

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：53203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05282

研究課題名(和文) 結晶成長履歴から読み解くリン酸カルシウム塩のモルフォロジー相転移機構

研究課題名(英文) Unveiling morphology phase transition mechanism of calcium phosphate system from crystal growth record

研究代表者

豊嶋 剛司 (TOSHIMA, TAKESHI)

富山高等専門学校・その他部局等・准教授

研究者番号：60447076

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：第二リン酸カルシウムの粒子形状制御技術の確立を目的とし、原料溶液を超音波ネブライザーでナノミスト化し、原料混和速度を抑制することで粒子形状の経時変化を詳細に追跡した。旧来法で得られてきた平板状(2次元)や花冠状(3次元)に加えて、新たに針状(1次元)の粒子が得られる結晶成長環境を明らかにした。異方的成長が実現する環境は、結晶表面の帯電状況が陽イオンであるカルシウムイオンの空間分布に影響を及ぼすくらい濃度が低い初期過程に限定されることが明らかとなった。得られた結果を元に異方的溶解性を有するクエン酸イオン共存環境での検討実験を行った所、長板化や花冠状粒子を形成する個々の花弁の針状化に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

第二リン酸カルシウムの溶液合成では反応に水素イオンの放出を伴う。反応時の濃度変化にpH変化も伴うため結晶の溶解度が変化する。そのため溶液混和の精密制御が重要であり、ナノミスト噴霧による溶液混和抑制法の成果は、溶液の混合合成で得られる他の結晶系にも波及効果が期待される。また、合成初期過程における形状変化観察の重要性について改めて発信されることも意義があると言える。粒子形状変化は表面状態の変化に伴う化学的特性だけではなく、粉体の操作性という物理的特性にも影響を及ぼし、材料を変更せずに性能を向上させうる。同じ化学物質であれば操作性も同一と思われる先入観を変え、材料科学の重要性を改めて宣伝できた。

研究成果の概要(英文)：The morphology of dicalcium phosphate dihydrate change over time was traced in detail by controlling the starting solution mixing rate by nano-misting the solution with an ultrasonic nebulizer.

A new crystal growth environment that yields needle-like morphology has been identified. The environment in which anisotropic growth is realized is limited to the initial process when the concentration of calcium ions is low enough to affect the spatial distribution of calcium ion on the crystal surface. Needle-like particles are obtained when cations are attracted to negatively charged crystal faces and become highly concentrated, resulting in a higher growth rate on those crystal faces than on other faces.

Based on the obtained results, experiments were conducted in the presence of citrate ions, that dissolve the particles anisotropically, the researcher succeeded in creating long plate-shaped particles and sharpened corolla-like particles.

研究分野：結晶成長

キーワード：結晶成長 リン酸カルシウム モルフォロジー

1. 研究開始当初の背景

(1) 第二リン酸カルシウム(DCPD:CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O)は他のリン酸カルシウム塩の前駆体としての生体材料分野や、溶解度の低いハイドロキシアパタイト(HAp: Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>)に転化する際に水溶液中に共存するフッ化物イオンや重金属イオンを結晶構造内に取り入れ、固定化する性能を利用した環境材料分野などで研究されている。使用される環境は生体表面や内部、排液処理や土壌混和など多岐に渡ることから、化学的性能に加えて物理的性質もまた重要となる。申請者はDCPD粒子のモルフォロジー制御技術により、平板状粒子と花冠状粒子の作り分け技術の水溶液合成環境における初期pHや過飽和度、共存イオンや溶液の混合プロセスによって確立し、粒子形状が粉体の物理的性質である沈降性や固液分離効率、流動性や透水性において影響を有することを報告した。これまでに確立された粒子形状の主な構造は平板状の2次元構造と、平板が入れ子構造となった花冠状の3次元構造であり、新たに針状の1次元構造や、厚み方向に成長した3次元構造への制御可能となれば、更なる用途拡大といった波及効果が期待される。

