凍結・融解を反復して作製したポリ（ビニルアルコール）-ゼラチン混合ゲルのレオロジー的性質†

渡 瀬 峰 男*

Rheological Properties of Poly (vinyl alcohol)-Gelatin Mixed Gels Prepared by Repeated Freezing and Melting

Mineo WATASE*

* Chemical Research Laboratory, Department of Liberal Arts, Shizuoka University, Ohya Shizuoka-shi, 422

Rheological properties of 15% w/w poly(vinyl alcohol) (PVA)-5% w/w gelatin mixed gels (frozen at -20°C , and melt at 15°C every 24 h) were examined by the measurement of longitudinal vibration. The freezing time was chosen as 24, 48, 72, and 96 h. The degree of polymerization and the degree of saponification of PVA was about 2400 and 99.6 ± 0.3 mol%, respectively. The molecular weight and the isoionic point of gelatin was 5×10^4 and 5.4, respectively. The dynamic Young's modulus, E' and mechanical loss tangent, $\tan \delta$ were obtained at 2.5 Hz by longitudinal vibrations of a cylindrical gel. The E' increased with increasing number of temperature cycle, and this increased rapidly with the PVA fraction larger than 0.5. The E' increased with increase of PVA fraction, but below certain fraction of PVA (about 0.4), the blends of PVA and gelatin did from gels showing phase separation. Then the mixed gels formed xerogels with the PVA fraction smaller than 0.1. The melting temperature of mixed gels increased with increasing number of temperature cycle. From these results, the effect of freezing time on E' of mixed gels is explained through the formation of microcrystalline within the gels. (Received May. 20, 1983)

ヒドロゲルは生体組織への損傷が少ないうえ、物質透過性に富み、しかも、含水率を高めるとともに、抗血栓性も向上することなどから、医用材料として有望視されている^{1)~5)}。また、ヒドロゲル内部に包埋された化合物が徐々にヒドロゲル外部へ放出されることから、医薬、農薬、香料、釣餌等の放出制御材としても、ヒドロゲルは注目されている。ヒドロゲルは低分子量物質の透過性に富み、高分子量物質をゲル内に包括しうることから、酵素、微生物等の生理活性物質の包埋材としても注目されている。ゼラチン、寒天、カラゲナン等のヒドロゲルに活性炭、酵母、細菌等を包埋する方法も知られているが、これらのゲルは軟弱か、もろいことから、包埋材としてゲルの破壊が問題である⁶⁾。ヒドロゲルのこれらの欠点を補うために、化学処理をする方法も知られている

が⁷⁾⁸⁾、化学薬品による障害など種々の欠点がある。

ポリ（ビニルアルコール）（PVAと略記する）は繊維加工、紙加工、接着剤、乳化安定剤、食品包装用フィルム、血液透析膜、酵素、菌体固定など多方面にわたって使用されており、また、PVA水溶液を常温に放置すると、時間とともにその粘度は増加し、ついにゲル化することはよく知られている^{9)~11)}。近年、南部はPVA水溶液を凍結し、素早く真空乾燥させて、異常なレオロジー的性質を示すゲルの作製に成功した¹²⁾。このPVAゲルはゲル表面に薄い被膜ができるため用途は広く種々の特徴をもっている。このゲルの弾性率は凍結したその約10倍に達し、長期間水中に浸漬してもゲルの重量および弾性率の変化はほとんどなかった¹³⁾¹⁴⁾。しかも、これらゲルは引張りに対して、そのゲルの切断までにもとの長

