

# 微生物固定化担体を目的としたシングルコア型多孔性 ポリスチレンマイクロカプセルの開発

エティク・マルドリヤティ\*、吉田昌弘\*\*、河野恵宣\*\*\*、上村芳三\*\*、幡手泰雄\*\*

## PREPARATION OF POROUS POLYSTYRENE MICROCAPSULES WITH A HOLLOW CORE FOR CELL IMMOBILIZATION MATRIX

Etik MARDLIYATI, Masahiro YOSHIDA, Yoshinobu KAWANO, Yoshimitsu UEMURA  
and Yasuo HATATE

A new method for preparing porous polystyrene microcapsules with a hollow core applied as an immobilization matrix of microorganism was developed using an oil-in-water (O/W) emulsion solvent evaporation technique. The method was based on the phase separation of polystyrene in solvent mixture of dichloromethane and isooctane. The effects of isooctane concentration and solvent evaporation temperature on the microcapsules morphology were investigated. It was found that the formation of a hollow core and micropores was significantly affected by isooctane concentrations. Moreover, diameters of a hollow core and the structures of capsule wall were influenced by the temperature of solvent removal process.

**Keywords:** polystyrene microcapsules; hollow core; porous wall; O/W emulsion; phase separation

### 1. 緒言

マイクロカプセルは数 $\mu\text{m}$ から数百 $\mu\text{m}$ の径を持つ微小な容器であり、芯物質はカプセル壁によつ

て外部環境から保護され、あるいはそれが外部環境に放出される時間、場所および速度はカプセル壁の材料や厚さを変えて自由に調節できるという優れた性質を持っている。このような特性を持つことから、マイクロカプセルは、感圧複写機紙、液晶感熱デバイス、持続放出性薬品、人工細胞、固定化生体触媒の担体など様々な分野で広範に利用されてい

2000年7月17日受理

\* 博士後期課程物質生産工学専攻

\*\* 応用化学工学科

\*\*\* 宮崎大学工学部物質工学科

る<sup>1-4)</sup>。その中で、生化学分野においては、バイオリクターでの連続的操作を可能にする固定化生体触媒は最近特に注目され、固定化担体としてのマイクロカプセルの応用が期待されている。

マイクロカプセル化による微生物の固定化においては、現在、担体として、アルギン酸カルシウム、 $\kappa$ -カラギーナンなどゲル状のマイクロカプセルが一般的に用いられる<sup>5)</sup>。しかし、これらのマイクロカプセルでは、微生物の漏出や長時間使用によるカプセルの崩壊などの欠点が挙げられる<sup>6)</sup>。一方、ポリスチレンなど堅固なカプセル壁材を用いる固体のマイクロカプセルを固定化の担体とする報告はない。そこで、本研究は、カプセル壁材としてポリスチレンに着目し、微生物固定化担体用のマイクロカプセルの調製を目的とする。具体的には、微生物を高効率で内包ができ、かつカプセル内部への基質の拡散性に優れた単核構造を有する多孔性マイクロカプセルの調製に挑戦する。

本稿では、単核構造を有する多孔性マイクロカプセルを得るために、混合有機溶媒中の高分子の相分離を利用し、O/W エマルジョンの液中乾燥法によるポリスチレンマイクロカプセルの調製に関する基礎実験について報告する。混合有機溶媒中の高分子貧溶媒であるイソオクタンの濃度および液中乾燥の温度を変えて、それらの因子がマイクロカプセルの構造に及ぼす影響を詳細に検討した。

## 2. 実験

### 2.1 試薬

ポリスチレン（重合度：1000–1400、ナカライテスク）をカプセル壁材、ジクロロメタン（沸点：40℃、和光純薬）を高分子良溶媒、イソオクタン（沸点：99℃、和光純薬）を高分子貧溶媒として用いた。界面活性剤としてソルビタンモノオレエート（ナカライテスク、以後 Span 80 と省略）を用いた。また、

