゲル内拡散係数をそれぞれ横軸と縦軸にプロットしたものを Figure 2-12 に示した. 直線は以下に示した Stokes-Einstein の式を用いて計算した水溶液中の拡散係数と原点を直線で結んだ線である[73].

$$D_w = \frac{\kappa_B T_{abs}}{6\pi\eta r_s} \quad \text{式(2.5)}$$

$D_w$  は水中における拡散係数、 $\kappa_B$  はボルツマン定数、 $T_{abs}$  は溶液の絶対温度、 $\eta$  は水の粘度、 $r_s$  は基質の流体力学半径である. 溶液温度が変化してもゲルの構造が変わらない場合、ゲル内拡散係数はこの直線上にくると考えられ、アルギン酸カルシウムゲルビーズではほぼその直線上に乗っている. 一方、溶液温度の変化に伴って、ゲルの構造変化が起こる場合、溶液温度を 25 °C から 40 °C に上昇させたときに、拡散を抑制するようなゲルの構造に変化すると直線の下側に、拡散を促進するようなゲルの構造に変化すると直線の上側に、データがプロットされる. 低温で合成したビーズは直線の下側にデータが来ている場合が多く、溶液温度の上昇によってゲル内拡散が抑制されている. これは、均一な PNIPAM とアルギン

酸がよく絡み合っており、溶液温度の上昇に伴って均等にネットワークが収縮し、ゲル内拡散が抑制されるためであると考えられる。それに対し、高温で合成したビーズでは直線の上側にデータが来ており、溶液温度の上昇によってゲル内拡散が促進されている。高温で合成した場合、PNIPAM はタイトな部分とルースな部分が存在する不均一な構造をとっており、溶液温度の変化に伴う構造の変化はタイトな部分とルースな部分で異なり、溶液温度が上昇すると不均一性が增大すると考えられる。そのため、溶液温度が上昇したときに、ゲル内拡散が促進されたものであると考えられる。

## 2.4 第2章のまとめ

第2章では、逆エマルジョン重合を応用した製法で架橋した PNIPAM とアルギン酸による IPN ゲルビーズの調製し、合成温度の影響を検討した。まず、すべての条件において、単分散かつサンプルに偏りの少ない IPN ゲルビーズを作製でき、合成温度の影響をよく評価できた。FTIR や元素分析では合成温度の差は特に観察できなかったが、見た目や温度応答特性、ゲル内拡散特性では大きな差が表れた。低温 (10 °C と 20 °C) で合成した IPN ゲル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 (30 °C と 40 °C) 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。また、IPN ゲルビーズ中のゲル内拡散特性を調べた結果、高温で合成したビーズは、低温で合成したビーズよりも、同じポリマー体積率におけるゲル内拡散係数が大きかった。そして、溶液温度を上昇させると、低温で合成したビーズはゲル内拡散を抑制するのに対し、高温で合成したビーズはゲル内拡散が促進された。

これら一連の結果から、合成温度が異なることで IPN ゲルはまったくことなる構造をとっていることが示唆された。低温で合成した IPN ゲルビーズは均一な PNIPAM とアルギン酸によって構成され、2 つのネットワークがよく絡み合っていると考えられた。それに対し、高温で合成したビーズは不均一な PNIPAM とアルギン酸によって構成され、PNIPAM がタイトな部分とルースな部分をとっていると考えられた。

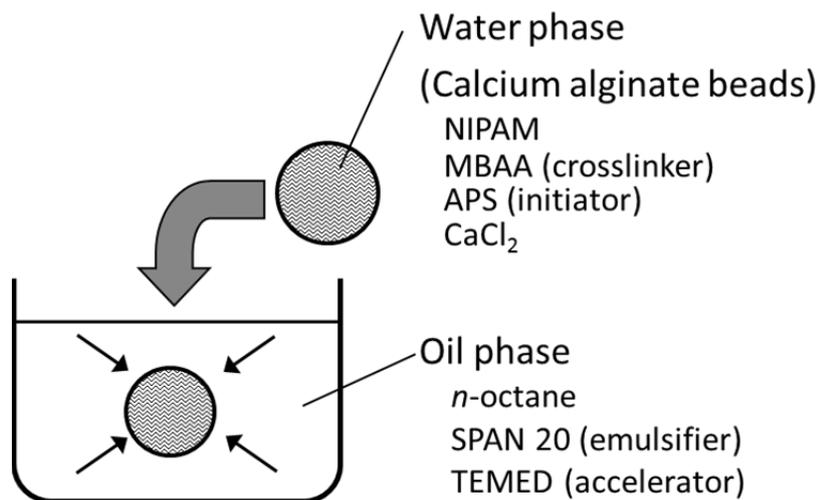


Figure 2-1 Schematic diagram for preparing the IPN beads via modified inverse emulsion polymerization method

Table 2-1 Preparation conditions of modified inverse emulsion polymerization method

Synthesis temp.	Concentrations							
	Water phase					Oil phase		
	NIPAM	MBAA	APS	SA	CaCl <sub>2</sub>	<i>n</i> -Octane	SPAN 20	TEMED
°C	wt%	wt%	wt%	wt%	wt%	mL	mL	μL
10-40	4.8-14.4	0.2-0.6	0.1	2	1.1	40	0.1	10

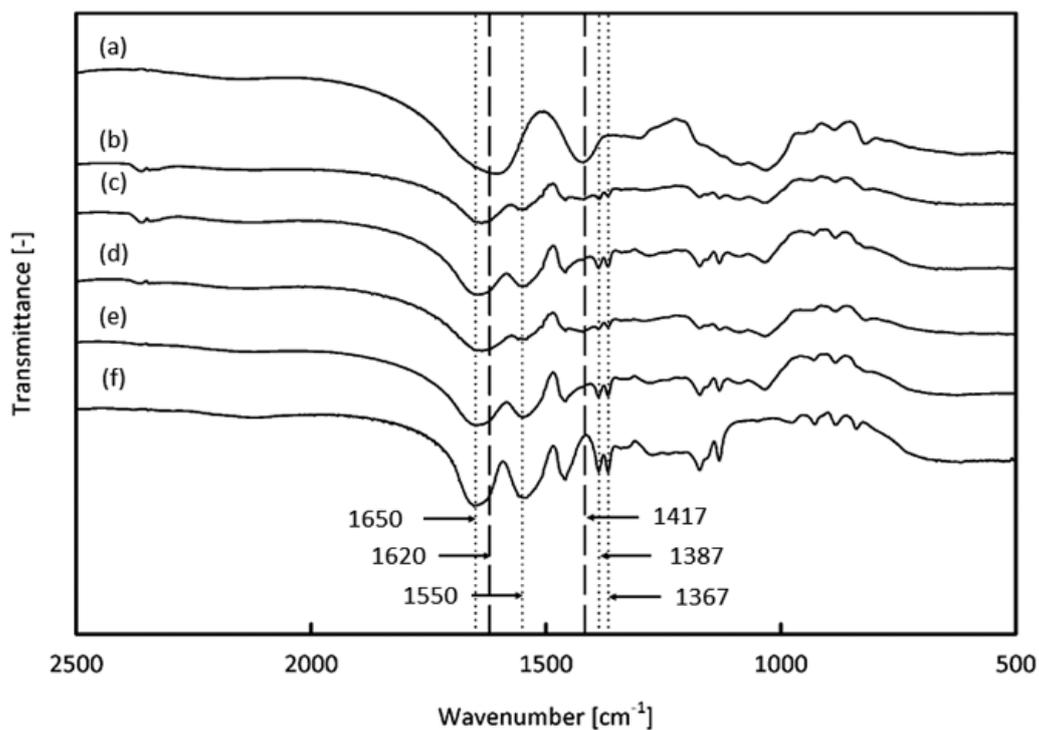


Figure 2-2 FTIR spectra of (a) calcium alginate beads and IPN beads prepared with initial NIPAM monomer concentration and synthesis temperature of (b) 4.8 wt% and 10 °C, (c) 14.4 wt% and 10 °C, (d) 4.8 wt% and 40 °C, (e) 14.4 wt% and 40 °C, and (f) PNIPAM (dashed lines: alginate peaks, dot lines: PNIPAM peaks)

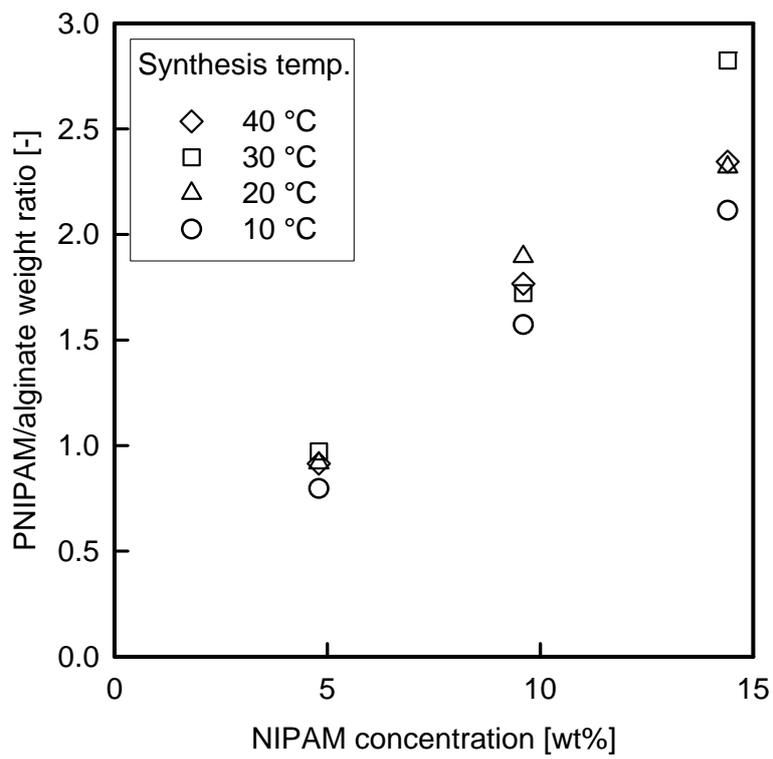


Figure 2-3 PNIPAM/alginate weight ratio of IPN beads

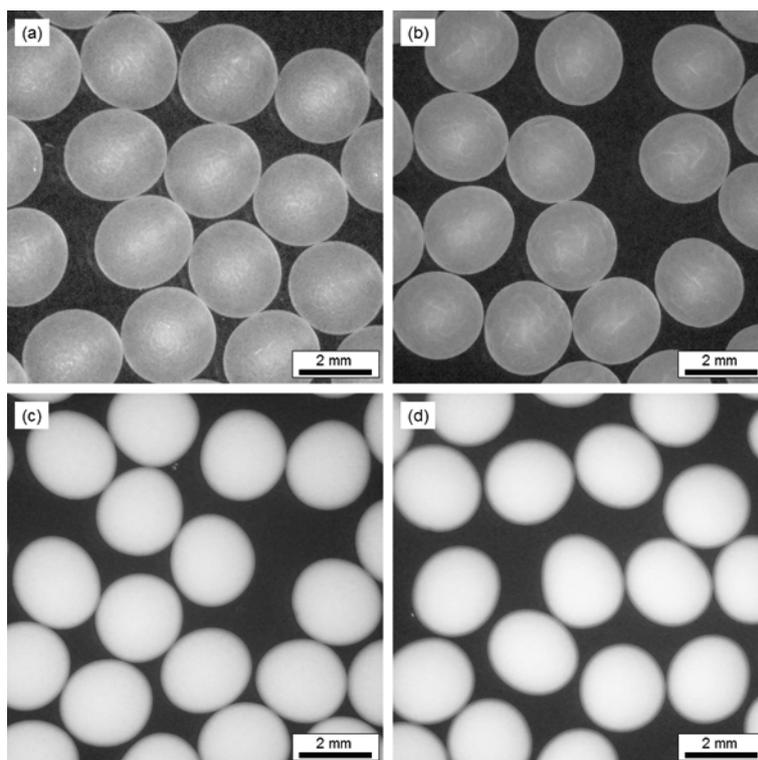


Figure 2-4 Stereoscopic photos taken at 10 °C of IPN beads prepared at (a) 10 °C, (b) 20 °C, (c) 30 °C, and (d) 40 °C, (initial NIPAM concentration: 9.6 wt%)

