





2017년 8월

박사학위 논문

플라즈마 전해 산화법으로 Ca, P, Si 및 Mn 도핑된 치과 임플란트 합금의 생체적합성과 표면특성

조선대학교 대학원

치의학과

강 정 인



플라즈마 전해 산화법으로 Ca, P, Si 및 Mn 도핑된 치과 임플란트 합금의 생체적합성과 표면특성

Biocompatibility and Surface Characteristics of Ions (Ca,P,Si,Mn) Doped Surface Oxide on Dental Implant Alloy by Plasma Electrolytic Oxidation

2017년 8월 25일

조선대학교 대학원

치의학과

강 정 인





플라즈마 전해 산화법으로 Ca, P, Si 및 Mn 도핑된 치과 임플란트 합금의 생체적합성과 표면특성

지도교수 손 미 경 공동 지도교수 최 한 철

이 논문을 치의학 박사학위 논문으로 제출함

2017년 8월

조선대학교 대학원

치의학과

강 정 인





강정인의 박사학위논문을 인준함

위	원 징	남 서	울대학교	Ш	수	임	범	순	(인)
위	안	<u>!</u> 조	선대학교	可	수	고	영	무	(인)
위	안	! 광	주보건대학교	교	수	김	승	희	(인)
위	안	! 조	선대학교	교	수	최	한	철	(인)
위	안	! 조	선대학교	卫	수	손	0	경	(인)

2017년 6월

조선대학교 대학원





목 차

ABSTRACT vi
제 1장 서 론
제 2장 이론적 배경 ~~~~~ 3
2.1. 치과용 임플란트 재료의 특성
2.2. 치과용 임플란트 표면처리 ~~~~~ 6
2.3. 하이드록시아파타이트 ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
2.3.1. 망간 치환 12
2.3.2. 실리콘 치환
제 3장 재료 및 방법 15
3.1. 시료준비 ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
3.2. 플라즈마 전해 산화법(PEO)을 이용한 산화막 형성
3.3. 표면특성 평가
3.4. 전기화학적 특성 평가
3.4.1. 동전위 분극특성
3.4.2. AC 임피던스 특성
3.5. MC3T3-E1 세포를 이용한 <i>in vitro</i> 증식 및 부착특성
제 4장 결과 및 고찰 ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
4.1. 조성에 따른 표면특성 ~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
4.1.1. 표면의 형상
4.1.2. 표면의 결정상





4.2. 전기화학적 특성	33
4.2.1. 동전위 분극특성	33
4.2.2. AC 임피던스 특성	37
4.3. PEO 처리된 표면의 세포 증식 및 부착특성	42
제 5장 결 론	44
참고문헌	45





LIST OF TABLES

Table 1. Properties of biomaterials 4
Table 2. Reaction of bone and osteoblast cell for metal elements 5
Table 3. Overview of surface modification methods for Ti and its alloys for dental implants
Table 4. Properties, preparations, and occurrence of the biologically relevant phosphates
Table 5. Mechanical properties of hydroxyapatite in human enamel and bone
Table 6. Elements and concentrations of human bone
Table 7. The electrolyte conditions for PEO treatment
Table 8. The conditions of electrochemical corrosion test
Table 9. Main infrared vibration modes observed in HA
Table 10. Electrochemical parameters of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys from anodic polarization test
Table 11. Electrochemical parameters obtained from AC impedance test for PEO-treated Ti-6AI-4V alloys





LIST OF FIGURES

Fig. 1. FE-SEM images of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca and P : (A) Fig. 2. FE-SEM images of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca, P, and xMn : Fig. 3. FE-SEM images of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca, P, and xSi : Fig. 4. FE-SEM images of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca, P, xMn and 5Si: (A) 5Mn5Si, (B) 10Mn5Si, (C) 20Mn5Si.25 Fig. 5. X-ray diffraction (XRD) patterns of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with various electrolytes: (A) Mn, (B) Si, (C) xMn5Si.28 Fig. 6. EDS results of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca, P, Mn and Si: Fig. 7. Variation of Ca/P molar ratio with PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Fig. 8. FT-IR spectrum of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with various Fig. 9. Polarization curves of PEO-treated Ti-6AI-4V allovs after potentiodynamic test in 0.9% NaCl solution at 36.5±1℃: (A) Polarization-







Fig. 10. Equivalent circuits of Ti-6Al-4V alloys: (A) without PEO treatment, (B) with PEO treatment. 39

Fig. 11. Electrochemical impedance results of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys: (A,C) Bode phase plots, (B,D) Bode plots. 40

Fig. 12. FE-SEM images of MC3T3-E1 cell cultured on various surface of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys: (A) 10Mn, (b) 5Si, (C) 5Mn5Si, (D) 10Mn5Si, (E) 20Mn5Si.





ABSTRACT

Biocompatibility and Surface Characteristics of Ions (Ca,P,Si,Mn) Doped Surface Oxide on Dental Implant Alloy by Plasma Electrolytic Oxidation

Kang Jung In Advisor : Prof. Son Mee-kyoung, D.D.S., Ph.D Co-Advisor : Prof. Choe Han-cheol, Ph.D Department of Dentistry Graduate School of Chosun University

Studies on methods for improving surface characteristics to increase the binding between the bone and the implant surface are being actively conducted nowadays. Among the various methods, plasma electrolytic oxidation (PEO) is a method for surface processing in which a biocompatible oxide film is formed using a number of ions. Although studies using the inorganic compounds of bones, calcium and phosphorous, which are the main components of teeth, and magnesium are being actively conducted, there is a lack of studies using other elements.