分散安定剤として PVA（重合度：500、完全けん化型、和光純薬）および第三りん酸カルシウム微粒子（大平化学産業、以後 TCP-10U と省略）を用いた。

### 2.2 単核構造を有する多孔性ポリスチレンマイクロカプセルの調製原理

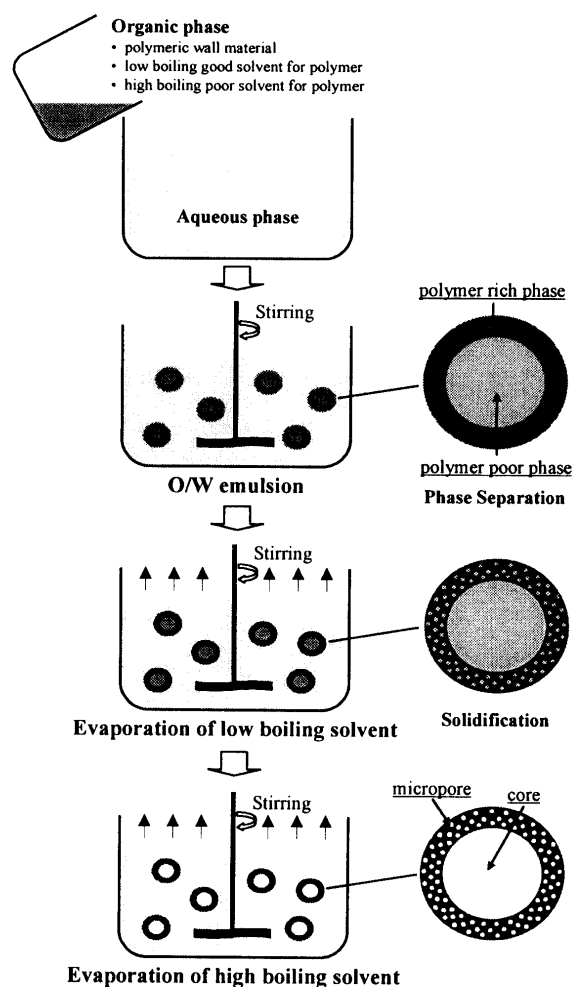


図-1 単核構造を有する多孔性マイクロカプセルの調製の概念図

単核構造を有する多孔性ポリスチレンマイクロカプセルの調製法は、混合有機溶媒中の高分子の相分離を利用し、O/W エマルジョンの液中乾燥法による新しい調製法である。その調製の原理を図-1に示す。有機相はカプセル壁材高分子、低沸点高分子

良溶媒と高沸点高分子貧溶媒を用いる。攪拌しながら、有機相を水相に分散し、O/W エマルションを調製した後、温度の上昇と共に、O/W エマルションの油滴の界面に polymer rich phase、油滴の中部に polymer poor phase の相分離を起こさせる。次に、低温で液中乾燥を行い、低沸点高分子良溶媒を除去し、polymer rich phase をカプセル壁とした後、続いて高温で液中乾燥を行い、カプセル壁に含まれる高沸点高分子貧溶媒とカプセルの中の高沸点高分子貧溶媒を除去することによって、単核構造を有する多孔性マイクロカプセルの調製が可能になる。

