メタノール共存下における水酸アパタイト微結晶の水熱合成

永田夫久江・横川善之・鳥山素弘・河本ゆかり・鈴木高広・西澤かおり

名古屋工業技術研究所, 462 名古屋市北区平手町 1-1

Hydrothermal Synthesis of Hydroxyapatite Crystals in the Presence of Methanol

Fukue NAGATA, Yoshiyuki YOKOGAWA, Motohiro TORIYAMA, Yukari KAWAMOTO, Takahiro SUZUKI and Kaori NISHIZAWA

National Industrial Research Institute of Nagoya, 1-1, Hirate-cho, Kita-ku, Nagoya-shi 462

[Received August 11, 1994; Accepted October 19, 1994]

The effect of methanol on the morphology of hydroxyapatite (HAp) crystals has been studied under hydrothermal conditions. A precursor HAp slurry prepared from CaCO_3 and $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ was synthesized hydrothermally in the presence of methanol. The products obtained from slurries containing varying amounts of methanol were found to be carbonate-containing HAp by X-ray diffraction and IR spectrometry. TEM showed that the morphology of the products was influenced by the amount of methanol added to the slurry. The products obtained from slurries without methanol were rod-like or granular crystals, about 20 to 100 nm in size. Addition of methanol to the slurries caused an increase in the ratio of plate-like crystals to rod-like crystals or granular crystals. When the weight of methanol added was equal to the weight of the slurry, only plate-like crystals 20 to 200 nm in size were obtained. X-ray diffraction patterns of oriented products indicated that the plane grown selectively was the a -plane of the plate-like crystals. The results by DTA suggested that the variation of the morphology can be attributed to the adsorption of methanol on the surface of the HAp nuclei inhibiting the crystal growth along a particular axis.

Key-words: Apatite, Methanol, Hydrothermal synthesis, Morphology, Bioceramics

1. 緒 言

骨や歯など生体硬組織の主成分である水酸アパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; HAp) は生体親和性が高く, 人工骨や人工歯根などの生体材料¹⁾として注目されてきた。また, HAp は, 生体高分子に対して特異な吸着特性を示すことから, タンパク質など生体高分子を分離, 精製するためのカラム充填材^{2),3)}としても利用されている。六方晶系に属する HAp は, a 面と c 面で異なる構造が出現することから, 結晶面によって吸着するタンパク質の種類が異なる²⁾。このため, その結晶の形態を制御することによって特定の結晶面を多くすれば, HAp のタンパク質に対する選択特性を制御できることが予想され, 液体クロマトグラフィー用カラム充填材への応用も期待される。これまで, HAp は湿式法⁴⁾, 乾式法⁵⁾, 水熱法^{6),7)}などで合成されている。

しかし, 積極的に形態の制御を試みた例としては, 水熱法による柱状⁷⁾や針状⁸⁾の HAp 微結晶, ウィスカー状の結晶⁹⁾, あるいは前駆体繊維法による繊維状 HAp¹⁰⁾の合成などが報告されているにすぎず報告例は多くない。一方, 生体内で無機物質が生成する際に, 有機物が結晶核生成, 結晶成長に大きく関与していることが知られている¹¹⁾。本研究では, 結晶形態を変化させることを目的として, HAp の $-\text{OH}$ 基への選択的な吸着が予想されるメタノール共存下で HAp の水熱合成を行い, 生成する HAp 結晶の形態を調べた。また, 有機物共存下で HAp を合成し, 結晶形態の制御を試みることは, 生体内での無機結晶生成機構を応用した無機結晶合成へのアプローチとして意義あるものと考えられる。

2. 実 験

炭酸カルシウム (CaCO_3 , 和光純薬工業製, 特級) とリン酸水素カルシウム二水和物 ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, キンダ化学製, 特級) を $\text{Ca}/\text{P}=1.67$ となるように秤量し, 試薬を直径 10 mm のジルコニア製ボールとともにジルコニア製ポットミル (日本化学陶業製) に入れ, 蒸留水を添加して 50 rpm で 24 時間かくはんすることによって低結晶性 HAp スラリーを得た。この低結晶性 HAp スラリーに更に蒸留水を加え, その濃度を 5 mass% になるよう希釈した。希釈した低結晶性 HAp スラリー 0.2 dm³ にメタノール (和光純薬工業製, 特級) を低結晶性 HAp スラリーに対し 0~100 mass% 加え, 希アンモニウム水 (片山化学製, 特級) を用いて pH 10.0 $\pm$ 0.2 に調整した。これを内容積 1.0 dm³ のテフロンビーカーに入れたのち, 内容積 3.0 dm³ のナックオートクレーブ社製オートクレーブ装置を用いて 150~200°C, 0.6~2.7 MPa, 5~20 時間の条件下で, 20 rpm でかくはんしながら水熱処理した。生成物は, 濾過, 洗浄後, 空气中 60°C で乾燥した。

