液相中におけるヒドロキシアパタイトの吸着特性*

谷 岡 隆**・今 西 信 之**
川 井 隆 夫***

Adsorption Characteristics of Hydroxyapatite in aqueous solutions

Takashi TANIOKA, Nobuyuki IMANISHI,
and Takao KAWAI

1. は じ め に

アパタイトは $M_{10}(ZO_4)_6X_2$ の基本構造を持つ一群の結晶化合物を称し、各サイトには M: Ca, Sr, Ba, Z: P, V, Si, X: F, OH, CO_3 などがあげられているが、例えば、フッ素アパタイト $[Ca_{10}(PO_4)_6F_2]$ はリン鉱石の主成分でリンの工業資源である。また、ヒドロキシアパタイト $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ 、HAP も代表的なアパタイトの一つで、歯、骨などの生体材料として注目されており、人工的には多くの手法により合成が行われている。さらに、HAP の吸着機能が注目され、タンパク質、核酸、酵素などの生理活性物質をはじめ、有機物質の吸着・分離剤として利用されはじめている。しかし、無機物に対する HAP の吸着機能についてはほとんど解明されていない。

本報告では、HAP の吸着特性に注目し、著者らが湿式法で合成した HAP を用いて酸性領域での Pb^{2+} , Cu^{2+} , Y^{3+} , La^{3+} などの陽イオンに対する吸着能および吸着特性について検討した。さらに、生理活性物質であるタンパク質などに対する HAP の有機物質吸着特性についても検討した。

2. 実 験 方 法

2.1 吸着剤

HAP は、 $CaCl_2$ と H_3PO_4 とを Ca/P モル比が1.67の割合で混合し、アルカリ領域で湿式法により合成した。得られた HAP 懸濁液から噴霧乾燥法により造粒した $5\sim 6\ \mu m$ の球形粒子を HAP 吸着剤として用いた。なお、比較のため市販の強酸性イオン交換樹脂 (IRA-120) も用

いた。

2.2 無機イオンの吸着実験

(1) 吸着実験1: 塩化物から調合した陽イオン (10種類) の 1000 ppm 溶液を 300 ml の三角フラスコ中に 200 ml 入れ、さらに HAP 吸着剤を 1.0 g 加えて 30°C 恒温槽中で 2 hr 振とうした。その後、 $0.1\ \mu m$ のメンブランフィルターにより溶液を分離した。吸着前後での溶液中の陽イオンおよび Ca^{2+} イオン濃度を ICP 法により分析した。

(2) 吸着実験2: 吸着実験1と同様、試薬に塩化物を用い、約 200~2000 ppm 間で5水準の濃度に調合した希土類イオン溶液 200 ml 中にそれぞれ HAP 1 g を添加し、30°C 恒温槽中で 24 hr 吸着させた後、イオン吸着量を測定した。

(3) 吸着実験3: 希土類イオンの 1000 ppm 溶液を塩化物試薬より調合し、三角フラスコに 200 ml 入れ、HAP 添加量を5水準 (0.5 g, 1.0 g, 1.2 g, 1.5 g, 1.7 g) に変えて、30°C 恒温槽中で 24 hr 吸着させた後、イオン吸着量を測定し、HAP 1 g 当たりの陽イオン交換量を求めた。また、比較のため市販の強酸性イオン交換樹脂についても同様の実験を実施した。なお、pH は塩酸 (HCl) により 4, 5, 6 の3水準に調整した。

2.3 有機物の吸着実験

リン酸水素ナトリウム (Na_2HPO_4) とリン酸2水素ナトリウム (NaH_2PO_4) により調整した pH 5.0, 6.8 および 8.0 の 0.01 M-リン酸ナトリウム緩衝液に牛血清アルブミン (BSA) を溶解し、濃度 100 ppm の BSA 溶液を調合した。その溶液 200 ml を 300 ml の三角フラスコに入れ、さらに所定量 (0.1 g, 0.5 g, 1.0 g, 1.5 g, 2.0 g) の HAP 吸着剤をそれぞれ加えて 20°C 恒温槽中で4時間振とう後、上澄液を $0.2\ \mu m$ フィルターでろ過してろ液を得た。ろ液中の BSA 濃度を逆相カラム (ODS カラム) を用い

