

# マグネシウムおよびリン酸を含有するカルシウム鉱物の XAFS 解析

## Studies on calcium minerals containing phosphate and magnesium ions in living organisms using XAFS

岩橋晴香<sup>1</sup>, 山口瞭<sup>1</sup>, 沼子千弥<sup>2</sup>, 保倉明子<sup>3</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> 千葉大学大学院理学研究科, 〒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

Haruka Iwahashi<sup>1</sup>, Ryo Yamaguchi<sup>1</sup>, Chiya Numako<sup>2</sup>, Akiko Hokura<sup>3</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

カルシウムは様々な生物において生体鉱物に利用されているが、特に炭酸カルシウムは無脊椎動物や微細藻類などが作る生体鉱物の主成分である。一方で、脊椎動物はリン酸カルシウムを主成分とするハイドロキシアパタイトが骨を構成している。これらの生体鉱物は非常に緻密な微細構造を有しているが、そこに微量に含まれる有機分子がカルシウム鉱物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) を取ることが知られており、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。また、リン酸カルシウムも複数の結晶多形を有しており、生体中では水酸基が含まれるハイドロキシアパタイトが最も安定で、低 pH 条件ではリン酸オクタカルシウム (OCP) が生成する。リン酸カルシウムもこれらの結晶が成長する前には不定形の状態 (ACP: amorphous calcium phosphate) が存在すると考えられている。

試験管内でリン酸イオンやマグネシウムイオンを炭酸カルシウム過飽和液に添加すると、炭酸カルシウムの結晶成長は阻害され、ACC の生成が促進される。すなわち ACC は不純物により安定化され、こ

れらの不純物を除去しないと結晶成長は進行しない。ウニの殻や棘は炭酸カルシウムで構成されているが、マグネシウムを多量に含むカルサイトであることが判明している。このことは、何らかの生体の成分や反応機構が炭酸カルシウムにマグネシウムイオンを取り込ませる役割があることを示唆している。また、無機的な条件で形成されたハイドロキシアパタイトと生体中で形成されたハイドロキシアパタイトでは、微細構造などは大きく異なっており、リン酸イオンと相互作用する分子が存在することが示唆されている。すなわちマグネシウムイオンやリン酸イオンと相互作用して、カルシウム鉱物の形成に影響を与える有機物の存在が示唆されている。

これまでの研究の結果から、Ca-K 吸収端 (4.04 keV) の XANES 領域のスペクトルを比較することで、カルサイト、アラゴナイト、ACC およびカルシウム水和錯体との違いを区別できることを明らかにした。ACC を合成するためには高濃度のマグネシウムイオンやリン酸を溶液中に添加し、炭酸カルシウムの結晶成長を阻害する必要がある。しかしながら、マグネシウムイオンやリン酸イオンがカルシウム鉱物内に存在する状態と、ACC の状態で Ca-K 吸収端 (4.04 keV) の XANES 領域のスペクトルを区別できるかは確認していない。そこで今回の測定では、マグネシウムを高濃度で含むウニの殻および棘の炭酸カルシウム、リン酸カルシウムを主成分とするハイドロキシアパタイトの標品、ハイドロキシアパタイトから成るバイオミネラルである豚の骨を解析することで、マグネシウムイオンやリン酸イオンがカルシウム鉱物内の Ca-K 吸収端 (4.04 keV) の XANES 領域のスペクトルにどのような影響を与えるか解析した。

## 2 実験

エネルギーキャリブレーションは、市販の炭酸カルシウム粉末 (Wako) のカルサイトをを用いて行った。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を準備した。ACC の標準試料としては、炭酸水素ナトリウム/塩化カルシウム/リン酸水溶液を調製し、24 時間攪拌することで溶液を用意した (リン酸 ACC)。水溶液はマイラー膜で作製したバッグに封入した。豚の骨は市販の豚骨を粉末にし、乾燥した後使用を行った。ハイドロキシアパタイト (Wako) は市販の試薬を用いた。生きたウニから棘および骨格を採取し、乾燥した後に乳鉢で粉末にした。これらの粉末は BN 粉末と混合し、錠剤成形器による錠剤を作製した

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。固体の錠剤試料については透過法で測定し、水溶液の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

カルシウムイオン水溶液は 4038.8 eV 付近にピークが見られる。吸収の上り初めには小さな肩が見られ、これが 4043.8 eV と 4045.8 eV と二か所に変曲点がある様子が観察された。またピークトップは 4048.8 eV であった。4038.8 eV 付近の小さなピークの存在と、4048.3 eV がピークトップである様子はリン酸 ACC と非常によく一致しており、これらのピークの形状からカルシウムイオン水溶液と ACC を見分けることはできなかったが、4043.8 eV と 4045.8 eV の二つの変曲点の間の接線の傾きがカルシウムイオン水溶液と ACC で大きく異なることが判明している (図 1)。