生成物の結晶相は粉末 X 線回折法により同定した。測定にはマックスサイエンス社製, MXP3 を使い, モノクロメーターにより単色化した Cu K α 線, 印加電圧 40 kV, 印加電流 20 mA, 走査速度 2 deg/min で測定を行い, JCPDS カードと照合して生成相を同定した。また, 生成物の結晶配向性を調べるため, 生成物をエタノール中で分

散させた後にガラス板に滴下, 乾燥を繰り返して生成物を積層させて, 試料の測定を行った. この際には, ステップ幅0.02 deg のステップスキャンで各ステップ20秒間積算し, X線回折パターンを得た.

生成相に含まれる官能基を調べるために, 日本分光製, FT/IR-8000を用い, KBr錠剤法で赤外吸収スペクトルの測定を行った.

生成物の形態観察は, 日本電子製の透過型電子顕微鏡(TEM) JEM-4000FXを用い, 加速電圧300 kVの条件で, コロジオン膜を張り付けたCuメッシュに生成物を付着させて行った.

生成物のCa/P比は, 誘導プラズマ発光分析法(ICP)により求めた. すなわちセイコー電子工業製SPS7000Aを用い, 生成物を1Nの塩酸(和光純薬工業製, 特級)で溶解した後, 蒸留水で希釈した溶液を試料としてアルゴンプラズマ中で発光させ, その発光強度からCaとPの濃度を求めた.

生成物へのメタノールの吸着量を調べるため, 熱分析を行った. すなわち, 生成物の加熱による吸熱及び発熱反応を理化学機製MJ800KT2により調べた. α - Al_2O_3 を標準試料とし, 昇温速度10°C/minで1200°Cまで昇温した. このとき, 比較のためプロパノールで実験して得られた試料についても測定した.

生成物の比表面積は, マイクロメリティックス社製Flow Sorb II 2300でBET法により求めた.

3. 結果と考察

3.1 水熱処理温度の検討

最適な水熱処理温度を決定するため, 温度を変えて得られた生成物を, 粉末X線回折及びTEM像により検討した. 水熱処理前の試料の粉末X線回折図形は, HApの回折パターンと類似していたが, 各々の回折ピークはブロードであり, 低結晶性のHApであることを示していた. この試料を水熱処理して得られた生成物の粉末X線回折図形は, 実験を行ったすべての水熱処理温度でピークがシャープであった. 特にHApに特徴的な $31^\circ \sim 34^\circ$ に現れる(211)(112)(300)に相当する3本のピークは明確に分離していた. これらの粉末X線回折法の結果から, 150~200°Cの温度域で水熱処理をすると, 結晶性が向上することが分かった. 水熱処理温度を変えて得られた生成物をTEMにより観察したところ, 180°C以上の温度で水熱処理して得られた結晶の形態は整っていた. これに対し, 180°Cより低い温度で水熱処理して得られた生成物は, 結晶の外形が不明瞭であった. X線回折の結果と併わせて考えると, 150°C以上の温度で水熱処理すると結晶性が向上し, 更に, 180°C以上では, 結晶形態の整ったHApが得られることが分かった. そこで本実験においては, 水熱処理温度は180°Cとした.

3.2 生成物の特性

メタノールの添加量を種々変化させて試料を調製し, 水熱処理して得られた生成物の結晶相を粉末X線回折法に

より調べた. 図1に, メタノールを100 mass%添加して得られた生成物の粉末X線回折図形を示した. メタノールの添加量にかかわらずいずれもその回折ピークはシャープであり, またすべてのピークがJCPDSに記載のHAp(No. 9-432)の値とよく一致していた. このように本実験の条件下ではメタノールを添加しても, 水熱処理によって結晶性の良いHApが得られた. 図2に, メタノールの添加量を変化させて得られた生成物のIR吸収スペクトルを示す. IRからは, 典型的なHApのピークのほかに, 1550, 1458, 1414, 880 cm^{-1} 付近にも吸収ピークが観察された. これらのピークは CO_3^{2-} に帰属されるものであり¹²⁾, PO_4^{3-} サイト及び OH^- サイトに CO_3^{2-} が存在することを示している. しかし, 他の官能基, 例えばメチル基などに帰属される吸収ピークは観察されなかった. したがって, 得られた生成物は, CO_3^{2-} 含有HApであった.

