

Citrat i calcium biomineralisering

På bunden af det iskolde hav nær Antarktis blev i 1936 mineralet calciumcitrat tetrahydrat fundet og senere navngivet Earlandit for at ære den engelske havforsker Arthur Earland (1866-1958). Dette usædvanlige organiske mineral er senere blevet vigtigt for at forstå calciums biotilgængelighed i den menneskelige krop.

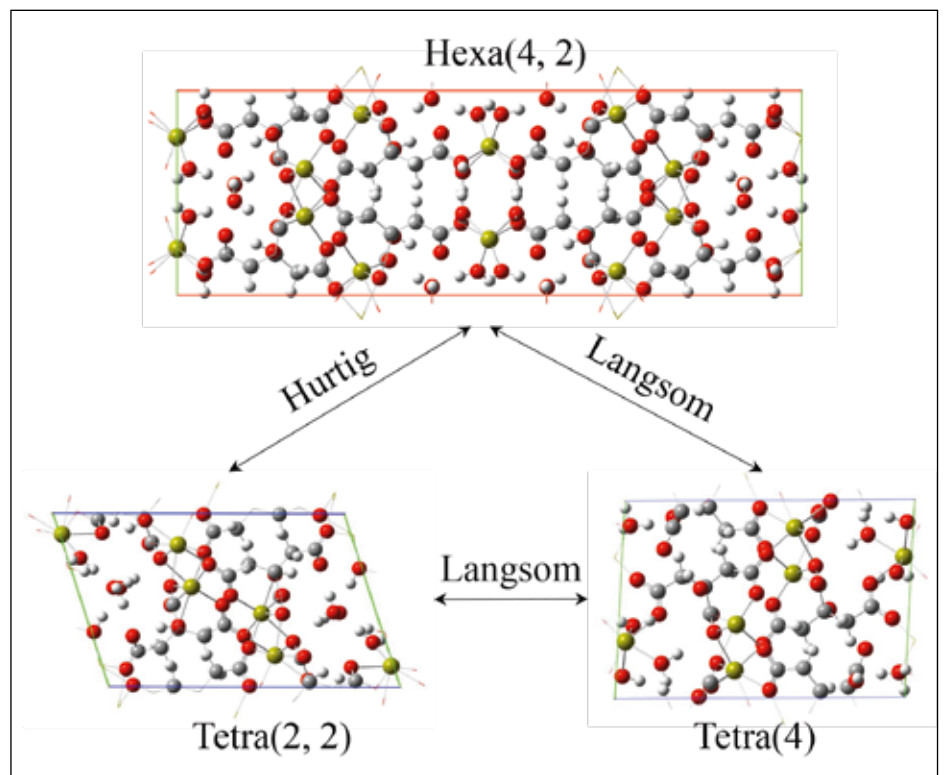
Af Leif Skibsted, Institut for Fødevidenskaber, Københavns Universitet

Calcium er livsvigtigt, og det nødvendige daglige indtag er omkring 1 gram afhængigt af køn og alder, og anbefalingerne er lidt forskellige fra land til land. Calcium er dermed metallet med det højeste indhold i den menneskelige krop. Gennem 2. hovedgruppe varierer de fysiologiske effekter af grundstoffernes di-kationer. Den helt lille Be^{2+} og den meget store Ba^{2+} er begge yderst giftige. Mg^{2+} og Ca^{2+} af mellemstørrelse er livsvigtige, mens det stadig diskuteres, om Sr^{2+} , der er lidt større end Mg^{2+} og Ca^{2+} , har fysiologiske funktioner.

Biom mineralisering afhænger af calcium

Calciumphosphater har gennem evolutionen fået vigtige roller som basis for pattedyrs knogler og tænder, mens calciumcarbonat danner struktur for mange lavere rangerende organismer i evolutionens hierarki.

Calcium optages i pattedyrene, især i tarmen, og biotilgængeligheden bliver ofte lav på grund af calciumsaltes lave



Figur 1. Struktur af calciumcitrat hexahydrat og de to polymorfe former af calciumcitrat tetrahydrat [7]. Omdannelse mellem Tetra(2,2) med to vandmolekyler, der ikke er bundet direkte til Ca^{2+} (grøn) gennem oxygen (rød), og hexahydrat Hexa(4,2) har en lav energibarriere. Omdannelse mellem Tetra(4) med alle vand bundet direkte til Ca^{2+} og Hexa(4,2) eller Tetra(2,2) har en høj aktiveringsbarriere.

opløselighed ved tarmens pH. Biotilgængeligheden af calcium afhænger dog af, hvilke calciumsalte kosten indeholder, og af fordøjelsesprocesserne i mave og tarm.

