

解 説

熱分析によるポリエチレングリコール添加メチルセルロースヒドロゲルのゲル化過程と水の状態分析

西本 右子

神奈川大学 理学部

(受取日: 2018 年 11 月 21 日, 受理日: 2018 年 12 月 21 日)

Analysis of Water State and Gelation of Methylcellulose Thermo-Reversible Hydrogels containing PEG by Thermal Analysis

Yuko Nishimoto

Faculty of Science, Kanagawa University

(Received Nov. 21, 2018; Accepted Dec. 21, 2018)

The gelation of aqueous methylcellulose (MC) solutions containing polyethylene glycol (PEG) occurred in two-steps. First, the gel network was formed by the hydrophobic interaction between MC and PEG at 310-313 K, and then, the gel network was formed between MC chains at 323 K. On the other hand, in the MC hydrogels containing PEG and NaCl, sodium ion assumed to be enclosed by PEG, forming a helix with the hydrophobic groups outward. The sodium ion in the gel was expected to be surrounded by the ether oxygen of PEG as crown ether. The memory of the gel state was kept for 3 days after gelling at room temperature. The period of keeping the memory of the gel state after gelling agreed with the strength of PEG-water interaction. Thermal analysis is effective as a research method for the gelation process of hydrogel which gels by heating and the state analysis of water.

Keywords: hydrogel, DSC, simultaneous thermal analysis, methylcellulose, PEG

1. はじめに

環境分析化学は分析化学の視点で環境を知るため及び解決するための方法論を扱う学問といえよう。対象は大气、水質、土壌さらに生活環境と広い。主に用いられる機器分析手法は分離分析(クロマトグラフィー), 分光分析, 電気分析, 質量分析であり, 熱分析が取り上げられている教科書はほとんどない。一方で, 熱分析は材料技術で多用される手法であり, 単独でも環境試料に対して有効な手法である。また他の分析手法と組み合わせて用いればさらに環境分野に有用な分析手法となる。特に水試料では凍結や融解挙動から成分分析のみでは得られない情報が得られると期待されるため, 状態分析として熱分析が有用な手法となる。ここでは環境及び生体調和型のヒドロゲルであるメチルセルロース (MC) ヒドロゲル中の水の分析の例を紹介する。

MC はセルロースの一部をメチル化したセルロース誘導体で, 置換度が 1.4 以上で水に溶解するようになるため, 置換度 1.6-2.0 が多く用いられる。¹⁾ 冷水に溶解後昇温すると白濁し, さらに昇温するとゲルを形成する。ゲル化は相分離した高分子鎖が高温で疎水性相互作用によって凝集して絡み合っておこるとされ,¹⁻¹⁰⁾ ゾル-ゲル転移に伴う熱の出入りは非常に小さい。¹¹⁻¹³⁾ MC ヒドロゲルのゲル化温度は塩や合成高分子の添加によって変化する。¹⁴⁻¹⁸⁾ NaCl は MC ヒドロゲルのゲル化温度を低下させるため, ド

ラッグデリバリシステムに用いられている。¹⁹⁻²⁰⁾ ポリエチレングリコール (PEG) は生体及び環境調和型のポリオールであり, 添加によってゲル化温度が低下し, 添加量によってゲル化温度がある程度制御可能である。

2. PEG を含む MC ヒドロゲルのゲル化による状態変化

MC-水の 2 成分系は温度上昇に伴う貯蔵弾性率 (G'), 損失弾性率 (G'') の変化挙動から, 低温域 ($G' < G''$), 中温域 ($G' \approx G''$), 高温域 ($G' > G''$) に分類され, 低温域ではゾル状態, 中温域では一時的な弱い架橋が形成されている状態, 高温域ではゲル状態である。また, ゲル化に伴い粘性が増加することが知られており, ゾル状態とゲル状態で粘弾性特性が異なる。メチルセルロースは分子量平均分子量の異なる各種の試薬が販売されている。本研究では平均分子量 50000 の MC50 から平均分子量 140000 の MC4000 までの各種 MC を使用して検討を行ったが, この範囲では分子量による差異はほとんどみられなかった。また PEG は全て平均分子量 7300~9300 の PEG6000 を用いて検討した。本研究ではゲル化前の試料と 358 K で 24 時間保持して一度ゲル化した後に 277 K で保持した試料を比較した。はじめに PEG6000 (0.07)-MC50(1.00×10^{-3})-水系を取り上げた。ここで括弧内の数字はユニットのモル分率を表している。ゲル化前の試料と一度ゲル化した後に 277 K で 48 時間保持し