(2) 中谷宇吉郎が人工雪の創製において「雪は天からの手紙である」という言葉を遺し、また砂川一郎が「宝石は語る-地下からの手紙-」という著書を遺したように申請者は結晶のモルフォロジーにおいて外観や内部構造を知ることは、その粒子が経てきた環境を知る上で有効な手段と考えた。DCPDは主にカルシウムイオン溶液とリン酸イオン溶液の混和による液相反応で合成されるが、水素イオンの放出が伴う。過飽和度は溶液濃度と環境のpHに依存することから、中谷ダイアグラムのように温度と過飽和度をパラメーターにしたモルフォロジーにおける相転移現象と比べ、本系は更に多面的に評価ができる系であると期待される。申請者は溶液混合法における初期pHと初期過飽和度をパラメーターとしてDCPDにおけるモルフォロジー相図を報告した。しかし、改めて上記の観点から混和方法を精密制御する必要があると考え、溶液滴下に切り替えた結果、得られるモルフォロジーが混和方法にも依存することを確認した。今までには無い特異な形状の粒子が得られた時、初期過程の結晶核生成時の条件や、結晶成長時の環境を再現することは上記の理由により困難ではある。一方で、結晶成長履歴を観察することで核生成の環境や、成長中に通過した環境を読み解けるとの中谷や砂川の主張は、結晶の成長方位変化といった特異形状粒子を得るための基礎的知見が得られることを示唆しており、DCPD粒子においても結晶成長その場観察に加えて、得られた粒子の成長履歴を読み解くことが重要である。

2. 研究の目的

本研究は、異なる使用環境に特化した物理的・化学的性質を有する粒子形状への作り分け技術を確認する基礎研究として、各結晶面が成長するのに適した核生成初期条件と結晶成長時の環境の両条件を、その場観察や得られた粒子の表面構造と晶癖変化の履歴を観察することで明らかにすることを目指した。特に、これまでに選択的合成には実現していない針状の1次元成長条件を解明することに加えて、平板状粒子が凝集することで花冠状へと3次元的に成長する場合と、平板状粒子が厚肉化して3次元的に成長する場合との3次元成長相転移条件の差異を解明することを目的と定めた。

3. 研究の方法

(1)-1: ナノミストを用いた疑似気相合成法

本研究では人工雪の結晶成長システムを参考として気相合成と液相合成の長所を有するナノミストを用いた疑似気相合成法を試みた(図1)。原料溶液となるカルシウムイオン溶液とリン酸イオン溶液はそれぞれ初期pHと初期濃度をパラメーターとして定め、超音波ネブライザー(アルフレッサファーマ製、UN-70型)を用いてナノミスト化を行い、キャリアガスで流量制御を行い両イオン溶液のミストを反応場で混和し、前駆体ナノミストを生成、結晶捕集ファイバー上に生成した結晶核や成長後の粒子に対し、ノズルからの距離により成長度の異なる試料を得ることを初年度は試みた。

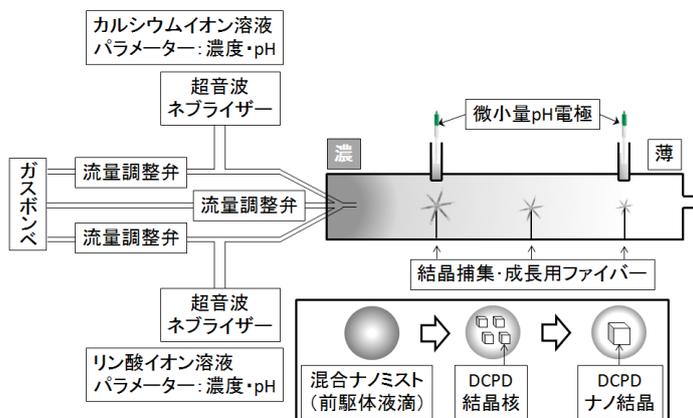


図1. ナノミスト疑似気相合成法システム概要

(1)-2: ナノミスト噴霧による溶液混和抑制法への計画変更

疑似気相合成法を用いた合成実験において得られた粒子形状は使用した出発溶液を混和した際に得られる粒子形状と差異は見られなかった。また、キャリアガスの流量を高めた場合に超音

波ネブライザーへの逆流が確認され、当初予定の実験システムを変更し、一方の溶液を攪拌している空間中に他方の溶液をナノミスト化した雰囲気環境での合成に変更を加えた。反応時間毎に固相試料を回収し、得られた粒子形状の経時変化を走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察や収束イオンビーム加工機 (FIB) による断面評価、透過型電子顕微鏡 (TEM) による結晶構造と結晶成長方位の評価を行い、結晶成長履歴の追跡を試みた。

