希薄水溶液中の Hydroxyapatite の 結晶成長に関する研究

(1) 結晶成長速度

青 葉 孝 昭 八 木 俊 雄

大阪大学歯学部口腔病理学教室（主任：八木俊雄教授）

〔受付：昭和59年2月24日〕

Study on crystal growth of hydroxyapatite in stable supersaturated solutions

(1) precipitation rate

Takaaki Aoba and Toshio Yagi

Department of Oral Pathology, Osaka University Faculty of
Dentistry, Yamadaoka 1-8, Suita, Osaka 565

(Chief: Prof. Toshio Yagi)

[Accepted for publication: February 24, 1984]

Key words: hydroxyapatite / crystal growth / precipitation rate

Abstract: In order to investigate the growth mechanisms of hydroxyapatite (HA) in dilute solutions, it is very important to obtain information about the growth rate and the degree of supersaturation with respect to HA. The aim of the present study was to discuss how one can obtain noise-less growth rates based on experimental kinetic data.

Precipitation kinetics on seeded HA crystals at 37°C were highly reproducible in the system used. The precipitation rates were determined here in three different ways: (1) fittings of the experimental growth curves to a polynomial, (2) approximation of the growth rate by an empirical parabolic rate law, and (3) the so-called graphic approach, taking an averaged change in solute concentrations between small time intervals.

For the last approach, numerical values of PO_4 every min were calculated from the pH data as well as initial solution compositions. Careful examination of the polynomial and parabolic approaches revealed that small but non-negligible differences occur between the experimental data and the calculated growth curves, especially in the early stage of the precipitation taking place upon addition of seed crystals. One can conclude that the graphic approach is most adequate for describing the dependence of the growth rate upon the degree of supersaturation, although one should further modify this method in order to reduce scatterings involved in the calculated numerical values.

緒 言

歯牙エナメル質の石灰化過程やウ蝕の病理を考える際の基本的な課題のひとつは、アパタイト結晶の結晶成長—溶解（負の成長）機構を知り、これら成長—溶解過程に働いている制御機構を解明

することである。一般に希薄溶液中のイオン結晶の結晶成長—溶解機構は、反応速度と溶液の過（不）飽和度との関係に基づいて考察される¹⁻⁷⁾。例えば、結晶面での沿面成長（layer-by-layer growth）を考えた場合に、その成長様式がラセン転位に伴うステップを媒介とする Burton-Cabrera-Frank (BCF) 理論⁸⁾によれば、結晶面に対す

る法線方向の成長速度 RL は、

$RL = C_1 T (DS-1) \ln DS \tanh (C_2 / T \ln DS) - (1)$ によって表わされる²⁾。また、ステップの起源として結晶表面に2次元核が新たに形成され、成長単位 (growth unit) のとりこみによってステップが前進するという、いわゆる birth & spread 機構の場合には、

$$RL = C_3 (DS-1)^{2/3} (\ln DS)^{1/6} \exp (-C_4 / T^2 \ln DS) \quad \text{---(2)}$$

という関係が得られる²⁾。DS は溶液の過飽和度、 T は絶対温度、 $C_1 \sim C_4$ は結晶面の諸性質 (表面拡散距離や表面エネルギー等) で定まるパラメータである。成長機構を論じる際には、まず実験的に求められた RL の DS に対する依存性が上述したような関係式を満足させることを確かめ、さらに決定されたパラメータ (例えば $C_1 \sim C_4$) の物理的意味を検討する必要がある。

これまでの報告では、Hydroxyapatite (以下 HA と略する) の準安定過飽和水溶液での成長機構として BCF 理論が注目されており^{9,10)}、不飽和水溶液での HA の溶解機構として birth & spread 機構が考えられている^{11,12)}。しかしながら、HA のような複雑な化学組成をもつイオン結晶の成長理論については理論的解明が進んでいない点も多く残されており⁷⁾、実験式と理論式との対応づけに関しても満足なたちではおこなわれていない。他方、HA の結晶成長-溶解過程で種々の化学種 (有機基質成分やイオン) が果している制御機構に関しても、過 (不) 飽和度を規定した実験系を用いることにより重要な知見が得られている¹³⁻²⁴⁾。これまでに明らかにされている制御機構のひとつとして、成長 (溶解) 過程で抑制作用を示す化学種の多くは HA 結晶表面の特定部位 (キンクやステップ) に吸着することにより、成長単位のとりこみや離脱を有効に妨げることである^{13,16,22,24)}。