た試料の粘性及び損失弾性率 (G'') の測定結果を **Fig.1**, **Fig.2** に示す。粘性は低周波数側で差異がみられ、一度ゲル化した試料の方が高い値であった。また損失弾性率 (G'') の温度分散を検討したところ、一度ゲル化した試料の方が損失弾性率 (G'') が高い傾向にあるが、試料のゲル化に伴う損失弾性率 (G'') の増加は一度ゲル化した試料、ゲル化前の試料ともに 335 K 付近でみられることから、ゲル化温度に差異はみられないことがわかった。**Fig.3** にゲル化前の試料、一度ゲル化した後に 277 K で 24~120 時間保持した試料の損失正接 ($\tan \delta$) を示した。 $\tan \delta$ は高周波数側で差異がみられ、一度ゲル化した試料の $\tan \delta$ はゲル化を行っていない試料と比較して増加した。277 K に保持してから約 72 時間後にゲル化前の状態に戻った。このことから、予めゲル化した試料を 277 K に保持してから 48 時間はゲルの粘弾性特性が反映した状態が保持されると考えられた。

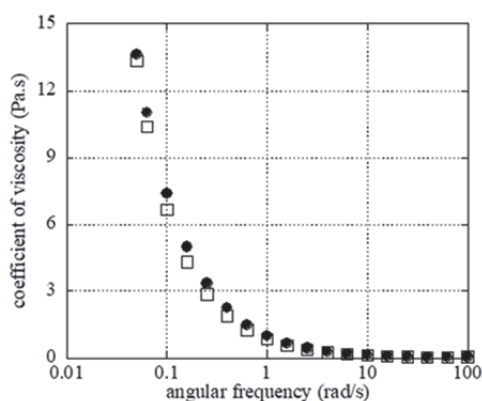


Fig.1 Viscosity of ungelated sample and held at 277 K for 48 hours after gelation sample.
PEG6000(0.07)-MC50(1.00×10^{-3})-water sample
□ : ungelated sample
● : held at 277 K for 48 h after gelation

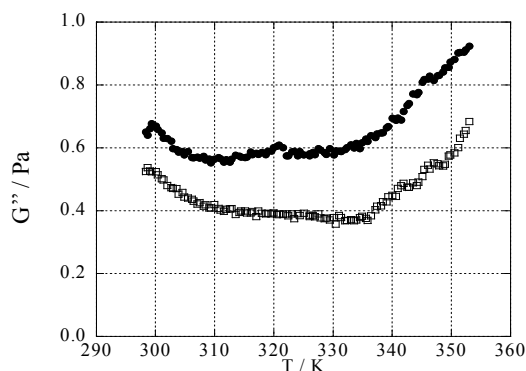


Fig.2 Elastic modulus of ungelated sample and held at 277 K for 48 hours after gelation sample.
PEG6000(0.07)-MC50(1.00×10^{-3})-water sample
□ : ungelated sample, ● : held at 277 K for 48 h after gelation

DSC 測定では主に PEG に由来する転移が観測され、210 K 付近にガラス転移 (T_g), 230 K 付近に冷結晶化に伴う発熱ピーク, 260 K 付近に PEG と水の共晶の融解に伴う吸熱ピーク, 270 K 付近に水の融解に伴う吸熱ピークが観測される。このうち、260 K 付近で観測される PEG と水の共晶の融解ピーク温度 (T_m) から PEG と水の相互作用の強さ、融解熱量から PEG に束縛される水分子の量の検討を行う。