† 凍結・融解を反復して作製したゲルのレオロジー的研究（第3報）（前報、文献15)16)）

* 静岡大学教養部化学教室（〒422 静岡市大谷836）

さの3~4倍に伸びた。さらに、このゲルは成型が容易なことから、「制癌剤の副作用による脱毛防止用頭部保冷ゲル」として使用されている。最近、著者はコンピューターを使用して、PVA水溶液を凍結・融解した場合、凍結・融解の反復回数(温度のサイクル回数; 温度のサイクルは最初の24時間は変則であるが、これは、ゲルの作製において、最初は一定時間凍結させることやゲルの温度勾配を防ぐ等のためである)が増加するとゲルの弾性率は著しく増大することが明らかになった¹⁵⁾¹⁶⁾。この傾向はケン化度に著しく影響し、重合度が1700以上では、動的弾性率は一定値を示した¹⁶⁾。凍結・融解を反復して作製したゲルの性質は凍結・真空乾燥をして作製したそれに類似しているが、しかし、前者は均質なゲルを形成するのに対して、後者はゲル表面に被膜を形成する。以上の特異な性質はPVAにのみみられた。寒天、ゼラチン、カラゲナン等の常温でゲル化する物質は凍結・融解をくり返した場合、これらのゲルは離水してキセロゲルになったが、PVAゲルは濃度変化がみられなかった。

PVAに水溶性高分子物質を混合した水溶液を凍結・融解した場合、水溶性高分子の性質、PVAとの混合比および分子量によって混合ゲルのレオロジー的性質に差異が生ずる¹⁷⁾。また、これらのゲルは機械的強度が高いので¹⁷⁾、ゲルの包埋材として香料や魚餌などに使用されることが期待される。

今回はPVAとゼラチンを混合した水溶液について、凍結・融解を反復して混合ゲルを作製した。これらのゲルは凍結・融解の反復回数(以下温度のサイクル回数と記す)が増加するにつれて粘着性ゲルからゴム状の弾性ゲルに変化した。ゲルの濃度は変わらなかった。しかし、ゼラチンの量が増加して行くと、混合ゲルは相分離し、やがて、ゲルは離水してキセロゲルになった。これらについて報告する。

実験方法

1. 試料

PVA試料はクラレポバルを使用した。PVA試料の重合度は2400、ケン化度は $99.6 \pm 0.3 \text{ mol } \%$ である。ゼラチン試料¹⁸⁾は等イオン点が5.4、分子量が 5×10^4 である。PVA-ゼラチン混合ゲルの作製は以下の方法で行った。PVA水溶液をオートクレーブを用いて、 120°C で約30分間加熱して溶解した。その後、素早くPVA水溶液を攪拌し、 100°C 付近に保ってPVA水溶液中の気泡を取り除いてから、あらかじめ加熱して溶解したゼ

Fig. 1 Schematic representation of the number of temperature cycle for the preparation of poly (vinyl alcohol)-gelatin mixed gel

ラチン水溶液と混合し、試験管に流し込んだ。凍結・融解の反復中に水分の蒸発を防ぐために、試験管にゴム栓をし、さらに塩化ビニール袋に試験管を入れた。その結果、ゲルの濃度変化はなかった。試料はあらかじめ -20°C に調製した冷凍庫に入れた。温度は試料の近くに置いたセンサーによって測定したが、温度の精度は $-20 \pm 0.3^\circ\text{C}$ であった。PVA-ゼラチン混合ゲルはコンピューターを用いて以下のようにして作製した。PVA-ゼラチン混合溶液を -20°C で24時間保った。その後、3時間かけて 15°C まで温度を上昇させてから、7時間 15°C を保って解凍し、再び、3時間かけて -20°C まで温度を下げてから、 -20°C で11時間保った。以上の操作を反復して96時間までの混合ゲルを作製した。温度のサイクルをFig. 1に示した。作製した混合ゲルは凍結時間が24時間(温度のサイクル0回)、48時間(温度のサイクル1回)、72時間(温度のサイクル2回)および96時間(温度のサイクル3回)の4種である。PVAおよびゼラチンの濃度はそれぞれ15および5% w/wである。混合ゲルは 5°C の冷蔵庫に一昼夜放置後、型からとり出した。

2. 装置

冷凍庫の温度をコントロールするために、Fig. 2の装置を作製¹⁶⁾した。測定方法は以下の通りである。スイッチング回路の作動によってコンプレッサードライブ回路およびコンプレッサーが作動し庫内の温度は低下する。 -20°C の設定温度まで試料温度が低下すると、 -20°C で24時間保持される。その後、設定温度とセンサー温度SCの比較をして、 $SC > C$ になったときにスイッチング回路の切替えが行われ、ヒータードライブ回路が作動する。温度が上昇して 15°C に保持されると、凍結した試料が解凍して、再びスイッチング回路が切替えら

