

バイオミメティックミネラリゼーションによる  
結晶成長の統合的コントロール

-ボトムアップ型マイクロファブリケーション技術への応用を目指して-

2005年度

小太刀 明子

## 目次

第1章 緒言 .....	1
1. 本研究の背景 .....	2
1.1. トップダウン型とボトムアップ型マイクロファブリケーション技術 .....	2
1.2. バイオミネラリゼーションとバイオミネラル .....	4
1.2.1. バイオミネラリゼーションの特徴とその機構 .....	4
1.2.2. 炭酸カルシウム系バイオミネラル .....	5
1.2.3. シリカ系バイオミネラル .....	13
1.3. バイオメテックミネラリゼーション .....	15
1.3.1. 形態のコントロール .....	15
1.3.2. 結晶形のコントロール .....	22
1.3.3. 配向のコントロール .....	22
1.3.4. これまでのバイオメテックミネラリゼーションの問題点 .....	24
1.4. 溶液系での結晶成長とバイオメテックミネラリゼーション .....	25
1.4.1. 核形成と成長 .....	25
1.4.2. 結晶形 .....	26
1.4.3. 形態 .....	26
2. 本研究の目的 .....	28
第1章 参考文献 .....	29
第2章 炭酸カルシウム薄膜形成における水溶性・不溶性有機高分子の効果 .....	32
1. 目的 .....	33
2. 方法 .....	34
3. 結果と考察 .....	35
3.1. カルボキシ基を持つ水溶性高分子の効果 .....	35

3.1.1.	低分子量ポリアクリル酸の効果 .....	35
3.1.2.	高分子量ポリアクリル酸の効果 .....	36
3.1.3.	熱天秤による薄膜中のポリアクリル酸含有の確認 .....	39
3.2.	アルコール性水酸基水酸基を持つ不溶性高分子面共存による薄膜形成の確認 ....	40
3.3.	配向膜の形成.....	42
3.4.	薄膜形成のメカニズム .....	44
3.4.1.	ポリアクリル酸の炭酸カルシウムへの吸着による微細化 .....	44
3.4.2.	ポリアクリル酸によるカルサイトの誘起 .....	47
3.4.3.	ポリアクリル酸の分子量と吸着面の選択 .....	49
3.4.4.	薄膜形成における水溶性高分子の役割 .....	52
3.4.5.	薄膜形成における不溶性高分子の役割 .....	53
4.	結論 .....	54
	第2章 参考文献 .....	55
	第3章 薄膜から三次元形態への発展.....	56
1.	目的 .....	57
2.	方法 .....	58
2.1.	有機高分子共存による炭酸カルシウムの作製.....	58
2.2.	追加成長法.....	58
3.	結果と考察 .....	59
3.1.	膜状結晶の結晶形の分析 .....	59
3.2.	膜の結晶形を引き継いだ三次元形態の発現 .....	61
3.3.	薄膜の結晶形の判別.....	63
3.4.	貝の真珠層との比較.....	64
3.5.	三次元形態発現のメカニズム .....	65

4. 結論 .....	66
第3章 参考文献 .....	67
第4章 炭酸カルシウム薄膜形の結晶形の制御と環境因子 .....	68
1. 目的 .....	69
2. 方法 .....	70
3. 結果 .....	71
3.1. キトサン膜の結晶性と配向 .....	71
3.2. 外形の確認 .....	72
3.3. X線回折による結晶形の確認 .....	73
3.4. 追加成長法による結晶形の確認 .....	75
3.5. バテライト膜とアラゴナイト膜の成長速度 .....	77
4. 考察 .....	79
4.1. キトサン基板の影響 .....	79
4.2. 温度の影響 .....	80
4.3. 有機高分子による結晶形制御のメカニズム .....	81
5. 結論 .....	82
第4章 参考文献 .....	83
第5章 炭酸カルシウムとシリカの複合膜の作製 .....	84
1. 目的 .....	85
2. 方法 .....	87
3. 結果 .....	90
3.1. 炭酸カルシウムの形態変化 .....	90
3.2. アラゴナイト型結晶の形態変化 .....	93



3.2.1. 炭酸バリウム.....	93
3.2.2. 炭酸ストロンチウム.....	98
4. 考察 .....	99
5. 結論 .....	103
第5章 参考文献 .....	104
第6章 結言 .....	106
1. 本研究の総括 .....	107
2. 今後の展望.....	109
2.1. 残された課題.....	109
2.2. バイオメテックミネラリゼーションによるマイクロファブ리케이션の実現にむけて ....	110
付録 .....	111
本研究でを使用した薬品一覧 .....	111
本研究でを使用した結晶析出用基板 .....	111
本研究でを使用した分析機器一覧 .....	112
本論文に関わる発表論文 .....	113
本論文に関わる学会発表等 .....	113
あとがき .....	114
謝辞 .....	116

[本論文で使用した略語一覧]

PAA	Poly(acrylic acid)	ポリアクリル酸
PVA	Poly(vinyl alcohol)	ポリビニルアルコール
PAsp	Poly(aspartate)	ポリアスパラギン酸塩
PGlu	Poly(glutamate)	ポリグルタミン酸塩
ACC	Amorphous Calcium Carbonate	アモルファス炭酸カルシウム
SAM	Self-Assembled Monolayer	自己組織化単分子膜
AFM	Atomic Force Microscope	原子間力顕微鏡
FE	Field-Emission	電界放射型
SEM	Scanning Electronic Microscope	走査型電子顕微鏡
TEM	Transmission Electron Microscopy	透過型電子顕微鏡
FT	Fourier Transform	フーリエ変換
IR	Infrared	赤外

# 第1章 緒言

---

## 1. 本研究の背景

### 1.1. トップダウン型とボトムアップ型マイクロファブリケーション技術

彫刻のような削り出しの方法と建築物のような土台からくみ上げる方法をそれぞれトップダウン型ボトムアップ型と呼ぶ。現在、主として前者が産業に利用されている。図 1-1に示した周期的な微細パターンは、トップダウン型マイクロファブリケーション技術の代表であるマイクロリソグラフィ技術により作製された円柱のアレーである<sup>1</sup>。この技術は主として集積電子回路部品産業上重要な技術となったため、技術開発が進み、現在ではナノメートルオーダーのパターンの形成も可能な技術に発展した<sup>2</sup>。マイクロリソグラフィ技術は作製したい構造体の高さに相当する厚みの均一な材料を基板につけ、不要なところをエッチングで除くことにより、微細構造体を基板上に残すという「版画」と同じ技術である(図 1-2a)。従って使用したい材料の非常に薄い均一な膜を形成する必要があり、その方法には気相の薄膜成長法である CVD (Chemical Vapor Deposition、化学的気相成長)法や PVD (Physical Vapor Deposition 物理的気相成長)法が用いられる。この方法は高真空下で高エネルギー状態に励起された“気体”状の分子・原子・イオンを、“固体”に戻すという方法であるため、エネルギー消費量は著しく高い。構造体として残したい箇所は予めエッチングされないようにその箇所にマスキングを施す必要がある。マスキングエリアは縮小投影露光法により決めている。この露光法に使用されているのは通常紫外線だが、構造体のサイズを小さくするには波長を短くする必要がある。図 1-1の報告で使用されているのは高エネルギー線である電子線で、これより小さい数十ナノメートルレベルの構造体の作製には X 線も利用される。X 線はシンクロトロン放射光を使用するなど設備規模も膨大になる。エッチング自体も異方性を高め、設計通りの構造体を得るため、高真空下でのイオンプラズマエッチングやマイクロ波を使用したエッチング方法を使い、気相で作製した高純度の薄膜の大部分を再度気化して産業廃棄物として排出する。このトップダウン型の技術は多量のエネルギーを費やしてでも、意図した通りの構造を実現することができるために利用されてきたプロセスであるが、近年のエネルギー循環型社会への変換においては、必要な部分にだけ材料を集めた形での微細構造を構築する低エネルギー・低コストなボトムアップ型プロセスの開発が新たに期待されるようになった。<sup>3</sup>

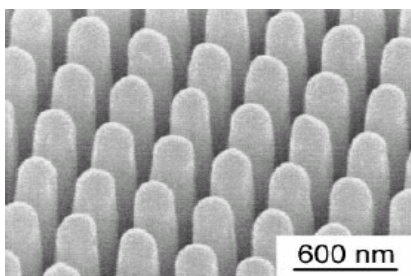


図 1-1 トップダウン型マイクロファブリケーションによる GaSb のマイクロパターン形成例<sup>1</sup>

図 1-2bはボトムアップ型マイクロファブ리케이션技術の概念図である。ボトムアップ型はイオンあるいは分子を必要な箇所に集積して意図した構造体を構築するという方法である。この方法の方が、物質及びエネルギーの使用効率は明らかに高い。この方法でマイクロファブ리케이션技術を構築するには、構造体を作製する場所を特定する技術と、その場所に材料をイオン・分子を集積する技術と、材料を意図した形態に制御する技術が必要となる。このような、低エネルギーなボトムアップ型のマイクロファブ리케이션を既に実現しており、技術の手本となるプロセスとしてバイオミネラリゼーションがある。次項でバイオミネラリゼーションについて説明する。

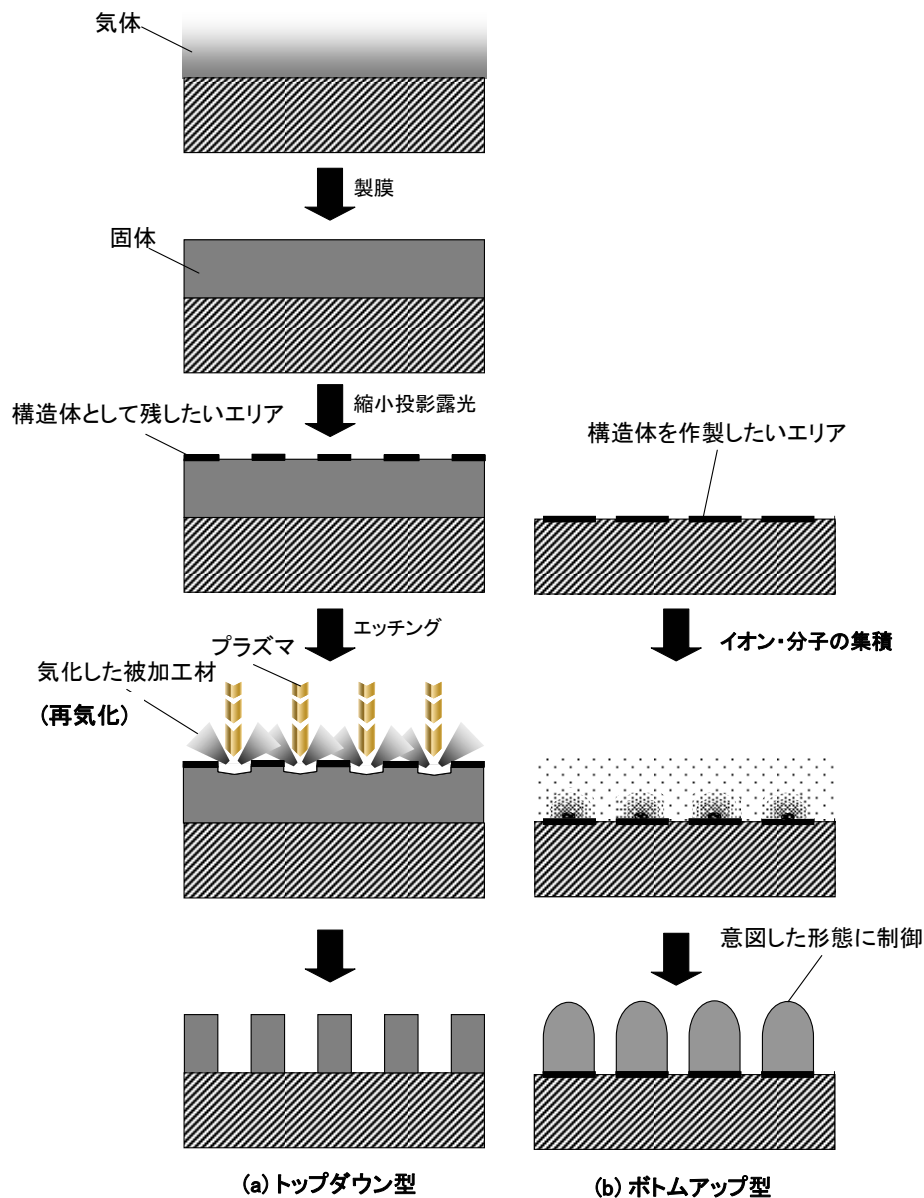


図 1-2 トップダウン型とボトムアップ型マイクロファブ리케이션の概念図

## 1.2. バイオミネラリゼーションとバイオミネラル<sup>4-8</sup>

### 1.2.1. バイオミネラリゼーションの特徴とその機構

生物は常温、常圧の穏やかな条件で水中の無機イオンを集め、固体に変換し、硬組織として利用している(バイオミネラル)。このプロセスはバイオミネラリゼーションと呼ばれ、これ自身がボトムアップ型低エネルギープロセスであると言えるだけでなく、これによって生成するバイオミネラルを調べると、マイクロメートルスケールの微細構造が見られるため、この方法をボトムアップ型マイクロファブリケーション技術に応用することが期待されている。その特徴は、有機基質(organic matrix、タンパク質、脂質、炭水化物等)上での不均一核生成と、有機物による成長制御で、このためバイオミネラルは有機物との複合体になっている。バイオミネラリゼーションの特徴的な点を砂川がまとめている<sup>8</sup>。以下にその抜粋を示す。

1. 細胞中、器官中のように環境場が限定されている。いわば、なかば閉じられた容器中での結晶成長である。
2. タンパク質、糖鎖、あるいはそれらがつくる有機物シート(タンパク質膜)が何らかの形で結晶成長にとって共同的な役割を果たしている場合と、そうでない場合がある。
3. すべて一気圧、常温近傍の低温低圧下の水溶液中で起こる結晶成長である。これは非晶質、前駆体としての低結晶度の相や準安定相の形成と、そこが出发点となって安定あるいは準安定相に転移する可能性があることを示している。
4. 容器に相当する細胞内で作られた結晶が、そのまま留まって組織を作る場合も、隣の細胞内につくられた結晶と連結する場合も、あるいは細胞外に出されて連結し外骨格のように細胞外で高次構造の組織をつくる場合もある。

また、バイオミネラリゼーションには次の4段階に分けられる。

1. 生体によるミネラリゼーションが起こる組織化された部位の生体形成。
2. 1.で形成された部位への無機イオン輸送。
3. 界面分子認識(テンプレート作用)による無機結晶の核生成と配向成長。
4. 細胞活動による高次構造化。

最もバイオミネラルに利用されている無機イオンは  $\text{Ca}^{2+}$  で、炭酸塩、リン酸塩、ピロリン酸塩、硫酸塩、シュウ酸塩として利用されている。例えば、脊椎動物の骨は無機成分としてリン酸塩系の鉱物であるヒドロキシアパタイト( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )、有機基質として主としてコラーゲンが使用されている。無機成分としては他に、鉄、ケイ素が酸化物として利用されている。実際に生物が

低エネルギープロセスで作上げたバイオミネラルにはどのようなものがあるか、以下にいくつかの例を示す。

## 1.2.2. 炭酸カルシウム系バイオミネラル

### 1.2.2.1. 炭酸カルシウムの結晶形

バイオミネラルとしての利用が最も多いカルシウムの無機塩の中で、炭酸カルシウムが使用されている例は多い。炭酸カルシウムの結晶形には主としてカルサイト、アラゴナイト、バテライトの3つが存在する。炭酸カルシウム系のバイオミネラルについて述べるにあたり、各結晶形の基本データを以下に示す。<sup>6,8,9,10</sup>

#### カルサイト (方解石)

- 結晶系                   三方晶
- 癖開                    菱面体で完全
- 単位格子                $a_0=4.98 \text{ \AA}$ 、 $c_0=17.02 \text{ \AA}$   
(図 1-3a)。
- 溶解度積  
     $\log K_{sp} (25 \text{ }^\circ\text{C})$        -8.42
- 密度                     $2.71 \text{ g/cm}^3$
- 特徴                    常温・常圧で最も安定な  
                              構造。高屈折率  
                              ( $n_D=1.658$ )。  
                              形状は菱面体が最も一  
                              般的(図 1-3b)。  
                              菱面体を囲む{104}が唯  
                              一の F 面(flat face)で、  
                              (001)面は荒れた K 面  
                              (kinked face)である。

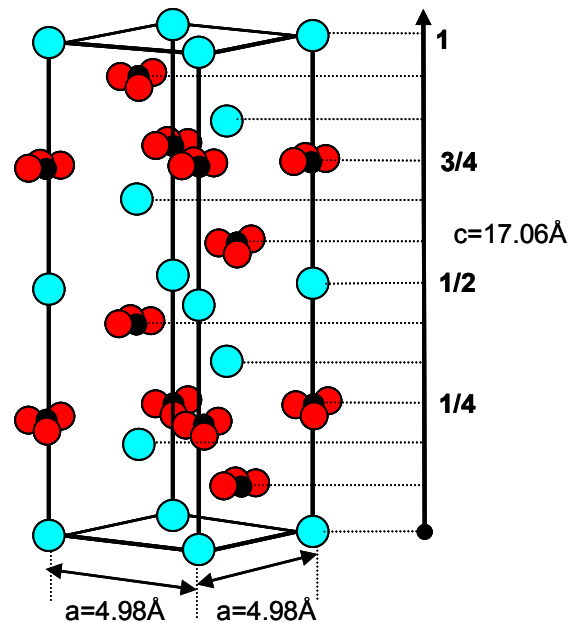


図 1-3a カルサイトの単位胞

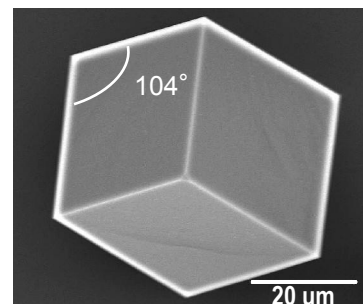


図 1-3b {104}面で囲まれた菱面体カルサイト

### アラゴナイト (霰石)

- 結晶系 斜方晶
- 僻開 擬六方不完全
- 単位格子  $a_0=4.96\text{\AA}$ 、 $b_0=7.96\text{\AA}$ 、 $c_0=5.74\text{\AA}$  (図 1-4a)
- 溶解度積  $\log K_{sp}(25\text{ }^\circ\text{C})$  -8.22
- 密度  $2.94\text{ g/cm}^3$
- 特徴 カルサイトの高压相で、カルサイトの次に安定。バイオミネラルの他、温泉スケール等に見られる。形状は{110}面を双晶面とする擬六方晶を示し、c軸方向に伸びた針状結晶が一般的(図 1-4b)。

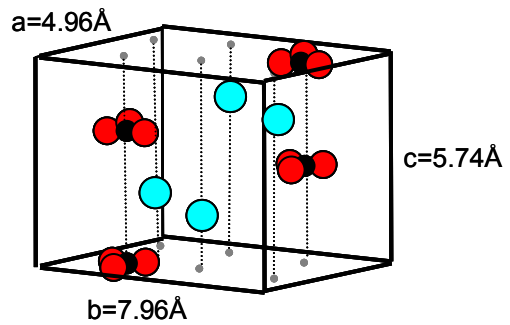


図 1-4a アラゴナイトの単位胞

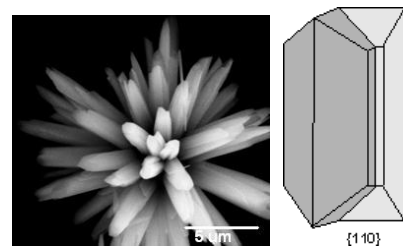


図 1-4b 針状 アラゴナイトと双晶

### バテライト (ファーテライト)

- 結晶系 六方晶
- 僻開 -
- 単位格子  $a_0=4.120\text{\AA}$ 、 $c_0=8.556\text{\AA}$  (図 1-5)
- 溶解度積  $\log K_{sp}(25\text{ }^\circ\text{C})$  -7.60
- 特徴 天然産出はカルサイト、アラゴナイトに比べはるかに少ない。人工的には他の結晶形との混合で得られる。しばしば、薄片の集合した球晶として晶出する(図 1-5b)。

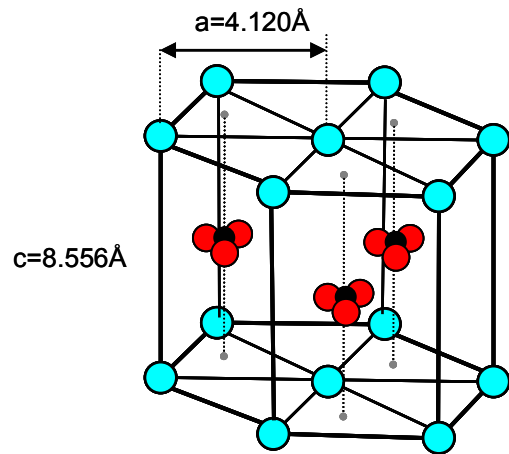
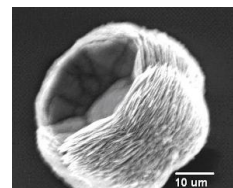


図 1-5a バテライトの単位胞

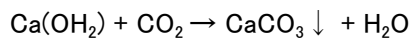




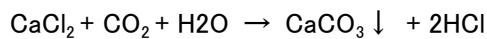
### 1.2.2.2. 炭酸カルシウムの人工合成

バイオミネラリゼーションにおいては、水中の微量なカルシウムイオンと炭酸イオンを有機物の働きにより集め、固体に変換している。これに対し、人工的に炭酸カルシウムを合成する場合、以下の方法が使われている<sup>11</sup>。

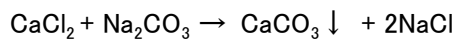
- (1) 炭酸ガスの水酸化カルシウム(難溶性)の懸濁液への吹き込み



- (2) アンモニアソーダ法における、炭酸アンモニウムと塩化カルシウムの反応

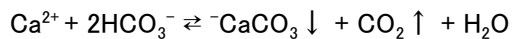


- (3) 可溶性カルシウム塩( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ )と炭酸イオンを含む( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )溶液とを混合することによる反応



- (4) 上記塩類の溶液をゲル中相互拡散させることにより反応させる方法

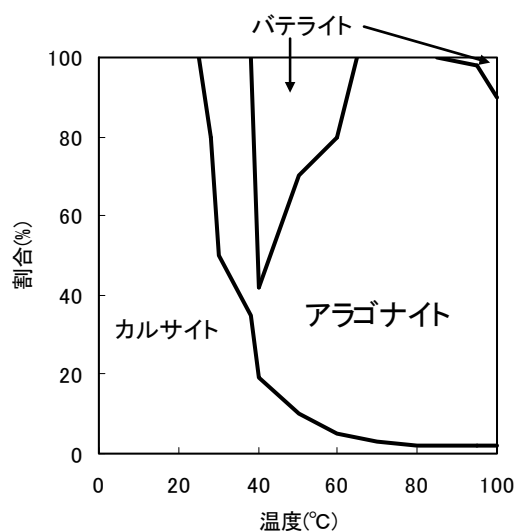
- (5) 重炭酸カルシウムの水溶液から再結晶する方法



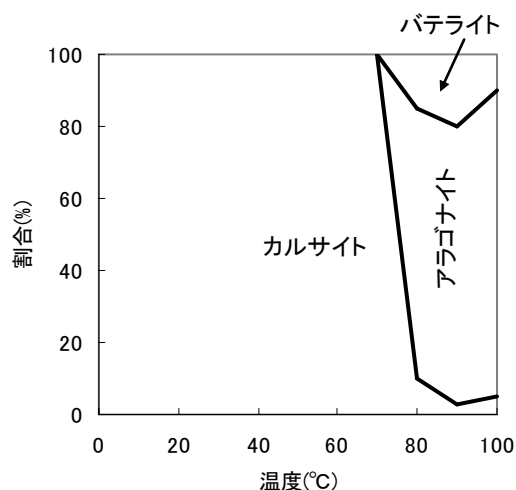
炭酸カルシウムの懸濁液に炭酸ガスを吹き込み十分攪拌した後、残った炭酸カルシウムを濾別し濾液を放置すると、炭酸ガスが抜け、炭酸カルシウムが再結晶する。この溶液はY. Kitanoらが水溶性の有機物の炭酸カルシウム結晶形への影響を調べた研究<sup>12,13</sup>で使用されていたところから「Kitano Solution」と呼ばれている。

### 1.2.2.3. 炭酸カルシウム人工合成における温度と多形

人工合成における温度と多形の含有率を示したデータとして、前項(4)の重炭酸カルシウムの水溶液からの再結晶の場合のデータを図 1-6(a)に示す<sup>14</sup>。この方法では、低温ではカルサイトのみが得られ、アラゴナイトを得るには25℃以上にする必要があることを示している。さらに、この溶液に炭酸ガスをバブリングさせながら再結晶をさせた場合には、(b)に示すように領域全体が高温方向にシフトし、アラゴナイトは70℃付近より高い温度にならないと生成しないことがわかる。このことは、炭酸ガスが供給されている場合には、70℃付近まで温度を上げてもカルサイトが生成し、アラゴナイトを得るにはさらに高い温度にする必要があることを示している。



(a) 炭酸ガス放出による再沈殿時



(b) 炭酸ガスをバブリングさせながら再沈殿させた場合

図 1-6 炭酸カルシウム合成時の温度と多形の組成<sup>14</sup>

#### 1.2.2.4. 炭酸カルシウム系バイオミネラルの用途と結晶形

表 1-1に利用されているバイオミネラルを示した。カルサイトは種としては多いが、造礁サンゴを構成しているのはほとんどがアラゴナイトであるため、存在量はアラゴナイトが多い。岩石として産出される炭酸カルシウム（石灰岩）も造礁サンゴが変成したものである。生体が熱力学的に安定なカルサイトと準安定なアラゴナイトを常温常圧で作分けしていることについては、‘*calcite-aragonite problem*’と呼ばれ、未だ解決されていない問題である。<sup>6</sup> 次項以降で炭酸カルシウム系バイオミネラルの具体的な例を示す。

表 1-1 炭酸カルシウムのバイオミネラル<sup>6</sup>

生物		機能	結晶形
植物	円石藻	外骨格	カルサイト
動物	有孔虫		カルサイト
	軟体動物		カルサイト アラゴナイト
	甲殻類		カルサイト アモルファス
	イシサンゴ類 <sup>17</sup>		アラゴナイト
	鶏類の卵		カルサイト
腹足類	アラゴナイト カルサイト バテライト		
動物	蛇尾類	センサー	光 カルサイト
	魚類		重力 アラゴナイト バテライト
	哺乳類		重力 カルサイト

### 1.2.2.5. 貝殻～カルサイト・アラゴナイト

貝殻は多層構造から成っており、一番外側の層は薄い有機質の殻皮層(Mantle)で、その下に数層の炭酸カルシウムの層が発達している。炭酸カルシウムの層には稜柱層(prismatic カルサイト)、真珠層(nacreous アラゴナイト)等の異なる層が積層されている。アワビの断面図を文献18より図1-7に引用した。図に示されているようにカルサイト層の上にレンガ塀のように描かれたアラゴナイト層が積み重なっている。実際の断面でも図と同じ構造を見ることができる。図1-8は、アワビの生体内にスライドガラスを挿入してその上に作らせた「Flat Pearl」の断面写真である。図のa部が真珠層で実際に断面はレンガが積み重なったように見える。C部は図1-7における球状カルサイト(spherulitic calcite)の層であって、これも断面の図と同じ放射状の構造を見ることができる。

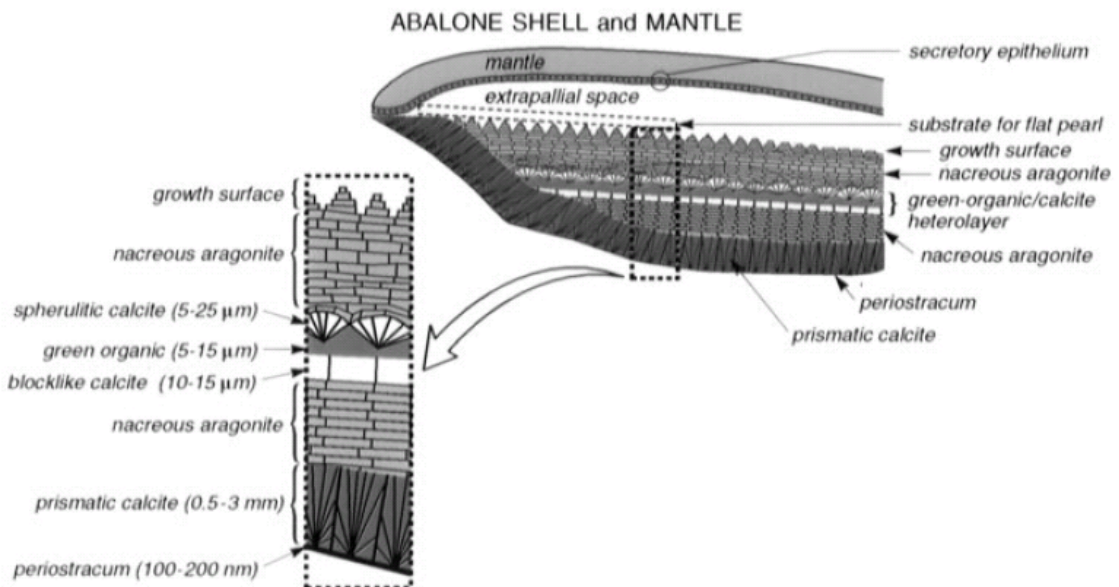


図 1-7 アワビの貝殻の断面構造<sup>18</sup>

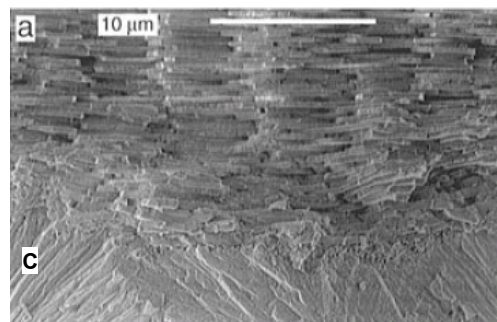


図 1-8 Flat pearl の実験における、in vivo で形成された球状カルサイト層と真珠層

真珠層は、厚み約 0.3~2.5  $\mu\text{m}$  のアラゴナイトの薄膜結晶がc軸に方位を揃えて平行に積層された構造になっている。その層間には 0.02~0.1  $\mu\text{m}$  程度のタンパク質シートが存在し、この積層構造は煉瓦とモルタルになぞらえられる。この構造により可視光の多層膜干渉が起こり、真珠光沢を示す。タンパク質シートは、芯がキチン、その両側に絹のタンパク質であるフィブロインに似たタンパク質、さらにその外側にはアスパラギン酸を含むアニオン性の水溶性タンパク質からなる構造であるということが提案されている(図 1-9)。<sup>19,20,21</sup>

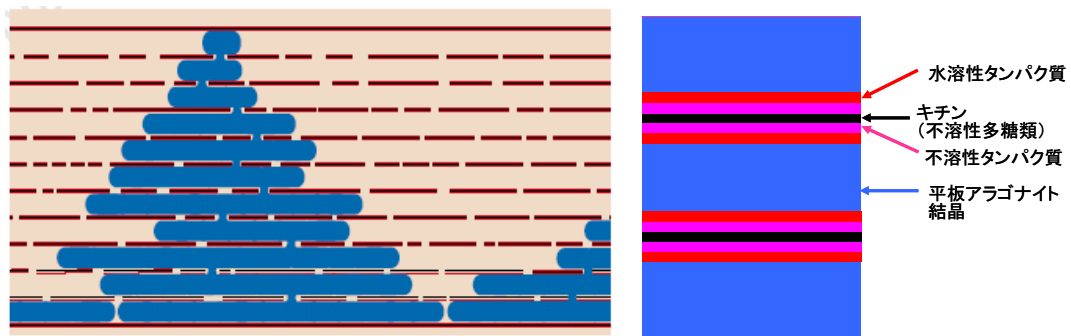


図 1-9 真珠層の断面の模式図(左)と層間有機膜として提唱されている構造(右)<sup>22</sup>

図 1-10は巻貝である高瀬貝の真珠層の写真(左)とその断面方向の SEM 写真(右)であり、実際に薄膜結晶が積層された構造を見ることができる。図 1-11は同じ高瀬貝の真珠層のXRD チャートで、アラゴナイトの(002)面からのピークのみしか観察されず、膜は完璧に c 軸配向している。貝の真珠層は、形態(薄膜)・結晶形(常温・常圧で最も安定なカルサイトではなくアラゴナイト)・配向(c 軸配向)の全てが統合的にコントロールされている。

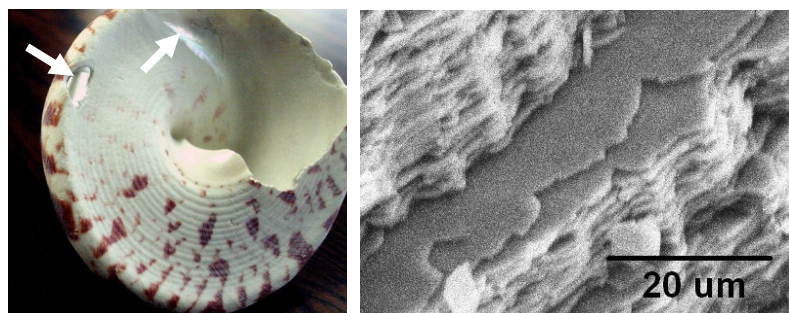


図 1-10 巻貝(高瀬貝 *Textus maximus*)の真珠層(左)とその断面方向の SEM 写真

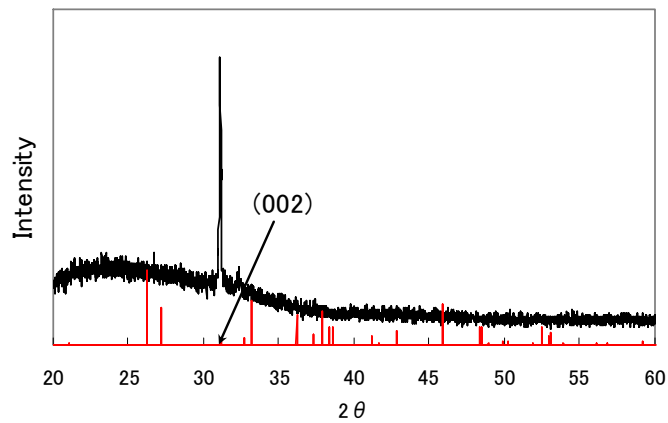


図 1-11 高瀬貝の真珠層の XRD チャート  
赤で示しているのは JCPDS#41-1375 のアラゴナイトのパウダーパターン

#### 1.2.2.6. クモヒトデの外骨格～カルサイト

J. Aizenberg らは、クモヒトデには光に感応する種 (図 1-12a) とそうでない種が存在し、光に感応する種のみ骨格に図 1-12b, c の構造があつて、この微小な球面構造がマイクロレンズの役割を果たしていることを、この骨格を使って集光し感光させる実験を行うことにより明らかにした。<sup>23</sup> この骨格の材質はカルサイトの単結晶であつた。これまで、単なる機械的強度を持たせるだけのものと思われていた骨格にも巧みに形成された微細構造があり、センサー機能を実現していた。機能性の三次元微細構造体をバイオミネラリゼーションにより形成した例と言える。