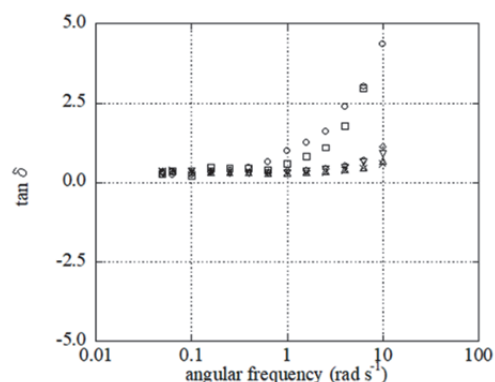


Fig.3 Influence of keeping period at 277 K on $\tan \delta$.
PEG6000(0.07)-MC50(1.00×10^{-3})-water sample.
▽ : ungelated sample
○ : held at 277 K for 24h after gelation
□ : held at 277 K for 48h after gelation
◇ : held at 277 K for 72h after gelation
× : held at 277 K for 96h after gelation
△ : held at 277 K for 120h after gelation

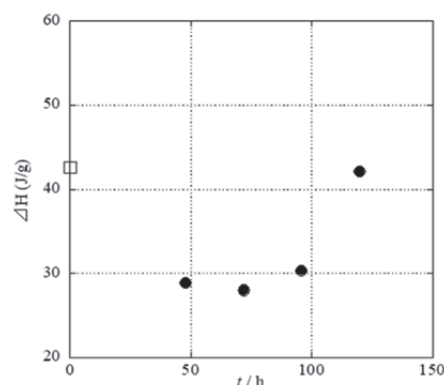


Fig.4 Influence of keeping period at 277 K on ΔH of PEG-water eutectic.
PEG6000(0.07)-MC50(1.00×10^{-3})-water sample
□ : ungelated sample, ● : held at 277 K after gelation

Fig.4 にポリエチレングリコールと水の共晶の融解熱量のプロットを示す。ゲル化を行っていない試料の共晶の融解熱量と比較して一度ゲル化した試料では融解熱量が減少し、ポリエチレングリコールと相互作用する水分子が減少したことがわかった。この状態は 277 K に保持してから 72 時間後まで一定であった。277 K に保持してから 96 時間後から共晶の融解熱量が増加しはじめ、277 K に保持してから約 120 時間後にゲル化前の状態に戻ることがわかった。この結果は水素結合によるものと考え、次に水素結合に関与する水分子のスペクトル測定により検討を行った。

近赤外領域では水素結合に関与していない分子種に対して水素結合に関与している分子種の振動数シフトが赤外領域と比較して 2 倍程大きい。したがって近赤外スペクトル (NIR) ではバンド成分が分離される可能性が高い。水素結合に関与している分子種の割合が水素結合に関与していない分子種の割合と比較してはるかに大きい場合、近赤外領域では水素結合に関与している分子種と水素結合に関与していない分子種に基づくバンドを分離できる。本研究では、水素結合に関与している水分子と、水素結合に関与していない水分子両方の検討を行うため、近赤外分光法を用いた。近赤外領域における水分子の分子振動には 3 種の基本振動がある。 ν_1 は二つの OH 結合が同時に伸長もしくは

縮小する振動モード（対称伸縮振動）， ν_2 は HOH の結合角が変化する振動モード（変角振動）， ν_3 は一方の OH が伸長するとき，他方が縮小する振動モード（逆対称伸縮振動）である。PEG（EOX モル分率 0.07）-MC（ユニットのモル分率 1.00×10^{-3} ）-水系では，① 960 nm 付近に水の基本振動の倍音，結合音（ $2\nu_1 + \nu_3$ ）の単量体の水，② 1150 nm 付近に水の基本振動の結合音（ $\nu_1 + \nu_2 + \nu_3$ ）のうち水素結合していない水，③ 1200 nm 付近に水の基本振動の結合音（ $\nu_1 + \nu_2 + \nu_3$ ）のうち一方の OH のみが水素結合した水に帰属されるピークが観測された。Fig.5 に 1200 nm 付近のピークの吸光度に対する 277 K での保持時間の影響を示す。ゲル化を行っていない試料と比較して一度ゲル化した試料の 1200 nm 付近のピークの吸光度が減少し，水素結合している水分子が減少したことがわかった。ゲル化した後 277 K に保持してから 72 時間後まではこの状態で一定であるが，約 96 時間後より 1200 nm 付近のピークの吸光度が増加し，277 K に保持してから約 120 時間後にはゲル化前の状態に戻ることがわかった。