著者らは現在、エナメル質アパタイトの形成過程とウ蝕病変での再石灰化現象を解明する目的で、HA を種晶 (seed) に用いた結晶成長実験をおこなっている。ただし、結晶成長実験を始めるにあたって、(1)、(2)式からも明らかなように成長速度の測定 (計算) 方法と反応溶液の過飽和度

の評価方法を確立する必要がある。そこで本報では最初に、これまでの報告で用いられている反応速度式について比較検討し、つぎに著者らの用いている実験系で得られた RL vs DS の関係について考察した。なお、過飽和度の求め方については次報²⁵⁾で述べる。

材料および方法

(1) 結晶成長実験

種晶に用いた HA 粉末試料は Moreno ら²⁶⁾の方法に準じて合成した。合成条件と得られた HA の物理化学的性状については別途に報告した²⁷⁾。本報では HA 試料を表示する際に比表面積の値を用いるが、これらの値は N_2 ガス吸着法でもとめられた²⁷⁾。

結晶成長実験は $37 \pm 0.5^\circ C$ でおこなった。反応溶液 (250ml) は $CaCl_2$ 、 KH_2PO_4 、 K_2HPO_4 、 $NaCl$ の各溶液より作製した。溶液組成は $[Ca^{2+}]$ 1.06mM、全 $[PO_4^{3-}]$ 0.63mM、pH は7.4に調整した。支持電解質として50mM $NaCl$ を加えた。この溶液の HA ($K_s = 7.36 \times 10^{-60}$) に対する過飽和度は $IP/K_s = 7.45 \times 10^{10}$ であった (次報参照²⁵⁾)。反応溶液はマグネチックスターラにて攪拌し、均一な攪拌状態が得られるように、また攪拌速度によって反応速度が影響を受けないように留意した。反応溶液への CO_2 の混入を防ぐことに十分な注意を払い、反応過程では50mM $NaCl$ 溶液で飽和した高純度チッ素ガスを流通させた。

精秤した HA 種晶は50mM $NaCl$ 溶液 (7ml) 中で回転-振動させることにより分散させ、スラリー (3ml) として反応溶液に加えた ($t=0$)。本実験で作製した反応溶液は安定で一昼夜 $37^\circ C$ に保たれた場合にも沈殿反応を生じないが、種晶を添加するとただちに反応が開始した。反応過程でみられる pH 変化は Orion 901 イオンアナライザで記録紙上にかかせるとともに、Orion 951 デジタルプリンタにより毎分ごとの pH 値を記録した。溶質イオン濃度の減少を追跡する目的で、種晶を加えるに先だって反応溶液 3ml を採取し、反応開始後も定時に分液を採取した。分取した種晶を含む懸濁液はただちにミリポアフィルタ ($0.65\mu m$ 径) を用いてろ過され、ろ過液の Ca 、

P 濃度をそれぞれ原子吸光法, 分光分析法²⁸⁾により分析測定した。Ca と P の分析値に含まれる誤差は Ca で $\pm 3\%$, P で $\pm 1.5\%$ であった^{24, 29)}。

(2) 結晶成長速度の計算

HA の成長速度は反応時間 (Δt) に対する溶質イオン濃度の変化量 ($d[P]/dt$, $d[Ca]/dt$) で表わされる。これまでの報告では任意の時間 t での反応速度を求めるために, 実測した濃度-時間曲線を種々の関数で近似する方法が用いられている²⁹⁻³⁵⁾。本報ではそのなかの代表的な 2 つの方法について最初に検討した。

そのひとつの方法は, 実測された濃度-時間曲線を n 次の多項式 (polynomial) で近似するものである^{29, 31)}。本報では以下, $[P]$ 濃度を用いるが $[Ca]$ 濃度を用いた場合にも同様の結果が得られた。

$$P(t) = \sum_{i=0}^{i=n} A_i t^i \quad \text{---(3)}$$

著者らは通常 3 次式 ($n=3$) を用いて $[P]$ 濃度-時間曲線を近似し, 最小自乗法により係数 A_3 , A_2 , A_1 , A_0 を求めた。これらの計算結果では $0.99 \sim 0.96$ の相関係数 (r^2) が得られた。時間 t における反応速度 ($d[P]/dt$) は (3) 式を t で微分することにより,

$$-d[P]/dt = 3A_3 t^2 + 2A_2 t + A_1 \quad \text{---(4)}$$

で数値として求めることができる。特に $t=0$ での初速度 (initial precipitation rate) は $R_0 = A_1$ で表わされる。溶液の組成, 過飽和度が $t=0$ で最も精度よくわかることから, R_0 は種々の化学種による制御機構を調べる際にとりわけ重要な意味をもっている。