(2) 共存イオンとしてクエン酸を添加した液相合成法

(1)-2 の実験の結果、新たな知見として針状の 1 次元形状に成長する条件が確認された。得られる条件として、リン酸イオン溶液に対してカルシウムイオン溶液を噴霧した際の不定形状の結晶核生成から結晶成長が始まる初期過程にのみ  $10\bar{1}$  結晶面が選択的に成長し、針状粒子が得られる。一方で、 $Q_{in}$  らによって原子間力顕微鏡を用いて DCPD 粒子表面の溶解挙動の経時変化を分析し、上述の結晶面が負に帯電していることによって共存するクエン酸イオンのキレート効果に影響を及ぼし、異方的溶解挙動が生じたモデルが提唱されており、今回得られた後述の針状粒子の生成機構を矛盾なく説明ができる。この結果を受け、生成粒子の異方的溶解挙動を示すクエン酸イオンを共存させた状態で結晶合成を行った場合に針状粒子の選択的成長が生じる結晶成長条件が緩和されることが期待し、クエン酸イオン共存環境での液相合成を試みた。カルシウムイオン溶液とリン酸イオン溶液に対し初期 pH と各イオンの初期濃度に加えてクエン酸イオン濃度をパラメーターとした 3 つのパラメーターに対して生成粒子の形状変化について検討した。

#### 4. 研究成果

(1) ナノミストを用いた疑似気相合成法においては前述のように使用する出発溶液の組み合わせで得られる通常の液相合成法と差異の無い粒子形状が確認された。図 2 に溶液の初期 pH 5.5、初期濃度 0.4 [mol/L] における生成物の SEM 写真を示す。これは両溶液を一度に混和すると平板状粒子が得られる条件であり、ナノミストの噴霧量や供給速度、回収する場所によっても粒子形状の差異は確認されなかった。

続いて行われたナノミスト噴霧による溶液混和抑制法の実験結果について報告する。図 3 に示すように噴霧する溶液の組み合わせで形状変化が確認された。リン酸イオン溶液を噴霧した場合は通常の合成法と差異の無い平板状粒子が得られたのに対し、カルシウムイオン溶液を噴霧した場合は異方性の強い針状粒子への変化が確認された。これは XRD 測定においても同様であり、どちらも DCPD 単相でありながら結晶面のピーク強度比が異なる結果が得られた。平板状粒子におけるアスペクト比は最大で 1:2 程度に収まるのに対し、針状粒子では最大で 1:20 となった。実験結果として、**カルシウムイオン供給速度が抑制された結晶成長環境で DCPD 粒子は異方性の高い成長を示すことが明らかとなった。**

過去の研究においてカルシウムイオン溶液とリン酸イオン溶液の混合に対し、一方の溶液を他方の溶液に滴下する条件では平板状粒子と花冠状粒子が生成物として得られたが、その滴下の組み合わせによって存在比が異なることが確認されており、ナノミスト噴霧による溶液混和抑制法は、その形状変化がより顕著に現れることとなった。

(2) 針状粒子生成条件を明らかにするため、カルシウムイオン溶液噴霧条件において粒子形状の経時変化を観察した。初期 pH 5.0、初期濃度 0.4 [mol/L] の溶液を使用した場合、噴霧開始から 60 分程度までは固相を殆んど得られず、0.45 $\mu$ m メンブレンフィルターで回収できた固相試料は不定形状のものが大半であった。80 分程度の噴霧時間で得られた固相試料に均一性の高い針状粒子が確認され、噴霧時間と共に幅が増し、平板化を経てから積層構造を作り、方位に規則性の無い凝集構造としての花冠状へと変化していった。この経時変化は溶液の初期 pH を変化させても同様の傾向が見られた。固相試料の生成は**針状粒子に成長する環境は初期段階に限定される。その後、形状は平板状から凝集性を増して積層構造から花冠状に変化することが明らかとなった。**

