

## Hydroxyapatite-collagen 나노복합재료에서의 불균질 핵생성

장 명 철<sup>†</sup>

군산대학교 재료·화학공학부  
(2001년 10월 19일 접수; 2001년 10월 19일 승인)<sup>††</sup>

### Heterogeneous Nucleation of Hydroxyapatite-collagen Nanocomposite

Myung Chul Chang<sup>†</sup>

School of Materials Science and Chemical Engineering, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea  
(Received October 19, 2001; Accepted October 19, 2001)<sup>††</sup>

#### 초 록

공침법을 이용하여 수산화아파타이트[HAP]-콜라겐[COL] 나노복합재료를 제조하였다. HAP 결정과 COL 분자 사이의 화학 결합형성을 확산반사법 FT-IR 및 투과전자현미경(TEM) 관찰로 부터 확인하였다. 제조 시에 첨가되는 콜라겐 단백질의 농도가 높으면 미세한 아파타이트 나노결정의 콜라겐 복합체가 만들어지고 첨가되는 단백질의 농도가 낮으면 아파타이트 결정이 비교적 크게 발달하였다. FT-IR과 전자선 회절(electron diffraction)로 부터 콜라겐 매체에 발달된 아파타이트 결정입자 들은 콜라겐 분자의 c 축을 따라 정렬하는 것임을 알 수 있었다. 칼슘이온 농도와 인산이온 농도를 일정하게 유지하는 수용액 계에 용해되어 있는 콜라겐 단백질의 농도는 아파타이트 결정의 발달을 위한 불균질 핵생성 위치를 제공하는 중요한 역할을 하고 있다. 콜라겐의 농도가 높으면 칼슘이온(Ca<sup>2+</sup>)에 대한 핵생성을 위한 활성화 위치를 많이 제공하게 되며, 이는 핵생성 위치에 대한 칼슘이온 농도가 상대적으로 낮아지는 것에 대응하게 된다.

#### ABSTRACT

Hydroxyapatite[HAP]-Collagen[COL] nanocomposite was prepared through coprecipitation process. The chemical bond formation between HAP and COL was confirmed by diffusive reflectance FT-IR and TEM observation. Higher concentration of COL in the preparation induced tiny nanocrystalline composite particles, but lower concentration of COL contributed to form the well developed HAP particles. From TEM observation and ED(Electron Diffraction) pattern the embedded HAP nanoparticles were oriented along the c-axis of COL fiber. In an aqueous system of constant [Ca<sup>2+</sup>] and [PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>], quantity of soluble COL matrix was doing an important role of controlling the heterogeneous nucleation site for the formation of HAP nanocrystals. Higher concentration of COL will provide more nucleation sites for Ca<sup>2+</sup> and so the concentration of calcium ions for the total number of active nucleation sites will be getting relatively dilute.

**Key words :** Hydroxyapatite, Collagen, Nanocomposite, Heterogeneous nucleation

#### 1. 서 론

생체의 기관 및 조직은 그 발생 및 조직형성이 일반 물리 재료와는 완전히 다른 기전에 의해 진행되게 되는데 다이윈 이래 적자생존의 원리 및 진화론이 지배적인 원리로서 적용되어 왔다. 이 같은 조직발생의 원리를 구체적인 물리화학적 개념으로 이해하기 위해 여러 시도가 이루어져 왔다. 일반적인 물리재료의 대표인 결정의 생성 및 발달은 길이척도(length scale), 즉, 격자상수의 장거리 주기성이라는 아주 단순한 원리에 그 기초를 두고 있다. 반면, 핵산 및 단백질 등의 생체고분자는 일반 고분자와 달리 결정의 장거리 주기

성의 결핍, 무질서구조 혹은 국부적 단거리 주기성의 존재만으로는 설명할 수 없는 구조로 이루어져 있다. 이 같은 생체고분자의 나노구조 내지는 메소스케일(mesoscale) 혹은 마이크론 구조를 설명키 위해 도입된 이론의 하나가 일정한 길이척도<sup>1,2)</sup>를 갖는 분자스케일의 틀(template)이 존재하고 다른 나노분자가 이에 자기결합(self-organization)될 때 새로운 고차구조(hierarchical structure)가 만들어진다는 이론으로서 분자조직<sup>3,4)</sup>에 의한 새로운 나노복합재료의 합성에 대한 근간이론으로서 사용되어지고 있다. 생체중의 조직은 이 같은 자기조직화에 의한 나노복합재료를 합성하는 모델로서 자주 인용되며 그 중의 하나가 생체 뼈의 합성이다. 본 연구에서는 생체 뼈의 기본성분<sup>5)</sup>인 아파타이트 나노결정과 콜라겐의 복합재료를 공침법으로 합성하였다. 아파타이트는 생체적합성으로 인해 골 대체 물질로서 그동안 가장 활발하게

<sup>†</sup>Corresponding author : mcchang@kunsan.ac.kr

<sup>††</sup>This paper was accepted as an on-site paper submitted at the 2001 fall technical meeting of the Korean Ceramic Society.