### 2.3 単核構造を有する多孔性ポリスチレンマイクロカプセルの調製

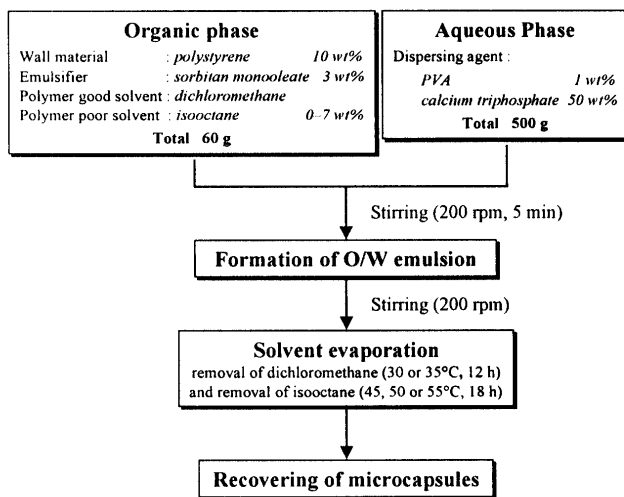


図-2 単核構造を有する多孔性ポリスチレンマイクロカプセルの調製法

マイクロカプセルの調製法を図-2に示す。有機相は、10 wt%ポリスチレンと3 wt% Span 80をジクロロメタンに溶かし、さらに0-7 wt%のイソオクタンを添加したもの60 mlを用いた。水相は1 wt%PVAと50 wt% TCP-10Uの水溶液500 mlを用いた。水相を800 ml ジャケット付セパラブルフラスコに入れ、200 rpmで攪拌しながら有機相を分散し、

O/W エマルションを作製した。次に、系内の温度を30または35°Cに保ちながら、12時間低温液中乾燥を行い、ジクロロメタンを除去した。さらに、系内を45-55°Cに保ちながら、18時間高温液中乾燥を行い、イソオクタンを除去した。得られたマイクロカプセルを塩酸で洗浄した後、ろ過してさらに自然乾燥した。

### 2.4 単核構造を有する多孔性ポリスチレンマイクロカプセルの構造評価

マイクロカプセルの構造は、走査型電子顕微鏡(SEM、Topcon SM-300)を用いて観察した。

## 3. 結果および考察

### 3.1 イソオクタン濃度がマイクロカプセルの構造に及ぼす影響

有機相中のイソオクタン濃度を0-7 wt%に変えて、マイクロカプセルの単核構造に及ぼす影響を調べた。イソオクタン濃度が5 wt%までは、粒子径50-300 μmの球状マイクロカプセルが調製できた。しかし、イソオクタン濃度が6または7 wt%で調製されたマイクロカプセルは、液中乾燥中にエマルションが凝集し、マイクロカプセル化できなかった。調製したマイクロカプセルのSEM写真を図-3に示す。イソオクタンを添加しない場合、マイクロカプセルの表面はなめらかとなり、カプセル壁に細孔は観察されなかった。しかもその内部に単核構造は形成されなかった。イソオクタンを添加することにより、マイクロカプセルの表面には凹凸が見られ、単核構造が形成された。さらに、カプセル壁には3-10 μm程の細孔も観察されるようになった。カプセル壁の細孔は、イソオクタン濃度が高くなるにつれて多く観察された。

これらの結果より、高分子貧溶媒であるイソオクタンを添加することにより、O/W エマルションの油

滴において液-液相分離が起こり、それによって単核構造や細孔が形成されたことが考察される。また、今回の調製条件では、イソオクタン 5 wt% が最適な濃度であることが明らかとなった。

### 3.2 液中乾燥の温度がマイクロカプセルの構造に及ぼす影響

液中乾燥の温度を変化させ、マイクロカプセルの構造に及ぼす影響を調べた。イソオクタン濃度が 5 wt% で調製したマイクロカプセルに関して、ジクロロメタンを除去するための低温液中乾燥の温度を 30 または 35°C、イソオクタンを除去するための高

温液中乾燥の温度を 45、50 または 55°C に変化させた。調製したマイクロカプセルの SEM 写真を観察した結果 (図-4)、低温液中乾燥 35°C で調製したマイクロカプセルは、30°C で低温液中乾燥したものとは比べて、より大きい単核構造を形成することがわかった。高温液中乾燥において、温度が高くなるに伴って、単核構造がやや大きくなった。結果として、低温液中乾燥 35°C、高温液中乾燥 50°C で調製したマイクロカプセルが最も堅固なカプセル壁を形成することが確認された。マイクロカプセルの構造は、液中乾燥の温度によりコントロール可能であることがわかった。