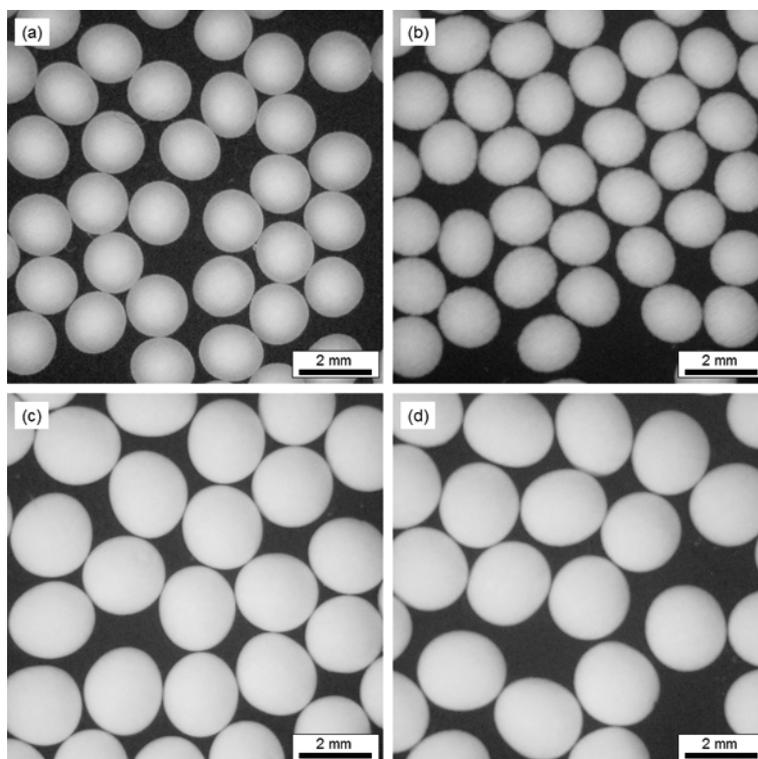


Figure 2-5 Stereoscopic photos taken at 50 °C of IPN beads prepared at (a) 10 °C, (b) 20 °C, (c) 30 °C, and (d) 40 °C, (initial NIPAM concentration: 9.6 wt%)

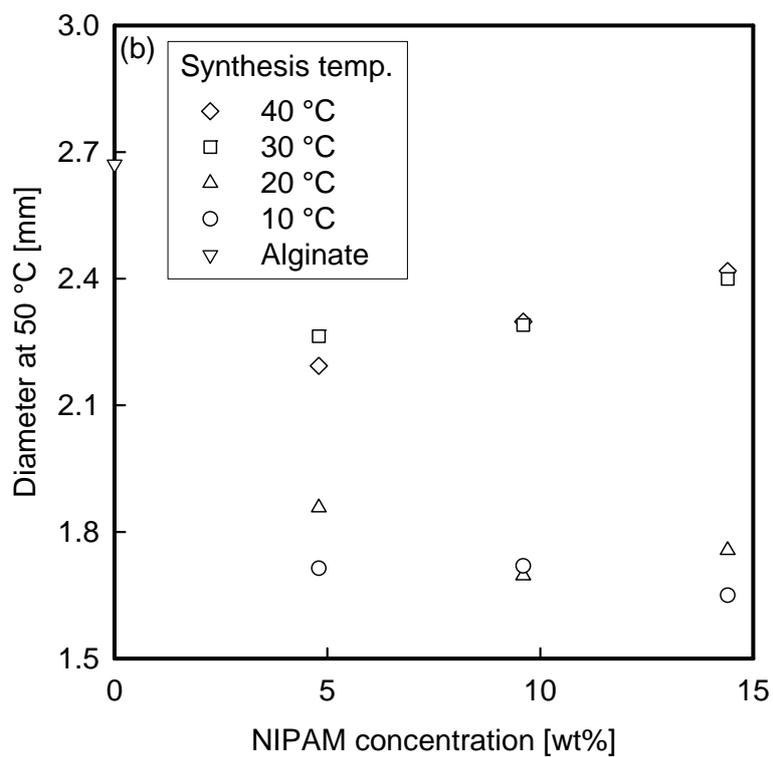
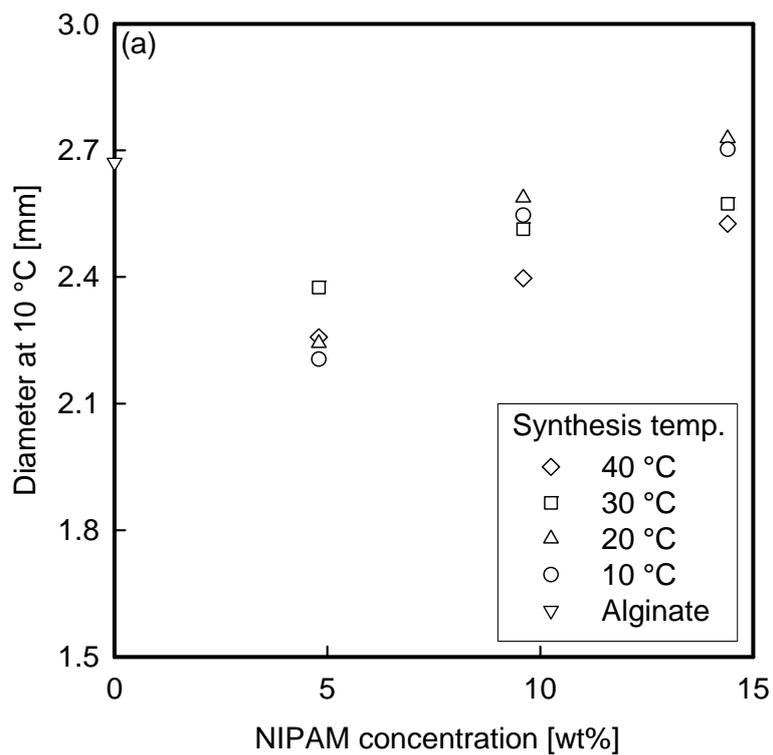


Figure 2-6 Diameter of IPN beads at solution temperature of (a) 10 °C and (b) 50 °C

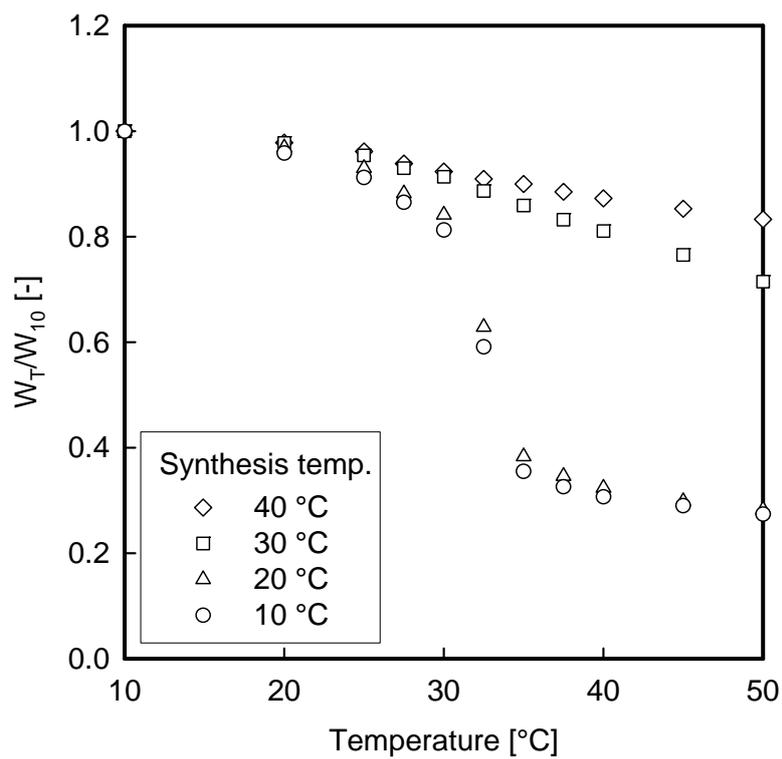


Figure 2-7 Effect of synthesis temperature on the thermoresponsive behavior of IPN beads (initial NIPAM concentration: 9.6 wt%)

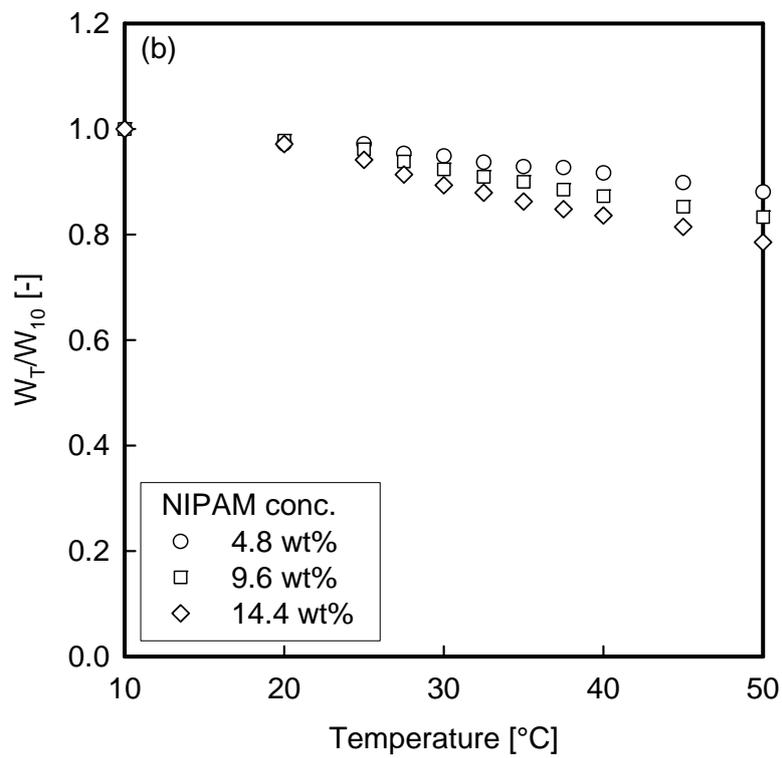
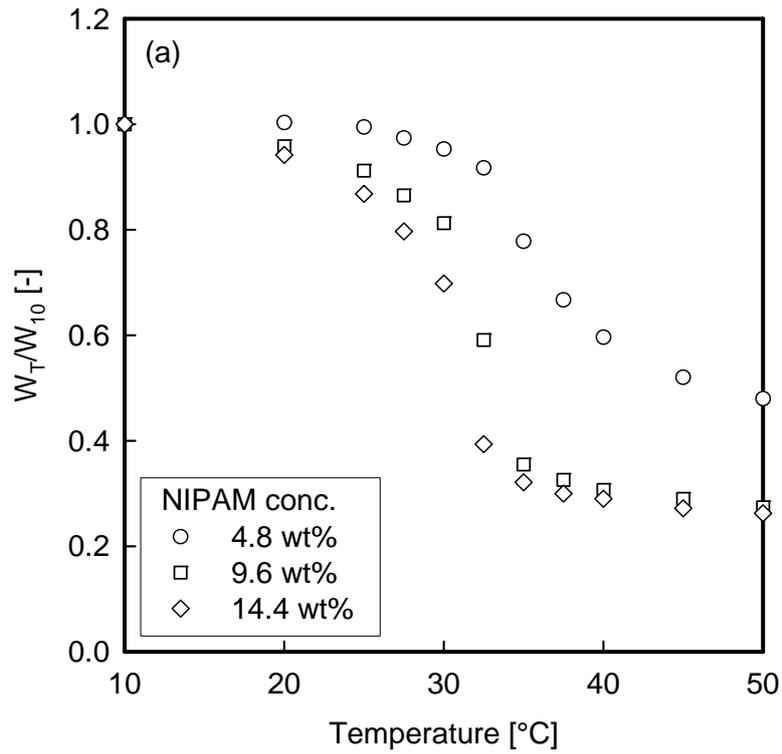


Figure 2-8 Effect of initial NIPAM concentration on the thermoresponsive behavior of IPN beads prepared at synthesis temperature of (a) 10 °C and (b) 50 °C

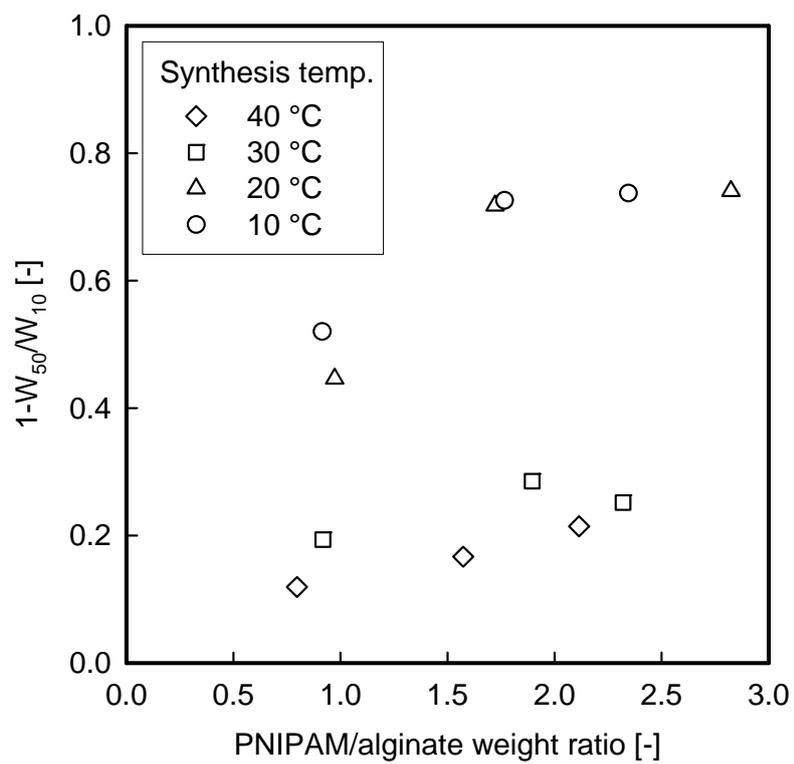


Figure 2-9 Relationship between the PNIPAM/alginate weight ratio and shrinkage ratio ( $1-W_{50}/W_{10}$ ) of the IPN beads

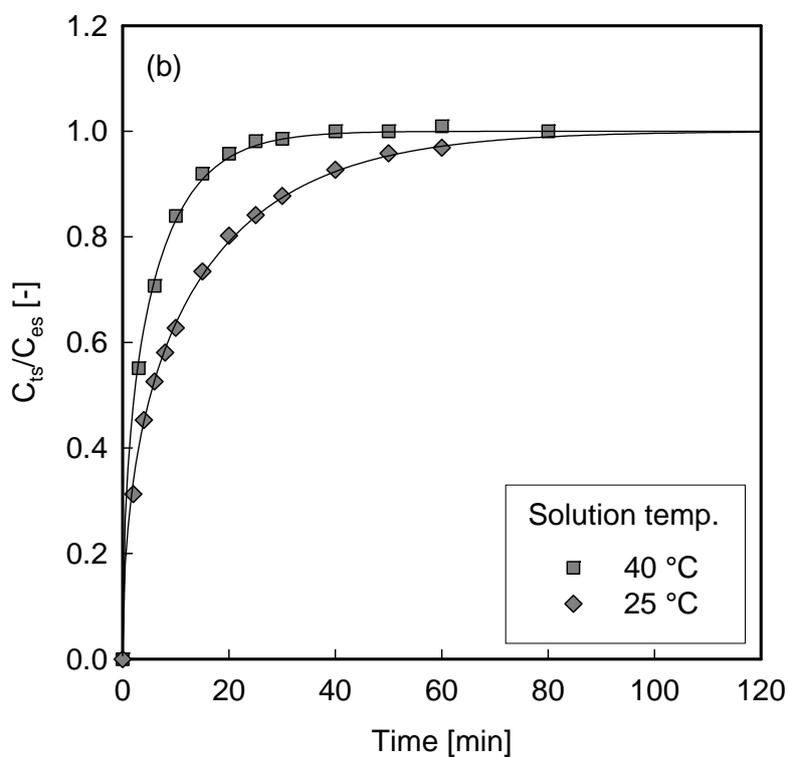
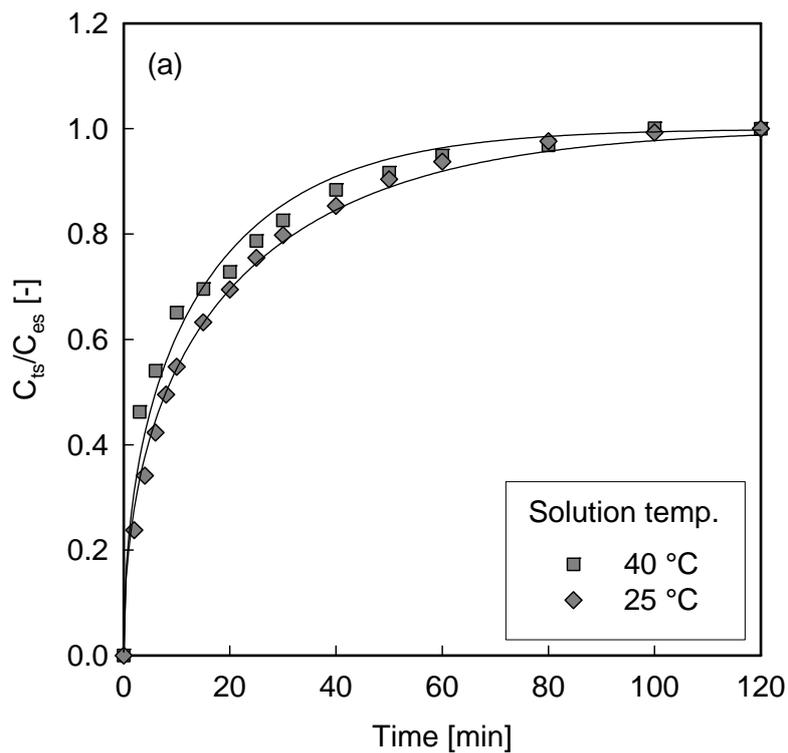


Figure 2-10 Temporal release of VB12 at 25 °C and 40 °C from IPN beads prepared at (a) 10 °C and (b) 40 °C (initial NIPAM concentration: 9.6 wt%)

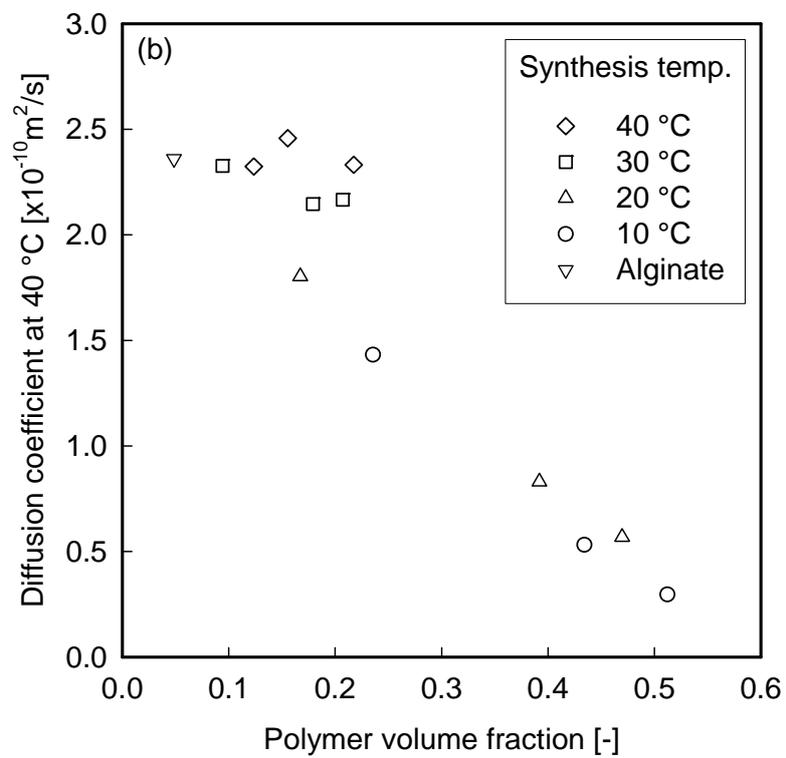
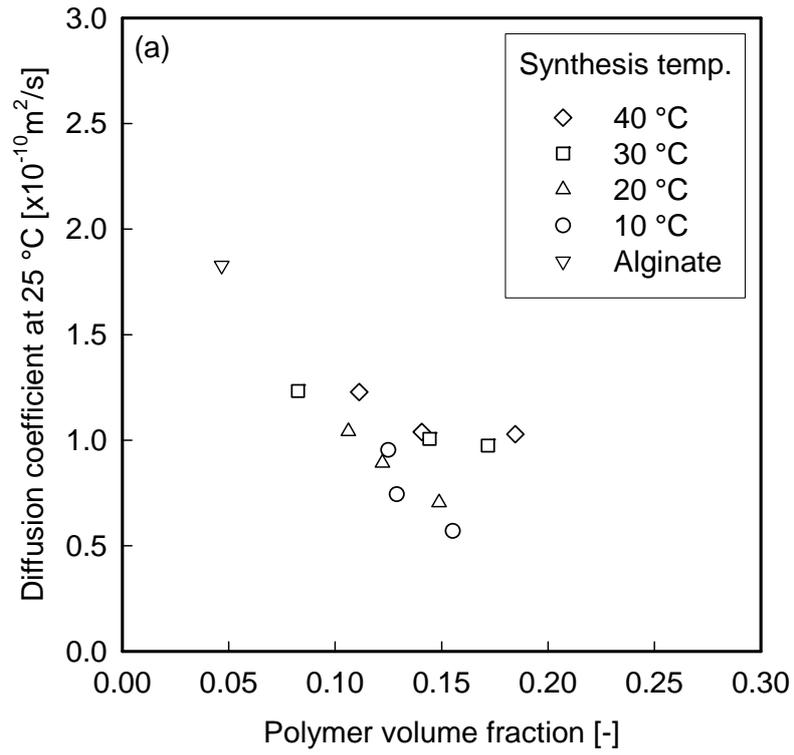


Figure 2-11 Diffusion coefficient of  $\text{VB}_{12}$  in the IPN beads at surrounding solution temperature of (a) 25 °C and (b) 40 °C

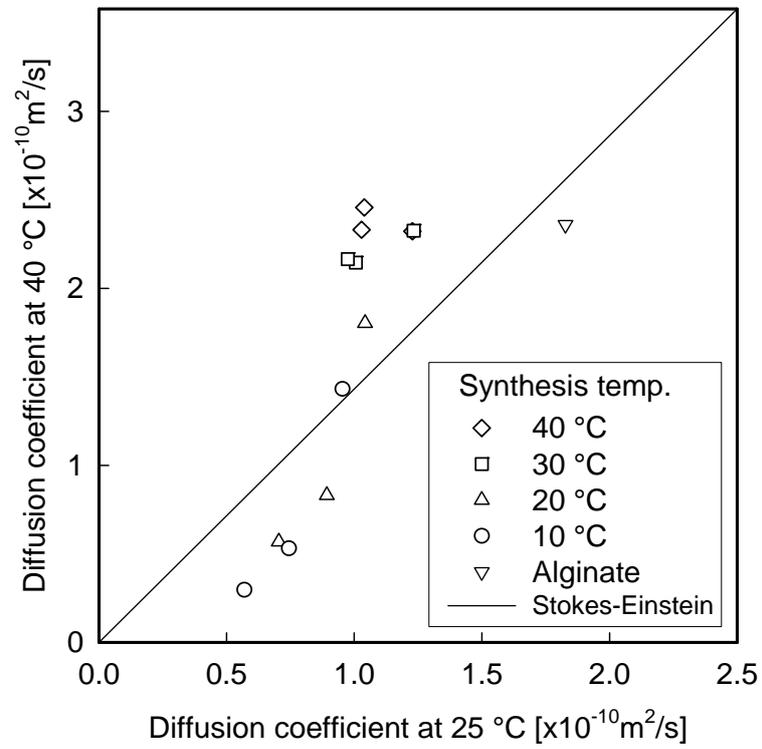


Figure 2-12 Relationship between the diffusion coefficient of VB<sub>12</sub> in the IPN beads at surrounding solution temperature of 25 °C and 40 °C