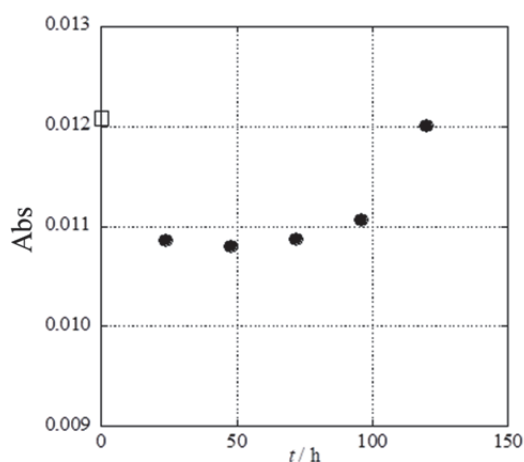


Fig.5 Influence of keeping period at 277 K on absorbance of peak near 1200 nm.
PEG6000(0.07)-MC50(1.00×10^{-3})-water sample
□ : ungelated sample, ● : held at 277 K after gelation

PEG-水の共晶の融解過程，水素結合に関与する水分子のスペクトル測定より，PEG-MC-水系では，一度ゲル化した試料を 277 K に保持してから 72 時間はゲル中の水の影響が維持されており，277 K に保持してから約 120 時間でゲル化前の状態に戻ることがわかった。²¹⁾

3. PEG 及び塩を含む MC ヒドロゲルのゲル化過程

MC ヒドロゲルのゲル化過程を詳細に検討するために DSC-Raman 同時測定を行った。Fig.6 にラマンスペクトルの温度変化を示した。PEG を含まない場合， $-\text{CH}_3$ ， $-\text{OCH}_3$ ， $-\text{C}-\text{CH}_3$ ， $-\text{COC}$ のピーク強度がゲル化に伴って減少するが，PEG を含む場合は一端増加し，その後減少している。PEG のみでは $-\text{COC}$ ， $-\text{CH}_2$ のピーク強度のこの温度域での変化は観測されない。PEG を含む場合ゲル化過程において PEG と MC との相互作用に 2 段階の変化が生じていると考えられた。Fig.7 に示すように 310–313 K でのピーク強度の増加は PEG と MC との相互作用によるもの，また 323 K 以上のピーク強度の減少は MC 同士の相互作用によるものと考えられた。この結果は粘度測定の結果とも一致した。

Fig.8 には NaCl を含む MC ヒドロゲル及び NaCl と PEG を含む MC ヒドロゲルのゲル化過程の ^{23}Na NMR の T_2 を示した。PEG を含まない場合は，ゲル化後は T_2 はほぼ一定の

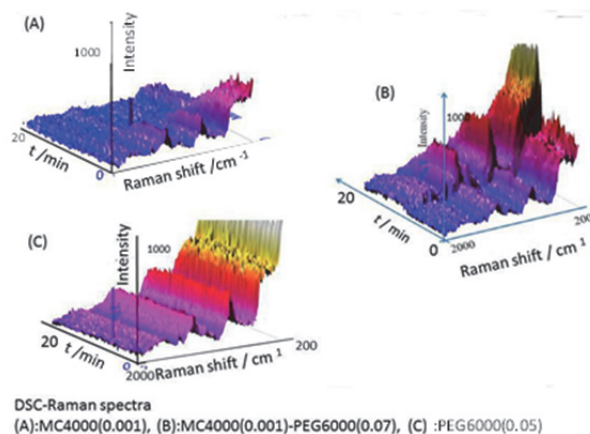


Fig.6 Raman spectra of MC4000 (molar fraction of MC: 0.001) (A), MC4000 (molar fraction of MC: 1×10^{-3})-PEG6000 (molar fraction of EOX: 0.07) (B), PEG6000 (molar fraction of EOX: 0.05) (C) obtained during heating by DSC-Raman spectroscopy.