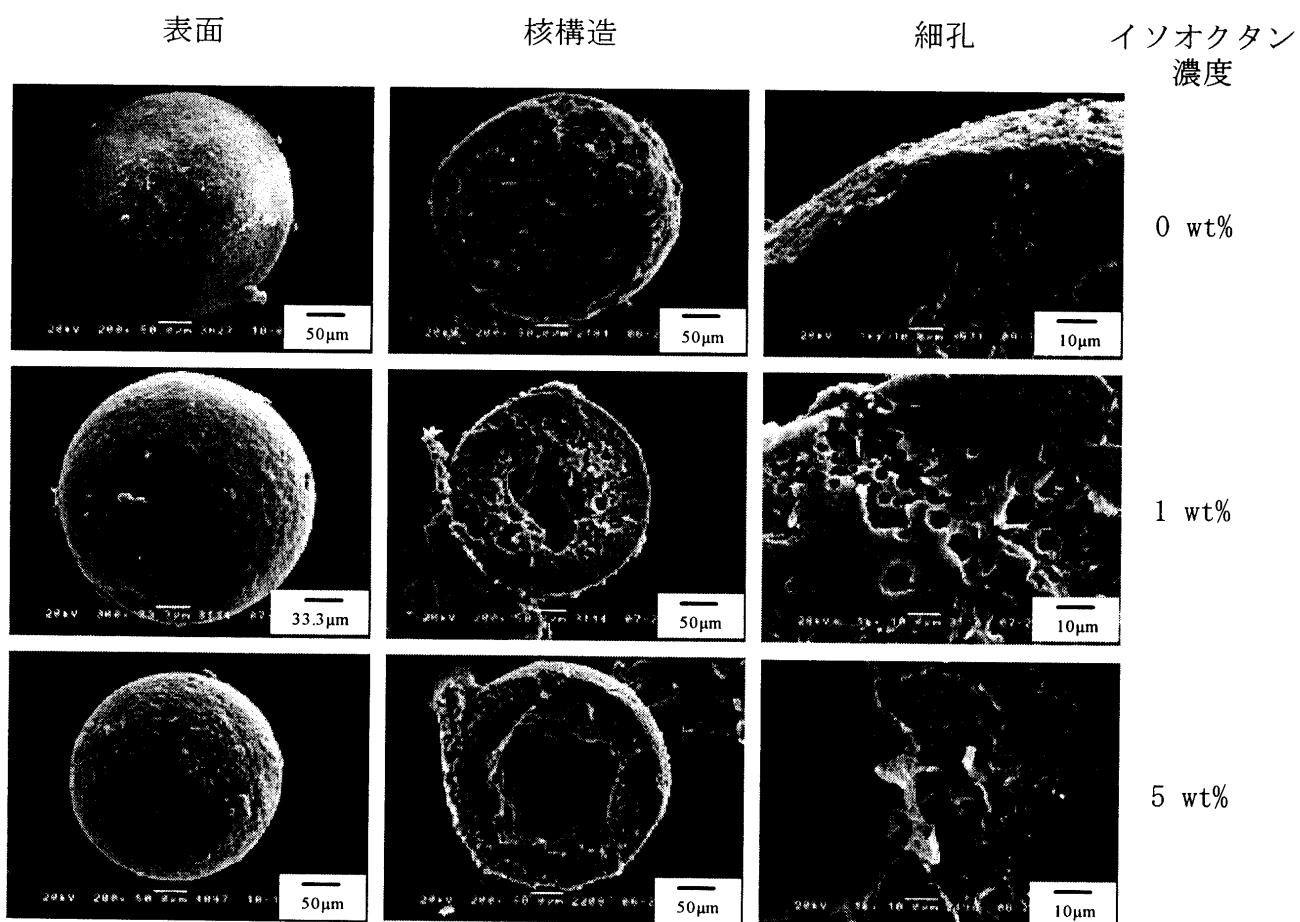


図-3 イソオクタン濃度を変化させて調製した多孔性ポリスチレンマイクロカプセルの SEM 写真

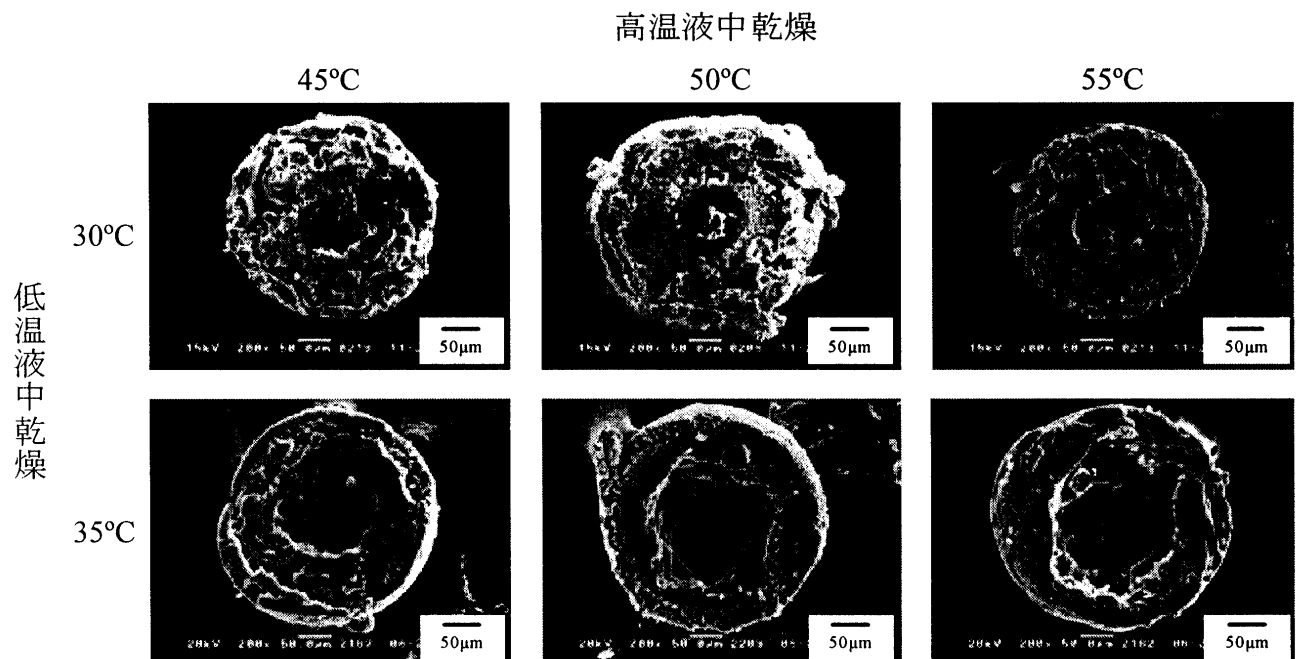


図-4 液中乾燥温度を変化させて調製した多孔性ポリスチレンマイクロカプセルの SEM 写真

#### 4. 結言

混合有機溶媒での高分子の相分離を利用して、単核構造を有する多孔性ポリスチレンマイクロカプセルを調製することができた。マイクロカプセルの構造（核および細孔の構造）が有機相中のイソオクタン濃度および液中乾燥の温度に大きく依存することがわかった。得られたマイクロカプセルは、100  $\mu\text{m}$  程の単核、3-10  $\mu\text{m}$  程の細孔を持っており、酵母に代表される微生物の有効な固定化担体としての利用可能であることが示された。

#### 参考文献

- 1) 近藤朝士, マイクロカプセル, 日刊工業新聞社 (1970)
- 2) M. H. Gutcho, Microcapsules and Microcapsulation Technique, Noyes Data Co., New Jersey (1976)
- 3) 近藤 保, 小石真純, マイクロカプセル—その製法・性質・応用, 三共出版 (1995)
- 4) 近藤 保, マイクロカプセル, 三共出版 (1985)
- 5) 千畑一郎, 固定化生体触媒, 講談社サイエンティフィク (1985)
- 6) P. S. J. Cheethan, K. W. Blunt, C. Bucke, Biotechnol. Bioeng., **21**, 2155 (1979)