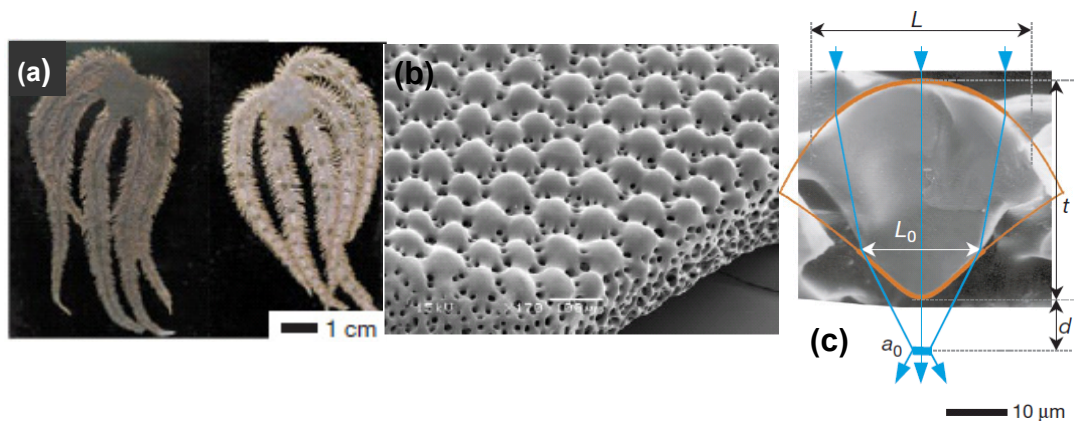


図 1-12 光に感応するクモヒトデ(a)とマイクロレンズ機能を示すカルサイト単結晶の骨格 (b)(c)<sup>23,24</sup>

### 1.2.3. シリカ系バイオミネラル

#### 1.2.3.1. シリカの構造

ケイ素はクラーク数 25.80 %で地表上、酸素の 49.50 %に次いで多い元素であるから、生体もその酸化物であるシリカを炭酸カルシウム、リン酸カルシウムとともにバイオミネラルとして利用している。その構造は  $\text{SiO}_4$  を単位構造とする四面体が立体的に組み合わさった構造を持つ無機高分子化合物で、 $(\text{SiO}_2)_n$  のように表される。アモルファスシリカは四面体が不規則に連結した高分子化合物になっている(図 1-13)。

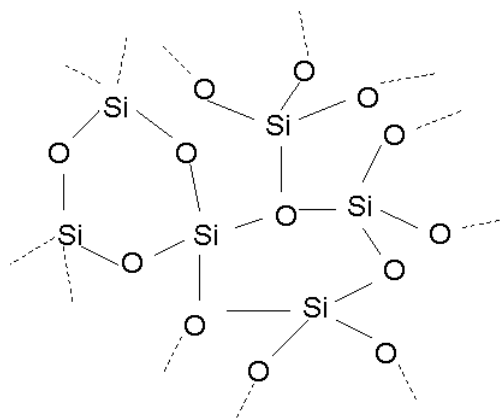


図 1-13 アモルファスシリカ  $(\text{SiO}_2)_m$  の構造

#### 1.2.3.2. シリカ系バイオミネラルの用途とその例

シリカをバイオミネラルに利用しているのは主に原生動物においてであり、高等動物でそれがカルシウム塩に置き換わっている(表 1-2)。進化の過程でカルシウムに移行したと見られるが、何故このような置き換えが起こったのかについては明らかになっていない。アモルファスシリカの外骨格を持つ珪藻あるいは放散虫の骨格を拡大してみるとその精密な三次元微細構造をバイオミネラリゼーションにより実現している例であることがわかる(図 1-14)。ケイ藻の外骨格においても、三次元微細構造が見られ、研究対象として注目される。

表 1-2 シリカ系バイオミネラル<sup>6</sup>

生物		用途	化学式
植物	ケイ藻類 (diatom)	骨格	$(\text{SiO}_2)_m \cdot n\text{H}_2\text{O}$
動物	放散虫 (radiolarian)		
	襟鞭毛虫 (choanoflagellate)	歯	
	カザガイ (limpet)		
植物		葉の保護	

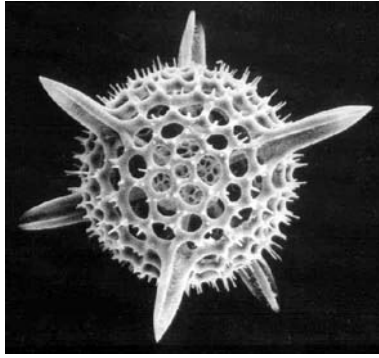


図 1-14 放散虫の骨格の例。球の直径約 100  $\mu\text{m}$ 。  
(Australian National Univ. Electron Microscope の Unit Dr. Roger Hedy 撮影による)



### 1.3. バイオメテリックミネラリゼーション

1.2項で見てきたように、バイオミネラリゼーションにおいては、得られた結晶において形態・配向・結晶形の全てがコントロールされていた。バイオミネラリゼーションを模倣して、形態・結晶形・配向がコントロールされた結晶を水溶液中で合成する研究が行なわれており、その方法はバイオメテリックミネラリゼーションと呼ばれている。以下に先行研究を示す。

#### 1.3.1. 形態のコントロール

##### 1.3.1.1. マイクロエマルジョンによるコックスフェア

図 1-15左は、バイオミネラルの中でも特殊な形状を示しているものとして知られている海洋性円石藻類コックスフェアである。この中空網目状の構造を模倣した研究が S. Mann らより報告されている。<sup>25</sup> ポリスチレン製の微小ビーズの回りにマイクロエマルジョン構造を作り、その水溶液の中で炭酸カルシウムの結晶化を行わせ、最後にビーズの核を焼いて除去することで図 1-15右の中空構造を作った。材質は水溶液中に Mg イオンを共存させたためにアラゴナイト、ネットワーク状の単結晶として得られている。

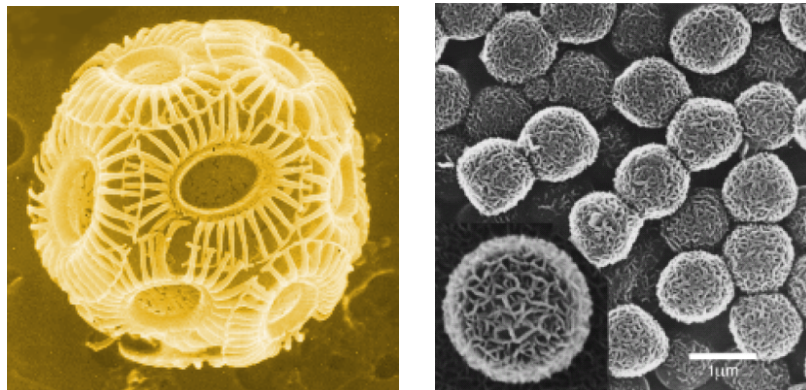


図 1-15 コックスフェア(左)とその模倣(右)

### 1.3.1.2.らせん構造

らせん構造を持つ炭酸カルシウムは、<sup>36</sup> 合成ポリペプチドである poly( $\alpha$ , L-aspartate) (PAsp) を共存させることで得られている(図 1-16)。この形態はカルサイトで形成され、PAsp の濃度が 5-30  $\mu\text{g/ml}$  と薄い時に得られた。なお、添加量を増やすと、炭酸カルシウムはカルサイトからカルサイトとバテライトの混じった膜状結晶がガラス基板上に生成した。

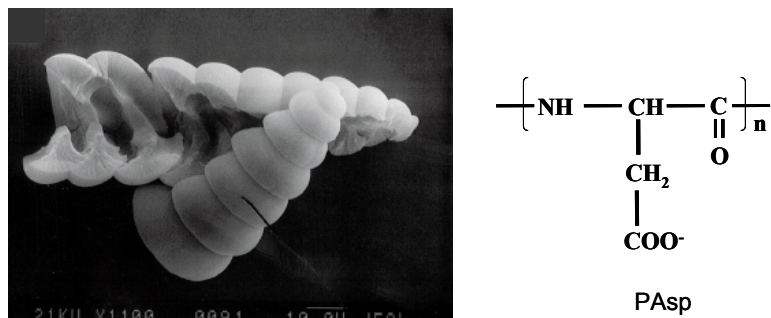


図 1-16 PAsp 共存で得られたらせん状カルサイト

らせん状構造結晶は、アラゴナイト型結晶の炭酸バリウム及び炭酸ストロンチウムをシリカゲル中で成長させた場合に、シート状の結晶とともに得られている(図 1-17)。このようなシリカによるアルカリ土類金属炭酸塩の形態の変化は J. M. Garcia-Ruiz らによって報告されていた。<sup>26</sup> T. Terada らは、この結晶の構造を分析し、アモルファスシリカに包まれ  $c$  軸方向に伸びた微小な繊維状の結晶子が  $b$  軸方向に整列して膜状になり、さらにその膜がねじれてらせんが形成されるとした。<sup>27</sup>

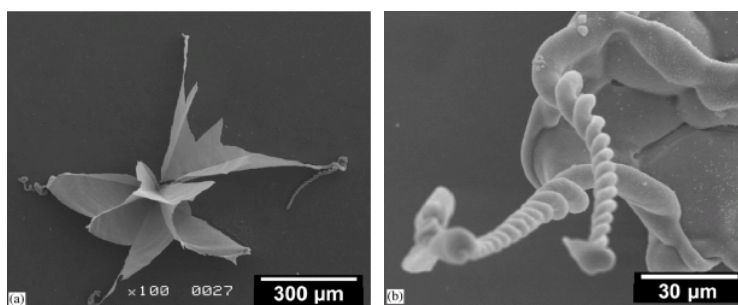


図 1-17 シリカゲル中で得られる炭酸ストロンチウムのシート(左)とその末端のらせん構造(右)<sup>27</sup>

### 1.3.1.3. マイクロコーラル

多孔質構造を模倣した例として、サンゴの外骨格に類似した形態を、シリカゲルの共存により実現した例が H. Imai らにより報告されている。図 1-18はイシサンゴの外骨格(左)とその模倣(右)で、模倣の方はバイオミネラルに比べ大きさは非常に小さい。サンゴは炭酸カルシウムの中でもアラゴナイト構造でできているが、カルサイトより準安定なアラゴナイトを選択的に作ることは容易ではないので、このミニチュアサイズのサンゴの殻の生成時も結晶形はカルサイトが優勢でアラゴナイトは少量であったとされている。<sup>28</sup>この例は、有機物だけでなくシリケートイオンも炭酸カルシウムの形態をコントロールする効果があることを示している。

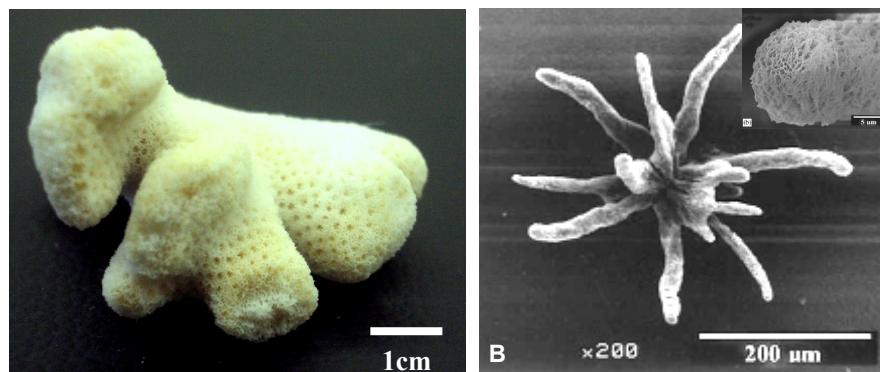


図 1-18 イシサンゴの外骨格(左)とその模倣(右)<sup>28</sup>

#### 1.3.1.4. マイクロランペット

図 1-19左も海洋性円石藻類 coccolithophore で、右はそのパーツであるマイクロランペットを模倣した結晶である。両者ともカルサイトから成っている。人工物(右)の方が天然のもの約 10 倍の大きさであるが、類似した形状が形成されている。この例は、曲線的な形状を持つ結晶合成を模倣した例と言える。模倣した結晶は、1,3-diamino- 2-hydroxypropane-N,N,N',N'-tetraacetate (図 1-20) の共存により得られた。インセットに微細構造が示されており、結晶の微細化が起こっていることはわかるが、その作用については未だよく解っていない。<sup>29</sup>

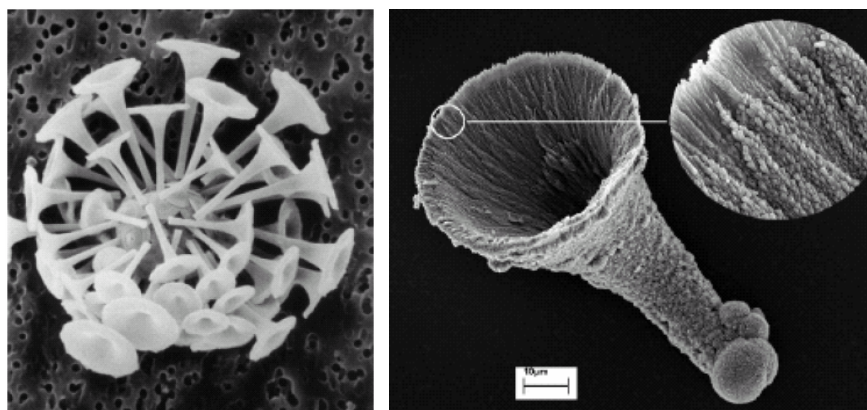


図 1-19 coccolithophore *Discosphaera tubifera*(左)<sup>30</sup>とその模倣(右)<sup>29</sup>

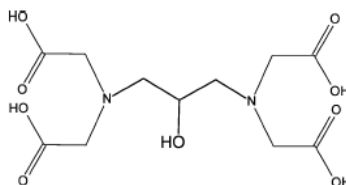


図 1-20 1,3-diamino- 2-hydroxypropane-N,N,N',N'-tetraacetate

### 1.3.1.5. 薄膜

貝の真珠層に着想を得て、炭酸カルシウムの薄膜をバイオミネラルミネラルゼーションプロセスで作製する研究も行われている。貝の真珠層の構造を模倣するにあたり、渡辺らの真珠自体の研究<sup>19,20</sup>を前提として、S. Mannらは生きた貝の中にカバーグラスを入れて一定時間で取り出し、ガラス表面に形成された平らな真珠層を観察して真珠層形成の時間変化を報告している。<sup>18,31</sup> この研究はバイオミネラルの形成過程を知るために有効なものであった。

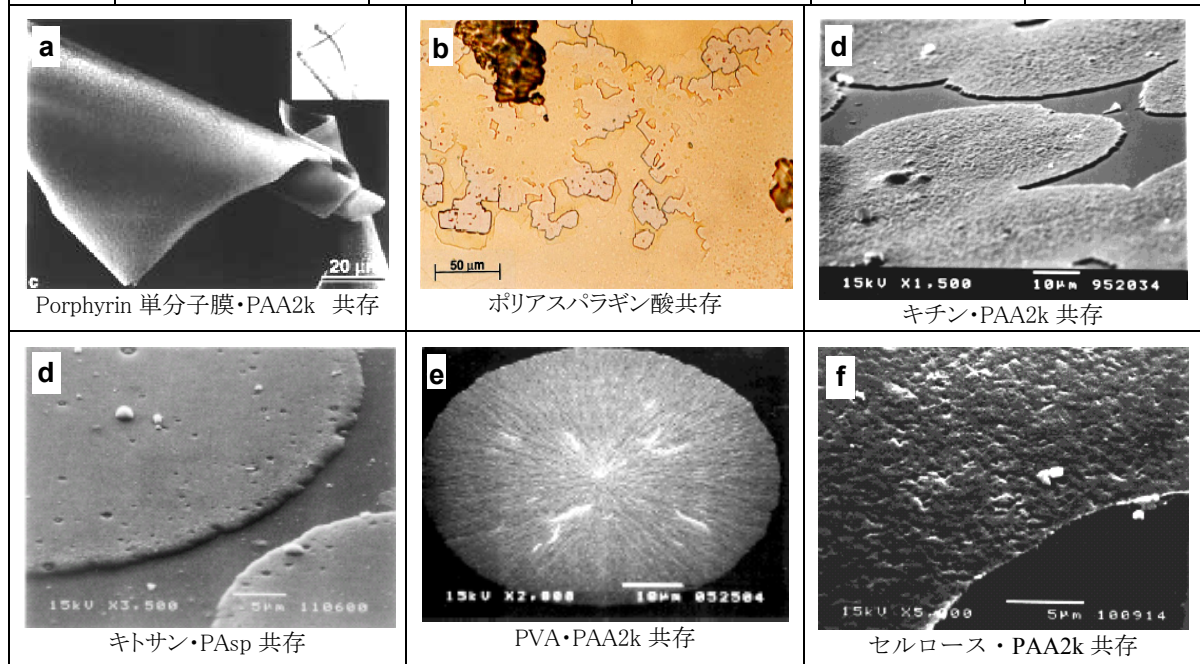
薄膜状の炭酸カルシウムが *in vitro* で得られたのは、1998 年の PAA 共存による報告以降である。T. Katoらは、キトサンとPAAを共存させて、キトサン上に炭酸カルシウムの薄膜が成長することを報告した。<sup>32</sup> また、T. Grovesらは、気液界面に置いた porphyrin 単分子膜をテンプレートとした炭酸カルシウムの結晶成長を報告していたが<sup>33</sup>、ここに PAA を共存させることにより、薄膜に変化することを報告している。<sup>34</sup> PAAには官能基がカルボキシ基しかないため、T. Katoらの結果も、T. Grovesらの結果も共に、薄膜化にはカルボキシ基を持つ水溶性高分子の共存が必須であることを示した結果であると言える。これはL. A. GowerらのPAsp共存による実験でガラス基板上に薄膜が生じている結果<sup>36</sup>とも共通している。

表 1-3に、本研究を開始する 2001 年以前のバイオミネラルプロセスにより作製された膜状炭酸カルシウムの報告をまとめた。水溶性のタンパク質が真珠層の層間基質として存在しているということから、水溶性タンパク質に代えて、カルボキシ基を有する最も単純な合成水溶性有機高分子ポリアクリル酸 poly(acrylic acid)(PAA)あるいは、ペプチド結合を有する合成高分子であるポリアスパラギン酸 poly(aspartate)(PAsp)、ポリグルタミン酸 poly(glutamate)(PGlu)が共存種として選ばれている(図 1-21)。貝の真珠層に含まれるタンパク質にアスパラギン酸を多く含むタンパク質が見られることから、PAsp を添加した報告では、PAsp の存在だけで、膜状の炭酸カルシウムを得ている。<sup>36,37</sup>さらに不溶性の高分子シートに相当するものとして実際に貝に含まれているキチンとその誘導体を用いると、酸性高分子が共存する場合円形の膜状炭酸カルシウム結晶が不溶性高分子膜上に成長するということが示されている<sup>32,35,38,39</sup>。不溶性の高分子シートは多糖類の必要は無く、人工のポリビニルアルコール poly(vinyl alcohol)(PVA)を用いた場合にも円形炭酸カルシウム膜は成長するという報告もされた<sup>41,42,44</sup>(図 1-22)。また、気液界面にできる炭酸カルシウムを、Langmuir 単分子膜をテンプレートとして配向させる研究においても PAA を共存させると膜状になるという報告もあった。<sup>34</sup> PAA や PAsp と言ったカルボン酸を含む高分子は膜化が起こった際に使用されていたが、逆に起こらなかった時に使用されたものとしては、モノカルボン酸、ポリアミン(カチオン性ポリマー)、DNA が、また不溶性材料側で膜を誘起しなかったものとしては、官能基を全て保護した多糖類と官能基がカルボン酸で共重合比の少ない poly(ethylene-co-acrylic acid)が示されている(図 1-23)。



表 1-3 膜状炭酸カルシウムの形成の先行研究 (~2000 年)

年	基板材料	共存イオン	膜の結晶形	配向	参考文献
1998	キトサン (水溶液中)	PAA	カルサイト	情報無し	32
		PGlu	バテライト		
	キトサン (水溶液中)	PAA2k			35
	Porphyrin 単分子膜 (気液界面)	PAA2k	カルサイト	(001)が porphyrin 単分 子膜に平行	34 図 a
ガラス (水溶液中)	PAsp Mw=36,300 14,400 6,000 6,850	カルサイト・ バテライト	情報無し。 *Mw=6,850 の 方が Mw=36,300 より も膜形成に効 果が高い。	36,37 図 b	
1999	キチンファイバー (水溶液中)	PAA, PAsp, PGlu (詳細情報無し)	情報無し	情報無し	38 図 c
2000	キチン (水溶液中)	PAA2k	カルサイト	情報無し	39 図 d
	キトサン (水溶液中)	PAsp (詳細情報無し), Mg <sup>2+</sup>	アラゴナイト (カルサイトも 含まれる)	無配向	40
	PVA (水溶液中)	PAA2k PGlu	アラゴナイト バテライト	情報無し	41,42,43 図 e
	セルロース キチン キトサン (水溶液中)	PAA PGlu (詳細情報無し)	カルサイト・ バテライト		44 図 f(セルロ ース上)



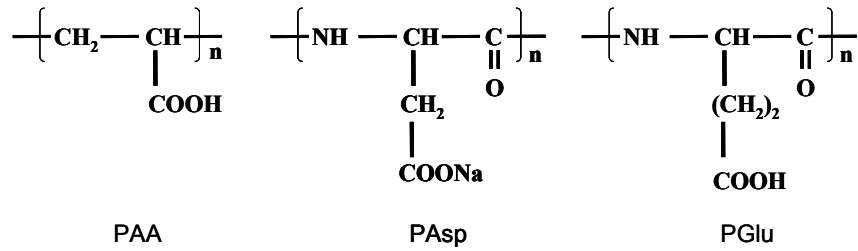


図 1-21 先行研究で使用された水溶性有機高分子

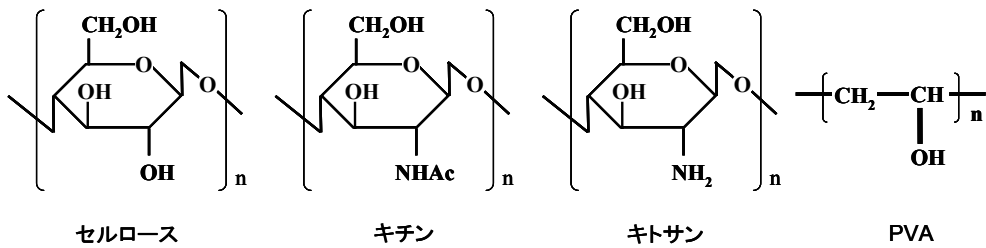


図 1-22 先行研究で使用された不溶性有機高分子

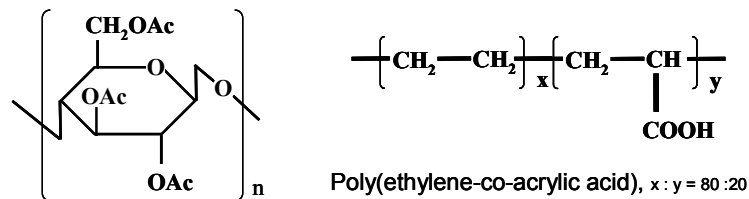


図 1-23 先行研究で膜化を誘起しなかった不溶性有機高分子

これらの結果から抽出される炭酸カルシウムの膜化は以下の条件を揃えることにより再現できると考えられる。

- (1) カルボキシ基を有する水溶性高分子を水中に共存させる。
- (2) アルコール性水酸基を持つ不溶性高分子面を共存させる。

先行研究では、結晶形・配向も報告によりまちまちであり、結晶構造を議論した報告は無いため、膜のサブ構造は不明であった。文献45におけるバイオミネティックプロセスで得られた炭酸カルシウム薄膜の構造のイメージを図 1-24に示す。水溶性高分子は結晶上下面に存在し、結晶はその間で水溶性高分子が無い側面方向にのみ成長して薄膜となる。不溶性高分子の基板はその官能基(-OHあるいは-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)が水溶性高分子の吸着に関与しているとされている。

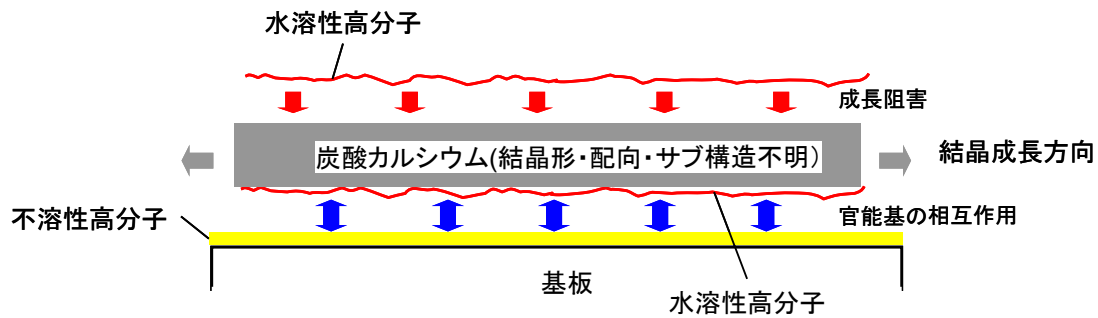


図 1-24 先行研究で得られている薄膜炭酸カルシウムの構造のイメージ図<sup>45</sup>

### 1.3.2. 結晶形のコントロール

生体外における生体由来有機物質による炭酸カルシウムの結晶形の変化を調べた報告としては、タウリン、グリシン、セリンといったアミノ酸を添加したものがあつた。<sup>46</sup>また、貝殻において真珠層がアラゴナイト、稜柱層がカルサイトであるため、それぞれの層から抽出したタンパク質を共存させてシルクフィブロイン基板中に析出させそれぞれに対応した結晶形を得たもの<sup>47</sup>、真珠層から抽出したアニオン性のタンパク質を共存させて、カルサイト結晶の外側にアラゴナイトの被覆層を成長させた<sup>48</sup>といったものがある。形態を薄膜にコントロールすると同時に結晶形をコントロールした例としては、PVA と PAA2k の組み合わせでアラゴナイトが、PVA と PGlu の組み合わせではバテライトの膜が得られるという報告がある<sup>49</sup>。天然物を基板材料として使用した研究では、卵の殻の内側の膜を基板とし、PGlu を共存させた場合にはアラゴナイトの膜、PAsp を共存させた場合にはバテライトの膜が得られるとの報告もある。<sup>50</sup>

### 1.3.3. 配向のコントロール

S. Mannらは、気液界面にカルボキシ基を有するステアリン酸の Langmuir 単分子膜を置いた場合には、配向したカルサイトが、アミン系の単分子膜を置いた場合には配向したバテライトが析出したと報告している(図 1-25)。<sup>51</sup>これは、単分子膜の官能基の配列が鋳型となって結晶形と配向が制御された例である。なお、アルコール性水酸基による単分子膜の場合には結晶成長せず、コレステロール系の場合には無配向のカルサイトが析出した。



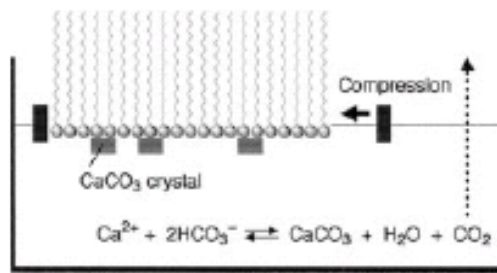


図 1-25 ラングミュア単分子膜によるテンプレートの実験<sup>51</sup>

Langmuir 単分子膜を使った実験は原理を確認するモデルには適していたが、実際結晶を作るテンプレートとしては限定されるものがあつた。これに対し長鎖のチオールが金属(水銀、銀、金、パラジウム)に強く結合して配列してできる単分子膜 SAM (self assembled monolayer, 自己組織化単分子膜) を炭酸カルシウムの配向の制御に使用されている。J. Kuther らは、10 種類の異なるチオールを使った SAM 基板を用いて炭酸カルシウムの結晶を作りその配向と結晶形を調べている。<sup>52</sup> なお、この実験ではテンプレートの制御において、温度がまた結晶形に影響を与えていることが示されている。J. Aizenberg らも SAM を 3~50 μm の限定した領域に作り、そのエリアにカルサイトを成長させたところ、SAM の構成により菱面体が方位を揃えて成長することを確認している(図 1-26)。<sup>53</sup>

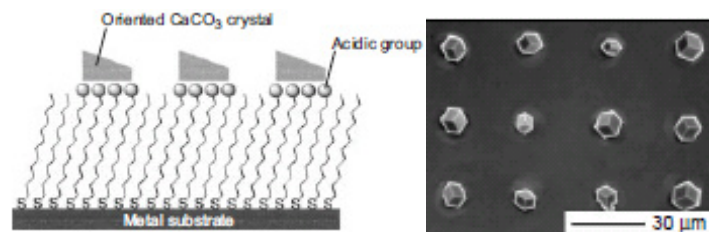


図 1-26 SAM による配向と結晶形の制御の実験<sup>53</sup>

さらに、J. Aizenberg らはこの方法を応用して、クモヒトデに見られた微細構造を持つカルサイトの単結晶(図 1-12b)を模倣した結晶を水溶液合成により合成するのに成功している。<sup>24</sup> 図 1-27にその方法を示した。まずリソグラフィーでガラス基板上に有機高分子で作られた 3 μm 径の柱を 8 μm 間隔で並べた構造を作製しておき、さらに全体を 5~10 nm 厚の金または銀でコーティングする。基板面の一部に配向をさせる核となる SAM を原子間力顕微鏡(AFM)の先端で置く。その他の部分は末端が methyl, hydroxyl, phosphate となっている長さも異なるチオールの混合物で覆い、カルサイトの核生成を抑え、アモルファス炭酸カルシウム(ACC)ができるようにした。この基板を塩化カルシウム水溶液に浸し、密閉容器内で炭酸アンモニウムから発生する

炭酸ガスを拡散させると、当該領域に ACC ができる。ただし、AFM の先端で置いた配向した SAM の上だけカルサイトができて、ACC のカルサイト化を促進し、ACC 全体がカルサイトの単結晶となる、というものである。これまでの単分子膜を用いた研究がその効果を調べるためのものであったのに対し、この研究は結晶を作るために SAM のテンプレートング効果を積極的に利用したものであり、注目される。

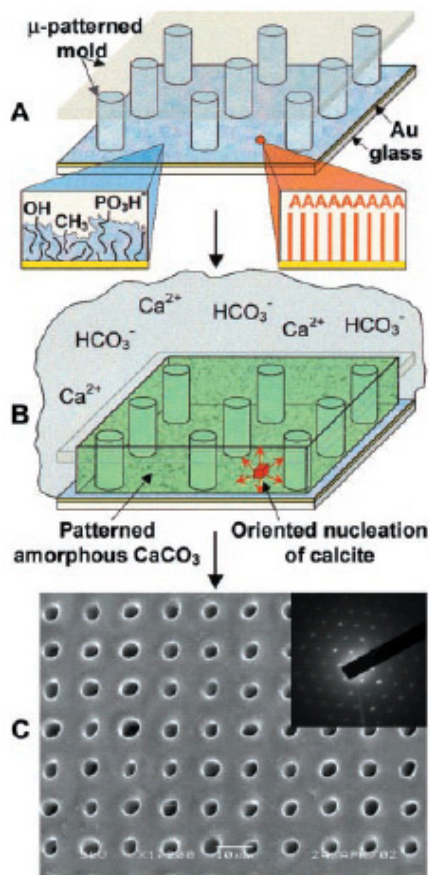


図 1-27 SAM を利用して作られたカルサイトの大型単結晶とその作製方法

#### 1.3.4. これまでのバイオメティックミネラリゼーションの問題点

1.2.2.5において、貝の真珠層では「形態」・「結晶形」・「配向」の全てが統合的にコントロールされた結晶が作られていることを述べたが、これまでの *in vitro* でのバイオミネラリゼーションでは上記に示した通り、コントロールファクターを検討した研究がないため、統合的にコントロールを達成しているものは無かった。また、バイオメティックミネラリゼーションを技術として応用するには、共存させている有機物の作用に対する知見が不十分であった。

## 1.4. 溶液系での結晶成長とバイオメテックミネラリゼーション

バイオメテックミネラリゼーションは、溶液系での結晶成長である。以下に溶液系での結晶成長過程と<sup>8</sup>、これをバイオメテックミネラリゼーションと照らし合わせて考える。

### 1.4.1. 核形成と成長

- (1) 平衡状態から過飽和が駆動力となり次の段階に進む。

即ち、飽和溶液を作ったときの温度  $T_E$  での飽和濃度  $C_\infty$  と、成長温度  $T_G$  での飽和溶液の濃度  $C$  の差  $\Delta C = C_\infty - C$  が駆動力となる。

- (2) 臨界サイズ以下の粒子が生じ、離合集散を繰り返す。

平衡状態から溶解度曲線のある領域内では臨界値以下であるため核形成も結晶成長も起こらない(図 1-28 マイヤーズ領域)。

- (3) 一部が臨界サイズ以上に到達して(核形成)エネルギー的に安定になり、一方向的に成長する。

臨界エネルギーが小さいほど核形成は容易に起こるので、容器壁表面のステップ、凹凸、傷などの助けを借りる不均一核生成の方が、自発的核生成よりも起こりやすい。バイオメテックミネラリゼーションにおける基板上での結晶成長は、この不均一核生成を対象とした研究である。

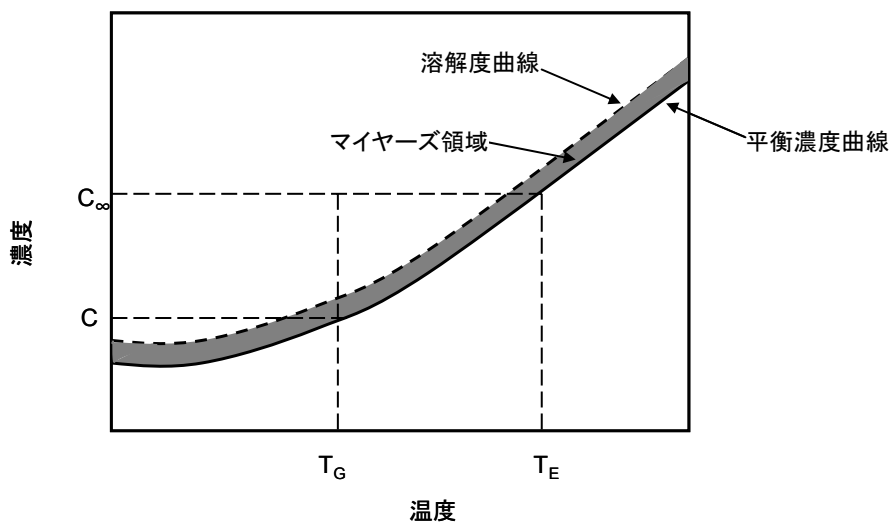


図 1-28 溶液系での溶解度曲線と核形成<sup>8</sup>

$T_E$ ,  $C_\infty$ は平衡温度と濃度、 $T_G$ ,  $C$ は成長温度と濃度

### 1.4.2. 結晶形

多くの場合、最初に核形成するのは準安定の相で、安定相が出現する以前は準安定相が安定相と同じように成長できるが、いったん安定相が出現すると、準安定相は溶解あるいは転移して安定相が成長する。この原理でいくと、炭酸カルシウムにおける準安定相であるバテライト、アラゴナイトはカルサイトが生成するとともに消失する方向と考えられるが、実際にはバイオミネラルにおいては安定して準安定相のアラゴナイトが得られている。これは、安定相の出現が抑えられる要因があったか、あるいは準安定相が安定化される要因があったためと考えられる。バイオメテリックミネラルゼーションにはこの要因を見出し応用することが求められる。

