

天然物由来高分子素材を用いた エレクトロスピンニングによるナノ繊維の作製

金野 克美, 吉川 毅, 大市 貴志, 三田村智行, 可児 浩, 吉田 昌充

Preparation of Natural Polymer Nanofibers by Erectrospinning

Katsumi KONNO, Takeshi KIKKAWA, Takashi OHICHI
Tomoyuki MITAMURA, Hiroshi KANI, Masamitsu YOSHIDA

抄 録

近年, エレクトロスピンニング法による天然物由来高分子素材を用いたナノ繊維は医療・バイオ分野への応用展開が進められている。本研究において, エレクトロスピンニングによりバイオマス由来ポリマーであるポリ乳酸, 生体高分子素材であるゼラチン, 天然多糖類であるアルギン酸ナトリウムなどのナノ繊維を作製し, 各素材のエレクトロスピンニングによるナノ繊維作製のための最適条件の検討を行った。

キーワード: エレクトロスピンニング, ナノ繊維, ポリ乳酸, ゼラチン, アルギン酸ナトリウム

Abstract

In recent years, the nanofiber using the natural polymer by the electrospinning method is making rapid progress in medical or biomaterials field. In this research, nanofibers from such as polylactic acid which is biomass origin polymer, gelatin which is a living organisms material, and sodium alginate which is a natural polysaccharide, were produced by electrospinning, and the optimal condition was examined for nanofiber production by electrospinning of each material.

KEY-WORDS : electrospinning, nanofiber, poly lactic acid, zelatin, sodium alginate

1. はじめに

エレクトロスピンニング (ES) 法とはシリンジに入った高分子溶液とコレクタ電極間に高電圧を印加することで, シリンジから押出された溶液が強電界によりジェットとなって噴出し, 静電反発と溶剤の蒸発により微細繊維となり, コレクターに付着する微細繊維製造方法 (図1) である。この方法によりサブミクロンからナノの直径を持つ繊維を製造することができる。1930年代に報告¹⁾された技術ではあるが, 最近になってナノテクノロジーの台頭とともに注目を浴びてきている紡糸技術である。

事業名: 重点領域特別研究

課題名: エレクトロスプレー法によるナノマテリアル製造技術に関する研究

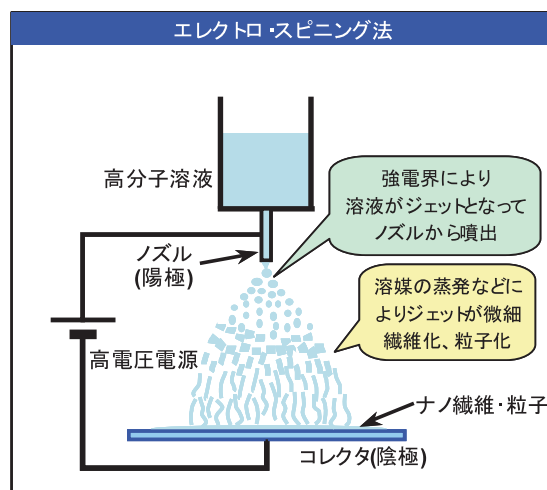


図1 エレクトロスピンニング概要図

ES により作製されたナノ繊維は各種用途に展開が可能であるが、現状では医療・バイオ材料としての応用展開が多く検討されている。筆者らは天然多糖類であるキチンから作成されたキトサンを用いて神経再生用マトリックス・ナノ繊維を作成した。^{2), 3)}

医療材料として用いられる素材としては生体に悪影響のあるものは用いることができないため、天然多糖類、生体高分子素材であるタンパク質、コラーゲン、さらには植物由来のプラスチックであるポリ乳酸などのエレクトロスピンニングによるナノ繊維の作製が報告されている。^{4), 5), 6)}

本研究開発では、医療・バイオ材料として応用が可能である天然物由来高分子素材を用いてエレクトロスピンニングを行い、ナノ繊維作成の可能性、エレクトロスピンニング可能な溶媒、良好な繊維を形成するためのエレクトロスピンニング条件などについて検討した。

2. 試験方法

2.1 試料

2.1.1 ポリ乳酸

ユニチカ^(株)製のフィルムグレード (TP4030) を用いた。

2.1.2 ゼラチン

牛の皮膚由来 TypeB のゼラチン (シグマ社) を用いた。

2.1.3 アルギン酸ナトリウム (Na-Alg)