연구되어져 온 물질 중의 하나이다.<sup>6-8)</sup> 본 연구에서의 방법은 생체모방공학(biomimetics)<sup>1,2,9)</sup>을 활용하여 생체 뼈와 유사하게 콜라겐과 수산화 아파타이트로 이루어지는 나노복합 재료를 비이커 중에서 재현하는 것이다.<sup>10,11)</sup> 콜라겐에 아파타이트 결정이 자기조직화에 의해 공유결합되는 원리는 아파타이트 결정이 콜라겐 거대분자의 3중 나선구조의 바깥면을 따라 존재하는 기능기인 카복실기(RCOO<sup>-</sup>)와 공유결합을 함으로써 유기-무기나노복합재료를 만드는 것으로 이해되고 있다.<sup>11)</sup> 이 카복실기는 용액 중에서의 공침 반응시 아파타이트 결정 중의 칼슘이온(Ca<sup>2+</sup>)이 결합하는 불균질 핵생성을 위한 활성화 위치(active sites for heterogeneous nucleation)로 사용되게 된다. 본 연구에서는 공침 반응 시 불균질 핵 생성에 따른 HAP-COL 나노복합체 입자의 발달을 관찰하였다.

## 2. 실험방법

아파타이트를 제조하기 위한 칼슘 원으로 탄산석회(CaCO<sub>3</sub>)를 머플로 중에서 1150°C로 세시간 정도 하소 한 후 냉각하여 3배수의 증류수를 첨가하여 수산화시켜 수산화칼슘(Ca(OH)<sub>2</sub>)을 제조하였다.<sup>11)</sup> 이 수산화칼슘을 120°C에서 두 시간 건조하여 건조무게를 단 후에 제조한 수산화칼슘 원료중의 칼슘양을 결정하여 사용하였다. 사용되는 공침 시스템은 자동 디지털 pH 조절기, 온도계, pH미터, 유량조정 자동펌프(peristaltic pump, USA), 테플론 코팅 반응용기, 자동온도조절 수조(water bath), 교반기 등으로 이루어지며 사용되는 유체 이송 튜브로는 의료용(medical grade) 실리콘관을 이용하였다.

물(DI water) 2l에 수산화칼슘(Ca(OH)<sub>2</sub>) 0.1995 mole을 용해시킨 석회유와 5g의 콜라겐을 용해시킨 인산(H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 수용액 59.7 mM을 7l 크기의 반응용기에 자동 pH 조절기를 사용하여 위의 자동모터 펌프를 통해 동시침전을 시켰다.<sup>11)</sup> 콜라겐을 첨가하지 않은 시료(HAP), 콜라겐 첨가량을 5그램으로 한 HAP-COL5(HAP/COL 비 80/20)시료, 30그램의 콜라겐을 첨가한 HAP-COL30 시료 등의 세 가지 시료를 제조하였다. 공침 반응 시 반응온도는 38°C이고 pH는 8.4로 고정하였다. 공침 반응 조작이 끝난 후 38°C에서 12시간 동안 숙성을 시켰고 이때의 pH는 공기로 부터의 탄산가스의 흡수 등으로 인하여 7.0까지 떨어졌다.

사용된 원료로는 CaCO<sub>3</sub>(알칼리 분석용, Aldrich, USA), H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(고순도, Aldrich, USA), Collagen(MW ~300,000, Southern Bio-science, USA) 등이다. 콜라겐은 돼지피부로부터 추출되었으며 엔자임처리하여 항원성이 있는 텔로펩타이드(telopeptide)를 제거한 아텔로콜라겐(atelocollagen)으로 길이는 300 nm이고, 이는 콜라겐 분자의 알파사슬의 길이에 해당한다. 아파타이트 결정형성은 X선 분말회절분석(Siemens 5005, Germany)으로 행하였고, 콜라겐과 아파타이트 결정과

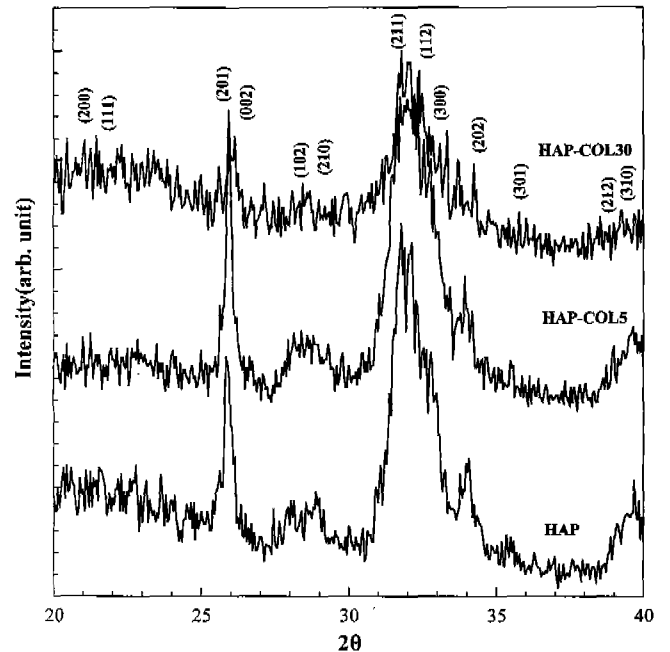


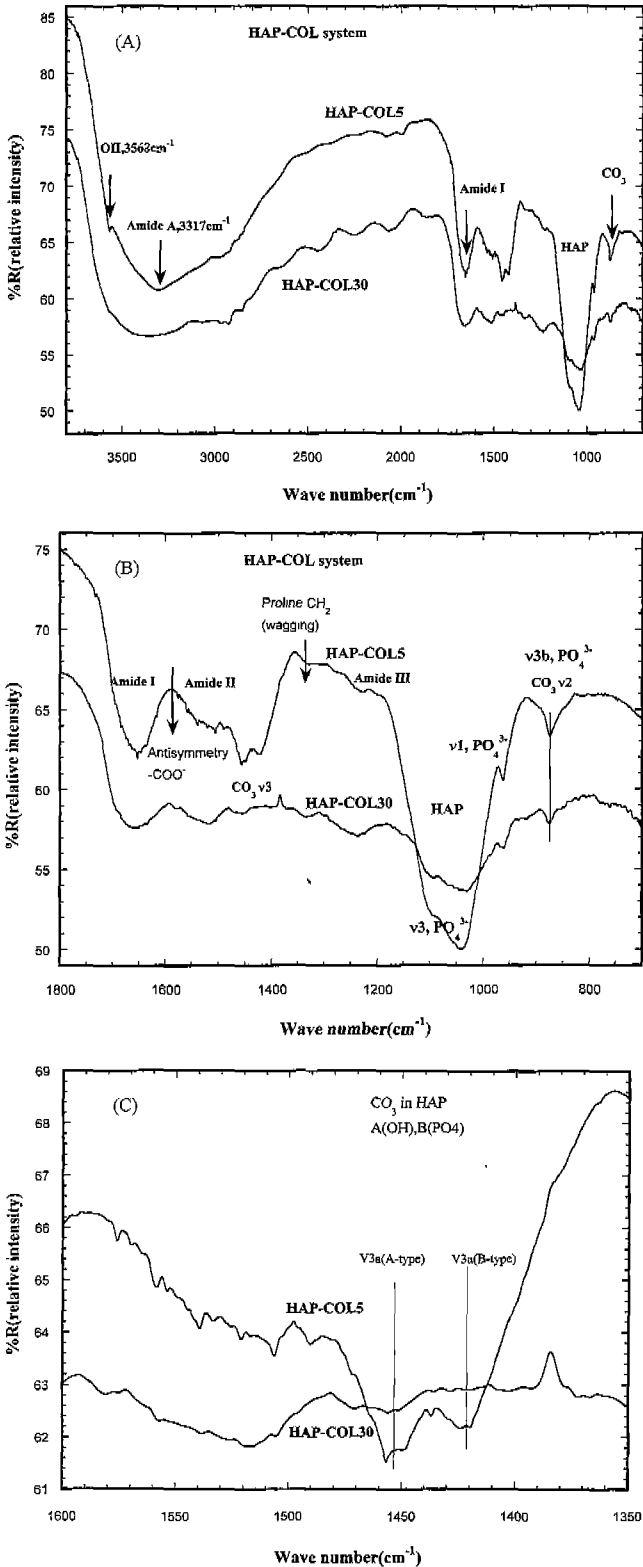
Fig. 1. XRD patterns for hydroxyapatite[HAP]; HAP-COL5 and HAP-COL30. The numerical number represents the input amounts of COL to HAP.

의 화학반응은 확산반사(Diffusive Reflectance) FT-IR(Magna 750R, Nicolet, USA)법으로 결정하였다. 투과전자현미경(TEM, JEOL, Japan) 및 전자선 회절로 아파타이트 결정의 발달을 관찰하였다.

## 3. 결과 및 토론

### 3.1. X선 회절

Fig. 1은 X선 분말 회절사진을 보여주고 있다. HAP-COL5 시료의 X선 회절도를 보면 생체 뼈에서 보여주는 것<sup>12)</sup>과 같이 (211) 피크와 (002) 피크가 잘 발달하여 있다. 생체 뼈에서는 콜라겐과 수산화 아파타이트의 나노복합체로 아파타이트의 (002) 면이 콜라겐의 c축 방향을 따라 선택적으로 배향하고 있다. 그리고, 골 생성과정에서 아직 무기화(mineralization)가 덜 일어난 초기 골의 X선 회절 패턴은 HAP-COL 30시료와 유사하게 분산된 형태로 나타난다. 수산화 아파타이트 분말(HAP) 시료 및 HAP-COL5 시료는 주 피크인 (211), (002) 면이 매우 잘 발달하고 있음을 보여주고 있다. 반면 HAP-COL30(30g 콜라겐 함유시료)시료에서는 주 피크의 강도가 낮아지고 분포가 확산하고 있음을 알 수 있다. 소량의 콜라겐 단백질이 첨가되면 결정도가 좋게 유지되고 있음을 알 수 있고, 반면에 일정 농도의 수산화 아파타이트(HAP) 결정 생성에 대해 첨가된 콜라겐 단백질의 함량이 큰 시료에는 결정도가 낮아지고 있음을 알 수 있다. 이는 일반적으로 잘 알려져 있듯이 인체 중에서 뼈가



**Fig. 2.** FT-IR for HAP-COL5 and HAP-COL30. (A) Wide bands for HAP-COL system. (B) Narrow bands between 700 and 1800  $\text{cm}^{-1}$  to identify Amide bands and phosphate bands (B). (C) Narrow bands to identify  $\text{CO}_3$  incorporation in HAP.

생성될 때 콜라겐 단백질 고분자의 관능기(functional group)에 생체 증의 칼슘 이온이 달라붙어 아파타이트 결정으로 성장하는 불균질 성장기구<sup>13)</sup>를 따르기 때문이다. 즉, 일정부피의 수용액 중에서 일정 농도의  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  무기질 이온이 아파타이트 결정을 생성할 때 그 반응이 용액 중에 존재하는 불균질 핵 생성 원을 제공하는 단백질 분자의 농도에 크게 의존함을 보여주고 있다.

### 3.2. FT-IR

Fig. 2는 건조한 공침 HAP-COL 시료에 대한 FT-IR 결과를 보여주고 있으며 이는 기존의 생체 골에 대한 결과와 아주 유사한 것<sup>14,15)</sup>임을 알 수 있다. 인체 뼈 중 코티칼 본(cortical bone)에 대한 Boskey<sup>15)</sup> 등의 FT-IR 결과를 보면 가장 중요한 광물질인 인산염기(mineral phosphate)가 900-1200  $\text{cm}^{-1}$  영역에서 나타나고,  $\nu_1$ ,  $\nu_3$   $\text{PO}_4$  진동이 이에 속한다. 이 진동수 범위는 뼈의 무기질화 정도를 가늠하는 척도로 사용되기도 한다. 그리고, 이밖에 1100-1800  $\text{cm}^{-1}$  범위에서의 콜라겐 단백질에 기인하는 아미드(amide) I, II, III가 나타난다. Fig. 2(A)를 보면 3568  $\text{cm}^{-1}$ 에서 수산(OH)기에 대한 대표적인 진동모드를 보여주며, 879  $\text{cm}^{-1}$ 에서 탄산기(- $\text{CO}_3$ )에 대한  $\nu_2$  모드를 보여주고 있다. 콜라겐 양이 상대적으로 많은 HAP-COL30 시료에서는 HAP-COL5 시료에 비해 수산기 및 탄산기가 크게 줄어들어 있음을 알 수 있다. 그리고, HAP-COL30 시료에서는 1800-2700  $\text{cm}^{-1}$  범위에서 콜라겐 단백질 중의 단백질골격(protein backbone)에 의한 패턴을 분명하게 보여주고 있다. 그리고, 950-1200  $\text{cm}^{-1}$  사이에서 대표적인 수산화아파타이트(HAP)에 대한 패턴을 보여주며<sup>6,14)</sup> 인산기( $\text{PO}_4^{3-}$ )에 대한  $\nu_1$  모드와  $\nu_3$  비대칭 모드를 보여주고 있다. 이밖에, 콜라겐 단백질에 대한 아미드 모드를 보여주고 있다. 일반적으로 콜라겐은 1691  $\text{cm}^{-1}$ 과 1559  $\text{cm}^{-1}$ 에서 각각 아미드 I과 아미드 II에 대한 모드를 갖는다(Fig. 2(B)). 본 HAP-COL나노 복합재료는 1664  $\text{cm}^{-1}$ 에서 아미드 I 모드를 보이고 있는 데 이는 본 나노복합재료의 구조에는  $\alpha$ 형 나선 구조가 우세함을 의미하며, 이는 또한 1537  $\text{cm}^{-1}$ 에서 아미드 II 모드가 나타나는 것에 의해 확인이 되고 있다.<sup>16,17)</sup> 일반적으로 알려져 있는 바와 같이 1600  $\text{cm}^{-1}$ 에 - $\text{COO}^-$  비대칭 모드가 존재하고 있다.

본 합성 나노복합재료는 공침 과정 및 숙성과정 중에 공기중의 탄산가스를 흡수해 탄산화하는 것을 알 수 있다. 우선, 공침시의 pH가 8.4인데 숙성(Overnight aging) 후 pH7 정도로 낮아진다. 일반적으로 탄산기는 OH기(A형) 및  $\text{PO}_4^{3-}$ 기(B형)를 치환하는 것으로 알려져 있으며 이에 따라 A형 및 B형으로 구분한다.<sup>20)</sup> Fig. 2(C)에서 알 수 있듯이 A형은 1453  $\text{cm}^{-1}$  밴드에 해당하고 B형은 1420  $\text{cm}^{-1}$  밴드에 해당한다. 이로부터 볼 때 본 합성 나노복합체 뼈 성분은 탄산이 아파타이트의 수산기 및 인산기 모두를 상당량 치환하여 형성됨을 알 수 있다.

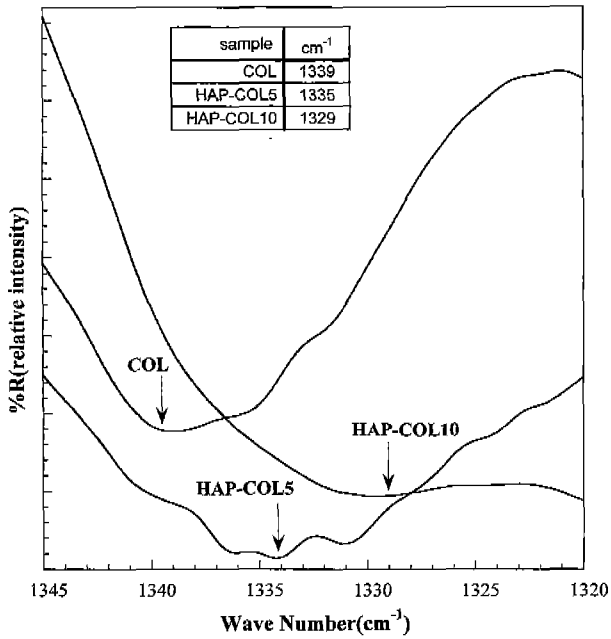


Fig. 3. FT-IR 1340 cm<sup>-1</sup> band for COL, HAP-COL5 and HAP-COL10.

무기결정인 HAP와 유기물인 콜라겐 사이의 유기-무기 결합 특성은 화학결합에 의한 콜라겐의 1339 cm<sup>-1</sup> 밴드의 화학이동(red shift)으로 부터 평가될 수 있다.<sup>10,11)</sup> Fig. 3에서 처럼 유기-무기 화학결합이 증가하면 밴드가 낮은 파수로 이동하고 있고 이는 아파타이트의 칼슘이온과 콜라겐의 관능기인 카복실기와의 결합으로 1339 cm<sup>-1</sup> 밴드의 진동이 느려짐에 따른 것이다. 일반적으로 1339 cm<sup>-1</sup> 밴드는 콜라겐 분자구조 중의 프롤린(proline) 측쇄에 붙어있는 CH<sub>2</sub>의 흔들림(wagging) 진동에 의한 영향을 크게 받는 것으로 알려져 있으며,<sup>18)</sup> 이 흔들림 모드가 Ca<sup>2+</sup>-COO<sup>-</sup>간의 배위결합에 의해 영향을 받고 있는 것임을 알 수 있다. 이 배위결합은 공유결합에 약간의 이온결합 특성이 혼합되어 있는 것으로 생각되어지는 비교적 강한 화학결합을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>19)</sup>

3.3. 투과전자현미경(TEM) 사진 및 전자선 회절(Electron Diffraction)

Fig. 4는 콜라겐 매트릭스 중에서 아파타이트 결정이 발달되어 있음을 보여주고 있으며 (A)는 콜라겐을 첨가하지

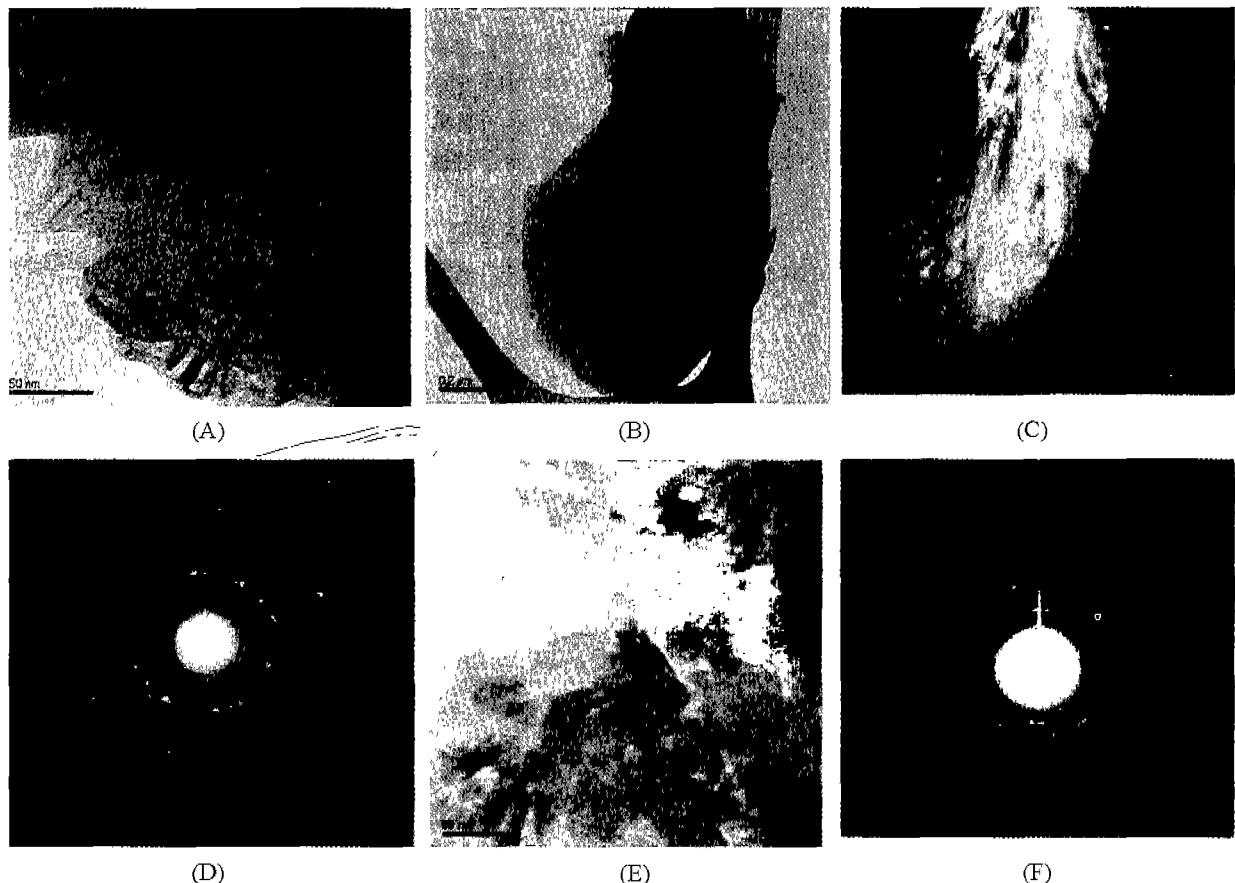


Fig. 4. TEM and ED (Electron Diffraction) for hydroxyapatite[HAP], HAP-COL5 and HAP-COL30. (A) bright-field image for HAP, (B) bright-field image for HAP-COL5, (C) dark-field image for HAP-COL5, (D) ED pattern for HAP-COL5, (E) bright field image for HAP-COL30 and (F) ED pattern for HAP-COL30.