Therefore, in this study, films were formed by PEO treatments in electrolyte solutions containing of calcium, phosphorous, silicon, and manganese, which were constituent elements of natural bone, on a Ti-6AI-4V ELI disk and observations were made.

PEO was conducted for 3 minutes at 280V in the electrolyte solutions created by using calcium acetate monohydrate, calcium glycerophosphate, manganese(II) acetate tetrahydrate and sodium metasilicate nonahydrate. The PEO-processed surface image and the crystal phase of the specimen were analyzed using FE-SEM, EDS, XRD, and FT-IR. In addition, for analyzing the





biocompatibility, potentiodynamic test and AC impedance test were conducted in 0.9% NaCl solution, and then, cell proliferation and cell adhesion tests were conducted using MC3T3-E1 cells.

From these experiments, the following conclusions were drawn:

1. The surface images of the specimen processed by PEO commonly showed porous structures. As the content of Mn increased, oval and irregular pore structures were identified. As the content of Si increased, the areas occupied by pores were increased.

2. On the evaluation of corrosion, as the content of Mn increased, the corrosion resistance was decreased due to the influence of pores. However, the corrosion resistance of Si surface increased due to a stable SiO₂ oxide film. In cases where the surfaces of Mn and Si were processed complexly, outstanding corrosion resistance was observed compared to that in cases where the surface separately due to a variety of oxide films.

3. From the result of cell growth using MC3T3-E1 cells, it was observed that cell adhesion to the surface processed by using a complex of Mn and Si was better than that to the surface processed by PEO with a single element.

Based on these findings, it is suggested that if Mn and Si are used in the surface process in a complex way, they will form a film with a porous structure which is advantageous for achieving osseointegration, which makes it possible to shorten the recovery period after clinical implantation of dental implant.

Keywords : Dental implant, Manganese, Plasma electrolytic oxidation, Silicone





제 1장 서 론

과거 인간은 의식주 해결에 급급하여 불의의 사고로 손상된 신체에 대한 복구의 필요성을 인지하지 못하였다. 하지만 최근에는 경제발전에 따라 생명이 연장됨으 로써 건강한 삶을 영위하고자 하는 욕구가 증대됨에 따라 이와 관련된 의료장비 및 기구, 생체용 재료 등의 연구 개발이 이루어지고 있다. 정형외과나 치과용 생 체재료에서는 강도, 인성, 내마모성, 내식성이 우수함과 동시에 생체친화성이 요 구된다. 이러한 특성을 갖는 생체금속재료로 대표적인 것은 코발트계 합금과 타이 타늄(titanium, Ti) 합금이 있으며 특히, Ti 합금은 1952년 Brånemark에 의해 Ti 표면과 골조직이 결합하는 골융합(osseointegration)이 증명되어 오늘날 치과에서 는 인레이, 크라운, 임플란트, 정형외과에서는 골절 고정재와 인공관절 등에, 순 환기 외과에서는 페이스메이커, 스텐트 등에 널리 이용되고 있다^{1.2)}.

Ti은 산소에 노출이 되면 Ti 산화막(주로 TiO2)이 표면에 형성되어, 이 층에 의 해 표면 부식반응이 억제되는 부동태금속(valve metal, Al, Ta, Nb, V, W를 포함 한)이다. 이때 자연적으로 생성된 산화막은 보통 2~5 nm의 두께를 가지며 금속의 부식저항능력을 향상시켜 생체 내에서 금속의 용출을 억제하여 생체적합성을 증가 시킨다.³⁻⁵⁾ 하지만 자연적으로 생긴 Ti 산화막과 뼈와의 골 융합(osseintegration) 이 약하여 임플란트 시술 후 지속적으로 파괴되는 문제점을 갖고 있으며, 이로 인 해 Ti으로 구성된 정형외과용 임플란트 수명은 길지 않은 것으로 알려져 있다.^{6, 7)} 그러므로 생체활성도(bioactivity) 증진을 위한 골과 임플란트 표면의 결합을 높 이기 위하여 Ti 표면 개질 개선 방법에 대한 연구가 최근 활발히 진행되고 있다. 오늘날에 Ti 임플란트 표면조직의 개선을 통해 골 조직이 생역학적인 방법으로 우 수한 결합을 유도하기 위해 절삭(가공)처리, Ti 플라즈마 스프레이 코팅법, 하이 드록시아파타이트 플라즈마 도포법, 표면 분사처리, 산 부식법, 다공성 소결 및 전기화학적 방법에 의한 양극산화처리 등 다양한 표면처리 방법⁸⁻¹⁰⁾으로 임플란트 표면의 개질향상을 위한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다. 이중 양극산화처리 방법인 플라즈마 전해 산화법(plasma electrolytic oxidation, PEO)은 고온의 전 해질 용액을 이용하여 전기화학적 자극을 주어 합금의 표면의 산화막의 두께와 형 태를 조절하는 방법이다. 비교적 표면처리가 간단하고 비용이 저렴하며, Ti임플란 트 표면에 피막 형성 시 전해용매의 종류, 농도, 온도, 교반속도 (agitation





speed), 사용전극의 위치와 면적, 전압과 전류 등의 변수에 따라 피막특성을 조절 하기 용이하다⁸⁾. 뿐만 아니라 임플란트를 식립한 후 오랜 기간 동안 물리 및 화학 적 안정성을 유지하기 위해 전해질 용액의 종류에 따라 피막의 특성 및 구조의 변 화를 유도하여 생체친화성 산화막을 형성시킬 수 있다는 장점이 있다^{9,10)}.

