ノート

(平成7年9月18日受理)

高電場下で調製したポリ (L-グルタミン酸) 架橋膜の
構造とイオン透過特性全南大学校工科大学 許 洋一・金 在 汶
東京工業大学工学部 牛山 保・佐藤 満
小見山二郎Structure and Ion Permeability of Poly (L-glutamic acid) Membranes
Prepared under a High Electric FieldYang-Il Huh^{*1}, Jai-Moon Kim^{*1}, Tamotsu Ushiyama^{*2}, Mitsuru Satoh^{*2} and Jiro Komiyama^{*2}^{*1} College of Engineering, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Puk-ku, Kwangju
500-757 Korea^{*2} Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Technology, Ookayama, Meguro-ku, Tokyo, 152 Japan

Abstract: Poly (L-glutamic acid) (PLG) membranes were prepared under an electric field (0-6400 V). The effects of the electric field applied on the membrane structure and salt (LiCl, KCl) permeation were studied by scanning electron microscope (SEM) observation and permeability measurements, respectively. The SEM pictures for membranes prepared under 0 V and 3000 V showed that PLG domains were elongated to the direction of the electric field and at the same time the application of electric field enhanced mixing of the two domains, PLG and the crosslinker. Appreciable enhancement of the salt permeability was observed for membranes prepared under electric fields (Max. 2.5 times for LiCl), which was ascribed to reduction of tortuosity due to the observed deformation of PLG domains.

(Received September 18, 1995)

1. 緒 言

生体類似機能発現を目指し、簡単なタンパク質モデルであるポリアミノ酸を含む膜の研究が行われている。特に各種合成ポリペプチド膜における環境因子 (pH, 温度, 光など) の変化に応じたポリペプチド領域の二次構造変化を利用した透過性制御に関する研究が盛んである [1-5]。この様なミクロな構造制御とは別に、比較的大きなレベルでの膜構造の制御も物質透過制御には有効である。堀ら [6] は、ナイロン6 (Ny) 及びポリエチレンテレフタレート (PET) を両者の共通溶媒に溶解し、これを水平板上にキャスト後、高電圧をかけながら溶媒除去する方法で Ny/PET 複合膜を調製した。彼らは PET が海、Ny が島となる組成においては、Ny 成分が膜面に垂直な方向に配向するという生体膜に類似した特異的な構造を持つ膜となることを見出し、その膜の電場印加効果が、静電分散の理論で解釈できることを示した。この他にロドプシンの電圧下での配向制御の報告 [7] もある

が、ポリペプチド膜への応用はまだほとんどないようである。

そこで本研究では、曲路性の低下による透過性向上を目的として、高電場印加下でポリ (L-グルタミン酸) (PLGA) の架橋膜作成を試みた。溶液系で対イオン選択的ヘリックス形成が確認されている80vol%のエタノール水溶液浸漬系 [3-5] において、アルカリ金属塩の透過測定を行い、その選択透過挙動に及ぼす電場印加製膜の効果を、SEMにより得られる膜構造 (ドメイン配向効果) に関する知見とともに検討した。

2. 実 験

2.1 PLG 架橋膜の調製

膜試料として用いた PLGA はポリ (γ-メチル L-グルタマート) (セイコー化成) を100%アルカリ加水分解して得た [8]。架橋剤として用いたヘキサメチレンジイソシアネート (HDI) は関東化学の特級試薬をそのまま用いた。

Fig. 1 Diamagnetic representation of apparatus for membrane preparation under an electric field.

G: ground, H. V.: high voltage (0-10000 V), 1: drying oven, 2: copper plate, 3: horizontal plate, 4: glass mold, 5: casting solution.