얇고 합성된 아파타이트 결정이고, (B)는 HAP-COL5로 콜라겐 농도가 낮은 경우이고 (E)는 HAP-COL30으로 콜라겐 농도가 (B)에 비해 6배 높은 경우이다. 이를 비교 관찰해보면 HAP-COL5의 경우 콜라겐 매질 중에서 콜라겐을 첨가하지 않은 경우(A) 보다 아파타이트 결정이 비교적 크고 잘 발달되어 있음을 알 수 있다. 평균적으로 HAP-COL5 시료의 결정크기는 30 nm×70 nm 정도로 평가되었다. 그리고, 전자선 회절(ED)로 부터 선명하게 아파타이트 결정이 (002) 방향으로 발달되어 있고, 암시야 전자현미경 사진(C)으로부터 (002) 결정면이 층층이 쌓여져 발달하여 있음을 알 수 있다. 반면, (E)에서는 아주 작은 미결정(3 nm×7 nm)이 발달하여 있으며 길이-폭 비가 큰 미세한 결정이 긴 입자상태로 발달하여 선택적 방향성을 갖는다. 콜라겐을 첨가하지 않고 아파타이트 결정만을 공침시키게 되면(Fig. 4(A)) 결정의 선택적 방향성이 나타나지 않는다. HAP-COL30 시료의 전자선 회절 사진(F)을 보면 작은 점(spot)이 연결되어 초승달 모양으로 나타나 미세한 결정의 (002)면이 발달하여 있다. X선 회절패턴 및 전자선 회절패턴의 결과로 부터 볼 때 콜라겐이 다량 첨가된 HAP-COL30 시료의 경우 아주 미세한 나노크기의 아파타이트 결정이 콜라겐의 c 축을 따라 선택적으로 잘 발달하여 있음을 알 수 있다. 이상의 결과는 콜라겐 단백질의 관능기인 카복실기(RCOO<sup>-</sup>)가 아파타이트 결정 핵 생성을 유도하는 불균질 핵 생성의 강한 활성화 위치<sup>21)</sup>로 작용하고 이로부터 콜라겐의 c 축을 따라 선택적 방향성을 갖는 결정성 아파타이트가 발달하고 있기 때문이다.

3.4. 불균질 핵 생성 및 자기조직화(self-organization)

3.4.1. 자기조직화 및 자기 조립화(self-assembly)

콜라겐은 아미노산이 펩타이드 결합한 아주 강한 작은 나노미터 스케일의 섬유소(fibril)로 이루어져 있고 이 섬유소가 결합하여 섬유(fiber)를 이루는 데 그 크기(미크론 사이즈)는 광현미경으로 관찰할 수 있을 정도의 크기가 된다. 본 실험에서 사용한 콜라겐은 I형 트로포콜라겐(tropocollagen)으로 길이 300 nm에 두께가 1.5 nm인 봉상구조를 이루고 있다. 이 트로포콜라겐 분자가 결합하여 콜라겐 섬유소를 형성하게 된다.<sup>22,23)</sup> 콜라겐은 3중 나선구조의 구조단백질로서 단백질 중에서도 특이한 존재이고 생체의 주요부분을 이루는 가장 중요한 단백질로, 다른 단백질과 구별되는 점은 자기조직화 및 자기조립화 기능을 갖는다는 점이다.<sup>18,22,23)</sup> 자기조직화나 자기조립화 모두 고차구조를 이루는 개념으로서 자기조직화란 계의 임의의 파라미터가 임계치에 달할 때 자발적으로 배열을 하게 되는 현상이다.<sup>1-4)</sup> 한편, 자기조립화란 최소에너지 상태의 안정한 구조가 달성될 때까지 각 요소들이 자발적으로 모여 합치는 과정으로서, 구동력인 초기 상태와 최종상태와의 에너지 차이에 의해 각 구성요소가 구조 중에서 적절한 위치를 찾는 것이다. 생체 중에서는 생체

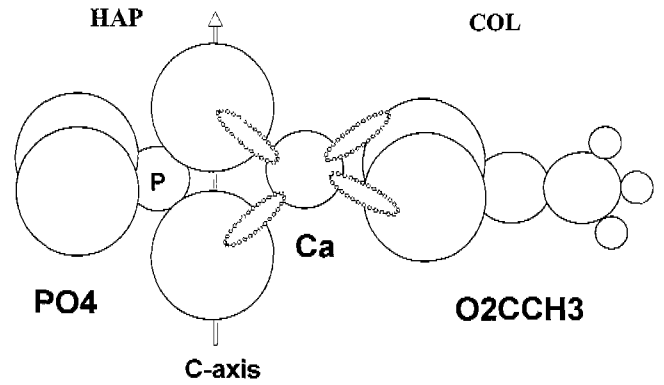


Fig. 5. Schematic molecular model for coordinated bond between Ca<sup>2+</sup> of HAP and RCOO<sup>-</sup> of COL.

내 기관(organ)이 핵산, 단백질 혹은 인지질(phospholipids)들과 같은 분자구조체로 구성되어 있으며 이는 이들 구성요소들을 고도로 잘 조직화(organization)된 구조로 조립화(assembly)시키게 된다.