(3) ナノミスト噴霧による溶液混和抑制法は初期の不定形粒子が得られる時間帯が長く、結露した溶液がピーカ

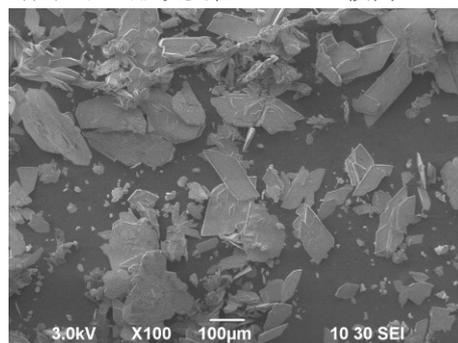


図 2. ナノミストを用いた疑似気相合成法における DCPD 粒子の SEM 写真(使用した溶液の初期 pH 5.5, 初期濃度 0.4 [mol/L])

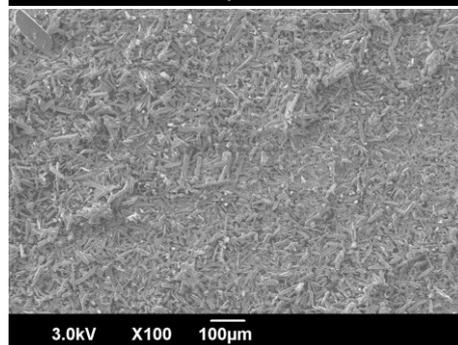
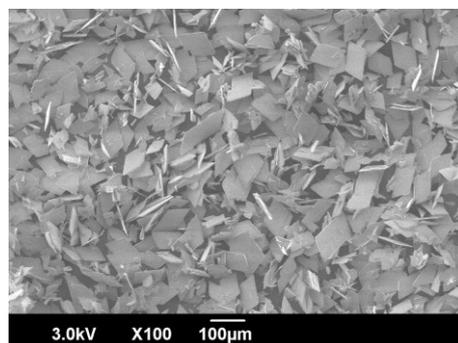


図 3. ナノミスト溶液混和抑制法で得られた DCPD 粒子の SEM 写真  
上：リン酸イオン溶液噴霧  
下：カルシウムイオン溶液噴霧

一内へ滴下すること、また反応途中でろ過による固液分離作業での反応環境の変化等で条件のバラつきが不可避であった。モルフォロジー変化の傾向には再現性が確認されたものの、反応時間に若干の差が生じたことから、回収時間を予め定めた底の浅い容器に溶液を分割して、回収することで結露や作業工程による合成環境変化の可能性を除外した。また、予めカルシウムイオン溶液を噴霧して結晶が生成始めるタイミングで一度ろ過作業を行う前処理液を出発溶液として用いることで、不定形粒子が得られる時間帯の短縮と実験の再現性向上を図った。図4に実験結果を示す。針状粒子が選択成長する環境は結晶核生成から核成長する初期の僅かな時間に限られ、カルシウムイオン濃度がリン酸イオン濃度と比較して極めて低い環境で異方的な成長(針状結晶への選択成長)が顕在化することが確認された。

