

# XAFS を用いた不定形炭酸カルシウムナノ粒子の合成方法の検討

## Investigation of experimental methods to synthesize the amorphous calcium carbonate nano-particles using XAFS

荒城綾香<sup>1</sup>, 沼子千弥<sup>2</sup>, 保倉明子<sup>3</sup>, 井村祐己<sup>1</sup>, 吉村悦郎<sup>1</sup>, 鈴木道生<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科, 〒113-8657 文京区弥生 1-1-1

<sup>2</sup> 千葉大学理学部, 〒263-8522 千葉市稲毛区弥生町 1-33

<sup>3</sup> 東京電機大学工学部, 〒120-8551, 足立区千住旭町 5 番

Ayaka Araki<sup>1</sup>, Chiya Numako<sup>2</sup>, Akiko Hokura<sup>3</sup>, Yuki Imura<sup>1</sup>, Etsuro Yoshimura<sup>1</sup>, Michio Suzuki<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Agricultural and Life Sciences, the University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657, Japan

<sup>2</sup> Faculty of Science, Chiba University, 1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba-shi, Chiba, 263-8522, Japan

<sup>3</sup> Department of Energy Sciences, Tokyo Institute of Technology, 5 Asahi-cho, Senju, Adachi-ku, Tokyo, 120-8551, Japan

### 1 はじめに

カルシウムを含む生体鉱物は様々な生物に存在するが、特に炭酸カルシウムは無脊椎動物や藻類などが作る生体鉱物の主成分である。生体鉱物は非常に緻密な微細構造を有しているが、これらは微量に含まれる有機分子が炭酸カルシウムの形成を制御することで形作られると考えられている。

炭酸カルシウムは様々な多形を持ち、常温・常圧で最も安定なのがカルサイト、準安定なのがアラゴナイト、最も不安定なのがファエライトである。炭酸カルシウムは結晶の状態以外にも不定形の状態 (ACC: amorphous calcium carbonate) を取ることで知られており、近年の研究において炭酸カルシウムの結晶形成は ACC のナノ粒子がまず形成され、その粒子が成長すると、ある時点で結晶化することが明らかとなっている。この ACC から炭酸カルシウム結晶の変化の過程において、様々な有機分子が相互作用することで、炭酸カルシウム結晶の形態や方位を制御し、結果として緻密な微細構造が生体鉱物内で形成されると考えられている[1]が、その詳細なメカニズムは不明のままである。

X 線回折 (XRD) や赤外分光 (IR) を用いて、ACC を同定したという報告はこれまで多数ある[2]が、これはリン酸イオンなどの不純物を大量に溶液に加え炭酸カルシウムの結晶化を抑制することで形成させたバルクの ACC について解析を行ったものである。生体内の ACC はこのような不純物は多く含まず、またナノ粒子の状態になっていると考えられる。ACC と有機分子の相互作用を解析するためには、ACC のナノ粒子を水溶液中で合成する必要があるが、これまで水溶液中で ACC のナノ粒子を合成したという報告は存在しない。これは ACC が非常に不安定な物質であるので、水溶液中で ACC のナノ粒子を形成したとしても、水溶液から取り出した瞬間に結晶化してしまうため、XRD や IR を用いた

方法では ACC のナノ粒子を解析することが不可能であったためだと考えられる。そこで私達は、溶液内での測定が可能である XAFS を用いて、まずはカルシウムの K 吸収端の XANES スペクトルから ACC の判別ができるのか検証を行った。そして、検証した ACC の XANES スペクトルを用いて、ACC のナノ粒子の合成方法の検討を行った。

### 2 実験

標準試料として、カルサイト、アラゴナイト、ACC、カルシウムイオン水溶液を用意した。カルサイト標準試料としては、カルサイト単結晶であるアコヤガイ (*Pinctada fucata*) の稜柱層、Iceland spar、市販の炭酸カルシウム粉末 (Wako) を乳鉢で粉砕し、BN を用いて錠剤を成形した。アラゴナイト標準試料としては、スペイン産アラゴナイト結晶を同様に錠剤に成形した。ACC 標準試料については、以下の3つの方法で合成を行った。50 mM 塩化カルシウム/50 mM 炭酸ナトリウム/15 mM ケイ酸ナトリウム水溶液を低温で調製後、10 秒程度攪拌し、沈殿物をフィルターろ過し、エタノールで洗浄することで ACC を得た (ケイ酸 ACC) [3]。12.5 mM 塩化カルシウム/62.5 mM 炭酸ジメチル水溶液を室温で調製後、終濃度が 100 mM となるように水酸化ナトリウム水溶液を加えた。2.5 分間の攪拌後に沈殿を回収し、アセトンで洗浄することで ACC を得た (炭酸ジメチル ACC) [4]。50 mM 炭酸水素ナトリウム/50 mM 塩化カルシウム/5 mM リン酸水溶液を調製し、1 分間の攪拌後に沈殿を回収し、エタノールで洗浄することで ACC を得た (リン酸 ACC)。また ACC のナノ粒子については、塩化カルシウムと炭酸水素ナトリウム水溶液に様々な濃度の塩化マグネシウムを添加することで、調製方法の検討を行った。カルシウムイオン水溶液の標準試料としては、500 mM 塩化カルシウム水溶液および 500 mM 硝酸カルシウム水溶液を準備した。