共成製薬^(株)のアルギン酸ナトリウムを用いた。分子量は 319,000、5%水溶液の粘度は 500mPa・s である。

2.1.4 ポリエチレンオキシド (PEO)

Johnson Matthey 社の PEO を用いた。分子量は 300,000 である。

2.2 溶媒

溶媒はジクロロメタン (塩化メチレン; DCM), トリクロロメタン (クロロホルム; TCM), 1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール (ヘキサ・フルオロ・イソプロパノール; HFIP) および蒸留水を用いて各試料の溶媒とした。

2.3 エレクトロスピンニング装置

^(株)フェューエンス製の Esplayer 2000 を用いて実施した。なお、使用したノズルは全て内径φ0.5mm のものを用いた。

3. 試験結果

バイオマスを原料として製造されるポリ乳酸、生体高分子であるコラーゲンより抽出したゼラチン、天然多糖類であるアルギン酸ナトリウムについてエレクトロスピンニングにより繊維化を行い、各試料濃度およびエレクトロスピンニング条件 (電圧) と繊維形状 (繊維径) の関係を検討した結果を各試料毎に記載する。

3.1 ポリ乳酸

ポリ乳酸は植物等から乳酸発酵により生成された乳酸を合成することで製造するプラスチックである。生分解性があることが知られており医療用の縫合糸などへ利用されていた。しかし、最近では石油を原料としないプラスチックとして脚光を浴びている。

本研究では従来の生分解性、生体適合性に注目し、ナノ繊維化を試みた。溶媒として DCM を用いて PLA 濃度を 8 w/v % として ES 電圧を 7, 10, 15, 25kV と変化させたときの繊維形状を観察した (図 2)。またその時の電圧と繊維径の関係を図 4 に示す。7~15kV 間では電圧が高くなるに従ってやや繊維径が細くなっていく様子が見られたが 25kV にすると急激に繊維径が細くなっているのが観測された。

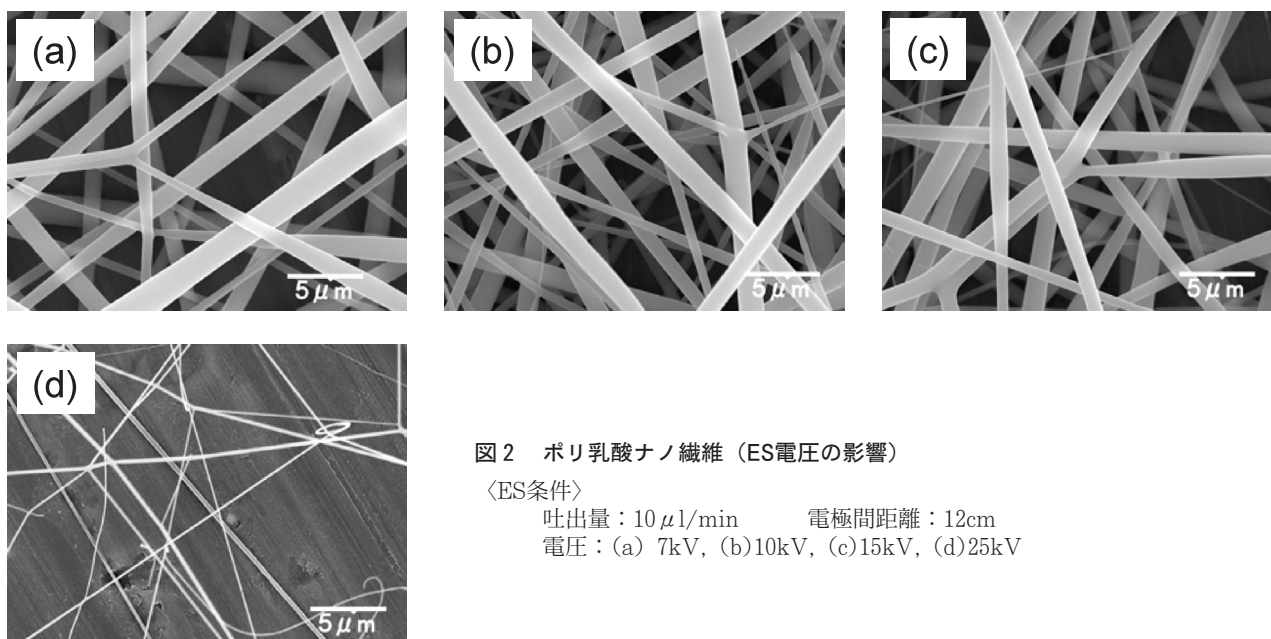


図 2 ポリ乳酸ナノ繊維 (ES電圧の影響)