* 平成3年6月20日本会第86回例会において発表

** (株)神戸製鋼所化学研究所

*** (株)神戸製鋼所開発実験センター

平成3年5月23日受理

た高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定した。

3. 実験結果および考察

3.1 陽イオンに対する吸着能

吸着実験 (1) により測定した10種類の金属イオンの交換量を表1に示す。

2価の陽イオンに対しては、いずれも R^{2+}/Ca^{2+} のモル比はほぼ 1:1 であり、また3価の陽イオンに対しては、 R^{3+}/Ca^{2+} のモル比がほぼ 2:3 である。さらに、 Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} などの2価の金属イオン、および3価の Y^{3+} , La^{3+} の希土類イオンに対して交換量が大いことがわかる。とくに、 Y^{3+} イオンに対しては 2 hr の短い吸着時間にもかかわらず、1.26 mmol/g-HAP と最も高いイオン交換量を示した。この時溶液中に溶出した Ca^{2+} イオン量は、HAP 構造中の交換可能な Ca^{2+} イオンの16.7%に相当する。

次に、上記の陽イオンとイオン交換した HAP の X 線回折線図を図1に示す。陽イオンの種類によりイオン

交換後の HAP の X 線回折線図は2つの形態に分けられる。すなわち、 Y^{3+} , La^{3+} , Cu^{2+} イオンの場合 (図1-(b)) には、ほとんど HAP からの相変化はなく、もとの HAP とほぼ同じ X 線回折パターンを示す。一方、 Pb^{2+} イオンの場合 (図1-(c)) には、HAP と Pb-Cl アパタイト $[Pb_{10}(PO_4)_6(Cl)_2]$ の2相を示した。

図2に HAP の結晶構造を示すように、単位格子中にある10個の Ca^{2+} イオン (イオン半径=1.0 Å) の内6個 (M2 サイトの Ca^{2+}) が、C 軸方向に一種のトンネル構造を形成しその中に OH^- イオンが入っており、残りの4個の Ca^{2+} イオン (M1 サイトの Ca^{2+}) は単位格子の中央部に位置している。各サイトに許容されるイオン半径は、M1 サイトが 0.9~1.3 Å, M2 サイトが 1.0~1.05 Å である。

10種の各陽イオンに対するイオン交換量の測定結果をイオン半径 (表1に示す) との関係で図3に示す。この図から、HAP の陽イオンとのイオン交換は次のように考えられる。すなわち、各サイトよりイオン半径の小さな Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} および Zn^{2+} の6種のイオ

表1 ヒドロキシアパタイトの各種陽イオンに対するイオン交換特性

陽イオン (R)	イオン半径 [Å]	初期濃度 [ppm]	溶液中の濃度		イオン交換量 [mmol/g-HAP]	イオン交換モル比 [R/Ca ²⁺]
			陽イオン(R)の減少量 [mg/200 ml](mmol/200 ml)	Ca ²⁺ の増加量 [mg/200 ml](mmol/200 ml)		
Pb ²⁺	1.18	1080	214 (1.033)	40.0 (0.998)	1.0331	1:1.03
Ni ²⁺	0.70	1000	16 (0.273)	9.8 (0.245)	0.2726	1:0.90
Mn ²⁺	0.67	1030	32 (0.582)	20.4 (0.509)	0.5825	1:0.87
Zn ²⁺	0.60	1000	52 (0.795)	26.6 (0.664)	0.7954	1:0.84
Co ²⁺	0.65	1030	26 (0.441)	14.6 (0.364)	0.4412	1:0.83
La ³⁺	1.06	1040	126 (0.907)	48.4 (1.208)	0.9071	2:2.66
Cu ²⁺	0.62	1020	62 (0.976)	32.4 (0.808)	0.9757	1:0.83
Y ³⁺	0.89	1030	112 (1.260)	66.4 (1.657)	1.2598	2:2.64
Ba ²⁺	1.36	1040	22 (0.160)	5.0 (0.125)	0.1602	1:0.78
Sr ²⁺	1.16	1010	22 (0.251)	10.0 (0.250)	0.2511	1:1.00

(a)Original (b) Y^{3+} (La^{3+} , Cu^{2+} ...) (c) Pb^{2+}

図1 陽イオン交換した HAP の X 線回折線図

図2 HAP の結晶構造

ンは、比較的容易にイオン交換反応を起こす。また、 Ca^{2+} のイオン半径に近い Y^{3+} および La^{3+} イオンは、その電気陰性度も大きく Ca^{2+} イオンのサイトに入りやすい。ところが、 Ba^{2+} および Sr^{2+} イオンは、 Ca^{2+} のイオン半径よりもかなり大きく各サイトには入りにくい、HAP 表面においてイオン交換反応が起きていると推察される。なお、 Pb^{2+} イオンは Ca^{2+} イオン半径よりも大きい、電気陰性度も大きく M2 サイトにも入る。また、 Pb^{2+} イオンとイオン交換したアパタイトの Rietveld 法による結晶構造の解析結果より、 Pb^{2+} イオンは M1 サイトと M2 サイトに区別なく入るといわれている³⁾。