放射光分析は PF BL-9A で行った。測定は Ca-K 吸収端 (4.04 keV) の XANES 分析を行った。カル

サイト、アラゴナイト、ACC の標準試料については透過法で測定し、カルシウムイオン水溶液の標準試料と ACC ナノ粒子サンプルについては多素子半導体検出器を用いた蛍光法にて測定を行った。

### 3 結果および考察

カルサイトの標準試料である Iceland spar、市販の炭酸カルシウム粉末、アコヤガイの稜柱層の XANES スペクトルについては、ほぼ同様の結果が得られた。4037.1 eV 付近で吸収が上がり始め、4044.8 eV 付近にピークの肩が見られ、4047.8 eV に最大の吸収が、4049.3 eV に二つ目のピークが見られる。少し離れて 4059.5 eV にブロードな吸収が見られるのがカルサイトの大きな特徴であると思われる (図 1)。

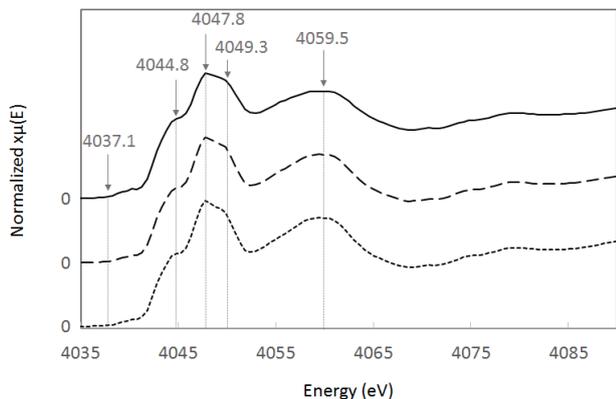


図 1：カルサイト標準試料の XANES スペクトル。実線はアコヤガイ稜柱層、破線は Iceland spar、点線は市販の炭酸カルシウム粉末を表す。

アラゴナイトの標準試料の結果については、4037.1 eV 付近で吸収が上がり始めるのはカルサイトと一緒に、最初のピークの肩が 4045.4 eV とカルサイトよりも 0.6 eV 程度高エネルギー側にシフトしていた。最大の吸収は 4049.2 eV 付近にややブロードに観察され、4053.4 eV 付近にピークの肩が見られるのがアラゴナイトの大きな特徴であると思われる (図 2)。

カルシウムイオン水溶液の標準試料である塩化カルシウム水溶液と硝酸カルシウム水溶液の XANES スペクトルについては、ほぼ同様の結果が得られた。4037.1 eV 付近で吸収が上がり始め、4039.7 eV 付近にブロードな小さい吸収が見られる。アラゴナイトやカルサイトとは異なり最初のピークの肩は見られず、ピークの最大吸収は 4050.3 eV とアラゴナイトよりもさらに 1 eV 程度高エネルギー側にシフトすることが判明した。最大の吸収ピークよりも高エネルギー側にはピークの肩や二つ目のピークが無いこともカルシウムイオン水溶液の大きな特徴である (図 3)。