### 1.4.3. 形態

固層と液相の界面が、原子オーダーで荒れているキンク(半結晶位置)度が高いラフ面では環境相から来た分子がただちに取り込まれて一様に成長する付着型機構、平坦な面(テラス面)と少数の階段やその折れ曲がりのできているスムーズ面における二次元核形成機構・渦巻型成長機構による成長となる(図 1-29)。駆動力を2相間の化学ポテンシャルの差  $\Delta\mu/kT$  ( $k$ はボルツマン定数、 $T$ は絶対温度)で一般化すると、駆動力と結晶の形態変化は図 1-30のように示される。即ち、低駆動力条件では渦巻型成長機構が支配的で平らな結晶面で囲まれた多面体結晶、平衡から離れた高い駆動力のある状態では樹枝状結晶、その間の領域では二次元核生成成長機構が支配的になり骸晶状の形態となる。この一般的な形態変化に加え、バイオミネラルゼーション/バイオメテリックミネラルゼーションではこの環境層に存在する有機物を取り込まれ成長を抑制し、両者の効果で特有の形態を形成していると考えられる。この点を本研究で明らかにしたい。

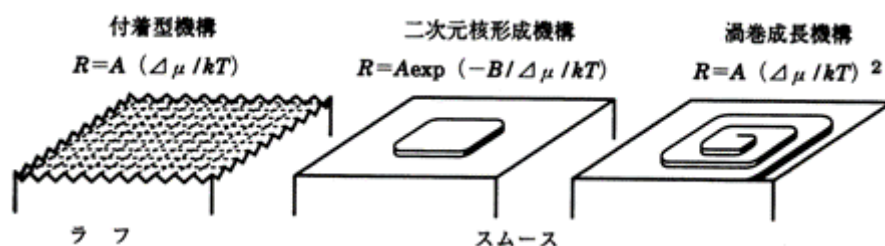


図 1-29 結晶成長における3種類の成長機構<sup>8</sup>

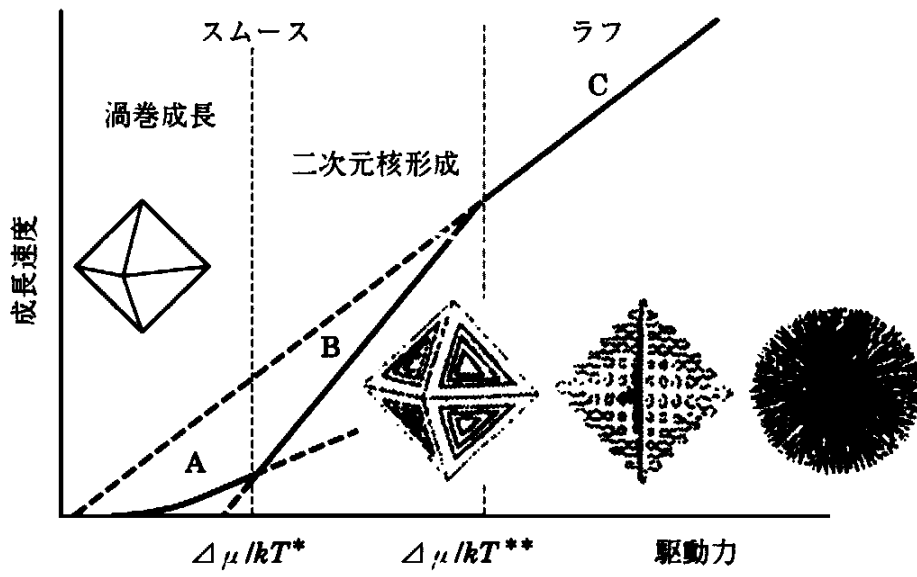


図 1-30 成長速度対駆動力および形態変化 ( $\{111\}$ のみで囲まれた結晶を想定)<sup>8</sup>

## 2. 本研究の目的

本研究は、低エネルギー・低コストなマイクロファブリケーション技術を構築することを目的とし、バイオメテリックミネラリゼーションで結晶の「形態」・「結晶形」・「配向」を統合的にコントロールすることを目的とする。この研究では、バイオメテリックミネラリゼーションのモデルとして有機高分子により形成される炭酸カルシウム薄膜を用いる。薄膜は共存する高分子の作用により形態制御されて得られたものであるが、その形成のメカニズムについては明らかにされていない。また、結晶形と配向はコントロールされていなかった。そこで、この薄膜の形態・結晶形・配向を統合的にコントロールするための制御ファクターを探り、得られた有機高分子による成長制御に対する知見を微細構造体作製に応用する。

第2章では、キープロセスとなると考えられる有機高分子化合物による炭酸カルシウムの薄膜形成という形態制御のメカニズムを、カルボキシ基を持つ水溶性有機高分子と非イオン性の水酸基を持つ不溶性有機高分子それぞれの効果を調べることにより解明する。

第3章では、第2章での知見を元に、炭酸カルシウムの膜の成長制御を行い、形態を二次元的な膜から三次元的に発展させる。

第4章では、炭酸カルシウム薄膜の結晶形に及ぼす環境因子について述べる。水溶性高分子と不溶性高分子でできる炭酸カルシウム薄膜を環境条件を変えて作製し、その結果から共存する有機高分子が結晶形を制御するメカニズムを考察する。

第5章では、第2章、第3章で得た知見をバイオミネラルでカルシウムとともに利用されているシリカに応用し、基板テンプレティングを利用した炭酸カルシウムとシリカの複合体作製を検討する。

第6章では、バイオメテリックミネラリゼーションによるボトムアップ型マイクロファブリケーション技術構築という観点から第2章から第5章の結果を総括する。

本研究は1.2.1で示したバイオミネラリゼーションの機構に基づき低エネルギーな水溶液プロセスの開発を目標とするため、結晶成長は全て常温・常圧下、水中で実施することを前提とした。

## 第1章 参考文献

---

- <sup>1</sup> Y. Kanamori, K. Kobayashi, H. Yugami, K. Hane, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **42**, 4020 (2003).
- <sup>2</sup> 山岡亜夫「新しいレジスト材料とナノテクノロジー」、シーエムシー出版 (2002).
- <sup>3</sup> 工藤徹一、御園生誠「グリーンマテリアルテクノロジー」、講談社 (2002).
- <sup>4</sup> K. Simkiss; K. M. Wilbur, *Biom mineralization*, Academic Press, San Diego (1989).
- <sup>5</sup> H. A. Lowenstam, S. Weiner, *On Biomineralization*, Oxford Univ. Press, Oxford (1989).
- <sup>6</sup> S. Mann in “*Biomineralization Principle and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*”, Oxford University Press (New York, USA), 2001.
- <sup>7</sup> L. Addadi, S. Weiner, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **31**, 153 (1992).
- <sup>8</sup> 砂川一郎、「結晶 成長・形・完全形」、245、共立出版 (2003).
- <sup>9</sup> K. Simkiss, K. M. Wibur, “*Biomineralization Cell Biology and Mineral Deposition*”, Academic Press, (1989).
- <sup>10</sup> 渡辺哲光、「バイオミネラリゼーション」、東海大学出版 (1997).
- <sup>11</sup> 北村光孝、*J. Soc. Inorg. Mater. Jpn.*, **8**, 515 (2001).
- <sup>12</sup> Y. Kitano, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **29**, 29 (1965).
- <sup>13</sup> Y. Kitano, N. Kanamori, A. Tokuyama, *Am. Zoologist*, **9**, 681 (1969).
- <sup>14</sup> Y. Kitano, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **35**, 1980 (1962).
- <sup>15</sup> J. R. Young *et al.*, *Nature*, **356**, 516 (1992).
- <sup>16</sup> M. E. Marsh, *Comparative Biochem. Phys. B*, **136**, 743 (2003).
- <sup>17</sup> 伊藤英信、山里清、「海洋生物の石灰化と系統進化」、大森昌衛、須賀昭一、後藤仁敏編、東海大学出版会、69 (1988).
- <sup>18</sup> C. M. Zaremba, A. M. Belcher, M. Fritz, Y. Li, S. Mann, P. K. Hansma, D. E. Mose, J. S. Speck, G. D. Stucky, *Chem. Mater.*, **8**, 679 (1996).
- <sup>19</sup> 和田浩爾、国立真珠研報、**167**, 1561 (1968).
- <sup>20</sup> 和田浩爾、セラミックス、**28**, 12 (1993).
- <sup>21</sup> 中原皓、「海洋生物の石灰化と系統進化」、大森昌衛、須賀昭一、後藤仁敏編、東海大学出版会、87、(1988).
- <sup>22</sup> L. Addadi, S. Weiner, *Nature*, **389**, 912 (1997).
- <sup>23</sup> J. Aizenberg, A. Tkachenko, S. Weiner, L. Addadi, G. Hendler, *Nature*, **412**, 819 (2001).
- <sup>24</sup> J. Aizenberg, D. A. Muller, J. Grazul, D. Hamann1, *Science*, **299**, 1205 (2003).
- <sup>25</sup> D. Walsh, S. Mann, *Nature*, **377**, 320 (1995), D. Walsh, S. Mann, *Adv. Mater.*, **9**, 658 (1997).

- 
- <sup>26</sup> J. M. García-Ruiz, *J. Cryst. Growth*, **55**, 379 (1981)., J. M. García-Ruiz, *J. Cryst. Growth*, **73**, 251 (1985), T. Baird, P.S. Braterman, P. Chen, J.M. García-Ruiz, R.D., Peacock, A. Reid, *Mater. Res. Bull.*, **27**, 1031 (1992).
- <sup>27</sup> T. Terada, S. Yamabi, and, H. Imai, *J. Cryst. Growth*, **253**, 435 (2003).
- <sup>28</sup> H. Imai, T. Terada, T. Miura, S. Yamabi, *J. Cryst. Growth*, **244**, 200 (2002).
- <sup>29</sup> S. Mukkamala, A. Powell, *Chem. Commun.*, **2004**, 918.
- <sup>30</sup> S. Mann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **39**, 3392 (2000).
- <sup>31</sup> M. Fritz; A. M. Belcher; M. Radmacher; D. A. Walters; P. K. Hansma; G. D. Stucky; D. E. Morse; S. Mann, *Nature*, 1994, **371**, 49 (1994).
- <sup>32</sup> T. Kato, T. Suzuki, T. Amamiya, T. Irie, *Suprmol. Sci.*, **5**, 411 (1998).
- <sup>33</sup> J. Lahiri, G. Xu, D. M. Dabbs, N. Y. Ilhan, A. Aksay, J. T. Groves, *J. Am. Soc.*, 119, 5449 (1997).
- <sup>34</sup> G. Xu; N. Yao; I. A. Aksay; J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 11977 (1998).
- <sup>35</sup> S. Zhang; K. E. Gonsalves, *Langmuir*, **14**, 6761 (1998).
- <sup>36</sup> L. A. Gower, D. A. Tirrell, *J. Cryst. Growth*, **191**, 153 (1998).
- <sup>37</sup> L. B. Gower, D. J. Odom, *J. Cryst. Growth*, **210**, 719 (2000).
- <sup>38</sup> T. Kato, T. Amamiya, *Chem. Lett.* **28**, 199 (1999).
- <sup>39</sup> T. Kato, *Adv. Mater.*, **12**, 1543 (2000).
- <sup>40</sup> A. Sugawara; T. Kato, *Chem. Commun.*, **2000**, 487.
- <sup>41</sup> N. Hosoda, T. Kato, *Polymer Preprints, Japan*, **49**, 3991 (2000).
- <sup>42</sup> 加藤隆史、細田尚也、酒井一、公開特許広報 2001-261332.
- <sup>43</sup> N. Hosoda; A. Sugawara; T. Kato, *Macromol.*, 2003, **36**, 6449 (2003).
- <sup>44</sup> N. Hosoda; T. Kato, *Chem. Mater.*, **3**, 688 (2001).
- <sup>45</sup> 加藤隆史、「化学と工業」、**54**、670 (2001).
- <sup>46</sup> Y. Kitano, D. W. Hood, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **29**, 41 (1965).
- <sup>47</sup> G. Falini, S. Albeck, S. Weiner, L. Addadi, *Science*, **271**, 67 (1996).
- <sup>48</sup> A. M. Belcher, X. H. Wu, R.J.Christensen, P. K. Hansma, G. D. Stucky, D. E. Morse, *Nature*, **381**, 56 (1996).
- <sup>49</sup> N. Hosoda, A. Sugawara, T. Kato, *Macromolecules*, **36**, 6449 (2003).
- <sup>50</sup> P. K. Ajikumar, R. Lakshminarayanan, S. Valiyaveettil, *Cryst. Growth Design*, **4**, 2, 331 (2004).



- 
- <sup>51</sup> S. Rajam, B. R. Heywood, J. B. A. Walker, S. Mann, R. J. Davey, J. D. Birchall, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **87**, 727 (1991).
- <sup>52</sup> J. Kuther, R. Seshadri, W. Knoll, W. Tremel, *J. Mater. Chem.*, **8**, 641 (1998).
- <sup>53</sup> J. Aizenberg, A. J. Blach, G. M. Whitesides, *Nature*, **398**, 495 (1999).

## 第2章 炭酸カルシウム薄膜形成における水溶性・不溶性有機高分子の効果

---

## 1. 目的

貝の真珠層における炭酸カルシウム(アラゴナイト)薄膜を模倣するためにコントロールすべきファクターは形態(薄膜化)・結晶形・配向の3つがあり、これを同時に達成する必要がある。第1章で述べたように、炭酸カルシウムの薄膜化を達成した先行研究においては、配向と結晶形のコントロールされてはいないものの、薄膜化にはカルボキシ基を有する水溶性高分子の共存が必須のものであることが判っている。しかし、カルボキシ基を有する水溶性高分子のどのような作用で薄膜に『形態』がコントロールされたかについては十分に解明がされていない。高分子は分子量がその性質に影響する。生体で利用されているタンパク質の分子量は一般に非常に高いが、先行研究で主として使用されてきた合成高分子は重量平均分子量 2000 程度の比較的低い分子量のものであった。そこでこの章では、分子量の異なる水溶性高分子を用い、修飾を施していないガラス基板上に水溶性高分子共存下、炭酸カルシウム結晶を析出させ、得られた結晶を分析することにより炭酸カルシウム結晶に対する水溶性高分子の役割について調べた。この結果と対比して、先行研究において薄膜形成に必要とされたアルコール性水酸基を持つ不溶性高分子の役割を考察する。本実験では、カルボキシ基を有する水溶性高分子としてはその構造が最も単純な合成高分子であるポリアクリル酸(図 1-21)を使用した。

## 2. 方法

炭酸カルシウムの結晶は、10 または 20 mM の塩化カルシウム過飽和溶液に、炭酸アンモニウム  
の分解により発生する炭酸ガスを導入する方法で作製した。基板として、親水化処理したスライド  
ガラス(巻末参照)を使用した。ポリアクリル酸は  $M_w=2000$  (PAA2k),  $M_w=90000$  (PAA90k),  
 $M_w=25000$  (PAA250k)の3種類のを単独、または混合して使用した(巻末参照)。ポリアクリル酸  
濃度  $C_{PAA}$  は  $2.4 \times 10^{-3}$  wt%(カルボキシ基濃度換算で 0.33 mM)から  $2.4 \times 10^{-1}$  wt%(カルボキシ基濃  
度換算で 33 mM)の間で変化させた。100 cm<sup>3</sup> のプラスチック(ポリメチルペンテン製)の染色バッド  
にポリアクリル酸を添加した塩化カルシウム水溶液を入れ、この中に十分洗浄し(洗浄方法につい  
ては付録参照)、親水化させたガラス基板を立てて入れ、パラフィルムを被せた。15g の炭酸アン  
モニウム粉末を入れた広口瓶を入れた 5 dm<sup>3</sup> のガラス製デシケータの中に、パラフィルム表面に数  
個の穴を開けたこの容器を入れ、室温で炭酸ガスを拡散導入した(図 2-1)。1~6日間後にスライ  
ドガラスを取り出し、純水で洗浄、室温で乾燥させスライドガラス上に析出した炭酸カルシウムの結  
晶を調べた。分析には FE-SEM、FE-TEM、X 線回折装置、熱天秤を使用した。

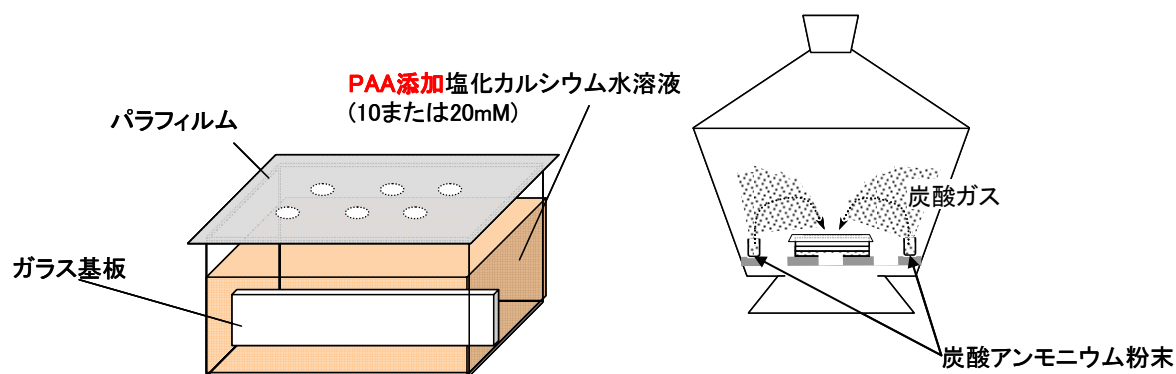


図 2-1 本研究で使用した実験装置

この方法で、共存イオンが無い場合、スライドガラス上に成長する炭酸カルシウムは菱面体の  
カルサイトと、薄板の花弁から成るバテライトの球晶である(図 2-2)。

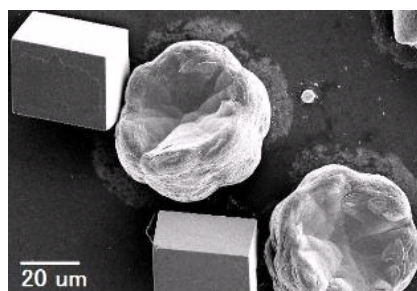


図 2-2 スライドガラス上に得られるカルサイト(菱面体)とバテライト(花弁状薄片から成る球晶)

### 3. 結果と考察

#### 3.1. カルボキシ基を持つ水溶性高分子の効果

##### 3.1.1. 低分子量ポリアクリル酸の効果

先行研究で多く用いられていた低分子量の PAA2k を共存させ、非イオン性水酸基を持つ不溶性高分子面を持たないガラス基板上で結晶成長させた場合、PAA2k が無い場合にできていたバテライトの球晶の生成は抑制され、カルサイトのみが得られるようになった。ただし、カルサイトの菱面体の形態は劇的に変化した。カルサイトの析出も、PAA2k の濃度  $C_{PAA}$  を  $1.44 \times 10^{-1}$  wt % 以上と比較的多く加えた場合には禁止された。低濃度の場合(ポリアクリル酸濃度  $C_{PAA}$   $2.4 \times 10^{-3}$  wt% (カルボキシ基のモル濃度で 0.33 mM、以降カッコ内全てカルボキシ基換算))、表面に多くの溝(図 2-3 a)と三角形の稜(図 2-3b)の見られる、比較的サイズの大きい{104}面で囲まれた菱面体を得られた。溝で分離された稜のサイズは およそ  $2 \sim 4 \mu\text{m}$  であった。 $C_{PAA}$  を  $7.2 \times 10^{-2}$  wt% (10 mM) に上げ、PAA2k の影響を強くすると、丸まった形状の結晶が得られた(図 2-3c)。この結晶は同じ方向を向いて並んでいる 150 nm 程度の小さい三角形のサブユニットから構成されていた(図 2-3d)。この結果は PAA2k 分子が特定面、この場合{104}面及び c 軸に平行な面、に吸着して標準的な結晶成長を制御し、小さいサブユニットからなる結晶を生じさせたものと思われる。

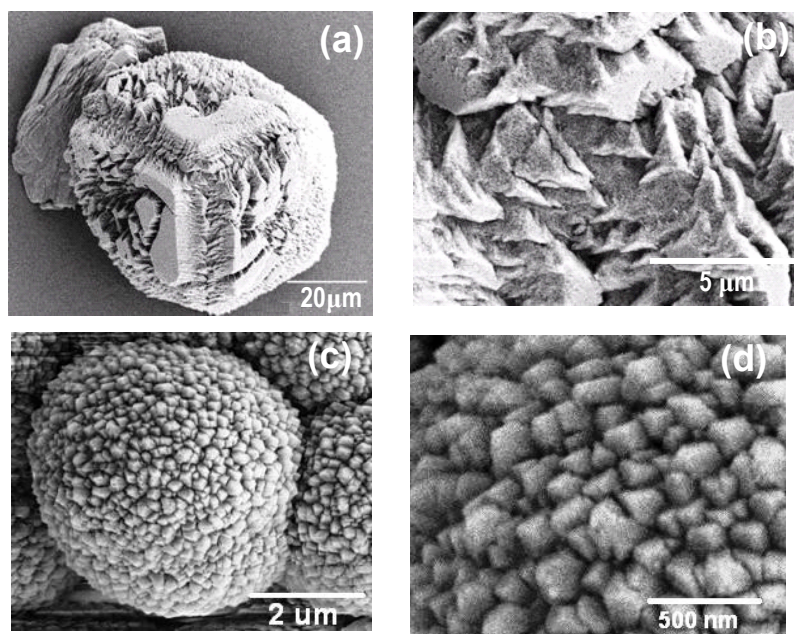


図 2-3. PAA2k 共存により得られた結晶の SEM 写真(析出時間 3 日)

(a)と(b) :  $C_{Ca}$  10 mM,  $C_{PAA}$   $2.4 \times 10^{-3}$  wt% (0.33 mM)、(c)と(d)  $C_{Ca}$  20 mM,  $C_{PAA}$   $7.2 \times 10^{-2}$  wt% (10 mM)

### 3.1.2. 高分子量ポリアクリル酸の効果

高分子量のポリアクリル酸 (PAA90k または PAA250k)を少量添加した場合は、その効果は低分子量の PAA2k の場合とほぼ同じで、菱面体の外形を残して表面が荒れあつた。また、いずれの場合も  $2.4 \times 10^{-1}$  wt% を添加した場合には結晶化は禁止された。

PAA90k の場合には、 $C_{\text{PAA}}$  が  $2.4 \times 10^{-3}$  wt% (カルボキシ基濃度換算 0.33 mM)、図 2-4a のように荒れた{104}面から成る菱面体が得られた。これに対し、ポリアクリル酸の濃度を上げていくと、表面の形態は PAA2k の場合とは全く異なる変化を示した。菱面体の変形は  $C_{\text{PAA}}$  の増加とともに激しくなった(図 2-4b)。 $C_{\text{PAA}}$  が  $7.2 \times 10^{-2}$  wt% (カルボキシ基濃度換算 10 mM) に至ると、平坦な膜状結晶がガラス基板に沿って得られた(図 2-4d)。 $\text{Ca}^{2+}$ の濃度は 10 mM に固定して実験したため、この場合のカルボキシ基のモル濃度(10 mM)は、 $\text{Ca}^{2+}$ イオンの濃度とほぼ同じとなる。

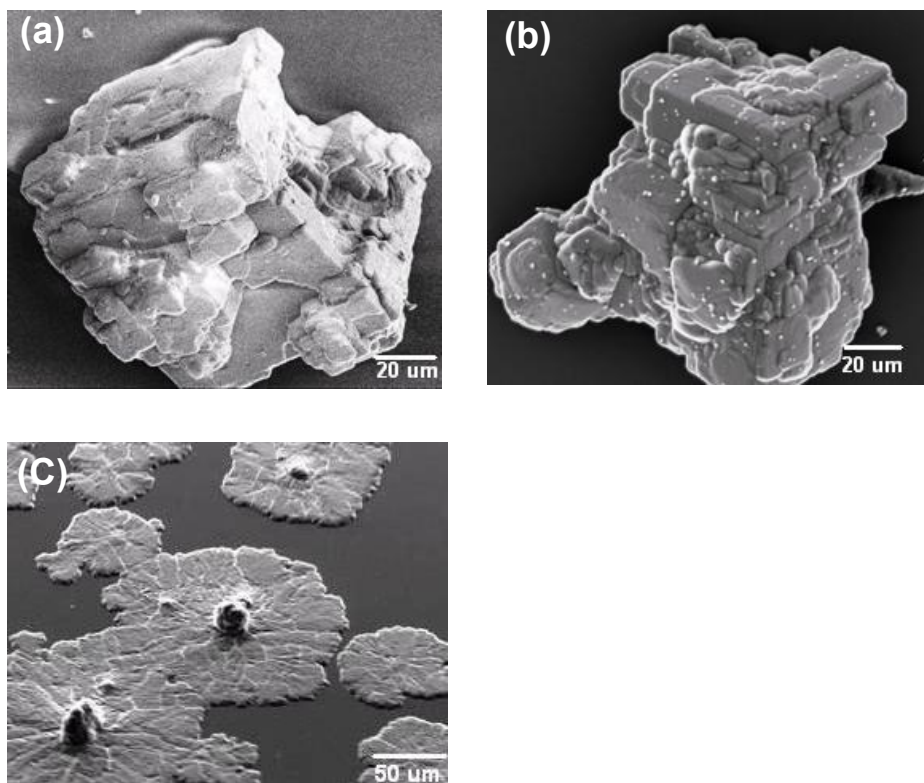


図 2-4. PAA90k 共存下で得られた結晶の SEM 写真(成長3日後)

(a)  $C_{\text{Ca}}$  10 mM、 $C_{\text{PAA}}$   $2.4 \times 10^{-3}$  wt% (0.33 mM)、(b)  $C_{\text{Ca}}$  10 mM、 $C_{\text{PAA}}$   $2.4 \times 10^{-2}$  wt% (3.3 mM)、(c)  $C_{\text{Ca}}$  10 mM、 $C_{\text{PAA}}$   $7.2 \times 10^{-2}$  wt% (10 mM)



PAA250k による形態変化は、基本的には PAA90k の場合と同じであった。PAA250k の影響が相対的に低い場合には ( $C_{\text{PAA}} 2.4 \times 10^{-3} \text{ wt\% (0.33 mM)}$ )、PAA90k の場合と同様に 125 nm 程度の微小な3角形から成る荒れた表面をもつ菱面体が得られた(図 2-5a, b)。菱面体の角の方向の並び方から見て、カルサイトの c 軸は基板と垂直であると考えられる。 $C_{\text{PAA}}$  が  $7.2 \times 10^{-2} \text{ wt\% (10 mM)}$  の場合には炭酸カルシウムの平坦な膜が得られた(図 2-5c)。SEM で拡大すると、非常に小さいサブユニットが見られ (図 2-5d)、TEM の観察から、5-10 nm のカルサイトの結晶子が確認された(図 2-6)。ナノメートルオーダーの結晶子が膜中に確認されたことは、高分子量のポリアクリル酸による結晶の微小化効果が低分子量のポリアクリル酸の場合よりも大きいことを示している。なお、膜中の結晶子に特定の配向は認められなかった。

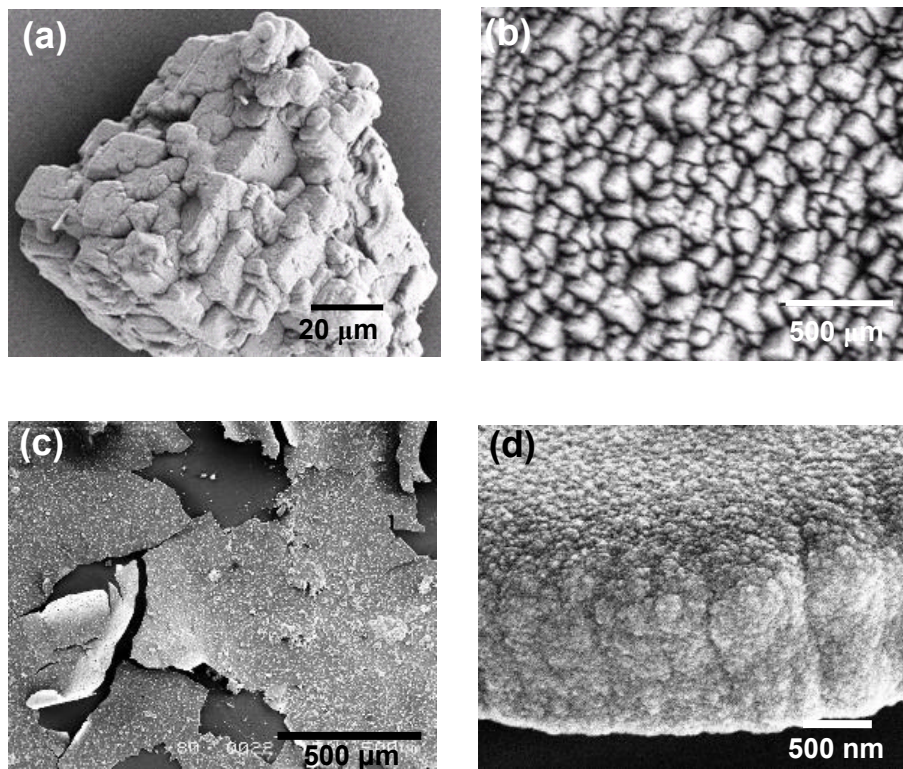


図 2-5. PAA250k 共存下で得られた結晶の SEM 写真(3日後)  
 (a)と(b)  $C_{\text{PAA}} 2.4 \times 10^{-3} \text{ wt\% (0.33 mM)}$ 、(c)と(d)  $C_{\text{PAA}} 7.2 \times 10^{-2} \text{ wt\% (10 mM)}$

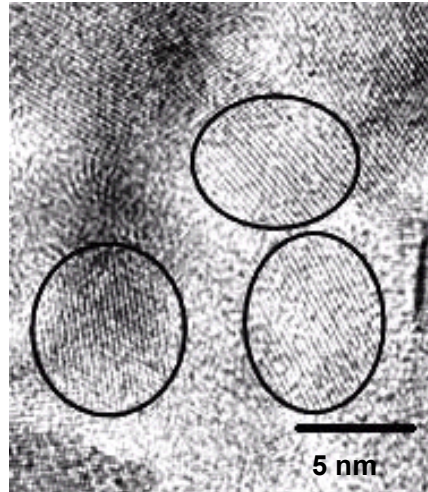


図 2-6  $C_{\text{PAA}}: 7.2 \times 10^{-2} \text{ wt\%}$  (10 mM)で得られた膜状結晶の TEM 像  
格子間隔はカルサイト (006)面に帰属される ( $d = 2.845 \text{ \AA}$ )



### 3.1.3. 熱天秤による薄膜中のポリアクリル酸含有の確認

熱天秤(TG/DTA)で、得られた膜状結晶の熱重量変化を調べた。600°C以降、吸熱反応である炭酸カルシウムの分解 ( $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$ ) による大きな重量減少が見られたが、この温度以下でもわずかに質量減少が観察された(図 2-7)。PAA250 自体の熱重量変化を調べたところ、450-500°C付近での分解が確認された。すなわち、図 2-7 の 600 °C未満での重量変化は薄膜中または薄膜表面にポリアクリル酸が存在することを示すものと言える。ポリアクリル酸の含有量は600°C未満での重量減少から計算すると3-4 wt%となる。ポリアクリル酸は微量ながら確かに結晶に吸着しており、通常の成長を強く抑制して形態を薄膜に変化させた。ポリアクリル酸を使った薄膜形成には、キチンとその誘導体<sup>1,2,3,4</sup>、porphyrin 単分子膜<sup>5</sup>、ポリビニルアルコール<sup>6,7</sup>等の特定の表面が必要と報告されてきたが、PAA90k または PAA250k を使用した場合には表面修飾を行っていないガラス基板上でも膜状結晶の形成が観察された。共存しているものが PAA しかない状況で基板上に薄膜が成長したということは、高分子量のポリアクリル酸が基板上に存在していたと言える。高分子量 PAA は基板に吸着して、核生成と成長を促す効果があったと考えられる。

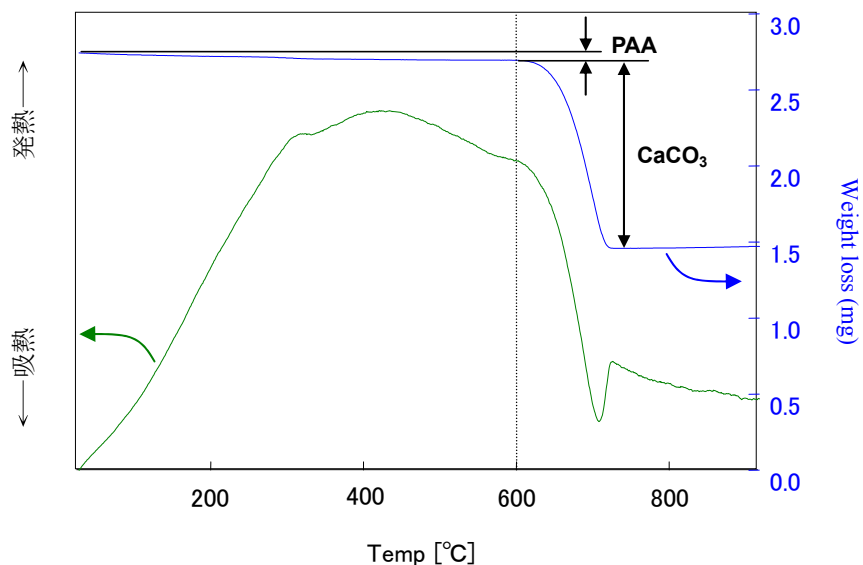


図 2-7 PAA250k 添加により得られた炭酸カルシウム膜状結晶の TG-DTA 曲線

### 3.2. アルコール性水酸基水酸基を持つ不溶性高分子面共存による薄膜形成の確認

先行研究においては、多糖類(キチン、キトサン、セルロース等)あるいはポリビニルアルコール基板を使用するとその上に炭酸カルシウムの膜が成長すると報告されている。<sup>1-7</sup> キトサン及びポリビニルアルコール基板を使用して結晶成長させた結果を図 2-8 に示す。この実験ではポリビニルアルコールを不溶化させるために、水溶液にしてスライドガラスにスピコーティングしたものを 260°C のホットプレートで 1 分間加熱処理して使用した。ポリアクリル酸は PAA2k と PAA90k を  $2.4 \times 10^{-3}$  wt%、 $\text{CaCl}_2$  は 10mM の濃度とし、析出時間は 1 日とした。結果、キトサン基板、ポリビニルアルコール基板のいずれの場合にも薄膜が得られた(図 2-8)。PAA2k で膜の外形は円形であることがはっきりとわかるが(図 2-8a, c)、PAA90k を使用した場合は基板に平行な方向への成長が速く、全体が一体化してしまっただけで外形ははっきりしない(図 2-8b, d)。しかし、キトサン上の場合にはクラックの入り方(図 2-8b)、ポリビニルアルコール上の場合には同心円状の縞模様(図 2-8d)が観察されたので、いずれも円形の膜が隣の膜と接する所まで成長して一体化したものであると判断される。