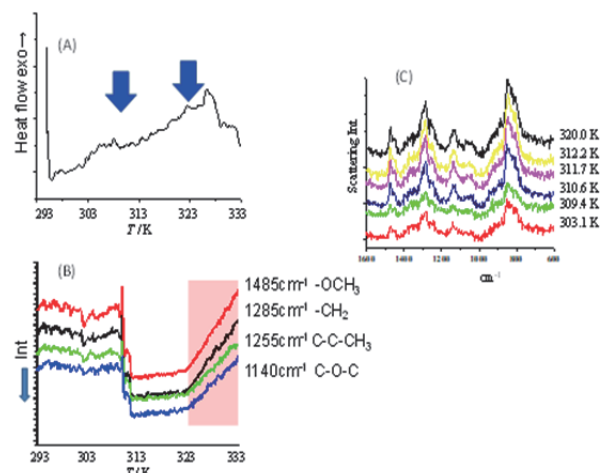


Fig.7 DSC-Raman spectroscopy of MC400 (0.001)-PEG 6000 (0.07). (A): DSC data, (B): Peak intensities of 1140, 1255, 1285, 1485 cm^{-1} , (C): Raman spectra.

値となりゲル中で束縛されている状態にあると考えられた。一方 PEG を含む場合は， T_2 は 20 msec 程度短く，またゲル化後も増加しており，Na が MC より PEG と相互作用している結果と考えられた。DSC-Raman 測定の結果と考え合わせると，Na イオンが PEG のエーテル酸素に取り囲まれた状態で存在し，疎水性基を外側にしらせん構造をとった状態の PEG が MC の $-\text{CH}_3$ と疎水性相互作用した状態の 1 段目のゲル化，さらに PEG が外れて MC 同士の疎水性相互作用による 2 段目のゲル化の 2 段階であると考えられた。そこで他のアルカリ金属イオンについても検討した。Fig.9 にはアルカリクロライドを含有する MC ヒドロゲルのゲル化過程の ^{17}O NMR の T_2 を示した。塩を含む場合はいずれも T_2 は長くなり，塩が PEG のエーテル酸素と相互作用することによって水和状態が変化したためと考えることができる。アルカリ金属イオンによる際も若干みられた。Fig.10 には PEG と水の共晶の融解に伴う吸熱ピークの融解熱量をアルカリ金属イオンの結晶イオン半径に対してプロットした。塩化物と臭化物の結果を合わせて示しているが，融解熱量は K イオンまで減少し，その後増加しており，PEG との相互作用の強さを反映していると考えられた。

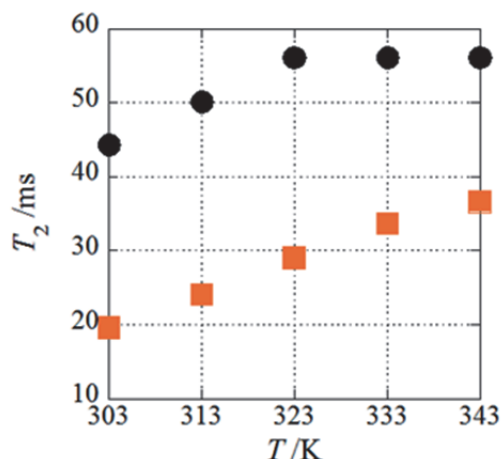


Fig.8 Temperature dependence of relaxation time (T_2) of ^{23}Na NMR of MC400(0.001)-[PEG6000(0.05)]-NaCl(0.0018). ● : without PEG, ■ : with PEG.

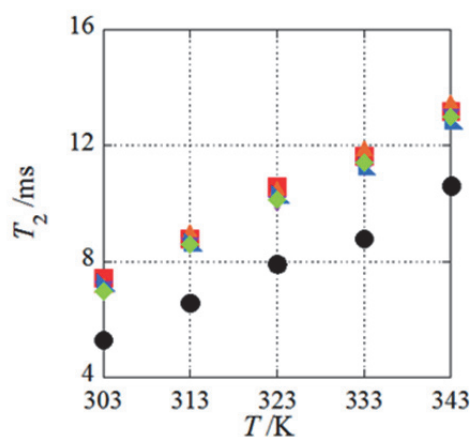


Fig.9 Temperature dependence of the relaxation time (T_2) of ^{17}O NMR of MC400(0.001)-PEG6000(0.05)-alkali chloride (0.0018). ● : without salt, ■ : LiCl, ▲ : NaCl, ▼ : KCl, ▴ : RbCl, ◆ : CsCl.