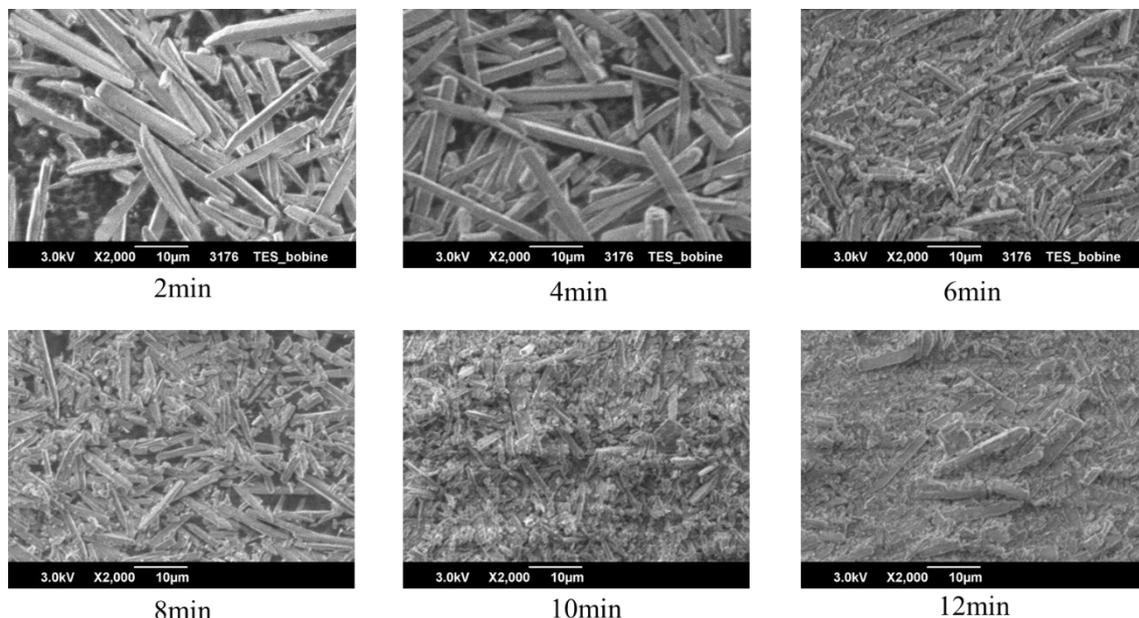


図4. 前処理液へのナノミスト噴霧による溶液混和抑制法で得られた固相試料の経時変化

(4) 得られた針状粒子の構造解析を TED により行った。その結果を図5に示す。電子線の照射方向は020面に垂直とした。針状粒子の長手方向の成長方位は $[10\bar{1}]$ であり、成長が抑制されている方位は $[101]$ であることが確認された。QinらがDCPD粒子表面に各濃度のクエン酸イオン溶液を暴露し、原子間力顕微鏡で溶解挙動を経時観察した先行研究<sup>[1]</sup>や、Wangらが行ったDCPD粒子表面における結晶面の帯電状況の報告<sup>[2]</sup>を元とし、本研究の異方的成長機構を提案する。先行研究ではキレート効果を有し、DCPD粒子の溶解を促すクエン酸イオンは負に帯電した $[10\bar{1}]$ 面とクーロン反発力により溶解速度が抑制されると報告している。本研究ではカルシウムイオン濃度が低い結晶成長初期において負に帯電した結晶面に陽イオンであるカルシウムイオンが引き寄せられ、異方的な空間分布を示し、他の結晶面より成長速度が速くなったと推測される。リン酸イオン溶液噴霧条件や、十分な時間経過後は、カルシウムイオン濃度が高く、このような結晶表面の帯電状態による濃度への影響が減じることで、説明が可能である。このような極めて低い濃度のカルシウムイオン共存環境が維持できたならば、高いアスペクト比の針状粒子の選択成長が可能と思われる。

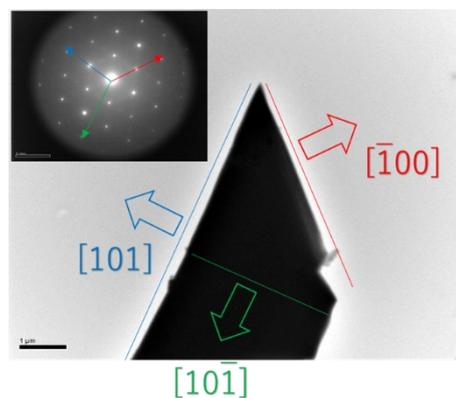


図5. 針状 DCPD 粒子の TEM 写真および TED 分析結果

(5) 針状粒子の選択的成長には固相へ取り込まれるカルシウムイオンの挙動を制御することが有効であることが本研究により明らかとなった。また、Qinらの報告においてクエン酸イオンはDCPDの異方的溶解を促す効果が報告されていることから、クエン酸イオン共存環境下で合成を行うことで針状成長が促進されれば、提案した成長機構の妥当性を検証できると判断し、実験手法として取り組んだ。実験条件として、クエン酸濃度は $0\sim 5.0$  [mmol/L]、初期 pH は $5.0\sim 8.0$ 、カルシウムイオンとリン酸イオンの各初期濃度を $0.01\sim 0.1$  [mol/L]に調整した出発溶液を用いた。形成機構の仮説検証を目的とすることから、本実験ではナノミスト化させた溶液の混合ではなく、各出発溶液を混和する手法を用いた。図6に各条件における固相のSEM観察とXRD分析、EDSによるカルシウム/リン比から分析した結果をまとめた相図を示す。左上から右下にかけて初期 pH $5.0\sim 8.0$ に相当し、横軸がクエン酸濃度の増加、縦軸は下に配されたものほど、カルシウムイオンとリン酸イオンの初期濃度が高い条件である。黄色で塗り潰された領域は溶液混合