〈ES条件〉

吐出量: 10 μl/min 電極間距離: 12cm
電圧: (a) 7kV, (b) 10kV, (c) 15kV, (d) 25kV

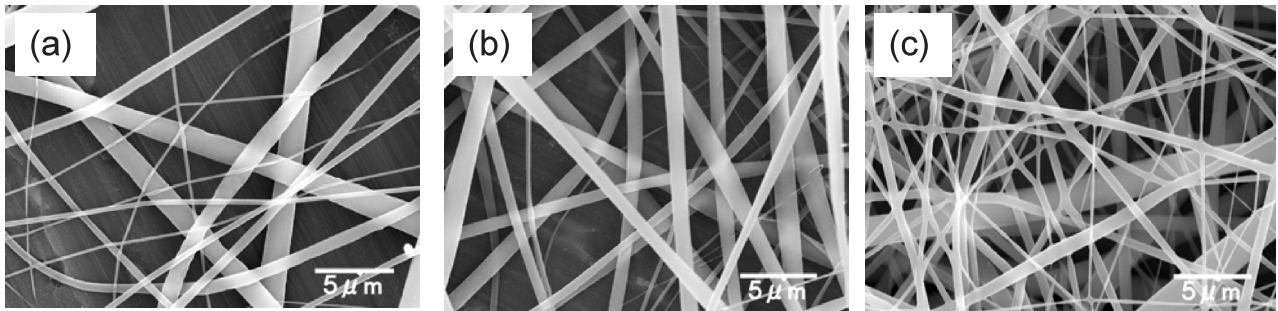


図3 ポリ乳酸ナノ繊維（助溶媒を用いたときのES電圧の影響）

〈ES条件〉 吐出量：10 μl/min 電極間距離：12cm 電圧：(a) 7kV, (b) 10kV, (c) 15kV
 溶液濃度：8w/v% 溶媒混合比：DCM：TCM = 8：2

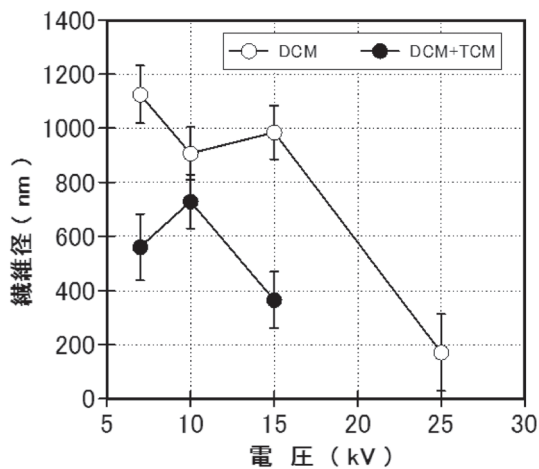


図4 ES電圧と繊維径

エレクトロスピニングによる繊維化の場合、繊維形状を制御するために助溶媒を添加⁷⁾することがあり、今試験でも助溶媒としてDCMよりやや沸点の高いTCMを添加して繊維化を試みた。図3にDCMにTCMを添加(DCM：TCM=

8：2)した時のES電圧の影響を示す。また、図4にその時の電圧と繊維径の関係を示す。DCM単独の時と同じように電圧が高くなると繊維径は細くなるのが分かった。また、図4より混合した系の方が繊維径は細くなるのが分かる。電圧の影響は単独溶媒より顕著に表れ、高くなると繊維がより細くなり、また、途中で分岐する様子が観測された。おそらく沸点が高い溶媒を添加することで、ジェットが静電反発により繊維化される際、溶媒の蒸発する時間が長くなり、より引き延ばされた結果と思われる。

PLA濃度を8, 10, 11.6, 14.8w/v%と変化させ、ES電圧を25kVとした時の繊維形状を図5に示す。図より濃度が低いときは繊維よりはビーズ状の固まりが多く、繊維も非常に細いのが分かる。また、濃度を高くするに従って繊維になる量も増え、細い繊維が少なくなってくるのが分かる。なお、図2に示した濃度8w/v%で電圧25kVのSEM画像はビーズが無いがこれは繊維の部分のみを取り出した画像であり、他の視野においてビーズの存在を確認している。