HAP-COL 나노복합재료 중의 콜라겐과 아파타이트 간의 결합은 자기조립화에 의해 이루어진 임계길이(length scale)<sup>1,2)</sup>를 갖는 콜라겐 틀(template)<sup>4)</sup> 위에 아파타이트 결정의 칼슘이온과 콜라겐 분자의 카복실 관능기간의 배위결합(Fig. 5)에 의해 일어나는 것으로 이해되고 있으며 Fig. 4의 전자현미경 사진으로부터 아파타이트 결정의 (002)면이 콜라겐의 c 축을 따라 선택적 방향성을 가지며 고차구조로 자기조직화 되어 있는 것을 알 수 있다. 한편, 칼슘이온이 콜라겐 표면에 달라붙어 콜라겐이 석회화(calcification)되면 콜라겐의 구조적 안정성이 증가되는 것으로 알려져 있다.<sup>24)</sup> 즉, 콜라겐 표면의 카복실기와 칼슘이온이 화학결합을 이루고 이로 인해 3중 나선구조가 안정화되는 것임을 알 수 있다.

3.4.2. 불균질 핵생성 및 과포화

콜라겐에는 카복실(RCOO<sup>-</sup>)기 및 아민(-NH<sub>2</sub><sup>+</sup>)기 등의 관능기가 존재하며, 콜라겐 1분자당 약 3000개의 ε-아민기가 존재한다고 알려져 있다. 인체의 체액은 수산화아파타이트에 대해서 과포화인 상태로 있다. 즉, 보통 체액 중의 Ca<sup>2+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, OH<sup>-</sup> 이온의 이온 곱이 아파타이트가 생성될 수 있는 값 이상이 된다. 이러한에도 불구하고 자발적인 핵 형성이 일어나지 않는다.<sup>13)</sup> 골콜라겐(bone collagen)은 석회화(calcification)하는 반면에 피부콜라겐은 쉽게 석회화하지 않는데 대한 의문이 오랜 동안 탐구대상이 되어 왔다.<sup>25)</sup> 이 같은 무기결정의 생성에는 콜라겐에 존재하는 유기관능기에 의한 불균질 핵생성이 중요한 역할을 하는 것으로 믿어진다. 친수성 기인 RCOOH 유기 관능기를 갖는 LB(Langmuir Blodgett)막에 의한 칼슘이온의 흡착 및 핵생성 실험 등으로 RCOO<sup>-</sup> 관능기는 계면에너지를 낮추어 핵을 만들기 쉽게 하는 불균질 핵생성의 활성화 위치로 작용하는 것으로 밝혀

져 있다.<sup>26)</sup> 이 밖에 생체 골이 만들어지는 과정으로서 칼슘 이온이 콜라겐 중의 특정 활성화 위치에 핵 생성되는 것이 알려져 있다.<sup>13)</sup> 즉, 콜라겐의 유기 관능기가 칼슘이온의 불균질 핵생성을 위한 활성화 위치로 작용하게 된다. 본 실험에서 칼슘이온 및 인산 이온의 농도가 일정하고 이에 첨가되는 콜라겐 농도는 바로 불균질 핵 생성을 위한 핵 생성 활성화 위치의 농도변화에 대응하게 된다. 즉, 콜라겐의 농도를 높임으로써 핵 생성 위치의 농도가 높아지고 이로써 칼슘이온이 결합될 수 있는 위치의 수가 전체 공급되어 있는 핵 생성 원의 농도에 비례하여 상대적으로 묶여지는 것으로 볼 수 있다. 즉, 콜라겐의 농도가 높아지면 핵 생성 위치에 대한 칼슘농도가 줄어드는 것에 해당하고 이에 따라 HAP-COL30 시료의 경우 큰 결정으로 크지 못하고 작은 미결정으로 남게 되는 것이다. 만약에 더욱 더 많은 양의 콜라겐이 첨가되고 계 전체에 대한 반응의 균질성이 유지된다면 핵 생성이 거의 일어나지 않는 상태가 이루어질 수 있을 것이다.

#### 4. 결 론

1. 콜라겐 수용액 중에서 수산화아파타이트 결정을 공침 시킴으로써 콜라겐-아파타이트 나노복합체를 합성하였다.
2. 칼슘이온과 반응하여 무기질화 할 수 있는 유기관능기(카복실기)를 갖는 콜라겐의 농도를 조절함으로써 불균질 핵생성에 의한 아파타이트 결정의 크기를 조절할 수 있게 되었고, 이같은 아파타이트 불균질 핵 생성 거동은 비콜라겐성 단백질에서도 유사하게 발견될 수 있을 것으로 기대된다.