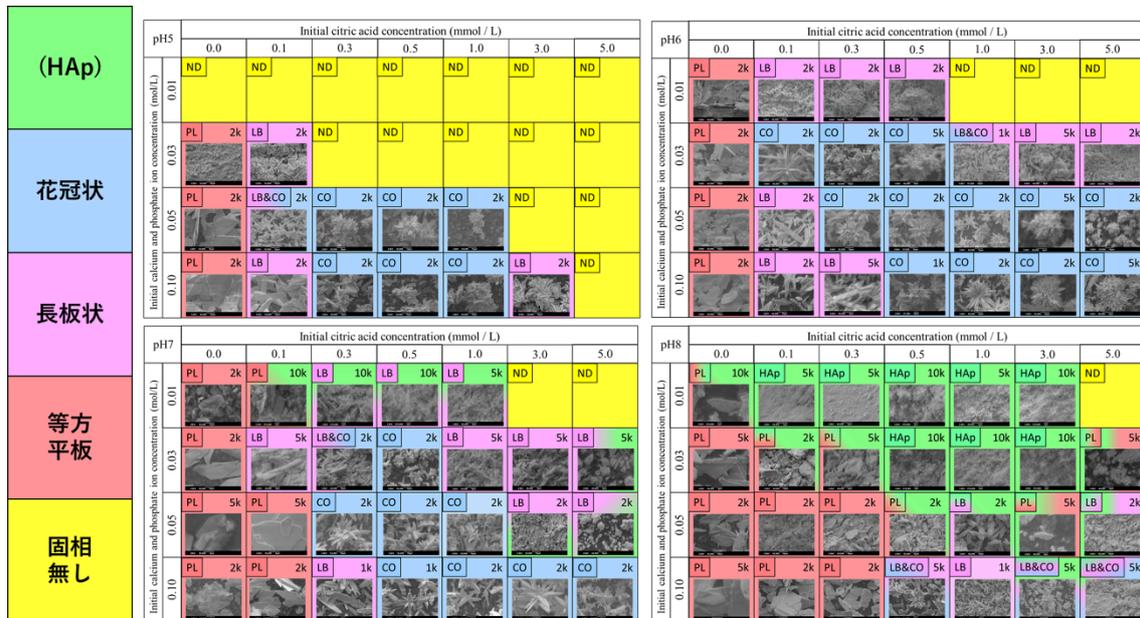


図 6. 各条件における固相試料の状態・モルフォロジー変化  
 (縦列：Ca・P イオン濃度) (横列：クエン酸濃度)  
 (左上：pH5 右上：pH6 左下：pH7 右下：pH8)

後 24 時間経過しても固相が得られなかった条件であり、緑色で塗り潰された領域は HAp が得られた条件となる。赤色は等方的な平板状粒子、ピンク色は異方性の高い長板状、青色は花冠状粒子が得られた条件となる。全ての条件に共通して得られた結果としてクエン酸が存在しない場合に平板状粒子が得られるのに対し、クエン酸イオンの増加と共に異方性の高まり、長板状粒子が生成した後に凝集して花冠状粒子へと転じることが確認された。これは先のナノミスト噴霧による溶液混和抑制の場合と同じ挙動であり、仮説の妥当性と、固相へ取り込まれるカルシウムイオンの抑制の有効性が示された。

図 7 に固相粒子の粒度分布測定結果を示す。クエン酸イオン濃度の増加において、SEM 観察の結果、個々の粒子は異方性が強まり、針状化が進行していく。途中で凝集性が増加して花冠状となったが、これはメディアン径の増加として現れている。個々の凝集粒子はほぼ同一のサイズとなることで標準偏差は減少に転じている。クエン酸イオン濃度の増加は図 6 の相図でも得られたように DCPD の粒子生成を阻害する。溶解の促進によって凝集粒子全体の径は減少していくが、凝集した粒子群のサイズは均一性を持っていることが示された。クエン酸濃度 0.3 [mmol/L] から 3.0 [mmol/L] までの範囲においては粒子形状と粒子サイズの高い均一性を保持した状態で、粒径を 15 [μm] から 30 [μm] 程度の範囲で選択合成可能であることが示された。また、高濃度のクエン酸イオンにより異方性が強まった針状粒子は最終的には花冠状形状を維持する強度は失われ、崩壊することで標準偏差の増加に転じていることが確認された。クエン酸イオン濃度の増加は DCPD 粒子の異方性を高めていく一方で、途中で粒子同士の凝集性が高まる。これは異方性の増加に伴って負に帯電した [101] 結晶面が粒子全体において占める割合が減少することで、粒子同士の反発力が減じ、凝集し易くなったものと推測される。