Fig. 2 Schematic diagram of the apparatus for measuring temperature control in a refrigerator

- ① Program*, ② Personal computer (PC-8001), ③ Printer (PC-8023C), ④ Data recorder, ⑤ Interface I/O, ⑥ D/A-converter, ⑦ A/D-converter, ⑧ Bridge circuit, ⑨ Pre-amp, ⑩ Comparator, ⑪ Differential and integral amp., ⑫ Arithmetic amp., ⑬ Proportional movements, ⑭ Switching circuit, ⑮ Compressor-drive circuit, ⑯ Heater-drive circuit, ⑰ Compressor, ⑱ Heater, ⑲ Sensor, ⑳ Sample, ㉑ Refrigerator.

れてコンプレッサードライブ回路が作動する。図中の番号⑧から⑱までの回路 (Closed loop control) によって温度と時間を比較し, t (凍結・融解の1サイクル) がくり返される。なお, 装置の詳細は既報¹⁵⁾を参照されたい。

凍結時間が異なる4種のPVA-ゼラチン混合ゲルについて, 動的粘弾性測定を行った。動的粘弾性はレオグラフ CV-100 (東洋精機製) を用いて周波数 2.5 Hz で測定した。装置, 方法の詳細は既報¹⁵⁾を参照されたい。

PVA-ゼラチン混合ゲルの融解温度はU字型に凍結したガラス管粘度計型ゲル融点測定装置²⁰⁾を用いて測定した。融点測定装置の片方の管から溶液を入れて減圧にすることにより2本の管中の溶液の液面差をつくり, 凍結・融解を反復してゲルを作製した。恒温槽中で5°C/min

の速度で昇温し, U字型に連結した2つのガラス円筒にはいつているゲル円柱間の高さの差が急激に減少する温度としてゲルの融解温度を求めた。

実験結果および考察

1. PVA-ゼラチン混合ゲルの E' および $\tan \delta$ と温度の関係

PVA の体積分率が 0.5, 0.75 および 1 の3種の水溶液について, 温度をサイクルして作製したゲルの E' および $\tan \delta$ と温度の関係を Fig. 3 (a)~(c) に示した。Fig. 3 (a)~(c) から明らかなように PVA の体積分率が 0.5 以上では, PVA の体積分率および温度のサイクル回数の増加につれて, E' は急激に増大した。力学的損失正接, $\tan \delta$ は E' の場合とは逆の傾向を示した。すなわち, PVA の体積分率および温度のサイクル回数の増加につれて, $\tan \delta$ は減少した。凍結時間が24時間 (サイクル0回) の場合, $\tan \delta$ は大きな値を示し, ゲルは粘性性に富んでいた。しかし, 温度のサイクル回数の増加とともに $\tan \delta$ は減少し, ゲルはゴム状弾性を示した。このゲルを引張ったとき, ゲルの切断時の長さはもとの長さの約3倍に達した。これらのゲルは約45°C以上において, E' が急激に低下した。高温における $\tan \delta$ の急激な増加はゲルの融解によっている。Fig. 3 (a)~(c) から明らかなように温度のサイクル回数の増加とともに $\tan \delta$ が減少することは, PVA の水素結合に

Fig. 3(a) Dynamic Young's modulus E' and $\tan \delta$ for 15% w/w PVA gels

Solid line; E' , Broken line; $\tan \delta$

The number of temperature cycle;

O: 0, ●: 1, △: 2, ▲: 3

よる微結晶構造の増加を示すものであり¹⁵⁾¹⁶⁾, その結果, E' が著しく増大したものと考えられる。

Fig. 3(b) Dynamic Young's modulus E' and $\tan \delta$ for 15% w/w PVA-5% w/w gelatin mixed gel (volume ratio 3:1)

Solid line; E' , Broken line; $\tan \delta$
The number of temperature cycle
○: 0, ●: 1, △: 2, ▲: 3