メタノールの添加量を変化させた場合の, 生成物のCa/P比の変化を図3に示す. メタノールを添加しなかった場合, 生成物のCa/P比は1.658であり, 化学量論組成の1.667にほぼ近い値であった. これに対し, メタノールの添加量が増加するとともに, 生成物のCa/P比は減少した. メタノールの添加は溶媒の極性を低下させるが, イオン半径や電荷分布などの違う Ca^{2+} と PO_4^{3-} では, 極性の変化によって受ける影響が異なる. メタノールを添加しない水熱合成時には, 低結晶性のHAp結晶核中の Ca^{2+} や PO_4^{3-} が溶液中へ溶解, 析出を繰り返すことによって,

Fig. 1. Powder X-ray diffraction pattern of the products synthesized hydrothermally with 100 mass% methanol at 180°C under 1.4 MPa for 5h.

Fig. 2. IR spectra of the products synthesized hydrothermally with (a) no alcohol, (b) 30 mass% methanol and (c) 100 mass% methanol.

Fig. 3. Ca/P ratio of the products synthesized varying methanol content.

Fig. 4. TEM micrographs of the products synthesized hydrothermally with (a) no alcohol, (b) 30 mass% methanol and (c) 100 mass% methanol (scale shown represent 100 nm).

より結晶性の良好な結晶へと変化していると考えられる。ところが、溶媒の極性が変化したことにより、結晶核中に

Fig. 5. Powder X-ray diffraction pattern of the oriented products (HAp crystals synthesized hydrothermally with 100 mass% methanol at 180°C under 1.4 MPa for 5h).

存在する Ca^{2+} と PO_4^{3-} の溶解の比に変化がおり、生成物の Ca/P 比が減少したと推論される。

メタノールの添加量を変化させて得られた生成物の TEM 写真を図 4 に示す。いずれの試料も低結晶性 HAp スラリーにメタノールを種々の割合で添加し、180°C で 5 時間水熱処理を行うことにより得られたものである。メタノールをまったく添加しなかった場合には約 20~100 nm の大きさの柱状結晶あるいは粒状結晶が多く観察される (図 4 (a)) のに対し、メタノールの添加量の増加とともに粒状結晶及び板状結晶の生成割合が増加した。メタノールをスラリーに対し 30 mass% 添加した場合には棒柱状結晶と粒状結晶、板状結晶が混在している様子が観察され (図 4 (b)), 更に、メタノールの添加量を増加させてスラリーと同量のメタノールを添加した場合には 20~200 nm の大きさの板状結晶のみが観察された (図 4 (c))。低結晶性 HAp を水熱処理する際に、メタノールの添加は板状結晶の生成を促進することが分かった。

メタノール共存下で水熱合成した板状 HAp の結晶面の特定を試みた。六方晶において c 面の各辺がなす角度は 120° である。ところが、図 4 (c) の写真から明らかなように、得られた結晶の外形の角度は 120° ではないことから、観察されている面は c 面ではないと推察される。そこで、得られた板状結晶をエタノール中に懸濁させたままガラス板上に滴下し、積層することにより、板状結晶を配向させることを試みた。この方法で測定した X 線回折ピークを図 5 に示す。通常の粉末 X 線回折法により測定した結果 (図 1) と比べて、(100) (200) (300) に相当するピークは明らかに大きくなっている。このことは、 a 面がガラス板に対して平行に積層されていることを示しており、板状結晶として現れている面は a 面であることが考えられる。

3.3 メタノール添加の効果

メタノールを添加することにより結晶形態が変化する理由として、メタノールが HAp に吸着することによる特定方向への結晶成長の抑制が考えられる。これまでに、HAp 表面にアルコール気体分子が吸着する際には、OH 基を HAp 表面に向けて化学吸着することが報告されている¹³⁾。また、ガラス表面に存在する OH 基を定量する方法として、ガラスをメタノールとともにオートクレーブ中で水熱処理をすることにより、 $-\text{OH}$ を $-\text{OCH}_3$ に変化させ

Fig. 6. DTA curves of the products synthesized hydrothermally with (a) 100 mass% propanol, (b) 30 mass% propanol, (c) 100 mass% methanol and (d) no alcohols.

