

SPG膜と膨潤法を利用した 単分散型高分子マイクロスフェアの開発 —GPC充填剤への応用—

池田 智*¹、吉田 昌弘*²、吉澤 秀和*³、
河野 恵宣*⁴、上村 芳三*²、幡手 泰雄*²

PREPARATION OF MONODISPERSED MICROSPHERES FOR GPC PACKING MATERIAL
USING SPG MEMBRANE AND SWELLING METHOD

Satoshi IKEDA, Masahiro YOSHIDA, Hidekazu YOSHIKAWA,
Yoshinobu KAWANO, Yoshimitsu UEMURA and Yasuo HATATE

Monodispersed polymeric microspheres prepared by emulsion polymerization using Shirasu porous glass (SPG) membrane. The particle size distribution prepared by the technique is of 20-30 μ m. To extend the particle size distribution, the swelling method was applied. Consequently, the monodispersed microspheres were of 40-50 μ m.

Keywords : monodispersed, microspheres, swelling method, SPG

1. 緒言

高分子マイクロスフェアは、粒子径や粒径分布を制御しやすい、単位質量あたりの比表面積が大きい、マイクロスフェア表面に種々の官能基を導入しやすいなどの特徴を持つことから、情報分野におけるコピー

用トナー、医学・薬学分野における DDS 担体など、工業分野だけでなく非常に広域な分野での利用が進んでいる。高分子マイクロスフェア自身が機能性材料ともいえるが、更なる機能性を付与する目的で多くの研究が現在行われている^{1,2)}。

新たに付与する機能性の一つとして粒径分布の単分散化が挙げられる。粒子径が 50 μ m 以上あれば、粒子群の分級は容易であり、単分散化にはほとんど問題がない。しかし、10 μ m 程度になると格段にハンドリング(分級)技術が複雑になってくる。単分散なマイクロスフェアを製造する必要があるコピー用トナーや液体クロマトグラフィー用充填剤においては、

2000 年 7 月 15 日受理

*1 博士前期課程応用化学工学専攻

*2 応用化学工学科

*3 岡山大学環境理工学部環境物質工学科

*4 宮崎大学工学部物質環境工学科

分級行程が重要な位置を占めているといえる。このことより、分級行程なしに単分散高分子マイクロスフェアを調製する技術は工学的に非常に価値がある³⁾。

単分散高分子マイクロスフェアの調製法の一つとして SPG 膜を利用した SPG 膜乳化法がある。SPG (Shirasu Porous Glass) とは、シラスを原料とし、均一に制御された細孔構造を有する一種のガラス管である。この SPG 膜乳化法によりエマルジョンを調製した後、重合を行うことにより約 10 μ m の単分散高分子マイクロスフェアを調製することができる⁴⁾。

現在、タンパク質、ペプチド分離のためのゲルパーミエーションクロマトグラフィー (GPC) 用充填剤として、50-100 μ m の単分散高分子マイクロスフェアが使用されている。このような粒子径を有する単分散高分子マイクロスフェアを調製するには、懸濁重合の後に分級を行う方法、二段階膨潤法⁵⁾、動的膨潤法⁶⁾、液滴膨潤法⁷⁾などが考えられ、その中でも液滴膨潤法においては調製に要する時間が比較的短く、調製法も他の調製法と比べて容易であると考えられる。そこで本研究では、タンパク質、ペプチドの分離、精製を目指し、細孔径が精密に制御された約 50 μ m の粒子径を有する単分散高分子マイクロスフェアの調製法の確立を目的とする。具体的には、一次エマルジョンとして SPG 膜乳化法により調製したエマルジョンを、二次エマルジョンとして親水性の高いモノマーであるポリオキシエチレンモノメタクリレート (プレナム PE-200) を用い、改良型液滴膨潤法によりエマルジョンを膨潤させた後、重合することにより得られた多孔性高分子マイクロスフェアに関して様々な特性を評価した。