## 第3章 二重管ノズルを用いた気中滴下法による IPN ゲルカプセルの調製と評価

### 3.1 第3章の概要

第3章では、シンプルな製法である二重管ノズルを用いた気中滴下法による IPN ゲルカプセルの作製を試みた。この製法は、二重管ノズルの外管から高粘性溶液を、内管から芯溶液を同時に送液して二層構造の液滴を形成し、ゲル化剤を含む受け止め溶液に滴下することで、コアシェルカプセルを得る方法である。芯物質をカプセル形成まで別の場所で保存しておけることや、ワンステップで単分散球形シームレスカプセルが得られるシンプルさが特徴である。この製法に、Park らが提案した単分散 IPN ゲルビーズ作製法を組み合わせた [74]。つまり、二重管ノズルの外管からアルギン酸ナトリウム、NIPAM モノマーと架橋剤を含む高粘性溶液を送液し、得られる液滴をアルギン酸のゲル化剤と重合開始剤を含む受け止め溶液中に滴下する。素早くゲル化するアルギン酸中で PNIPAM の重合が進行し、アルギン酸カルシウムと PNIPAM による IPN ゲルの壁膜を持つコアシェルカプセルが得られる。得られた IPN ゲルカプセルの特性評価を行うとともに、第2章で得られた知見を踏まえてカプセルの構造を検討した

### 3.2 実験方法

#### 3.2.1 材料

2.2.1 項と同様の試薬に加えて、以下のものを用いた。

- ・ ココアパウダー: 森永製菓

#### 3.2.2 IPN ゲルカプセルの調製方法

実験装置概念図を Figure 3-1 に示した。まず、NIPAM を緩衝液に溶かし 30 分間窒素パージを行った。そこへ、窒素雰囲気下で MBAA と SA を投入し、強制攪拌し壁材溶液とした。芯物質溶液には、特に何も加えず緩衝液を用いた。シリンジポンプを用いてそれぞれの溶液を二重管ノズル(外管ノズル; 外径 = 1.26 mm, 内径 = 0.90 mm; 内管ノズル; 外径 = 0.55 mm, 内径 = 0.30 mm)の外管(15 mL/h)と内管(3 mL/h)から同時に送液し、液滴を受け止め溶液に滴下した。受け止め溶液は APS, TEMED, CaCl<sub>2</sub> を溶解し窒素パージを行っておいたものである。この受け止め溶液中でアルギン酸がアルギン酸カルシウムとしてゲル

化するとともに、PNIPAMとMBAAの重合反応が起こる。室温(22 °C ± 1.5 °C)で90分間重合反応を行った後、カプセルを回収し、超純水で洗浄を行った。さらに、CaCl<sub>2</sub>溶液中で50 °Cと10 °Cでそれぞれ2時間ずつ収縮・膨潤させることで、アルギン酸の構造を固定化し評価実験で使うまで10 °Cで保存した。実験条件はTable 3-1に示した通りで、壁材溶液中のNIPAM濃度と受け止め溶液中のAPS濃度を変化させ、それに伴ってNIPAM/MBAA比とAPS/TEMED比が一定になるようにMBAA濃度とTEMED濃度も変化させた。

また、コアシェル型構造を確認するために可視化マーカーとしてココアパウダーを使った実験を行った。この実験では、上述の実験方法に加えて、芯物質溶液として、ココアパウダーを懸濁させ、3~4時間自然沈降させた後の上澄み溶液を用いた。それ以外の条件は上述と同じである。

### 3.2.3 評価方法

評価方法は2.2.3項で示したものと同様に、実体顕微鏡観察、FTIR、CHN元素分析、溶液温度変化に伴う湿重量測定、ビタミンB<sub>12</sub>の放出実験を行った。

ココアパウダーを用いた可視化実験で作製したIPNゲルカプセルは実体顕微鏡観察のみを行った。

ゲル内拡散係数を算出する式(2.1)は均一球体を仮定しており、ここで作製するカプセル型の球体粒子では本来適用範囲外である。しかし、このような形状だと計算がさらに煩雑になるため、同様の計算を行い、ゲルカプセル全体としてのゲル内拡散係数を算出した。

## 3.3 結果・考察

### 3.3.1 実体顕微鏡観察

芯物質溶液としてココア懸濁液を用いて作製したアルギン酸カルシウムビーズとIPNゲルカプセルの実体顕微鏡写真をFigure 3-2に示した。まず、アルギン酸カルシウムカプセルから、二層構造のコアシェルカプセルが得られることが確認できる。IPNゲルカプセルでは、ゲルが白濁しているため、写真では少し見にくいコアシェルカプセルが得られている。また、ゲルが白濁しているため、不均一なPNIPAMとアルギン酸によるIPNゲルを構成していると考えられる。

### 3.3.2 FTIR

IPN ゲルカプセルの FTIR スペクトルを Figure 3-3 に示した。比較のためにアルギン酸カルシウムと直鎖 PNIPAM のスペクトルも示している。ピークは 2.3.2 項で示した通りで、アルギン酸カルシウムは  $1620\text{ cm}^{-1}$  と  $1417\text{ cm}^{-1}$  に、PNIPAM は  $1650\text{ cm}^{-1}$ 、 $1550\text{ cm}^{-1}$  および  $1387\text{ cm}^{-1}$  と  $1367\text{ cm}^{-1}$  に特有のピークを示す。IPN ゲルカプセルでは PNIPAM とアルギン酸カルシウムのピークが両方観察され、投入 NIPAM 投入濃度の高い方がより PNIPAM のピークが大きく、アルギン酸のピークが目立たなくなっている。これにより PNIPAM とアルギン酸の構造や結合に変化はないと言える。

### 3.3.3 元素分析

元素分析結果をもとに計算した PNIPAM/アルギン酸重量比を Figure 3-4 に示した。横軸は受け止め溶液の APS 濃度、縦軸は N/C 比から計算した PNIPAM/アルギン酸重量比である。PNIPAM/アルギン酸重量比は NIPAM 濃度、および APS 濃度の増加に伴って増加している。

ラジカル重合において、重合初期における重合速度  $R_p$  は以下に示すようにモノマー濃度の 1 次と開始剤濃度の 0.5 次に比例することが広く知られている [75]。

$$R_p = k_p (fk_d k_t)^{0.5} [M][I]^{0.5} \quad \text{式(3.1)}$$

ここで、 $k_p$ 、 $k_d$ 、 $k_t$  はそれぞれ成長反応、開始反応、停止反応の速度定数、 $f$  は開始剤効率、 $[M]$  はモノマー (NIPAM と MBAA) 濃度、 $[I]$  は開始剤 (APS) 濃度である。そこで、 $[M][I]^{0.5}$  と PNIPAM/アルギン酸重量比の関係を Figure 3-5 に示した。PNIPAM/アルギン酸比は  $[M][I]^{0.5}$  に直線的に比例しており、本実験範囲では重合初速度で PNIPAM 導入量を整理できることが示された。

### 3.3.4 温度応答性評価

IPN ゲルカプセルの  $10\text{ }^\circ\text{C}$  での湿重量を基準とした相対湿重量を Figure 3-6 に示した。いずれの条件で作製したカプセルにおいても、溶液温度の上昇に伴って緩やかに湿重量が減少している様子が観察された。また投入 NIPAM 濃度の増加に伴って、体積変化は大きくなったが、VPTT 付近における鋭い体積変化は NIPAM 濃度  $14.4\text{ wt}\%$  において少し観

察されたのみであった。次に、PNIPAM/アルギン酸重量比と 50 °C における収縮率(つまり、 $1 - W_{50}/W_{10}$ )との関係を Figure 3-7 示した。PNIPAM/アルギン酸重量比の増加に伴って徐々に収縮率は増加している。また、この収縮率は、不均一な PNIPAM とアルギン酸カルシウムによる IPN ゲルビーズと同様の傾向であった。

### 3.3.5 放出実験

外部溶液温度 25 °C と 40 °C における VB<sub>12</sub> の経時的放出結果の例を Figure 3-8 に示した。曲線は式(2.1)を用いてフィッティングを行ったものである。いずれの条件においてもカプセルに充填した VB<sub>12</sub> が外部溶液に拡散し、一定濃度に到達している様子が観察された。また、実験データと曲線は概ね一致していたため、カプセル全体で計算したゲル内拡散係数として比較を行った。得られたゲル内拡散係数とポリマー体積率の関係を Figure 3-9 に示した。外部溶液温度が 25 °C のときはポリマー体積率の上昇に伴ってゲル内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ゲル内拡散係数はほとんど変化しなかった。次に、溶液温度 25 °C と 40 °C におけるゲル内拡散係数をそれぞれ横軸と縦軸にプロットしたものを Figure 3-10 に示した。直線は原点と Stokes-Einstein の式を用いて計算した水中の拡散係数を直線結んだ直線である。アルギン酸カルシウムカプセルでは、この直線上にデータが来ているのに対し、IPN ゲルカプセルでは直線の上側にデータが来ている。また、NIPAM 濃度の増加に伴って直線から左上側に離れていく傾向が観察された。このことから、カプセル壁膜は不均一な PNIPAM とアルギン酸カルシウムによる IPN ゲルを構成しており、溶液温度を上昇させるとゲル内拡散が促進されるカプセルが得られたと言える。

## 3.4 第 3 章のまとめ

第 3 章では二重管ノズルを用いた気中滴下法で IPN ゲルカプセルの調製し、特性評価を行った。まず、ワンステップのシンプルな製法で架橋した PNIPAM とアルギン酸による IPN ゲルカプセルの調製に成功した。そして、元素分析の結果、PNIPAM/アルギン酸重量比は壁材溶液の NIPAM 濃度、受け止め溶液の APS 濃度を用いて計算した重合初速度に比例することがわかった。また、温度応答性やゲル内拡散特性は不均一な PNIPAM とアルギン酸による IPN ゲルビーズと同じ傾向を示した。つまり、溶液温度を上昇させると、小さくならかな体積変化を示し、ゲル内拡散は促進された。

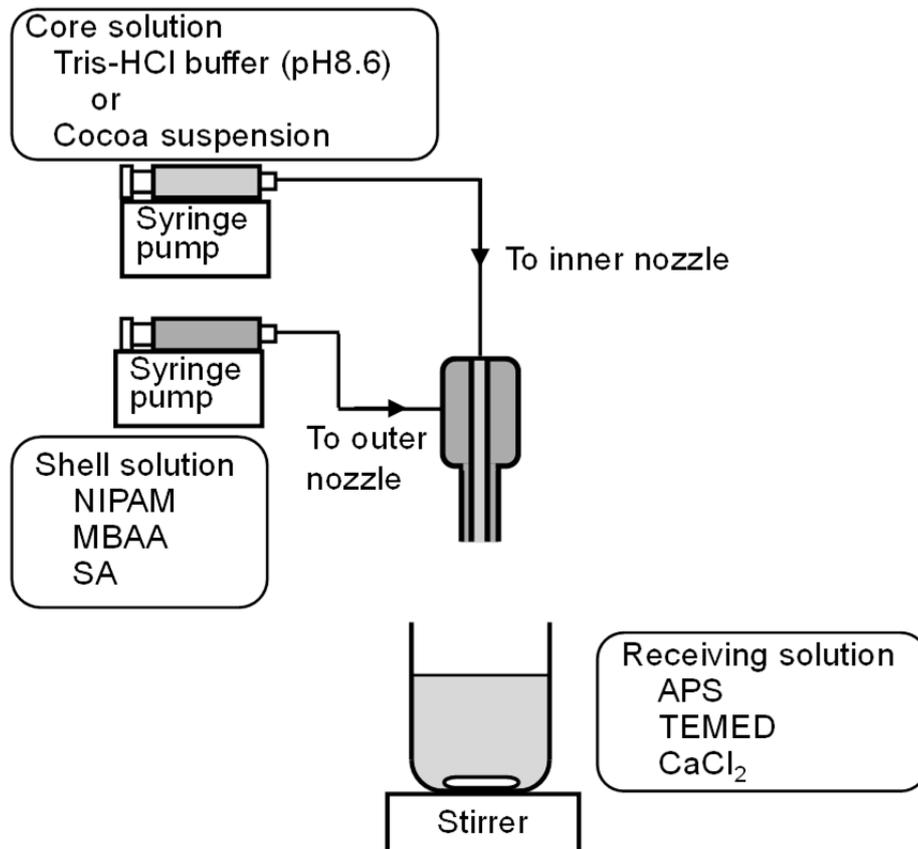


Figure 3-1 Experimental apparatus for preparing IPN hydrogel capsule via dripping method using concentric two-fluid nozzles