#### REFERENCES

1. S. Mann and G. A. Ozin, "Synthesis of Inorganic Materials with Complex Form," *Nature*, **365**, 499-505 (1996).
2. S. Mann, D. D. Archibald, J. M. Didymus, T. Douglas, B. R. Heywood, F. C. Meldrum and J. R. Nicholas, "Crystallization at Inorganic-organic Interfaces: Biomaterials and Biomimetic Synthesis," *Nature*, **382**, 313-318 (1993).
3. M. Muthukumar, C. K. Ober and E. L. Thomas, "Competing Interactions and Levels of Ordering in Self-organizing Polymeric Materials," *Science*, **277**, 1225-1231 (1997).
4. S. I. Stupp and P. V. Braun, "Molecular Manipulation of Microstructures : Biomaterials, Ceramics and Semiconductors," *Science*, **277**, 1242-1248 (1997).
5. L. Gineste, M. Gineste, X. Ranz, A. Elleferion, A. Guilhem, N. Rouquet and P. Frayssinet, "Degradation of Hydroxyapatite, Fluoroapatite and Fluorohydroxyapatite Coatings of Dental Implants in Dogs," *J. Biomed. Mater. Res.*, **48**, 224-234 (1999).
6. S. Y. Chun, H. K. Kim, K. H. Lee and B. H. Lee, "A Study of Hydroxyapatite Synthesis by Wet-direct and Hydrothermal Synthesis," *J. Kor. Ceram. Soc.*, **30**(3), 215-221 (1993).
7. H. H. Lee, J. W. Lee and C. Y. Kim, "Apatite Formation Behavior on Bioactive Flashes with Glass Composition and Reaction Solution," *J. Kor. Ceram. Soc.*, **37**(11), 1105-1113 (2000).
8. J. S. Choi, J. S. Huh and H. S. Kim, "Sintering Properties of Hydroxyapatite Derived from Tuna Bone," *J. Kor. Ceram. Soc.*, **37**(12), 1131-1134 (2000).
9. A. L. Boskey, "Will Biomimetics Provide New Answers for Old Problems of Calcified Tissues?," *Calcif. Tissue Int.*, **63**, 179-182 (1998).
10. M. Kikuchi, Y. Suetsugu, J. Tanaka, S. Ito, S. Ichinose, K. Shiniyama, Y. Hiraoka, Y. Mandai and S. Nakatani, "The Biomimetic Synthesis and Biocompatibility of Self-organized Hydroxyapatite/Collagen Composites," *Bioceramics*, **12**, 393-396 (1999).
11. M. C. Chang, T. Ikoma, M. Kikuchi and J. Tanaka, "Preparation of a Porous Hydroxyapatite/Collagen Nanocomposite Using Glutaraldehyde as a Crosslinkage Agent," *J. Mat. Sci. Lett.*, **20**, 1191-1201 (2001).
12. F. Peters, K. Schwartz and M. Epple, "The Structure of Bone Studied with Synchrotron X-ray Diffraction, X-ray Absorption Spectroscopy and Thermal Analysis," *Thermochimica Acta*, **361**, 131-138 (2000).
13. A. Linde, "Dentin Mineralization and The Role of Odontoblasts in Calcium Transport," *Connective Tissue Research*, **33**, 163-170 (1995).
14. E. P. Paschalis, E. DiCarlo, E. Betts, P. Sherman, R. Mendelsohn and A. L. Boskey, "FT-IR Microspectroscopy Analysis of Human Osteonal Bone," *Calcif. Tissue Int.*, **59**, 480-487 (1996).
15. L. A. Evans, D. J. Macey and J. Webb, "Calcium Biomaterialization in the Regular Teeth of the Chiton, *Acanthopleura Hirtosa*," *Calcif. Tissue Int.*, **51**, 78-82 (1992).
16. K. J. Payne and A. Veis, "Fourier Transform IR Spectroscopy of Collagen and Gelatin Solutions: Deconvolution of the Amide I Band for Conformational Studies," *Biopolymers*, **27**, 1749-1760 (1988).
17. B. B. Doyle, "Infrared Spectroscopy of Collagen and Collagen-like Polypeptides," *Biopolymers*, **14**, 937-957 (1975).
18. R. J. Jakobsen, L. L. Brown, T. B. Hutson, D. J. Fink and A. Veis, "Intermolecular Interactions in Collagen Self-assembly as Revealed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy," *Science*, **220**, 1288-1290 (1983).
19. J. Tanaka and M. Kikuchi, "Development of Biomaterials Using Biomimetic Method," *Seramikusu (in Jpn.)*, **34**(7), 543-546 (1999).
20. A. B. Sonju Clasen and I. E. Ruyter, "Quantitative Determination of Type A and Type B Carbonate in Human Deciduous and Permanent Enamel by Means of Fourier Transformation Infrared Spectroscopy," *Adv. Dent. Res.*, **11**, 523-527 (1997).
21. H. J. Hoeling, S. Arnold, R. H. Barckhaus, U. Plae and H. P. Wiesmann, "Structural Relationship Between the Primary Crystal Formations and the Matrix Macromolecules in Different Hard Tissues. Discussion of a General Principle,"

- Connective Tissue Research*, **33**, 171-178 (1995).
22. A. Veis, "The Macromolecular Chemistry of Gelatin"; pp.1-44. Academic Press, London, 1964.
  23. T. E. Creighton, "Introduction to Protein Structure"; pp.127-135. W. H. Freeman and Company, New York, 1993.
  24. M. Jackson, P. I. Haris and D. Chapman, "Fourier Transform Infrared Spectroscopy Studies of  $Ca^{2+}$ -Binding Proteins." *Biochemistry*, **30**(40), 9681-9686 (1991).
  25. H. Fleisch, "Diphosphonates : History and Mechanism of Action," *Bone Dis. & Rel. Res.*, **4-5**, 279-288 (1981).
  26. K. Sato, Y. Kumagai and J. Tanaka, "Nucleation of Hydroxyapatite Crystals on Organic Monolayer Films." *Bioceramics*, **12**, 137-140 (1999).