

[研究論文] 抗菌性 PVA ハイドロゲル膜の構造とその特性
—材料分析室利用研究成果、その XXVI(2)—

大町理未¹・和田理征²・清水秀信²・岡部 勝²

1 博士前期課程応用化学・バイオサイエンス専攻

2 応用バイオ科学科

Structure and characteristics of antibacterial PVA hydrogel films
—Research works accomplished by using materials analysis facilities: XXVI (2)—

Satomi OMACHI¹, Risei WADA², Hidenobu SHIMIZU², and Masaru OKABE²

Abstract

Poly(vinyl alcohol) is known to have high moisture content and nontoxicity. In this study, chemically cross-linked poly(vinyl alcohol) hydrogel films were prepared by adding glutaraldehyde as the cross-linker. Cross-linked gels were chemically stable and resistant to heat. Antibacterial hydrogels were obtained by blending chitosan solutions with different concentrations. The value of Young's modulus of PVA hydrogel film increased with increasing chitosan content. According to the shake method (SIAA), these hydrogels exhibit antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. These hydrogel films will be useful to the food packing material.

Keywords: Poly(vinyl alcohol), Chitosan, Glutaraldehyde, Chemically Cross-linked Gel, Antibacterial Activity

1. 緒言

合成繊維や乳化剤などに幅広く用いられているポリビニルアルコール(PVA)は、水溶液中で熱可逆性の物理ゲルを形成することが知られている。PVA 水溶液に架橋剤を添加すると、熱不可逆性の化学ゲルを形成する。このハイドロゲルは、化学架橋による三次元網目構造を有し、含水性、柔軟性に富むことから、ソフトマテリアルとして医療資材への応用が期待されている。一方で、エビやカニの殻から得られるキトサンは、年間 1000 トン以上生産される天然の抗菌剤¹⁾である。かつては、廃棄物として処理されていたが、近年、化粧品や食品添加物などに幅広く使用されている。

本研究では、PVA ゲルにキトサンをブレンドし、安全で、かつ含水性及び強度に優れた抗菌性ハイドロゲル膜の開発を目的とし、ゲル膜の抗菌活性値を求め、ゲル表面のモルホロジーを走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。

2. 実験

本実験に用いた試料は、(株)クラレ製の PVA-117(重合度 1700、けん化度 $98.5 \pm 0.5\%$)、SIGMA-ALDRICH Co. 製のキトサン粉末(低分子量、脱アセチル化度 75~85%)である。架橋剤に 25%グルタルアルデヒド(GA)、脱水触媒に硫酸を用いた。ゲル膜は、PVA 粉末とキトサン粉末を十分混合し、ポリマー濃度 5wt%となるように蒸留水と酢酸(重量比でキトサン:酢酸=5:4)で溶解した。冷却後、GA と硫酸を添加し、キャスト法によりゲル膜を作製した。乾燥後、4%水酸化ナトリウム水溶液に浸漬し中和した。さらに、蒸留水に 24 時間浸漬し、不純物を除去したものを試料とした。得られたものは、PVA の主鎖が GA により化学架橋した、いわゆる化学架橋型 PVA ゲル膜である。

抗菌製品技術協議会による、シェーク法²⁾により抗菌試験を行った。1/500NB 培地に *Staphylococcus aureus*(NBRC 12732)が $1.0 \times 10^4 \sim 5.0 \times 10^4$ cfu/mL となるように調整した菌液 10mL、及び作製した試料 50mm 角をとともに滅菌

容器に入れ、24 時間振とう培養(35°C、150rpm)した後、10 倍希釈法により菌の増殖を調べた。抗菌活性値 R^3 は、式(1)より求めた。

$$R = [\log(B/A) - \log(C/A)] = \log(B/C) \quad (1)$$

ここで、

R : 抗菌活性値 ;

A : 無加工試験片の接種直後の生菌数の平均値 (CFU);

B : 無加工試験片の 24h 後の生菌数の平均値(CFU);