2. 実験

2.1 SPG膜乳化法による一次エマルジョンの調製

図-1 に SPG 膜乳化装置の概略図を、表-1 にシードエマルジョンとなる一次エマルジョンの調製条件を示す。有機相となる分散相には、サンプル A-D すべての場合について溶媒にベンゼンを使用し、重合開始剤に tert-ブチルパーオキシピバレート (t-BPP, 化薬アクゾ) を用いた。さらにサンプル D は、

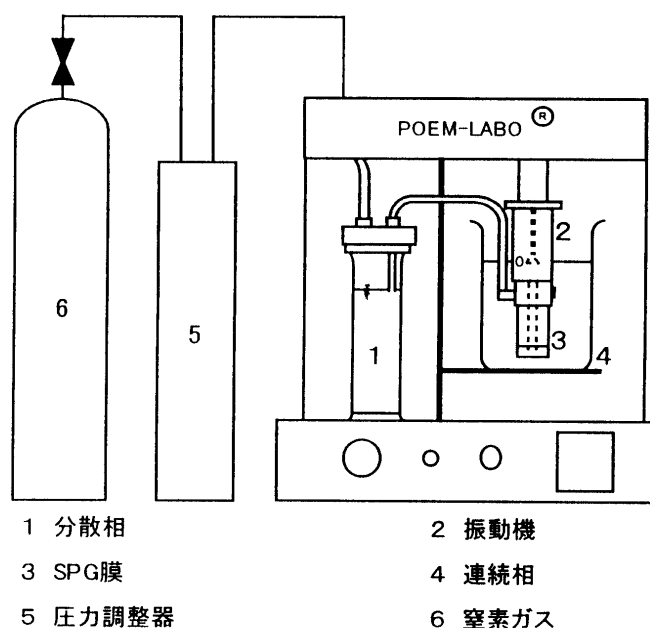


図-1 SPG 膜乳化装置図

表-1 一次エマルジョンの調製条件

	連続相 (外水相)		分散相 (有機相)	
サンプル A			ベンゼン	5.0 g
			t-BPP	1.35 g
サンプル B	水	150ml	ベンゼン	5.0 g
			t-BPP	1.35 g
サンプル C	PVA	1.0wt%	ベンゼン	5.0 g
	SDS	0.2wt%	t-BPP	1.35 g
サンプル D			ベンゼン	4.92 g
			t-BPP	1.89 g
			スチレン	12.3 g

重合後における高分子マイクロスフェアの強度を増す目的でスチレンを追加したものを用いた。外水相となる連続相は、界面活性剤としてドデシル硫酸ナトリウム (SDS, 和光純薬) を 0.2wt% 含む 1.0wt% ポリビニルアルコール (PVA, 和光純薬) 水溶液を用いた。SPG 膜を SPG モジュール内に取り付けた後、振動部を振動させることにより SPG モジュール内を連続相が循環するようにした。SPG 膜の外側から分散相を窒素ガスにより圧入することで単分散なエマルジョン (一次エマルジョン、O/W エマルジョン) を調製し

た。本実験では、細孔径 $9\mu\text{m}$ の SPG 膜を使用した。

2.2 二次エマルションの調製

表-2 に二次エマルションの調製条件を示す。分散相はサンプル A、D では溶媒にベンゼンを使用し、サンプル B ではブタノールと酢酸ブチルの混合溶液を、サンプル C では酢酸エチルを用いた。モノマー及び架橋剤として、ブレンマー PE-200 (日本油脂 (株)) 及びエチレングリコールジメタクリレート (EGDMA, 和光純薬) を用いた。連続相は、界面活性剤として SDS を 0.1wt% 含む 1.0wt% PVA 水溶液を用いた。これら 2 液を混合し、ホモジナイザーを用いて回転速度 10,000rpm で 15 分間エマルション調製を行ったものを二次エマルション (O/W エマルション) とした。

2.3 単分散高分子ミクロスフェアの調製

先に調製した一次エマルションと二次エマルションを混合し、スターラーでゆっくりと攪拌することにより、二次エマルションを一次エマルション中に吸収させ、エマルションを膨潤させた。この膨潤の過程を光学顕微鏡 (LABOPHOT-2, Nikon) により観察した。所定の時間攪拌した後、膨潤したエマルションを重合反応器に仕込み、窒素雰囲気下、攪拌速度 120rpm、反応温度 343K、重合時間 16 時間の一定条件で重合を行った。

