一般報文

(平成元年2月23日受理)

反復凍結法によるポリビニルアルコール
ヒドロゲルの包括性お茶の水女子大学家政学部 小川昭二郎・杉井 史子
東京大学生産技術研究所 関 裕之・岩元 和敏・妹尾 学INCLUSION PROPERTIES OF FREEZE-THAW
POLYVINYL ALCOHOL HYDROGELBy Shojiro Ogawa^{*1}, Humiko Sugii^{*1}, Hiroyuki Seki^{*2}, Kazutoshi Iwamoto^{*2} and Manabu Seno^{*2}^{*1} (Faculty of Home Economics, Ochanomizu University)^{*2} (Institute of Industrial Science, The University of Tokyo)

ABSTRACT

A solution of a mixture of polyvinyl alcohol (PVA) and polyethylene glycol (PEG) in water gave a PVA hydrogel including PEG by a given cycle of freezing and thawing. The rate of the release of PEG from the gel decreased with increasing the molecular weight of PEG and the freezing cycle number. Diffusion coefficients of PEG in the gel were determined by the relationship between the release amounts and square root of release time. Diffusion coefficient decreased with increasing the cycle number, then becoming horizontal after a definite number of cycle which depended on the molecular weight of PEG. We found that emulsified triolein was also included in the gel by the freezing and thawing method.

(Received February 23, 1989)

1. 緒 言

生体組織に類似の物性を有する医用材料の出現が待望されているが、その高含水性、柔軟性と機械的強度とは両立し難いとされてきた。これまでポリビニルアルコール (PVA) のゲル化の方法は数多く知られているが、強靱なゲルを得ることが困難であった。近年、南部、渡瀬らは、PVA 水溶液は凍結後解凍することにより粘性ゲルに転化されるが、この単純凍結ゲルは機械的強度が劣るのに対し、さらに凍結解凍を繰り返した反復凍結 PVA ヒドロゲルは、含水率が70~90%に及ぶにもかかわらず高い弾性率を示すことを見出した¹⁾²⁾。ゲル化時の動的粘弾性と応力緩和特性の経時変化、PVA 鎖上置換基による立体障害、X 線回折などの知見から、凍結過程において PVA 鎖絡み合い点に微結晶種が発生し、これがわずかながら成長して若干の耐熱性を得、実質的網目橋かけを具えた弾性体が生成したと推察されている。また、走査型電子顕微鏡によりゲルが微細な多孔を持つ

ことも観察され、これは PVA/水の相分離が進行することによるものと考えられている³⁾。以上のような基礎的な性質の研究の他、包括薬剤の徐放性⁴⁾、バイオリアクターとしての利用、医用材料への応用等が検討されているが応用的知見はまだあまり得られていない。

そこで、PVA ヒドロゲル中に包括させた水溶性物質および疎水性物質の放出速度を測定することによりゲルの物質包括性、安定性を検討し、応用的知見を得ることを試みた。水溶性物質としては各種分子量のポリエチレングリコール (PEG)、疎水性物質としてはトリオレインを用いた。なお、オイルを包括させたヒドロゲルは乳化状態をそのまま固定するという特異な形態であり、その安定性を検討した。

2. 実 験

2.1 試 薬

ポリビニルアルコールは和光純薬工業の完全ケン化 PVA (重合度1500~1800; ケン化度 min. 98mol%), ポ

リエチレングリコールは東京化成工業製（平均分子量200及び3000）及び和光純薬工業製（平均分子量600, 1000, 2000, 7500及び20000）を用いた。ジブロモプロパンは東京化成工業製、臭化水素及びトリオレインは和光純薬工業製を用いた。

2.2 PVA/PEG 系及び PVA ヒドロゲルの調製

純水42.5gにPVA 7.5gとPEG 2.25gを加え、90°Cで2時間加熱して溶解した。その後、振とうしながら放冷して室温にした。重量測定後、注射器で10ml 試料管に4.5gずつ注入し、密閉した後パラフィルムで覆った。（パラフィルムで覆うことにより、凍結時のガラス破損を防ぐことが出来る。）これを冷凍庫（約-20°C）で凍結させた後融解させることを繰り返してPEGを含むPVAヒドロゲルを調製した。また、同様の条件でPEGを含まないPVAヒドロゲルを得た。

2.3 PVA/トリオレイン系乳化ヒドロゲルの調製

PVA 7.5gを純水42.5gに溶解した水溶液を4.5gずつ試料管に注入した。これにトリオレイン1.125gを加え、乳化装置（BRANSON SONIFIER）により10分間乳化した。その後、密閉して反復凍結処理を行った。