以上のことから、無機イオンの吸着はいずれも陽イオン交換反応であると考えられる。

図3 イオン交換量とイオン半径比の関係

3.2 希土類イオンのイオン交換特性

3.1 項に示したように、HAP は希土類イオンに対して比較的イオン交換量が多いので、そのイオン交換特性についてさらに検討した。

表2に LaCl_3 試薬で調整した各種初期濃度 (198~2100 ppm) の La^{3+} イオン水溶液を用いて実施した吸着実験 (2) の結果を示す。同様に表3に YCl_3 試薬で調合した Y^{3+} イオンの結果を示す。いずれの結果とも、初期濃度に関係なく3価の希土類イオンと2価の Ca^{2+} イオンとは、ほぼ2:3でイオン交換した。また、 Y^{3+} イオンの飽和イオン交換量は約2 mmol/g-HAPにも

図4 希土類イオン (La^{3+} , Y^{3+} , Sm^{3+}) の初期濃度とイオン交換量との関係

表2 ヒドロキシアパタイトの希土類元素イオン (La^{3+}) 交換特性

初期濃度 (ppm)	198	503	1020	1550	2100
La^{3+} 減少量—mg per 200 ml : ($\times 10^{-4}$ mol)	39.6 (2.85)	100.6 (7.24)	200.4 (14.43)	220.6 (15.88)	229.2 (16.50)
Ca^{2+} 増加量—mg per 200 ml : ($\times 10^{-4}$ mol)	16.4 (4.09)	44.2 (11.03)	88.0 (21.96)	95.4 (23.80)	95.6 (23.85)
$\text{La}^{3+} : \text{Ca}^{2+}$ 交換モル比	2 : 2.88	2 : 3.04	2 : 3.04	2 : 3.00	2 : 2.92
イオン交換率 (%)	100	100	98.2	71.2	54.6

表3 ヒドロキシアパタイトの希土類イオン希土類イオン (Y^{3+}) 交換特性

初期濃度 (ppm)	191	513	1050	1580	2120
Y^{3+} 減少量—mg per 200 ml : ($\times 10^{-4}$ mol)	38.2 (4.30)	102.6 (11.54)	154.2 (17.34)	167.0 (18.78)	176.0 (19.80)
Ca^{2+} 増加量—mg per 200 ml : ($\times 10^{-4}$ mol)	24.8 (6.19)	64.0 (15.97)	98.0 (24.45)	104.0 (25.95)	108.0 (26.95)
$\text{Y}^{3+} : \text{Ca}^{2+}$ 交換モル比	2 : 2.88	2 : 2.76	2 : 2.82	2 : 2.76	2 : 2.72
イオン交換率 (%)	100	100	73.4	52.8	41.5

達した。

表2,表3および Sm^{3+} イオンに対する吸着実験(2)の結果から,溶液中の希土類イオンの初期濃度とイオン交換量との関係を図4にまとめて示す。初期濃度 7 mmol/l 以下ではほぼ100%イオン交換し,それ以上の濃度においては,イオン交換量の大きさは $\text{Y}^{3+} > \text{La}^{3+} > \text{Sm}^{3+}$ の順を示した。これらの結果を下記の Langmuir 型吸着等温式

$$C/(x/m) = 1/(a \times b) + C/a$$

C: イオンの平衡濃度 (mmol/l)

x/m: イオン交換量 (mmol/g-HAP)

a, b: 定数

によって整理した。図5に示すように Langmuir プロットでは,いずれの希土類イオンの場合でも平衡濃度 (C) と $C/(x/m)$ とは良い直線性を示した。

次に,合成 HAP の粒子形状の違いがイオン交換特性におよぼす影響について検討した。図6にその結果を示す。HAP1 は,高 pH 条件下で合成した微細な針状粒子で結晶化度が低い HAP である。HAP2 は,中性に近い pH 条件下で合成し,大きく成長した柱状粒子で結晶化度の高い HAP である。HAP3 は, HAP1 を 1000°C で熱処理したもので板状に成長した結晶化度の高い HAP である。微細な針状結晶である HAP1 の場合に最も高いイオン交換能が認められ, HAP は結晶化度の高く,かつ比表面積が低くなるにつれてイオン交換能が低下する傾向を示した。