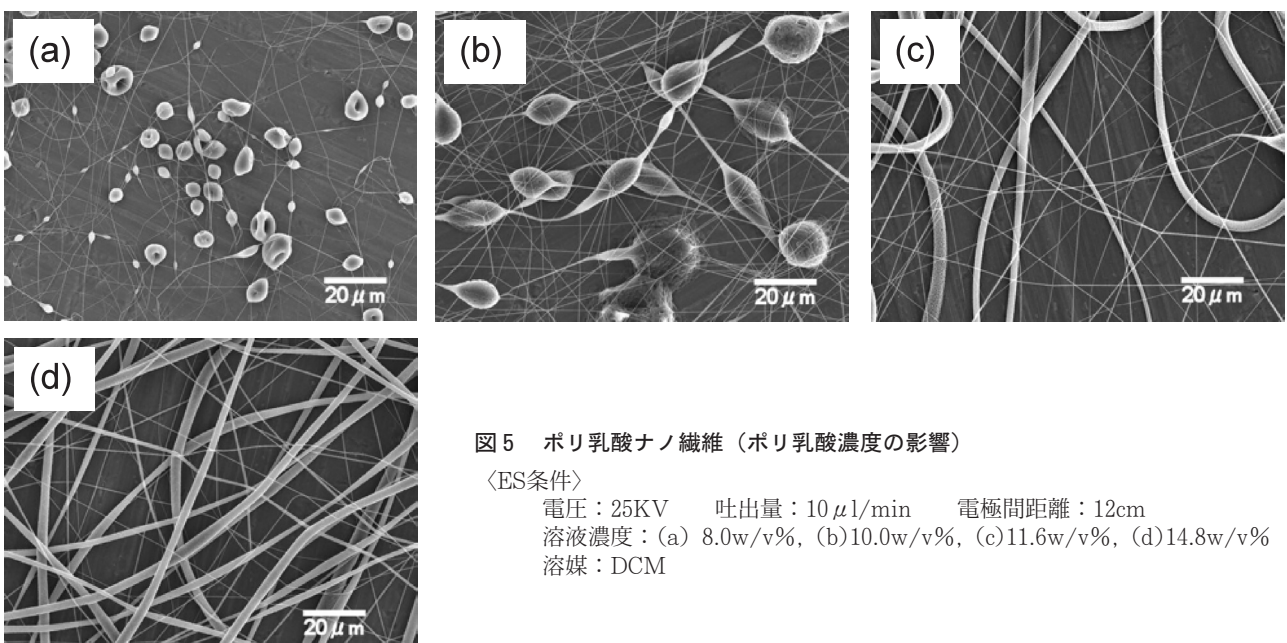


図5 ポリ乳酸ナノ繊維（ポリ乳酸濃度の影響）

〈ES条件〉 電圧：25KV 吐出量：10 μl/min 電極間距離：12cm
 溶液濃度：(a) 8.0w/v%, (b) 10.0w/v%, (c) 11.6w/v%, (d) 14.8w/v%
 溶媒：DCM

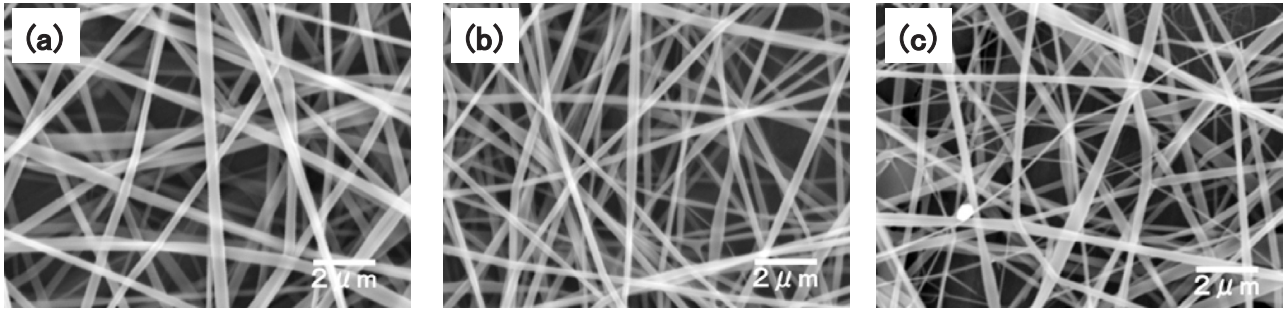


図6 ゼラチンナノ繊維 (ES電圧の影響)