Fig. 3(c) Dynamic Young's modulus E' and $\tan \delta$ for 15% w/w PVA-5% w/w gelatin mixed gel (volume ratio 1:1)

Solid line; E' , Broken line; $\tan \delta$
The number of temperature cycle;
○: 0, ●: 1, △: 2, ▲: 3

2. PVA-ゼラチン混合ゲルの E' と体積分率の関係

PVA-ゼラチン混合ゲルについて, 15°C における E' と PVA の体積分率の関係を Fig. 4 に示した。Fig. 4 から明らかなように PVA の体積分率が約 0.4 以上においては, 温度のサイクル回数に無関係に均質なゲルが作製された。さらに, この範囲では温度のサイクル回数の増加とともに E' は急激に増大した。しかし, PVA の体積分率が約 0.4 以下になると, 温度のサイクル回数の増加につれてゲルは 2 相に分離した。上層は少量のゼラチンを含む PVA ゲルであり, 下層は少量の PVA を含むゼラチンゲルであった。このゲルの体積比は PVA の体積分率が, さらに小さくなるに従って変化し, やがてゼラチンのキセロゲルとなった。ゼラチンゲルは離水して, ゲルの体積は著しく減少した。PVA-水溶性高分子物質の混合溶液を凍結・融解した場合, 水溶性高分子の性質および分子量等によって混合ゲルは興味深いレオロジー的性質を示す。今回, PVA-ゼラチン混合ゲルにおいて, ゼラチンの体積比の増加につれて相分離が起ったことはゼラチン分子の側鎖基あるいは分子量等に影響されたものと考えられるが, これらについては今後の研究が期待される。

Fig. 4 Plot of E' parameter for 15% w/w PVA-5% w/w gelatin mixed gel against the volume fraction of PVA at 15°C

The number of temperature cycle;
○: 0, ●: 1, △: 2, ▲: 3

Fig. 5 Relationship between E' and the number of temperature cycle at 15°C

1; 15% w/w PVA gel, 2; 15% w/w PVA-5% w/w gelatin mixed gel (volume ratio 3:1), 3; 15% w/w PVA-5% w/w gelatin mixed gel (volume ratio 1:1)

Fig. 6 Relationship between melting temperature and the number of temperature cycle

1: 15 wt% PVA gel, 2: 15 wt% PVA-5 wt% gelatin mixed gel (volume ratio 3:1), 3: 15 wt% PVA-5 wt% gelatin mixed gel (volume ratio 1:1)

3. 混合ゲルの E' と温度のサイクル回数の関係

PVA の体積分率が 0.5, 0.75 および 1 のゲルについて温度のサイクル回数と E' の関係を Fig. 5 に示した。Fig. 5 から明らかなように温度のサイクル回数の増加とともに E' は増加した。凍結時間が 24 時間 (サイクル 0 回) の E' に対する 96 時間 (サイクル 3 回) のそれは PVA の体積分率が 1, 0.75 および 0.5 でそれぞれ約 6, 8 および 10 倍に達した。PVA の体積分率によって E' の増加する割合が異なるのは, PVA 中のゼラチン分子によって PVA の微結晶構造の形成がおさえられたためであると考えられる。

4. 混合ゲルの融解温度と温度のサイクル回数の関係

PVA の体積分率が 0.5, 0.75 および 1 のゲルについて U 字型に凍結したガラス管ゲル融点装置で測定した。ゲルの融解温度のサイクル回数の関係を Fig. 6 に示した。Fig. 6 から明らかなように PVA の体積分率および温度のサイクル回数の増加とともにゲルの融解温度は上昇し, これらの傾向は E' のそれに類似している。これらのゲルの融解温度は寒天ゲルのそれとも類似している。寒天ゲルは融解後, 温度を下げていくと再びもとのゲルの弾性率に近づくが, これらの混合ゲルは融解後, 温度を下げて常温ではもとのゲルにもどらない。しかし, 凍結・融解を反復するともとのゲルの弾性率に近づく。以上の結果から以下のことが推論される。PVA の体積分率が大きくなるほど, PVA の微結晶構造が増加するため, ゲルの融解温度は上昇する。すなわち, 水素結合によって形成された微結晶構造の橋かけ点の数密度が, ゲルの融解温度に影響を与えるものとみられる。従って温度のサイクル回数が増加すればゲル中の橋かけ点の数密度も増加するものとみられる。これは, 1. および 3. で述べた E' についても同様である。

