

非晶質炭酸カルシウムの結晶化に及ぼす貧溶媒添加の影響

日大生産工(院) ○染谷 柁至
日大生産工 田中 智

【緒言】

iPS 細胞の定着および分化を効率的に制御するために高比表面積を有する均一で規則的なメソ細孔構造を持つ新しい足場材料の開発が求められている¹⁾。均一で規則的なメソ細孔構造は細胞の定着面積が広いこと、高密度の細胞培養に適している²⁾。また、多孔質構造と高い連通性により、iPS 細胞は足場内で効率的に栄養やガス交換を行え、細胞の生存率や分化が促進される。このように、足場材料には高い力学的強度と生体適合性が必要とされ、高い連通性と制御可能で規則的配列を持つ多孔質構造を有していることが重要である³⁾。この要件を満たす候補の一つとして、規則的配列を持つメソ多孔質炭酸カルシウム(以下、OMPCC を記す)が挙げられる。OMPCC は生体適合性が高く、細胞に安全な環境を提供できる可能性があるため、再生医療や組織形成における理想的な足場材料として期待されている。大磯らが合成したメソ多孔質炭酸カルシウム⁴⁾は、細孔配列の規則性が低く、比表面積が $203.2 \text{ m}^2/\text{g}$ と細胞の定着面積が少ないため、高密度の細胞培養に適していない。本研究では規則的配列を持ち比表面積が $1000 \text{ m}^2/\text{g}$ となるような OMPCC の合成を目指す。OMPCC の合成方法として、細孔径の制御が可能な分子テンプレート法を使用した MCM-41 の合成方法を参考に、シリカ壁材を生体親和性の高いカルシウム塩に置換できれば、iPS 細胞用の新規な足場材料としての応用が期待できる。

分子テンプレート法により OMPCC を合成するためには、ミセルの隙間にコロイド状の炭酸カルシウムを流し込む必要がある。このため、結晶性の炭酸カルシウムと異なり、流動性が高く柔軟な、非晶質炭酸カルシウム(以下、ACC と記す)が必要となる。小嶋らが報告した ACC の合成⁵⁾において、アセトンによる過度な脱水により、結晶性の炭酸カルシウ

ムを生成したことから、水分子を過度に脱水しないことが ACC の生成に優位となることが推察される。

Ü. GEDİKLİ らが行った臭化セチルトリメチルアンモニウム(以下、CTAB と記す)を分子テンプレートとして用いた MCM-41 の合成方法⁶⁾の中で、TEOS の加水分解により水溶液中に約 12 vol% のエタノールが生成する。このことから、CTAB はアルコールのような貧溶媒存在下でも自己組織化することが推察される。これらの知見に基づけば、過度に脱水しない貧溶媒の共存が、ACC の非晶質状態を維持しつつ OMPCC の合成に役立つ可能性がある。CTAB 水溶液中で TEOS を加水分解後、24 時間程度で MCM-41 の前駆体が生成する。これらのことから、CTAB が自己組織化するアルコール濃度、約 12 vol% の水溶液中で、24 時間にわたり、ACC が生成および、維持できる条件について、検討する必要がある。本報告では、ACC の非晶質状態を 24 時間程度維持するのに必要な条件について検討した。

【実験方法】

本実験は小嶋らの ACC 生成条件⁵⁾を参考に、洗浄溶媒および、添加する貧溶媒の濃度を変更して行った。室温において 0.1 M CaCl₂ 水溶液を同濃度の Na₂CO₃ 水溶液中に同体積加えた。反応溶液の総体積を 50 cm³ とした。貧溶媒の濃度は 0~80 vol% であり、反応時間は 0~24 h である。反応直後にアスピレーターを用いて吸引り過ぎ、過度に脱水しない貧溶媒で洗浄した。用いた溶媒はアセトン、メタノール、エタノール、1-プロパノールおよび、2-プロパノールである。それぞれの溶媒の蒸発エンタルピー (ΔH_{vap}) はそれぞれ 29.0, 35.21, 38.6, 41.0 および、43.4 kJ/mol である。得られた固相生成物を減圧乾燥後、粉末 X 線回折法(以後、XRD と記す)で結晶相の同定を行った。

Effect of Poor Solvents Addition on Crystallization of Amorphous Calcium Carbonate

Shuji SOMEYA and Satoshi TANAKA

【実験結果および考察】

1) ACC生成に及ぼすアルコールの影響

ACC の非晶質状態を維持するのに有効な溶媒を明らかにするために、反応時間 0 s, 洗浄ありの条件で、各種貧溶媒の濃度を 0~50 vol% に変化して、ACC の合成を試みた。メタノールの系において、全ての濃度条件で ACC が得られた。一方、メタノール以外の系において、0 vol% を除く、10~50 vol% の条件において ACC が得られた。以上の結果より、 ΔH_{vap} が低い溶媒ほど、ACC が得られやすいことが明らかとなった。以降、メタノールを貧溶媒とした系の実験結果を記す。