このことから,高 pH 領域で合成した HAP が,イオン交換機能剤として最も適しているといえる。以後の検討では HAP1 サンプルのみ使用した。

図5 希土類イオン (La^{3+} , Y^{3+} , Sm^{3+}) に対する HAP のイオン交換特性 (Langmuir プロット)

図6 結晶化度の異なる HAP のイオン交換能の変化

図7 HAP の陽イオン交換速度

まず,イオン交換速度について HAP と強酸性陽イオン交換樹脂 (IRA) の性能を比較するため,希土類イオンの Y^{3+} イオンを中心に調べた。その結果を図7に示す。図より明らかなように, Y^{3+} イオンと HAP のイオン交換反応は,市販の陽イオン交換樹脂の場合に比べて,短時間で急激に進行し約 1 min で終了した。また, La^{3+} イオンの場合にも同様の結果であった。

つぎに, Y^{3+} イオン溶液について吸着実験(3)を実施し, HAP の陽イオン交換特性に対する pH の影響を検討した。pH 4, 5 および 6 の3条件での陽イオン交換後の溶液中の残留 Y^{3+} イオン濃度とイオン交換量との関係について, HAP と IRA との結果を図8に示す。HAP は, IRA に比べてイオン交換能に優れた結果を示

した。また、IRA の場合には、イオン交換特性は pH の変化に影響されずにはば一定であるが、HAP の場合には pH 4 の酸性領域でイオン交換量が急激に増加した。この現象は、表 4 に示すように pH 4 の条件では、イオン交換モル比 Y^{3+}/Ca^{2+} が 2:3.4~3.7 (pH 5 および 6 の場合はほぼ 2:3) となり Ca^{2+} イオンの溶出量が多くなっていることから、 H^+ イオンの介在によって結晶中の Ca^{2+} イオンの溶出が容易になり、イオン交換反応が進行しやすくなったことによると考えられる。

図 9 に pH 4 の条件で Y^{3+} イオンとイオン交換した HAP の X 線回折線図の変化を示す。 Ca^{2+} イオンの約 40% 以下をイオン交換した HAP (図 9-(b), (c)) の場合には、もとの HAP (図 9-(a)) に比べて結晶構造の変化はほとんど見られないが、 Ca^{2+} イオンの約 77% をイオン交換した HAP (図 9-(d)) の場合は非晶質化した。また、前述の表 4 に示したように、条件 (d) での Y^{3+}/Ca^{2+} のイオン交換モル比は (b) および (c) に比べて Ca^{2+} イオ

ンの割合が小さくなっており、見掛け上 Ca^{2+} イオンの溶出がわずかながら抑制されていることがわかる。同様な現象は、三宅らにより Sn^{2+} イオンとの陽イオン交換においても確認されている⁹⁾。このことから、酸性領域で使用不可であるといわれている HAP は、希土類イオンなど比較的高濃度のある種の陽イオンに対しては非晶質化してイオン交換し、陽イオンを固定化することが期待できる。

以上より、希土類イオンに代表される HAP の陽イオン交換特性は、pH 5~6 の酸性領域でもイオン交換機能を持つことが明らかになった。

3.3 BSA に対する吸着特性

HAP は有機物質に対し表面吸着型で作用し、吸着力の強さは、吸着物質の表面構造と HAP 表面との相互作用によって決定される。HAP はとくにタンパク質、核酸、酵素などの生体高分子に選択性が高くこれら生理活性物質の活性を損なうことなく分離・精製ができることから、液体クロマトグラフィー用カラム充填材として生化学の基礎研究の分野で多用されている。

図 10 に HAP に対する酸性タンパクの一種である BSA

図 8 HAP のイオン交換特性に及ぼす pH の影響

図 9 希土類イオン (Y^{3+}) 交換前後の HAP の X 線回折線図

(a) original HAP (b) HAP 添加量: 1.5 g
(c) HAP 添加量: 1.0 g (d) HAP 添加量: 0.5 g

表 4 pH 4 の酸性溶液中での Y^{3+} イオン交換特性 (表中の(b)~(d) は図 9 の記号に同じ)