要 約

15% w/w PVA および 5% w/w ゼラチン水溶液を混合した溶液について, 凍結・融解を反復した場合, ゲルの性質は両者の混合比によって変化した。これらのゲルについて動的粘弾性測定を行った。その結果は以下の通りである。

(1) PVA の体積分率が 0.5 以上では, PVA の体積分率および温度のサイクル回数の増加とともに E' およびゲルの融解温度はともに著しく増大した。これらの傾向は再現性が見られた。

(2) 温度のサイクル回数が少ない場合, ゲルは粘着性を示した。しかし, サイクル回数が増加するとゲルはゴ

ム状弾性を示し、機械的強度が著しく増大した。

(3) PVA の体積分率が約 0.2~0.4 の範囲では、上層に PVA、下層にゼラチンのゲルに分離し、そのゲルの体積の割合は PVA の体積分率の変化とともに変った。

(4) PVA の体積分率が約 0.1 付近から、ゲルは離水してキセロゲルになった。

(5) (1) の混合ゲルは水中に浸漬した場合、ゲルの重量および E' の変化はほとんどなく、これらのゲルを引張った場合、ゲルの切断時の長さはもとの長さの約 3 倍に達した。さらに、これらのゲルは加工が容易であり、水中に浸漬した場合、長期間腐蝕が見られなかった。

これらの結果から、PVA の体積分率が 0.5 以上では、温度のサイクル回数の増加につれて E' が増大したことは PVA の水素結合による微結晶構造の形成が主要因であると考えられる。

文 献

- 1) BRUCK, S. D.: *J. Biomed. Mater. Res.*, **6**, 173 (1972); **7**, 387 (1973).
- 2) 近藤絃一: 高分子, **24**, 593 (1975).
- 3) 丹沢 宏: 医用高分子, 妹尾 学編 (共立出版), p. 81 (1979).
- 4) 山中 学: 医用材料の化学, 化学総説 No. 21, 日本化学会編 (1978).
- 5) ANDRADE, J. D., ed.: *Hydrogels for Medical and Related Applications*, ACS Symposium Ser. 31 (1976).
- 6) 軽部征夫・鈴木周一: 化学工学, **40**, 139 (1976).
- 7) HOFFMAN, A. S. and SCHMER, G.: *Coagulation*, Schmer, G., Strandjord, P. E. (eds) (Academic Press, New York), p. 201 (1973).
- 8) MALONEY, J. V., ROHER, D., ROTH, E. and LATTA, W. A.: *Surgery*, **66**, 275 (1969).
- 9) 曾根康夫・平林 清・桜田一郎: 高分子化学, **10**, 1 (1953).
- 10) 前田弘邦・河合 徹・柏木良治: 高分子化学, **13**, 193 (1956).
- 11) 前田弘邦・河合 徹・柏木良治: 工業化学, **59**, 809 (1956).
- 12) 南部昌生: 日特公, 82-130543 (1982).
- 13) WATASE, M., NISHINARI, K. and NAMUBU, M.: *Polymer Communications*, **24**, 54 (1983).
- 14) WATASE, M. and NISHINARI, K.: *Polymer Communications*, **24**, 270 (1983).
- 15) 渡瀬峰男: 日化誌, **1983**, 973 (1983).
- 16) 渡瀬峰男: 日化誌, **1983**, 1254 (1983).
- 17) 渡瀬峰男: 未発表
- 18) 渡瀬峰男・西成勝好: 日食工誌, **30**, 368 (1983).
- 19) 西成勝好・堀内久弥・石田勝紀・池田勝則・伊達宗宏・深田栄一: 日食工誌, **27**, 227 (1980).
- 20) HARRISON, M. N., MORGAN, P. H. and PARK, G. S.: *Brit. Polym. J.*, **3**, 154 (1971).

(昭和 58 年 5 月 20 日受理)