Calciumcitrat

Hastigheden af knoglernes omsætning er for nylig i humane studier fundet at korrelere positivt med niveauet af cirkulerende citrat i blodet [1]. Calciumcitrat fremmer også regenerering af dyreknoget under eksperimentel

kirurgi på trods af calciumcitrats lave opløselighed [2]. Citrat spiller en vigtig rolle for styrken af pattedyrs knogler, og citrat dannes da også i knoglevæv. Citrat påvirker også optagelsen af calcium i tarmen. Allerede for mange år siden blev det i humane interventionsforsøg påvist, at biotilgængeligheden af calcium er større for calciumcitrat sammen med overskud af ionisk citrat [3].

Overmætning

Calciumcitrat kendes som dihydrat,

Foto: Wikimedia.



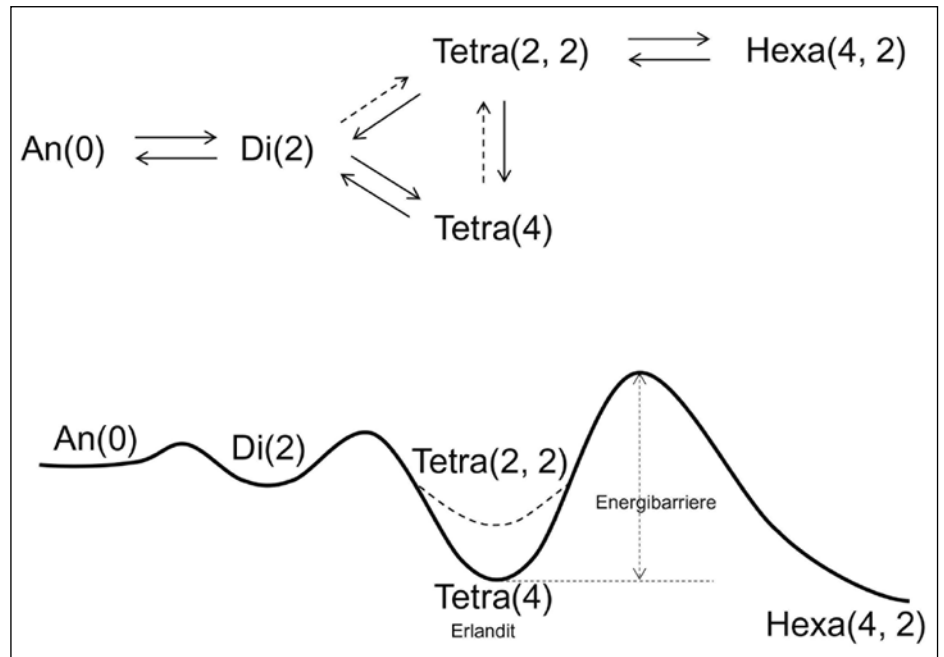
tetrahydrat og som hexahydrat. Op-løseligheden af tetrahydratet i vand aftager med stigende temperatur, mens opløseligheden af hexahydratet derimod øges med stigende temperatur. Omdannelsesstemperaturen mellem de to højere hydrater i vandig opløsning er 52°C [4]. Hexahydratet er den stabile form for lavere temperaturer, mens tetrahydratet er den stabile form for højere temperatur, og ved 54°C er de to hydrater i ligevægt med hinanden i den mættede opløsning. Opløses calciumcitrat tetrahydrat i vand, bliver opløsningen hurtigt mættet. Opløses calciumcitrat tetrahydrat derimod i en fortyndet vandig opløsning af natriumcitrat, bliver opløsningen spontant overmættet med calciumcitrat ved fastholdt temperatur uden opvarmning eller afkøling. Ligevægtsindstillingen med faldende koncentration af opløst calciumcitrat tager mere end et døgn. Denne tidsbegrænsede spontane overmætning forklarer den positive effekt af overskud af ionisk citrat på biotilgængelighed af calcium fra calciumcitrat, som det blev fundet i de tidlige humane interventionsforsøg [3]. Mekanismen bag den spontane overmætning er dog stadig uforklaret [5].

Tetrahydrat/hexahydrat omdannelse

Fra vandige opløsninger mættet med calciumcitrat tetrahydrat udfældes ikke ved fysiologisk eller ved lavere temperatur det mere stabile calciumcitrat hexahydrat trods den langt lavere opløselighed af det højere stabile hydrate. Det organiske mineral calciumcitrat tetrahydrat, fundet på havbunden nær Antarktis og kendt som Earlandit, omdannes heller ikke til det langt mere stabile hexahydrat selv på den geologiske tidsskala [5].