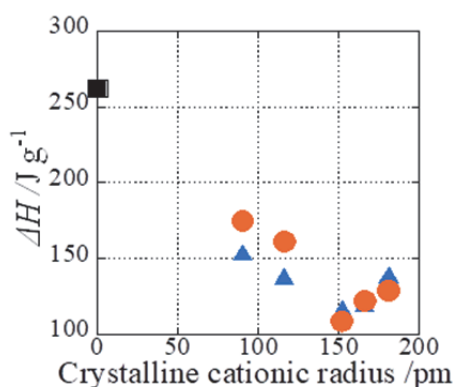


Fig.10 Melting enthalpy of eutectics of MC4000(0.001)-PEG6000(0.05)-salt(0.0018).

The vertical axis shows melting enthalpy per gram of PEG.

● : alkali chloride, ▲ : alkali bromide, ■ : without salt

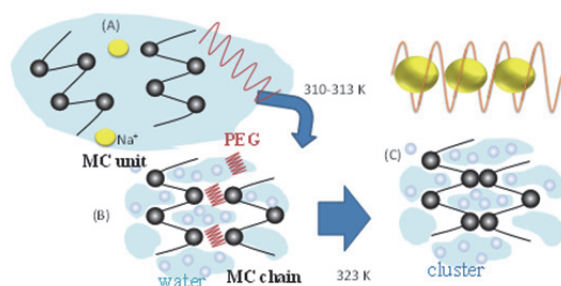


Fig.11 Schematic illustration of gelation of MC hydrogel containing PEG and NaCl. (A) sol state, (B) gel formed by the hydrophobic interaction of MC and PEG at 310-313 K, (C) gel formed by the hydrophobic interactions between the MC at 323 K.

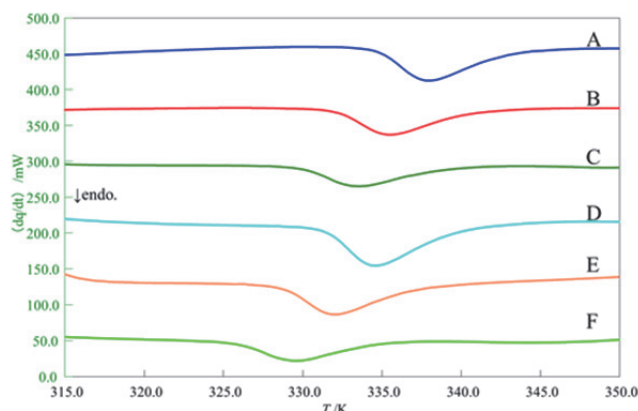


Fig.12 DSC curves of gelation of MC-PEG-sodium chloride. A: MC, B: MC-PEG(0.03), C: MC-PEG(0.05), D: MC-NaCl(0.0018), E: MC-PEG(0.03)-NaCl(0.0018), F: MC-PEG(0.05)-NaCl(0.018).

これらの結果はゲル化過程における ^{17}O NMR の T_2 , ^{23}Na の T_2 およびゲル化過程における ^{23}Na NMR の化学シフトの変化から考察した。PEG を含まない試料では、ゲル化によって水の拡散係数が変化するため、ゲル化後の T_2 は一定であったが、PEG を含む MC-NaCl 系では、 Na^+ と PEG との相互作用が生じ T_2 は温度と共に上昇した。ゲル中の Na^+ は、PEG のエーテル酸素によってクラウンエーテルのように取り囲まれた状態で存在し、約 20 の Na^+ が 1 分子の PEG に内包されると予想された。**Fig.11** にはゲル化過程の概略を示した。 Na^+ 以外にもアルカリ金属イオンはいずれもクラウンエーテルのように PEG 中に取り込まれた状態で存在し、イオン半径によって PEG との作用の程度は変化すると考えている。²²⁾