플라즈마 전해 산화법은 대부분 골을 이루는 주요 이온인 칼슘(Ca)과 인(P)을 이용하여 생성된 산화막에 대한 연구을 하였으나 최근에는 칼슘과 인 이외에도 스 트론튬(Sr), 마그네슘(Mg), 불소(F) 등을 Ti표면의 산화피막에 함유시켜 생체활성 도를 개선시키기 위한 연구가 진행되고 있다^{8,9)}. 그 중에서도 골에 풍부하게 존재 하는 양이온인 마그네슘과 스트론튬은 칼슘과 치환인자로 많은 연구에 의해 골의 신진대사와 골 성장에 관여한다는 것이 증명되었다⁸⁻¹⁴⁾. 마그네슘과 스트론튬 외에 도 망간(Mn)과 실리콘(Si)도 골의 구성요소로 골세포의 증식과 성장에 유용하며 골 대사에 중요한 역할을 한다. 하지만 망간과 실리콘을 Ti합금 표면에 포함시킨 임플란트 표면과 골의 결합 관계에 관한 연구가 행해지고 있으나¹¹⁻¹⁵⁾, 다른 이온

따라서 본 연구에서는 치과용 임플란트 재료인 Ti합금의 표면에 칼슘, 인 및 망 간과 실리콘을 이용하여 조성된 전해질 용액의 조건에 따라 플라즈마 전해 산화법 으로 피막을 형성하고 공정조건에 따른 피막의 형상 및 결정상을 분석하고, 생체 유사환경에서의 전기화학적 특성과 골아세포 증식을 시험하여 생체적합성을 관찰 하였다.



- 2 -



제 2장 이론적 배경

2.1. 치과용 임플란트 재료의 특성

생체 매식재료는 금속, 세라믹, 폴리머, 복합재료 등이 있으며, 금속은 치과용 임플란트에 많이 사용된다¹⁶⁾. 특히 치과용 임플란트 합금은 장기간 인체 내에 잔 존하기 때문에 생체에 대한 독성이 없어야 하며 반복하중이 장기간 가해지므로 피 로수명이 길어야 한다. 치과용 임플란트 합금이 가져야 하는 여러 특성을 Table 1 에 나타냈다. 치과용 임플란트 합금은 초기 뼈 섬유세포와 금속 표면과의 결합성 과 더불어 내마모성, 부식저항성, 기계적 성질이 우수해야 한다^{17,18)}.

치과용 임플란트의 대표적인 합금으로 이용되는 Ti는 생체적합성이 우수하여 뛰 어난 재료로 인정되고 있으며 다른 금속 임플란트 재료로는 은, 스테인리스강, 코 발트-크롬 합금 등이 있다¹⁶⁾. 이 외에도 나이오븀(Nb), 지르코늄(Zr), 탄탈늄 (Ta), 백금(Pt) 등을 골 조직에 이식하였을 때, 임플란트 주위에 형성되는 뼈 섬 유세포의 반응 형태로부터 그 독성을 조사한 것을 Table 2에 나타냈으며, 생체 내 에서 내식성이 우수하고, 부식생성물과 섬유세포, 생체액 등에 대해 독성이 없어 생체 친화성이 우수한 금속 원소이다^{17,18)}.



- 3 -



Table 1. Properties of biomaterial¹⁷⁾

Biocompatiblity	- Osseointegration - Bio corrosion resistance - Adverse tissue reaction
Mechanical properties	 Elastic modulus Tensile, yield strength Elongation Toughness Fatigue crack initiation, propagation Hardness, wear resistance





Table 2. Reaction of bone and osteoblast cell for metal elements^{17,18)}

Type of reaction	Elements
Vital	Ti, Zr, Nb, Ta, Pt
Toxic	Co, Ni, Cu, V



2.2. 치과용 임플란트 표면처리

최근 임플란트에서 가장 큰 주안점은 치료기간의 단축이며 이를 위해 가장 중요 한 요소는 골 유착(osseointegration)이다⁸⁾. 골 유착이란 Ti 합금이 골조직과 결 합하여 연조직에 염증을 일으키지 않고 장기간 동안 거부 반응 없이 지속되는 것 으로 조기에 얻어 유지해야 치료기간을 단축할 수 있다. 성공적인 골 유착을 얻기 위해 다양한 요소들이 연구되었으나^{8.19)}, 아직까지 부족한 골량이나 골질을 극복할 수 있는 임플란트에 대한 연구는 미비하다. 그러므로 임플란트 표면에 대한 연구 가 더 필요한 실정이다.

임플란트에 표면처리를 하는 목적은 표면적을 증가시키며 임플란트의 식립 후 골 조직과 임플란트 계면 간의 기계적 고정을 얻으며, 혈병 유지 및 골 치유과정 을 촉진할 수 있는 표면을 제공하는 것이다⁸⁾.