〈ES条件〉

吐出量：8.3 μl/min 電極間距離：12cm 電圧：(a) 10kV, (b) 15kV, (c) 20kV
 ゼラチン濃度：5w/v% 溶媒：HFIP

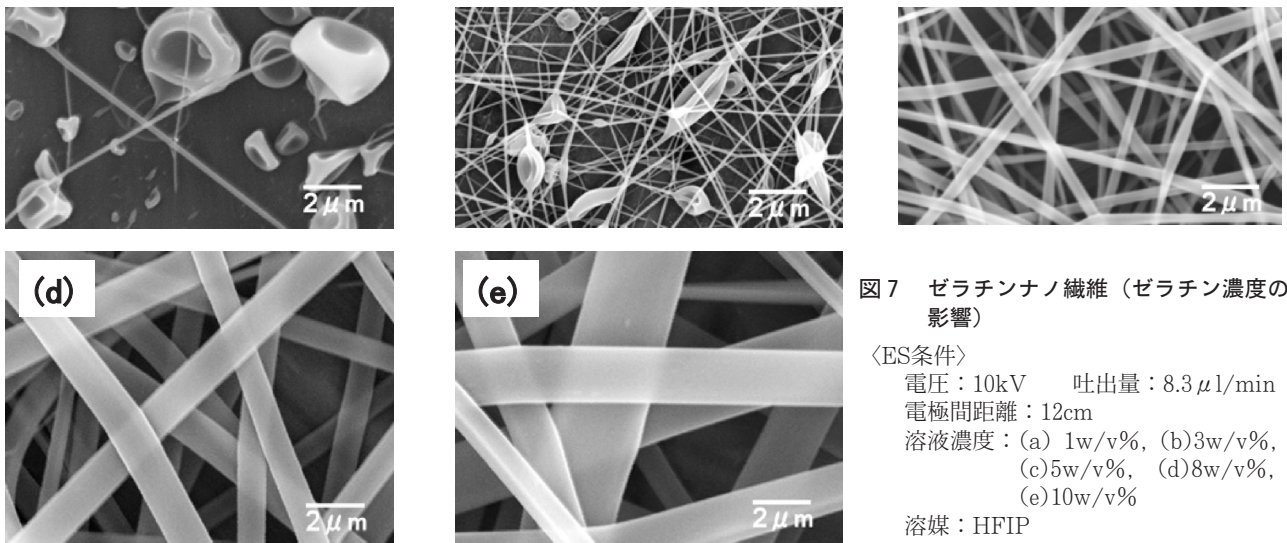


図7 ゼラチンナノ繊維 (ゼラチン濃度の影響)

〈ES条件〉

電圧：10kV 吐出量：8.3 μl/min
 電極間距離：12cm
 溶液濃度：(a) 1w/v%, (b) 3w/v%, (c) 5w/v%, (d) 8w/v%, (e) 10w/v%
 溶媒：HFIP

3.2 ゼラチン

ゼラチンは動物の皮膚や骨、腱などの成分であるコラーゲンに熱を加え、抽出した物質である。主として食品や医薬品などに使われている。

ゼラチンは温水に溶けるが、ここでは溶媒としてHFIPを用いた。ゼラチン濃度を5 w/v%にし、ES電圧を10, 15, 20kVと変化させたときの繊維形状を図6に示す。電圧が高くなると全体的に細かい繊維の量が増えてきていることが分かる。ゼラチン濃度を1, 3, 5, 8, 10w/v%と変化させ、ES電圧を10kVとした時の繊維形状を図7に示す。1 w/v%と濃度が低いときは繊維よりはビーズ状の粒子が多く作製され濃度が高くなるに従ってビーズが少なくなり、繊維が作製できている。また、繊維径も濃度の上昇とともに太くなっている。図8にゼラチン濃度と繊維径の関係を示す。この図より濃度を変化させることで数十nmから1 μm以上の繊維径が得られることが分かり、繊維径制御が可能であることが判明した。また、濃度を低くすることにより粒子の作製も可能であることから新たな応用展開が期待できる。