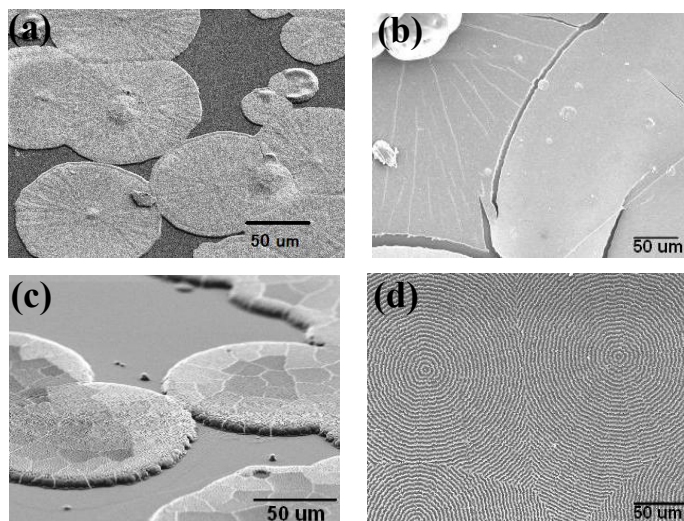


図 2-8 非イオン性水酸基を持つ不溶性高分子面上に形成される炭酸カルシウム薄膜  
 $C_{\text{PAA}} 2.4 \times 10^{-2}$  wt%,  
(a)キトサン上、PAA2k, (b)キトサン上、PAA90k、(c)ポリビニルアルコール上、PAA2k, (d)ポリビニルアルコール上、PAA90k

ガラス上で膜状の炭酸カルシウムを得た結果は、高い分子量のポリアクリル酸(PAA90k、PAA250k)を使用し、 $C_{\text{PAA}}$  が  $2.4 \times 10^{-2}$  wt% 以上で共存させる必要があり、得られた膜の形状は不定形であった。これに対し、アルコール性水酸基を持つ不溶性基板面を用いると、低い分子量のポリアクリル酸を 1/10 の低い濃度で共存させた場合であっても炭酸カルシウムは薄膜として得られ

た。またその形状は円形であるということから、円の中心から外に向かって成長したと考えられる。  
なお、この膜の結晶形と配向に関する議論については、第4章で行うこととする。

### 3.3. 配向膜の形成

低分子量のポリアクリル酸はガラス基板上では結晶を微細化し、その微細結晶は配向を示していた。これに対し、高分子量のポリアクリル酸は濃度を上げると薄膜を形成したが、その膜は無配向だった。両者を混合すると中間的効果を受けた結晶が得られると予想される。この仮定のもとに、PAA2k と PAA250k の両方の比率を変えて添加した溶液の中で炭酸カルシウム結晶を成長させた。結果、中間的である、新しい形態の結晶を得ることができた。図 2-9a に示すとおり、20 mM の  $\text{CaCl}_2$  水溶液に薄膜を形成する濃度である  $7.2 \times 10^{-2}$  wt% (10 mM) の PAA250k と  $2.4 \times 10^{-3}$  wt% ( $0.33 \times 10^{-1}$  mM) の PAA2k を添加した水溶液中では、菱形のカルサイトの膜が得られた。PAA250k に対し、PAA2k を増やして行くと、図 2-3d に見られたような丸まった結晶となった。菱形の膜の外形は通常のカルサイト結晶の晶癖ではあるが、表面に見られるサブユニットのサイズは 100 nm 未満だった(図 2-9b)。SEM 写真より菱形の角度を測定すると  $104^\circ$  (図 2-9c) または  $120^\circ$  (図 2-9d)に分類され、それぞれ、{104}面、(001)面で見られる角度である。さらに、XRD の結果では(104)と(006)面によるピークがはっきりと現れていた(図 2-10)。この事実は、菱形の膜を構成するサブユニットが $\langle 104 \rangle$  または [001]方向を基板に垂直に配向して三次元的に集積していることを示唆している。

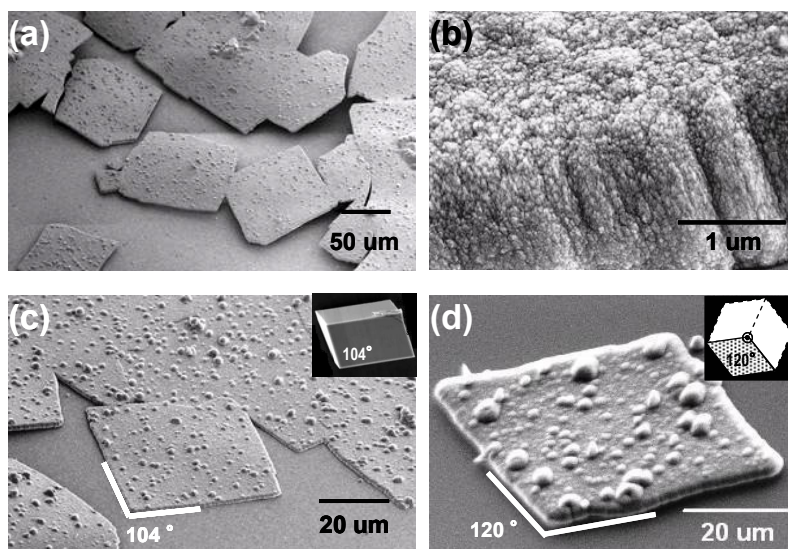


図 2-9. カルサイトの菱形薄膜

PAA250k  $7.2 \times 10^{-2}$  wt %、PAA2k を  $2.4 \times 10^{-3}$  wt % 添加。(a) 低倍率、(b)高倍率、(c)と(d)は角の角度を写真から測定した結果。(c)の挿入図はカルサイトの菱面体の{104}面は  $104^\circ$ であることを、(d)の挿入図は三方晶の[001]方向から見た場合に  $120^\circ$ であることを示した図。

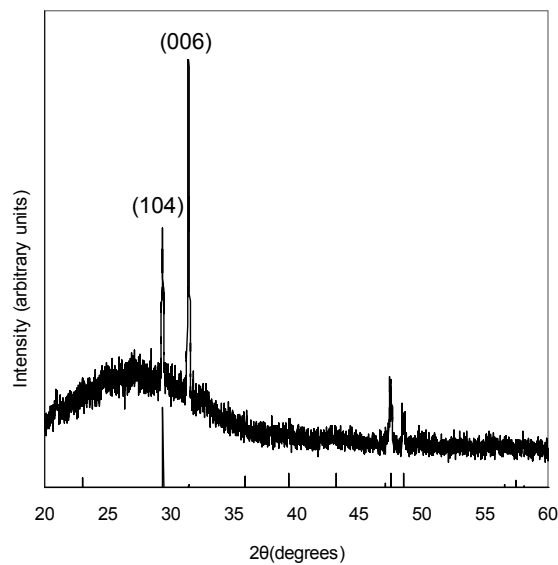


図 2-10. 菱形平板結晶の XRD チャート。  
下の棒グラフは、カルサイトの標準パターン(JCPDS #5-0586)。

TEM像を観察すると、図 2-11 の TEM 像で示したように、ナノメートルオーダーでの結晶子が観察された。格子間隔はカルサイトの(110)面を示していた。したがって、全ての結晶子の[001] 方向が基板と垂直に並べられていると言える。格子の[110]方向(矢印)は、結晶子の界面(白い破線)で少しずつずれを生じているので、この膜は完全な配向膜ではなく、モザイク構造になっているが、PAA250k のみで得られた膜に比べ配向は向上した。

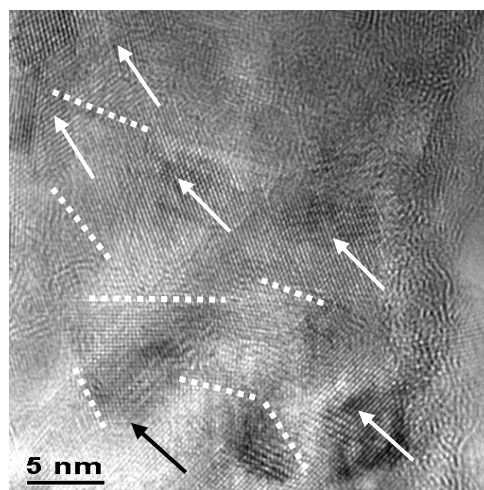


図 2-11 菱形平板結晶の TEM 像  
格子間隔はカルサイトの(110)面( $d = 2.495 \text{ \AA}$ )に帰属される。  
矢印は[110]方向、白い破線は結晶子の境界。

### 3.4. 薄膜形成のメカニズム

#### 3.4.1. ポリアクリル酸の炭酸カルシウムへの吸着による微細化

結晶は過飽和度を駆動力として一方的に成長しようとするが、そこにポリアクリル酸の吸着という成長を抑止する力が働き、両者のバランスにより、微細化しながら成長し、集積され微結晶が集まった結晶ができた(図 2-12)。形態の変化は微結晶の集積体の状態の変化によるものなので、微細化と集積化を起す水溶性高分子の分子量や濃度を変えると形態がコントロールされる。

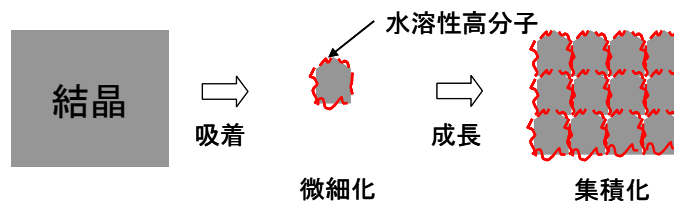


図 2-12 結晶の微細化と水溶性高分子

図 2-13 に  $\text{Ca}^{2+}$  と PAA のカルボキシ基の濃度比と、図 2-3 及び図 2-5 SEM 写真から判断したサブユニットサイズの相関を示した。PAA を加えることにより、低濃度(3%)でも急激に微細化することがわかる。また高分子量 PAA は低分子量 PAA に対して約 10 倍の微細化効果を示した。ガラス基板上で膜が形成された際には PAA のカルボキシ基濃度とカルシウムイオン濃度はほぼ 1:1 であった。

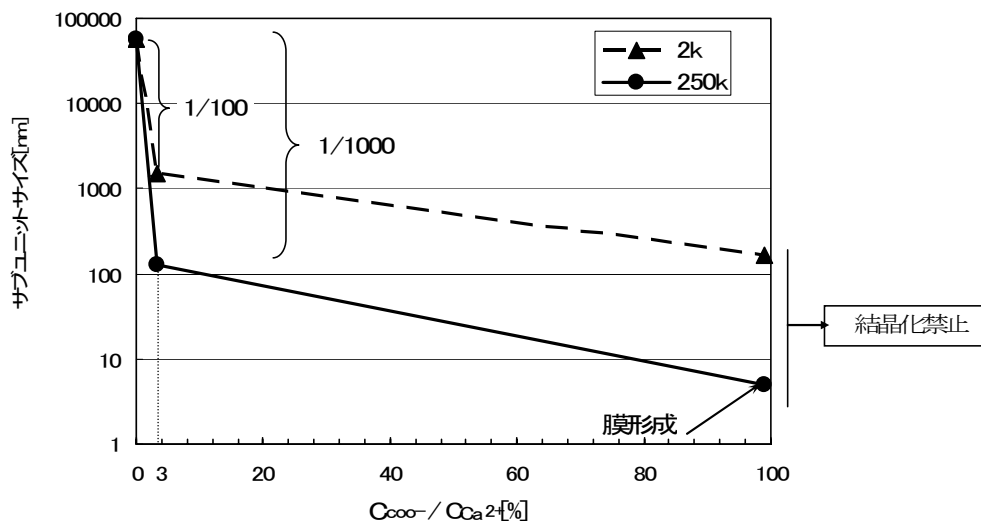


図 2-13  $\text{Ca}^{2+}$  と PAA 中のカルボキシ基の濃度  $C_{\text{COO}^-}$  の濃度の比とサブユニットサイズ

ここで、高分子量のポリアクリル酸の方が低分子量のポリアクリル酸の 10 倍の微細化効果を示したことに対して、結晶子の表面の全炭酸イオンサイトとポリアクリル酸のカルボキシ基が置き換わって吸着することにより微細化が起こったと仮定して考察する。

CaCO<sub>3</sub> を 1 ユニット考えると 1 ユニット中に炭酸イオンは 1 つなので、最表面の炭酸カルシウムのユニット数を取ると、ポリアクリル酸のカルボキシ基の吸着サイト数となる(図 2-14 参照)。このユニット数と全体のユニット数を比較すると、そのサイズにするために必要なカルボキシ基数とカルシウムイオンの数の比率がわかる。今、CaCO<sub>3</sub> 1 ユニットの辺 L<sub>0</sub>、結晶子サイズを L とすると、表面:全体のユニット数の比率は以下で計算される。

$$\begin{aligned} \text{CaCO}_3 \text{ 1 ユニットの体積 } V_0 &= L_0^3 \\ \text{結晶子の体積 } V &= L^3 \\ \text{結晶子全体のユニット数 } N &= V/V_0 \\ \text{表面のユニット数 } N_s &= (L/L_0)^2 \times 6 \\ \text{表面/全体 } R_0 &= N_s/N \end{aligned}$$

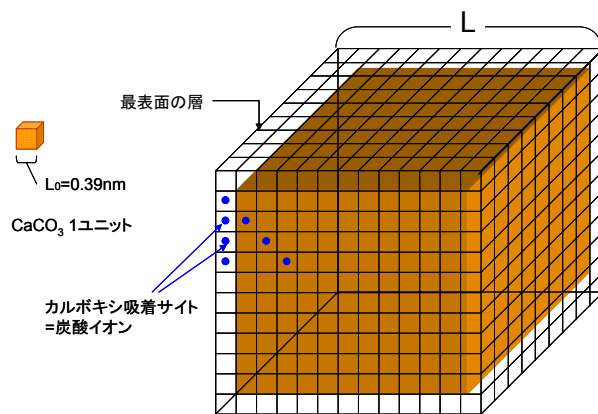


図 2-14 CaCO<sub>3</sub> 1ユニットと、最表面のユニット及びカルボキシ吸着サイトのイメージ図

ここで、カルサイトの密度 2.71g/cm<sup>3</sup> から計算すると、CaCO<sub>3</sub> を 1 ユニットは 0.39 nm の立方体ユニットと仮定される。この値から計算した比率を表 2-1 に示した。結晶子サイズを 2 μm にするには Ca<sup>2+</sup>の 1/500、150 nm にするには 1/63、125 nm にするには 1/50、5nm にするには 1/2 のカルボキシ基が必要となることがわかる。

表 2-1 結晶子表面のユニット数と内部のユニット数比較

結晶子サイズ L (nm)	2000	150	125	5
体積 V=L <sup>3</sup> (nm <sup>3</sup> )	8E+09	3E+06	2E+06	1E+2
全ユニット数 N=V/V <sub>0</sub>	1E+11	5.5E+07	3E+07	2E+02
表面のユニット数 N <sub>s</sub> =(L/L <sub>0</sub> ) <sup>2</sup> ×6	2E+08	8.7E+05	6E+05	1E+03
表面/全体=COO <sup>-</sup> /Ca <sup>2+</sup> N <sub>s</sub> /N	1/500	1/63	1/50	1/2

各サイズにするために実際の実験で系内に存在させたカルボキシ基とカルシウムイオンの比率と計算上の比率を比較したのが表 2-2 となる。例えば PAA2k で 150 nm への微細化を行なうには計算値ではカルシウムイオンの 1/63 のカルボキシ基があればよい。しかし、実際の水溶液中にはほぼ等量(1/1)のカルボキシ基が必要であった。同様の計算により得られた値が「系内のカルボキシ基が吸着に使用される率」となる。PAA2k と PAA250k でのこの値を比較するといずれも PAA250k の場合の方が高い。この結果から高分子量 PAA の方がより高い効率で吸着に使用されるので微細化効果が高くなったと推測れる。PAA250k は PAA2k に対し重合度は 125 倍なので、吸着サイトも 1 分子あたり 125 倍ある。このため 1 分子内で何箇所も吸着が起こり、より脱着が起こりにくいので高分子量 PAA の方が効率よく吸着すると考えられる。

表 2-2 実験結果による結晶子サイズとカルボキシ基とカルシウムの濃度比

	PAA2k		PAA250k	
	図 2-3(b)	図 2-3(d)	図 2-5(b)	図 2-5
結晶子サイズ[nm]	2000	150	125	5
水溶液中の $\text{CCOO}^- / \text{CCa}^{2+}$	1/30	1/1	1/30	1/1
計算による $\text{Ccoo}^- / \text{CCa}^{2+} = \text{Ns}/\text{N}$	1/500	1/63	1/50	1/2
系内のカルボキシ基が吸着に使用される率	1/16	1/63	3/5	1/2

膜が形成された際の  $\text{Ns}/\text{N}=1/2$  から計算上の PAA と  $\text{CaCO}_3$  の重量比を考えると、

PAA [72]、 $\text{CaCO}_3$  [100]

重量比  $1 \times 72 / 2 \times 100 = 36 / 100$ 、PAA の重量%  $\{36 / (36 + 100)\} \times 100 = 26.5 \%$

となり、3.1.3 項の熱分析の結果の 10 倍程度の PAA が含まれる計算になる。この点の不一致は今後の検討課題である。



### 3.4.2. ポリアクリル酸によるカルサイトの誘起

ポリアクリル酸分子のコンフォメーションは図 2-15 に示した2つのタイプが考えられる。結合距離と結合角から幾何学的に算出した場合、等価なカルボキシ基間はコンフォメーションAの場合には、0.410 nm で、コンフォメーションBの場合には 0.502 nm となる。カルサイトの{104} 面における、一列に並んだ Ca 同士の間隔は 0.405 nm と 0.499 nm である。また、(001) は基本的に 0.499 nm の等間隔で Ca が並んでいる。ポリアクリル酸鎖の構造は基本的にこれらの面に合っているのでポリアクリル酸を添加した系ではカルサイトができやすくなると同時に、できたカルサイトに対しては炭酸イオンサイトとカルボキシ基が置き換わることにより、この面に吸着し成長を抑止する。これによりポリアクリル酸の影響が比較的弱い PAA2k の場合または PAA250k で低濃度の場合には菱面体の表面に[001]方向に配向したとみられる三角形のサブユニットが観察された。

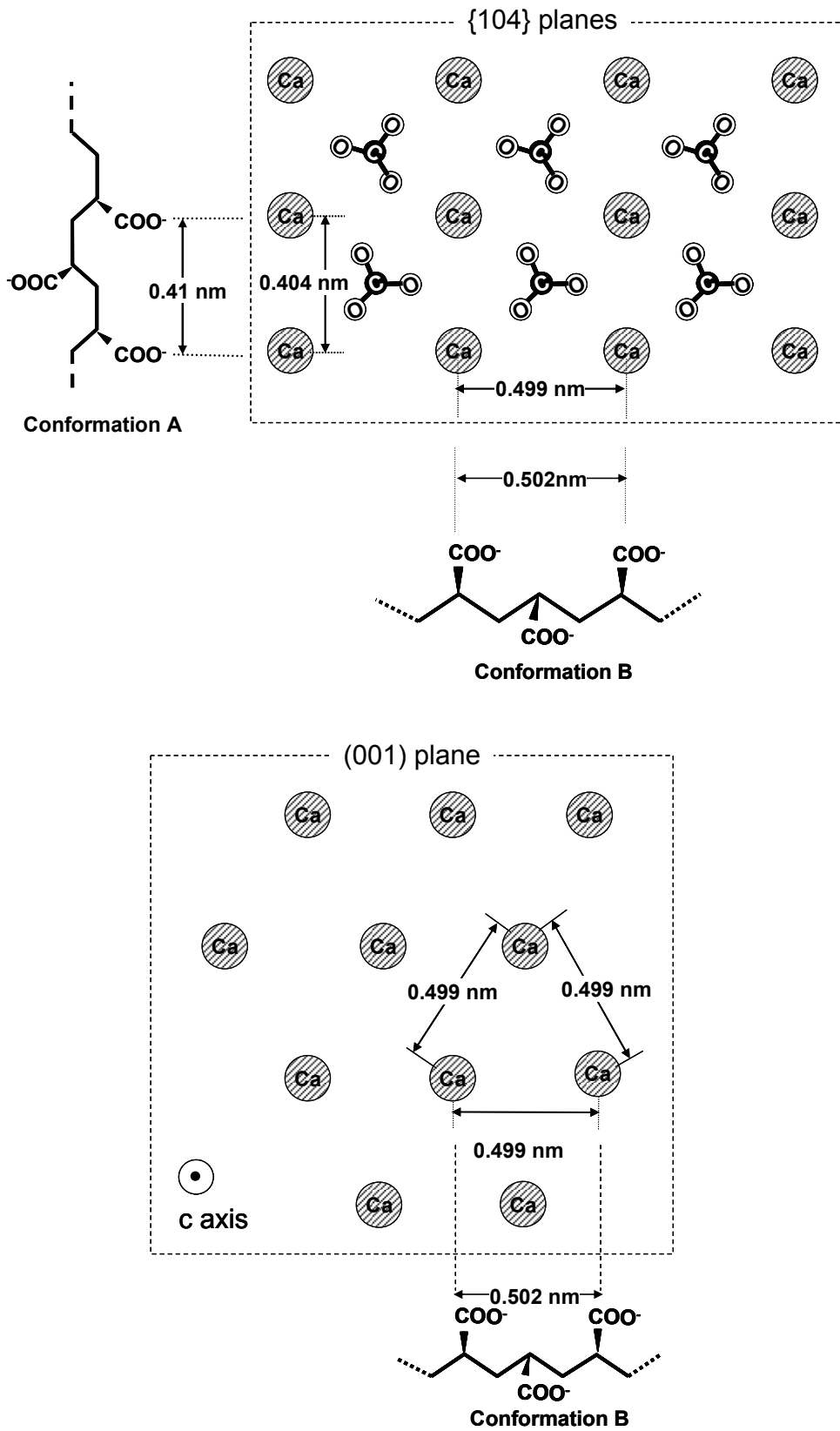


図 2-15. {104}面 と(001)面における Ca サイト間の距離

### 3.4.3. ポリアクリル酸の分子量と吸着面の選択

低分子量のポリアクリル酸では、ポリアクリル酸濃度を増やしても炭酸カルシウムの薄膜は形成されず、ある量を超えると結晶成長が禁止されるのみだったのに対し、高分子量のポリアクリル酸では  $7.2 \times 10^{-2}$  wt% の濃度では薄膜を生じた。これに対し、キトサンあるいはポリビニルアルコール上ではポリアクリル酸の分子量によらず、薄膜が形成された。ガラス上で薄膜が生じたということは、ガラス上に PAA が吸着していることを示すと先に述べたが、そうであるとするならば、薄膜を生じなかった PAA2k はガラス基板に吸着しなかったということになる。また、キトサン・ポリビニルアルコール上では分子量によらず、基板上への吸着が起こったということになるが、そのメカニズムについて以下のように考察する。すなわち、ガラスの等電点以上の高 pH 水溶液中ではガラスは負に荷電しており、アニオンの吸着は阻害される。低分子量ポリアクリル酸ではクーロン斥力により脱着が起こるが、高分子量ポリアクリル酸は低分子量ポリアクリル酸よりもモビリティは低く、分子鎖が長いので1箇所でも吸着すると吸着したことになるので、脱着が起こりにくく、ガラス面であっても吸着が起こり、炭酸カルシウムの核生成と成長を促進した(図 2-16)。

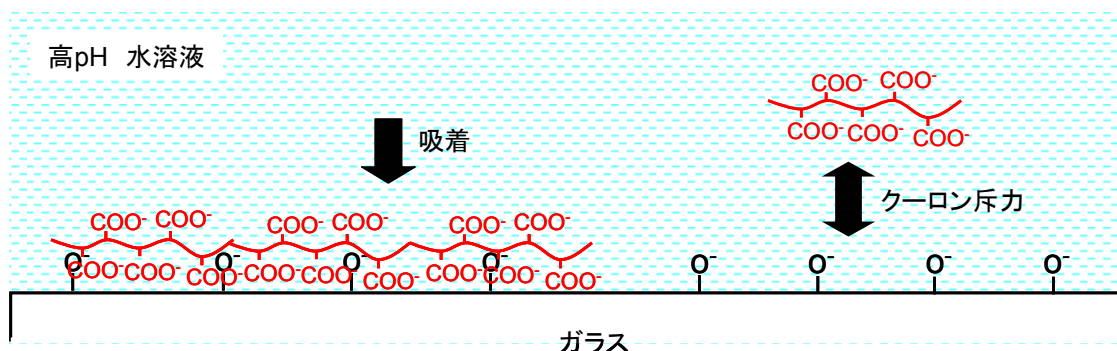


図 2-16 ガラス基板へのアニオン性高分子の吸着

これに対し、キトサンまたはポリビニルアルコール基板の場合には、親水性であり、同じ高 pH 状況下であっても、電離していないため吸着が妨げられない。このため、低い分子量のポリアクリル酸でも吸着がおこり、薄膜が形成されたと考えられる(図 2-17)。すなわち、アルコール性水酸基を持つ不溶性高分子の役割は、水溶性高分子の吸着の促進である。基板上に確かに PAA が吸着しているかについては、先行研究における報告がある。図 2-18 はセルロースを PAA2k を含む水溶液に浸漬させ、取り出して IR を測定した結果で、セルロースには無いカルボニルの吸収帯  $1734\text{cm}^{-1}$ 、 $1419\text{cm}^{-1}$  が観察されることから、PAA2k が吸着しているとしている。また、図 2-19 はキトサンを濃度の異なる PAA2k 水溶液に浸漬させ、時間と PAA2k の膜厚の変化をエリプソメトリにより光学的に測定した結果である。この結果のうち、25ppm は今回実験に使用している  $2.4 \times 10^{-3}$  wt% と

ほぼ同じ値であり、この場合は飽和状態でキトサン上に 180Å 程度の膜厚で PAA2k が吸着しているということになっている。

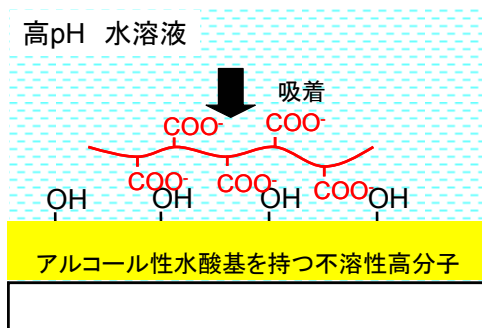


図 2-17 アルコール性水酸基を持つ不溶性高分子上でのアニオン性高分子の吸着

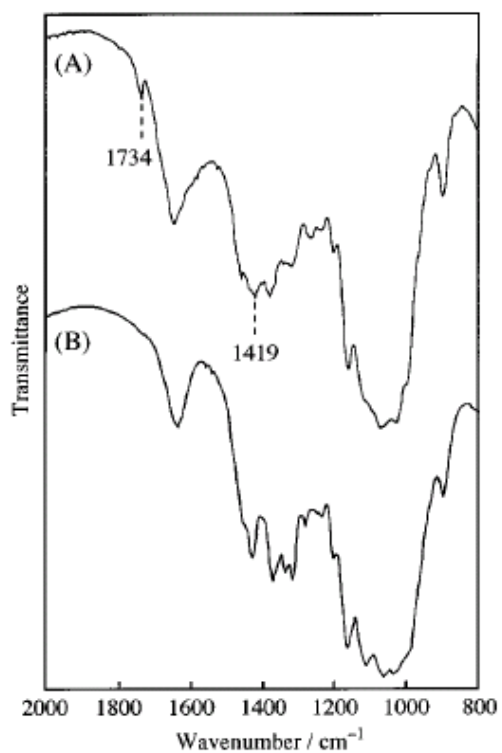


図 2-18 セルロース上に吸着した PAA を示す IR チャート<sup>4</sup>  
 (A)は PAA2k 1.0x10<sup>-2</sup>wt%に3時間浸漬後、(B)は浸漬していないもの。

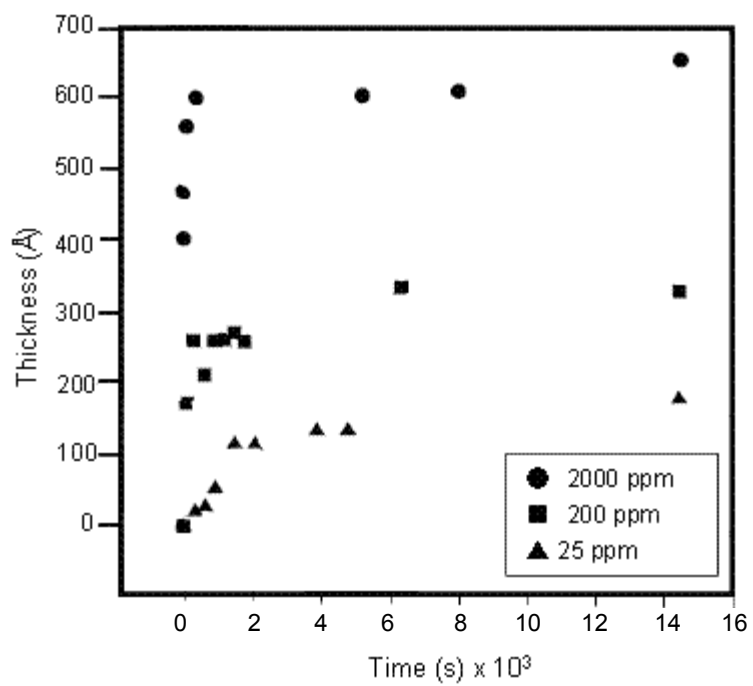


図 2-19 エリプソメトリで測定したキトサンに吸着した PAA2k の膜厚の時間変化<sup>2</sup>

#### 3.4.4. 薄膜形成における水溶性高分子の役割

これまでの考察から、水溶性高分子は、

- (1)結晶への吸着による微細と成長抑止による形態制御
- (2)面への吸着による核生成と成長促進

が薄膜形成における役割である。

高分子量ポリアクリル酸は吸着した面上で核生成と成長を促進すると同時に、析出したカルサイトに吸着し強力に成長を抑止するので、両者の効果でナノスケールのサブユニットが積み重なった薄膜が形成される。基板に吸着して核生成と成長を促進した高分子量ポリアクリル酸は、同時に図 2-13 で示した高い微細化効果のため、ナノメートルスケールの結晶子をサブユニットとして無配向の薄膜を形成した。外形も無配向を反映して図 2-3 と図 2-4 に示したように不定形になる。

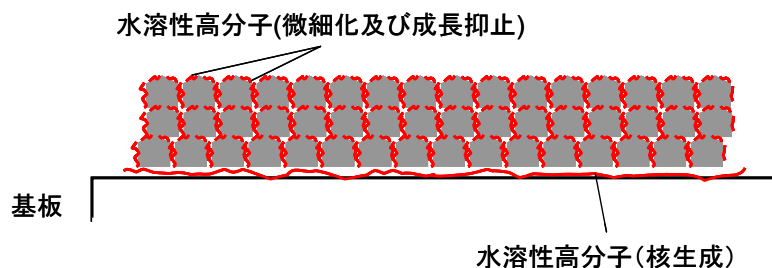


図 2-20 薄膜形成における水溶性高分子の役割

ガラス基板に吸着した高分子量のポリアクリル酸のカルボキシ基もまた同様にカルサイト(001)及び {104}面上の Ca サイト間に適合する間隔を提供し、核生成と成長のテンプレートとなる。高分子量 PAA の場合にはその微細化効果が高すぎて、テンプレート効果が発揮されなかったが、PAA2k と PAA250K を共存させた場合には、PAA2k が PAA250k による強力な成長抑制効果を緩和し、サブユニット同士の結合を促進し、これによりナノスケールサブユニットの三次元的集積により菱形の配向膜を得ることができる。カルサイトの(001)面は通常キングの特性を示し安定ではないはずだが、ポリアクリル酸の強力な吸着による成長制御で c 軸方向の成長が抑えられ、平坦な面を得ることが可能となった。

### 3.4.5. 薄膜形成における不溶性高分子の役割

すでに知られている通り、低分子量であってもポリアクリル酸は表面がキトサンあるいはポリビニルアルコールであれば、吸着して炭酸カルシウムの膜を形成する(図 2-8)。<sup>1-4,6,7</sup> ポリアクリル酸は 2k でも 90k でもキトサンおよびポリビニルアルコール上では炭酸カルシウムの膜を形成するから、上記ガラス基板上での考察をふまえると、非イオン性水酸基を持つ不溶性高分子面上には分子量に因らずポリアクリル酸が吸着するということになる。非イオン性水酸基とポリアクリル酸分子のカルボキシ基間の水素結合が吸着に効果があると考えられているが、吸着能力の低い PAA2k であっても、非イオン性水酸基の強いアシストがあれば基板にアンカーされ炭酸カルシウムの膜を形成することができる。非イオン性水酸基を持つ不溶性高分子面の役割については、さらに4章で詳しく述べる。

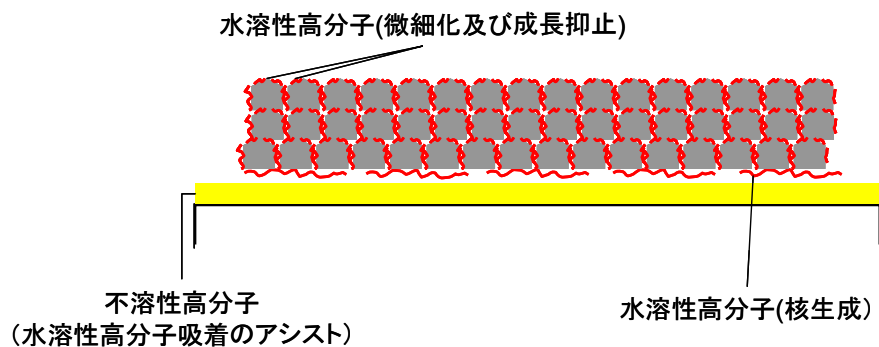


図 2-21 薄膜形成における水溶性高分子と不溶性高分子の役割と薄膜の構造

先行研究にて提案されていた薄膜の構造を比較のために以下に記す。薄膜の構造が明らかになり、膜中に水溶性高分子が取り込まれている点が大きく変わった点である。

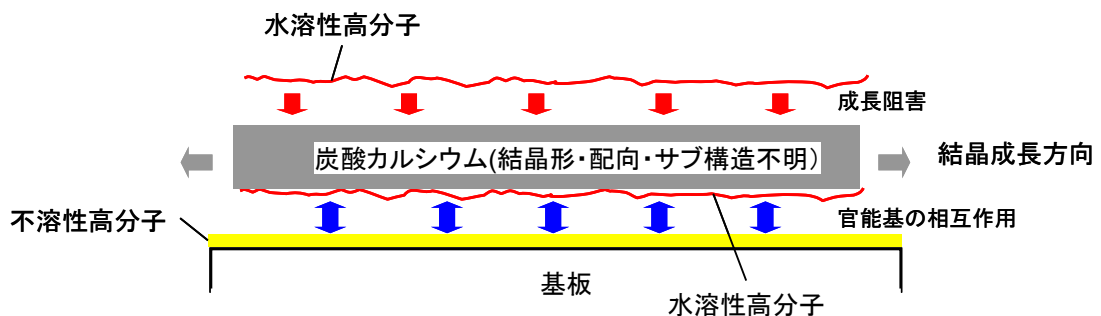


図 2-22 先行研究における炭酸カルシウム薄膜の構造

#### 4. 結論

基板の影響を除き、ポリアクリル酸自体の炭酸カルシウム結晶成長に与える影響を調べた本実験結果からわかった事をまとめると「カルボキシ基を持つ合成高分子ポリアクリル酸は成長抑止と核生成・成長促進の両方の働きがある」ということになる。膜形成に対してこの効果がどのように作用したかについては以下のことが言える。

- (1) ポリアクリル酸を添加したカルシウムイオンを含む水溶液は、カルサイトがしやすい環境になっている。
- (2) ポリアクリル酸は、炭酸カルシウム結晶自体に吸着して成長抑止剤として働き、結晶を微細化する。
- (3) ポリアクリル酸は、面に吸着して炭酸カルシウムの核生成を促進する。
- (4) ポリアクリル酸は高分子量の場合それ自身で基板に吸着するが、低分子量の場合には基板側に吸着を促進する機能を持たせないと吸着が起こらない。
- (5) アルコール性水酸基を持つ不溶性高分子の役割は、ポリアクリル酸の基板への吸着促進である。
- (6) 炭酸カルシウム薄膜は、面に吸着したポリアクリル酸上での核生成と成長の促進と、その上にできた炭酸カルシウム結晶への吸着による成長抑止の両者の効果で形成された。
- (7) 低分子量ポリアクリル酸と高分子量ポリアクリル酸の両方を共存させて炭酸カルシウムをガラス基板上に析出させると、中間的な成長抑制効果により、一方向に配列したサブユニットから成る配向膜を得ることができる。



## 第2章 参考文献

---

- <sup>1</sup> T. Kato, T. Suzuki, T. Amamiya, T. Irie, *Suprmol. Sci.*, **5**, 411 (1998).
- <sup>2</sup> S. Zhang; K. E. Gonsalves, *Langmuir*, **14**, 6761 (1998).
- <sup>3</sup> T. Kato; T. Amamiya, *Chem. Lett.*, **28**, 199 (1999).
- <sup>4</sup> N. Hosoda; T. Kato, *Chem. Mater.*, **13**, 2, 688 (2001).
- <sup>5</sup> G. Xu; N. Yao; I. A. Aksay; J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 11977 (1998).
- <sup>6</sup> 細田尚也、菅原彩絵、加藤隆史、*Polymer Preprints, Japan*, **49**, 3, 685 (2000).
- <sup>7</sup> N. Hosoda, A. Sugawara, T. Kato, *Macromol.*, **36**, 17, 6449 (2003).