표면적을 증가시키기 위한 표면처리 방법으로는 Ti 플라즈마 분사법(titanium plasma spraying), 산 부식법(acid-etching method), 샌드 블라스팅법(sand blasting method). 양극산화법(anodic oxidation). 열산화법(thermal oxidation) 등이 있고 불활성의 Ti 표면 활성을 위한 코팅법. 이온빔 주입법. 용액 침적법 등 이 있다^{8-10,19-22)}. 이 중 플라즈마 분사에 의한 하이드록시아파타이트 코팅이 가장 대중적인 방법으로 사용되었으며 이는 초기 골형성을 촉진하는 것으로 알려졌다. 그러나 시간이 지나 지속적인 자극이 임플란트에 가해지면서 기계물리적 성질의 저하 및 하이드록시아파타이트 코팅층이 흡수되거나 임플란트 표면에서 박리되면 서 골과의 접촉이 감소되거나 주변 골을 흡수 등의 문제가 발생하였다^{8,20)}. 특히 상대적으로 골질이 치밀한 부위에서는 사용이 제한된다. 이 중 양극산화법인 플라 즈마 전해 산화법(plasma electrolytic oxidation, PEO)은 고온의 전해질 용매에 임플란트를 담그고 이를 양극으로 하여 전기화학적 자극을 주어 표면에 소공 (pore)구조를 갖는 산화막을 형성하는 방법으로 여러 가지 변수를 이용하여 두께 와 형태를 조절할 수 있다. 많은 학자들은 양극산화법을 여러 가지 변수를 이용하 여 골과의 반응의 변화를 연구하였으며, 그 결과 결정도가 높고, 산화막이 두꺼울 수록, 칼슘이 함유된 그룹이 골 반응에 긍정적 영향을 끼친다는 것을 제시하였다 ²³⁻²⁹⁾. 홍 등은 양극산화 처리한 표면에서 혈소판 축적 및 활성과 조골세포가 양호 한 반응을 보여 골 형성이 촉진된다고 보고하였다^{8,30)}.





Table 3. Overview of surface modification methods for Ti and its alloys for dental implants $^{\rm 31)}$

Surface modification methods	Modified lyaer	Objective		
Mechanical methods Machining Griding Polishing Blasting	Rough or smooth surface formed by subtraction process	Produce specific surface topographies; clean and roughen surface; improve adhesion in bonding		
Chemical method Chemical treatment Acidic treatment Alkaline treatment	<10 nm of surface oxidelayer ~1 µm of sodium titanate gel	Remove oxide scale and contamination Improve biocompatibility, bioactivity or bone conductivity		
Hydrogen peroxide treatment	~5 nm of dense inner oxide and porous outer layer	Improving biocompatibility, bioactivity or bone conductivity		
Sol-gel	~10 μ m of thin film, such as calcium phosphate, TiO ₂ and silica	Improve biocompatibility, bioactivity or bone conductivity		
Anodic oxidation	~ 10 nm to 40 μ m of TiO ₂ layer, adsorption and incorporation of electrolyte anions	Produce specific surface topographies; improved corrosion resistance; improve biocompatibility, bioactivity or bone conductivity		
CVD	~1 畑 of TiN, TiC, TiCN, DLC thin film	Improve wear resistance, corrosion resistance and blood compatibility		
Biochemical method	Modification through silanized titania, photochemistry, self-assembled monolayers, protein-resistance, etc.	Induce specific cell and tissue response by means of surface-immobilized peptides, proteins, or growth factors		
Physical method Thermal spray Flame spray Plasma spray HVOF DGUN	~30 to 200 μ m of coatings, such as Ti, HAp, calcium silicate, Al ₂ O ₃ , ZrO ₂ , TiO ₂	Improve wear resistance, corrosion resistance and biological properties		
PVD Evaporation Ion plating Sputtering	~1 畑 of TiN, TiC, TiCN, DLC, and HAp thin film	Improve wear resistance, corrosion resistance, blood compatibility and biological properties		
lon implantation and deposition Beam-line ion implantation PIII	~10 nm of surface modified layer and/or ~畑 of thin film	Modify surface composition; improve wear, corrosion resistance, and biocompatibility		
Glow discharge plasma treatment	~1 nm to ~100 nm of surface modified layer	Clean, sterilize, oxide, nitride surface; remove native oxide layer		



2.3. 하이드록시아파타이트 (Hydroxyapatite, HA)

인간 골의 무기물 성분(65%)과 치아의 주성분(96%)인 HA는 생체활성 (bioactivity)을 가진 칼슘포스페이트 세라믹의 일부로 화학식은 Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ 이다. 칼슘포스페이트 세라믹은 Ca, P, O 그리고 H로 구성된 화합물로 원소의 비 율에 따라 다양한 상태로 존재하며³¹⁾ 제조 방법 및 비율 등에 따른 분류를 Table 4에 정리하였다³³⁻³⁷⁾. HA는 FA(fluorapatite)를 제외하면 칼슘포스페이트 세라믹에 서 가장 화학적으로 안정하다.

HA는 인체 내의 경조직과 미네랄 성분이 화학적으로 유사하여 생체 내에서 염증 반응이나 섬유상 조직의 발생이 없기 때문에 생체친화성 (biocompatibility)을 가 진 물질이다. 표면에 단백질을 흡착하는 능력을 가진 것으로 알려져 있는데, 이 표면은 혈소판과의 부착과 활성화가 일어나 치유를 촉진할 뿐만 아니라 골과 직접 결합하여 골 생성을 촉진하는 중요한 역할을 하며 골전도성(osseoconductivity)이 있기 때문에 인간의 경조직인 골의 대체물질로 쓰이기에 적합하다^{8,32,38)}. Table 5 는 인간의 골과 치아 그리고 인공적으로 만들어지는 HA의 특성을 비교하였다³⁸⁾.

대부분의 생체활성(bioactive) 재료들처럼 HA는 취성이 높다. 피질골(cortical bone)의 인장강도가 150 MPa인 것에 비해 HA는 100 MPa 정도이고 인성이 낮아 변 형되지 않고 파괴를 일으키게 된다. HA가 높은 취성을 갖는 이유는 자연골의 콜라 겐처럼 HA 결정입자를 결합하는 물질이 없기 때문에 따라서, 응력을 많이 받지 않 은 부위의 골대체물이나 금속 임플란트 코팅 물질 등으로 정형외과 및 치과분야에 서 응용되고 있다³⁸⁾.