重合後、メタノール洗浄及び湯水洗浄を行い、濾過、乾燥した後単分散高分子ミクロスフェアを回収した。

2.4 高分子ミクロスフェアの物性評価

調製した高分子ミクロスフェアの物性を調べるために SEM 観察、粒径分布測定、BET 吸着法による高分子ミクロスフェアの比表面積および平均細孔径の測定を行った。高分子ミクロスフェアの表面形状を調べるために SEM 観察を行った。高分子ミクロスフェアをカーボンテープにより資料台に固定し金蒸着させた後、走査型電子顕微鏡 (SM-300, TOPCON) により観察した。高分子ミクロスフェアの粒径分布を測定するために、高分子ミクロスフェアを超音波によ

表-2 二次エマルションの調製条件

	連続相 (外水相)		分散相 (有機相)
サンプル A			ベンゼン 25.0 g ブレンマー 17.8 g EGDMA 7.60 g
サンプル B	水	500ml	ブタノール 22.9 g 酢酸ブチル 7.62 g ブレンマー 17.8 g EGDMA 7.60 g
サンプル C	PVA	1.0wt%	EGDMA 7.60 g
	SDS	0.1wt%	酢酸エチル 25.0 g ブレンマー 17.8 g EGDMA 7.60 g
サンプル D			ベンゼン 25.0 g ブレンマー 17.8 g EGDMA 7.60 g

り水に分散させた後、コールター粒子アナライザー (COLTER LS130, COLTER) により測定した。高分子ミクロスフェアの細孔径等を測定するために、水銀ポロシメーター (AUTOSCAN-60 POROSIMETER) を用いて BET 吸着法により測定した。調製した高分子ミクロスフェア (サンプル A-D) を GPC カラム充填剤として使用した。7.8mm×300mm (内径×長さ) のカラムに高分子ミクロスフェアを充填し、溶媒にテトラヒドロフラン、測定サンプルに分子量概値の標準ポリスチレン ($M_w=500-2890,000$) を用い、流速 1.0ml/min の条件で排除限界分子量の測定を行った。

3. 結果と考察

3.1 光学顕微鏡による O/W エマルションの観察

図-2 に一次エマルション群に二次エマルション群が吸収され、エマルションが膨潤する様子の光学顕微鏡写真を示す。図より、微少な二次エマルションが一次エマルションに吸収され、膨潤したエマルションが調製されていることがわかる。これは二次エマルションが Ostwald ripening の原理により一次エマルションに吸収され、その結果として一次エマルションが膨潤すると考えられている¹⁾。