る方法が用いられている¹⁴⁾。これらの報告より、メタノールを共存させた溶液中で低結晶性 HAp を水熱処理すると、HAp 結晶核上の OH 基にメタノールが選択的に吸着し、一部の -OH は -OCH₃ に変化していると推察される。このため、通常最も成長しやすい HAp の *c* 軸方向への結晶成長が抑制され、板状結晶が得られたと考えられる。

水熱処理時のメタノール添加量の違いによる HAp 表面へのメタノールの吸着量の変化を調べるため、水熱処理後、乾燥した生成物の熱分析を行った (図 6)。メタノールの添加量にかかわらず、メタノールを添加しなかった生成物と比較して、異なる発熱ピーク等は観察されなかった。(図 6 (c), (d))。これは、メタノールの沸点が低いため、生成物を乾燥させる過程で、吸着したメタノールが脱離したためと考えられる。そこで、メタノールより沸点の高いプロパノールを添加して、同様の水熱処理条件で合成を行った。得られた生成物の形態は、メタノールを添加したときと同様に添加量を増加させるにつれて板状結晶の生成割合が増加し、スラリーに対して 100 mass% 添加した場合には板状結晶のみが観察された。このようにプロパノールを添加して得られた生成物を試料として熱分析を行ったところ、添加量の増減に対応して発熱ピークの変化がみられた。プロパノールをスラリーに対して 30 mass% 添加して得られた生成物 (図 6 (b)) と 100 mass% 添加して得られた生成物 (図 6 (a)) とは、ともに約 200~360°C の間に大きな発熱ピークが観察された。ピーク面積より生成物の単位重量当たりの発熱量を求めた

ところ、100 mass% 添加して得られた生成物は、30 mass% 添加して得られた生成物の約 1.4 倍の発熱量があった。また、それぞれの生成物の比表面積がそれぞれ、28.4, 39.6 m²/g であることから、単位面積当たりの発熱量は約 2.0 倍となる。つまり、単位面積当たりのプロパノールの吸着量は、水熱処理時に添加したプロパノールの添加量によって変化するということが分かった。これは、溶媒中のアルコール濃度の増加は、アルコールの HAp 結晶への吸着量の増加につながることを示している。これらの結果は、アルコール添加による生成物の形態の変化が、アルコールの吸着によって、結晶成長に異方性をひきおこしたためであるという推察を支持するものと考えられる。

4. 結 言

低結晶性 HAp にメタノールを添加して水熱処理することにより、得られる HAp 微結晶の形態を変化させることができた。

(1) メタノールの添加量を増加させると、板状結晶の生成割合が増加した。

(2) Ca/P=1.67 に調整した低結晶性 HAp スラリーに、同量のメタノールを添加し水熱処理すると、20~200 nm の大きさの板状 HAp 微結晶のみが生成した。

(3) 得られた板状結晶をガラス板上に配向させて作製した試料の粉末 X 線回折により、*a* 面が広く成長した板状結晶であることが分かった。

文 献

- 1) 青木秀希, 加藤一男, セラミックス, 10, 469-78 (1975).
- 2) T. Kawasaki, *J. Chromatogr.*, 157, 7-42 (1978).
- 3) 奥山典生, 小川哲朗, 蛭原正臣, *Gypsum & Lime*, 210, 323-31 (1987).
- 4) D. H. Booth and R. V. Coates, *J. Chem. Soc.*, 1961, 4914-21.
- 5) 門間英毅, 金沢孝文, 日化, 1972, 339-43.
- 6) M. Mengeot, M. L. Harvill and O. R. Gilliam, *J. Cryst. Growth*, 19, 199-203 (1973).
- 7) 井奥洪二, 吉村昌弘, 宗宮重行, 日化, 1988, 1565-70.
- 8) 吉村昌弘, 須田洋幸, 岡本健吾, 井奥洪二, 日化, 1991, 1402-07.
- 9) M. Yoshimura, H. Suda, K. Okamoto and K. Ioku, *J. Mater. Sci.*, 29, 3399-402 (1994).
- 10) 岩崎弘通, 金子泰成, 材料, 37, 60-64 (1988).
- 11) "Biomaterialization", Ed. by S. Mann, J. Webb and R. J. P. Williams, VCH (1989).
- 12) 門間英毅, 高橋卓二, *Gypsum & Lime*, 210, 287-91 (1987).
- 13) M. E. Dry and R. A. Beebe, *J. Phys. Chem.*, 64, 1300-04 (1960).
- 14) V. Y. Davydov, A. V. Kiselev and L. T. Zhuravlev, *Trans. Faraday*, 60, 2254-64 (1964).