- 8 -



Abb	Formula	Name	Ca/P ratio	n <i>k</i> (25℃) nH	stahility ^a	Main preparation method	Occurrence in biological
	T OF IIIUT &	Indille		pr _{sp} (230) pr	Stability		tissue
						(i) Titration of Ca(OH) $_2$ with H $_3$ PO $_4$	Bone, dentin, enamel,
HAn		Hudrovuopotito	1.67	116.9	0 5-12	(ii) Dropwise addition of HPO4 ²⁻	dentin calcifications,
пар	Ga ₁₀ (104/6(01)2	Πγυιοχγαρατιτε	1.07	110.0	9.5 12	solution to Ca2+ solution, pH>9	urinary stones,
						(iii) Hydrolysis from other phosphates	athorosclerotic plaques
OCP	$Ca_8H_2(PO_4)_6:5H_2O$	Octacalcium phosphate	1.33	96.6	5.5-7.0	Dropwise addition of Ca(Ac) ₂ to HP04 ²⁻ /H ₂ P04 ⁻ solutions at 60°C, pH5	Dental and urinary calculi
		ß-Tricalcium				(i) Solid state reaction of CaCO3	Dental and urinary caculi,
ß −TCP	$C_{a_2}(PO_4)_2$	nhosnhate	15	28.9	b	abd DCPD at 900°C	soft-tissue deposits,
p foi	043(1 0472	(whitlokite)	1.5	20.9		(ii) Thermal conversion of CDHAn	artritic cartilage,
		(WITTETOKILE)					usually present as $\beta\mbox{-TCMP}$
α-TCP	$Ga_{2}(PO_{4})_{2}$	α-tricalcium	1.5	25.5	b	Heat treatment of β-TCP at 1300℃	Not founded
	043(1 0472	phosphate	110	2010			
	$Ca_{x}H_{y}(PO_{4})_{z}nH_{2}O$	amorphous		c.	h	Fast mixing of Ca ²⁺ HPO4 ²⁻ solutions,	
ACP	n=3~4.5, 15-20%H ₂ 0	calcium	1.22-2.2	c	b	RT	Soft-tissue calcifications
		phosphate					
NODA		monocalcium	0.5		0.0	Titration of H₃PO₄ with Ca(OH)₂ in	
MCPA	$Ga(H_2PU_4)_2$	pnospnate	0.5	1.14	0-2	strong acidic environment	Not founded
		anhydrous					
HODH		monocaicium	0.5		b		
МСРМ	$Ca(H_2PU_4)_2H_2U$	phospate	0.5	1.14		Heat treatment of MGPM at />100 C	Not founded
		monohydrate					
0.000	CaHPO4·2H20,	uicaicium	1.0	0.50	0.0	Dropwise addition of a Ca2+ solution	ıDental calculi, urinary
DCPD	(brushite)	phosphate	1.0	6.59	2-6	to a HPO42- solution at 60℃ , pH4	stones chondrocalcinosis
(dihydrate					

Table 4. Properties, preparations, and occurrence of the biologically relevant phosphates³³⁾







Abb.	Formula	Name	Ca/P ratio	p <i>k</i> ₅p(25℃) pl	H stability ^a	Main preparation method	Occurrence in biological tissue
DCPA	CaHPO4, (monetite)	dicalcium phosphate anbydrous	1.0	6.90	b	Heat treatment of DCPD at 7 >100℃	Not founded
TTCP	Ca4P209	tetracalcium phosphate	2.0	38-44	b	Solid-state reaction of DCPA with CaCO $_3$ at high ${\cal T}$	Not founded
CDHAp	Ca _{10-x} (HPO ₄) _x (PO ₄) _{6-x} (0 H) _{2-x} (O <x<1)< td=""><td>calcium deficient hydroxyapatite</td><td>1.5-1.67</td><td>85.1</td><td>6.5-9.5</td><td>Hydrolysis of ACP or $\alpha-TCP$</td><td>Not founded</td></x<1)<>	calcium deficient hydroxyapatite	1.5-1.67	85.1	6.5-9.5	Hydrolysis of ACP or $\alpha-TCP$	Not founded

^a Data from Ref ³³⁻³⁷⁾

^b Phase obtained by solid state reaction or heat treatment of other phases.

^c Cannot be measured precisely, however the following value were reported: 25.7 (pH 7.40), 29.9 (pH 6), 32.7 (pH 5.28)





·····	5 · (/// 00 07/)		HAp sintered body		
Mechanical properties	Ename1(HAp:92~97%)	Bone(HAp:60~70%)	Dense	Porous	
Density(g/cm)	2.9~3.0	1.5~2.2	3.156	-	
Relative density	-	-	95~99.8	50~70	
Grain size(#m)	-	-	0.2~25	-	
Mechanical strength(MPa)					
Compressive	250~400	140~300	270~900	30~100	
Bending	-	100~200	80~250	-	
Tensile	-	20~114	90~120	-	
Diametral	-	-	35~95	-	
Young's modulous(^{GPa})	40~84	10~22	35~120	-	
Fracture toughness(MPaam ^{1/2})	-	2.2~4.6	0.7~1.2	-	
Vicker's hardness(@Pa)	3.4~3.7	0.4~0.7	3.0~7.0	-	
Heat capacity(cal/deg·mol)	-	-	184	-	
Thermal conductance(W/cm.K)	-0.009	-0.006	0.013	-	
Expansion coefficient($\times 10^{-6}$)	-		11~14	-	