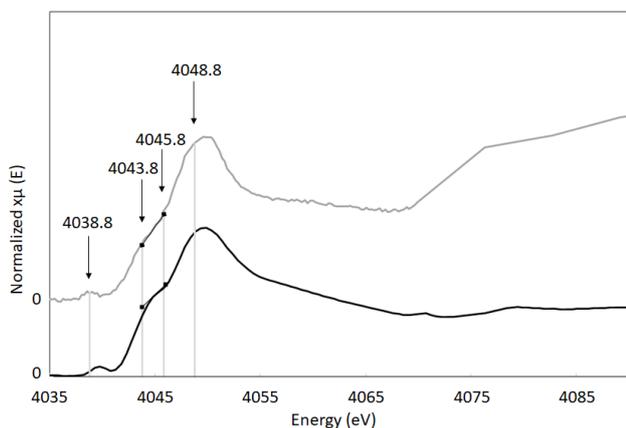


図 1 : カルシウムイオン水溶液およびリン酸 ACC の XANES スペクトル。灰色線はカルシウムイオン水溶液、黒線はリン酸 ACC を表す。

豚骨と市販のヒドロキシアパタイトはスペクトルが合致したことから、豚の骨は純粋なヒドロキシアパタイトでできていることが示された。最初の 4038.8 eV の小さいピークと最大ピークである 4048.3 eV は、ほぼピークの位置がカルシウム水溶液とリン酸 ACC と同じであることが分かった。しかし、最大ピークの前に現れる 4043.8 eV から 4044.8 eV の肩は、傾きが非常に小さく顕著に表れたことから、リン酸 ACC とは異なることが示された。すなわち二回目の変曲点が 1 eV 程低エネルギー側にシフトし、4044.8 eV と 4043.8 eV の強度に大きく差がないことが最も大きな違いであった。これはリン酸がカルシウムの周りに多くなると、電子のエネルギー遷移が変化することを示している。

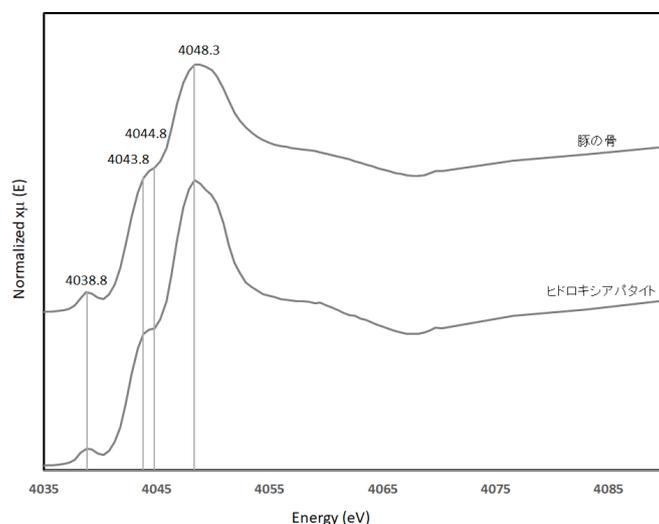


図 2 : リン酸カルシウムの XANES スペクトル

マグネシウムを含むウニの棘と骨格では両者はほとんど同じスペクトルになった。市販のカルサイトと比較したところ、4039.8 eV のピークと、最大ピークの低エネルギー側に位置する肩の 4043.3 eV は両者で一致していた。しかし、最大ピークのピークトップの位置や二番目のピークのトップの位置はウニの棘および骨格の方が 1 eV 程度の高エネルギー側にシフトしていることが分かった。これはカルシウムの代わりにマグネシウムが配置したことにより、カルシウムの電子遷移に影響を与えることを示している。このように高マグネシウムのカルサイトも Ca-K 吸収端 (4.04 keV) の XANES 領域のスペクトルによる区別できることが判明した。

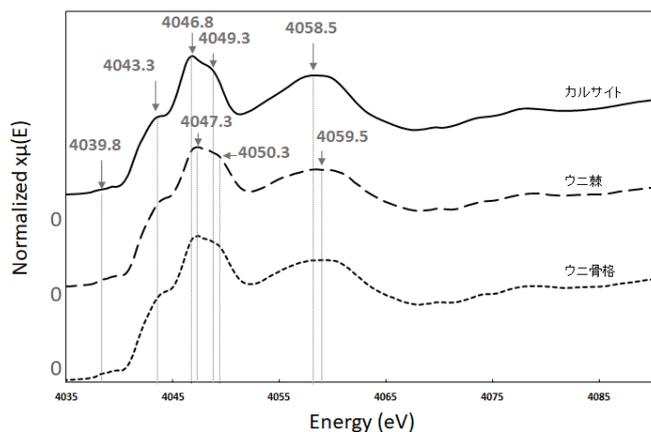


図 3 : カルサイトおよびウニ棘および骨格の XANES スペクトル

#### 4 まとめ

これまでの我々のグループの研究により、Ca-K 吸収端の XANES スペクトルの 4043.8 eV と 4045.8 eV の二つの変曲点の間の接線の傾きを用いて、ACC とカルシウムイオン水溶液を区別ができることが明らかとなっている。この領域を使うと、リン酸カルシウムであるヒドロキシアパタイトも区別できることを明らかにした。また、高マグネシウムを含むウニのカルサイトは、通常のカルサイトよりも最大のピークの付近で高エネルギー側にシフトし、他のカルサイトと区別できることを示した。今後も、様々なバイオミネラルの Ca-K 吸収端 (4.04 keV) を測定し、違いを区別できるのか確かめていきたいと考えている。

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