4. ゲル化の DSC 測定

MC ヒドロゲルのゾル-ゲル転移に伴う熱の出入りは非常に小さい。¹¹⁻¹³⁾ PEG を含む MC ヒドロゲルでは 2 段目のゲル化は MC ヒドロゲルのゲル化と同じメカニズムで生じると考えられたため、2 段目のゲル化過程に注目してゲル化温度及びゲル化過程を高感度 DSC と新たに開発された大容量試料容器を用いて検討した。

Fig.12 にそれぞれの DSC 曲線を示した。なお 1 段目のゲル化による熱の出入りは本方法でも観測されなかった。こ

れは1段目のゲル化が非常に弱い相互作用によるためと考えている。また **Table 1** には粘度測定によるゲル化開始温度と併せて示した。MC ヒドロゲルのゲル化に伴う吸熱ピークが明瞭に捉えられており、DSC センサーと試料容器との接触面積を十分にとり、容器底面の平滑さを向上させた効果が得られている。MC ヒドロゲルのゲル化の吸熱ピークは **Fig.12** のAに示すようにピークトップ温度が 338 K 付近に観測されるが、PEG を EOX ユニットのモル分率で 0.03 含む場合は 2.5 K, NaCl をモル分率で 0.0018 含む場合は 3.8 K 低い温度域に観測され、PEG と NaCl を両方含む場合は 5.8 K 低い温度域に観測されている。2 段目のゲル化においても塩と PEG の相乗効果が観測されることがわかった。そこで添加する塩の濃度について詳細に検討した。 **Fig.13** には NaCl のモル分率の異なる試料のゲル化の吸熱ピークを示した。NaCl のモル分率が大きくなるに従ってゲル化の吸熱ピークが低温側に移行するのがわかった。²³⁾

Table 1 Gelation onset temperature, gelation peak temperature and gelation peak enthalpy of MC-PEG-sodium chloride.

	Gelation onset temperature/K (by Viscometer)	Peak temperature/K (by DSC)	Peak enthalpy /J gMC ⁻¹ (by DSC)
MC	329	337.9	8.40
MC-PEG(0.03)	326	335.5	6.98
MC-PEG(0.05)	324	333.6	5.87
MC-NaCl(0.0018)	326	334.1	9.94
MC-PEG(0.03)-NaCl(0.0018)	322	332.1	8.09
MC-PEG(0.05)-NaCl(0.0018)	321	329.5	6.20

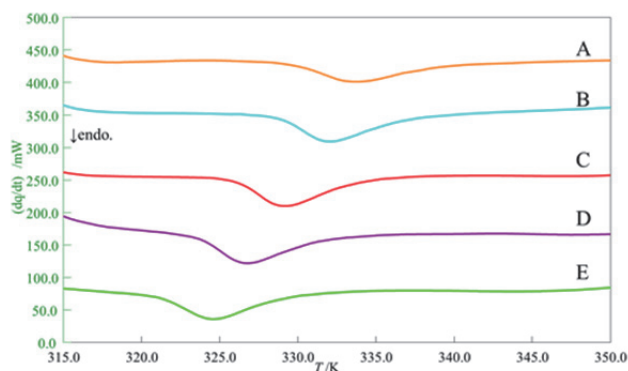


Fig.13 DSC curves of gelation of MC-PEG-NaCl. (molar fraction of NaCl, A: 0.0009, B: 0.0018, C: 0.0036, D: 0.0054, E: 0.0072).

5. おわりに

熱可逆性の加熱ゲルであるメチルセルロース (MC) ヒドロゲルは PEG や塩の添加によってゲル化温度を制御できる。PEG を含む場合ゲル化過程は MC のメトキシ基が PEG を介した疎水性相互作用により架橋点を形成し、ゲル状態となり、さらに昇温すると架橋点上の PEG がはずれて、MC 間の疎水性相互作用が生じる 2 段階であることが DSC-Raman 同時測定によってわかってきた。またゲル化による熱の出入りが非常に小さいため DSC により検討するために新たに開発された高感度大容量試料容器の適用を検討した。2 段目のゲル化では明瞭な吸熱ピークが観測され、