Table 5. Mechanical properties of hydroxyapatite in human enamel and bone³⁸⁾





2.3.1. 망간(Manganese) 치환

인체를 이루고 있는 이온은 다양할 뿐만 아니라 각각 차지하는 비율도 다르다. 이에 따라 골의 구성요소와 비율을 Table 6에 나타내었다. 특히 망간(Mn)은 단백 질합성의 관점에서 중요하며 망간이 부족하면 유기매트릭스의 합성이 낮아지고 연 골의 생성이 지연되며 두께 및 길이가 줄어든 비정상적인 골 생성이 이루어진다 ³⁹⁻⁴²⁾. 또한, 골의 재조립에 영향을 주며 특히 세포 밖의 칼슘과 인산염의 농도에 따라 골의 재구성의 영향을 받으며, 세포 밖의 공간과 세포표면의 리간드들과의 상호작용으로 세포접착력과 세포조직의 성장을 촉진시킴으로 골 재생 및 성장 그 리고 유지 큰 영향을 미치는 것⁴³⁻⁴⁵⁾으로 많은 연구를 통해 알려졌다. Mn은 HA의 양이온인 Ca에 대비해 약 10 mol%까지 치환이 가능하며⁴⁶⁾, 화학식으로는 Ca_{10-x}Mn_x(PO₄)₆(OH)₂로 나타낸다.





Table 6. Elements and concentrations of human bone⁴⁷⁾

Elements		Concentration level
Calcium (Ca)	(wt%)	34.80 - 36.60
Phosphorous (P)		15.20 - 17.10
Carbonates (CO ₃)		4.80 - 7.40
Sodium (Na)		0.90 - 1.00
Magnesium (Mg)		0.60 - 0.72
Chlorine (Cl)		0.10 - 0.13
Fluorine (F)		0.03 - 0.10
Potassium (K)		0.03 - 0.07
Strontium (Sr)		0 - 0.05
Silicon (Si)	(ppm)	0 - 500
Zinc (Zn)		0 - 39
Chrome (Cr)		0 - 0.33
Cobalt (Co)		0 - 0.025
Manganese (Mn)		0 - 0.17





2.3.2. 실리콘(Silicon) 치환

실리콘(Si)은 인체 구성요소로 생체적 반응에서 필수적인 것이며 마그네슘, 망 간, 아연, 염소 등과 더불어 HA와 치환되는 원소이다⁴⁸⁾. 1970년대 초반, Schwarz 와 Milne는 Si이 결핍되면 골의 성장을 저해하여 골 구조의 발전을 방해한다고 보 고였으며⁴⁹⁾, 최근 연구에서는 Si의 함량에 증가하면 골밀도가 증가하며 이는 인간 의 골 건강 개선과 양의 상관관계가 있다고 보고하였다⁵⁰⁾. 또한, DNA 합성과 조골 세포 증식 그리고 알칼라인 포스파타제(ALP) 활성, 콜라겐 Type 1 및 골의 산성 단백질인 오스테오칼신(osteocalcin) 발현을 보고함으로써 분자 및 세포 수준에서 Si의 긍정적인 효과를 입증했다⁵¹⁻⁵²⁾. 즉, Si은 골형성을 촉진시켜 기계적인 결합 력을 개선하고 섬유골세포의 골을 빠르게 촉진하는 효과를 보이는 원소이며 골 성 장을 촉진하는 대표적인 원소로 임플란트 표면과 골과의 결합력을 증진 시킬 수 있다.





제 3장 재료 및 방법

3.1. 시료준비

본 연구에서는 치과용 임플란트용 제작 합금인 Ti-6AI-4V ELI(grade 5, Timet Co., USA)를 지름 10 mm, 두께 3 mm로 가공하여 사용하였다.

시료로 사용한 합금은 구리선에 접합한 후, 증류수와 에틸 알콜 및 아세톤을 이 용하여 초음파 세척을 실시하였다.

3.2. 플라즈마 전해 산화법 (PEO)을 이용한 산화막 형성

본 연구에서는 전해용액의 조성에 따른 코팅 피막의 차이점을 관찰하기 위하여 각각의 공정조건에 따라 피막을 형성하였다. Ca, P, Mn 및 Si을 모두 이용하여 전 해용액을 제조한 경우는 기존 연구실에서 시행한 실험 결과를 토대로 과도하게 형 성되는 Si이 오히려 아파타이트의 형성을 방해하는 것으로 사료되어 Si의 농도를 5%로 고정하였다.

세정된 Ti-6AI-4V 합금 시료는 플라즈마 전해 산화장치인 (DC Power Supply, KDP-1500)를 이용하여 양극산화처리를 시행하였다. 이 때 사용한 전해질 용액은 Table 7과 같이 calcium acetate monohydrate, calcium glycerophosphate, manganese(II) acetate tetrahydrate, sodium metasilicate nonahydrate 수용액의 전해질을 각각 다르게 조성하여 사용하였다. 각 시료에 양극산화 시 전압은 280V 로 인가하였으며 3분간 정전압 방식을 유지하였다.