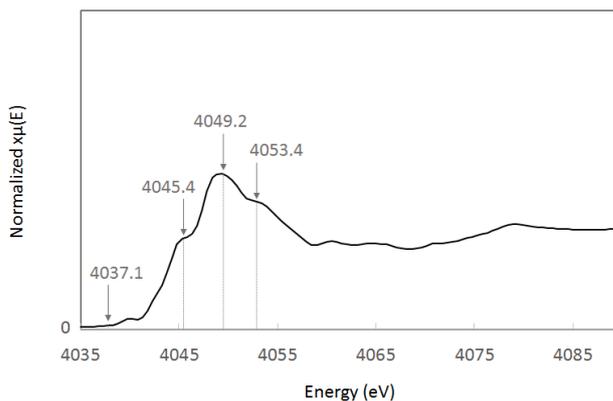


図 2：アラゴナイト標準試料の XANES スペクトル。実線はスペイン産アラゴナイトを表す。

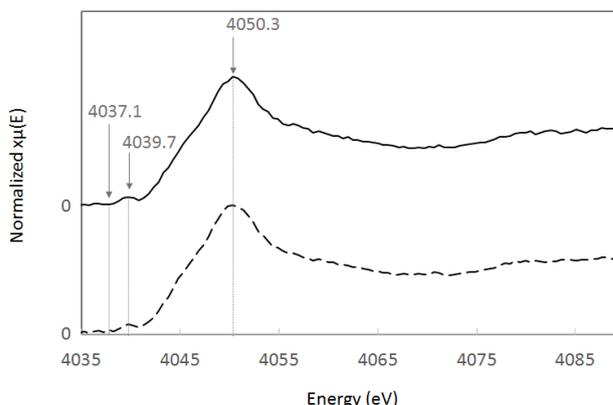


図 3：カルシウムイオン水溶液標準試料の XANES スペクトル。実線は 500 mM 塩化カルシウム水溶液、破線は 500 mM 硝酸カルシウム水溶液を表す。

ACC の標準試料であるケイ酸 ACC、炭酸ジメチル ACC、リン酸 ACC の XANES スペクトルについては、ほぼ同様の結果が得られた。4037.1 eV 付近で吸収が上がり始め、4039.7 eV 付近にブロードな小さい吸収が見られるのはカルシウムイオン水溶液と同じ特徴である。しかしながら、ピークの肩が 4044.9 eV 付近に小さく見えること、最大の吸収が 4049.4 eV であることがカルサイト、アラゴナイトおよびカルシウムイオン水溶液のスペクトルとの大きな違いである (図 4)。これらの結果から、Ca-K 吸収端の XANES スペクトルを用いて、ACC をカルサイト、アラゴナイト、カルシウムイオン水溶液と区別できることが明らかとなった。

次に ACC ナノ粒子の合成方法の検討を行った。カルシウムイオンとマグネシウムイオンの混合比を変化させ、さらに攪拌時間も変化させ、ACC のナノ粒子を生成すると思われる条件を、まずは動的光散乱法 (DLS 法) により検討を行った。DLS 法により、溶液中に形成されたナノ粒子の平均の大きさを知ることができる。しかしながら、形成された粒子が ACC なのか、その他の化学形態なのかは DLS 法で

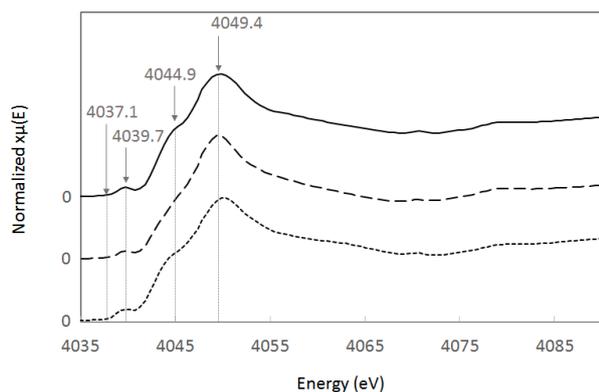


図 4 : ACC 標準試料の XANES スペクトル。実線はリン酸 ACC、破線は炭酸ジメチル ACC、点線はケイ酸 ACC を表す。

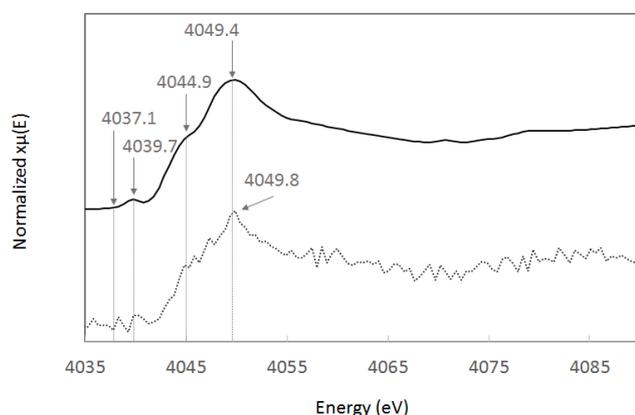


図 5 : ACC ナノ粒子サンプルの XANES スペクトル。実線はリン酸 ACC、点線は ACC ナノ粒子サンプルを表す。

は解析することができない。そこで、XAFS を用いて合成したナノ粒子の解析を行った。

DLS 法により適度な平均粒子径を持つと確認されたカルシウムイオンとマグネシウムイオンの混合比および攪拌時間の条件で用意した水溶液の XANES スペクトルが図 5 である。溶液のカルシウム濃度が非常に薄いため、S/N 比が悪いスペクトルになっているが、最大の吸収が 4049.8 eV であることが確認された。このピークの形状はバルクの ACC のスペクトルに近いものであることが示された。これらの結果から ACC のナノ粒子を作る条件を確定できたと考えられた。

#### 4 まとめ

Ca-K 吸収端の XANES スペクトルを用いて、カルサイト、アラゴナイト、ACC、カルシウムイオン水溶液の区別ができることが明らかとなった。これを用いて、ACC ナノ粒子の生成を水溶液中で確認できることを示した。しかしながら、今回に得られたスペクトルはノイズが非常に大きかったことから、今

後はより高濃度での ACC ナノ粒子の生成方法の検討や測定条件の改善を行っていきたいと考えている。

#### 参考文献

- [1] D. Gebauer *et al.*, *Science* **322**, 1819-1822 (2008).
- [2] C. Günther *et al.*, *Z. Anorg. Alig. Chem.* **631**, 2830-2835 (2005).
- [3] A. Gal *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 13208-13211 (2010).
- [4] M. Faatz *et al.*, *Adv. Mater.* **16**, 996-1000 (2004).

\* amichiwo@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp