

## 고농도의 불소를 포함하는 과포화용액이 apatitic crystal growth에 미치는 영향

권중원 · 금기연 · 이승종 · 정일영 · 이찬영  
연세대학교 치과대학 보존학교실

### ABSTRACT

#### THE EFFECT OF THE SUPERSATURATED SOLUTIONS CONTAINING HIGH CONCENTRATIONS OF FLUORIDE ON SEEDED CRYSTAL GROWTH

Jung Won Kwun, Kee-Yeon Kum, Seung-Jong Lee, Il-Young Jung, Chan-Young Lee  
*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University*

In biological systems, the mineral that forms hard tissue is of an apatitic nature, and hydroxyapatite ( $\text{Ca}_5\text{OH}(\text{PO}_4)_3$ : HA) is generally considered as the prototype for such a mineral. Thus, the precipitation of HA, having biological implications, has been the subject of several investigations.

Crystal growth studies using HA seeds in supersaturated solutions have enhanced our understanding of the process and mechanism involved in seeded crystal growth. From these studies, it has become apparent that the precipitation rate of HA onto the seed crystals depends on the various conditions, especially on the additives.

The relation between the supersaturated solution containing fluoride and the process of HA crystal growth enhances the understanding of mechanism of HA crystal growth.

Until recently, the studies have been on the crystal growth of enamel minerals and synthetic HA seeds in the supersaturated solution containing 1~2 ppm fluoride.

The purpose of the present investigation is to study the effect that fluoride of high concentration has on the crystal growth kinetics of HA.

In order to produce the composition found in the secretory enamel fluid, experimental solutions of 1mM Ca, 3mM P, and 100mM Tris as background electrolyte were used. Then this experimental solutions were added to 0, 2, 4, 6, 8, 10 ppm fluoride.

The effect of fluoride at high concentrations on the precipitation was examined in a bench-top crystal growth model adopting a miniaturized reaction column. Chemical analysis was employed for characterization of working solutions before and after the experimentation.

Remarkable findings were : 1) the amount of crystal growth was gradually accelerated as the fluoride concentration increased until 6 ppm, but decreased in 8 and 10 ppm fluoride; 2) the amount of fluoride ion consumed in crystal formation was constant despite the increase in fluoride concentration.

**Key Words** : Seeded crystal growth, Fluoride concentration, Seed material, Hydroxyapatite, Enamel mineral

## I. 서 론

생체에서 경조직을 이루는 mineral은 apatite 특성을 보이는데 hydroxyapatite( $\text{Ca}_5\text{OH}(\text{PO}_4)_3\text{:HA}$ )는 이런 mineral의 prototype<sup>2,4,28,36</sup>으로 여겨진다. 그래서 생물학적인 관점에서 경조직의 이해를 위해 HA에 관한 연구가 여러 연구가들에 의해 시행되어 왔다.

이러한 HA의 연구방법에는 크게 두 가지 방법이 존재하는데 하나는 calcium-phosphate의 자발적인 침전반응 실험(spontaneous precipitation)방법<sup>12,27,37</sup>이고, 다른 하나는 과포화용액 내 침전반응을 촉진시키기 위해 seed를 이용한 연구(seeded crystal growth)<sup>3,15,19,34,35,36</sup>이다. 여기서 전자의 방법은 nucleation과 성장이 발생한 후의 변화만을 알 수 있고, 재현성이 떨어져 조절인자의 첨가를 통한 연구에 제한적이다. 그에 비해 후자의 방법은 일정한 이온농도와 일정한 pH 수준을 유지시키므로 재현성이 우수하고, 조절인자의 영향을 확인하기 위한 실험에 부합되므로 과포화용액 내 HA seed를 이용한 결정성장연구가 성장의 과정과 기전을 이해하는데 많이 이용되어 왔다<sup>4,11,24,28,36</sup>.

이러한 crystalline HA의 성장은 실험온도, reagent의 농도, reagent의 addition rate<sup>2)</sup>등의 다양한 조건의 실험 상태에 의해서 영향을 받으며, 특히 첨가물에 의한 성장률의 차이를 보여 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

1972년 Meyer와 Nancollas<sup>21)</sup>은 주석(stannous ion)과 불소가 안정된 과포화용액으로부터 calcium phosphate의 결정 성장률에 어떤 영향을 미치는지 조사하여 보았다. 여기서 그들은 주석이 활성적인 성장부위에 adsorption되어 성장을 억제하지 않을까 기대하였고, 불소의 경우는  $10^{-5}\text{M}$  이하의 저농도에서는 성장을 억제하고,  $10^{-5}\text{M}$  이상에서는 성장을 촉진한다고 보고한 바 있다.

여기서 HA 내부에 minor element로 존재하는 불소 이온은 HA 형성을 촉진하는 인자로 평가될 뿐만 아니라, cariogenesis와 법랑질 재광화에 관여하며<sup>36)</sup>, 또한 mineral의 결정격자 내에 참여함으로써 apatitic crystal의 열역학적 용해도가 감소하는 등 결정의 화학적, 물리적 성질에 변화를 가져오게 된다.

In vitro에서 법랑질의 재광화는 불소가 1ppm처럼 낮은 농도로 재광화용액 내 존재시 가속화되며, 건전한 위생관리를 중시하고, sucrose solution으로 구강 세척함으로써 유도된 초기의 법랑질 탈회(white spot)는 sucrose rinse의 중단과 위생관리의 재개, 불소함유 rinse를 사용함으로써 정상 법랑질로 회복됨을 보인다. 이러한 법랑질의 재광화는 불소가 apatitic crystal의 성장률에 관여한 결과라고 추측되어진다.

이에 불소를 함유한 과포화용액과 HA의 성장과의 관계를 면밀히 파악하여 HA의 구조이해와 촉진에 도움이 될 것이

다. 1979년 Amjad와 Nancollas<sup>1)</sup>는 0.15~5.0ppm의 불소를, 1981년 Varughese와 Moreno<sup>36)</sup>는 0~2ppm의 불소를 대상으로 연구하였으며, 1992년 Mura-Galelli<sup>26)</sup>은 0.1ppm 불소농도 이하에서는 Octacalcium phosphate (OCP) 전구체의 형성이 촉진되고, 0.4ppm 불소농도 이상에서는 OCP 형성이 억제되며, apatitic crystal의 침전과 성장이 더 잘 일어난다고 보고하였다. 지금까지의 불소실험 농도는 대개 0.1~2.0ppm의 저농도에서 진행되어왔다.

본 연구는 0에서 10ppm까지의 다양한 농도의 불소첨가시 crystal의 성장에 미치는 영향과 불소의 농도에 따른 결정내 불소의 참여도의 차이를 밝히고자 시행하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 시편제작

두 종류의 seed 재료를 이용하였다.

(1) 합성된 HA seed : HA 현탁액(Sigma Co., 분자량 1004.6)에 초순수 증류수를 넣고 원심분리기(Jouan MR 1812, France)를 이용하여 3회 이상 반복 세척시킨 후 냉동 건조시켜 사용하였다.

(2) 인간의 Enamel seed : 발치한 지 30일 이내의 영구치아 중 우식이나 법랑질 결손이 없는 치아를 선택하여 치아에 부착된 물질을 치주용 curette으로 제거하고 불소가 함유되지 않은 pumice로 치면을 연마하였다. 이후 초음파 세척기에서 10분간 세정 후 증류수로 세척, 건조시켰다. 5cc용 주사기를 절단하여 만든 tube에 치과용 아크릴 레진을 이용하여 치근 부위만 매몰한 뒤, 노출된 치관부를 약 2mm 두께로 치아 장축에 평행하게 절단하고 다시 CEJ 부위를 절단하여 치관부 절편만 취하였다. 치관부 절편은 고속엔진의 diamond bur와 carbide round bur로 외부 법랑질 층만 남기고 내부의 상아질 층을 확대경으로 확인하면서 모두 제거하였다. 이렇게 수집된 법랑질 층을 증류수로 2~3회 세척하고, 실온에서 건조시킨 후 mortar & pestle을 이용하여 미세한 분말형태로 분쇄시켰다.

Enamel seed 및 HA seed의 특이 표면적을  $\text{N}_2$  adsorption을 이용하여 측정하여 본 결과, 각각 11.2와 98.2 $\text{m}^2/\text{g}$ 의 특이 표면적(specific surface area)이 산출되었다.

### 2. 실험용액의 조제

Secretory enamel fluid(Aoba and Moreno, 1987)의 조성 과 유사하게 하기 위하여 1mM Ca, 3mM total P, 100mM Tris로 구성된 실험용액(working solution)을 조제하였는데, 여기서 Tris는 background electrolyte로서 사용하였다.

(1) 염화칼슘용액(stock solution) : 염화칼슘분말(Sigma Co., 분자량 111)로부터 10mM의 용액을 조제한다.

(2) 인산칼륨용액(stock solution) : 인산칼륨분말(Sigma Co., 분자량 136.1)로부터 30mM의 용액을 조제한다.

(3) Tris 용액(stock solution) : Tris분말(Sigma Co., Trizma<sup>®</sup> Base(C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>), 분자량 121.1)로부터 500mM의 용액을 조제한다.

(4) 불소용액(stock solution) : 불화나트륨(NaF)분말(Sigma Co., 분자량 41.99)로부터 100ppm(5.26mM)의 용액을 조제한다.

(5) 실험용액(working solution)의 조제 : 1mM Ca, 3mM total P, 100mM Tris 및 다양한 농도(0, 2, 4, 6, 8, 10ppm)의 불소로 구성된 실험용액을 조제하기 위하여 각각의 stock solution으로부터 계산된 양만큼의 용액을 취한 다음, NaOH 및 HCl을 이용하여 pH가 7.2±0.2로 되도록 조절하여 500ml의 working solution을 만들었다. 이 용액의 Ca 및 P 이온농도는 자동 분석기(Hitachi 736-20, Japan)를 이용하여 다시 정량 분석하였고, F와 pH는 specific ion-selective electrode(F ion: Model 94-09 F electrode Orion Research Inc.)를 이용하여 측정하였다.

### 3. 실험모형의 제작

실험모형은 Mura-Galelli가 개발한 것과 동일하게 제작되었다(Fig. 1).

실험모형은 원래의 실험용액을 담은 vessel A, 과포화된 실험용액을 일정한 속도로 운반해 주는 infusion pump(Sage-365, ATI Orion, USA), seed가 놓인 plastic column(0.5ml in volume)으로 제작된 반응실(reaction chamber), 그리고 column을 통과한 실험용액을 모으기 위한 vessel B로 구성되어 있다. 각각의 부위는 Tygon tube(Norton Co., R-3603, USA)로 연결하여 paraffin wax tape으로 밀폐시키고, 반응주(column)의 바닥부위는 paper filter(Toyo, Japan)를 위치시켜 이 filter 위로 결정이 침전되도록 하였다. Paper filter를 고정시키기 위하여 micropipette tip을 절단하여 만든 plastic 'O' ring을 반응주 바닥의 filter위에 위치시켰다. 실험 과정 중 반응주(reaction column)는 stand에 수직되게 고정하였다.

### 4. 실험조건 및 평가방법

모든 결정침전반응 실험은 대기압 하의 실온에서 행하여졌으며, 실험용액의 feeding rates는 4.2~4.4ml/h 범주로 조절하여 유지되었다.

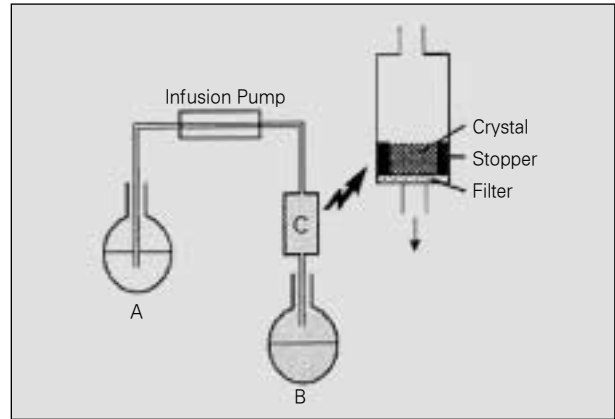


Fig. 1. Schematic illustration of experimental set-up seed crystals.

침전실험은 약 24시간동안 지속되었으며, 실험을 마친 후에는 실험 후 용액의 Ca, P, F의 농도 및 pH를 측정하여 실험 전, 후의 변화를 비교하였다.

## III. 실험 결과

실험결과를 보면 Table 1은 2mg의 HA와 Enamel mineral seed에 대한 실험용액의 반응 전과 반응 후의 각 이온 즉 Ca, P, F의 이온농도를 측정된 값을 나타내고 있으며 아울러 pH도 실험 전후로 나누어 측정되었다. Table 1에서 / 전의 값이 실험 전 용액 내 농도값과 pH이며, / 후의 값은 실험 후 용액에서 얻은 측정치들이다.

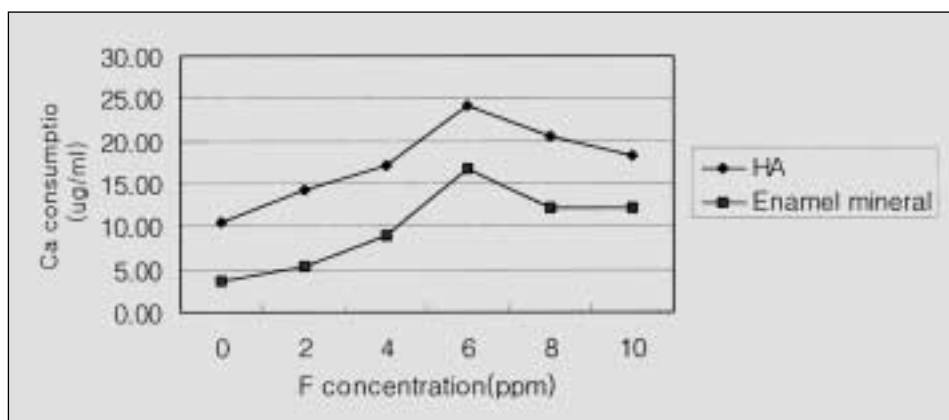
HA와 Enamel seed에서 실험전후 용액의 농도 내에 이온의 양을 계산한 후 그 차이를 소모된 양으로 여길 수 있는데, 첨가된 불소농도에 따르는 이온소모량의 변화를 살펴보면 불소가 6ppm까지 첨가 시에는 Ca, P, F의 이온소모량이 점차 증가하다가 그 이상 8, 10ppm 불소첨가 시에는 각 이온의 소모량이 줄어들음을 알 수 있다. 그리고, 실험용액 내 pH는 실험전후에 큰 변화를 보이지 않고 있다. 이와 같은 이온변화는 HA와 Enamel seed에서 모두 비슷한 양상을 보였다.

Ca 소모량에 대한 F의 소모량의 비율은 각 이온의 단위 g 당 소모된 양으로부터 계산된 것으로 불소 첨가 시에는 HA와 Enamel seed에서 0.05~0.07의 비율을 보이고 있다.

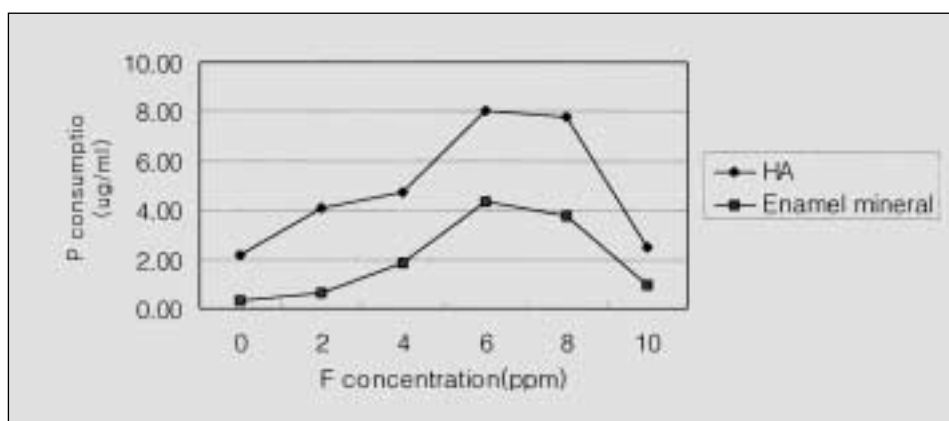
Fig. 2, 3, 4는 각 이온의 용액 1ml당 소모된 양을  $\mu\text{g}$ 으로 환산하여 첨가된 불소와의 관계를 살펴본 그래프로 첨가된 불소가 6ppm까지는 그 소모량이 증가하다가 그 이상 8, 10ppm의 불소 첨가 시에는 각 이온의 소모량이 줄어들음을 보여주고 있다. 또한 seed가 동일무게(2mg)일 때, 표면적이 더 큰 HA가 Enamel mineral에 비해 각 이온에 대해 더 큰 소모량을 보여주고 있음을 알 수 있다.

**Table 1.** Chemical composition of the solutions before & after experiments and consumed F/Ca ratio.

seed	F(ppm)	Ionic composition in inlet/outlet solutions			pH	F consumption(g) /Ca consumption(g)
		[Ca](mM)	[P](mM)	[F]( $\times 10^{-5}$ M)		
HA (2mg)	0	0.98 / 0.72	3.10 / 3.03	0 / 0	7.36 / 7.35	0.00
	2	0.98 / 0.63	3.11 / 2.98	9.77 / 6.07	7.27 / 7.25	0.05
	4	0.99 / 0.57	3.08 / 2.93	19.41 / 13.79	7.34 / 7.33	0.06
	6	0.99 / 0.39	3.09 / 2.83	28.70 / 21.20	7.36 / 7.36	0.06
	8	0.97 / 0.46	3.09 / 2.84	37.35 / 30.13	7.36 / 7.32	0.07
	10	0.94 / 0.49	3.09 / 3.01	50.57 / 43.85	7.36 / 7.31	0.07
Enamel mineral (2mg)	0	0.98 / 0.89	3.10 / 3.09	0 / 0	7.36 / 7.36	0.00
	2	0.98 / 0.85	3.11 / 3.09	9.77 / 8.16	7.27 / 7.25	0.06
	4	0.99 / 0.77	3.08 / 3.02	19.41 / 16.39	7.34 / 7.33	0.07
	6	0.99 / 0.58	3.09 / 2.95	28.70 / 23.88	7.36 / 7.31	0.06
	8	0.97 / 0.67	3.09 / 2.97	37.35 / 33.31	7.36 / 7.31	0.06
	10	0.94 / 0.64	3.09 / 3.06	50.57 / 46.58	7.36 / 7.30	0.06



**Fig. 2.** Relationship between consumed Ca and various F concentration in solution(HA/EN)



**Fig. 3.** Relationship between consumed P and various F concentration in solution(HA/EN)

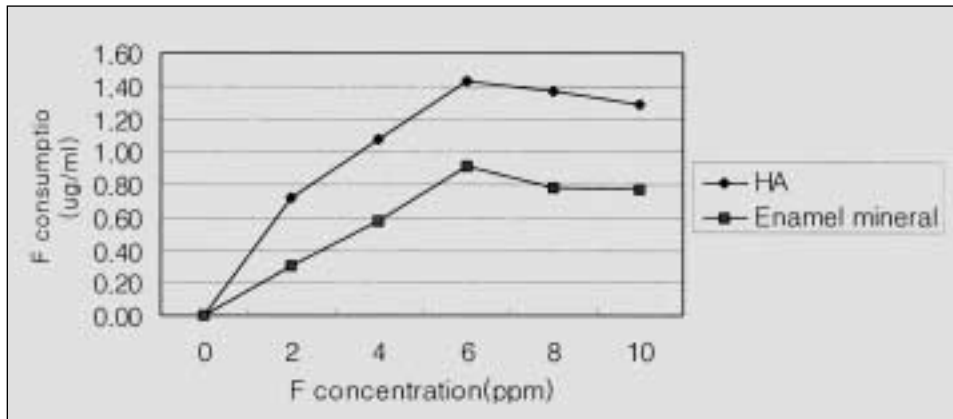


Fig. 4. Relationship between consumed F and various F concentration in solution(HA/EN)

#### IV. 총괄 및 고찰

고농도의 불소를 포함하는 과포화용액을 seed crystal이 놓인 소형의 반응주(reaction column)에 일정한 속도로 통과시킴으로써 법랑질의 crystal growth에 미치는 효과들을 평가한 이러한 seeded crystal growth 방법은 반응조절인자의 영향을 분석하는데 유용함을 알 수 있었으며, reagent의 농도를 정확히 분석하고 일정하게 유지시켜 조제하고, 불소농도만을 변화시켜 불소를 반응조절인자로서 이용하였다.

이 실험의 모형은 secretory ameloblast에 인접한 좁은 부위에서 발생하는 광화 과정을 재현한 것으로서 형성된 법랑질 결정들이 조절된 속도로 fluid flow에 노출되도록 한 것이다<sup>39)</sup>. 인위적으로 용액을 제어하지 않았기 때문에 생리적 환경과 유사하다고 볼 수 있으나, 반응과정중의 reagent 이온 농도의 변화나 crystal 조성의 변화, pH의 변화 등 반응중의 상태 변화를 파악하지 못함으로써 seed crystal의 침전역학(kinetics)을 정확히 분석하기가 어렵다는 단점도 가지고 있다.

불소의 농도범위를 0, 2, 4, 6, 8, 10ppm으로 시행한 결과 6ppm까지는 불소의 농도가 증가함에 따라 Ca과 P, F의 이온소모량이 증가하고 8, 10ppm에서는 이온소모량이 6ppm보다 줄어들음을 알 수 있었다. 이 결과를 통해 6ppm까지의 불소 농도 증가에 따라 결정의 성장량은 많아졌고 8, 10ppm에서는 성장량이 점차 줄어들음을 생각해 볼 수 있었다.

Table 1에서의 분석결과를 통해 실험 전후의 상태를 비교해보면, 결정 격자 내에 주요한 격자이온인 Ca, P, F가 실험 전의 용액에 비해 실험 후의 용액에서는 모두 농도의 감소를 보이고 있다. 이를 통해 이 격자이온들이 결정성장반응에 주요 이온들임을 알려준다. 한편 pH수치의 변화가 작은 것을 미루어 보아 OH-이온이 결정구조 속에 포함되는

것은 고려하지 않아도 될 듯하다.

Fig. 2, 3, 4의 그래프가 보여주듯이 불소농도가 6ppm까지 증가함에 따라 calcium의 이온소모량과 phosphate의 이온소모량이 모두 증가하는 유사한 모습을 보여주고 있다. 이러한 결과는 Varughese<sup>36)</sup>, Mura-Gallelli<sup>26)</sup>, 이 등<sup>39)</sup>의 실험결과와 일치하였다. 따라서 불소이온이 결정성장과정의 촉진인자라는 결론을 내릴 수 있다.

이러한 불소이온의 조절인자로서의 역할에 대하여 Meyer와 Nancollas(1972년)<sup>21)</sup>는 불소의 평가가 복잡하다고 하였다. 그들은 주석과 불소이온이 결정의 성장률에 미치는 영향을 조사하였는데, 주석은 활성적인 성장부위에 simple adsorption process를 통해 효과적인 억제인자로 작용한다고 하였고 불소의 역할은 해석하기 어렵다고 하였다.  $2 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4}M$ 의 불소농도가 첨가 시에는 결정의 성장이 억제되었으나 그 이상의 농도에서는 성장이 촉진된다는 결론을 내렸다.

Nancollas와 Tomazic(1974년)<sup>29)</sup>은 불소이온이 calcium phosphate 전구체인 amorphous calcium phosphate와 octacalcium phosphate precursor phase의 안정성에 영향을 주어 결국 결정성장에 영향을 준다고 하였다.

Moreno(1977년)<sup>24)</sup>의 실험에서는  $10\mu M$ 의 작은 양의 불소가 침전속도에 상당한 증가를 가져온다고 하였으며, Amjad와 Nancollas(1979년)<sup>1)</sup>는 0.15ppm 같이 낮은 농도의 불소첨가 시에는 초기단계에서 성장이 억제되나 1~5ppm처럼 높은 농도의 불소첨가 시에는 성장이 촉진됨을 밝혔다. Varughese와 Moreno(1981년)<sup>31)</sup>는 0.05ppm이하에서는 초기침전에 불소가 영향을 미치지 않으나, 0.05ppm이상의 불소첨가시 초기침전이 가속화되어 결국 결정의 성장이 촉진된다고 하였다.

Mura-Gallelli(1992년)<sup>26)</sup>는 0.1ppm 이하의 불소첨가 시에는 octacalcium phosphate 전구체의 형성이 촉진되고,

0.4ppm 이상에서는 octacalcium phosphate 형성이 억제되어 결정의 침전과 성장이 촉진된다고 하였다. 이 등 (1995년)<sup>39)</sup>의 연구에서는 불소가 결정성장의 조절인자임을 밝혔고 0~1.0ppm의 불소첨가 시 결정의 성장이 촉진된다고 하였다.

이렇듯 불소이온의 역할에 대해서 논란이 있으나, 불소이온 농도가 1~2ppm 정도에서는 seeded crystal growth 방법을 통해 불소가 촉진인자라는 견해가 지속적으로 제시되어 왔고, 본 실험을 통해서도 입증할 수 있었다.

이러한 불소의 결정성장 촉진 효과에 대한 기전은 다음과 같이 생각해 볼 수 있다.

우선 불소이온이 결정의 중간단계라고 여겨지는 nonapatitic calcium phosphate의 가수분해 속도를 높이기 때문이라고 여길 수 있다.

Newesely<sup>31)</sup>와 Brown<sup>8)</sup>은 낮은 농도의 불소가 가수분해를 통해 well-crystallized OCP의 수명을 줄여 결국 결정으로 성장하게 한다고 주장하였고, 1980년 Eanes<sup>11)</sup>의 실험에서도 불소용액 내 OCP 축적량이 줄어드는 것을 가수분해 때문이라고 설명하였다. 그는 transient octacalcium phosphate가 성장에 관여 시에 불소의 역할은 복잡한데 초기에는 결정의 성장을 억제하다가 결국 결정의 성장을 촉진시킨다고 하였다. 이런 dichotomous behavior는 octacalcium phosphate precursor의 안정성을 줄이고 형성을 억제하는 불소의 능력과 관련 있다고 하였다. 또한 Nancollas & Tomazic<sup>29)</sup>도 octacalcium phosphate의 안정성에 불소가 영향을 끼친다고 보고한 바 있다.

또 다른 가능성은 불소이온이 침전을 위한 driving force의 양에 영향을 준다는 것이다. 여기서 driving force로는 HA에 비해 용액의 과포화정도나 seed의 표면적 등이 관여될 수 있다.

본 실험에서 6ppm 불소농도까지는 이온소모량이 증가하다가 8ppm과 10ppm에서는 증가량이 떨어졌는데 이것은 생성되는 전구체 (OCP)의 양에 대한 포화정도의 한계 때문으로 추측된다.

Table 1에서 보듯이 Ca 소모량에 대한 F 소모량의 비는 첨가된 불소에 관계없이 비교적 일정하였는데 이것으로 crystal 형성에 소모된 Ca과 F의 비율이 일정함을 추측할 수 있다. Hydroxyapatite에서 Fluorohydroxyapatite가 되는데 소모되는 F의 양은 F의 용액 내 활성도와 관련이 있으며, 이 활성도는 ionic activity product(F<sup>-</sup>)에 비례한다고 1981년 Varughese & Moreno의 연구에서 입증되었다.

과거 연구에서 HA와 enamel mineral간의 표면적을 이용하여 두 type의 seed간에 성분과 구조가 다르기 때문에 생기는 결정성장의 역할을 비교 이해하고자 하였다.

1984년 Aoba와 Moreno<sup>2)</sup>는 seed crystal에 calcium

apatite의 침전물이 입자의 크기와 seed crystal의 양보다는 성장에 유용한 표면적이 더 좌우한다고 하였고, 또한 성장기전의 역동학적인 면에서는 seed의 geometry가 어느 정도 관여하는 것 같다고 하였다. 1995년 이 등<sup>39)</sup>의 연구에서 enamel mineral과 HA의 표면적을 고려하여 동일 표면적이 되는 양으로 비교실험시 소모된 이온양 등이 유사한 결과를 보였다.

이에 미루어 본다면 이 실험에서 enamel mineral은 11.2m<sup>2</sup>/g이고, HA는 98.2m<sup>2</sup>/g의 표면적을 가지고 있는데, HA 이온소모량이 enamel mineral보다 많은 것을 이해할 수 있게 된다.

결론적으로 이번 연구에 사용된 실험모형은 첨가물의 결정성장관여도를 평가하는데 유용하다고 여겨지며, 6ppm정도까지는 고농도의 불소이온이 포함된 과포화용액에서 결정의 성장률이 증가함을 알 수 있었고, 첨가된 불소농도에 관계없이 crystal 형성에 소모된 Ca에 대한 F의 소모량이 일정함을 알 수 있었다.

앞으로의 실험방향을 고려해 본다면 결정성장과정중의 과포화용액 성분의 농도변화와 pH의 변화를 파악하고, 시간대별로 변화의 추이를 살피며, 생산물인 결정의 성분조사, 격자구조의 이해를 위해 화학분석뿐만 아니라 x-ray 회절 분석, FTIR(Fourier transform infrared spectroscopy)의 적용이 필요하리라 여겨진다. 이런 과정을 통해서 초기 반응의 중간산물의 종류와 과포화정도, 결정성장의 단계를 이해하며 이것을 토대로 enamel mineral의 특성과 역동성을 보다 많이 이해하게 될 것이다.

## V. 결 론

Enamel fluid 성분과 유사한 실험용액을 조제하고, 불소 성분을 다양한 농도(0, 2, 4, 6, 8, 10ppm)로 첨가하여 4.2~4.4ml/h의 일정한 속도로 enamel mineral과 HA seed가 놓인 반응주를 통과시켜 결정의 성장을 유도하였다. 결정성장 유도 후 얻어진 용액의 성분을 분석하여 실험 전후 성분 변화를 비교 분석한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 불소가 결정의 성장반응에 있어 주요한 촉진인자이다.
2. 불소농도가 6ppm까지는 결정의 성장이 촉진되었고, 그 이상의 농도에서는 결정 성장률이 증가하지 않았다.
3. 첨가된 불소농도에 관계없이 crystal형성에 소모된 불소 이온의 양은 일정하다.

이를 종합하여 보면, 6ppm까지 불소가 첨가됨에 따라 결정의 성장이 촉진되었고, 그 이상의 농도에서는 성장률이 점차 둔화하였으며, 첨가된 불소농도에 관계없이 crystal형성에 소모된 불소이온의 양은 일정하다.