2) ACC 生成に及ぼすメタノール濃度の影響

反応時間 0 s, メタノール濃度を变化させて得られた生成物の XRD パターンを Fig. 1 に示す。Fig.1 中、a) 洗浄なし、b) 洗浄ありの結果を示す。Fig.1 a) 中、メタノール濃度の増加に伴い、結晶相の回折線強度は減少し、得られた生成物は ACC に変化した。Fig.1 b) 中、得られた生成物はすべての条件で ACC が確認された。同反応条件の生成物にもかかわらず、生成物の種類が異なる結果となった。これは、洗浄操作後、生成物が乾燥するまでの間、生成物中に水が存在していたために起こったことが考えられる。

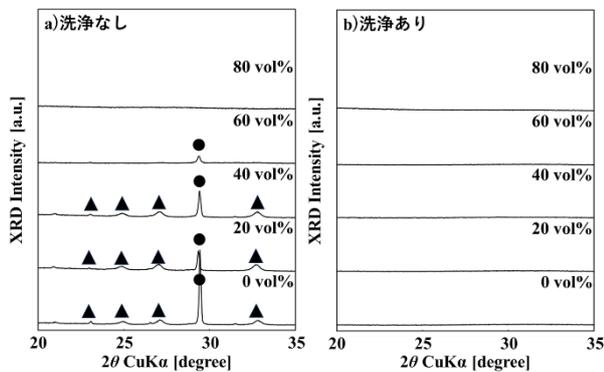


Fig. 1 反応時間 0 s で、メタノール濃度を变化させて得られた生成物の XRD パターン
a) 洗浄なし、b) 洗浄あり ●カルサイト、▲バテライト

3) ACC 生成に及ぼすメタノール反応時間の影響

Fig.1 a) と Fig.2 a) を比較すると、反応時間の増加に伴い、高濃度の溶媒中で生成物結晶の成長が確認された。一方、a) 図と b) 図を比較すると、十分に試料が乾燥した場合、生成物は非晶質となることが確認された。洗浄溶媒の濃度が高いほど、生成物の脱水が起こり、非晶質状態が維持される。以降、99.8% メタノールを洗浄溶媒とした系の実験結果を記す。

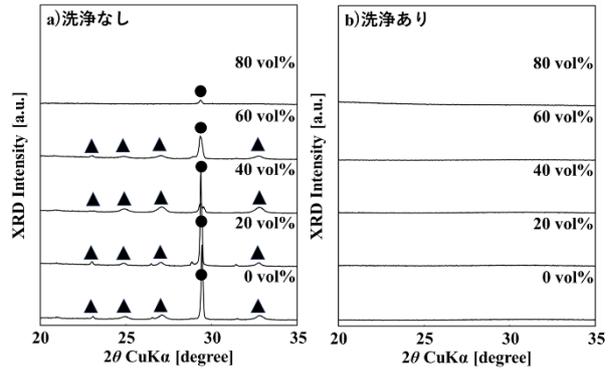


Fig. 2 反応時間 60 s で、メタノール濃度を变化させて得られた生成物の XRD パターン
a) 洗浄なし、b) 洗浄あり ●カルサイト、▲バテライト

4) ACC の非晶質状態の維持時間に及ぼすメタノールの影響

メタノール濃度 80 vol% の洗浄ありの条件で、反応時間を变化させて得られた生成物の XRD パターンを Fig.3 に示す。炭酸カルシウムの非晶質状態は 24 時間まで維持していることが確認された。

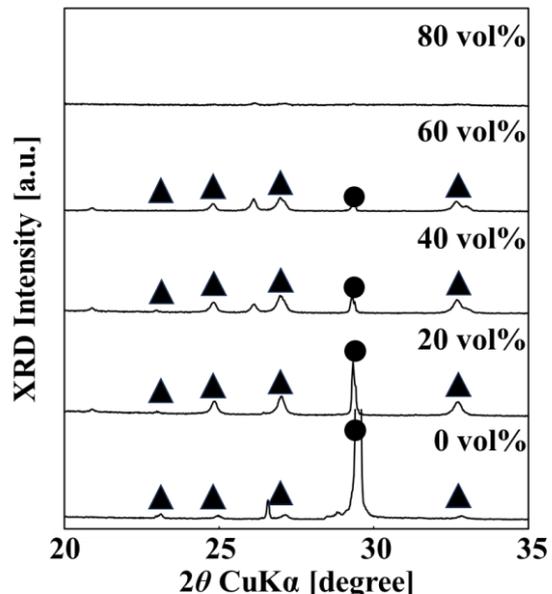


Fig. 3 洗浄ありの条件で、反応時間を变化させて得られた生成物の XRD パターン
●カルサイト、▲バテライト

【参考文献】

- 1) M. Tanaka, *Journal of the Society of Materials Science, Japan*, **68** (8), 656-661 (2019).
- 2) A. Kinoshita et al., *Journal of Japan Institute of Electronics Packaging*, **13** (3), 200-203 (2010).
- 3) G. Chen et al., *The Japan Society of Mechanical Engineers*, **25** (0), 39-40, (2013)
- 4) T. Oiso, *Journal of the Society of Powder Technology, Japan*, **51** (12), 816-822 (2014).
- 5) Y. Kojima et al., *Journal of the Ceramic Society of Japan*, **101** (10), 1145-1152 (1993).
- 6) Ü. GEDİKLİ et al., *Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Ser. C Biology*, **29** (2), 23-29 (2020).