## 第3章 薄膜から三次元形態への発展

---

## 1. 目的

カルボキシ基を持つ水溶性有機高分子は膜上面に吸着して上方への成長が阻害され炭酸カルシウムの薄膜が形成されているとした先行研究に対し<sup>1,2</sup>、第2章では、基板に吸着した水溶性高分子上での核生成により成長した炭酸カルシウムに水溶性高分子が吸着し、成長が抑止されて薄膜に形態が変化したという見解を示した。膜状になるということは特に基板上方への成長が抑止されたことを示している。水溶性高分子が無い状態でこの薄膜結晶を成長させれば、成長が抑止されないので、膜は上方へ三次元的に成長すると予測される。成長の抑止と解除が水溶性高分子の有無によりコントロールできれば、バイオメテリックミネラリゼーションにより三次元的形態のコントロールが可能となり、ボトムアップ型マイクロファブリケーションにアプローチすることが可能となる。この章ではポリアクリル酸の成長抑止を解除することによる二次元的形態の薄膜の形態変化について調査する。

## 2. 方法

### 2.1. 有機高分子共存による炭酸カルシウムの作製

出発試料となる炭酸カルシウム薄膜は第2章で実施したのと同じ装置で炭酸ガスを塩化カルシウム水溶液に拡散させる方法で作製した。基板として、水酸化カリウムのエタノール水溶液で親水化処理したガラス基板(方法は付録参照のこと)と非イオン性水酸基を持つキトサン(図 1-22)を使用した。一定時間後取り出した炭酸カルシウム膜の成長したサンプルは、純水で洗浄、室温で乾燥させた。得られた膜状結晶の結晶形を X 線回折装置または湾曲 IP X線回折装置(微小領域 X線回折装置)測定により調べ、結晶形が異なるサンプルを三次元的な形態変化を調べる実験を実施するサンプルに選んだ。選んだサンプルを作製した際の塩化カルシウム濃度  $C_{Ca}$ 、ポリアクリル酸の種類(PAA2k、PAA90k、PAA250k) と濃度  $C_{PAA}$  は表 3-1 に示した。サンプル3は第2章で作製した菱形のカルサイトの膜である。

表 3-1 出発試料とした炭酸カルシウム薄膜作製条件

サンプル#	ポリアクリル酸 分子量	$C_{PAA}$ (wt%)	$C_{Ca}$ (mM)	基板	析出時間
1	2k	$2.4 \times 10^{-3}$	10	キトサン	9 時間
2	90k	$2.4 \times 10^{-3}$	10	キトサン	3 日
3	250k	$7.2 \times 10^{-2}$	20	ガラス	3 日
	2k	$2.4 \times 10^{-3}$			

### 2.2. 追加成長法

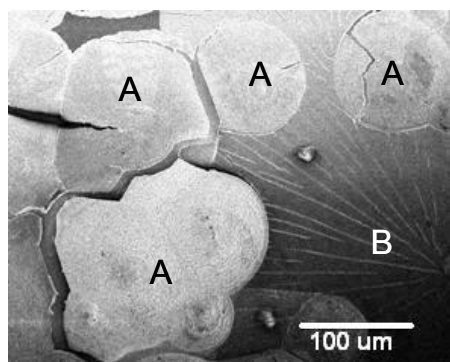
上記方法にて作製した出発試料 1~3を、ポリアクリル酸などの炭酸カルシウムに対する成長抑制効果のある添加剤を加えない 20mM の塩化カルシウム水溶液に浸漬させ、図 2-1 と同じ装置を使用して炭酸ガスを拡散させて炭酸カルシウムの結晶成長を行なった。この方法を「追加成長法」と呼ぶこととする。1 日後に取り出して SEM により炭酸カルシウム薄膜の形態変化について観察した。

### 3. 結果と考察

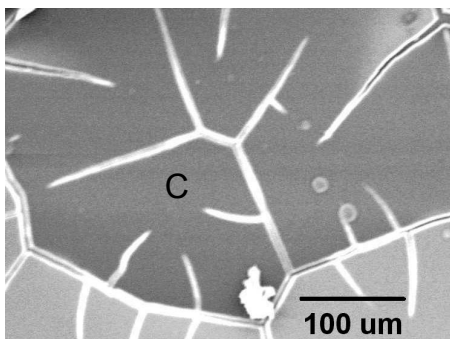
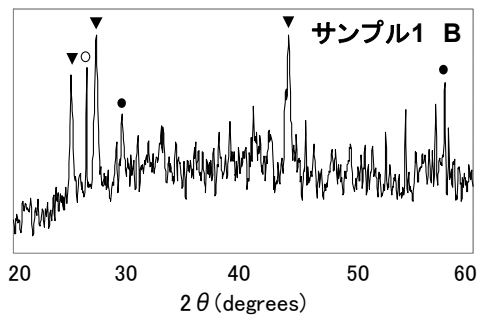
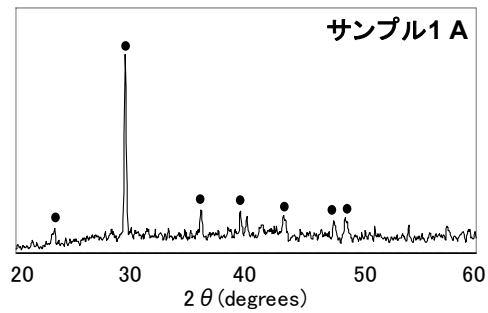
#### 3.1. 膜状結晶の結晶形の分析

図 3-1 に追加成長前の炭酸カルシウム膜の SEM 写真と X 線回折のチャートを示す。サンプル 1、2 は基板にキトサン基板を使用している。サンプル 1 には大小 2 種類の円形の膜が観察されたが、それぞれを微小領域 X 線回折装置(RIGAKU RINT-RAPID)で測定すると、小さい A 部はカルサイト、B 部の大きい円形の膜はバテライトが主成分であるということがわかった。キトサン上に成長する炭酸カルシウム膜はこのサンプルのように同じ成長時間であるのに対し、直径の比率が 4:1 程度の大小のものが見られることがあるが、それぞれが異なる結晶形であるということが示された。サンプル 2 の膜は基板に沿った方向の成長が進んで連続したものになっており、円形の外形は一体化して消失しているが、クラックの様子からもともと円形だったと見られる。全体が均一に見える膜で、X 線回折の結果もアラゴナイトのみの膜であることを示している。この測定結果からキトサン上での円形の膜状炭酸カルシウムには多形が存在することがわかった。ただし、A~C いずれの膜も円形で表面は平坦なので、その結晶形は見た目では明らかでは無い。

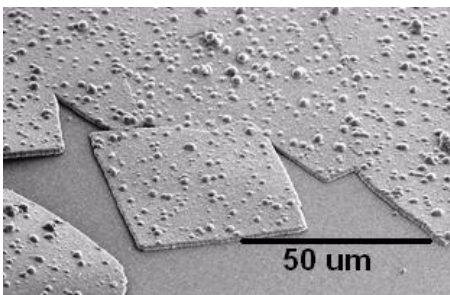
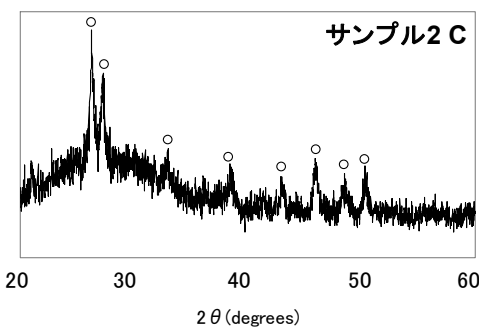
サンプル 3 は第 2 章で作製した平行四辺形の菱形のカルサイトの膜である。このサンプルの結晶形はカルサイトであり、X 線回折の結果は(104)と(006)面によるシグナルが強く出ている。菱形の角の角度の測定からも、菱形が(104)面と(001)面だと判断された(図 3-8, 3-9 参照)。



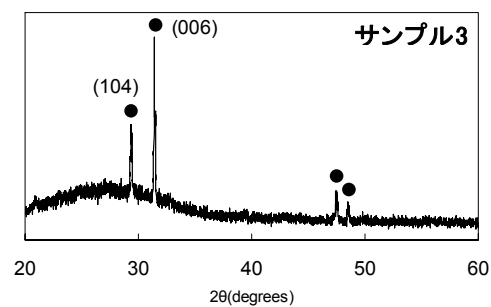
サンプル1



サンプル2



サンプル3



● calcite ○ aragonite ▼ vaterite

図 3-1 基板となる炭酸カルシウム薄膜とその X 線回折チャート

サンプル1: キトサン上、PAA2k  $2.4 \times 10^{-3}$ wt%, 9 時間, サンプル 2: キトサン上、PAA90k,  $2.4 \times 10^{-3}$ wt%, 3 日, サンプル3: ガラス上、PAA250k  $7.2 \times 10^{-2}$ wt%+PAA2k  $2.4 \times 10^{-3}$ wt%, 3 日

### 3.2. 膜の結晶形を引き継いだ三次元形態の発現

炭酸カルシウム薄膜を追加成長させた後の結晶のSEM観察結果を以下に示す。サンプル1、すなわち A 部がカルサイト、B部がバテライトである円形の膜が載った基板には、それぞれの結晶形に固有の娘結晶がそれぞれに成長した(図 3-2a)。カルサイト膜上には 10  $\mu\text{m}$  程度の菱面体が見られた。図 3-2b にあるような  $c$ 軸を基板と垂直にしている箇所と、 $\langle 104 \rangle$ が基板と垂直になっている箇所があった。これに対し、バテライト膜上には薄いプレートが、膜の中心から放射状に基板に垂直に並ぶという非常に特異的な成長を見せた(図 3-2c)。微小領域 X 線回折の測定結果からも、B部に付いた娘結晶がバテライトであることが確認できる。この装置での測定は基板を傾けて測定しているため、基板に対する配向はこのチャートからは判らない。しかし、バテライトのプレートは六方晶の(001)面の六角形を示しており、追加成長後プレート状結晶が基板に対して垂直に並んだことは、バテライトの下地膜の結晶子の  $c$ 軸が基板に水平になっていることを示している。厚さ 200nm、高さ 5 $\mu\text{m}$  という高アスペクト比(約 25)の薄板の形成と基板への直立及び大きさの揃ったプレート状結晶の配列が達成されている(図 3-2d)。

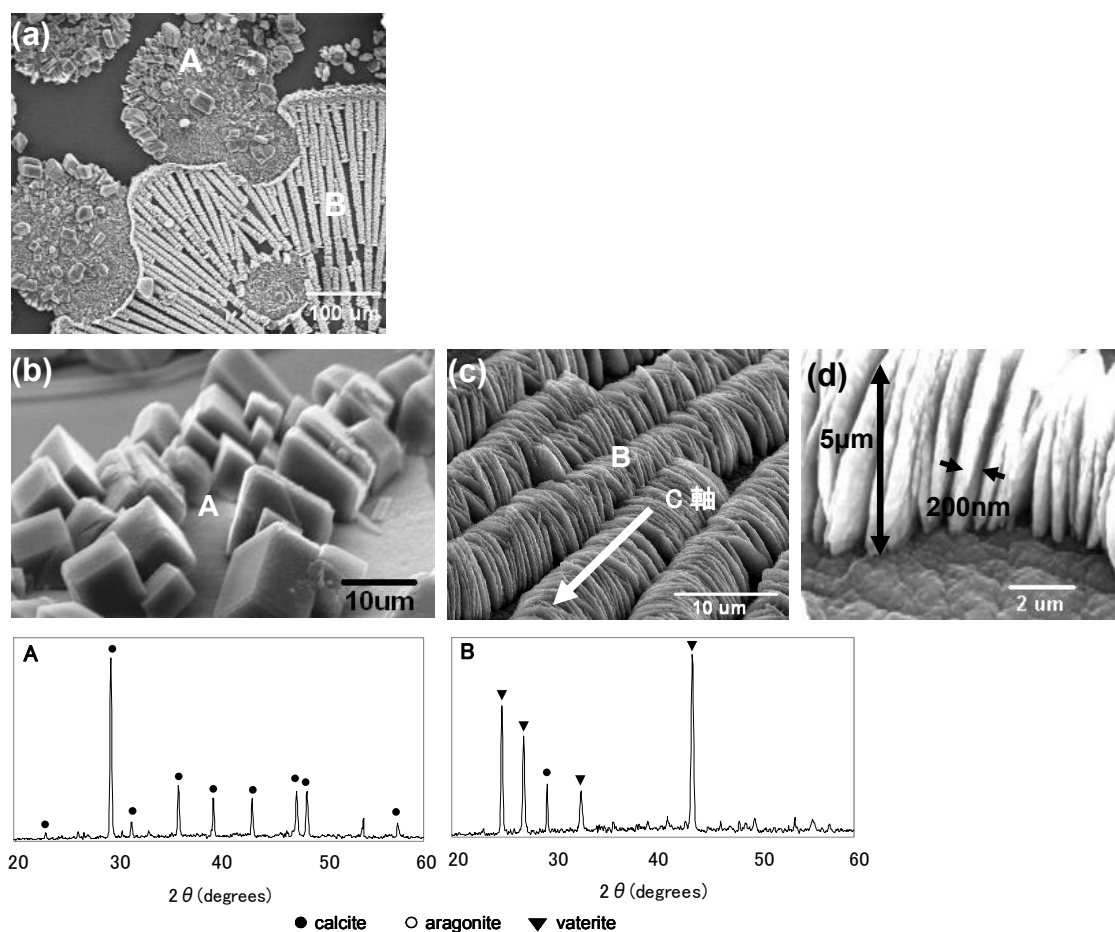


図 3-2 サンプル1の追加成長後の SEM 写真と XRD チャート

(a)全体、(b)A 部拡大、(c)B 部拡大、(d)B 部をさらに拡大

アラゴナイトの膜であるサンプル 2 に追加成長させた場合、径が 2  $\mu\text{m}$  程度の針状結晶が膜一面に膜から上方に向かって林立する様子が観察された(図 3-3a, b)。針状結晶を拡大してみると、アラゴナイト特有の擬六方の構造が見られ、この娘結晶は c 軸方向に伸びたアラゴナイトだと判断される(図 3-3c, d)。

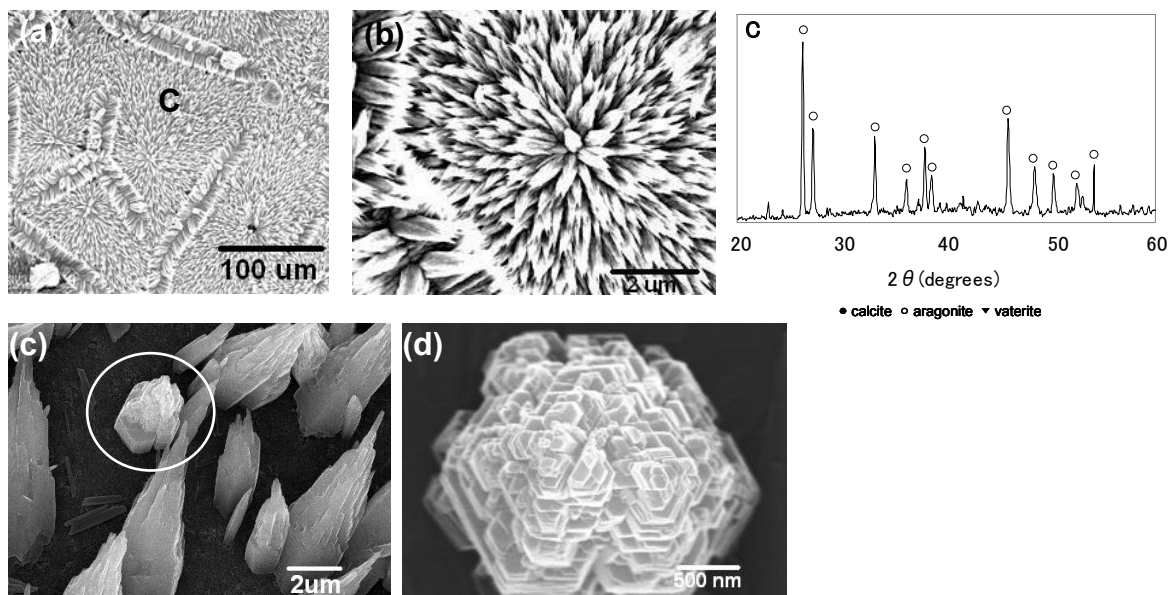


図 3-3 サンプル 2 の追加成長後の SEM 写真と X 線回折チャート

(a)は全体、(b), (c) はその拡大、(d)は(c)中の円の中を真上から拡大して撮影。

サンプル 3 の菱形の膜状結晶の追加成長後の様子を図 3-4 に示す。膜はカルサイトを示す 20  $\mu\text{m}$  程度の大きさの菱面体で覆われたが、その配列には図 3-4 に示すように 2 種類のものが観察された。図 3-4a では  $\langle 104 \rangle$  方向を基板と垂直にして並んでおり、図 3-4b では  $[001]$  の方向を基板面に垂直に並んでいる。これは、図 2-10c, d で測定した角度及び図 2-11 の X 線回折測定結果が示していた通り、元のカルサイトの膜に  $\langle 104 \rangle$  配向膜と  $[001]$  配向膜の 2 種類があったことを証明している。

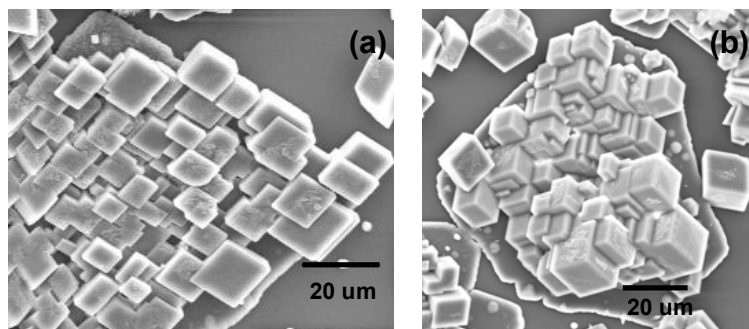


図 3-4. サンプル 3 の追加成長後の SEM 写真



### 3.3. 薄膜の結晶形の判別

図 3-5 は、PAA-キトサン基板の組み合わせによる薄膜形成で、成長時間を短くして独立した円形の状態で膜を得、この上に追加成長させたものである。追加成長前は、下地の円形の膜はいずれも平坦で、それ自体を見ても結晶形の判別はつかない。特に1つの基板の上に複数の結晶形の膜が出来ていたとしても、それぞれの結晶形を判断することは容易ではなかった。追加成長後発現された娘結晶の形状を見ると追加成長後は(a)には菱面体ブロック、(b)には直立したプレート、(c)には針状結晶が成長し、下地の膜は(a)カルサイト、(b)バテライト、(c)アラゴナイトであったということが視覚的に判る。炭酸カルシウム薄膜の結晶形を判別することにも追加成長法は有効であると言える。

また、これまで薄膜に多形が存在していることがわかっていたが、それが膜にどう混合されているのかは不明であった。今回の結果から、結晶形は1つの円の単位で同じであることがはっきりした。第2章で膜はポリアクリル酸吸着により微細化された結晶が成長とともに集積して形成されたということ述べた。1つの円が同じ結晶形であり、娘結晶が放射状あるいは同心円状に一定の方向を向いて配列したということは、下地の膜は単に独立した微小結晶が集積したのではなく、微細化された結晶が成長サブユニットになって形成されたということを示唆するものである。

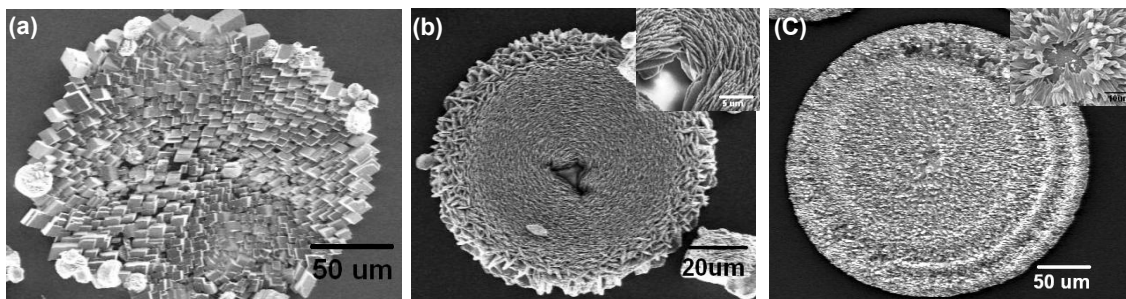


図 3-5 独立した円形炭酸カルシウム薄膜の追加成長による下地薄膜の結晶形の判別  
(a)カルサイトを示すブロック状結晶。下地の膜の作製条件は PAA2k、 $2.4 \times 10^{-3}$  wt%、7 時間、(b)バテライトを示す直立したプレート。下地の膜の作製条件は PAA2k、 $2.4 \times 10^{-3}$  wt%、7 時間、(c)アラゴナイトを示す針状結晶。下地の膜の作製条件は PAA90k、 $2.4 \times 10^{-3}$  wt%、16 時間

### 3.4. 貝の真珠層との比較

貝の真珠層はアラゴナイトの薄膜の積層から成っており、炭酸カルシウムの薄膜を人工的に作製しようとする一連の研究<sup>3</sup>の元となっているものである。図 3-6 はアコヤ貝の真珠層を使用して追加成長を実施した結果である。この薄膜も膜の上方への成長が起こった。娘結晶は膜表面から結晶が垂直に上方に伸びた柱状のものであり、これは、完全にc軸配向している真珠層から予想されたとおりの結果であった。得られた娘結晶の成長方向は一定であるものの大きさはまちまちで周期性は見られなかった。これに対し、PAA-キトサンの系でバイオミネティックプロセスにより人工的に作ったアラゴナイト膜状結晶に生えた針状結晶は、比較的サイズの揃った針状結晶が一面に一定の方向性を持って生えた。即ち、ポリアクリル酸とキトサンの系により得られるアラゴナイト膜は独自の構造になっており真珠層の完全にc軸配向した単結晶状の構造とは異なると言える。また、バテライトは天然の存在比は非常に低く、今回示したようなプレートが配列した構造のものは見つかっていないため、本方法で得られる膜状結晶自体がこれまでにない新しい構造を持つ人工的な膜であると言える。

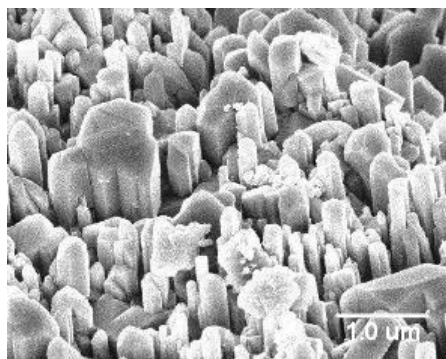


図 3-6 添加剤無しで追加成長させたアコヤ貝の真珠層

### 3.5. 三次元形態発現のメカニズム

炭酸カルシウムの薄膜の結晶は、ポリアクリル酸の吸着により微細化された結晶が結晶の接続を保ちながら、基板側に吸着したポリアクリル酸にガイドされて二次元的に集積されて形成される。ここで、成長抑制をしていたポリアクリル酸の無い塩化カルシウム水溶液にこの膜を浸漬させると、ポリアクリル酸の吸着が弱まり、膜上方への三次元的成長が促進されたと思われる。膜から上方に成長した娘結晶は基板の結晶形と配向をそのまま引き継いだエピタキシャル成長をしていたが、膜全体が一体化したまま上方に成長するのではなく、ある間隔を保ったサイズのほぼ揃ったマイクロメートルレベルの微小結晶が上方に成長する形で膜全体を三次元化した。これは、膜表面での核生成に対するポリアクリル酸吸着による成長抑制効果と過飽和による促進効果の間のバランスにより核生成の頻度が周期的となり生じたのではないかと考えている。

この追加成長による基板結晶構造の三次元化は、一種の「現像」工程として働き、エピタキシャル成長により膜に内在された晶相と配向を視覚化した。ポリアクリル酸共存により上方向の成長を抑制して膜を形成し、ポリアクリル酸による成長抑制を解除して膜上方への成長を起すという 2 段階の工程を経て(図 3-7)、膜上に配列したマイクロメートルオーダーの三次元形態を形成することに成功した。

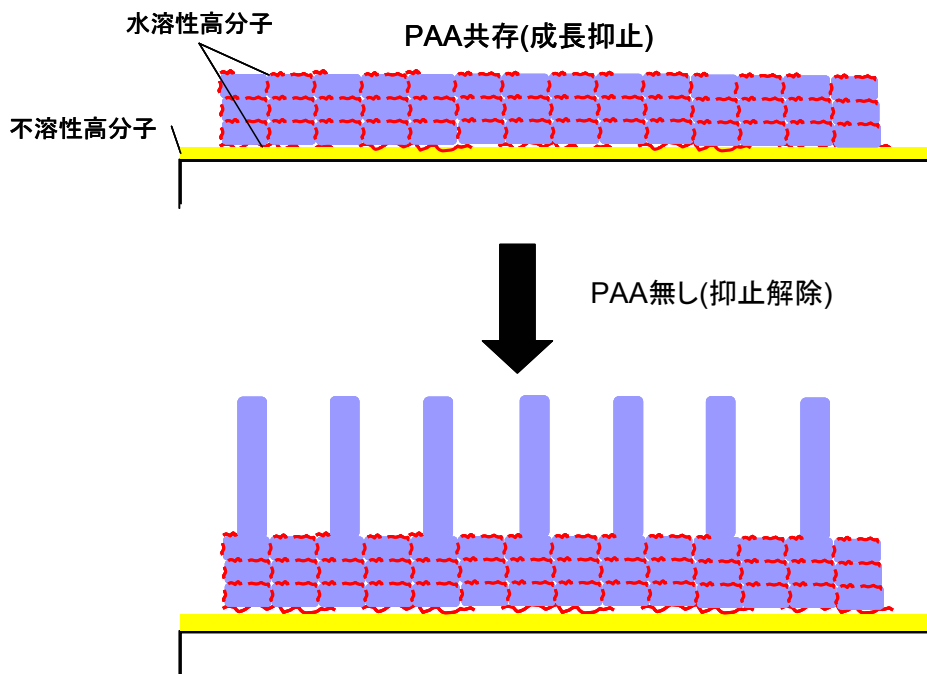


図 3-7 成長の抑止と解除による形態の三次元的発展

#### 4. 結論

バイオミメティックプロセスで人工的に作製した炭酸カルシウムの薄膜に成長を抑制していた共存イオンを除いた状態で追加成長をさせることにより以下のことがわかった。

- (1) 成長抑止効果を示すポリアクリル酸の無い状態で追加成長させると炭酸カルシウム薄膜は上方に三次元的成長する。
- (2) 上方に成長する結晶は下地の炭酸カルシウム薄膜の結晶形と配向を引き継ぐ。
- (3) キトサン基板上に成長した円形の炭酸カルシウム薄膜は多形を示し、1つの円は単一の結晶形になっている。
- (4) バイオミメティックプロセスで人工的に作製した炭酸カルシウムの薄膜を使用すると、薄膜上での核生成はある周期を持って起こり、マイクロメートルレベルの大きさの揃った結晶が一定間隔で配列した三次元構造を得ることができる。
- (5) 追加成長により下地の炭酸カルシウム薄膜の結晶形を引き継いだ結晶が成長するため、追加成長を実施することにより下地の炭酸カルシウム薄膜の結晶形の判別が可能となる。

### 第3章 参考文献

---

- <sup>1</sup> J. Lahiri, G. Xu, D. M. Dabbs, N. Y. Ilhan, A. Aksay, J. T. Groves, *J. Am. Soc.*, **119**, 5449 (1997).
- <sup>2</sup> 加藤隆史、「化学と工業」、**54**, 670 (2001).
- <sup>3</sup> T. Kato, T. Suzuki, T. Amamiya, T. Irie, *Suprmol. Sci.*, **5**, 411 (1998),  
G. Xu; N. Yao; I. A. Aksay; J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 11977 (1998),  
S. Zhang; K. E. Gonsalves, *Langmuir*, **14**, 6761 (1998),  
L. A. Gower; D. A. Tirrell, *J. Cryst. Growth*, **191**, 153 (1998),  
T. Kato, T. Amamiya, *Chem. Lett.* **28**, 199 (1999),  
T. Kato, *Adv. Mater.*, **12**, 1543 (2000),  
A. Sugawara; T. Kato, *Chem. Commun.*, **2000**, 487,  
N. Hosoda, T. Kato, *Polymer Preprints, Japan*, **49**, 3991 (2000),  
N. Hosoda; A. Sugawara; T. Kato, *Macromol.*, 2003, **36**, 6449 (2003),  
N. Hosoda; T. Kato, *Chem. Mater.*, **3**, 688 (2001),  
A. Sugawara, T. Ishii, T. Kato, *Angew. Chem. Int. Ed.* **42**, 5299 (2003).