Calciumcitrat hexahydrat har to vandmolekyler, der ikke er bundet til Ca^{2+} og bliver ofte formuleret $\text{Ca}_3\text{Citr}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $2\text{H}_2\text{O}$, forkortet Hexa(4,2). Calciumcitrat tetrahydrat er nu ved røntgenstruktur-opklaring fundet i to former [6,7]. Den ene struktur kan formuleres som $\text{Ca}_3\text{Citr}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $2\text{H}_2\text{O}$ forkortet Tetra(2,2) og to vandmolekyler er bundet andet sted i strukturen end til Ca^{2+} . Den anden polymorfe form har alle fire vandmolekyler bundet til Ca^{2+} og kan formuleres som $\text{Ca}_3\text{Citr}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ forkortet Tetra(4), som det ses i figur 1.

Tilsyneladende omdannes Tetra(2,2) let til Hexa(4,2) ved optagelse af to vandmolekyler, der bindes til Ca^{2+} , mens Tetra(4) langt vanskeligere binder to ekstra vand for at omdannes til Hexa(4,2). Vand ikke bundet til Ca^{2+} udskiftes langt sværere end vand bundet



Figur 2. Kinetisk eller termodynamisk kontrol: Omdannelse mellem calciumcitrat i mættet vandig opløsning. An(0) er vandfri calciumcitrat, Di(2) er dihydratet med to vandmolekyler bundet til Ca^{2+} . Tetra(2,2) og Tetra(4) er de to polymorfe tetrahydrater og Hexa(4,2) er det stabile hexahydrat med fire vand bundet til Ca^{2+} og to vand bundet til citrat. Tetra(4) har en højere barriere end Tetra(2,2) for omdannelse til Hexa(4,2). Modificeret efter [5].

til Ca^{2+} i calciumcitratene. Mineralen Earlandit må derfor være Tetra(4) og ikke Tetra(2,2). I den robuste Tetra(4) er citrat beskyttet mod omdannelse, og Tetra(4) omdannes heller ikke til Tetra(2,2) og videre til det stabile hexahydrat Hexa(4,2). Tetra(4) vil heller ikke nemt omdannes direkte til Hexa(4,2), da det involverer binding af to vandmolekyler udenfor calcium-ionernes første koordinations-sfære. Det forklarer calciumcitrat tetrahydrats robusthed som mineral på havbunden. Det forklarer også, at overmættede opløsninger af calciumcitrat tetrahydrat ved fysiologisk temperatur ikke udfælder calciumcitrat hexahydrat og bliver mættede med dette hydrate med lavere opløselighed, se figur 2. Opløseligheden af tetrahydratet er ved disse betingelser næsten dobbelt så stor som for hexahydratet [4].

Biotilgængelighed

Forskellen i opløseligheden af calciumcitrat tetrahydrat og hexahydratet har derfor betydning for calciums biotilgængelighed fra calciumcitrat. Calciumsalte som calciumcitrat vil i mavens syre i det væsentlige dissociere til frie calcium-ioner. Ved tarmens højere pH vil calcium gendanne calciumkomplekser som calciumcitrat i de mere opløselige former. Calciums høje biotilgængelighed fra calciumcitrat kan derfor tilskrives dannelse af calciumcitrat komplekser af høj opløselighed i tarmen [5].

Det organiske mineral fra den kolde havbund har hjulpet os på vej til denne nye forståelse.

E-mail:

Leif Skibsted: ls@food.ku.dk

Litteratur

- Hartley, A. et al. (2020): Metabolomics analysis in adults with high bone mass identifies a relationship between bone resorption and circulating citrate which replicates in the general population. *Clinical Endocrinology*, 92, 29-37.
- Wang, L.M. et al. (2012): Calcium citrate: A new biomaterial that can enhance bone formation in situ. *Chinese Journal of Traumatology*, 15, 291-296.
- Pak, C.Y. et al. (1987): Enhanced calcium bioavailability from a solubilized form of calcium citrate. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 65, 801-805.
- Vavrusova, M. & Skibsted L. H. (2016): Aqueous solubility of calcium citrate and interconversion between the tetrahydrate and the hexahydrate as a balance between endothermic dissolution and exothermic complex formation. *International Dairy Journal*, 57, 20-28.
- Liu, X.-C. & Skibsted L. H. (2023): Citrate in calcium transport and biomineralization. *International Dairy Journal* 139, 105561
- Herdtschek et al (2011): Crystal structure, synthesis, and properties of tri-calcium dicitrate tetra-hydrate $[\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Zeitschrift Für Anorganische Und Allgemeine Chemie*, 637, 655-659.
- Kaduk, J.A. (2018): Crystal structures of tricalcium citrates. *Powder Diffraction*, 33, 98-107.