もうひとつの方法は, HA の結晶成長速度が時間 t における溶質イオン濃度 ($[Pt]$) と平衡濃度 ($[P_\infty]$) の差の 2 乗に比例する, いわゆる放物線則 (以下 parabolic と呼ぶ) に従うというものである。

$$-d[P]/dt = K ([Pt] - [P_\infty])^2 \quad \text{---(5)}$$

K は反応定数をあらわしている。Nielsen³⁶⁾ によれば, この経験式が希薄溶液での多くの結晶の成長過程をうまく表わす理由として, ($[Ct] - [C_\infty]$)² のうちのひとつの ($[Ct] - [C_\infty]$) は環境相から結晶相への拡散過程に帰因し, 他の ($[Ct] - [C_\infty]$)

は結晶表面での拡散過程によると説明されている。なお, Pt を反応生成量 ($Pt = [P_0] - [Pt]$), P_∞ を平衡時における生成量 ($P_\infty = [P_0] - [P_\infty]$), t^* を P_∞ の半分の生成量が得られるのに要した反応時間とすると,

$$\frac{dP}{dt} = \frac{P_\infty}{t^*} \times \left(1 - \frac{Pt}{P_\infty}\right)^2 \quad \text{---(6)}$$

として反応速度を表わすことができる。(6) 式を積分して整理すると,

$$\frac{t}{Pt} = \frac{t}{P_\infty} + \frac{t^*}{P_\infty} \quad \text{---(7)}$$

の関係が得られ, t/Pt vs t のプロットより, P_∞ と t^* は勾配と切片の値からもとめられる。(6) 式から, $t=0$ では $Pt=0$ より, 初速度 R_0 は $\frac{P_\infty}{t^*}$

で数値的に求めることができる。著者らが実測した生成量-時間曲線から最小自乗法によって P_∞ , t^* を求めた場合に, t/Pt vs t の回帰直線の相関係数は $r^2 \pm 0.99 \sim 0.97$ であった。ただし, t/Pt vs t のプロットでは反応初期における実測値が直線関係よりはずれる傾向が認められた。そこで (7) 式を変形した $Pt=f(t)$ について non-linear regression (Gaus-Newton 法³⁷⁾) による解析をおこない P_∞ , t^* を求めることも試みた。その結果では P_∞ , t^* の値は (7) 式を用いた場合と一般によく一致していた。

以上述べた 2 つの方法はいずれも任意の時間 t における反応速度を数値的にもとめることができる利点をもっている。しかしながら, その解析過程で全反応過程を特定の関数で表わしうという仮定を含んでおり, いわゆる curve fitting に伴う誤差を避けることができない。そこで上記の方法とは異なる成長速度の求め方として, 隣接する時点間での平均速度をもとめる方法 (以下 graphic と呼ぶ) を採用した。

$$-\frac{d[P]}{dt} = \frac{[P(t_2)] - [P(t_1)]}{t_2 - t_1} \quad \text{---(8)}$$

この方法の最大の欠点は, 反応過程で頻回に試料を分取できないため, 細かな時間間隔での精度よい速度決定が困難なことである。著者らはこの欠点を補う目的で, 反応過程で毎分ごとに得られた pH 値を利用し, 過飽和度の計算に用いるコンピュータプログラムを一部改変することにより,

pH 値から $[Pt]$ に換算する方法を考案した (次報参照)²⁵⁾。pH 値より計算された $[P]$ 濃度と分析値 $[Pt]$ との間には満足しう一致が認められた³⁸⁾。

結 果

Fig. 1 には HA ($12.5\text{m}^2/\text{g}$) 60mg を種晶として用いた反応過程で実測された $[P]$ 濃度—時間曲線を示している。この図では同じ条件 (過飽和度、種晶の添加量) で実験を 4 回繰り返した場合の反応過程を比較したものであるが、 $[P]$ 濃度の分析値に含まれている誤差を考慮すると、高度の再現性が得られていることがわかる。図内に示した R_0 の値は $n=3$ の polynomial を用いて求められたものである。この結果からも、HA の結晶成長に関する最近の研究が主に種晶を用いた実験系でおこなわれる理由を理解することができる。

Fig. 1 Changes in phosphorus concentration as a function of time after the addition of 60mg HA ($12.5\text{m}^2/\text{g}$) as seeds per 250 ml of the solution. Note a good reproducibility of the reaction time courses obtained under the same experimental conditions. The initial precipitation rates, R_0 , given here were determined by the least-squares fit of the precipitation curves to a polynomial ($n=3$).