HAP 試料重量 (g)	: 0.5 (d)	1.0 (c)	1.2	1.5 (b)	1.7
Y^{3+} 減少量—mg per 200 ml : ($\times 10^{-4}$ mol)	200.0 (2.250)	200.0 (2.250)	200.0 (2.250)	200.0 (2.250)	200.0 (2.250)
Ca^{2+} 増加量—mg per 200 ml : ($\times 10^{-4}$ mol)	154.8 (3.862)	164.8 (4.112)	164.8 (4.112)	168.8 (4.212)	168.8 (4.212)
Ca^{2+} の交換率 (%)	77.6	41.3	34.4	28.2	24.9
イオン交換量 (mmol/g-HAP)	4.50	2.25	1.87	1.50	1.32
$Y^{3+} : Ca^{2+}$ 交換モル比	2 : 3.43	2 : 3.66	2 : 3.66	2 : 3.74	2 : 3.74
イオン交換後の溶液 pH	4.5	4.59	4.58	4.65	4.64

図10 BSA に対する HAP の吸着等温線

図11 HAP に吸着した BSA などの溶離

の 0.01 M リン酸ナトリウム緩衝液中での吸着等温線の一例を示した。BSA の吸着量は図に示すように pH に大きく影響され、pH 6.8 以下の場合に吸着量が大きい。このような吸着特性は、HAP の電荷零点（およそ pH 6.5~7.5）と BSA の等電点（ $pI=4.8$ ）との関係³⁾から説明することができる。すなわち、pH 4.8~6.5 においては両者の電荷が異なるため吸着しやすく、一方 pH 8 以上では電荷がともに負になるためほとんど吸着しない。

(24)

図12 ラット脳抽出プロテインキナーゼ-C の分離

Column: 7.6φ×50 mm

Gradient Elution; A→B (230 min)

A: 20 mM KpB (pH 7.5)

0.5 mM EGTA, 0.5 mM EDTA, 10 mM 2-mercaptoethanol, 10% glycerol

B: 800 mM KpB (pH 7.5)

0.5 mM EGTA, 0.5 mM EDTA, 10 mM 2-mercaptoethanol, 10% glycerol

Flow rate; 0.4 ml/min

Detection; UV 280 nm

Sample; 0.2 mg

HAP に吸着した BSA の溶離は、高濃度のリン酸緩衝液により行うことができる。図11に pH 6.8 の溶液の中で HAP に吸着させた BSA を直線濃度勾配法により溶離した結果を示す。この場合には、約 0.2 M で BSA が溶離できた。

高速液体クロマトグラフィ (HPLC) により、ラット脳抽出液からプロテインキナーゼ-C を抽出・分離した結果を図12に示す。EDTA および EGTA を溶離液に加えて分離を行った結果、 α 型と $\beta+\gamma$ 型との分離ができた。本結果は、キレート剤の存在下でも有機物質の分離が可能であることを示しており、HAP の吸着分離機能を活かした生化学分野での多くの実サンプルへの適用が期待される。

4. お わ り に

液相中での各種の陽イオンについて著者らが合成した HAP の吸着特性を検討し、次のことが明らかになった。

(1) 液相中での陽イオンの吸着は、イオン交換反応によるものと考えられる。

(2) HAP は pH 5~6 の酸性領域でも使用可能で、安定して陽イオンとイオン交換する。

(3) イオン交換速度は、強酸性イオン交換樹脂よりも大きく、また交換能も優れている。

(4) HAP のイオン交換能は、結晶化度の低い、比表面積の大きい条件で合成したものが良好である。

(5) タンパク質などの有機物質の分離にも有効である。

アパタイトの無機系イオン交換体あるいは吸着剤としての機能はまだ十分に解明されておらず、今後、多くの機能解明を通じて、最近注目を集めている地球環境問題に対する解決手段の一材料として、地球に優しいアパタイトが多くの分野で活用されて行くものと期待される。

参 考 文 献

- 1) 川井隆夫, 谷岡 隆, 今西信之: 資源処理技術, Vol. 37, No. 1, 15 (1990)
- 2) 鈴木 喬: 日本海水学会誌, Vol. 43, No. 2, 93 (1989)
- 3) 三宅通博: Gypsum & Lime, No. 218, 48 (1989)
- 4) 三宅通博, 小林智雄, 鈴木 喬: 窯業協会誌, 94, 8, 136, (1986)
- 5) V. HLADY and H. Furedi-Milhofer: J. Colloid Interface Sci., Vol. 69, No. 3, 460 (1979)