## 참고문헌

- Amjad F., Nancollas G.H. : Effect of fluoride on the growth of hydroxyapatite and human dental enamel, *Caries Res*, 12:250-258, 1979
- Aoba T., Moreno E.C. : Preparation of hydroxyapatite crystals and their behavior as seeds for crystal growth, *J Dent Res*, 63:874-880, 1984
- Aoba, T., Yoshioka C., Yagi T. : Seeded crystal growth of calcium apatite and inhibitory activity of small organic molecules.
- Boskey A.L., Posner A.S. : Formation of hydroxyapatite at low supersaturation, *J Phys Chem*, 80:40-45, 1976
- Brown W.E., Chow L.C. : Thermodynamics of apatite crystal growth and dissolution, *J Crystal Growth*, 53:31-41, 1981
- Brown W.E., Eidelman N., Tomazic B. : Octacalcium phosphate as a precursor in biomineral formation, *Adv Dent Res*, 1:306-313, 1987
- Brown W.E., Matthew M., Tung M.S. : Crystal chemistry of octacalcium phosphate, *Prog Crystal Growth Charact*, 4:59-87, 1981
- Brown W.E., Smith J.P., Lehr J.R., Franier A.W. : Crystallographic and chemical relations between octacalcium phosphate and hydroxyapatite, *Nature* 196:1050-1055, 1962
- Cuisinier F.J.G., Steuer P., Frank R.M., Voegel J.C. : High resolution electron microscopy of young apatite crystals in human fetal enamel, *J Biological Buccale*, 18:149-154, 1990
- Dawes C. : The effects of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human submandibular saliva, *Arch Oral Biol*, 19:887-896, 1974
- Eanes, E.D. : The influence of fluoride on the seeded growth of apatite from stable supersaturated solutions at pH 7.4, *J Dent Res*, 59:144-150, 1980
- Eanes, E.D., Gillessen I.H., Posner A.S. : Intermediate states in the precipitation of hydroxyapatite, *Nature(Lond.)*, 208:365-367, 1965
- Fearnhead R.W. : Matrix-mineral relationships in enamel tissue, *J Dent Res*, 58(B):909-915, 1979
- Fejerskov O., Yaeger J. A., Thystrup A. : Microradiography of the effect of acute and chronic administration of fluoride on human and rat dentine and enamel, *Archs Oral Biol*, 24:123-130, 1979
- Iijima M., Tohda H., Moriwaki Y. : Growth and structure of lamellar mixed crystals of octacalcium phosphate and apatite in a model system of enamel formation, *J Crystal Growth*, 116:319-326, 1992
- Lagerlof F. : Effects of flow rate and pH on calcium phosphate saturation in human parotid saliva, *Caries Res*, 17:403-411, 1983
- Larsen M.J. : Degrees of saturation with respect to apatites in parotid saliva at various pH values, *Scand J Dent Res*, 83:7-12, 1975
- LeGeros R.J. : Calcium phosphates in oral biology and medicine, *Karger*, 52-62, 1991
- Margolis H.C., Varughese K., Moreno E.C. : Effects of fluoride on crystal growth of calcium apatites in the presence of a salivary inhibitor, *Calcif Tissue Int*, 34:S33-S40, 1982
- Meyer J.L., Fleish H. : Determination of calcium phosphate inhibitor activity, *Miner Electrolyte Metab*, 10:249-258, 1984
- Meyer J.L., Nancollas G.H. : Effects of stannous and fluoride ions on the rate of crystal growth of hydroxyapatite, *J Dent Res*, 51:1443-1450, 1972
- Miake Y., Shimoda S., Fukae M., Aoba T. : Epitaxial overgrowth of apatite crystals on the thin-ribbon precursor at early stages of porcine enamel mineralization, *Calcif Tissue Int*, 53:249-256, 1993
- Moreno E.C., Aoba T. : Calcium binding in enamel fluid and driving force for enamel mineralization in the secretory stage of amelogenesis, *Adv Dent Res*, 1:245-251, 1987
- Moreno E.C., Kresak M., Zahradnik R.T. : Physicochemical aspects of fluoride-apatite systems relevant to the study of dental caries, *Caries Res(Suppl.1)*, 11:142-171, 1977
- Moreno E.C., Zahradnik R.T., Glazman A., Hwu R. : Precipitation of hydroxyapatite from dilute solutions upon seeding, *Calcif Tiss Res*, 24:47-57
- Mura-Galelli M.J., Narusawa H., Shimada T., Iijima M., Aoba T. : Effect of fluoride on precipitation and hydrolysis of octacalcium phosphate in an experimental model simulating enamel mineralization during amelogenesis, *Cells Materials*, 2:221-230, 1992
- Nancollas G.H. : Kinetics of crystal growth from solution, *J Crystal Growth*, 3,4:335-339, 1968
- Nancollas G.H., Mohan M.S. : The growth of hydroxyapatite crystal, *Archs Oral Biol*, 15:731-745, 1970
- Nancollas G.H., Tomazic B. : Growth of calcium phosphate on hydroxyapatite crystals. Effect of supersaturation and ionic medium, *J Phys Chem* 78:2218-2225, 1974
- Nelson D.G.A., Barry J.C. : High resolution electron microscopy of non-stoichiometric apatite crystals, *Anat Rec*, 224:265-276, 1989
- Newesely H. : Changes in crystal types of low solubility calcium phosphates in the presence of accompanying ions, *Arch Oral Biol* 6:174-180, 1961
- Nylen M.U. : Matrix-mineral relationships. A morphologist's viewpoint, *J Dent Res*, 58(B):922-926, 1980
- Rey C., Shimizu M., Collins B., Glimcher M.J. : Resolution-enhanced FTIR spectroscopy study of the environment of phosphate ions in the early deposits of a solid phase of calcium-phosphate in bone and enamel, and their evolution with age, *Calcif Tissue Int*, 46:384-394, 1990
- Tomazic B., Nancollas G.H. : The seeded growth of calcium phosphates. Surface characterization and the effect of seed material, *J Colloid & Interface Science*, 50:451-461, 1975
- Tung M.S., Tomazic B., Brown W.E. : The effects of magnesium and fluoride on the hydrolysis of octacalcium phosphate, *Archs Oral Biol*, 37:585-591, 1992
- Varughese K., Moreno E.C. : Crystal growth of calcium apatites in dilute solutions containing fluoride, *Calcif Tissue Int*, 33:431-439, 1981
- Walton A.G., Bodin W.J., Furedi H., Schwartz A. : Nucleation of calcium phosphate from solution, *Canad J Chem*, 45:2695-2701, 1967a
- Weiss M.P., Voegel J.C., Frank R.M. : Enamel crystallite growth. Width and thickness study related to the possible presence of octacalcium phosphate during amelogenesis, *J Ultrastrut Res*, 76:286-292, 1981
- 이 찬영, Aoba T. : Seeded crystal growth onto enamel mineral and synthetic hydroxyapatite in dilute supersaturated solutions containing low concentrations of fluoride, *대한치과보존학회지*, 20:818-826, 1995