PLGA と HDI をトータル濃度10 wt%, 30:70の重量比で *N,N*-ジメチルアセトアミド50 cm²に均一に溶解しキャスト液を調製した。

製膜は図1のように電場印加装置が設置された恒温乾燥器中で行った。すべて同一のPLGAサンプルを用い調製したキャスト液を、厚さ0.25 cm, 8.5 cm四方のガラス板に流延し、同時にキャスト板の上下に設置した銅板電極を介しそれぞれ0, 1000, 3000, 6400 Vの直流電場を、可変直流高圧電源 AKT-010KP (東和計測, 入力 AC100V, 出力 DC 0-10kV) で印加した。その状態で N₂ガス気流下65-70℃で48時間保ち乾燥膜を得た。得られた膜を2×2 cmにカットし、0.02 Nのアルカリ (LiOH, KOH) を含む80 vol%エタノール (EtOH) / 水混合溶媒50cm³に25℃で24時間浸漬する事によって各対イオン型のPLG膜とした。

2.2 膜のキャラクタリゼーション

膜中のミクロ相構造および電場印加による配向効果は、膜断面をルテニウム酸で染色したサンプル (印加電圧0, 3000 V) を用い、走査型電子顕微鏡 (JEOL-T220) により観察した。

膜の80 vol%EtOHに対する膨潤度は、乾燥膜に対する膨潤膜の重量比として求め、乾燥膜、膨潤膜の膜厚は膜厚計 (東京精密 E-ST-100C-D) を用い、9点測定 of 平均値として求めた。なお、乾燥膜の膜厚はおおよそ70±20 μmと得られ、80vol%EtOH 浸漬により、それぞれ1.2-1.5倍に膨潤した。

Fig. 2 Scanning electron micrographs of the crosslinked PLGA membranes (×2000). The arrow indicates the direction of the applied electric field and of the membrane thickness. Upper: cast in the absence of an electric field, lower: cast in the presence of an electric field (3000 V).

2.3 アルカリ金属塩の透過・分配係数測定

透過係数 P (cm²・s⁻¹) の測定は、ガラス製2室型セルを用いて LiCl と KCl の2種類の単独塩系について行った。透過セルの供給側に0.1 mol・dm⁻³の各塩を含む80vol% EtOH 水溶液250 cm³を、流出側に50 cm³の80vol%EtOH 水溶液を入れ、両室液をマグネティックスターラーで攪拌し、流出側の塩濃度変化を伝導度変化 (東亜電波工業 CM-5B 伝導度計) として追跡した。測定は25±0.05℃で行った。

分配係数 K の測定は脱着法により行った。各対イオン型のPLG膜を0.1 Nの塩溶液 (80vol%EtOH 水溶液) 100 cm³に24時間浸漬して塩を吸着させ次いで80 vol% EtOH 水溶液50cm³に24時間浸して塩を脱着させた。こうして得られた脱着溶液の塩濃度を原子吸光測定 (島津 AA-640) により決定した。なお、 K は外部溶液中の体積塩濃度に対する膜中の体積濃度の比として求めた。

3. 結果と考察

3.1 電子顕微鏡観察

図2にPLGA 架橋膜断面の電子顕微鏡写真を示す。縦方向がいずれも膜厚方向(電場印加方向)となっている。電場をかけずに製膜した膜(無印加膜)においては、染色されたPLG部とみられる白色部が小球状に分布しているのに対し、3000 V印加して製膜した膜においてはこの白色部分に対応すると考えられる灰色の領域が、膜厚方向に細い線として延びていることが観察される。この様な、PLGドメインの変形や、白色から灰色への変化から推定される両ドメインの混合の進行については、渡辺ら[9,10]による静電分散(電気乳化)の理論によって以下のように説明される。

相接する二相の界面に電圧を加えたとき、両相の界面に働く力は界面の両側でのMaxwellの歪みの差で表される。

$$f_n = \frac{1}{2} \{ \epsilon_2 \left(\frac{d\Psi_2}{dx} \right)^2_{x=0} - \epsilon_1 \left(\frac{d\Psi_1}{dx} \right)^2_{x=0} \} \quad (1)$$

ここでは、 f_n は界面に対して法線方向に働く力、 ϵ_1 、 ϵ_2 は相1, 2の誘電率、 Ψ_1 、 Ψ_2 は相1, 2の電位、 x は界面から相2に向かう垂直方向の距離で、2の相を連続相に取る。二成分界面にイオンの吸着がなければ、界面において以下の式が成り立つ。

$$\Psi_1 = \Psi_2 \quad (2)$$

$$\kappa_1 \left(\frac{d\Psi_1}{dx} \right) = \kappa_2 \left(\frac{d\Psi_2}{dx} \right) \quad (3)$$