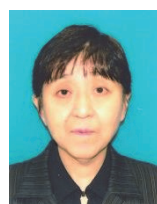
PEG やアルカリクロライドの添加によってゲル化の吸熱ピーク温度が MC ヒドロゲルより低下し、添加量に伴ってさらに低下することがわかった。

ゲル化後低温にし、ゾル状態に戻した後も 72 時間程度はゲル中の水の状態を反映した状態を維持し、その後徐々に元の状態に戻ると考えられた。

これらの結果は状態分析の手法としての熱分析の有効性が示された結果と考える。

文 献

- 1) L. S. C. Wan and K. P. P. Prasad, *Drug Development and Industrial Pharmacy* **16**, 945 (1990).
- 2) K. Mitchell, J. L. Ford, D. J. Armstrong, P. N. C. Elliott, J. E. Hogan, and C. Rostron, *International Journal of Pharmaceutics* **100**, 143 (1993).
- 3) A. Haque and E. R. Morris, *Carbohydrate Polymers* **22**, 161 (1993).
- 4) K. Nishinari, K. E. Hofmann, H. Moritaka, K. Kohyama, and N. Nishinari, *Macromol. Chem. Phys.* **198**, 1217 (1997).
- 5) J. Desbrieres, M. Hirrien, and M. Rinaudo, *Carbohydrate Polymers* **1998**, 37, 145.
- 6) M. Hirrien, C. Chevillard, J. Desbrieres, M. A.V. Axelos, and M. Rinaudo, *Polymer* **39**, 6251 (1998).
- 7) J. L. Ford, *International Journal of Pharmaceutics* **179**, 209 (1999).
- 8) J. Desbrieres, M. Hirrien, and S. B. Ross-Murphy, *Polymers* **41**, 2451 (2000).
- 9) L. Li, P. M. Thangamathesvaran, C. Y. Yue, K. C. Tam, X. Hu, and Y. C. Lam, *Langmuir* **17**, 8062 (2001).
- 10) L. Li, *Macromolecules* **35**, 5990 (2002).
- 11) J. Desbrieres, M. Hirrien, M. Rinaudo, *Carbohydrate Polymers* **37**, 145-152 (1998).
- 12) 吉田博久, “ゲルハンドブック”: 長田義仁, 梶原莞爾監修, p189 (1997) (エヌ・ティー・エス).
- 13) K. Nishinari, K. E. Hofmann, H. Moritaka, K. Kohyama, and N. Nishinari, *Macromol. Chem. Phys.* **198**, 1217 (1997).
- 14) N. Sarker, *J. Appl. Pol. Sci.* **24**, 1073 (1979).
- 15) N. Iso and D. Yamamoto, *Agric. Biol. Chem.* **34**, 1867 (1970).
- 16) P. P. Kundu and M. Kundu, *Polymer* **42**, 2015(2001).
- 17) Y. Xu, C. Wang, K. C. Tam, and L. Li, *Langmuir* **20**, 646 (2004).
- 18) M. Takeuchi, S. Kageyama, H. Suzuki, T. Wada, Y. Toyoda, T. Oguma, Y. Ezawa, Y. Tsuruya, T. Kato, and F. Ishii, *Mater. Technol.* **17**, 445 (1999).
- 19) M. K. Bain, M. Bhowmik, D. Maity, N. K. Bera, S. Ghosh, and D. Chattopadhyay, *J. Appl. Pol. Sci.* **118**, 631 (2010).
- 20) M. Bhowmik, M. K. Bain, L. K. Ghosh, and D. Chattopadhyay, *Pharmaceutical Development and Technology* **16**, 385 (2011).
- 21) 西本右子, 飯高佑一, 柴田健一, 相川徹, *分析化学* **60**, 223 (2011).
- 22) Y. Nishimoto, H. Eguchi, E. Shimoda, and T. Suzuki, *Anal. Sci.* **31**, 929 (2015).
- 23) 持田茂樹, 遠藤渉, 下田瑛太, 西本右子, *分析化学* **67**, 159 (2018).



西本 右子
Yuko Nishimoto
E-mail: y24moto@kanagawa-u.ac.jp