## 第4章 炭酸カルシウム薄膜形の結晶形の制御 と環境因子

---

## 1. 目的

ガラス上で炭酸カルシウムの薄膜を作製した第2章の実験において、得られる薄膜の結晶形はカルサイトのみであった。<sup>1</sup> これに対し、アルコール性水酸基を持つ不溶性高分子基板とカルボキシ基含有高分子の共存により得られる炭酸カルシウムの薄膜は、第3章で確認した通り、カルサイト・バテライト・アラゴナイトが見られた。これは、後者の系の方が、条件を整えることにより多形の選択を可能にすることができることを示唆している。さらに第3章の結果で、薄膜に追加成長を施すと、各結晶形に特有のマイクロメーターオーダーの小結晶が膜表面に成長し、膜に三次元構造を持たせることができるということを述べたが、元の膜の結晶形を選択することができれば、意図する構造のみを作製することが可能となる。

粉体におけるアラゴナイトの選択的生成には  $\text{Ca}^{2+}$  の一部を  $\text{Mg}^{2+}$ あるいは  $\text{Co}^{2+}$  で置き換えるのが効果的であったとの報告がある。<sup>2,3</sup> 他方、バイオミメティックプロセスによる有機物を使った人工的なアラゴナイトやバテライトといった準安定相の選択的形成は、モルフォロジのコントロールに比較して、不十分な結果しかない。ポルフィリン単分子膜上に成長した炭酸カルシウム膜の結晶形はカルサイトであった。<sup>4</sup> 非イオン性水酸基を持つ不溶性基板として PVA を使用した場合、共存種がポリアクリル酸の場合にはアラゴナイトの膜、PGlu の場合にはバテライトの膜が得られるとの報告があった。<sup>5</sup> また、天然物を基板材料として使用した研究では、卵の殻の内側の膜を基板とし、PGlu を共存させた場合にはアラゴナイトの膜、PAsp を共存させた場合にはバテライトの膜が得られるとの報告もある<sup>6</sup> さらにキチンとその誘導体及びポリアクリル酸を使用した炭酸カルシウム膜の形成においては、結晶形は報告により異なっていた。<sup>7,8,9,10,11</sup> キトサン-PAA システムに  $\text{Mg}^{2+}$ を添加してアラゴナイト膜を達成した報告もあるが、<sup>12</sup> 結晶形はバイオミメティックミネラルイゼーションプロセスが目指す有機物によるコントロールでは無かった。さらに、多形は同一基板上でも温度により変化したという報告がある。<sup>13</sup>

このように、先行研究では多形をコントロールしたという報告はあるが、有機分子による炭酸カルシウム薄膜の多形制御を包括的に示した研究は現状発表されていない。そこで本章では、多形の存在が確認されている PAA-キトサンシステムにより環境条件を変えて炭酸カルシウム薄膜を作製し、その結晶形をX線回折分析及び、第3章で示した「追加成長法」による結晶形の発現の両者を利用して調べ、結晶形に影響を与えている因子を探り、有機物のみでの結晶形のコントロールについて考察する。

## 2. 方法

薄膜の作成方法は、第2章、第3章と同じ塩化カルシウム水溶液に炭酸アンモニウムから発生する炭酸ガスを導入する方法を用いた。使用した装置も、第2章の図 2-1 と同一である。変更した条件は、(1)キトサン基板のベーク温度、(2)共存させるポリアクリル酸の分子量、(3)温度で、固定した条件はポリアクリル酸の濃度  $C_{PAA}(2.4 \times 10^{-3} \text{ wt}\%)$  と、塩化カルシウム水溶液濃度(10 mM)である。

### (1) キトサン基板のベーク温度

キトサン基板は巻末の「本研究で使用した結晶析出用基板」の項に記した方法にて膜形成後、100 °Cまたは260 °Cのホットプレートで1分間加熱処理したものを使用した。100 °Cでベークしたキトサン基板を「CH100」、260 °Cでベークしたキトサン基板を「CH260」と呼ぶ。キトサンは240°C以上で無水キトサンになることが報告されており<sup>14,15</sup>、処理温度により上にできる膜の結晶形に違いがでるのかどうか両方を基板として使用して調べることにした。なお、キトサンは結晶性の高分子で、斜方晶のユニットセルの報告もされている。<sup>14-16</sup> キトサンの結晶性を確認するため、ガラス基板上に塗布したキトサン膜を薄膜 X 線回折測定装置で測定した。測定は薄膜回転試料台を使用し、 $\theta = 0.2^\circ$ 、スキャンスピード  $4^\circ / \text{min}$  で  $2\theta = 5 \sim 30^\circ$  の範囲で測定した。

### (2) ポリアクリル酸の分子量

PAA2k と PAA90k と PAA250k を使用した。これらの詳細は巻末の「本研究で使用した薬品一覧」にまとめてある。購入したものをそのまま使用した。

### (3) 温度

恒温槽を使用して精密に常温の範囲に限定するため、中で 10~35°C の間で保持した。

得られた結晶は、顕微鏡、FE-SEM, X 線回折分析により分析を行なった。さらに X 線回折分析により結晶形の判定がしにくいサンプルについては、第3章で示した追加成長法により結晶形を視覚化して確認した。20mM の塩化カルシウム水溶液に浸漬させ、密閉容器中で1日間炭酸ガスを拡散させ、取り出して光学顕微鏡または SEM で膜上にできる娘結晶の形態により判別した。



### 3. 結果

#### 3.1. キトサン膜の結晶性と配向

図 4-1 に 90°C 及び、260°C のホットプレートで加熱処理したキトサンの X 線回折測定結果を示す。チャート x 軸付近に示した棒グラフは JCPDS に登録されている #39-1894 の強度をグラフ化したもので、この強度は文献 16 に基づいており、200°C で高温加熱処理したものである。文献 17 によると、200°C の高温熱処理をしたキトサンは無水結晶になり、含水の場合は  $2\theta = 10^\circ$  付近に、無水結晶の場合には  $15^\circ$  付近に強い回折が現れるとされている。今回の測定結果ではこれらの変化については観察されなかった。また、同じ  $2\theta$  位置に 2 つの面からのシグナルが出るように記載されているのは、JCPDS カードにおけるユニットセル  $a=8.24\text{\AA}$ ,  $b=16.48$ ,  $c=10.39\text{\AA}$  ( $c$  軸は分子鎖方向) の  $b$  がちょうど  $a$  の 2 倍の長さになっているため、例えば、 $a$  軸を  $1/2$  で垂直に切る面 (200) の面間隔が、 $b$  軸ではその半分の  $1/4$  を切る距離と同じ面間隔になっていることを示しており、キトサンの構造において  $a$  と  $b$  は非常に近い値なので区別が困難であることを示している。すなわち、 $20^\circ$  付近に検出されるシグナルは (102) 面または (022) 面、 $21^\circ$  付近に検出されるシグナルは (200) 面または (040) 面のいずれか一方の場合もあると考えられる。キトサンの結晶構造を解析した論文においても、 $a$  軸と  $c$  軸が逆転している場合がある。<sup>14, 15</sup> 測定により、(102) 面、(022) 面、(200) 面、(040) 面からのシグナルが検出された。これは、 $a$  軸または  $b$  軸が基板面に垂直であることを示しているが、今回の解析においては文献 15 の構造を用いて議論することとし、このチャートを  $a$  軸が基板に対して垂直であることを示しているものと解釈する。

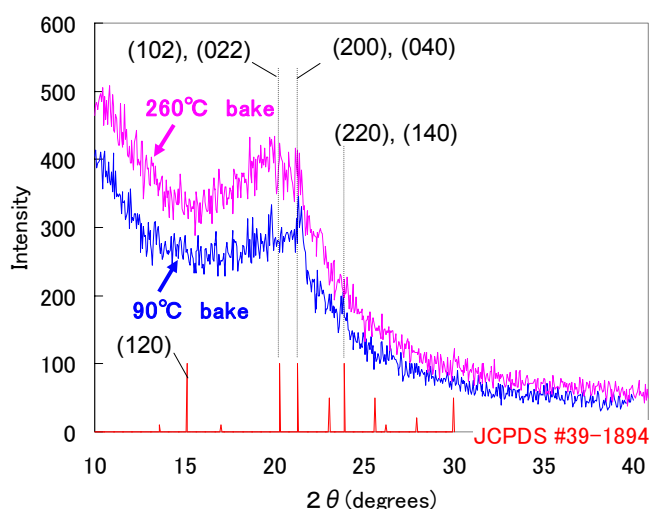


図 4-1 キトサンの X 線回折測定結果

### 3.2. 外形の確認

得られた膜状結晶の外形は全般に平らで円形であるという点にはどの条件で得られたものに対しても同じだった(図 4-2)。(a), (b), (d), (e)は CH260 上にできた炭酸カルシウム結晶の様子であるが、同じ条件の場合、CH100 上よりも膜の大きさが大きいことから、無水キトサン(CH260)の方が沿面成長を促進すると思われる。このことから、結晶成長への基板面の影響はキトサンよりも無水キトサンを使用した方が顕著に現れると考えた。

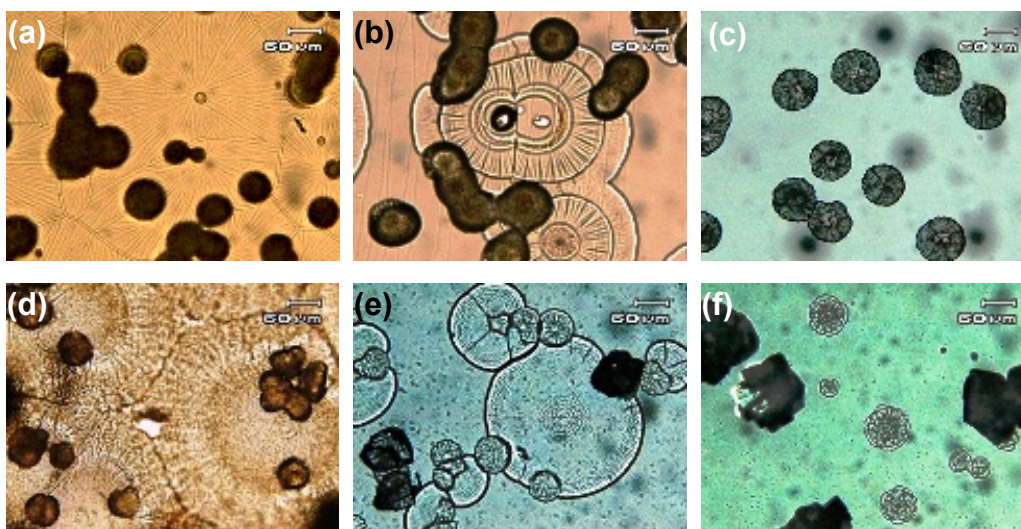


図 4-2 温度を変えた場合のキトサン基板の上に成長した炭酸カルシウム膜の顕微鏡写真  
(a)CH260 上、PAA2k、25°C、(b)CH260 上、PAA2k、15°C、(c)CH100 上、PAA2k、10°C、(d)CH260、  
PAA250k、35°C、(e)CH260 上、PAA250k、10°C、(f)CH100 上、PAA250k、10°C。

### 3.3. X線回折による結晶形の確認

類似した外形とは異なり、膜の結晶形は条件により異なっていた。図 4-3 は PAA2k 及び PAA250k 共存下で CH260 上に成長した炭酸カルシウム結晶の X 線回折のパターンである。PAA250k、温度 35°C の場合を除いていずれもカルサイトのピークが支配的に見える。PAA2k で温度 10°C の場合を除き、バテライトの弱いピークも全てに観察された。アラゴナイトは 35°C で確認された。

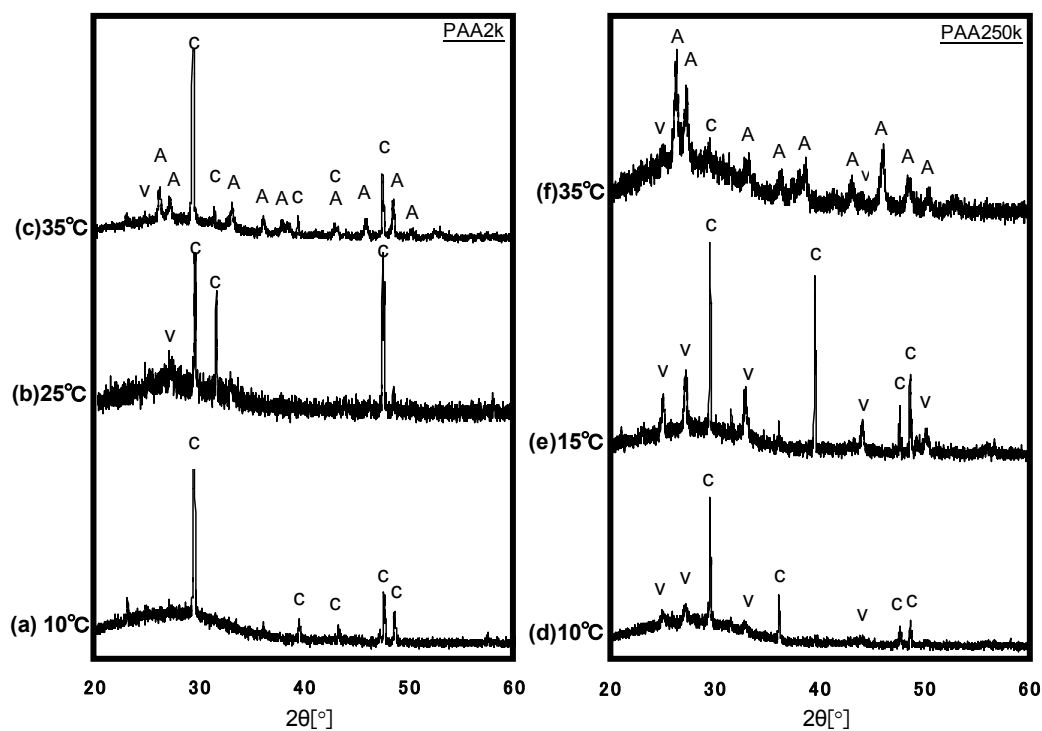


図 4-3. 種々の温度下、ポリアクリル酸共存で CH260 上に成長した炭酸カルシウムの X 線回折パターン (a)-(c) は PAA2k、(d)-(f) は PAA250k。C=カルサイト、A=アラゴナイト、V=バテライト。

得られた結晶の形状は薄膜ばかりではなく、図 4-2 に見られるように粒状のものも含まれていた。FE-SEM で基板上を拡大して観察すると(図 4-4)、高分子量のポリアクリル酸を共存させた場合には、比較的低い温度で結晶成長させた場合には同時に菱面体ができていることがわかった(図 4-4a)。従って、図 4-3dとeに見られたカルサイトの鋭いシグナルはこの菱面体によるものと判断できるので、除外できる。残りのシグナルから膜状結晶の部分はバテライトと推測されるが、X線回折による分析からだけでははっきりはしない。PAA2k で得られる膜には径が 200  $\mu\text{m}$  を超える面積の広い平坦な膜と、径が 50 から 80  $\mu\text{m}$  の粗い粒子から成る膜の2種類が観察された(図 4-4b)。X線回折のパターン(図 4-3b)はカルサイトとバテライトの混合で、バテライトのピークの方が弱くブロードニングしており、でカルサイトの強度が強いことから、粗い粒子のエリアはカルサイトだと予測されるが、いずれにしてもこの状態ではこの小さい円がカルサイトで大きい円がバテライトであるということを断定することはできない。

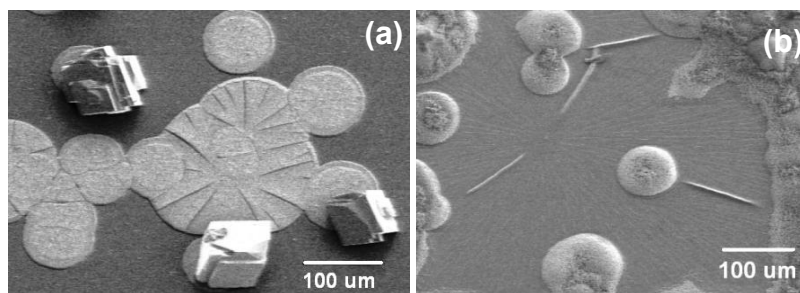


図 4-4 CH260 上膜に形成された炭酸カルシウム結晶の SEM 写真  
(a)PAA250k、25°C、(b) 2k、10°C

### 3.4. 追加成長法による結晶形の確認

膜になっている部分そのものの結晶形を調べるために、第3章で示した添加剤を加えない塩化カルシウム水溶液中での追加成長を実施した。平坦な膜は各結晶形に特徴的な晶相を示す結晶を配列した構造に発達した。図 4-5 に示したように、カルサイト膜上には菱面体(a)、バテライト膜上には直立した薄い板(b)、アラゴナイト膜上には鋭い針が成長した(c)。粒子といっしょに得られていた平坦な膜上には直立したマイクロプレートまたはマイクロな針状結晶が上方に向かって成長し、それぞれの膜の結晶形はバテライトまたはアラゴナイトということが判明した。図 4-5a に見られるような微小な菱面体が成長するカルサイトの膜は、PAA2k 共存でできた膜の場合にのみ観察された。アラゴナイトの膜はポリアクリル酸の分子量によらず、温度の影響が大きく、35°Cではどの条件でも優勢であった。

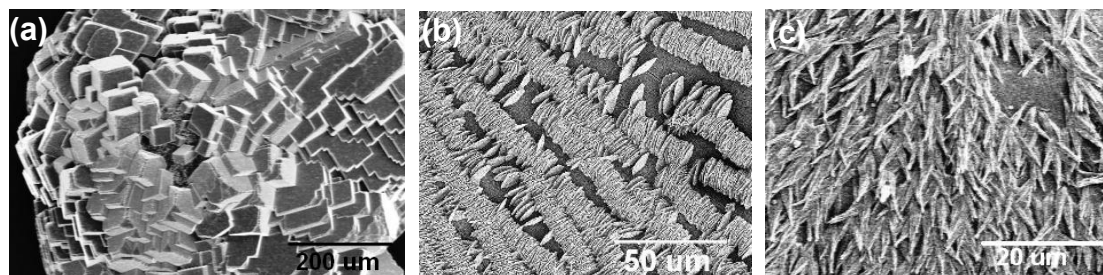


図 4-5 添加剤無しでの追加成長による膜状結晶の三次元成長(260°Cベークキトサン)

(a)PAA2k、15°C、(b)PAA250k、15°C、(c) PAA250k、35°C。

CH100 上でも CH260 でもその上にできる結晶の結晶形の傾向は基本的には同じだったが、無水キトサン上の方がその表面構造が反映された薄膜結晶となった。以下で結晶の多形と形成時の条件との関係については、CH260 上での結晶を使って考察する。表 4-1 は XRD 解析と追加成長法を組み合わせる調べた膜状結晶の結晶形である。PAA2k が共存する場合には、粒子の粗いカルサイトの円形の膜が形成された。しかし、その温度では高分子量ポリアクリル酸共存で得られる相対的にサイズの大きいバテライトと思われる膜が成長する。温度上昇に伴い、PAA2kもバテライト膜を作るようになる。追加成長後の娘結晶の薄板が基板面に垂直なことから、膜中でのバテライトの c 軸が基板と水平であると言える。アラゴナイト膜は相対的に高い温度(25-35 °C)で得られた。特に、アラゴナイト膜の形成は高分子量のポリアクリル酸を用いた比較的高い温度条件下で優勢となった。

表 4-1 CH260 上での炭酸カルシウム薄膜の結晶形

ポリアクリル酸分 子量	温度(°C)			
	10	15	25	35
2k	C	V (C)	V (C)	A V
90k	V	V	A V	A (V)
250k	V	V	-	A (V)

A: アラゴナイト, C: カルサイト, V: バテライト, -: データ無し, ()内はマイナー成分

このように、キトサンと PAA の両方があった場合には結晶形が温度により変化したが、結晶形そのものが温度のみに影響を受けている可能性があるため、PAA あるいはキトサンあるいはその両方が無い場合に得られる結晶の結晶形を確認したのが表 4-2 である。結果、キトサンと PAA の両方があった場合のみ温度により得られる結晶形に違いがあったが、キトサンのみ、あるいは PAA のみでは特にアラゴナイトは得られなかった。アラゴナイトは高温の方が得られやすいと言われているが、この結果は、この温度範囲における本実験方法で作製する炭酸カルシウムの結晶形はカルサイトまたはバテライトであって、温度だけの影響ではアラゴナイトは生成しないと言える。また、特に水溶性高分子である PAA が共存する場合にはカルサイトだけになり、温度を上げても準安定相は出現しなかったことから、水溶液の状態はこの温度範囲ではカルサイトに選択性がある状態になっているということがわかる。

表 4-2 炭酸カルシウムの 10~35°Cでの結晶形(キトサン・PAA の影響)

キトサン	PAA	形状	結晶形	温度の影響
無	無	粒子	C, V	無し
有	無	粒子	C, V	無し
無	有	膜、粒子	C	無し
有	有	膜+粒子	C, V, A	有り

A: アラゴナイト, C: カルサイト, V: バテライト

### 3.5. 膜の成長速度とキトサン面との適合性

表 4-1 で PAA-キトサン系による薄膜ではバテライトとアラゴナイトができ易い傾向にあるということを示したが、両者の成長速度を時間を追って調べた。両者とも3時間後で既に、円形の結晶と思われるものが観察された。円の直径は数マイクロンと、被覆面積が狭く、この基板をX線回折で測定しても結晶系の判定はできなかつたので、結晶形は追加成長により同じ基板の近い位置を追加成長させることにより確認した。さらに 9 時間まで成長させたところ、アラゴナイト膜の方が広い面積を覆った。

表 4-3 時間と炭酸カルシウム膜の成長

	バテライト膜	アラゴナイト膜
3 時間後		
6 時間後		
9 時間後		
追加成長による確認		

表 4-3 から膜の直径の時間変化をグラフ化した(図 4-6)。3時間では数ミクロン～十数ミクロンだが、9時間後には、バテライトで 40  $\mu\text{m}$ 、アラゴナイトで 170  $\mu\text{m}$  程度になる。成長はリニアでなく時間を追うごとに成長レートは早くなっている。アラゴナイトの方がバテライトよりも成長レートが早い。この結果から、キトサン基板面はアラゴナイトの成長により適しているということが言える。

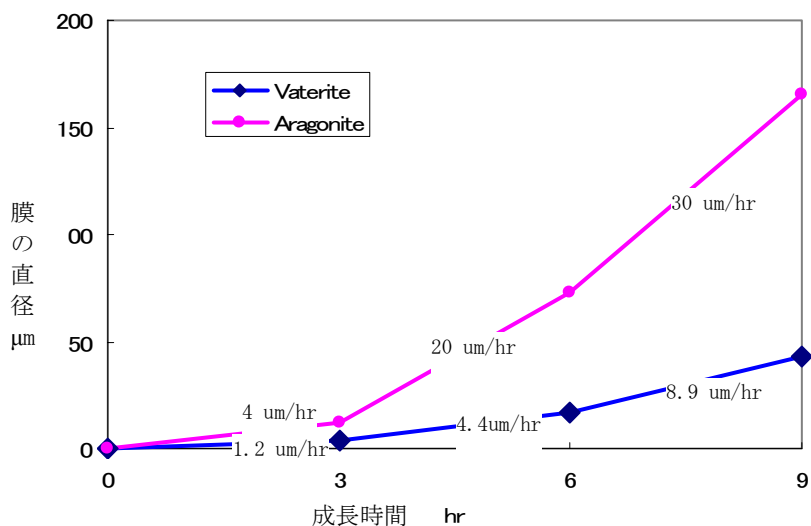


図 4-6 キトサン上のバテライト膜とアラゴナイト膜の成長速度

また、図 4-2(a), (b)において、黒く見える部分はカルサイトで、その外側の透明な円形の部分はバテライトであるということが追加成長によりわかっている。即ち、面に平行な方向への成長はバテライトの方がカルサイトよりも早いということが言える。

上記をまとめると、キトサン面との適合性は以下の順になるということが言える。

**アラゴナイト > バテライト > カルサイト**



## 4. 考察

バテライトとアラゴナイトはPVA基板上PGu共存、ポリアクリル酸共存でそれぞれ作製されたという報告が既にあった<sup>5</sup>。この報告において、多形のコントロールの基本はPVAのab面と結晶格子のマッチングによるものであると説明されていたが、共存させた可溶性ポリマーの役割は明らかにされてはいなかった。本研究では、多形はポリアクリル酸の分子量と水溶液の温度で変わるという結果が出た。キトサン基板本体が同じであるはずなのに上にできた炭酸カルシウム薄膜の多形に違いが出たということはこの結果は、キトサン基板面の構造ではなく、キトサン基板面に吸着したポリアクリル酸分子の違いにより結晶形が変わるということを意味している。中性または塩基性下でマイナスにチャージしているポリアクリル酸は、非イオン性水酸基を持つキトサン基板上の方がマイナスにチャージしているガラス面上よりも近づき易い。したがって高分子であるポリアクリル酸はキトサン基板上にアンカーされる。炭酸カルシウムの膜は、そのキトサンの上に不均一核生成により析出したのであるから、膜の結晶形はキトサン面にアンカーされたポリアクリル酸鎖の配列が影響しているのだということが考えられる。分子量と温度に影響されている所から考えると、分子量すなわち分子鎖の長さキトサン基板上で吸着状態が異なり、その違いが結晶形に反映されるものと思われる。

### 4.1. キトサン基板の影響

本実験方法においてポリアクリル酸もキトサンも共存させない場合には菱面体のカルサイトとバテライトの球晶が析出する。ここにポリアクリル酸を添加すると、その分子量によらず準安定相であるバテライトの生成は禁止され、さらにポリアクリル酸の分子量が高い場合には、ガラス基板の上であつてもカルサイトの膜を形成するということが第2章で示した。<sup>1</sup> 従ってポリアクリル酸を添加した母液自体は基本的にカルサイトを形成し易い環境にあるということが言える。カルサイトが選択される理由として、ポリアクリル酸中のカルボキシ基の間隔とカルサイト{104}面、(110)面上の炭酸イオンの間隔が近く、それがガラス基板上に吸着してテンプレートとなるためであると考察した。

これに対し、準安定なアラゴナイトとバテライトの薄膜はキトサンを基板として使用したときに出現した。炭酸カルシウム薄膜ができる際にポリアクリル酸分子が非イオン性水酸基を持つ高分子基板面にアンカーされていることは既にわかっている。従って、キトサン基板表面の水酸基の格子が吸着したポリアクリル酸分子のカルボキシ基の配列を決めているのだという推測が成り立つ。

図 4-7 は含水キトサン(a)及び無水キトサン(b)のbc面上の水酸基の配列を示している。水酸基との水素結合により吸着するポリアクリル酸分子の配列は基本的にはキトサン基板の水酸基の格子を反映する。無水キトサンに見られる水酸基の明確な矩形格子がポリアクリル酸の配列を制御したと仮定すると、含水キトサンの場合は水酸基の密度が高いため、ポリアクリル酸鎖の配列は十分に制御されなかったと考えられる。

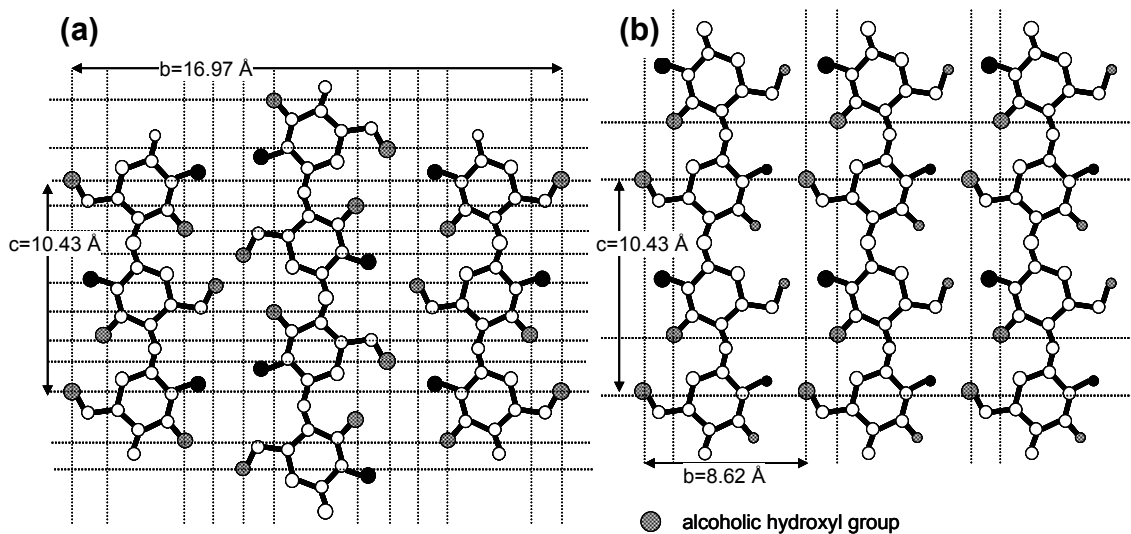


図 4-7 キトサンの同一面上にあるアルコール性水酸基の配列 (a) 含水結晶 ( $a=8.95 \text{ \AA}$ 、 $b=16.97 \text{ \AA}$ 、 $c=10.43 \text{ \AA}$ )<sup>14</sup>、(b) 無水結晶 ( $a=8.28 \text{ \AA}$ 、 $b=8.62 \text{ \AA}$ 、 $c=10.43 \text{ \AA}$ )<sup>15</sup>。破線は同一面上の水酸基による格子を示す。

#### 4.2. 温度の影響

キトサン上の炭酸カルシウム薄膜の結晶形はまた水溶液の置かれた周囲の温度に依存していた。温度だけで結晶形が変わっていないかどうか調べた表 4-2 から、結晶形への温度の直接的影響はこの狭い温度範囲では無視できると判断した。キトサン基板とポリアクリル酸両者があつてはじめて温度による結晶形の違いも現れていることから、やはりキトサン表面にアンカーされたポリアクリル酸の配列が結晶形に影響し、さらにその配列が分子鎖長だけでなく温度からも影響を受けているということが推測される。

#### 4.3. 有機高分子による結晶形制御のメカニズム

キトサン基板と温度による影響それぞれに対する考察から、炭酸カルシウム膜の場合の結晶形が何によって決まったかについて以下のように考える。即ち、高分子は分子鎖が短いと基板との相互作用が弱くなるので、低分子量ポリアクリル酸ではカルボキシ基の配列も弱い。さらに、水温が低いとポリアクリル酸のモビリティが低く、一旦基板に吸着するとその後吸着位置が最適化されることがない。その結果、キトサンの水酸基の格子の影響が相対的に小さくなるため、低分子量ポリアクリル酸と低温では母液そのものが作りやすいカルサイトが選択されやすい。カルボキシ基の配列は、基板との相互作用が強くなるので分子鎖が伸びるに従い向上する。さらに水温が高い場合には一旦キトサン面に吸着したポリアクリル酸もブラウン運動により吸着状態が最適化される。高分子量のポリアクリル酸と無水キトサンの組み合わせは、アラゴナイトやバテライトといった準安定層の生成を促進した。無水キトサンのはっきりとした矩形格子は三方晶のカルサイトよりも斜方晶のアラゴナイトに適している。従って、アラゴナイトの膜が高温で高分子量ポリアクリル酸共存により得られた。中間的コンディションである高分子量ポリアクリル酸と低い水温、あるいは低分子量ポリアクリル酸と高い水温の場合には、バテライトが主に生成していた。バテライトはカルサイトと近い六方晶の構造をとっているが、bc面は矩形で(001)面の面間隔は $8.56 \text{ \AA}$ であり、これは無水キトサンにおける水酸基の格子  $8.62 \text{ \AA}$  に近い。このためバテライトの c 軸を無水キトサン表面と平行にしてバテライトの膜が無水キトサン上に成長した。この仮説は追加成長により成長した花弁状のバテライトが膜状バテライト結晶の上に垂直に配列したことからも裏付けられる。キトサン面の水酸基の格子が吸着した PAA の配列に影響を与えているという考察の概念図を以下に示す。キトサンの水酸基を吸着サイトとして吸着した PAA を介してキトサン基板の構造を炭酸カルシウムの結晶形と配向に反映されるという、いわば「2段構造」の基板がテンプレートとして働いていた。すなわち、この2段構造の状態を温度や水溶性高分子の分子量を変えることでコントロールすることにより、結晶形と配向がコントロールされるようになる。

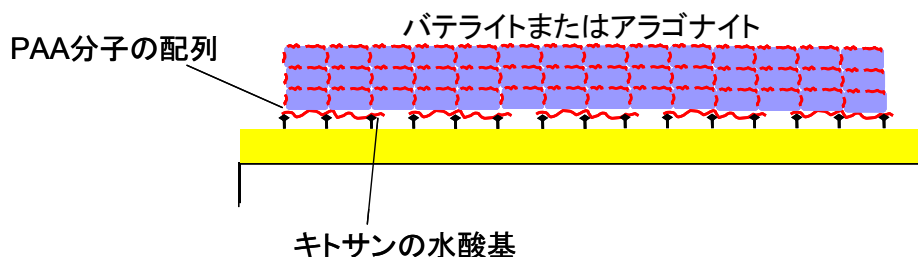


図 4-8 炭酸カルシウム薄膜形成におけるキトサン基板の役割

## 5. 結論

ポリアクリル酸-キトサンシステムを使って、炭酸カルシウム薄膜の結晶形を決める要因について調べた。その結果を以下にまとめる。

- (1) 不溶性高分子(キトサン)をポリアクリル酸と共存させることにより結晶形をコントロールすることが可能となる。
- (2) キトサンの基板構造との適合度は、アラゴナイト>バテライト>カルサイト の順である。
- (3) ポリアクリル酸の分子量と温度が結晶形をコントロールするファクターとなっている。  
カルサイト: 低温+低分子量 PAA  
アラゴナイト: 高温+高分子量 PAA  
バテライト: 高温+低分子量 PAA, あるいは低温+高分子量 PAA
- (4) 薄膜の結晶形のテンプレートとなっているのは、不溶性高分子に吸着したポリアクリル酸で、ポリアクリル酸の吸着位置のテンプレートとなっているのが不溶性高分子である。

#### 第4章 参考文献

---

- <sup>1</sup> A. Kotachi, T. Miura, H. Imai, *Chem. Mater.*, **16**, 3191 (2004).
- <sup>2</sup> Y. Kitano, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **35**, 1980 (1962).
- <sup>3</sup> K. Jyonosono A. Kato, *Inorg. Mater.*, **2**, 492 (1995).
- <sup>4</sup> G. Xu; N. Yao; I. A. Aksay; J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 11977 (1998).
- <sup>5</sup> N. Hosoda, A. Sugawara, and T. Kato, *Macromolecules*, **36**, 6449 (2003).
- <sup>6</sup> P. K. Ajikumar, R. Lakshminarayanan, S. Valiyaveetil, *Cryst. Growth Design*, **4**, 2, 331 (2004).
- <sup>7</sup> S. Zhang, K. E. Gonsalves, *Langmuir*, **14**, 6761 (1998).
- <sup>8</sup> T. Kato, T. Amamiya, *Chem. Lett.*, **1999**, 199.
- <sup>9</sup> T. Kato, T. Suzuki, T. Irie, *Chem. Lett.*, **2000**, 186.
- <sup>10</sup> N. Hosoda, T. Kato, *Chem. Mater.*, **13**, 688 (2001).
- <sup>11</sup> N. Wada, S. Suda, K. Kanamura, T. Umegaki, *J. Colloid Interface Sci.*, **279** 167 (2004).
- <sup>12</sup> A. Sugawara, T. Kato, *Chem. Commun.*, **2000**, 487.
- <sup>13</sup> J. Küther, W. Tremel, *Chem. Commun.*, **1997**, 2029, J. Küther, R. Seshadri, W. Knoll, W. Tremel, *J. Mater. Chem.*, **8**(3), 641 (1998).
- <sup>14</sup> K. Okuyama, K. Noguchi, T. Miyazaki, T. Yui, K. Ogawa, *Macromol.*, **30**, 5849 (1997).
- <sup>15</sup> T. Yui, K. Imada, K. Okuyama, Y. Obata, K. Suzuki, K. Ogawa, *Macromol.*, **27**, 7601 (1994).
- <sup>16</sup> K. Ogawa, S. Hirano, T. miyanishi, T. Yui, T. Watanabe, *Macromol.*, **17**, 975 (1984).
- <sup>17</sup> 櫻井謙資、「キッチンキトサンハンドブック」、キッチン・キトサン研究会編、技報堂出版、p.138 (1995).