ここで κ_1 、 κ_2 は相1, 2の比伝導度である。式1, 2, 3より $\kappa_1 \epsilon_1^{-1/2} > \kappa_2 \epsilon_2^{-1/2}$ のとき、 $f_n > 0$ となり電気乳化がおきる。本研究のように溶媒キャスト法では、各相とも溶媒は共通で $\epsilon_1 = \epsilon_2$ となる[6]。また本研究では2の相が架橋剤相、1がPLGA相で $\kappa_1 > \kappa_2$ と考えられるから、PLG相を膜厚方向に引き延ばす様な力が働くため、PLG相が膜面に垂直に細長く延びた構造が得られたものと考えられる。(この点に関してはref.6の図5(b)を参照されたい。)また、電場印可膜で相分離が無印可膜ほどはっきりと観察されないのは、溶媒の蒸発がそれほど進まず、まだポリマー濃度が低く粘性の低い相分離の初期の段階で、電気乳化により、両相の部分的な混合が生じるためと推定される。この際、架橋反応はより進行し、膜の膨潤度は低下すると期待される。しかし以下の節で示すように、膨潤度に印可電圧依存性は明白には観察されなかった(表1)。この点も以下の節で述べるように、無印可膜で膜の膨潤を押さえる働きをしていた架橋剤相の結晶性が、PLG相との混合により乱されたためと解釈される。

Table 1 Swelling Ratio and P, K, D Values of Crosslinked PLG Membranes in the Absence and Presence of an Electric Field.

Membrane	Counter ion	Swelling ratio	$10^9 \cdot P$ $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$	K	$10^9 \cdot D$ $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
0 V	Li	1.42	3.6	2.9	1.2
	K	1.51	43	2.2	20
1000 V	Li	1.37	9.0	2.9	3.1
	K	1.50	63	2.0	31
3000 V	Li	1.40	4.1	2.6	1.6
	K	1.51	59	1.8	32
6400 V	Li	1.33	4.6	3.9	1.2
	K	1.53	74	1.7	43

3.2 イオン透過性

表1に各電圧印加下で製膜した膜の膨潤度、LiClとKClの透過係数P、分配係数K、P/Kにより求めた見かけの拡散係数Dの値を示す。このうち、まず分配係数について傾向を見てみると、電場印加の効果はLiCl、KClともに顕著には現れていないが、いずれの場合も1を大きく上回っている点、LiCl系の方がKClのそれより大きい点などの特徴が観察される。このうち、前者については、架橋剤にポリエチレングリコールジイソシアネートを用いた我々の以前の研究においても観察されている[3]。その場合、 $\text{Li}^+ \cdot \text{Cl}^-$ 、 $\text{K}^+ \cdot \text{Cl}^-$ のようなイオンペア形態での分配も生じているためと解釈したが、本系においても基本的には同じ理由によると考えられる。しかしながら、塩素イオンとのイオンペア形成においては Li^+ よりも K^+ において顕著であるので、LiClの分配係数がKClのそれを上回る本系の結果については、現在のところ定性的にも解釈は与えることが出来ない。そこで以下においては、LiCl/KClの選択性については直接の議論は控え、電場印加の効果に焦点を絞って考察を進めることとする。

表1で膨潤度を見ると、ある程度のばらつきはあるものの 1.4 ± 0.1 でほぼ一定であり、曲路率の寄与を補正しても、各透過係数、拡散係数の定性的傾向には変化がない。そこで実験で得られた値をそのまま用いて、透過係数に与える電場印加の効果について検討する。

電場印加効果をより明確に示すため、表2に無印加膜の値との比として、各系のP、D、Kの変化を示した。透過係数は1000 V、LiCl系で最大2.5倍に増大している。また、LiClでは3000、6400 Vと電圧が高くなると電場印加効果は逆に低くなるが、KClではあまり影響を受けていない。これらの傾向は、D比とK比の電圧依存性

Table 2 Effects of Electric Fields on the Salt Permeation through the PLG Membranes

Membrane	P_v^{*a}/P_0	D_v/D_0	K_v/K_0
	1000/0 ^{*b}		
Li	2.5	2.5	1.0
K	1.5	1.5	1.0
	3000/0		
Li	1.1	1.3	0.88
K	1.4	1.6	0.85
	6400/0		
Li	1.3	1.0	1.4
K	1.7	2.1	0.81

^{*a}: Suffixes v and 0 mean data for a membrane prepared in the presence and absence of an electric field, respectively.