Table 3-1 Preparation conditions of dripping method using concentric two-fluid nozzles

Concentrations					
Shell solution			Receiving solution		
NIPAM	MBAA	SA	APS	TEMED	CaCl <sub>2</sub>
wt%	wt%	wt%	wt%	vol%	wt%
4.8-14.4	0.2-0.6	2.0	0.5-2.0	0.25-1.0	1.1

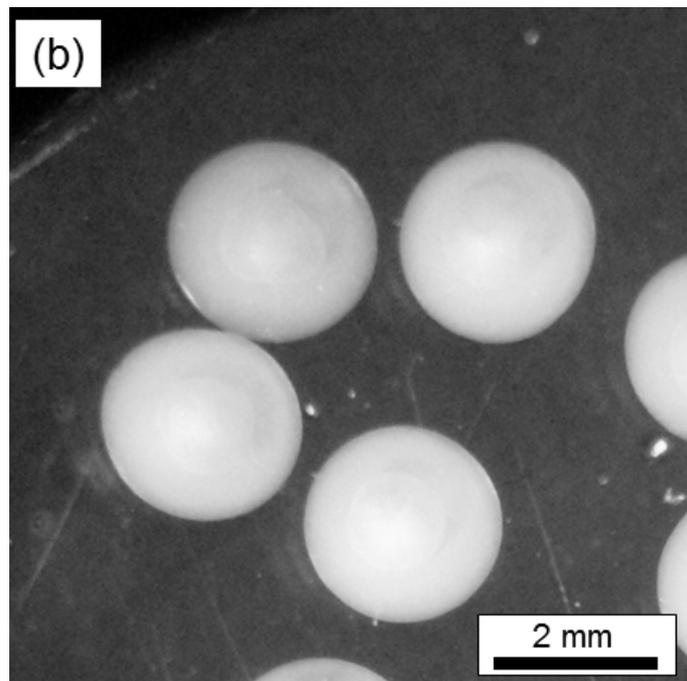
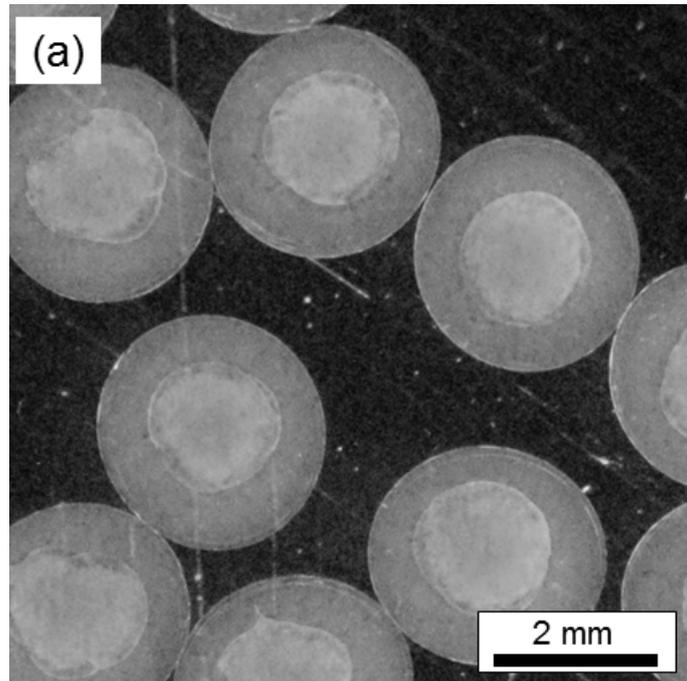


Figure 3-2 Stereoscopic image of (a) calcium alginate capsule and (b) IPN capsules (NIPAM concentration: 9.6 wt%, APS concentration: 1.0 wt%) prepared for visualization

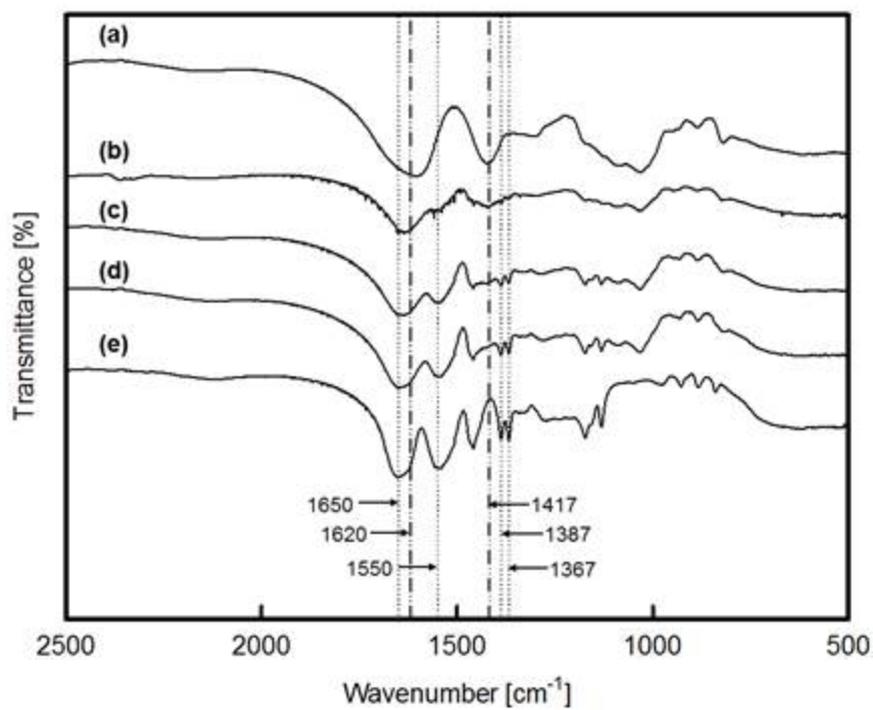


Figure 3-3 FTIR spectra of (a) calcium alginate capsules and IPN capsules prepared with initial NIPAM monomer concentration of (b) 4.8 wt%, (c) 9.6 wt%, (d) 14.4 wt% and (e) PNIPAM (dashed lines: alginate peaks, dot lines: PNIPAM peaks)

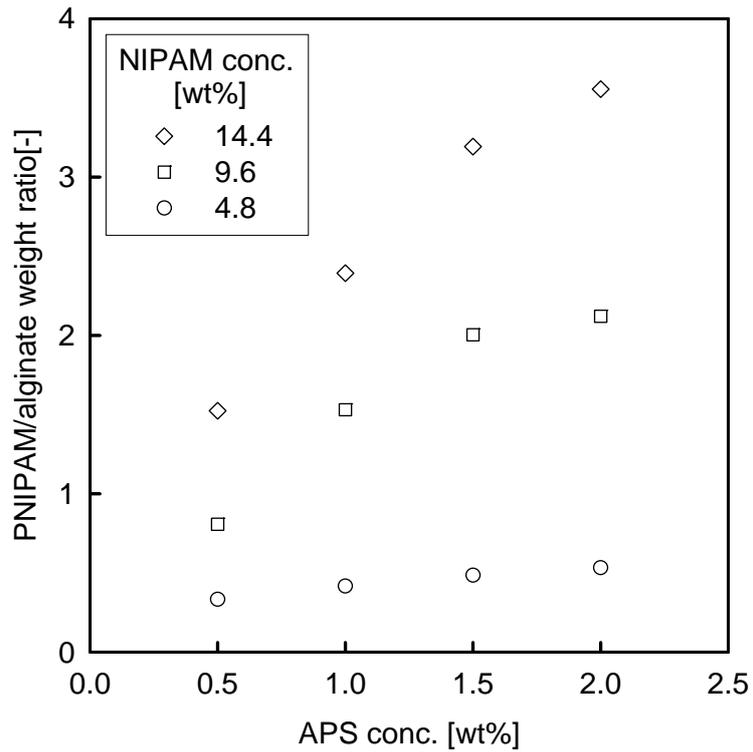


Figure 3-4 PNIPAM/alginate weight ratio of IPN capsules

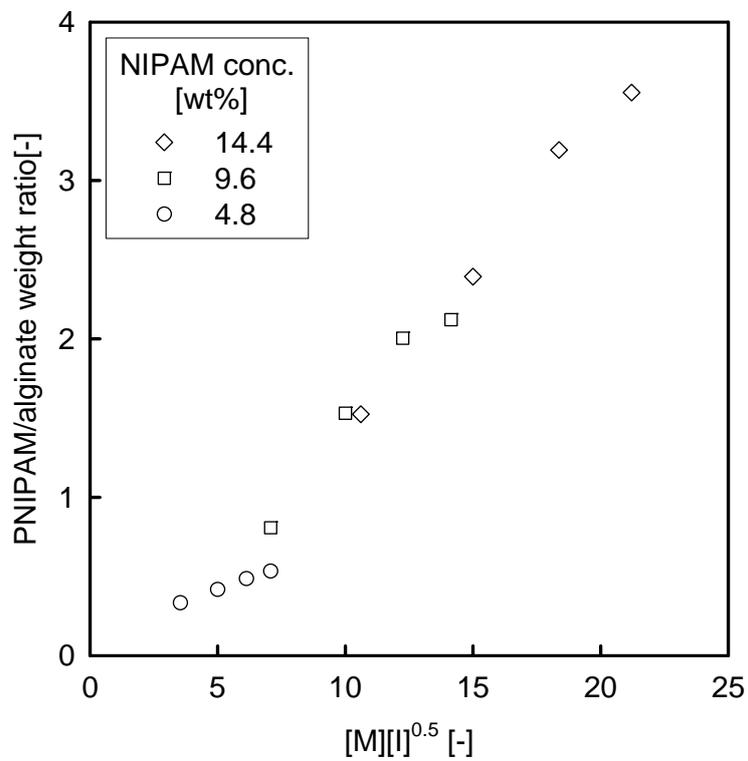


Figure 3-5 Relationship between the initial polymerization rate and the PNIPAM alginate weight ratio

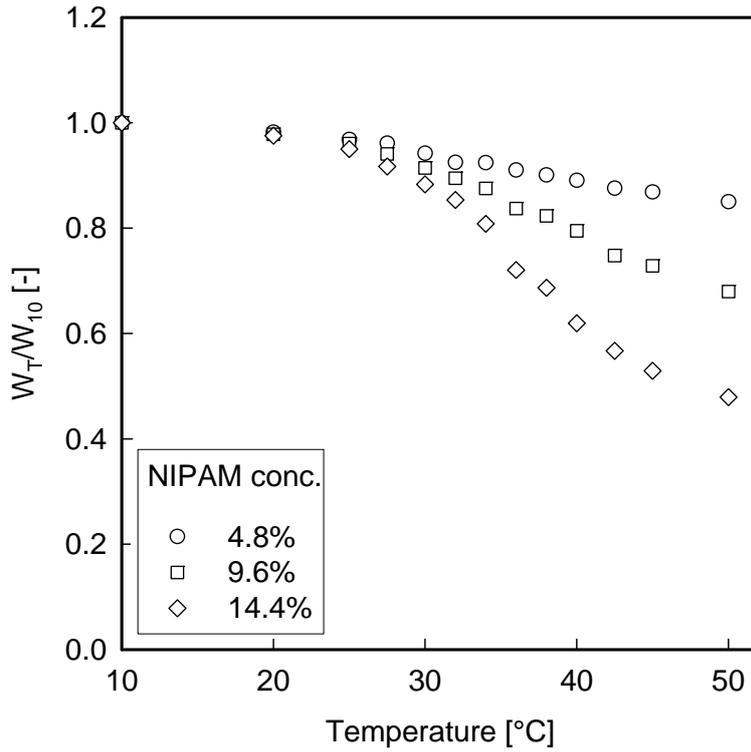


Figure 3-6 Relative wet weight of IPN capsules as a function of surrounding solution temperature (APS concentration: 1.0 wt%)