2.4 PVA/PEG 系ヒドロゲルからの PEG 放出実験

2.2で得たPVA/PEG系ヒドロゲルを100ml 試料管に入れ、これにヒドロゲルと水の合計重量が約100gになるように水を加え秤量した。試料管をモーターに取り付けた攪拌棒に固定し、20°Cの恒温槽中50～60rpmで攪拌した。その後、所定時間毎に浸漬水100μlずつを採取し、PEG濃度を測定した。

2.5 PEG の定量

採取した浸漬水100μlをねじ口試料管に入れ、これに臭化水素と酢酸の混合溶液（1:1）1mlを加えて密閉し、150°Cの油浴に漬け、3時間反応させた。

HBr, AcOH

反応終了後試験管を油浴から取り出し、放冷した。これに水5ml、二硫化炭素500μlを加えて1分間振り混ぜ、1,2-ジブロモエタンを二硫化炭素中に抽出した。これを10分間遠心分離（1500rpm）した後、下層の二硫化炭素中の1,2-ジブロモエタンをガスクロマトグラフ（GC）で定量分析した。なお、用いた二硫化炭素には内部標準物質として、1,2-ジブロモプロパンを加えておいた（濃度18μl/100mlCS₂）。ジブロモエタンとジブロモプロパンのGCピーク面積比を求め、あらかじめ濃度既知のPEG（M=2000）水溶液を用いて作成しておいた検量線よりPEGの濃度を求めた。なお、検量線作成用標準溶液としてはPEG（M=2000）0.1～0.2g/lの6種類の濃度の水溶液を用いた。それぞれから100μlずつをと

り、上記方法で反応させ、CS₂に抽出し、抽出度1μlをGCに注入した。ジブロモエタンとジブロモプロパンの面積比とPEG水溶液濃度とをプロットすると直線関係が得られ、これを検量線とした。

2.6 PVA/トリオレイン系乳化ヒドロゲルからの放出オイルの定量

2.3で得たPVA/トリオレイン系ヒドロゲルを100ml 試料管に入れ、水90mlを加え、2.4と同様の方法で20°Cで攪拌した。所定時間後、浸漬水を500ml フラスコに入れ、少量の水でヒドロゲルを洗浄し、その洗液もこれに加えた。これに50mlのn-ヘキサンを加えて攪拌し、n-ヘキサン層を分離した。この操作を5回繰り返し、得られた抽出液を乾燥後、減圧蒸留で溶媒を留去し、重量を測定した。

3. 結果と考察

PVA凍結ゲルからの放出速度に対する凍結回数及びPEGの分子量の影響を図1（1～4）に示した。凍結・解凍の繰り返しの増加にしたがって放出速度が小さくなり、また、PEGの分子量が大きいものほど放出速度が小さかった。PEGを含まないPVAヒドロゲルからのPVAの溶解性を調べたところ、PEGの放出量測定時間（35時間）後で、凍結回数1回のときPVAの溶解率9%、凍結回数2回以上でPVAの溶解率4%以下であった。従って、図1で示したPEGの放出はPVA担体の溶解に伴うものではなく、PEG自体の拡散によるものと考えられる。また、PEGを含むPVAヒドロゲルからのPVAの溶解率を測定したところ、凍結回数3～7回で2～4%であったので、PVAの溶解はPEGの存在に影響されないことがわかった。時間t（s）後に界面を通して浸漬水中に拡散するPEGの総量Q（g）は次式で与えられる。

$$Q = \frac{A C_0 \sqrt{D t}}{\sqrt{\pi}}$$

ここで、Aはゲルの表面積（cm²）、C₀はゲル中のPEGの初濃度（g/cm³）、DはPEGのゲル中での拡散係数である。

図2（1～4）に示すように放出初期においてそれぞれのPEG分子量及び凍結回数におけるQと√tの関係はすべて直線となる。放出初期においては表面積は一定とみなせるので図2の傾きより求めた拡散係数Dと凍結回数との関係を図3に示した。これよりいずれのPEGでも凍結回数が増すにつれて拡散係数は減少し、ある回数ではほぼ一定になっており、その回数はM=3000の場合を除いて分子量が大きいものほど小さくなっている。PEGの分子量とDの平衡値及び凍結回数N=

Fig. 1-1 Effects of PEG molecular weight for PEG release at $N(\text{freezing cycle number})=1$
PEG average molecular weight ($\bar{M}$)
◇:200, ●:600, △:1000, □:2000, ○:3000