^{*b}: The figures mean the respective voltages used for membrane preparation.

を見ると主に拡散係数への電場印加効果によるものと考えられる。拡散係数へ影響する因子としては、電場印加による曲路性の低下の他に、ヘリックス含量やそれを決定する対イオンのポリマー電荷との相互作用が挙げられるが、以前の研究結果から、LiCl 系と KCl でのヘリックス含量はそれぞれ約30%、10%と推定される。この違いは Li^+ の方が K^+ よりポリマー荷電基との相互作用が強いことに起因しており、結果として拡散性の差に寄与していると考えられる。しかしここで注目しているのは電場印加効果であり、電場印加により対イオン・ポリマー荷電基の相互作用に本質的な影響を与えないとすると、この点は考慮から除外しても良いであろう。以上の点を踏まえた上で透過結果と上に述べた膜の構造との関係を考えてみる。

本研究で用いた膜の連続相は疎水性の高い HDI からなっており、 Li^+ の様な親水性の高い溶質は主に比較的親水性の PLG ドメインに主に存在し、透過していくものと考えられる。そのため、PLG ドメインが小球状に分布する無印加膜においてはその透過係数は非常に低い。しかし電場印加により PLG 相が膜厚方向に引き延ばされると、LiCl の曲路性が大きく低下し、それが透過係数の増大となって観察されたと考えられる。また、印加電圧の増大により印加効果が低下するのは、PLG、HDI 両相の混合が進行するため、曲路性の低下効果が失われ

るためと考えられる。

これに対し、 K^+ イオンの場合、先に述べたように $\text{K}^+ \cdot \text{Cl}^-$ の様なイオンペアとしても膜へ分配されるため比較的親水性は低く、透過経路として疎水性の HDI ドメインも利用できると考えられる。これが、無印加膜における LiCl と KCl の透過係数に見られる大きな違いの主原因であろう。またそれ故 KCl 系では、電場印加による PLG ドメインの引き延ばしは、LiCl に対するほどは曲路性の相対的低下に寄与しないため、顕著な電場印加効果が観察されなかったものと推定される。さらに、電圧が増大しても LiCl 系のように印加効果が低下しないのは、結晶性が高いであろう HDI 相が、電場印加による PLG 相との混合により乱され、 $\text{K}^+ \cdot \text{Cl}^-$ イオンペアの拡散係数が増大するためと推量される。

以上のように、架橋 PLG 膜に対する電場印加製膜の効果を調べたところ、PLG 相の膜厚方向への延伸によると思われる透過係数の増大が観察された。この様に電場印加製膜は、膜構造の設計に関して有効な手段と考えられるが、本研究では PLG のヘリックスを含む鎖の配向については残念ながら確認できなかった。ドメインばかりでなく、分子鎖の配向制御までも含めたより一層詳細な研究が今後必要と考えられる。

文 献

1. E. Pefferkorn, A. Schmitt, and R. Varoqui, *Biopolymers*, **21**, 1452 (1982).
2. T. Kinoshita, T. Iwata, A. Takizawa, and Y. Tsujita, *Colloid Polym. Sci.*, **261**, 993 (1983).
3. Y.-I. Huh, M. Satoh, and J. Komiyama, *Macromol. Chem. Phys.*, **195**, 3813 (1994).
4. Y.-I. Huh, T. Inamura, M. Satoh, and J. Komiyama, *Polymer*, **33**, 3262 (1992).
5. Y.-I. Huh, N. Kotake, M. Satoh, and J. Komiyama, *J. Membr. Sci.*, **81**, 253 (1993).
6. 堀照夫, 名和英樹, 五十嵐泰蔵, 中村良治, 高分子論文集, 47, 371 (1990).
7. S. Kunugi, H. Yamada, Y. Nakamura, F. Tokunaga, and A. Tahaka, *Polym. Bull.*, **18**, 87 (1987).
8. M. Satoh, J. Komiyama, and T. Iijima, *Colloid Polym. Sci.*, **258**, 136 (1980).
9. 東辻 健, 西沢和夫, 鎌田健一, 渡辺 昌, 日化誌, 1974, 955.
10. A. Watanabe, K. Higashitsuji, and K. Nishizawa, *ACS Symp. Ser.*, **9**, 97 (1975).