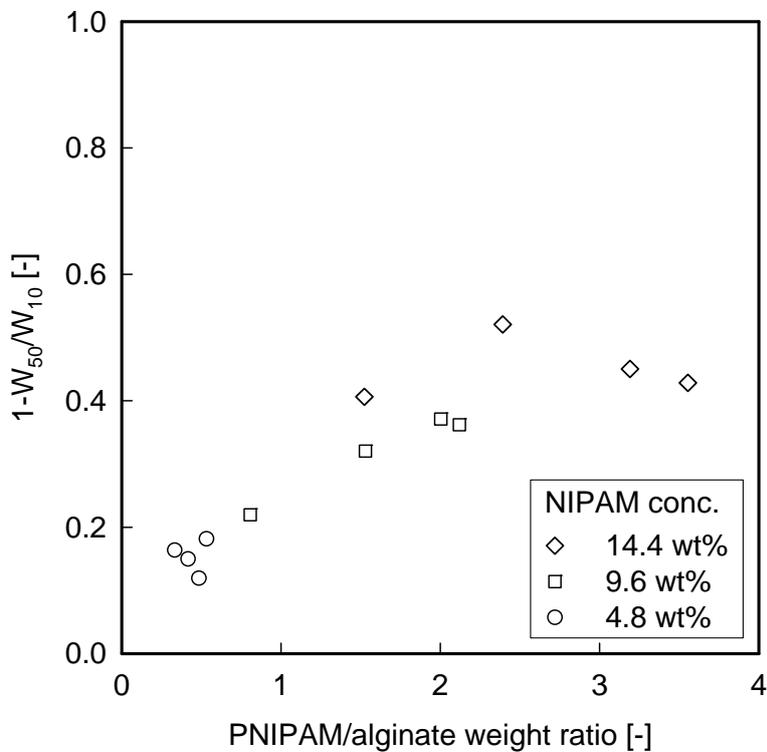


Figure 3-7 Relationship between the PNIPAM/alginate weight ratio and shrinkage ratio ( $1 - W_{50}/W_{10}$ ) of the IPN capsules

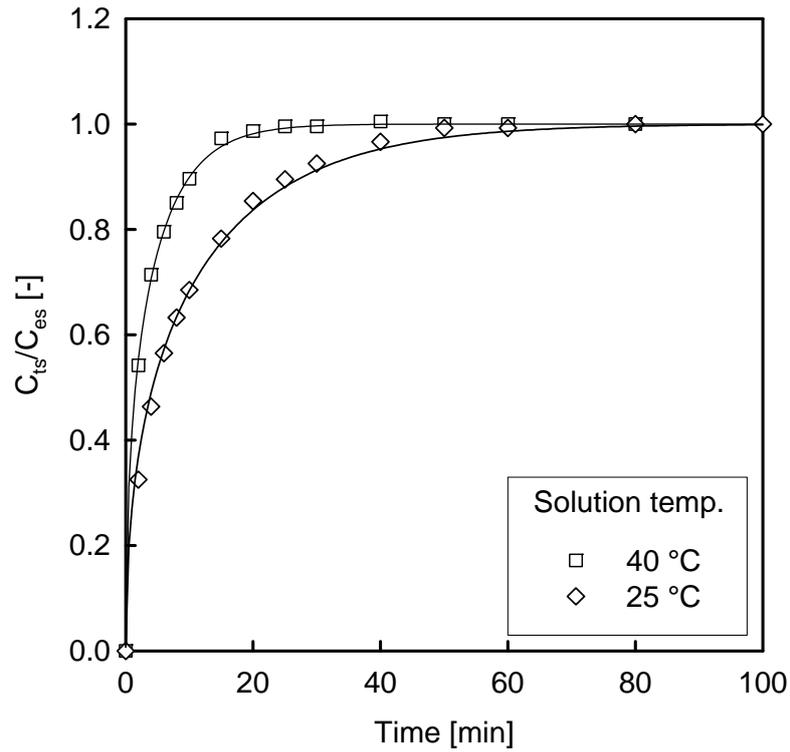


Figure 3-8 Temporal release of VB<sub>12</sub> at 25 °C and 40 °C from IPN capsules (initial NIPAM concentration: 9.6 wt%, APS concentration 1.5 wt%)

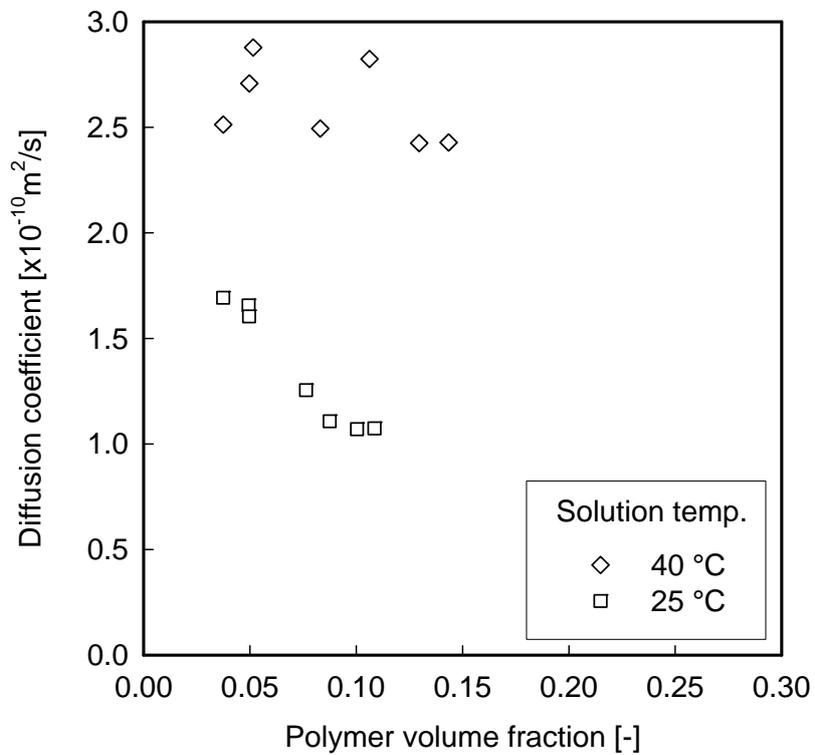


Figure 3-9 Diffusion coefficient of VB<sub>12</sub> in the IPN capsules

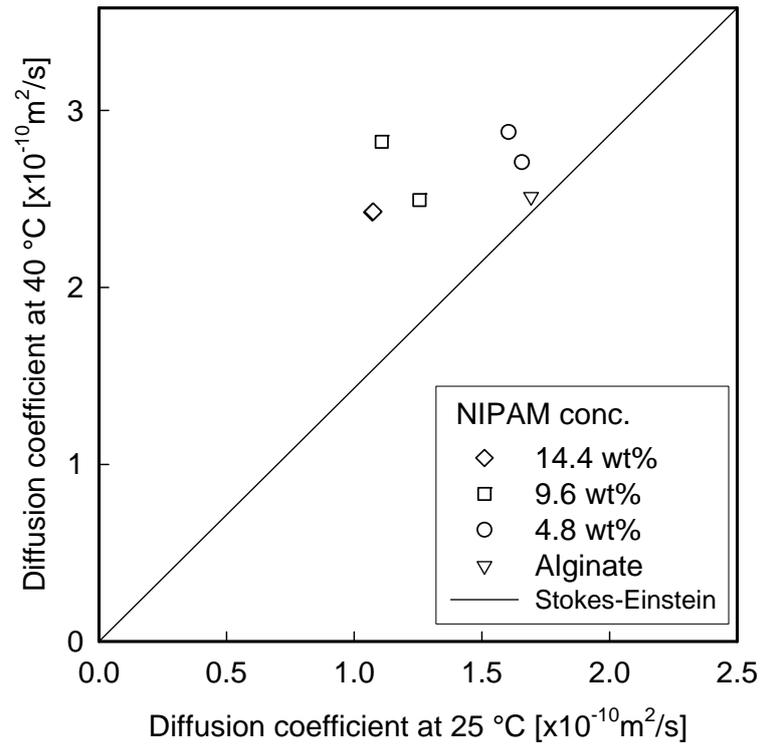


Figure 3-10 Relationship between the diffusion coefficient of  $\text{VB}_{12}$  in the IPN beads at surrounding solution temperature of 25 °C and 40 °C

## 第4章 結論

### 4.1 本論文のまとめ

本研究は、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、ゲル内基質拡散特性を測定することで、IPNゲル粒子の設計指針を示すために行った。

第2章では、架橋したPNIPAMとアルギン酸カルシウムによるIPNゲル作製における合成温度の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でIPNゲルビーズの調製した。FTIRや元素分析では合成温度の差は特に観察できなかったが、見た目や温度応答特性、ゲル内拡散特性では大きな差が表れた。低温(10℃と20℃)で合成したIPNゲル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(30℃と40℃)で合成したIPNゲルビーズは見た目が白濁し、小さくなだらかな体積変化を起こした。また、IPNゲルビーズ中のゲル内拡散特性を調べた結果、高温で合成したビーズは、低温で合成したビーズよりも、同じポリマー体積率におけるゲル内拡散係数が大きかった。そして、溶液温度を上昇させると、低温で合成したビーズはゲル内拡散を抑制するのに対し、高温で合成したビーズはゲル内拡散が促進された。これら一連の結果から、合成温度が異なることでIPNゲルはまったくことなる構造をとっていることが示唆された。低温で合成したIPNゲルビーズは均一なPNIPAMとアルギン酸によって構成され、2つのネットワークがよく絡み合っていると考えられた。それに対し、高温で合成したビーズは不均一なPNIPAMとアルギン酸によって構成され、PNIPAMがタイトな部分とルースな部分をとっていると考えられた。

第3章では、シンプルな製法でIPNゲルを作製する試みとして、二重管ノズルを用いた気中滴下法で、架橋したPNIPAMとアルギン酸カルシウムによるIPNゲルカプセルの調製した。ワンステップのシンプルな製法でIPNゲルカプセルの調製に成功した。そして、元素分析の結果、PNIPAM/アルギン酸重量比は壁材溶液のNIPAM濃度、受け止め溶液のAPS濃度を用いて計算した重合初速度に比例することがわかった。また、温度応答性やゲル内拡散特性は不均一なPNIPAMとアルギン酸によるIPNゲルビーズと同じ傾向を示した。つまり、溶液温度を上昇させると、小さくなだらかな体積変化を示し、ゲル内拡散は促進された。

これらの結果より、架橋したPNIPAMとアルギン酸カルシウムを複合したIPNゲル粒子の

製法が確立され、ゲル粒子作製条件と得られるゲル粒子の特性との関係が明らかになった。つまり、本論文で目的としていた IPN ゲル粒子の設計指針を示すことができたと言える。

## 4.2 今後の展望

本研究で作製した IPN ゲル粒子の応用例として、固定化触媒が考えられる。アルギン酸カルシウムゲル粒子は、固定化触媒としての研究例が多く、PNIPAM を複合した IPN ゲルでも同様の固定化触媒が作製できると考えられる。そうすることで、溶液温度の変化により反応速度を変化させることのできる反応器が得られると期待される。例えば、均一な PNIPAM とアルギン酸を複合した IPN ゲル粒子では、溶液温度を上げると、ゲル内拡散の抑制による反応速度の低下が見込まれるため、反応速度を保てるフィードバック型反応器として利用できる。つまり、外乱によって溶液温度が上昇したとき、アルギン酸のみの固定化触媒の反応速度は急激に上昇してしまう。それに対し、IPN ゲル粒子なら、溶液温度が上昇すると、触媒そのものの反応速度は上昇するが、ゲル内拡散が抑制され、全体の反応速度を低下させることができる。それとは逆に、不均一な PNIPAM とアルギン酸を複合した IPN ゲル粒子では、溶液温度を上げると、ゲル内拡散の促進による反応速度の上昇が見込まれるため、反応速度を効率的に制御できる反応器として利用できる。つまり、アルギン酸のみの固定化触媒では溶液温度を 10 °C 上げないといけない場合でも、不均一な PNIPAM とアルギン酸による IPN ゲル粒子は、溶液温度を 5 °C しか上げなくても済むような効率的な運転ができると期待される。