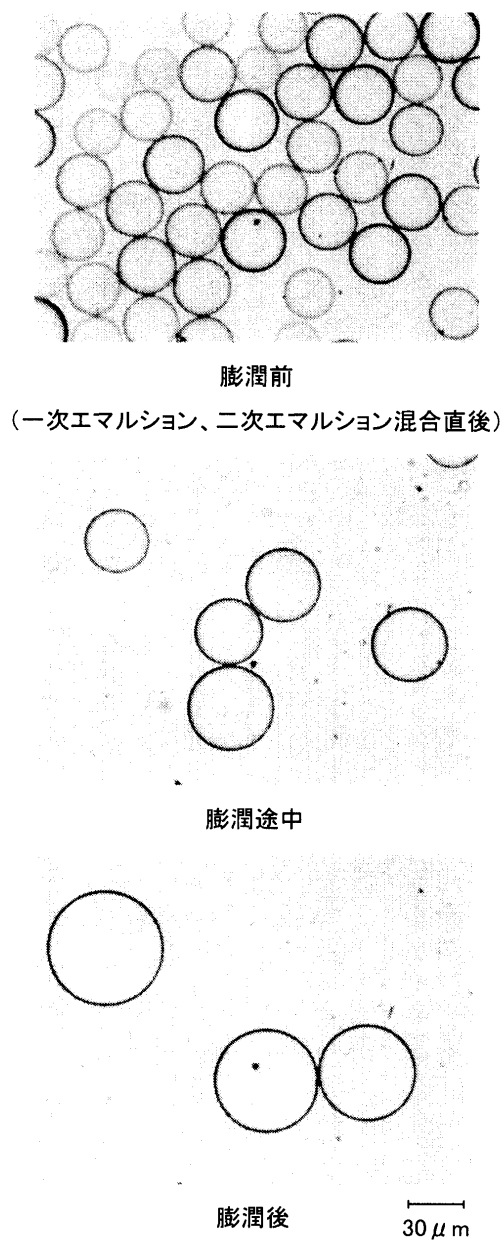


図-2 光学顕微鏡写真(×400)

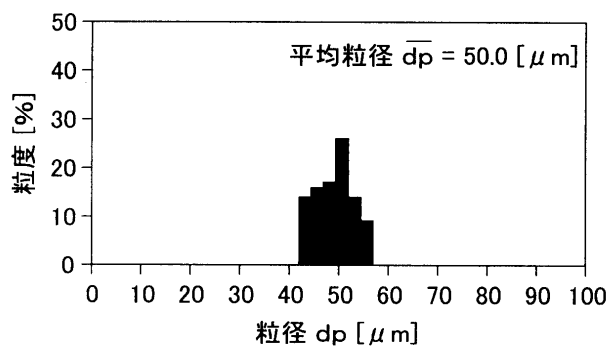


図-3 粒径分布

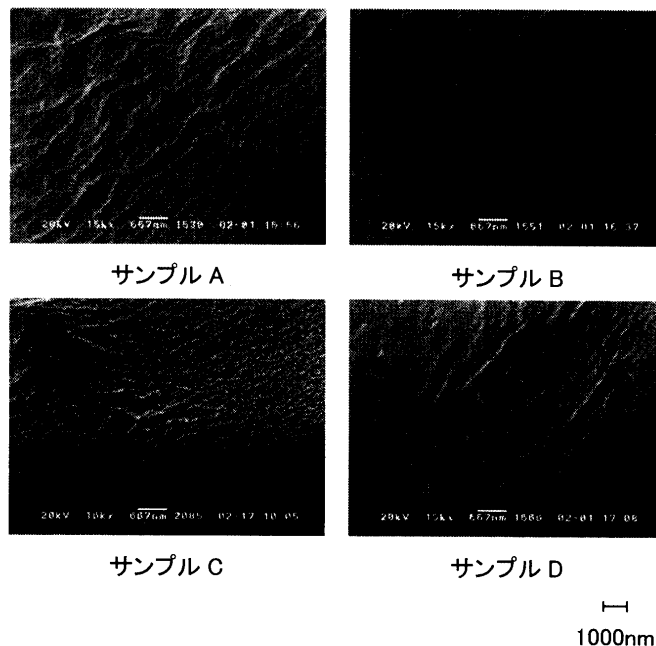


図-4 SEM 写真(×15,000)

膨潤前の一次エマルジョンの平均径は約 $27 \mu\text{m}$ であるのに対して膨潤後の O/W エマルジョンの平均径は最大約 $61 \mu\text{m}$ であった。これより、O/W エマルジョンの直径は約 2 倍になっていることがわかった。

3.2 SEM による高分子マイクロスフェアの観察

図-3, 4 に、調製した高分子マイクロスフェアの粒径分布、および高分子マイクロスフェア表面の SEM 写真をそれぞれ示す。高分子マイクロスフェアの平均粒径は最大約 $50 \mu\text{m}$ であり、その粒径分布は単分散であった。また SEM 写真より、その形状は真球状をしており、すべての高分子マイクロスフェア表面に凹凸が確認された。溶媒の種類およびスチレン添加量が細孔径に及ぼす影響は SEM 写真から比較することができなかった。

3.3 高分子マイクロスフェアの物性化学的特性

SEM 観察では高分子マイクロスフェア表面の細孔径を比較することができなかったため、水銀ポロシメーターを用いて BET 吸着法により高分子マイクロスフェアの比表面積および平均細孔径を測定した。その結果を表 3 に示す。表より、各サンプルの比表面積は約 $30\text{--}50\text{m}^2/\text{g}$ という値を示した。また平均細孔直