3.3 アルギン酸ナトリウム

アルギン酸ナトリウムは海藻などに含まれる天然多糖類で

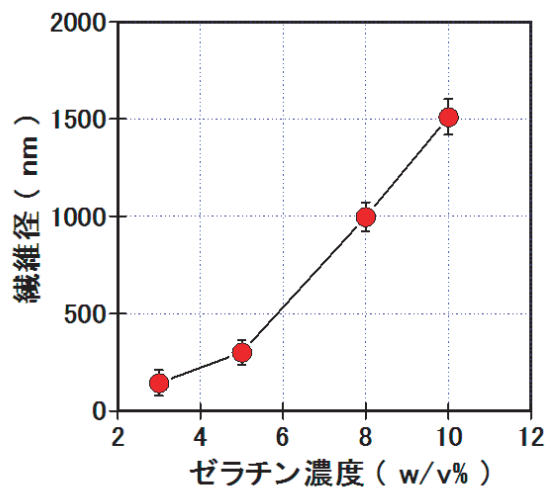


図8 ゼラチン濃度と繊維径

あり、食品添加物や医療品として使用されている。

溶媒を蒸留水として8 w/v%の水溶液を作製し15~30kVでエレクトロスピンングを行ったが、繊維にはならず粒子だけが作製される (図9左)。このようにエレクトロスピンングにおいて繊維が作製できない時、ポリビニルアルコール

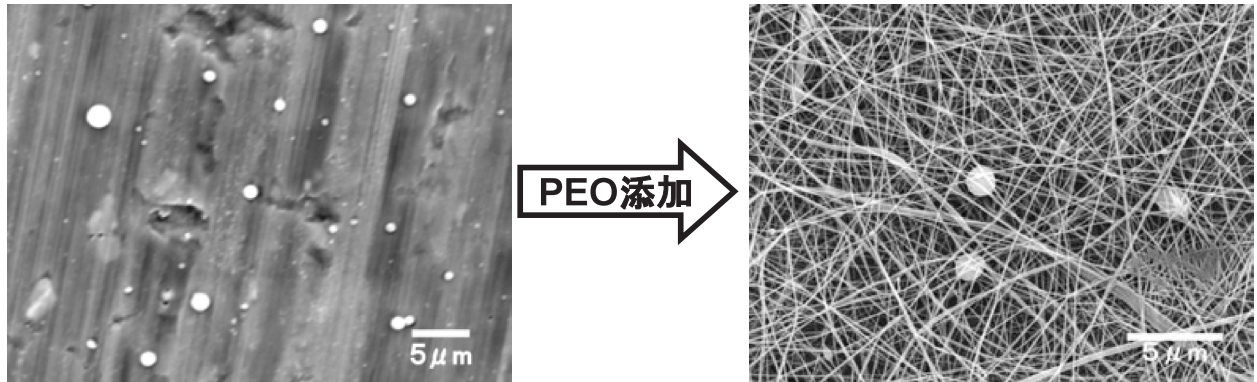


図9 PEO添加によるアルギン酸ナトリウム
 〈ES条件〉
 電圧：30kV 吐出量：8.3 μl/min 電極間距離：12cm
 溶液濃度：8w/v% Na-Alg：PEO = 5：3

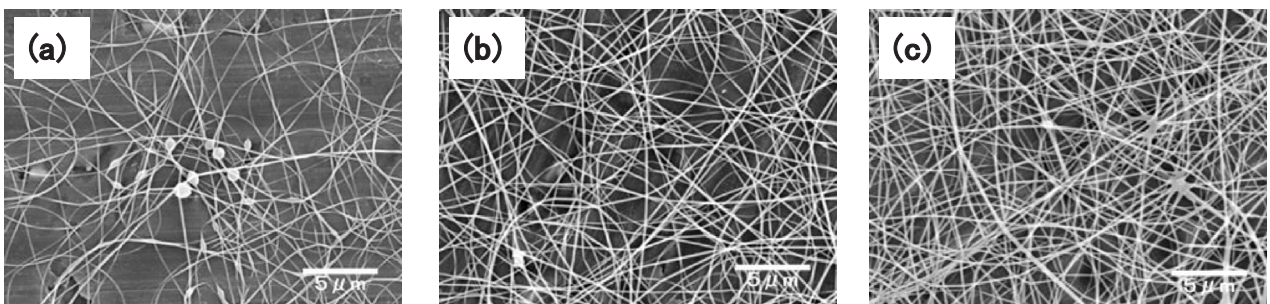


図10 アルギン酸ナトリウムナノ繊維 (ES電圧の影響)
 〈ES条件〉
 吐出量：8.3 μl/min 電極間距離：12cm
 ES電圧：(a) 10kV, (b) 15kV, (c) 20kV
 溶液濃度：8w/v% (Na-Alg：PEO = 3：5) 溶媒：蒸留水