	Electrolyte	component		
Electrolyte code	CA (mol/L ⁻¹)	CGP (mol/L ⁻¹)	MA (mol/L ^{−1})	SI (mol/L ⁻¹)
CaP	0.15	0.02	-	_
5Mn	0.1425	0.02	0.0075	-
10 M n	0.135	0.02	0.015	-
20 M n	0.12	0.02	0.03	_
5Si	0.15	0.019	-	0.001
10S i	0.15	0.018	-	0.002
5Mn5Si	0.1425	0.019	0.0075	0.001
10Mn5Si	0.135	0.019	0.015	0.001
20Mn5Si	0.12	0.019	0.03	0.001

Table 7. The electrolyte conditions for PEO treatment

*CA: Ca(CH₃COO)₂

*CGP: $C_3H_7CaO_6P$

*MA: $Mn(CH_3COO)_2$

*SI: Na₂SiO₃





3.3. 표면특성 평가

시료 표면의 형상은 주사전자현미경 (FE-SEM, field emission scanning electron microscope, Hitachi, S-4800, Japan)을 이용하여 전해질 용액의 조성에 따른 코팅 피막의 형성을 관찰하였고, 양극산화 피막과 코팅 막의 유기화합물 형 성을 측정하기 위해 FT-IR (fourier-transform infrared spectroscopy, FT/IR411, Jasco, Japan), 피막의 결정상을 관찰하기 위해 X-선회절 분석 장치 (TF-XRD, X' pert Philips, Netherlands)를 이용하여 분석하였다. 또한 기공의 형태와 분포 는 ImageJ (NIH, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다.

3.4. 전기화학적 특성 평가

3.4.1. 동전위 분극시험(pontentiodynamic polarization test)

내식성을 전기화학적으로 정량 평가하기 위하여 동전위 시험을 행하였다. 분극 거동을 확인하기 위하여 소프트웨어(Princetion Applied Research. U.S.A.)로 제 어되는 potentiostat (EG&G, model 263A, U.S.A.)을 이용하여 36.5±1 ℃의 0.9% NaCl 전해액에서 1.667 mV/min의 주사 속도로 동전위 분극 시험을 실시하였다.

시편을 아세톤, 에탄올 및 증류수 순으로 초음파 세척하여 건조한 후 사용하였 고, 시편은 작업 전극으로 하고, 보조 전극은 고밀도 탄소봉을 사용했으며, 기준 전극으로는 포화칼로멜전극(SCE; saturated calomel electrode)을 사용하였다. Ar 가스를 주입하여 시편 표면의 불순물, 산화물과 용존 산소를 제거하였으며, 동전 위 적용 전위는 -1500 mV에서 +2000 mV 로 실시하여 부식전위(E_{corr}), 부식전류밀도 (I_{corr}), 300 mV에서의 전류밀도(I₃₀₀), 부동피막 형성 전류밀도(I_{pp}) 값을 측정하였 다.



3.4.2. AC 임피던스 측정(AC Impedance test)

AC 임피던스 측정 실험은 potentiostat (Model PARSTAT 2273, EG&G, USA)을 이 용하여 36.5±1 ℃의 0.9% NaCl 전해액에서 시행하였다. 동전위 분극시험과 같이 작업전극, 보조전극, 기준전극을 동일하게 적용하여 실시하였으며, 측정에 사용한 주파수 영역은 10 № ~ 100 № 로 저주파부터 고주파까지 다양한 범위를 적용하였 다. 각 공정조건에 적절한 등가회로를 적용하여 bode plot과 bode phase plot을 얻은 후 ZSimWin (Princeton applied Research, USA) 소프트웨어를 사용하여 용액 의 저항, 분극 저항 값을 산출하였다.

Table 8. The conditions of electrochemical corrosion	test
--	------

	Potentiodynamic test	AC impedance		
Electrolyte	0.9% NaCI			
Working electrode	Sample			
Counter electrode	High den	se carbon		
Reference electrode	SCE			
Temperature	36.5 ± 1℃			
Scan rate	1.667 mV/s	—		
Frequency range	_	100 kHz ~ 10 mHz		
A.C amplitude	_	10 mV		
Point	— 5 point/decade			
Software	Powersuite 2.55	ZSimpWin 3.20		





3.5. MC3T3-E1 세포를 이용한 in vitro 증식 및 부착특성

골아세포와 유사한 MC3T3-E1 세포는 10% 소태아헐청 (fetal bovine serum, FBS), 100 units/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin을 함유한 minimum essential medium alpha modification (α-MEM, welgen, Korea)을 사용하여 12well plate에 각각의 시편을 넣어 놓고 2×10⁵으로 파종하여 5% CO₂, 37℃ 조건 하 에 24시간동안 배양하였다. 세포 증식력 및 부착력을 주사전자현미경 (FE-SEM)으 로 관찰하기 위해 pH 7.4의 인산완충용액(phosphate buffer saline, PBS)으로 시 편을 세척한 후 2.5% glutaraldehyde 용액을 이용하여 2시간 동안 고정을 시행하 였다. 이후 에탄올과 증류수를 혼합하여 탈수하고 건조과정을 거친 후에 표면을 관찰하였다.





제 4장 결과 및 고찰

4.1. 조성에 따른 표면특성

4.1.1. 표면의 형상

임플란트의 초기 골유착의 성공을 위해서는 골과 접촉되는 임플란트의 표면이 중요하다. 많은 연구에서 임플란트 표면의 거칠기가 커질수록 회전 제거력 및 골 과 임플란트 접촉률 등 골유착과 관련된 값들이 증가하며, 세포 부착 및 분화에 영향을 끼친다고 보고되었다^{24-30,53-56)}. 따라서 임플란트 표면에 거칠기를 부여하기 위해 플라즈마 전해 산화법(PEO)을 이용하여 다공성 산화피막(oxide layer)을 형 성하였다. 또한 인체의 골에 함유되어 있는 Ca, P, Mn 그리고 Si을 산화피막 내로 주입시켜 생체적합성을 향상시키고자 하였다.