Fig. 2 では、HA の結晶成長過程で実測した Pt と、polynomial ($n=3$) および parabolic により求められた反応曲線を比較した。この図に示した例では、いずれの解析方法を適用した場合にも相関係数は $r^2=0.99$ であり、関数化による近似の程度に理論上は差の認められなかったものである。

Fig. 2 Comparison of the least-squares fits of the precipitation curve by means of polynomial (dotted line) and parabolic rate law (full line). Solid circles represent the experimental points on the basis of phosphorus concentration.

Fig. 3 Comparison of the initial precipitation rates, R_0 , determined by means of polynomial and parabolic fittings of the precipitation kinetics on the basis of phosphorus concentration.

ただし、破線 (polynomial) と実線 (parabolic) のいずれの場合にも $t=0$ 付近での実測値との間に無視しえないズレを生じていた。著者らは同様の比較を約100例の反応過程についておこなったが、polynomial による解析結果では反応過程が

Table 1 Comparison of polynomial and parabolic fittings of the precipitation kinetics obtained by use of pyrophosphate as an inhibitor of HA growth

total P_2O_7 ppm		Initial Precipitation rate, $R_0^{1)}$ moles $\cdot l^{-1}\cdot h^{-1}$, $\times 10^5$		Percent reduction ²⁾ in R_0
Control	(polynomial)	9.05	(0.989)	—
	(parabolic)	16.0	(0.989)	—
0.05	(polynomial)	6.66	(0.989)	26.4
	(parabolic)	12.0	(0.990)	25.3
0.1	(polynomial)	5.59	(0.985)	38.2
	(parabolic)	10.0	(0.975)	37.9
0.15	(polynomial)	4.48	(0.989)	50.5
	(parabolic)	7.30	(0.975)	54.7
0.2	(polynomial)	3.39	(0.973)	62.5
	(parabolic)	7.00	(0.945)	56.4

- 1) The kinetic results were obtained using 60 mg HA (12.5 m²/g) as seeds per 250 ml of the solution at 37°C. The numerical values of R_0 were determined on the basis of phosphorus concentration. The figure in parenthesis is correlation coefficient (r^2).
- 2) % reduction in $R_0 = (R_c - R_i) / R_c \times 100$, where R_c and R_i are the initial rates obtained without and with pyrophosphate as an inhibitor, respectively.

$t = 0$ 付近で急速に進行する（例えば種晶の添加量を増す）場合に近似の程度が悪くなる傾向が認められた。parabolic による解析結果では、 P_{∞} （あるいは t^* ）を推定しうるまで反応が測定時間内に進行していることが必要で、非常にゆっくりした反応過程に対して相関係数は低くなる傾向が認められた。Fig. 3 では多数例の $[P]$ 濃度—時間曲線に polynomial と parabolic による解析をおこない、それぞれの反応過程について求められた R_0 の値（単位は moles/h $\cdot$ l）を比較した。この比較から、 $n = 3$ の polynomial で求めた R_0 の値に比べて、parabolic な解析方法により求めた R_0 の値は大きく評価されることがわかる。最小自乗法による回帰直線の傾きは 2.66 で $r^2 = 0.90$ であった。

Table 1 には *in vivo* で存在する化学種による制御作用を調べた一例として、ピロリン酸による HA の結晶成長に対する抑制作用を示した。これらの実験では HA 種晶 (12.5 m²/g) 60mg を添加するに先だって、過飽和度を同じにした反応溶液に 0.05 から 0.2 ppm の $P_2O_7^{4-}$ を加えた。溶液に加えた全 $P_2O_7^{4-}$ 濃度が増すにつれて、初速度 R_0 は減ずることが認められた。ピロリン酸による抑制機構については別途に詳細な報告をおこなう予定である。本報で強調されるべき内容は、polynomial

と parabolic により求められた R_0 の値は Fig. 3 に示したと同様な傾向が認められたが、 $P_2O_7^{4-}$ による成長速度の抑制効果を調べる目的で R_0 の減少率 (Table 1 の脚注参照) を計算してみると、いずれの解析結果を用いた場合にもほぼ一致する値がえられた。parabolic による解析結果のうちで、高濃度の $P_2O_7^{4-}$ によって反応速度が著しく抑制された反応過程については相関係数も低くなり、polynomial による解析結果とのあいだで差異を生じた。 R_0 の減少率に関する同様の結論は唾液蛋白やアミノ酸を inhibitors として用いた実験においても得られている³⁹⁾。

本研究で用いた実験系では、塩基性塩の沈澱によって溶液の pH は低くなり、 $[Ca^{2+}]$ 、 $[PO_4^{3-}]$ 濃度も減少する。そのため、HA に対する溶液の過飽和度も経時的に低くなり、反応速度も過飽和度の変化に対応して遅くなる。Fig. 4 では結晶成長過程でみられた HA に対する過飽和度 ($DS = (IP/K_s(HA))^{1/3}$, 次報参照²⁵⁾) と反応速度 RL との依存関係の一例を示した。この場合の RL は種晶表面に対する法線方向の平均成長速度である。

$$RL = \frac{d[P]}{dt} \times \frac{MV}{3\rho S} ; \text{cm/h} \quad \text{---(9)}$$

M は $Ca_5(PO_4)_3(OH)$ の分子量、 V は反応溶液

Fig. 4 Mean linear rates of growth (R_L) plotted as functions of degree of supersaturation with respect to HA, where $DS = a \pm / a^0 \pm$. The kinetic data were determined by polynomial, parabolic rate law, and graphic approach (see text).

量 (0.25*l*), ρ は HA の比重, S は種晶の全表面積の大きさである。polynomial と parabolic による解析結果を比較すると, 反応初期 ($DS \geq 11$) において R_L の値に大きな違いが認められたが, その後の反応過程については両者の解析結果は一致した。graphic による解析結果では, 個々のデータのばらつきは大きい, 過飽和度の高い領域で得られた R_L の値は前二者の解析結果のほぼ中間に位置していた。また 過飽和度の低い領域では, いずれの解析結果も一致している, あるいは graphic による R_L はやや高い値を示す傾向が認められた。

考 察

in vivo での溶液組成に類似した準安定過飽和水溶液においては, HA の結晶成長過程に octacalcium phosphate (OCP) が反応中間体として生成すると報告されている⁴⁰⁻⁴⁷⁾。本研究で用いた溶液組成においても, $t = 0$ では OCP に対して過飽

和 (37°C での OCP の溶解度積を 5.01×10^{-50} とする⁴⁸⁾ と, IP/K_s (OCP) $= 1.2 \times 10^3$) であった。従って, OCP が反応過程に共存しうる可能性を無視することはできない。同じ過飽和条件で種晶量を減じていくと, 濃度 (pH) 一時間曲線に屈曲 (inflection) が現われる²⁹⁾。この現象は反応中間体の生成を示唆するものと考えられている^{29,44,46)}。ただし, 本研究では溶液に加える種晶量を多くしており, Fig. 1, 2 に示した濃度一時間曲線においても明らかな屈曲は認められなかった。この反応中間体の問題についてはあらためて考察する予定にしているが, 本報では一応種晶添加に伴って HA の結晶成長が進行したと仮定するにとどめる。

HA の結晶成長速度を polynomial, あるいは parabolic を用いて求める際に見逃がせない問題点は, いずれの方法においても種晶添加直後に生じる溶液組成の急激な変化 (initial surge) によって大きな影響を受けることである。Fig. 1 の濃度一時間曲線においても, $t = 0$ と 5 min のあいだで $[P]$ 濃度が大きく変化していることがわかる。この現象については, 環境相の変化に伴う種晶表面への溶質イオンの吸着や結晶表面での secondary nucleation⁵⁾などが原因として考えられているが, 現在までのところ充分には説明されていない。polynomial ($n = 3$) で濃度一時間曲線を近似した場合には, Fig. 2 にみられるように $t = 0$ min での $[P]$ 濃度の計算値が実測値に比べて約 2 ~ 3 % 小さく評価された。polynomial で求められた R_0 の値が parabolic の場合に比べて小さくなる原因はここにある。Table 2 では, $n = 3 \sim 6$ の polynomial による解析結果を比較したが, 高次式を用いると R_0 の値は大きくなり, 相関係数も高くなる。しかしながら, $t = 0$ min での計算値と実測値との間のズレは小さくなるが, polynomial に固有の問題として残されている。他方, parabolic による解析結果では, Fig. 2 の例で $t = 5, 10, 15$ min での計算値と実測値のあいだにズレが認められた。このことは Fig. 4 に示したように, 反応の初期過程で求められた R_L が parabolic の場合に大きく評価される原因となっている。

以上のことから, 実測された濃度一時間曲線を

Table 2 Results of the least-squares fits of the precipitation kinetics with various degrees of polynomial

polynomial	Initial precipitation rate	corelation
$\sum_{i=0}^{i=n} A_i t^i$	R_0 , moles $\cdot$ l $^{-1}\cdot$ h $^{-1} \times 10^5$	coefficient (r^2)
n=3	7.21	0.969
n=4	10.2	0.979
n=5	14.6	0.990
n=6	18.3	0.993

The experimental data shown here were obtained using 14 mg HA (46.4 m²/g).