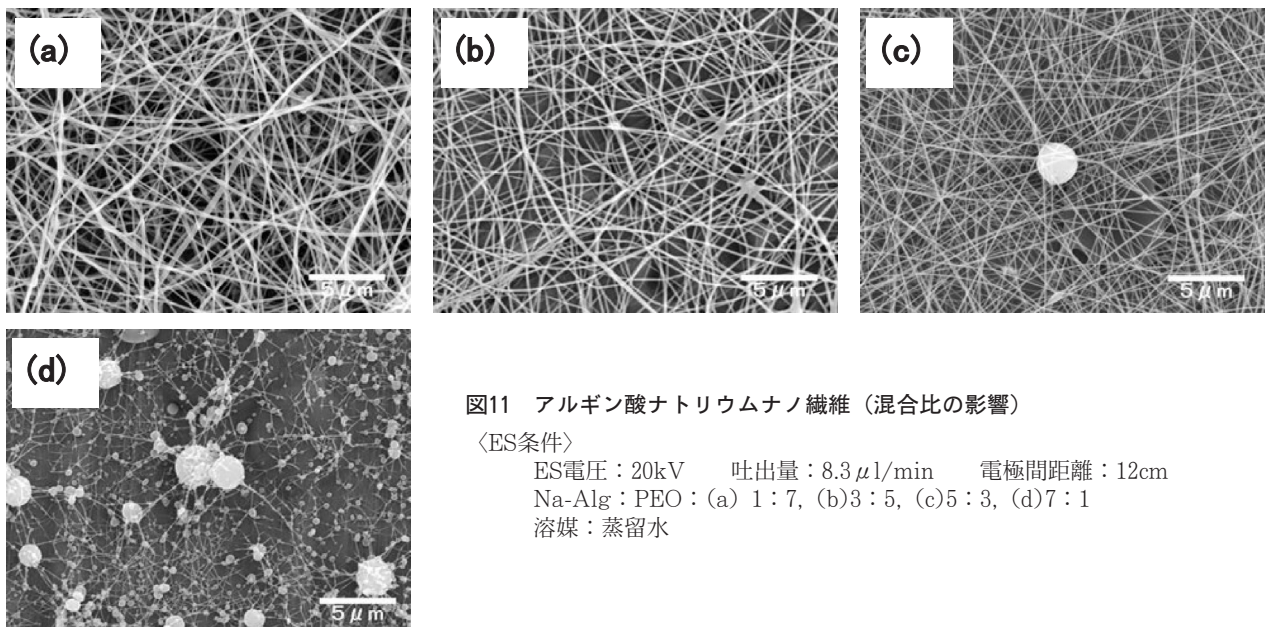


図11 アルギン酸ナトリウムナノ繊維 (混合比の影響)
 〈ES条件〉
 ES電圧：20kV 吐出量：8.3 μl/min 電極間距離：12cm
 Na-Alg：PEO：(a) 1：7, (b) 3：5, (c) 5：3, (d) 7：1
 溶媒：蒸留水

(PVA) やポリエチレンオキシド (PEO) のように単独で繊維を作製できる素材を添加することにより繊維化が可能⁸⁾になる場合があり、本試験においても PEO を繊維化助剤として用いてエレクトロスピンングを試みた。図9に PEO を添加した繊維を示す。図10に濃度 8 w/v% で Na-Alg：PEO =

3：5とした時の ES 電圧と繊維状況を示す。電圧が高くなっても繊維径にほとんど変化はないが、繊維の量が増加してることが分かる。図11に Na-Alg と PEO の混合比を変化した時の繊維状態を示す。また、図12に Na-Alg の混合比と繊維径の関係を示す。やはり Na-Alg の割合が多くなると

繊維が作製されず、粒子が多く作製されていることが分かる。また、Na-Alg の増加とともに繊維径は細くなっていることが分かる。

Na-Alg は水溶性のため、この状態の繊維では医療用などとしての使用に制限がある。Na-Alg はカルシウムイオンを添加することでゲル化し、水に不溶になることが知られている。エレクトロスピンニングにより作製された Na-Alg, PEO 混合繊維を約 1% 水酸化カルシウム水溶液に浸漬した結果、繊維同士が付着してはいるがゲル化した繊維が生成されていることが確認された (図12)。このことにより水に不溶なアルギン酸の繊維が作製可能であり、応用展開が広がると思われる。