## 第5章 炭酸カルシウムとシリカの複合膜の作製

---

## 1. 目的

表 5-1 は、動物の硬組織(バイオミネラル)の主要構成元素の割合で、シリカ系の硬組織であっても Ca を含むし、炭酸カルシウム型の硬組織であっても Si を含んでいる場合が多いから、バイオミネラリゼーションにおいては両者イオンの取り込みと不溶化が行われている。また、ケイ酸自体が主成分である炭酸カルシウムに何らかの影響を与えていることが考えられる。この章では、カルシウムイオンとシリケート(ケイ酸)イオン両者共存下での有機物基板上のミネラリゼーションについて検討する。

表 5-1 動物の硬組織の主要構成元素<sup>1</sup>

		Si (ppm)	Ca (ppm)
原生動物	シリカ型	410,000	17,000
	炭酸カルシウム型	12,000	355,000
海綿動物	シリカ型	437,000	17,000
	炭酸カルシウム型		340,000
腔腸動物	炭酸カルシウム型	1,000	350,000
棘皮動物	炭酸カルシウム型	4,000	350,000
軟体動物	炭酸カルシウム型	800	395,000
哺乳類	リン酸カルシウム型*	100	170,000

\*他にリン 70000ppm, フッ素 2000ppm を含む

シリケートイオンとカルシウムイオンの共存による鉱物化の先行研究としては、メタケイ酸ナトリウム水溶液の pH 調整により得られるシリカゲル中での炭酸カルシウムの結晶形態やその構造を調べたものがある。<sup>2,3,4,5,6,7,8,9</sup> Ca だけでなく、Ba, Sr といったアルカリ土類金属の炭酸塩はシリカゲル中で結晶化させるとシート状、らせん状、多孔質構造などの特異な形態を示す。これらの形態は、水溶液中に溶存するシリケートイオンが炭酸塩の結晶子表面で重合してアモルファスシリカの殻を形成することにより結晶が微細化され、これが配列してできているというものであった。<sup>9</sup> これらの報告において、有機物を共存させることは行われていなかった。炭酸カルシウムの結晶を微細化し形態を変化させるというシリケートイオンの効果は、第 2 章で示した通りポリアクリル酸にもある。ポリアクリル酸共存により膜状の炭酸カルシウムの結晶を得ることが可能である。このようなポリアクリル酸の形態を変化させる効果は、ポリアクリル酸の分子量が高い方が顕著であったが、アルコール性水酸基を持つ基板を共存させた場合には、分子量によらない。そこで、シリケートイオンを共存させる系にアルコール性水酸基を持つ基

板を導入し、その基板上での炭酸塩結晶がどのように形態の変化を起こすかについて調査を行った。



## 2. 方法

シリケートイオンの供給には、先行研究で実施させていたシリカゲル<sup>2-9</sup>を使用した。溶液内にシリカゲルを共存させ、シリカゲルから徐々にシリケートイオンを溶出させる方法をとった。メタケイ酸ナトリウム九水塩  $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  の水溶液 (pH 13 付近) に 2M の塩酸を滴下しながら攪拌して pH を 10.5 に調整し、静置してゲル状にしたものをシリケートイオンのイオンソースとした。メタ珪酸ナトリウムを水に溶かすと、単量体の珪酸が生成する。この単量体がシラノール基の脱水縮合反応によりシロキサン結合鎖を形成し、三次元ネットワーク化してゲル化する(図 5-1)。

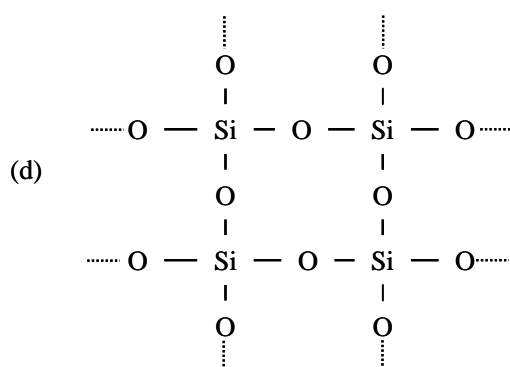
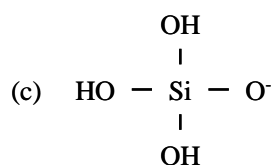
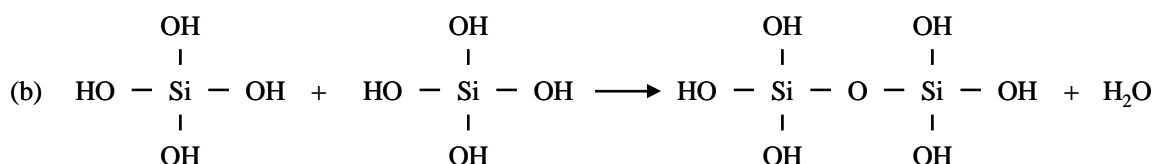
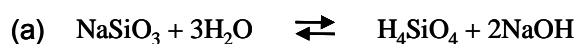


図 5-1 メタケイ酸ナトリウムのシリカゲル化 (a)ケイ酸の生成、(b)シラノール脱水縮重合、(c)シリケートイオン(例)、(d) 三次元ネットワーク化

系内には NaOH が存在し強塩基性となっている。完全にゲル化してしまうと水中にシリケートイオンが存在しなくなるので、結晶に影響が出なくなると考えられるため、シリケートイオンが存在する pH を選ぶ必要がある。図 5-2 は、文献10中の pH と水中のシリケートイオン濃度との関係を示したグラフであるが、このグラフから水中のシリケートイオンは pH 9 付近から上で急速に増加しているので、9 より高い pH にすることがシリケートイオンを水中に供給する上で必要となると言える。pH 11 付近から上では逆にゲル化が起これないため、シリカゲルから徐々にシリケートイオンを溶出させることにならないので中間の pH で実験する必要があるが、過去の報告により、ガラス基板上で不均一核生成により成長した炭酸塩結晶の形態が最も変化した値が 10.5 であったため、<sup>7</sup> 本研究では pH は 10.5 を中心とした値を設定した。

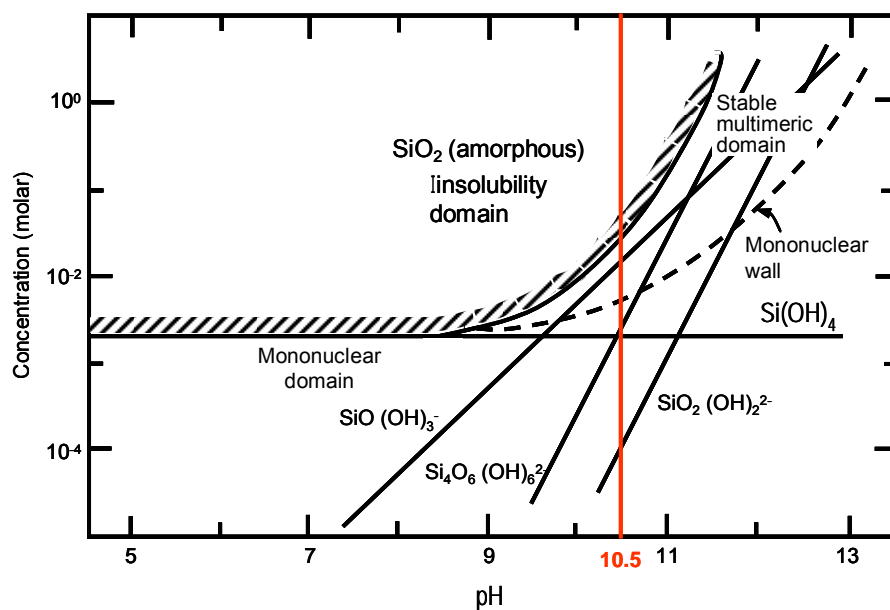


図 5-2 25 における水中のシリケートイオンと pH の関係<sup>10</sup>

斜線のついた線はその pH で水に溶解できる最大のシリケートイオンの濃度を示している。

アルカリ土類金属イオンはカルシウム、バリウム、ストロンチウムを使用した。炭酸カルシウムはカルサイト、バテライト、アラゴナイトの3種類の結晶形を示すが、炭酸バリウム、炭酸ストロンチウムは常温常圧下ではアラゴナイト構造のみをとる。なお、アラゴナイト構造と格子定数を図 5-3 に示した。単位格子は斜方晶系であるが、{110}面を双晶面として擬六方の外形を示す。

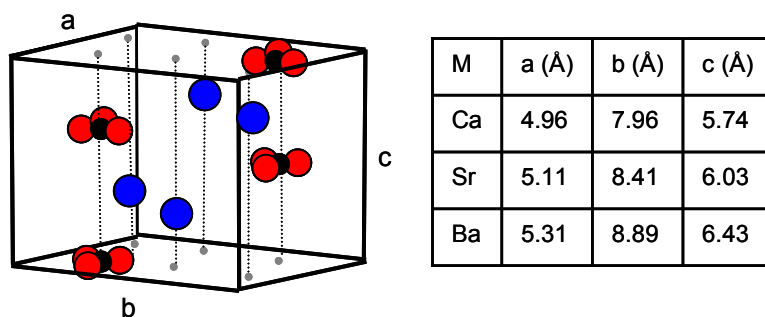


図 5-3 アラゴナイト型炭酸塩の格子定数

基板としてキトサンを塗布したガラス基板(キトサン基板)と親水化させたガラス基板を使用した。pH 10.5 に調整して固まらせたシリカゲルの上に pH をゲルと同じ 10.5 に調整した塩化カルシウム、塩化バリウム、または塩化ストロンチウムの水溶液を注いだ。シリカゲルの外であっても、溶出してくるシリケートイオンにより微細化は起こると予想されるが、過去の報告例が全てシリカゲル中の結晶成長であったため、シリカゲル中と、溶液中と両方に基板が存在するよう基板はシリカゲルに垂直に挿して入れた(図 5-4)。この容器を炭酸アンモニウムを入れて炭酸ガスを拡散させるようにしたデシケータ中に置いて室温で結晶成長を行った。得られた結晶は、FE-SEM、X 線回折装置、FT-IR、EDAX(X 線顕微鏡)により分析を行なった。

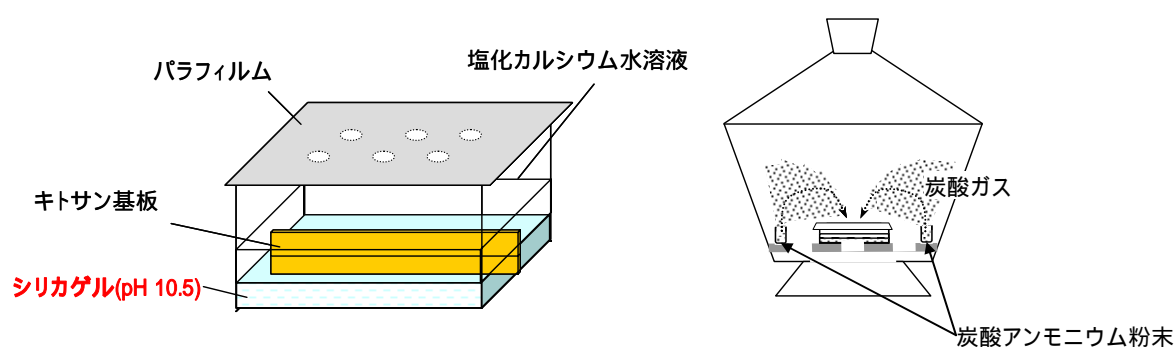


図 5-4 本実験に使用した装置

### 3. 結果

#### 3.1. 炭酸カルシウムの形態変化

取り出した基板を SEM で観察すると、ガラス基板上では微細化された結晶が観察された(図 5-5)。これに対し、キトサン基板上においては、ポリアクリル酸共存の際にと同様な円板状の膜状結晶が観察された(図 5-6a)。膜状の結晶は、ゲルと塩化カルシウム溶液の界面付近で最も発達してできていた。膜状結晶の中心部は凸になっていた。さらに、ガラス基板上での結果に類似した微細化効果のみが見られて膜状結晶が得られなかった場合があった(図 5-6b)。膜の割れた部分を拡大して見ると、膜は微小なサブユニットから成ることがわかった(図 5-7a)。EDAX によりこの膜状結晶の元素分析を行うと、Si が検出され、Si と Ca の存在モル比は約 3:7 と算出された。この Si の含有量の多さは、各サブユニットは全てシリカで覆われていることを示唆している。この膜を 0.1 M の水酸化ナトリウム水溶液に1分間浸漬させた。水酸化ナトリウムの水溶液は pH13 以上となるため、この操作によりシリカは水中に溶出して、円盤状結晶に変化が見られるはずである。処理後の断面の様子を図 5-7b の SEM 写真に示した。円盤状結晶の表面はほとんど変化が見られなかったが、割れた側面においては、処理後に結晶サブユニットの外形が強調された。シリカが溶けて、炭酸カルシウム自体が露出したものと思われる。このアルカリ処理によりサブユニット1つ1つが判りやすくなったが、その大きさは SEM 写真から 50-60 nm 程度であった。

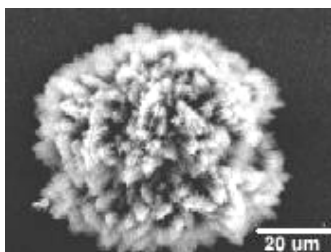


図 5-5 ガラス基板上にシリケートイオン共存で得られた炭酸カルシウム結晶の SEM 写真

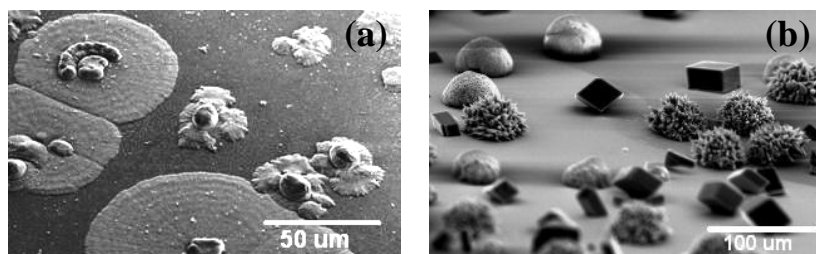


図 5-6 キトサン基板上にシリケートイオン共存で形成された炭酸カルシウム結晶の SEM 写真  
(a)円形の薄膜が得られたサンプル、(b)膜化が起こらなかったサンプル。

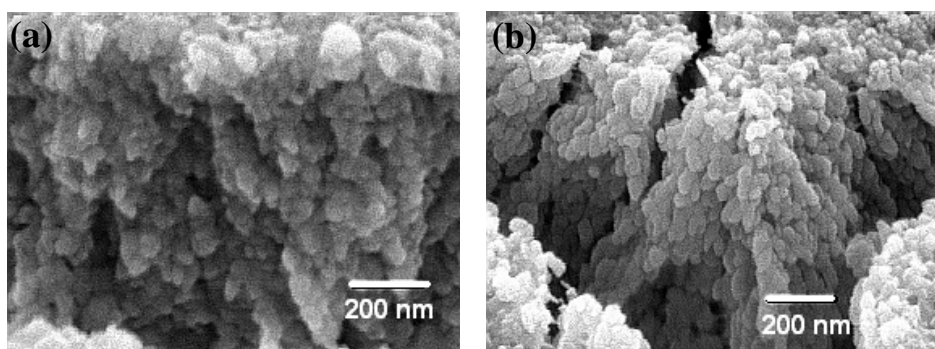


図 5-7 水酸化ナトリウム処理前後の円盤状炭酸カルシウム結晶の断面  
(a)処理前、(b)処理後

この膜状結晶の乗っている基板全体を XRD で測定すると、カルサイト、アラゴナイト、バテライトのいずれかに属するピークが全て検出された(図 5-8)。

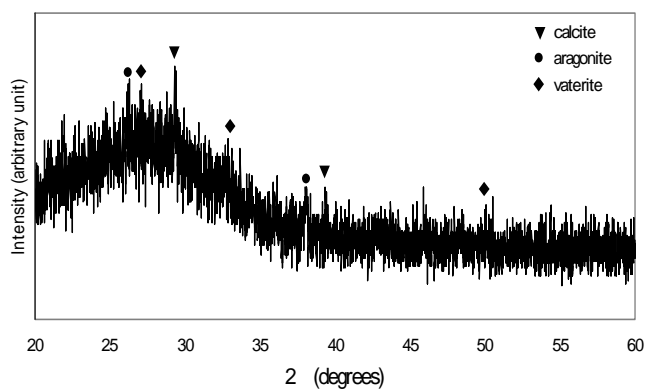


図 5-8 pH 10.5 のシリカゲル共存下キトサン上にできた炭酸カルシウム結晶の X 線回折パターン

結晶形がはっきりしなかったので、第 3 章で実施した追加成長法をこの膜状結晶にも適用した。その結果ほとんどの膜状結晶の上には図 5-9 で示したような六角形の薄板状結晶が垂直に配列して成長し、バテライトの膜であったことが明らかになった。また、六角形はバテライトの *c* 軸に垂直な面を示しており、このバテライトの膜状結晶の *c* 軸は基板面に水平になっているということがわかった。

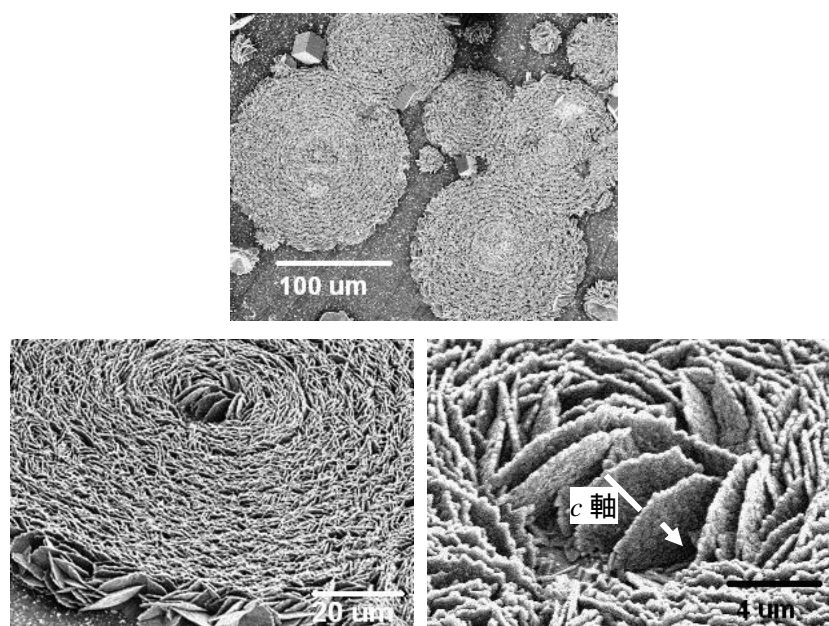


図 5-9 シリカゲル(pH 10.5)共存下でキトサン面上にできた炭酸カルシウム膜に追加成長を実施した結果

## 3.2. アラゴナイト型結晶の形態変化

### 3.2.1. 炭酸バリウム

炭酸バリウムは、共存イオンが無い場合には、アラゴナイト型結晶の典型的な c 軸方向に伸びた針状の擬六角柱の結晶となる。水中のシリケートイオン濃度が非常に小さい pH8.5 の場合には、図 5-10 に示すような針状の結晶であった。

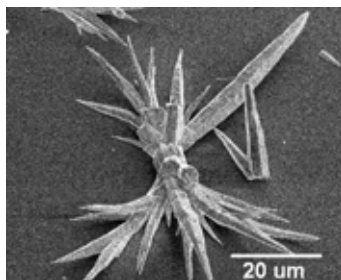


図 5-10 pH8.5 のシリカゲル共存下での炭酸バリウムの形態

pH10.5 では、炭酸カルシウムの場合と同様、キトサン基板の上には膜状の炭酸バリウム結晶が観察された(図 5-11)。炭酸カルシウムの場合との違いは、膜の表面に円形結晶の中心から外に向け高度に分岐した多数の葉脈状の凹凸が見られた点である。(図 5-11a)。同じ基板には外形が明らかに六角を示している膜状結晶も観察された(図 5-11b)。さらに、膜の中心部に六角形や(図 5-11c)、六角柱(図 5-11b, c) も頻繁に観察された。この共通する六角の晶相とは、膜状結晶中の成長ユニットが規則性を持って繋がっているということを示唆するものである。

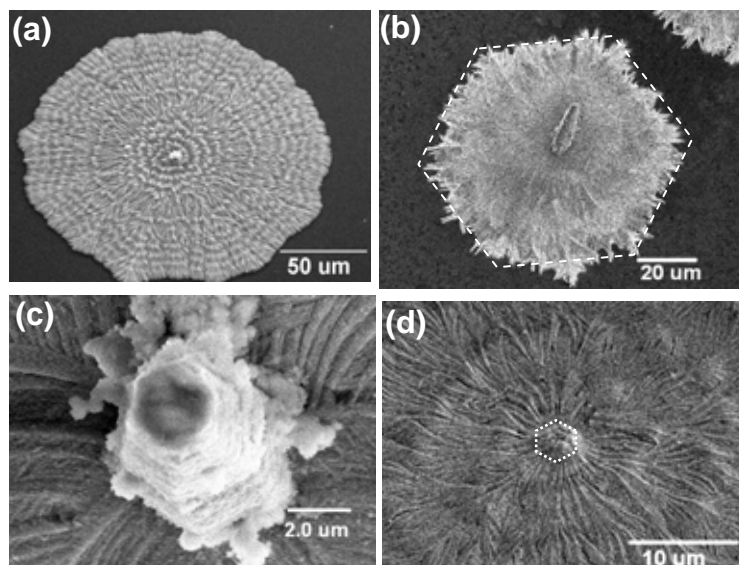


図 5-11. pH 10.5 のシリカゲル共存下キトサン上にできた炭酸バリウムの膜状結晶の SEM 写真。

(a)典型的な膜状結晶、(c)外形が六角を示すもの、(c)～(d): 膜中心部に六角柱があるもの。

XRD 測定結果を図 5-12 に示す。pH8.5 の場合には、(200) 及び (220) 面によると見られる強いピークが観測されたが(図 5-12a)、これはこのような針状結晶の c 軸が基板と平行であることを示している。これに対し、pH10.5 では、(002)面からの強いシグナル(図 5-12b)が観察され、膜状結晶の c 軸は基板に対し垂直であることがわかった。なお、シリカ由来と思われるシグナルは観察されなかった。

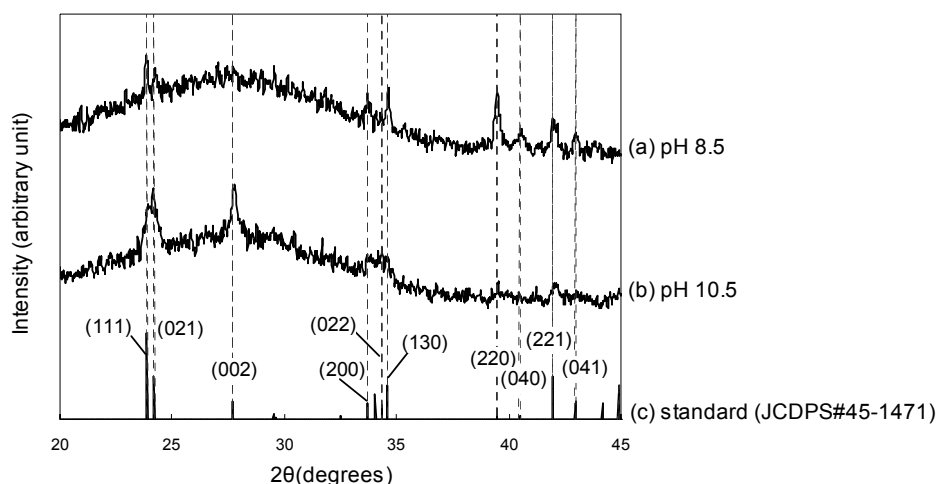


図 5-12. シリカゲル共存下キトサン上にできた炭酸バリウム結晶の X 線回折パターン(a) pH8.5、(b)pH 10.5. (c)は粉末 X 線回折標準データ(JCPDS#45-1471)。25-30 ° のハローは基板のガラスによるもの。

シリカゲル中でアルカリ土類金属の炭酸塩を析出させた先行研究では、酸で炭酸塩を溶かし出し、残るシリカの殻を観察するということが行われている。<sup>2,9</sup> 本実験の場合には、塩酸を使用すると基板であるキトサンも同時に溶けてしまうため、キレート剤である EDTA (ethylenediaminetetraacetate) (エデト酸) 水溶液を用いて炭酸バリウムを除去してその前後の結晶を観察した。

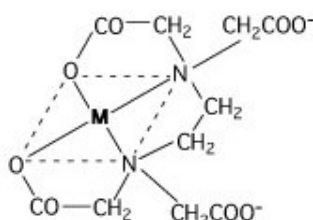


図 5-13 EDTA (ethylenediaminetetraacetate)の構造 M 部に Ba, Ca 等が入り錯塩となって炭酸塩を分解する。



図 5-14a は炭酸バリウムが存在する状態の膜状結晶を SEM でさらに拡大した像で、葉脈状に見える構造が小さいサブユニットから構成されているのが判る。成長端におけるサブユニットのサイズは直径 100 nm 以下で、このような微小な粒子が連なって基板表面に広がっている。図 5-14b は EDTA により炭酸バリウム結晶を除去した後に観察したものであるが、基板上の膜状結晶があったと思われる箇所に凸状に残渣が観察された。残渣の形状は元の膜状結晶の基本的な形態を踏襲されていた。この結果は結晶の成長ユニットがアモルファスシリカの皮膜で覆われているという仮説を裏付けるものと言える。

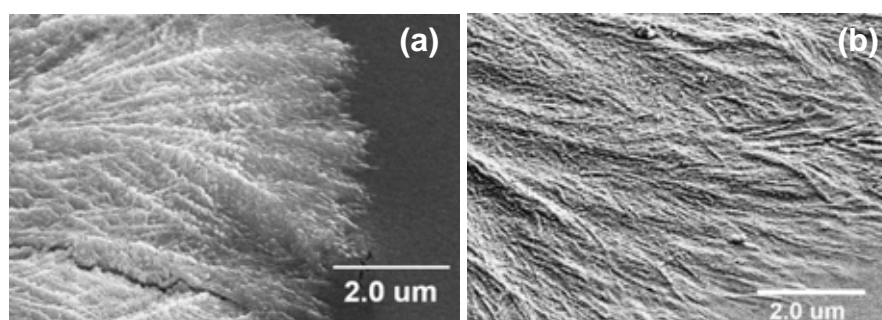


図 5-14. EDTA 処理前後のキトサン上の炭酸バリウムの膜状結晶。(a): 処理前、(b): 処理後。

炭酸カルシウム膜状結晶で実施したのと同様に、強アルカリである 0.1M 水酸化ナトリウム水溶液でこの膜状結晶を洗うと、葉脈上に明らかな六角の晶相が現れ(図 5-15)、膜状結晶が小さい六角形による多数のステップ、テラスの積層から作られているのが観察された。この結果もまた、炭酸塩の成長ユニットをアモルファスシリカの皮膜が覆っていることを示すものである。アラゴナイト型の結晶において、六角形の晶相とは c 軸に垂直な面を示す。成長ユニットの六角形の晶相はその c 軸に垂直な面を示していると思われる。すなわち、XRD の結果と合わせて考えると、この膜状結晶全体が c 軸を基板に対し垂直にした成長ユニットが基板に水平方向に成長する途中でさらに微細化され、分岐して葉脈状になったものを構成単位としていると考えられる(図 5-15c)。

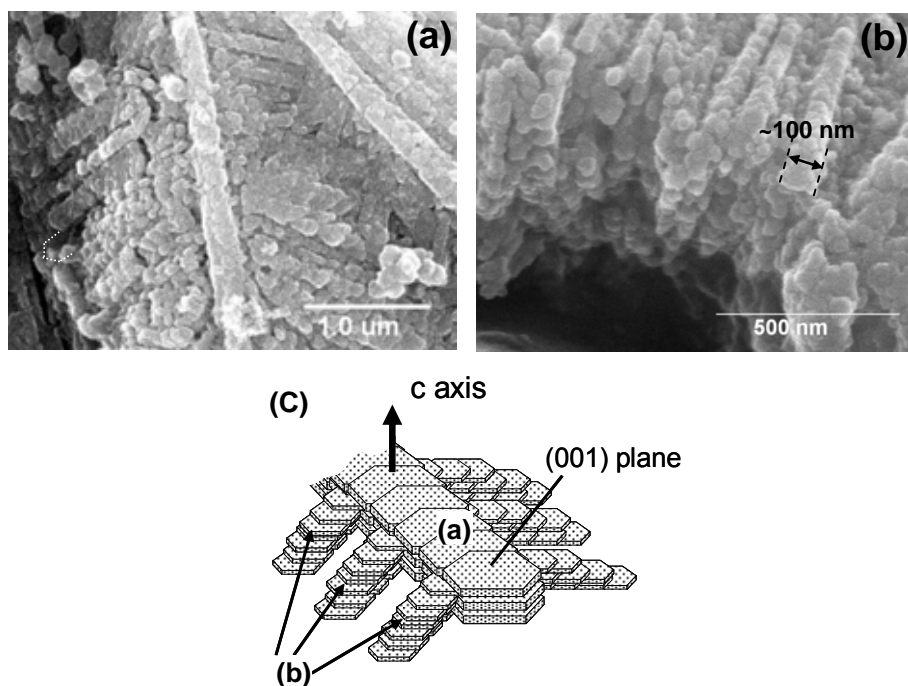


図 5-15. シリカゲル共存下で作成された炭酸バリウム平板結晶の水酸化ナトリウム水溶液浸漬処理後の SEM 写真、(a): (c)図の(a)を上から見た様子、(b): (c)図の(b)を斜め上方向から見た様子、(c): 葉脈状構造の図解。

膜状炭酸バリウムの析出している基板の IR スペクトルを測定した(図 5-16a)。1100 $\text{cm}^{-1}$ 付近に出るとされる Si-O 伸縮振動由来のピークはキトサン基板の強い吸収(図 5-16b 矢印)のため検出されなかったものの、3400 $\text{cm}^{-1}$  付近のキトサンの-OH 伸縮振動由来のピークが滑らかでなくなっている(図 5-16a の矢印)。これは、キトサンの水酸基とインタラクションを持つものが存在していることを示している。

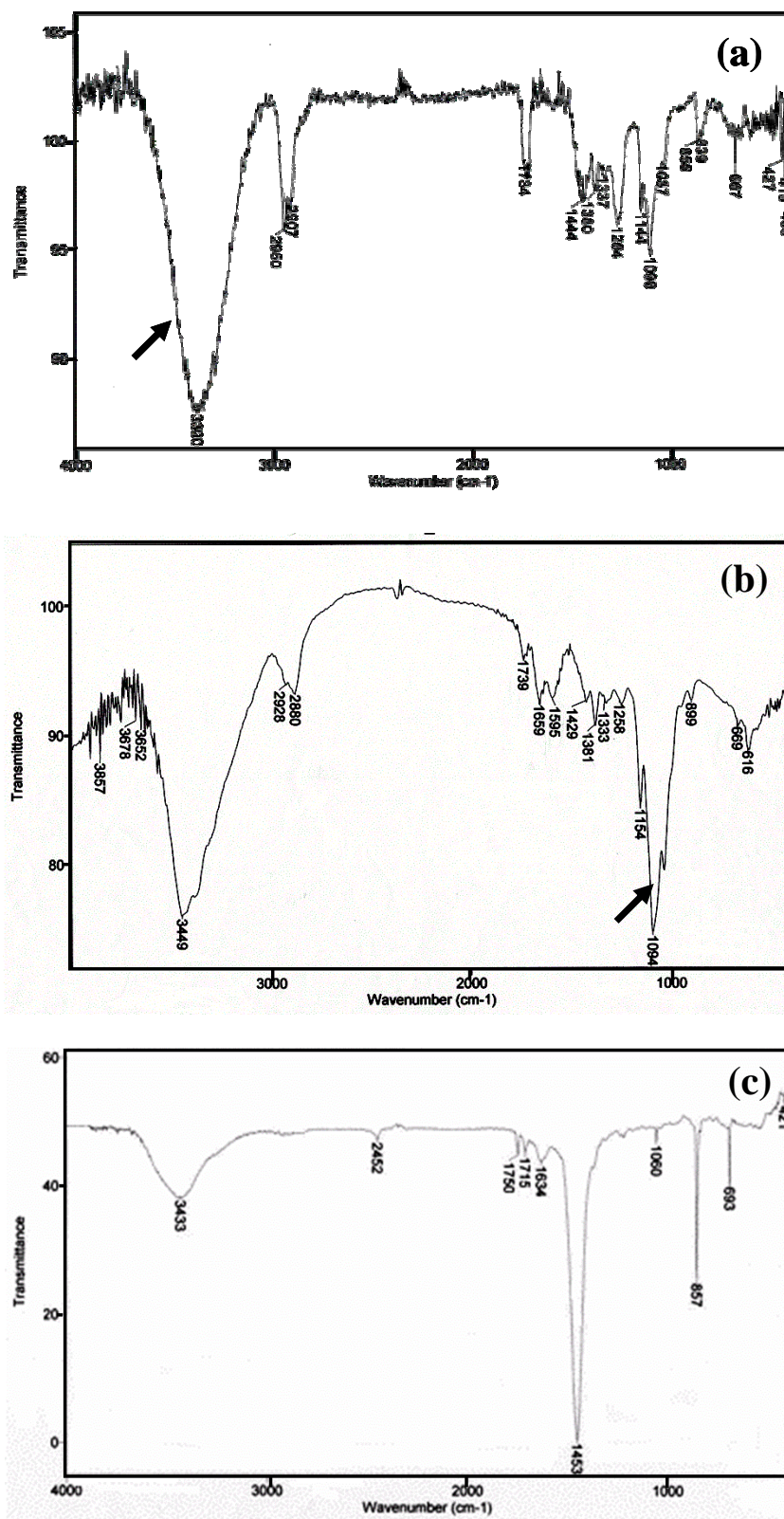


図 5-16 FT-IR 測定結果 (a)炭酸バリウム膜状結晶が析出しているキトサン基板、(b)キトサン基板  
 自体、(c)KBr 法で測定した市販炭酸バリウム粉末

### 3.2.2. 炭酸ストロンチウム

炭酸ストロンチウムの場合にも炭酸バリウムと同様、シリカゲルの pH が 8.5 の場合には、針状結晶が得られ(図 5-17a)、pH 10.5 では膜状の結晶が観察された(図 5-17c)。XRD 測定結果も(002)面による強いシグナルが見られ、この円盤状結晶の c 軸もまた、基板に対して垂直であることが示された (図 5-18)。ただし、炭酸バリウムに比べると、六角形の成長ユニットを示唆するような構造が見られなかった。そこで、中間の pH である 9.5 の場合に得られた結晶を観察したところ、六角形が積み重なり六方向に分岐した構造体が観察された(図 5-17b)。この形態が pH 8.5 と 10.5 の中間で見られたということは、pH 10.5 の膜では炭酸バリウムで見られたような葉脈になってははっきりと見られることはなかったものの、炭酸バリウムの場合と同様の分岐したユニットが成長して形成された形態であるという事を示している。

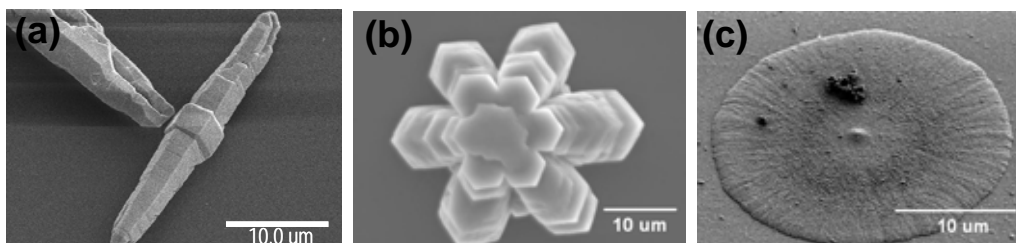


図 5-17. シリカゲル共存下キトサン上にできた炭酸ストロンチウムの結晶  
(a) pH 8.5、(b) pH 9.5、(c)pH 10.5

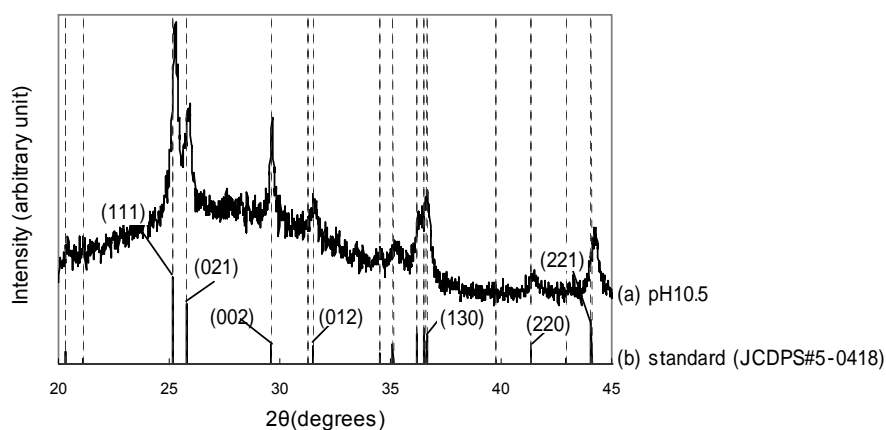


図 5-18 pH10.5 で得られた炭酸ストロンチウムの膜状結晶の XRD パターン(a)と粉末 X 線回折標準データ(JCPDS#5-0418)(b)。

#### 4. 考察

炭酸カルシウム、炭酸ストロンチウム、炭酸バリウムの全ての場合で、シリケートイオンと共にキトサン基板を共存させた場合には、キトサン基板上にできたのはポリアクリル酸を共存させた場合と類似した円形の膜状結晶が得られた。膜状結晶ができたのは pH 10.5 の場合で、ゲルの界面付近が最も膜が発達していたことから、結晶成長時にシリケートイオンの供給がある程度以上ある場合には、ポリアクリル酸などカルボキシ基を持つ水溶性有機高分子と同じ効果を示したことになる。第 4 章で示したように炭酸カルシウムの膜状結晶の場合、ポリアクリル酸共存の場合得られた結晶形はバテライトまたはアラゴナイトが主体であったが、本実験でも、得られた炭酸カルシウム膜の結晶形は準安定相であるバテライトが主体だった。さらに本実験において、炭酸バリウム、炭酸ストロンチウムは、容易に形態を膜状に変えたが、炭酸カルシウムは膜状結晶にならなかったことがあった。これらの事実は、キトサン基板に沿った成長においては準安定相であるバテライトまたはアラゴナイトの方が適していることを示唆している。