ある特定の関数を用いて近似した場合に、得られた速度数値データにはその関数に依存した歪みを含んでいるといえる。Table 1 に示したように、同じ解析方法により求められた初速度 R_0 に注目し、inhibitors(本報ではピロリン酸)の作用を R_0 の減少率に基づいて論じる際には、解析結果に含まれている歪みの問題は特に重要な影響をもたらさなかった。ただし、これらのデータを過飽和度に依存したものとして(1)や(2)式の結晶成長理論式にあてはめることは危険である。予備的な検索において、polynomial および parabolic により求めた RL の数値を過飽和度データとともに(1)、(2)式にあてはめたところ、 $C_1 \sim C_4$ のパラメータについて両者の間で著しく異なる値がえられた(未発表)。従って、現時点では HA の結晶成長機構を論じる目的には、graphic による速度数値データを用いるのが最も安全であると考えられる。この場合に、graphic な解析方法では避けることのできない数値データのばらつきをいかに処理するかが

問題となってくる。著者らはひとつの方法として、過飽和領域を細かに区分し、個々の領域に含まれる RL の値を平均することを試みている³⁸⁾。

Fig. 4 に示した graphic に基づく RL vs DS のプロットに注目してみると、 RL は低過飽和領域では放物線則($RL \sim (DS)^2$)、高過飽和領域では直線則($RL \sim DS$)に従う傾向が認められた。この特徴は BCF 理論と合致するものと考えられている²⁻⁵⁾。ただし、実測曲線を(2)式に示した birth & spread 理論式に対応させた場合にも満足のいく適合がえられた³⁸⁾。このことは結晶成長機構を RL vs DS のプロットに基づいて論じる際の困難さを反映している^{4,49)}。ラセン転位を媒介とする成長機構と2次元核形成による成長機構を区別する目的には、低い過飽和領域での結晶成長速度(後者の機構では準安定な状態となり、成長速度 $R \approx 0$)を精度よく求めることが重要である⁴⁾。ただし、HA の結晶成長に関しては、高過飽和領域での成長速度も非常に遅く、低過飽和領域での精度よい速度測定は今回用いた実験系では困難であった。今後の HA の結晶成長機構に関する研究においては、低過飽和領域での成長速度を精度よく測定するための実験系、測定方法の開発が必要とされる。

本研究内容の一部、著者のひとり(T.A.)が Fogarty International Research Fellowship の援助を受け、Forsyth Dental Center で Dr. E. C. Moreno とともに行った実験、討議を基礎としている。また終始討議に加わり、有益な示唆を与えてくれたに Dr. H. C. Margolis に感謝する。

抄録: Hydroxyapatite の結晶成長-溶解(負の成長)機構に関する研究の第1報として、HA の成長速度の求めかたについて検討を加えた。結晶成長実験は $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ でおこない、合成した HA を種晶として用いた。初期($t=0$)溶液の組成、ならびに種晶の添加に伴って生じた pH, $[\text{Ca}]$, $[\text{P}]$ 濃度の変化を測定した。時間 t での反応速度(dP/dt , dCa/dt)は実測値による濃度-時間曲線を多項式(polynomial)で近似する方法や、反応速度式に放物線則(parabolic rate law)を用いて求められた。また、反応過程で毎分ごとに記録した pH 値を利用して、pH の実測値から $[\text{P}]$ 濃度を換算し、隣接する細かな時間での $[\text{P}]$ 濃度変化の平均速度を求める方法が考案された。この最後に示した方法は今後さらに改良を加えることにより、反応過程と結晶成長理論との対応を考えるうえでの有効な方法となりうることが示唆された。

文 献

- 1) Walton, A. G.: The Formation and Properties of Precipitates. p.44-78, Interscience Pub., N. Y./London/Sydney, 1976.
- 2) Óhara, M. and Reid, R. C.: Modeling Crystal Growth Rates from Solution. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J., 1973.
- 3) Bennema, P. and Gilmer, G. H.: Kinetics of crystal growth. In: Crystal Growth (ed. Hartman, P.), p. 263-327, North-Holland Pub., Amsterdam, 1973.
- 4) Garside, J.: Kinetics of crystallization from solution. In: Crystal Growth and Materials, (Kaldi, E. and Scheel, H. J. eds), p.484-513, North-Holland Pub., Amsterdam, 1977.
- 5) de Jong, E. J. and Jancic, S. J. (eds): Industrial Crystallization 78. North-Holland Pub., Amsterdam, 1979.
- 6) Simon, B. and Boistelle, R.: Crystal growth from low temperature solutions. J. Crystal Growth 52 : 779-788, 1981.
- 7) Nielsen, A. E. and Christoffersen, J.: The mechanisms of crystal growth and dissolution. In: Biological Mineralization and Demineralization (ed. Nancollas, G. H.), p.37-77, Springer-Verlag, Berlin, 1982.
- 8) Burton, W. K., Cabrera, N. and Frank, F. C.: The growth of crystal and the equilibrium structure of their surfaces. Phil. Trans. Roy. Soc. A243 : 299-358, 1951.
- 9) Varughese, K. and Moreno, E. C.: Crystal growth of calcium apatites in dilute solutions containing fluoride. Calcif. Tissue Int. 33 : 431-439, 1981.
- 10) Hohl, H., Koutsoukos, P. G. and Nancollas, G. H.: The crystallization of hydroxyapatite and dicalcium phosphate dihydrate; representation of growth curves. J. Crystal Growth 57 : 325-335, 1982.
- 11) Christoffersen, J.: Kinetics of dissolution of calcium hydroxyapatite. III. Nucleation-controlled dissolution of a poly-disperse sample of crystals. J. Crystal Growth 49 : 29-44, 1980.
- 12) Christoffersen, J.: Dissolution of calcium hydroxyapatite. Calcif. Tissue Int. 33 : 557-560, 1981.
- 13) Meyer, J. L. and Nancollas, G. H.: Effect of stannous and fluoride ions on the rate of crystal growth of hydroxyapatite. J. Dent. Res. 51 : 1443-1450, 1972.
- 14) Meyer, J. L. and Nancollas, G. H.: The influence of multidentate organic phosphonates on the crystal growth of hydroxyapatite. Calcif. Tissue Res. 13 : 295-303, 1973.
- 15) Meyer, J. L., McCall, J. T. and Smith, L. H.: Inhibition of calcium phosphate crystallization by nucleoside phosphates. Calcif. Tissue Res. 15 : 287-293, 1974.
- 16) Moreno, E. C., Varughese, K. and Hay, D. I.: Effect of human salivary proteins on the precipitation kinetics of calcium phosphates. Calcif. Tissue Int. 28 : 7-16, 1979.
- 17) Amjad, Z. and Nancollas, G. H.: Effect of fluoride on the growth of hydroxyapatite and human dental enamel. Caries Res. 13 : 250-258, 1979.
- 18) Reddi, A. H., Meyer, J. L., Tew, W. P., Howard, J. E. and Lehninger, A. L.: Influence of phosphocitrate, a potent inhibitor of hydroxyapatite crystal growth, on mineralization of cartilage and bone. Biochem. Biophys. Res. Commun. 97 : 154-159, 1980.
- 19) 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.
- 20) Koutsoukos, P. G., Amjad, Z. and Nancollas, G. H.: The influence of phytate and phosphonate on the crystal growth of fluoride and hydroxyapatite. J. Colloid Interface Sci. 83 : 599-605, 1981.
- 21) Christoffersen, J. and Christoffersen, M. R.: Kinetics of dissolution of calcium hydroxyapatite. IV. The effect of some biologically important inhibitors. J. Crystal Growth 53 : 42-54, 1981.
- 22) Margolis, H. C., Varughese, K. and Moreno, E. C.: Effect of fluoride on crystal growth of calcium apatites in the presence of a salivary inhibitors. Calcif. Tissue Int. 34 : S34-S40, 1982.
- 23) Christoffersen, J., Christoffersen, M. R. and Christensen, S. B.: Kinetics of dissolution of calcium hydroxyapatite. VI. The effects of adsorption of methylene diphosphonate, Stannous ions and partly-peptized collagen. J. Crystal Growth 62 : 254-264, 1983.
- 24) Aoba, T. and Moreno, E. C.: Adsorption of phosphoserine onto hydroxyapatite and its inhibitory activity on crystal growth. (Submitted).
- 25) 青葉孝昭, 八木俊雄: 希薄水溶液での Hydroxyapatite の結晶成長に関する研究 (2) 溶液の過飽和度. 歯基礎誌 26 : 367-375, 1984.
- 26) Moreno, E. C., Gregory, T. M. and Brown, W. E.: Preparation and solubility of hydroxyapatite. J. Res. Natl. Bur. Stand. 72A : 773-782, 1968.
- 27) Aoba, T. and Moreno, E. C.: Preparation of hydroxyapatite crystals and their behavior as seeds for crystal growth. J. Dent. Res.