次に、IPN ゲル粒子のさらなる機能性向上を助けると考えられる検討項目についてである。基礎的な側面からは、合成温度をもう少し細かく変更して IPN ゲル粒子を作製して特性評価を行う必要があると考えられる。本研究では、合成温度は 10–40 °C までの 10 °C 刻みで実験を行っている。そして、合成温度が 20 °C と 30 °C の間で特性に大きな差が表れたが、合成温度による影響は連続的なのか、断続的なのか、という点に興味がある。この点をはっきりさせれば、粒子設計の幅を広げることができると期待される。ただし、合成温度の影響を細かく検討するためには、もう少し粒子径を小さくして検討する必要がある。重合反応は発熱反応であるため、粒子径が大きいと、粒子の外側と内側で合成温度が少し異なってしまう可能性がある。そのため、粒子径を小さくして、重合熱の影響を最小限にして実験する必要があると考えられる。

また、IPN ゲルの均一性は定性的な議論しか行えていないため、定量的な評価が必要に

なると考えられる。ゲルの均一性の定量的な評価は高分子ゲル研究全体の中でもまだまだ議論の余地がある分野ではあるが、近年では共焦点顕微鏡観察や小角中性子散乱のような方法で均一性の評価が行われてきている。2種類のポリマーを複合した IPN ゲルではさらに評価が難しいところもあるだろうが、ぜひ挑戦したい課題である。そして、定量化された均一性とゲル内拡散の関係を検討すれば、高分子ゲルの研究も一層進展していくことが期待される。

加えて、実用の観点からは機械的強度の測定が欠かせない。特に合成温度が異なると PNIPAM の均一性に大きな違いがあるため、それが機械的強度にどのような形で現れるかには興味がある。

また、機能性を向上させるために、有機・無機複合ゲルの作製もおもしろいテーマであり、本研究室ではすでにチタニアやマグネタイトを複合したゲルの検討を行っている[62,76]。チタニアを複合したゲルでは、溶液温度を変えることで光触媒反応速度を変化させることができている。また、マグネタイトを複合したゲルでは、外部磁場に応答してマグネタイトが誘導加熱され、溶液温度を変化させずにゲルを体積変化させることもできている。しかし、複合することで新たな機能を付与できることを示すだけで、定量的な評価がまだ残っている。特に、マグネタイトを複合したゲルでは、加熱の程度をうまく制御できていないため、マグネタイト投入量や、交流磁場強度などを検討して、ゲルの体積変化を効率的に行えるようにしていく必要があると考えられる。

本論文は温度応答性複合ゲルの研究を一層進めるためのトリガーとなるような研究になっている。今後もさらなる研究が行われていくことを期待している。

## 【略称・記号】

逆エマルションを応用した製法で作製した中実粒子を「ビーズ」、二重管ノズルを用いて作製したコアシェル構造の粒子を「カプセル」、それら両方を合わせたものを単に「粒子」と記載している。

略称(アルファベット順)

記号	名称
APS	ペルオキシ二硫酸アンモニウム(重合開始剤)
CaCl <sub>2</sub>	塩化カルシウム
DDS	ドラッグデリバリーシステム
HCl	塩酸
IPN	相互侵入網目構造
LCST	下限臨界溶液温度
MBAA	<i>N,N'</i> -メチレンビスアクリルアミド(架橋剤)
NIPAM	<i>N</i> -イソプロピルアクリルアミド
PNIPAM	<i>N</i> -イソプロピルアクリルアミドポリマー
SA	アルギン酸ナトリウム
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -テトラメチルエチレンジアミン(重合促進剤)
Tris	トリスヒドロキシメチルアミノメタン
VB <sub>12</sub>	ビタミン B <sub>12</sub> (シアノコバラミン)
VPTT	体積相転移温度

記号(アルファベット順, ただし, 拡散に関するものはわけて表記した, 一部重複あり)

記号	単位	意味
f	-	ラジカル重合における開始剤効率
[I]	wt %	重合開始剤濃度
k <sub>d</sub>	-	ラジカル重合における開始反応速度定数
k <sub>p</sub>	-	ラジカル重合における成長反応速度定数

$k_t$	-	ラジカル重合における停止反応速度定数
[M]	wt %	モノマー濃度
$R_p$	-	ラジカル重合初期における重合速度
T	°C	溶液温度
$V_g$	mm <sup>3</sup>	ゲル粒子全体の体積
$W_d$	mg	ゲル粒子の真空乾燥重量
$W_{d-A}$	mg	アルギン酸カルシウムゲル粒子の真空乾燥重量
$W_T$	mg	溶液温度 T(°C)における IPN ゲル粒子の湿重量

#### 拡散に関するもの

記号	単位	意味
$C_{eg}$	g/m <sup>3</sup>	ゲル粒子中の平衡濃度
$C_{es}$	g/m <sup>3</sup>	外側溶液の平衡濃度
$C_{ts}$	g/m <sup>3</sup>	時間 t における外側溶液の濃度
$D_0$	m <sup>2</sup> /s	水中における拡散係数
$D_g$	m <sup>2</sup> /s	ゲル内拡散係数
$K_m$	-	分配係数
$q_n$	-	0 を含まない正のパラメータ
r	m	ゲル粒子の半径
$r_s$	m	基質の流体力学半径
t	s	時間
$T_{abs}$	K	溶液の絶対温度
$V_g$	m <sup>3</sup>	ゲル粒子全体の体積
$V_s$	m <sup>3</sup>	外部溶液体積

#### Greek letters

記号	単位	意味
$\alpha$	-	有効体積率
$\eta$	Pa·s	溶媒の粘度

$\kappa_B$	J/K	ボルツマン定数 ( $1.38 \times 10^{-23}$ J/K)
$\nu_A$	$\text{m}^3/\text{g}$	アルギン酸の部分比容
$\nu_N$	$\text{m}^3/\text{g}$	PNIPAM の部分比容
$\phi$	-	ゲル中のポリマー体積率

## 【参考文献】

- [1] 吉田亮, 高分子ゲル, 共立出版, 2004.
- [2] O. Wichterle, D. Lim, Hydrophilic Gels for Biological Use, *Nature*. 185 (1960) 117–118.
- [3] B.L. Atkins, R.N. Bashaw, B.G. Harper, Absorbent product containing a hydrocelluloidal composition, US Patent 3669103, 1972.
- [4] T. Tanaka, Collapse of Gels and the Critical Endpoint, *Phys. Rev. Lett.* 40 (1978) 820–823.
- [5] 高分子学会, ゲル・イノベーション -分子設計による新機能創出とその応用-, エヌ・ティー・エス, 2008.
- [6] K. Mizoguchi, J. Ida, T. Matsuyama, H. Yamamoto, Straight-chained thermo-responsive polymer with high chelating group content for heavy metal ion recovery, *Sep. Purif. Technol.* 75 (2010) 69–75.
- [7] H. Macková, D. Horák, Effects of the reaction parameters on the properties of thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide) microspheres prepared by precipitation and dispersion polymerization, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 44 (2006) 968–982.
- [8] J.J. Chen, A.L. Ahmad, B.S. Ooi, Poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) hydrogels for copper ion adsorption: Equilibrium isotherms, kinetic and thermodynamic studies, *J. Environ. Chem. Eng.* 1 (2013) 339–348.
- [9] R.P. Dumitriu, G.R. Mitchell, C. Vasile, Rheological and thermal behaviour of poly(N-isopropylacrylamide)/alginate smart polymeric networks, *Polym. Int.* 60 (2011) 1398–1407.
- [10] H. Chen, S. Pan, Y. Xiong, C. Peng, X. Pang, L. Li, et al., Preparation of thermo-responsive superhydrophobic TiO<sub>2</sub>/poly(N-isopropylacrylamide) microspheres, *Appl. Surf. Sci.* 258 (2012) 9505–9509.
- [11] 日本化学会, 驚異のソフトマテリアル 最新の機能性ゲルの研究, 化学同人, 2010.
- [12] M. Shibayama, T. Norisuye, S. Nomura, Cross-link Density Dependence of Spatial Inhomogeneities and Dynamic Fluctuations of Poly( N -isopropylacrylamide) Gels, *Macromolecules*. 29 (1996) 8746–8750.
- [13] W.-F. Lee, S.-H. Yen, Thermoreversible hydrogels. XII. Effect of the polymerization conditions on the swelling behavior of the N-isopropylacrylamide gel, *J. Appl. Polym. Sci.* 78 (2000) 1604–1611.
- [14] M. Shibayama, S. Takata, C. Nakamoto, Pressure effects on the inhomogeneities of environmentally sensitive polymer gels, *Macromol. Symp.* 207 (2004) 31–36.
- [15] P. Pérez, A. Gallardo, O.I. Corrigan, J.S. Román, Thermosensitivity of N-isopropylacrylamide hydrogels cross-linked with degradable cross-linker., *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 19 (2008) 769–783.
- [16] C.M. Rathjen, C.-H. Park, P.R. Goodrich, D.D. Walgenbach, The effect of preparation temperature on some properties of a temperature-sensitive hydrogel, *Polym. Gels Networks*. 3 (1995) 101–115.
- [17] N. Kayaman, D. Kazan, A. Erarslan, O. Okay, B.M. Baysal, Structure and protein separation efficiency of poly(N-isopropylacrylamide) gels: Effect of synthesis conditions, *J. Appl. Polym. Sci.* 67 (1998) 805–814.
- [18] Y. Hirokawa, H. Jinnai, Y. Nishikawa, T. Okamoto, T. Hashimoto, Direct Observation of Internal Structures in Poly( N -isopropylacrylamide) Chemical Gels, *Macromolecules*. 32 (1999) 7093–7099.
- [19] Ç. Sayil, O. Okay, The effect of preparation temperature on the swelling behavior of poly (N-isopropylacrylamide) gels, *Polym. Bull.* 45 (2000) 175–182.
- [20] C. Sayil, O. Okay, Macroporous poly(N-isopropyl)acrylamide networks: formation conditions, *Polymer* 42 (2001) 7639–7652.
- [21] S. Takata, K. Suzuki, T. Norisuye, M. Shibayama, Dependence of shrinking kinetics of poly(N-isopropylacrylamide) gels on preparation temperature, *Polymer* 43 (2002) 3101–3107.
- [22] Y. Hirokawa, T. Okamoto, K. Kimishima, H. Jinnai, S. Koizumi, K. Aizawa, et al., Sponge-like