表-3 BET 吸着法による測定結果

サンプル	A	B	C	D
比表面積[m ² /g]	39.9	33.1	48.9	30.5
平均細孔直径 [μm]	0.025	0.023	0.011	0.006

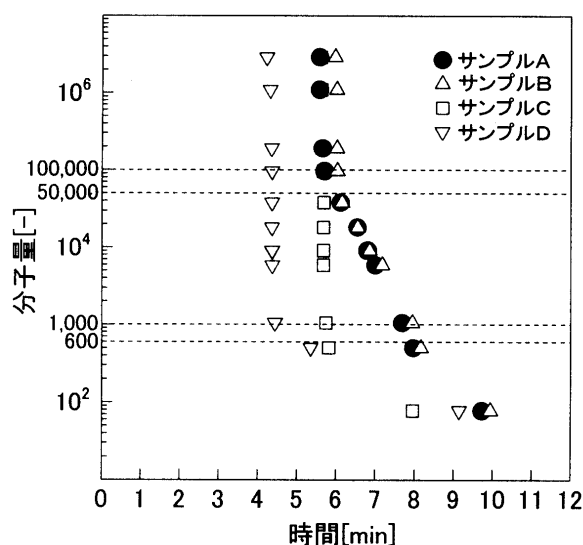


図-5 排除限界分子量

径に関しては、二次エマルジョン調製時における分散相に極性の異なる有機溶媒を用いることにより、細孔径の違う高分子ミクロスフェアの調製が可能となった。さらに一次エマルジョン中にスチレンを添加した系（サンプル D）を用いて調製した高分子ミクロスフェアが、最も小さな細孔径を有することがわかった。これは、スチレンを添加することによりポリマーマトリックスの剛直さが増したためである考察される。

3.4 GPC充填剤として的高分子ミクロスフェアの応用

調製した高分子ミクロスフェア（サンプル A-D）を GPC カラム充填剤として使用した。その結果を図-5 に示した。図より、最大排除限界分子量は、サンプル A は約 10 万、サンプル B は約 5 万、サンプル C は約 600、サンプル D は約 1000 であった。この結果より、GPC 用充填剤としての利用が可能であることが示された。また、その最大排除

限界分子量はサンプル A の約 10 万であることが示された。

4. 結言

SPG 膜と膨潤法を組み合わせることにより単分散な高分子ミクロスフェアを調製した。その平均粒径は 50 μm であった。また、二次エマルジョン調製時において、その溶媒をベンゼン、ブタノールと酢酸ブチルの混合溶液、酢酸エチルと溶媒の種類を変化させることにより高分子ミクロスフェアの平均細孔径が変化することを確認した。さらに、一次エマルジョンの有機相中にスチレンを加えることによりより小さな細孔径を有する高分子ミクロスフェアが調製できた。

高分子ミクロスフェアを GPC 充填剤として使用した結果、最大で分子量約 10 万の分子を分離できることを確認した。

参考文献

- 1) 化学工学会機能性微粒子とその周辺技術研究会編, 化学工学シンポジウムシリーズ 56 機能性微粒子とその周辺最新技術, 化学工学会 (1997)
- 2) 東レリサーチセンター, 機能性材料としての微粒子ポリマーの新展開, 東レリサーチセンター (1994)
- 3) 幡手泰雄, 吉澤秀和, 伊地知和也, 上村芳三, 河野恵宣, ケミカルエンジニアリング, **43**, 1 (1998)
- 4) Y.Hatate, Y.Uemura, K.Ijichi, Y.Kato, T.Hano, Y.Baba, Y.Kawano, J. Chem. Eng. Japan, **28**, 656 (1995)
- 5) J.Ugelstad, K.H.Kaggerud, F.K.Hansen, A.Berge, Makromol. Chem., **180**, 737 (1979)
- 6) M.Okubo, K.Kanaida, M.Fujimura, Coll. Polym. Sci., **269**, 222 (1991)
- 7) S.Omi, T.Taguchi, M.Nagai, G.-H.Ma, J. Appl. Polym. Sci., **63**, 1337 (1997)