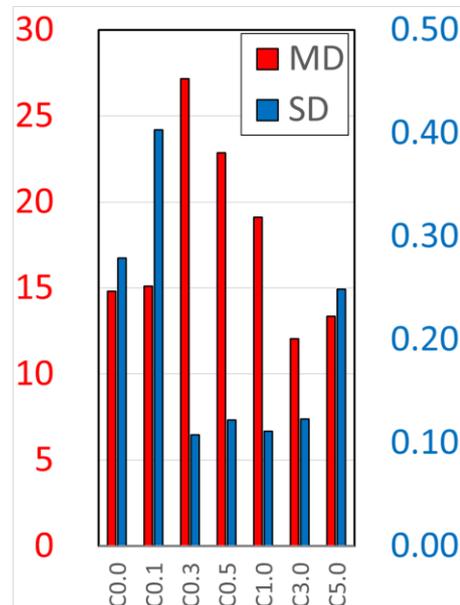


図 7. 初期 pH6.0 Ca・P イオン濃度 0.5 [mol/L] におけるメディアン径と標準偏差

<引用文献>

[1] Lihong Qin, et al. Direct imaging of nanoscale dissolution of dicalcium phosphate dihydrate by an organic ligand: concentration matters, Environ. Sci. Technol., 47, 23, 13365-13374, (2013).  
 [2] Lijun Wang, et al. Calcium orthophosphates: crystallization and dissolution, Chem. Rev., 108, 11, 4628-4669, (2008).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Takeshi Toshima, Daisuke Yamashita, Saori Takamatsu, Masamoto Tafu
2. 発表標題 Anisotropic crystal growth of dicalcium phosphate dihydrate by chemical micro-mist synthesis
3. 学会等名 4th International Conference on Innovations in Biomaterials, Biomanufacturing and Biotechnologies (Bio-4) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 豊嶋剛司、矢島樹、高松さおり、袋布昌幹
2. 発表標題 ミスト混合法によるリン酸水素カルシウム二水和物の晶癖変化履歴の追跡
3. 学会等名 日本セラミックス協会 2020年年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takeshi Toshima, Yuki Sato, Saori Takamatsu, Masamoto Tafu
2. 発表標題 Morphology dependence of dicalcium phosphate dihydrate in the powder operability
3. 学会等名 30th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuki Sato, Takeshi Toshima, Jun Umemoto, Saori Takamatsu, Masamoto Tafu
2. 発表標題 Morphology dependency of powder flowability of dicalcium phosphate dihydrate
3. 学会等名 第24回日本アパタイト研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuki Sugikawa, Takeshi Toshima, Saori Takamatsu, Masamoto Tafu
2. 発表標題 Dicalcium phosphate dihydrate morphology change by solution mixing process
3. 学会等名 第28回日本MRS年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeshi TOSHIMA, Daisuke YAMASHITA, Saori Takamatsu, Masamoto TAFU
2. 発表標題 Promotion of anisotropic crystal growth of Dicalcium Phosphate Dihydrate by micro-mist synthesis
3. 学会等名 13th International Forum on Ecotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 豊嶋剛司、山下大介、高松さおり、袋布昌幹
2. 発表標題 ミスト混合法によるリン酸水素カルシウム二水和物の異方的成長
3. 学会等名 公益社団法人日本セラミックス協会 2019年年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 豊嶋剛司、小坂駿太郎、高松さおり、袋布昌幹
2. 発表標題 クエン酸共存環境下におけるリン酸水素カルシウム二水和物のモルフォロジー変化
3. 学会等名 公益社団法人日本セラミックス協会 2022年年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------