- heterogeneous gels: hierarchical structures in poly( N -isopropylacrylamide) chemical gels as observed by combined scattering and confocal microscopy method, *Macromolecules*. 41 (2008) 8210–8219.
- [23] C. Sayil, O. Okay, Macroporous poly(N-isopropylacrylamide) networks, *Polym. Bull.* 48 (2002) 499–506.
- [24] J. Nie, B. Du, W. Oppermann, Influence of formation conditions on spatial inhomogeneities in poly( N -isopropylacrylamide) hydrogels, *Macromolecules*. 37 (2004) 6558–6564.
- [25] A. Suzuki, M. Yamazaki, Y. Kobiki, H. Suzuki, Surface Domains and Roughness of Polymer Gels Observed by Atomic Force Microscopy, *Macromolecules*. 30 (1997) 2350–2354.
- [26] S. Takata, T. Norisuye, M. Shibayama, Preparation Temperature Dependence and Effects of Hydrolysis on Static Inhomogeneities of Poly(acrylamide) Gels, *Macromolecules*. 32 (1999) 3989–3993.
- [27] Z. Li, J. Shen, H. Ma, X. Lu, M. Shi, N. Li, et al., Preparation and characterization of pH- and temperature-responsive nanocomposite double network hydrogels, *Mater. Sci. Eng. C*. 33 (2013) 1951–1957.
- [28] M.K. Jaiswal, R. Banerjee, P. Pradhan, D. Bahadur, Thermal behavior of magnetically modalized poly(N-isopropylacrylamide)-chitosan based nanohydrogel., *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 81 (2010) 185–194.
- [29] W.-J. Huang, W.-F. Lee, Effects of TEOS contents on swelling behaviors and mechanical properties of thermosensitive hybrid gels, *Polym. Compos.* 31 (2009) 887–896.
- [30] R.P. Dumitriu, A.-M. Oprea, C. Natalia Cheaburu, M.-T. Nistor, O. Novac, C.M. Ghiciuc, et al., Biocompatible and biodegradable alginate/poly( N -isopropylacrylamide) hydrogels for sustained theophylline release, *J. Appl. Polym. Sci.* 131 (2014) 40733.
- [31] X. Xu, S. Lü, C. Gao, X. Wang, X. Bai, N. Gao, et al., One-pot facile synthesis of silica reinforced double network hydrogels based on triple interactions, *Chem. Eng. J.* 240 (2014) 331–337.
- [32] C. Vasile, R.P. Dumitriu, C.N. Cheaburu, A.M. Oprea, Architecture and composition influence on the properties of some smart polymeric materials designed as matrices in drug delivery systems. A comparative study, *Appl. Surf. Sci.* 256 (2009) S65–S71.
- [33] H. Watanabe, T. Matsuyama, H. Yamamoto, Preparation of immobilized enzyme gel particles using an electrostatic atomization technique, *Biochem. Eng. J.* 8 (2001) 171–174.
- [34] N. Ortega, M. Perez-Mateos, M.C. Pilar, M.D. Busto, Neutrase immobilization on alginate-glutaraldehyde beads by covalent attachment., *J. Agric. Food Chem.* 57 (2009) 109–115.
- [35] S. Sugiura, T. Oda, Y. Izumida, Y. Aoyagi, M. Satake, A. Ochiai, et al., Size control of calcium alginate beads containing living cells using micro-nozzle array., *Biomaterials*. 26 (2005) 3327–3331.
- [36] W.H. Tan, S. Takeuchi, Monodisperse alginate hydrogel microbeads for cell encapsulation, *Adv. Mater.* 19 (2007) 2696–2701.
- [37] 宮島千尋, 食品加工の名脇役「アルギン酸」, *化学工学*. 78 (2014) 528–531.
- [38] D. Nayak, A. Banerjee, S. Roy, S. Lahiri, Speciation dependent studies on chromium absorption using calcium alginate and iron doped calcium alginate biopolymer, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 274 (2007) 219–224.
- [39] A. Nakayama, A. Kakugo, J.P. Gong, Y. Osada, M. Takai, T. Erata, et al., High Mechanical Strength Double-Network Hydrogel with Bacterial Cellulose, *Adv. Funct. Mater.* 14 (2004) 1124–1128.
- [40] J.P. Gong, Y. Katsuyama, T. Kurokawa, Y. Osada, Double-Network Hydrogels with Extremely High Mechanical Strength, *Adv. Mater.* 15 (2003) 1155–1158.
- [41] M.R. Guilherme, R. Silva, E.M. Giroto, A.F. Rubira, E.C. Muniz, Hydrogels based on PAAm network

- with PNIPAAm included: hydrophilic–hydrophobic transition measured by the partition of Orange II and Methylene Blue in water, *Polymer* 44 (2003) 4213–4219.
- [42] W.-F. Lee, H.-C. Lu, Synthesis and swelling behavior of thermosensitive IPN hydrogels based on sodium acrylate and N -isopropyl acrylamide by a two-step method, *J. Appl. Polym. Sci.* 127 (2013) 3663–3672.
- [43] S.J. Kim, S.J. Park, S.M. Lee, Y.M. Lee, H.C. Kim, S.I. Kim, Electroactive characteristics of interpenetrating polymer network hydrogels composed of poly(vinyl alcohol) and poly(N-isopropylacrylamide), *J. Appl. Polym. Sci.* 89 (2003) 890–894.
- [44] A.C. Wenceslau, F.G. dos Santos, É.R.F. Ramos, C. V. Nakamura, A.F. Rubira, E.C. Muniz, Thermo- and pH-sensitive IPN hydrogels based on PNIPAAm and PVA-Ma networks with LCST tailored close to human body temperature, *Mater. Sci. Eng. C* 32 (2012) 1259–1265.
- [45] M.R. de Moura, F.A. Aouada, M.R. Guilherme, E. Radovanovic, A.F. Rubira, E.C. Muniz, Thermo-sensitive IPN hydrogels composed of PNIPAAm gels supported on alginate-Ca<sup>2+</sup> with LCST tailored close to human body temperature, *Polym. Test.* 25 (2006) 961–969.
- [46] S. Petrusic, M. Lewandowski, S. Giraud, P. Jovancic, B. Bugarski, S. Ostojic, et al., Development and characterization of thermosensitive hydrogels based on poly(N-isopropylacrylamide) and calcium alginate, *J. Appl. Polym. Sci.* 124 (2012) 890–903.
- [47] M.R. de Moura, F. Ahmad Aouada, S.L. Favaro, E. Radovanovic, A. Forti Rubira, E.C. Muniz, Release of BSA from porous matrices constituted of alginate–Ca<sup>2+</sup> and PNIPAAm-interpenetrated networks, *Mater. Sci. Eng. C* 29 (2009) 2319–2325.
- [48] G. Fu, W.O. Soboyejo, Investigation of swellable poly (N-isopropylacrylamide) based hydrogels for drug delivery, *Mater. Sci. Eng. C* 31 (2011) 1084–1090.
- [49] C. Chang, K. Han, L. Zhang, Structure and properties of cellulose/poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels prepared by IPN strategy, *Polym. Adv. Technol.* 22 (2011) 1329–1334.
- [50] M. Wang, Y. Fang, D. Hu, Preparation and properties of chitosan-poly(N-isopropylacrylamide) full-IPN hydrogels, *React. Funct. Polym.* 48 (2001) 215–221.
- [51] J.-T. Zhang, S.-W. Huang, S.-X. Cheng, R.-X. Zhuo, Preparation and properties of poly(N-isopropylacrylamide)/poly(N-isopropylacrylamide) interpenetrating polymer networks for drug delivery, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 42 (2004) 1249–1254.
- [52] X.-Z. Zhang, D.-Q. Wu, C.-C. Chu, Synthesis, characterization and controlled drug release of thermosensitive IPN-PNIPAAm hydrogels., *Biomaterials.* 25 (2004) 3793–805.
- [53] E. Díez-Peña, I. Quijada-Garrido, P. Frutos, J.M. Barrales-Rienda, Thermal Properties of Cross-Linked Poly( N -isopropylacrylamide) [P( N -iPAAm)], Poly(methacrylic acid) [P(MAA)], Their Random Copolymers [P( N -iPAAm- co -MAA)], and Sequential Interpenetrating Polymer Networks (IPNs), *Macromolecules.* 35 (2002) 2667–2675.
- [54] Z. Seden Akdemir, N. Kayaman-Apohan, Investigation of swelling, drug release and diffusion behaviors of poly(N-isopropylacrylamide)/poly (N-vinylpyrrolidone) full-IPN hydrogels, *Polym. Adv. Technol.* 18 (2007) 932–939.
- [55] M. Liu, H. Su, T. Tan, Synthesis and properties of thermo- and pH-sensitive poly(N-isopropylacrylamide)/polyaspartic acid IPN hydrogels, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 2425–2431.
- [56] H. Tokuyama, N. Yazaki, Preparation of poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel beads by circulation polymerization, *React. Funct. Polym.* 70 (2010) 967–971.
- [57] 高分子学会, 高分子辞典 (第3版), 朝倉書店, 2005.
- [58] I. Capek, On inverse miniemulsion polymerization of conventional water-soluble monomers., *Adv.*

- Colloid Interface Sci. 156 (2010) 35–61.
- [59] M.P. Hanga, R.G. Holdich, Membrane emulsification for the production of uniform poly-N-isopropylacrylamide-coated alginate particles using internal gelation, *Chem. Eng. Res. Des.* 92 (2014) 1664–1673.
- [60] K. Akamatsu, T. Yamaguchi, Novel Preparation Method for Obtaining pH-Responsive Core–Shell Microcapsule Reactors, *Ind. Eng. Chem. Res.* 46 (2007) 124–130.
- [61] C.-L. Mou, X.-J. Ju, L. Zhang, R. Xie, W. Wang, N.-N. Deng, et al., Monodisperse and fast-responsive poly(N-isopropylacrylamide) microgels with open-celled porous structure., *Langmuir*. 30 (2014) 1455–1464.
- [62] J. Ida, F. Matsushima, M. Ochi, K. Funasho, S. Watanabe, T. Matsuyama, et al., Preparation of Highly Functionalized Thermoresponsive Composites Containing TiO<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles, *Polym. Compos.* (2015).
- [63] R. Dembczynski, T. Jankowski, Characterisation of small molecules diffusion in hydrogel-membrane liquid-core capsules, *Biochem. Eng. J.* 6 (2000) 41–44.
- [64] K.M. Reddy, V.R. Babu, K.S.V.R. Rao, M.C.S. Subha, K.C. Rao, M. Sairam, et al., Temperature sensitive semi-IPN microspheres from sodium alginate and N-isopropylacrylamide for controlled release of 5-fluorouracil, *J. Appl. Polym. Sci.* 107 (2008) 2820–2829.
- [65] S.B. Lee, E.K. Park, Y.M. Lim, S.K. Cho, S.Y. Kim, Y.M. Lee, et al., Preparation of alginate/poly(N-isopropylacrylamide) semi-interpenetrating and fully interpenetrating polymer network hydrogels with  $\gamma$ -ray irradiation and their swelling behaviors, *J. Appl. Polym. Sci.* 100 (2006) 4439–4446.
- [66] A.S. Dubovik, D. V. Kuznetsov, N. V. Grinberg, A.Y. Grosberg, T. Tanaka, Studies of the Thermal Volume Transition of Poly( N -isopropylacrylamide) Hydrogels by High-Sensitivity Differential Scanning Microcalorimetry. 2. Thermodynamic Functions, *Macromolecules*. 33 (2000) 8685–8692.
- [67] M.L. Moya, M. Morley, O. Khanna, E.C. Opara, E.M. Brey, Stability of alginate microbead properties in vitro., *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 23 (2012) 903–912.
- [68] B. Amsden, Solute Diffusion within Hydrogels. Mechanisms and Models, *Macromolecules*. 31 (1998) 8382–8395.
- [69] A.H. Muhr, J.M.V. Blanshard, Diffusion in gels, *Polymer* 23 (1982) 1012–1026.
- [70] R.J. Phillips, A hydrodynamic model for hindered diffusion of proteins and micelles in hydrogels., *Biophys. J.* 79 (2000) 3350–3353.
- [71] R. Colsenet, O. Söderman, F. Mariette, Pulsed Field Gradient NMR Study of Poly(ethylene glycol) Diffusion in Whey Protein Solutions and Gels, *Macromolecules*. 39 (2006) 1053–1059.
- [72] N. Lorén, L. Shtykova, S. Kidman, P. Jarvoll, M. Nydén, A.-M. Hermansson, Dendrimer diffusion in  $\kappa$ -carrageenan gel structures., *Biomacromolecules*. 10 (2009) 275–284.
- [73] A.W. Chan, R.J. Neufeld, Tuneable semi-synthetic network alginate for absorptive encapsulation and controlled release of protein therapeutics., *Biomaterials*. 31 (2010) 9040–9047.
- [74] T.G. Park, H.K. Choi, Thermally induced core-shell type hydrogel beads having interpenetrating polymer network (IPN) structure, *Macromol. Rapid Commun.* 19 (1998) 167–172.
- [75] 岡村誠三, 中島章夫, 小野木重治, 河合弘迪, 西島安則, 東村敏延, et al., 第2版 高分子化学序論, 化学同人, 1981.
- [76] 船所清彦, 感温性機能ビーズの調製とその特性評価, 創価大学卒業論文, 2014.

## 【本論文に関する投稿論文】

- 1) Masanori OCHI, Junichi IDA, Tatsushi MATSUYAMA and Hideo YAMAMOTO.  
Preparation of hydrogel capsules with thermoresponsive interpenetrating polymer network using concentric two-fluid nozzles.  
Advanced Powder Technology, Volume 25, Issue 2, pp.604-608 (2014).
- 2) Masanori OCHI, Junichi IDA, Tatsushi MATSUYAMA and Hideo YAMAMOTO.  
Effect of Synthesis Temperature on Characteristics of PNIPAM/Alginate IPN Hydrogel Beads.  
Journal of Applied Polymer Science, Volume 132, Issue 15, 41814 (2015).