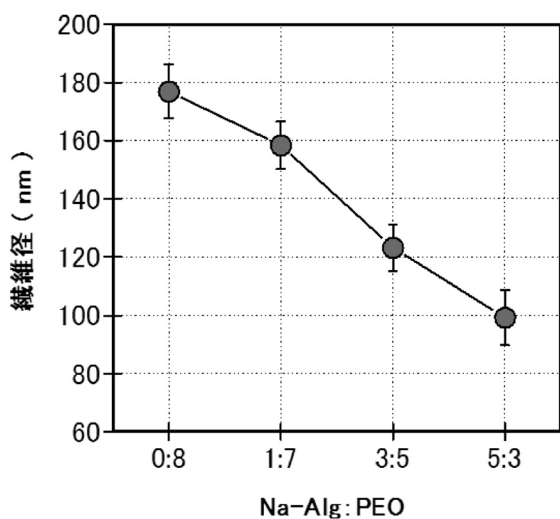


図12 アルギン酸ナトリウム/PEO比と繊維径

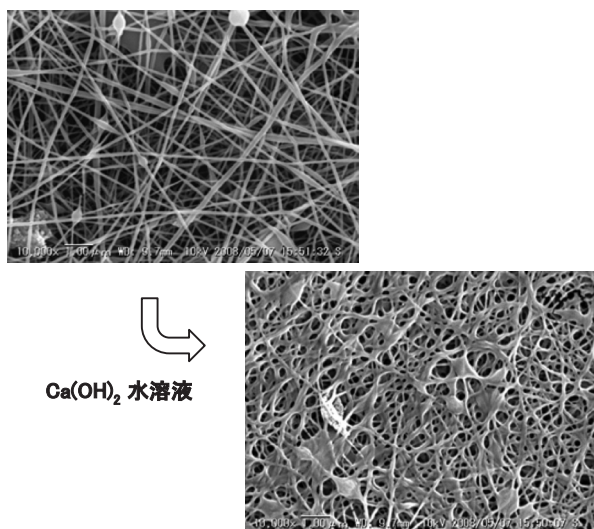


図13 アルカリ液浸漬によるゲル化

4. まとめ

バイオポリマー、生体高分子、天然多糖類など医療・バイオ素材として応用可能なナノ繊維をエレクトロスピンニングにより作製する試験を行った結果、次のことが分かった。

- (1) 天然物由来の高分子素材を用いたナノ繊維の作製は可能である。
- (2) 電圧を高くすると繊維径は細くなる。また、繊維径の分布範囲も広がる。
- (3) 溶液濃度が濃くなると繊維径は太くなる。逆に、薄くなるとビーズが発生し、それ以上に薄くなると粒子ができてくる。
- (4) ポリ乳酸ではジクロロメタンにクロロホルムを添加することで繊維径は細くなる。
- (5) アルギン酸ナトリウム単独では繊維が出来ないが、PEO を添加することで繊維化が可能となる。また、電圧を高くすると繊維の量が増える。水酸化カルシウム等のカルシウムイオンを含む溶液に浸漬することでゲル化し、水に不溶な繊維ができる。

以上の結果をふまえ、医療・バイオ分野への応用展開を図るために、更に、各種天然物由来高分子素材のエレクトロスピンニングによるナノ繊維化を検討する予定である。

謝辞

本研究に際してゼラチンの溶媒選定において助言をいただいた北海道大学大学院先端生命科学研究所の出村教授、相沢准教授およびアルギン酸ナトリウムを提供していただいた共成製薬(株)取締役・研究開発部の原部長にはこの紙上を借りてお礼申し上げます。

引用文献

- 1) Formhals, A, "Process and Apparatus for Preparing Artificial Threads", U.S. Patent 1, 975, 504, 1934
- 2) 吉川 毅, 三田村智行, 澤山一博, 金野克美, 大市貴志, 長尾信一ほか: エレクトロスピンニングによるキトサン・ナノ繊維の製造, 北海道立工業試験場報告, No.306, p9, (2007)
- 3) 金野克美・吉川 毅・三田村智行・大市貴志ほか: エレクトロスピンニングによるキトサン・ナノ繊維の配向性, 北海道立工業試験場報告, No.306, p159, (2007)
- 4) 北園, 兼子ほか: ナノファイバーを利用した再生医療, 有機合成化学協会誌, Vol.62, No.5, (2004)
- 5) N. Bhattarai, M. Zhang: Controlled synthesis and structural stability of alginate-based nanofibers, Nanotechnology, 18 (2007)
- 6) C. S. Ki, D. H. Beak et al.: Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution, Polymer, 46 (2005), 5094-5102
- 7) K. Ohkawa, D. Cha, et al.: Electrospinning of Chitosan, Molecules, 19 (2014), 1600-1605
- 8) M. Spasova, N. Manolova, et al.: Preparation of chitosan-containing nanofibres by electrospinning of chitosan/poly(ethylene oxide) blend solutions, e-Polymers, 2004, No.056