C : 抗菌加工試験片の 24h 後の生菌数の平均値(CFU)。

また、ゲル膜の表面を SEM で観察した。

3. 結果及び考察

PVA100%で作製したゲル膜は、透明であった。これに対し、キトサン 5%を含むゲル膜では白濁し、10%以上含むと淡黄色を呈した。これは、キトサンのアミノカチオンと硫酸の硫酸アニオンが静電的相互作用を生じ、キトサンが架橋したためであると考えられる。また、キトサンは溶液中で淡黄色を呈するため、キトサンのブレンド量が增大するほど黄色を呈すると考えられる。

シェーク法による抗菌試験の結果を Table 1 に示した。PVA のみのゲル膜は、菌が増殖したのに対し、キトサンをブレンドしたゲル膜では、菌の増殖が抑制されている。一般に、抗菌活性値 R は 2 以上で抗菌効果があると言わ

れている。Table 1 に示すように、キトサンをブレンドしたゲル膜では、抗菌活性値 R は 6 以上であるため、十分な抗菌効果があると言える。

作製したゲル膜表面のモルホロジーを Figure 1 に示した。PVA のみのゲル膜表面に、凹凸は見られなかった。これに対し、キトサンを含むゲル膜には凹凸があり、キトサンがゲル膜表面に散在していると考えられる。キトサンの含有量 10%のゲル膜表面では、5%と比較して凹凸が少なくなっているように見える。これは、キトサンが膜全体に均一にブレンドされていないか、キトサン分子がゲル内部に入り込んでいるためであると考えられる。

作製したゲル膜は、GA で架橋した PVA の主鎖に対し、GA で架橋した PVA/キトサン鎖、キトサン鎖が絡み合いを生じていると考えられる。キトサンの含有量とともに、強度は増大した。

4. 文献

- 1) 平野茂博, キチン・キトサン開発技術, シーエムシー出版, pp.203-207(2009) .
- 2) 一般社団法人抗菌製品技術協議会 試験法, S6 (2014) .
- 3) 日本工業標準調査会, 繊維製品の抗菌性試験方法・抗菌効果 JIS Z 2801:2012, pp.1-10 (2012) .

Table 1. Antibacterial activity of chemically cross-linked PVA hydrogel films by the shake method

Sample	Incubation time (h)	The number of the bacteria after incubation (cfu/plate)	Antibacterial activity R
The number of the incubation bacteria	0	1.0×10^5	—
	24	1.6×10^7	—
PVA/Chitosan (100/0)	24	1.4×10^7	—
PVA/Chitosan (90/10)	24	< 10	> 6
PVA/Chitosan (80/20)	24	< 10	> 6

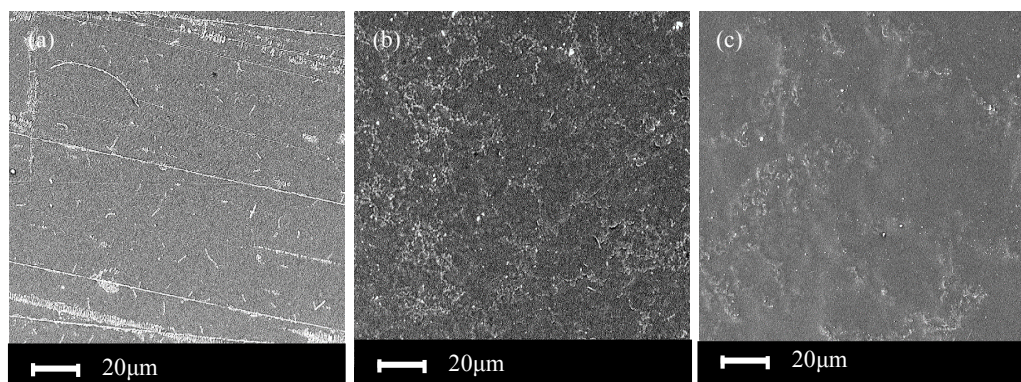


Figure 1. Morphologies of PVA/chitosan hydrogel films: (a)PVA/chitosan(100/0); (b)PVA/chitosan(95/5); (c)PVA/chitosan(90/10).