Fig. 1-4 Effects of PEG molecular weight for PEG release at $N=15$
PEG average molecular weight
◇:200, ●:600, △:1000, □:2000, ○:3000

Fig. 1-2 Effects of PEG molecular weight for PEG release at $N=5$
PEG average molecular weight ($\bar{M}$)
◇:200, ●:600, △:1000, □:2000, ○:3000

Fig. 1-3 Effects of PEG molecular weight for PEG release at $N=10$
PEG average molecular weight ($\bar{M}$)
◇:200, ●:600, △:1000, □:2000, ○:3000

Fig. 2-1 Plots of PEG release vs. $\sqrt{t}$ at $\bar{M} = 200$
Freezing cycle number
○:1, ●:3, ●:5, ●:7, ○:10, ○:15

Fig. 2-2 Plots of PEG release vs. $\sqrt{t}$ at $\bar{M} = 600$
Freezing cycle number
○:1, ●:3, ◐:5, ◑:7, ⊕:10, ⊗:15

Fig. 2-4 Plots of PEG release vs. $\sqrt{t}$ at $\bar{M} = 2000$
Freezing cycle number
○:1, ●:3, ◐:5, ◑:7, ⊕:10, ⊗:15

Fig. 2-3 Plots of PEG release vs. $\sqrt{t}$ at $\bar{M} = 1000$
Freezing cycle number
○:1, ●:3, ◐:5, ◑:7, ⊕:10, ⊗:15

Fig. 2-5 Plots of PEG release vs. $\sqrt{t}$ at $M = 3000$
Freezing cycle number
○:1, ●:3, ◐:5, ◑:7, ⊕:10, ⊗:15

Fig. 3 Plots of diffusion coefficient (D) vs. N
PEG average molecular weight
◇:200, ●:600, △:1000, □:2000, ○:3000

Fig. 4 Plots of D equilibrium vs. $\bar{M}$

1～5における傾きとの関係をそれぞれ図4と図5に示した。図4よりPEGは分子量が約1000までは分子量が増えるに従って拡散係数は急激に減少し、その後はほぼ一定となることがわかった。図5はPEGの分子量が小さいほど凍結回数の影響を大きく受けることを示す。また、図5においてPEGの分子量が3000をこえると200～2000の範囲で得られた直線からはずれてくるが、これは溶液調製時にや、不透明であり、PVA/PEG/水の3成分

系において液液相分離かゲル化が起ったためと思われる⁵⁾⁶⁾。

PVA/トリオレイン系乳化ヒドロゲルにおけるトリオレインの放出速度を図6に示した。これよりトリオレインはゲルに安定に包括されることが確認された。また、凍結回数の増加による包括性の向上もみられた。トリオレインがどのような状態でヒドロゲル中に取込まれているかは不明であるが、乳化した疎水性液体が安定にヒドロゲルに包括されることがわかった。さらにこのような安定な乳化ヒドロゲルの利用については今後検討していきたい。

Fig. 5 Plots of D slope ($N=1\sim5$) vs. $\bar{M}$

Fig. 6 Plots of triolein release vs. day
Freezing cycle number
○:1, ⊙:10

4. 結 言

凍結融解の繰り返しにより得た PVA ヒドロゲルの水溶性高分子 PEG に対する包括性を調べた。PEG の放出速度は PEG の分子量が大きいほど、また凍結反復回数が増すにつれて遅くなった。放出時間と放出量との関係より拡散係数 D を近似的に求めることができた。 D は凍結回数が増すにつれて減少するが、ある回数以後はほぼ一定となり、その回数は包接 PEG の分子量に依存し、分子量が大きいほど少ない凍結回数で D は一定となった。また、乳化したオイルを反復凍結解凍法で PVA ヒドロゲルに包括すると極めて安定に包括できることがわかった。

文 献

- 1) 南部昌生, 高分子加工, **32**, 523 (1983)
同上, 高分子, **35**, 87 (1986)
 - 2) M. Watase, K. Nishinari, M. Nanbu, *Cryo. Lett.*, **4**, 197 (1983)
 - 3) F. Yokoyama et al., *Colloid & Polym. Sci.*, **264**, 595 (1986)
 - 4) 高村 彰, 新井基晴, 石井文由, 薬学雑誌, **107**, 233 (1987)
 - 5) I. Inamura et al., *Polym. J.*, **16**, 657 (1984)
 - 6) I. Inamura, *Polym. J.*, **18**, 269 (1986)
-