- 1984 (in press).
- 28) Vogel, A. I.: *Quantitative Inorganic Analysis*. 3rd edn., p.810, John Wiley & Sons, New York, 1961.
 - 29) Moreno, E. C., Zahradnik, R. T. and Hwu, R.: Precipitation of hydroxyapatite from dilute solutions upon seeding. *Calcif. Tissue Res.* **24** : 47-57, 1977.
 - 30) Nancollas, G. H.: Kinetics of crystal growth from solution. *J. Crystal Growth* **34** : 335-339, 1968.
 - 31) Nancollas, G. H. and Mohan, M. S.: The growth of hydroxyapatite crystals. *Archs. Oral Biol.* **15** : 731-745, 1970.
 - 32) Napper, D. H. and Smythe, B. M.: The dissolution kinetics of hydroxyapatite in the presence of kink poisons. *J. Dent. Res.* **45** : 1775-1783, 1966.
 - 33) Smith, A. N., Posner, A. M. and Quirk, J. P.: A model describing the kinetics of dissolution of hydroxyapatite. *J. Colloid Interface Sci.* **62** : 475-495, 1977.
 - 34) Fox, J. L., Higuchi, W. I., Fawzi, M. B. and Wu, M. S.: A new two-site model for hydroxyapatite dissolution in acidic media. *J. Colloid Interface Sci.* **67** : 312-330, 1978.
 - 35) Koutsoukos, P., Amjad, Z., Tomson, M. B. and Nancollas, G. H.: Crystallization of calcium phosphates. A constant composition study. *J. Amer. Chem. Soc.* **102** : 1552-1557, 1980.
 - 36) Nielsen, A. E.: Theory of electrolyte crystal growth. The parabolic rate law. *Pure Appl. Chem.* **53** : 2025-2039, 1981.
 - 37) Hartley, H. O.: The modified Gauss-Newton method for the fitting of non-linear regression functions by least squares. *Technometrics* **3** : 269-280, 1961.
 - 38) Moreno, E. C., Aoba, T. and Margolis, H. C.: Seeded crystal growth of hydroxyapatite in the presence of fluoride and inhibitors. 26th Meeting of Amer. Chem. Soc., Washington D. C., 1983.
 - 39) Aoba, T., Moreno, E. C. and Hay, D. I.: Crystal growth inhibition of apatite by specific fragments of salivary proteins. 62nd IADR in Dallas, 1984.
 - 40) Meyer, J. L. and Nancollas, G. H.: The effect of pH and temperature on the crystal growth of hydroxyapatite. *Archs Oral Biol.* **17** : 1623-1627, 1972.
 - 41) Nancollas, G. H. and Tomazic, B.: Growth of calcium phosphate on hydroxyapatite crystals. Effect of supersaturation and ionic medium. *J. Phys. Chem.* **78** : 2218-2225, 1974.
 - 42) Tomazic, B. and Nancollas, G. H.: The seeded growth of calcium phosphates. Surface characterization and the effect of seed materials. *J. Colloid Interface Sci.* **50** : 451-461, 1975.
 - 43) Tomazic, B., Tomson, M. and Nancollas, G. H.: The growth of calcium phosphates on natural enamel. *Calcif. Tissue Res.* **19** : 263-271, 1976.
 - 44) Eanes, E. D.: The interaction of supersaturated calcium phosphate solutions with apatitic substances. *Calcif. Tissue Res.* **20** : 75-89, 1976.
 - 45) Eanes, E. D. and Meyer, J. L.: The maturation of crystalline calcium phosphates in aqueous suspensions at physiologic pH. *Calcif. Tissue Res.* **23** : 259-269, 1977.
 - 46) Eanes, E. D. and Meyer, J. L.: The influence of fluoride on apatite formation from unstable supersaturated solutions at pH7.4. *J. Dent. Res.* **57** : 617-624, 1978.
 - 47) Tung, M. S. and Brown, W. E.: An intermediate state in hydrolysis of amorphous calcium phosphate. *Calcif. Tissue Int.* **35** : 783-290, 1983.
 - 48) Shyu, L. J., Perez, L., Zawacki, S. J., Heughebaert, J. C. and Nancollas, G. H.: The solubility of octacalcium phosphate at 37°C in the system $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-KNO}_3\text{-H}_2\text{O}$. *J. Dent. Res.* **62** : 398-400, 1982.