X 線回折分析では、シリカからのシグナルは検出されないが、炭酸カルシウム膜での EDX 測定結果と水酸化ナトリウム洗浄の結果、また炭酸バリウム膜での EDTA 処理の結果、水酸化ナトリウム洗浄の結果はシリケートイオンが膜中に取り込まれていることを示すものであり、膜状結晶は非晶質のシリカと炭酸塩の複合体となっていると考えられる。さらに炭酸カルシウムの場合には、結晶形はバテライトが主体で配向は c 軸が基板面に対し水平であった。これはポリアクリル酸を共存させた時にキトサン上に得られたバテライトの膜状結晶に類似したものだ。これに対し結晶形がアラゴナイトのみの炭酸バリウム及び炭酸ストロンチウムの場合はその膜状結晶は c 軸が基板と垂直な二次元デンドライトであった。有機基板を用いない場合 pH 9.5 以上のシリカゲル中で得られるシート状やらせん状の炭酸ストロンチウムのサブユニットは、c 軸を長軸方向とする針状結晶の c 軸に平行な面にシリケートイオンが吸着し、微小化した繊維状結晶であるということが報告されている。<sup>9</sup> 本実験で膜状結晶のサブユニットとして観察された微小に分岐した葉脈もシリケートアニオンの特定面への吸着による成長の抑制によるものであると考えられるが、葉脈を拡大すると繊維状結晶とは異なり六角形の平板結晶がステップ状に連なっていることから、二次元デンドライトの形成はシリケートイオン吸着・重合による微細化だけでは説明できない。キトサン基板が六角形の平板結晶の積層を生じさせた。この膜の形成過程を以下のように考察した。すなわち、アニオン性のポリアクリル酸が水素結合によりキトサン基板表面にアンカーされたというのと同じことが、アニオン性のシリケートイオンにも起こり、キトサン表面に水素結合で吸着する。キトサンの水酸基が膜状結晶成長後に何らかの作用を受けていることは炭酸バリウム膜が析出しているキトサン基板の IR 測定結果 (図 5-16a) で示した通りである。吸着した重合性のシリケートイオンはキトサン表面で網目構造を形成しながら重合する。その断面構造を図 5-19 のように想定したが、重合したシリケートイオンの O

の間隔  $0.525 \text{ nm}^{11}$ は炭酸バリウム及び炭酸ストロンチウムの(001)面の炭酸イオン間隔 ( $\text{SrCO}_3$  は  $0.511 \text{ nm}$ ,  $\text{BaCO}_3$  は  $0.531 \text{ nm}$ ) に近い。吸着・重合したシリケートイオンは、炭酸イオンの代わりとなり、その上にアルカリ土類金属イオンが炭酸塩となるように配列して結晶化が進行し、(001)面が基板と水平となった。アラゴナイト型結晶の(001)面は擬六方を示すため、六角形の成長ユニットが形成される。さらに形成された六角形の成長ユニットの上面にもシリケートイオンが炭酸イオンの位置に取り込まれ、それが水平方向に重合して、上方向の成長を抑える。このような炭酸イオンサイトに組み込まれる現象が起こるのは、炭素とケイ素が同族元素で酸素の結合で4面体構造になっていることも一因であると考えられる。

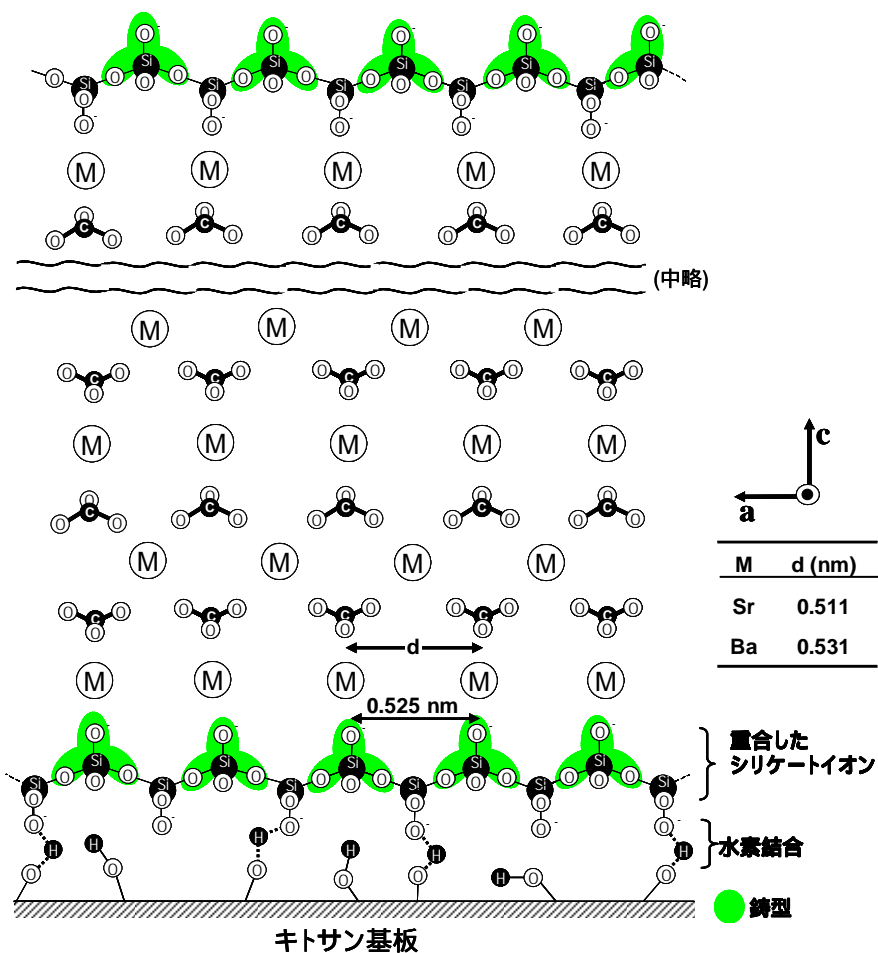


図 5-19 アラゴナイト型結晶の(001)面と重合したシリケートイオンのマッチングのモデル図

c 軸に並行な面、すなわち擬六方柱の側面はシリケートイオンが吸着し易いということが先行研究で示されているので、<sup>9</sup> 六角形の側面側の成長も抑えられ、結局シリカの層が結晶子を包んでしまい、微細化が起り分岐が進行する。図 5-15 と図 5-17 では六角形の積層が見られたが、図 5-20 に 積層構造形成過程のモデル示した。シリケートイオンの重合体による鑄型効果により基本の小さい六角形のプレートが鑄型上に形成される。その6つの角から基板に沿って放射状に成長が起こるが、同時にプレート上面でも炭酸イオンサイトに取り込まれたシリケートイオンが重合して皮膜が形成される。このシリカ皮膜が鑄型となって新たに核生成が起こり、下層と同様の放射状の結晶成長が元の結晶上に成長する。これが繰り返されて、積層された構造が形成される。六角形の成長ユニットが非晶質シリカを挟んで積層された配向した平板結晶は、キトサンとシリケートイオンとの水素結合と、シリケートイオンの重合で生成する網目構造による鑄型、およびシリケートイオンの重合でできた皮膜による結晶の微細化が組み合わせにより実現された。アラゴナイトが c 軸に垂直方向に方位を揃えて、バインダー層を挟んで積層されている様子は貝の真珠層と部分的ではあるが近い構造と言える。

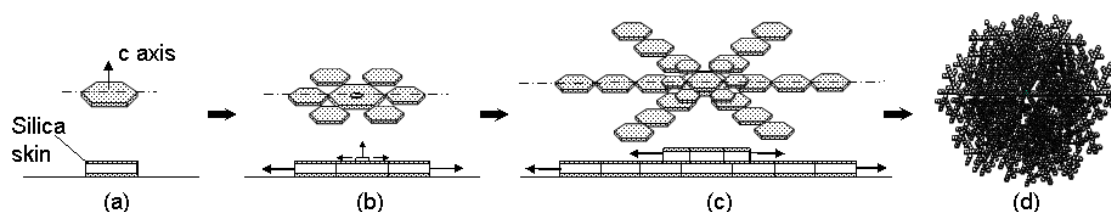


図 5-20. シリケートイオンの重合体に覆われた六角形の成長ユニットの分岐と積層のモデル図  
 (a) 微小な六角プレートがキトサン表面にアンカーされ重合したシリケートアニオンの鑄型上に発生、シリカの皮膜で覆われる。(b)六角プレートは基板表面に沿って成長すると同時に、上面のシリカ皮膜が鑄型となって新たに核が生じる。(c) 上段の結晶は下段の結晶に沿って成長すると同時にシリケートアニオンの吸着・重合により微細化され分岐する。(d)これが繰り返され、二次元デンドライトとなる。

ポリアクリル酸で行なったのと同様の、シリケートイオンによる微細化効果をグラフ化した(図 5-21)。炭酸カルシウムの場合は、バテライトが主成分であったが、多形が含まれておりわかりづらいので、炭酸ストロンチウムの結果を使用した。イオン濃度の情報は図 5-2 から、サイズの情報は図 5-17 及び炭酸ストロンチウムのシリケートイオンによる微細化を記した文献 9 のデータを引用した。この結果から、不溶性高分子基板上で膜が形成された場合にはシリケートイオン濃度と  $\text{Sr}^{2+}$  の比率が 100%に近いものであったということがわかる。ポリアクリル酸を使用した場合(図 2-13 参照)に不溶性高分子基板上で膜が得られる場合のカルボキシ基濃度がカルシウムイオン濃度に対して 3%だったのに対し、非常に多くのシリケートイオンを要していることがわかる。これは、ポリアクリル酸が重合体であるのに対し、シリケートイオンは吸着後に重合していると考えられるので、脱着が起こりやすく、より多くのイオンを系内に必要とするからではないかと推察している。

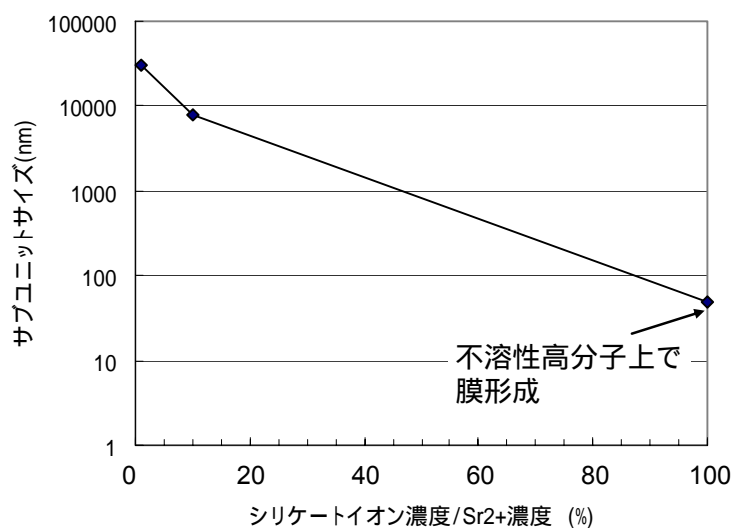


図 5-21 シリケートイオン濃度と  $\text{Sr}^{2+}$  の比率とサブユニットサイズ



## 5. 結論

この章を通して以下のようなことがまとめられる。

- (1) シリケートイオン共存のアルカリ土類金属炭酸塩結晶化の系にアルコール性水酸基を持つ基板を導入すると、結晶は膜に変化する。
- (2) 炭酸カルシウムの結晶形態の制御は、不溶性の有機高分子と重合性の無機イオンによっても実現できる。
- (3) アルコール性水酸基を持つ基板上での膜化は、炭酸イオンサイトに置換わることのできる構造を有する高分子の共存により起こる。
- (4) この方法で得られた炭酸カルシウム薄膜は炭酸カルシウムと非晶性シリカとの複合体になっている。
- (5) アラゴナイト型の炭酸ストロンチウム、炭酸バリウムでできた膜状結晶は二次元デンドライトで、c 軸を基板に垂直にした平板状アラゴナイトが非晶質シリカを介して c 軸方向に積層された層状の複合体となっている。

## 第5章 参考文献

---

- <sup>1</sup> 高橋英一、「生命のなかの「海」と「陸」-ナトリウムとケイ素の生物誌-」、研成社 (2001).
- <sup>2</sup> J. M. García-ruíz, J. L. Amoròs, *J. Cryst. Growth*, **55**, 379 (1981).
- <sup>3</sup> J. M. García-ruíz, *J. Cryst. Growth*, **73**, 251(1985).
- <sup>4</sup> S. D. Bella, J. M. García-ruíz, *J. Cryst. Growth*, **79**, 216 (1986).
- <sup>5</sup> T. Baird, P. S. Braterman, P. Chen, J. M. García-ruíz, R. D. Peacock, and A. Reid, *Mat.Res.Bull.*, **27**, 1034 (1992).
- <sup>6</sup> H. Imai, S. Yamabi, T. Terada, N. Shikazono, H. Hirashima, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn*, **25**, 469 (2000).
- <sup>7</sup> H. Imai, T. Terada, T. Miura, S. Yamabi, *J. Cryst. Growth*, **244**, 200 (2002).
- <sup>8</sup> H. Imai, T. Terada, S. Yamabi, *Chem. Comm.*, **2003**, 484.
- <sup>9</sup> T. Terada, S. Yamabi, H. Imai, *J. Cryst. Growth*, **253**, 435 (2003).
- <sup>10</sup> W. Stumm and J. J. Morgan in *Aquatic Chemistry*; Wiley Interscience: New York, 1996, pp 368.
- <sup>11</sup> 岩波理化学辞典第5版 p. 401.

## 第6章 結言

---

## 1. 本研究の総括

本研究では、カルボキシ基含有水溶性高分子と非イオン性水酸基を持つ高分子面を使って得られる炭酸カルシウム薄膜の形成メカニズムを調べることを通して、バイオメティックミネラリゼーションによる結晶成長の制御因子を探り、その知見により炭酸カルシウムの「形態」・「結晶形」・「配向」のコントロールに成功した。

第2章では、炭酸カルシウム薄膜の形成におけるカルボキシ基を持つ水溶性有機高分子と非イオン性の水酸基を持つ不溶性有機高分子それぞれの役割について述べた。基板に使用されていた高分子の影響を取り除き、カルボキシ基含有の水溶性有機高分子の効果だけを見ることにより調べた結果、水溶性高分子は、基板に吸着して核生成を促進するとともに、結晶表面に吸着して成長を抑止するという効果を示し、薄膜は成長と抑止の競争作用により見かけ上一体化した微小な結晶が集積されてできているということを解明した。またカルボキシ基含有の可溶性有機高分子重合度が高ければそれ自体で基板面に吸着するが、重合度が低い場合にも吸着をアシストする効果を持つ基板を使用すれば吸着を起すことができる。これが即ち先行研究で使用されていたキトサンやPVAなどの非イオン性水酸基を持つ基板の役割であった。

第3章では、第2章で解明した PAA のもつ結晶成長の制御の知見を元に、一旦水溶性高分子存在下で作製した微結晶の集合体である炭酸カルシウム薄膜を三次元的に形態変化させた。その結果、サイズと形態の揃ったマイクロオーダーサイズの結晶が、ある周期性を持って配列する現象を見出した。結晶形と配向が制御された炭酸カルシウムの薄膜を基板とすることにより、配列した様々な形態の微細構造体を作製するのに成功した。

第4章では、有機高分子のみで炭酸カルシウム薄膜の結晶形が制御されることを、環境条件を変えることにより作製した炭酸カルシウム薄膜を調べることにより見出した。水溶性高分子と不溶性高分子の両者を共存させた場合、得られる薄膜の結晶形は、水溶性高分子の分子量と温度により変化した。この結果から、結晶形は不溶性高分子に吸着している水溶性高分子の吸着状態の違いにより、変化するというモデルを提案した。

第5章では、重合性の無機イオンにも、カルボキシ基含有水溶性有機高分子と同等の薄膜形成の効果があることを述べた。シリケートイオンと不溶性有機高分子を使用した系においても炭酸カルシウムの薄膜が形成され、シリカと炭酸カルシウムの複合体の薄膜を得ることができた。

第2章から第4章を総括したメカニズムを図 6-1に示した。「不溶性高分子による水溶性高分子の吸着の促進と吸着した水溶性高分子を介した不溶性高分子の表面構造の結晶への伝達」により決まる膜の結晶形と配向及びその上に成長した結晶への「水溶性高分子の吸着による微細化と成長抑止」で膜が形成された。

有機高分子による結晶のコントロールファクターは、以下にまとめられる。

(1)形態 微細化 水溶性高分子

(2)結晶形 + 配向 配列 配列した水溶性高分子 不溶性高分子の構造

形態をコントロールするには、水溶性高分子を調整すればよい。それは濃度あるいは分子量あるいは分子量分布などである。

結晶形と配向は基本的には不溶性高分子の表面構造によりコントロールされるが、媒介している水溶性高分子の吸着状態を変化させることによってもコントロールが可能になる。吸着状態は水溶性高分子の分子量や温度によりコントロールされる。

水溶性高分子の成長抑止とその解除の利用による、薄膜形成後水溶性高分子を除いて薄膜に追加成長を行なう2段階のプロセスは、三次元微細構造体を実現する段階的プロセスの基礎となり得る。

不溶性高分子の配列効果を利用した結果、結晶の成長抑止効果を持つ無機の重合性イオンを使用して、膜中に有機物を含まない炭酸カルシウムの薄膜が得られた。この結果は、カルボキシ基含有の高分子のみならず、原料に選択の余地があることを示したものであり、応用可能な材料探索の余地が十分あることを示唆するものである。更に広げて考えた場合、水中に多価アニオン、成長基板として親水性で配向を示す水中で電離しない構造を持つものを準備すると、バイオメティックミネレゼーションが起こり、常温常圧で高次構造を持つ材料合成が実現する。

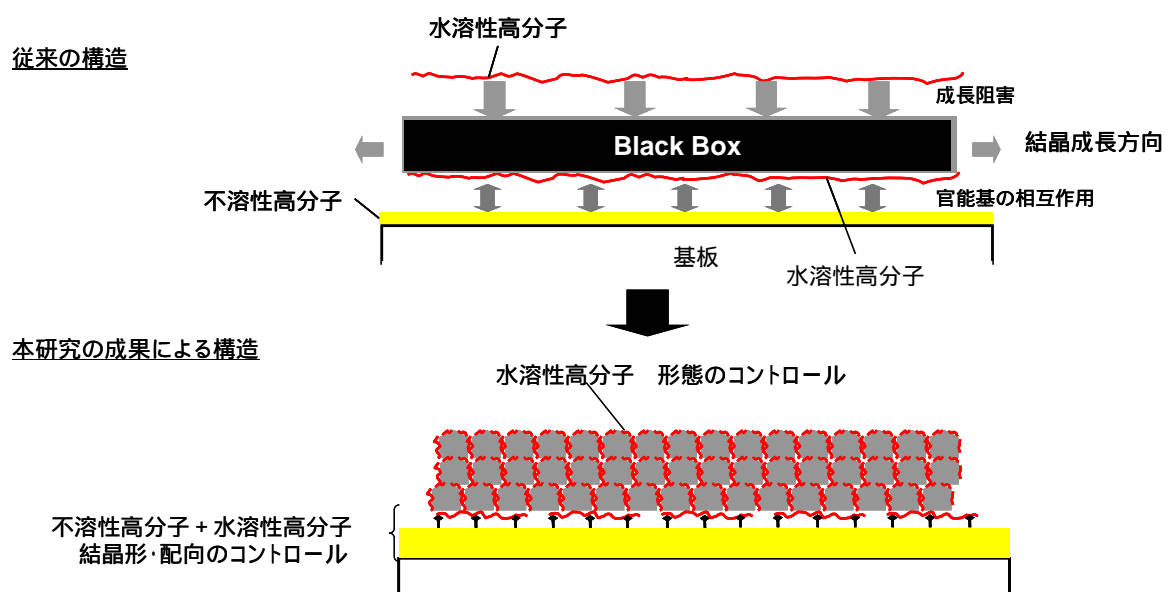


図 6-1 バイオメティック合成による炭酸カルシウム薄膜の従来提案されていた構造と本研究により解明された構造

## 2. 今後の展望

### 2.1. 残された課題

本研究では、有機高分子による無機結晶の形態・配向・結晶形制御についてのメカニズムを抽出することを目的とし、得られた知見で結晶を統合的にコントロールしたが、この研究を通してマイクロファブリケーション技術の構築に向けて残された課題として以下の3つの項目を挙げたい。

#### 1) 階層的構造をもつ結晶の実現

本研究では抑止効果を除いて膜を三次元的に形態変化させたところ、得られた構造体は形と大きさの揃ったマイクロメートルオーダーの微細結晶だった。この微細結晶にさらに微細な構造を持たせることができれば、階層的構造をもつ結晶を作製する技術に繋がるのではないかと考える。

#### 2) 有機高分子介在による異なる結晶形の積層構造

本実験では追加成長でできる微小構造体は元の膜状結晶と同じ結晶形で同じ配向の結晶であった。貝の稜柱層と真珠層の関係は、ある界面から一転して結晶形を変えるということが可能であるということを示唆している。得られた薄膜表面に吸着を起こし、異なる結晶形を誘起する配列を持つ高分子を吸着させれば、異なる結晶形を意図的に積み上げることも可能になるのではないかと考える。

#### 3) 基板有機物の微細構造化

バイオミネラルゼーションにおいては、細胞活動により高次化され、組織的な構造を持つ結晶が得られる。本実験では吸着する基板はキトサンをスピンコーティングしたものを使った。水中でこの不溶性基板側自体の微細構造体を意図的に作ることができれば、それをテンプレートとして薄膜を成長させ鉱物化することにより、テンプレート作製から組織的な構造を持つ結晶作製までの全工程を水溶液中で行なうプロセスが構築できる。

## 2.2. バイオメティックミネラリゼーションによるマイクロファブリケーションの実現にむけて

本研究は、現在技術が飽和し、環境負荷も大きいトップダウン型マイクロファブリケーション技術であるマイクロリソグラフィーに相対する技術を開発すべく、学術研究の領域を脱し得ないバイオミネラリゼーションを工業技術に発展させようとして行なったものである。バイオミネラリゼーションは水相での結晶化であり、キトサンなどのバイオマスを利用することも可能な方法であり、環境の世紀と言われている 21 世紀にふさわしいものに見えるが、第一章の冒頭で述べたボトムアップ型マイクロファブリケーションにどこまでアプローチできたかについて考えてみたい。

第3章に示した基板から三次元成長は、ダイレクトにボトムアップによるパターン形成を示している。この方法は、これまでトップダウンにより設計図を薄膜結晶に写し、切り出しによってパターンを形成していたのに対し、薄膜結晶が成長して三次元マイクロパターンが形成された。このパターンは膜状結晶に内在されていた構造が発現されたもので、いわば現象が起こってマイクロパターンが出現したと述べた。言い換えるならば、基板となった薄膜結晶は「設計図を内在した膜」であったと言う事ができる。本研究により薄膜結晶の結晶系と配向はその下の不溶性高分子の水溶性高分子吸着サイトの構造を反映するということがわかったが、これは膜のボトム側にあった「有機高分子側に用意してあった設計図を転写した」とも言える。このように考えると、薄膜結晶が成長する高分子基板に実現したい構造を持たせる事ができれば、その上方にはボトムアップでマイクロパターンが形成される。この概念図をリソグラフィー技術と対比して図 6-2に示した。本研究で未達成である不溶性有機高分子の構造制御が達成されれば、(b)で示したバイオメティックミネラリゼーションによるボトムアップ型マイクロファブリケーションが実現されることになるであろう。

以上

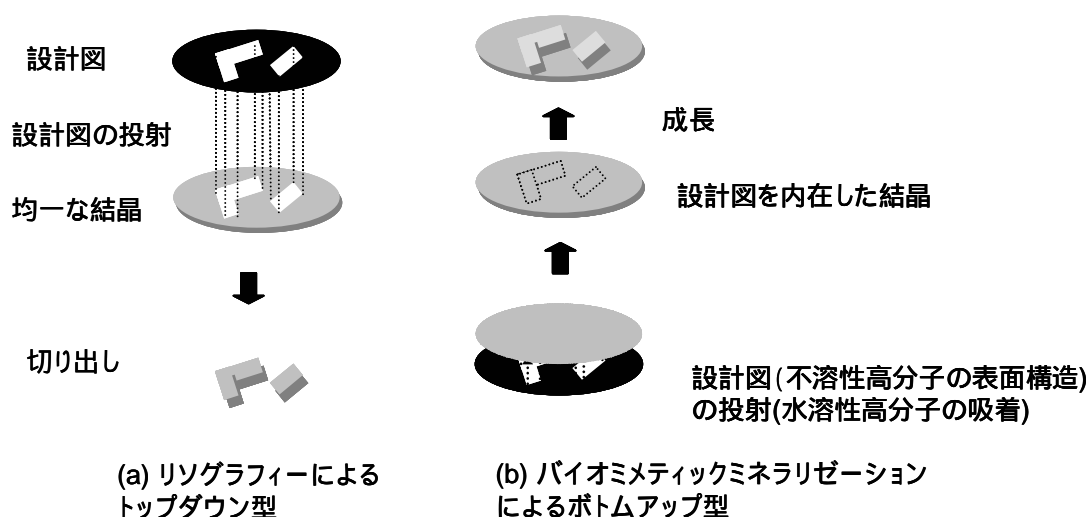


図 6-2 リソグラフィー技術とバイオメティックミネラリゼーションによるボトムアップ型マイクロファブリケーション

## 付録

### 本研究で使用した薬品一覧

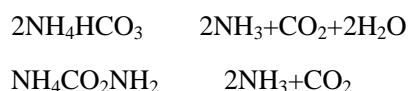
- ポリアクリル酸(PAA)

本文中での呼称	購入時の状態	Mw	製造元
PAA2k	Na 塩, 粉末	ca. 2,100	Aldrich
PAA90k	25 % 水溶液	~ 90,000	Polyscience Inc.
PAA250k	35 % 水溶液	Ave. 250,000	Aldrich

- 炭酸アンモニウム

炭酸アンモニウム min. 30% 関東化学株式会社

\*炭酸水素アンモニウム  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  とカルバミン酸アンモニウム  $\text{NH}_4\text{CO}_2\text{NH}_2$  の混合物。両者とも室温で徐々に分解し、炭酸ガスを発生する。



- アルカリ土類金属塩化物

試薬名	純度	製造元
塩化カルシウム	95%	純正化学株式会社
塩化バリウム(二水和物)	99%	
塩化ストロンチウム(六水和物)	99%	

### 本研究で使用した結晶析出用基板

- ガラス基板(松浪ガラス, 白縁磨 No.1, S-1111, サイズ 76x26mm, 厚さ 0.8-1.0mm)

以下の方法により親水化処理したものを乾燥させずに使用した。

洗浄液の配合: エタノール 300 ml, 水酸化カリウム 5g, 純水 200ml

シーケンス: 超音波洗浄器使用。洗浄液 2分、純水 2分 × 2回

- キトサン基板

以下の方法によりスライドガラス上に作製した膜を使用した。

スピンコーティング用液の配合: キトサン(和光純薬) 3.5 g, 酢酸 35ml, 純水 15 ml

スピンコーティング: 500rpm 5秒 2000rpm 60秒

中和のシーケンス: 5%アンモニア水 2分、純水 2分 × 2回

乾燥: 100 の電気オープンにて 30分乾燥。



## 本研究で使用した分析機器一覧

No.	装置名称	製造元	型番
1	電界放出走査型電子顕微鏡 (FE-SEM)	HITACHI	S-4700
2	ナノ領域分析高分解能走査型電子顕微鏡 (FE-SEM)	FEI	SIRION
3	走査型電子顕微鏡 (SEM)	HITACHI	S-2150
4	電界放射透過型電子顕微鏡 (FE-TEM)	FEI	TECNAI F20
5	X線分析顕微鏡 (EDAX)	HORIBA	XGT-2000
6	エネルギー分散型 X線元素分析装置 (EDX)	HORIBA	EMAX-7000
7	X線回折装置(XRD)	RIGAKU	RADC CN-2013
8	湾曲IP(イメージングプレート)X線回折装置 (微小領域 X線回折装置)	RIGAKU	RINT RAPID*
9	フーリエ変換赤外線分光装置 (FT-IR)	Digilab	BIO-RAD FTS-165
10	示差熱重量同時測定装置	Seiko Instruments	TG/DTA6200

\*株式会社リガク(東京都昭島市松原町 3-9-12)の協力による。

### 本論文に関わる発表論文

1. “Formation of silicate-mediated CaCO<sub>3</sub> films”  
A. Kotachi, T. Miura, and H. Imai, *Chem. Lett.*, **32**, 820 (2003).
2. “Silicate-mediated film formation of alkaline-earth metal carbonates”  
A. Kotachi, T. Miura, and H. Imai, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn*, **29**, **5**, 2257 (2004).
3. “Formation of planar aragonite-type carbonate crystals consisting of iso-oriented subunits”  
A. Kotachi, T. Miura, and H. Imai, *Cryst. Growth Design*, **4**, **4**, 725 (2004).
4. “Morphological evaluation and film formation with iso-oriented calcite crystals using binary poly (acrylic acid)”  
A. Kotachi, T. Miura, and H. Imai, *Chem. Mater.*, **16**, 3191 (2004).
5. “Development of calcium carbonate from planar films into ordered microarrays depending on polymorphism”  
A. Kotachi and H. Imai, 投稿中
6. “Control of Polymorphism of Calcium Carbonate Films in Poly(Acrylic Acid)-Chitosan System  
A. Kotachi, T. Miura, and H. Imai, 投稿中

### 本論文に関わる学会発表等

- 1 “Effects of coexistent electrolytes and surfaces of substrates on film growth of alkaline earth metal carbonate”  
A. Kotachi, T. Miura, and H. Imai, Third International Symposium on Biomimetic Materials Processing, Nagoya, Japan, Jan., 2002.
- 2 “Silicate-mediated film formation of alkaline-earth metal carbonates”  
A. Kotachi, T. Miura, and H. Imai, Symposia of IUMRS-ICAM2003, Yokohama, Japan, Oct., 2003
- 3 “Control of polymorphism, orientation, and morphology of calcium carbonate film, using simple chitosan-poly (acrylic acid) system”  
A. Kotachi, T. Miura, and H. Imai, MRS 2004 Fall Meeting, Boston, US, Nov., 2004

## あとがき

私の家には貝殻が沢山あります。子供の頃から貝殻を集めるのが好きでした。小学生の頃、家族旅行で行った千葉県の千倉海岸と臨海学校で行った大貫海岸の貝殻を標本にして夏休みの自由研究として提出したところ、よくできているということで校長室に飾られたところがありました。そんな長い付き合いの貝殻を材料にして大学で研究をやることになるとは思っても見ませんでした。

私は卒業研究で有機合成を専攻し、学士で大学を卒業後、当事業績が好調で大量採用をしていたコンピュータ・通信機器メーカーの富士通株式会社に偶然入社することになりました。当時の私は仕事に対する意思が希薄で、研究開発に携わりたいなどとは夢にも思ってもいませんでした。米国のコンピュータ・通信機器の企業においてはどこも化学系の研究者を擁している中、日本の電機メーカーでもようやく化学系の研究者を本格採用しようとしていた頃で、中でも本格的な有機合成ができる技術者は数少なかったため、学士卒でありながら幸運にも研究開発部門に配属されました。研究対象はマイクロリソグラフィーで使用するフォトレジスト材料で、それまで物理屋さんが化学メーカーに材料の配合を変えさせて性能を向上させていた中、新たに分子設計から行ない、自ら合成・評価をして、約15年後のLSIの生産に使用されるような新規のレジスト材料を目指して探索を行うという非常に長期的な研究に携わることになりました。ゴールが遠い仕事だったので、社内での評価も決して高くありませんでしたし、評価装置もまだ産業用にすらなっていなかったため、理化学研究所に借りに行ったり、大手装置メーカーがまだ実験機だといっているものを無理に使わせてもらったりして実験をしました。この仕事の中で、つたない英会話力で国際学会で発表をさせられたり、MITの附属研究所を訪問されたりしているうちに、学会発表の意義や研究開発の面白さがわかるようになっていきました。さらに幸運にも共同研究者の武智敏さんが業界をリードするような材料を開発し、一躍世界最先端に躍り出る所に遭遇しました。同じ研究開発に携わっていても、自分達が世界の頂点に立つことは滅多にあることではないと思います。この材料を量産するといってベンチャー企業を立ち上げる人が現れ、会社が誕生して行く様を見ることもできました。また、当時特に活況を帯びていたこの業界の学会においては同業他社（海外企業を含む）の研究者の方々や大学の先生とも交流することができました。中でも博士号を持つ他社の女性研究者の皆さんと出会うことができたのは私の人生には大きな宝物となりました。この会社には偶然入社したわけですが、同じ社会人でも滅多にできないような沢山の素晴らしい体験をすることができ、富士通株式会社と有機化学には深く感謝しています。

10年目にある事情があり、またリソグラフィー技術自体が飽和しつつあるということもあって、この仕事は自ら放棄してしまったのですが、ビジネス主体の部門に移ってみると、これまでしていた仕事が実にダイナミックで変化に富んだ、恵まれた仕事であったかということがよくわかりました。頭も使わなくなってしまったので、暇を持て余して通った放送大学で出会った同期の中島みかさんがいつの間にか一橋大学大学院への進学を決めていた事に強く影響を受けて、私も大学院への進学を考えるようになりました。ここで、また偶然にも母校の慶應義塾大学で在職のまま博士課程に在学できる制度が発足しており、会社での業績を提出したところ、幸運にも後期博士課程の受験資格が得られました。前職から3年の間に世の中は変わっており、自分が携わっていたリソグラフィー技術から自己組織化という新しい技術に研究の中心が移り変わろうとしている時期でした。そこで自己組織化をキーワードに指導教官の先生を探しましたところ、企業研究者の経験もある今井宏明助教授と出会うことになり、今井さんに面倒をみていただくことになりました。今井さんには、もともとこの分野のバックグラウンドが弱い私に対して本当に我慢してよくおつきあいいただいたと思います。夜間・土日のディスカッションと今井さんにもご負担が大きかったと思いますが、そのような状況も理解していただける先生に出会えた事もまた幸運でした。バイオメテックミネラリゼーションの研究に参加させていただくことで、次の時代を垣間見ることができました。

私自身、研究と関係の無い職場での仕事、しかも開始当初は通勤時間が片道2時間の事業所に勤務しながらの通学は困難を極めました。これまでほとんど努力をほとんどしてこなかった私ですが、ここに来て人生で初めて努力をしました。

私の人生は常に幸運に支えられてきました。

ここで再び、慶應義塾大学と化学に深く感謝したいと思います。

## 謝辞

本論文は、平成 13 年(2001 年)4 月から、平成 17 年(2005 年)3 月まで、慶應義塾大学理工学研究科後期博士課程に在学中に行った研究をまとめたものです。本研究は、文部科学省の科学研究費 No.15560587 及び「世界的研究教育拠点の形成のための重点的支援 21 世紀 COE プログラム」における、慶應義塾大学のプログラム「機能創造ライフコンジュゲートケミストリー」の支援を受けました。

はじめに、筆者にとって新しいテーマであったバイオミメティクス研究の機会をいただき、熱意をもってご指導いただきました、今井宏明慶應義塾大学工学部助教授に深く感謝とお礼を申し上げます。

また、社会人在職ドクター制度を開設され、博士課程への入学を在職のままでご許可いただきました、安西祐一郎慶應義塾長に感謝申し上げます。

本論文をまとめるにあたり助言をいただきました慶應義塾大学の平島碩理工学部教授、鹿園直建理工学部教授、白鳥世明理工学部助教授、に感謝いたします。

在学中励ましてくださいました、中田雅也理工学部教授、戸嶋一敦理工学部教授に感謝いたします。

共同実験者の三浦隆司氏と寺田知弘氏、実験に協力いただきました緒明佑哉氏、また、社会人学生で不在が多い私にご理解をいただき、ご協力いただきました今井研究室所属の学生の皆さんに感謝いたします。

無理を聞いてくださいました、慶應義塾大学中央試験所職員の加藤氏、三谷氏に深く感謝いたします。

材料研究者としての扉を開いて下さいました、富士通株式会社と、阿部直道氏、武智敏氏、開元裕子氏に感謝いたします。

大学院進学のかっかけを与えてくださいました、放送大学祖父江教室同期の中島みか氏に深く感謝いたします。

最後に、幼少時に理科系の素地を与えてくださいました、1980 年 1 月に逝去しました父 小太刀 太平と、母 慶子に感謝いたします。

平成 17 年 8 月

小太刀 明子