Fig. 1은 Ti-6AI-4V 합금에 Ca과 POI 함유된 전해질을 이용하여 280V의 인가전 압으로 PEO 처리한 합금의 표면을 FE-SEM으로 각각 1,000배, 5,000배로 관찰한 결 과이다. 시편에서 균일한 기공막이 형성되었음을 확인하였다. 이러한 경향은 플라 즈마 방전현상(spark discharge)에 기인한 것으로 플라즈마 방전현상 이전에는 PEO 표면처리 시 장벽(barrier layer)⁵⁷⁾이 형성되고, 산화피막의 장벽에 점차 전 압이 증가함으로써 장벽의 표면이 절연파괴(dielectric breakdown)에 인해 플라즈 마 방전현상이 일어나는 것으로 생각된다⁵⁸⁾. 플라즈마는 정전류가 유지되고 정전 압이 상승하는 곳까지 격렬히 진행되나 정전류가 내려감에 따라 플라즈마의 세기 와 분포량도 감소되는데, 이러한 결과로부터 플라즈마 방전현상에 의해 초기 미세 기공 및 산화피막의 성장이 촉진되는 것으로 사료된다^{59,60)}.

Fig. 2는 Ti-6Al-4V 합금에 Ca과 P 그리고 Mn이 함유된 전해질을 이용하여 280V 의 인가전압으로 PEO 처리한 합금의 표면을 FE-SEM으로 관찰한 결과로, (A, A-1) 는 5Mn, (B, B-1)은 10Mn, (C, C-1)은 20Mn으로 Ca 대비 Mn의 조성을 각각 다르게 하였다 (Table 1). 망간의 첨가에 따라 불규칙한 다공성의 산화피막 형성과 동시 에 기공의 형상이 구형에서 기다란 타원형의 형태로 변화되는 것을 확인하였다. 이는 Mn의 첨가량에 따라 정전류 차이에 따른 현상으로 사료된다⁵⁹⁻⁶¹⁾.

Fig. 3은 Ti-6AI-4V 합금에 Ca과 P 그리고 Si이 함유된 전해질을 이용하여 280V 의 인가전압으로 PEO 처리한 합금의 표면을 FE-SEM으로 관찰한 결과로, (A, A-1)



는 5Si, (B, B-1)은 10Si으로 P 대비 Si의 조성을 각각 다르게 하였다 (Table 7). Si의 함량에 따라 표면 변화를 관찰하기 위해 Image J software를 사용하여 분석 한 결과, Si의 함량증가에 따른 단위면적당 기공이 차지하는 면적(%/10²·µm²)은 각각 12.9%, 15.7%로 증가되었다.

Fig. 4는 Ti-6AI-4V 합금에 Ca, P, Mn과 Si이 복합으로 함유된 전해질을 이용하 여 280V의 인가전압으로 PEO 처리한 합금의 표면을 FE-SEM으로 관찰한 결과로, (A, A-1)는 5Mn5Si, (B, B-1)은 10Mn5Si, (C, C-1)은 20Mn5Si으로 Si은 5%로 농도 를 고정하고 Mn의 함량에 변화를 주어 조성을 각각 다르게 하였다 (Table 7). 농 도가 고정된 Si은 기공의 형태 변화에 크게 기여하지 않은 반면, 망간의 함량이 증가할수록 불규칙한 타원형의 다공성 산화피막이 관찰되었으며, 이는 Fig. 2와 같은 경향을 나타내었다. Mn과 Si 원소를 첨가하여 제조한 다양한 농도의 전해용 액을 이용하여 플라즈마 전기화학적 산화막을 형성하여 분석한 결과 합금의 표면 에 모두 공통적으로 미세기공이 분포되어 있음을 관찰할 수 있었으며 이는 식립 후에도 미세기공 내에 존재하여 골형성을 촉진시켜 기계적인 결합력을 향상시킬 것으로 사료된다^{8.30,45,48)}.







Fig. 1. FE-SEM images of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca and P

: (A) x1,000, (B) x5,000.







Fig. 2. FE-SEM images of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca, P, and xMn : (A) 5Mn, (B) 10Mn, (C) 20Mn.







Fig. 3. FE-SEM images of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca, P, and xSi

: (A) 5Si, (B) 10Si.







Fig. 4. FE-SEM images of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca, P, xMn, and 5Si: (A) 5Mn5Si, (B) 10Mn5Si, (C) 20Mn5Si.





4.1.2. 표면의 결정상

Fig. 5는 전해질 용액에 따른 산화피막의 형성, 결정성을 관찰하기 위하여 Ti-6AI-4V 합금을 이용하여 PEO 표면처리 후 X선 회절분석을 한 결과로 (A)는 Mn 의 함량에 따라. (B)는 Si의 함량에 따라 그리고 (C)는 Si의 농도를 5%로 고정하 고 Mn의 함량에 변화를 주어 복합적으로 코팅하였다. 기본적으로 Ti는 TiO, TiO, Ti203 등 다양한 산화막을 형성하는데, 이 중 TiO2가 가장 일반적이며 아나타제 (anatase), 루타일(rutile), 브루카이트(brookite) 형태의 상을 갖는다⁶²⁾. 아나타 제 보다는 루타일의 결정상이 더 안정적인 것으로 알려져 있지만, 생체재료용 TiO₂ 의 결정상은 루타일보다는 아나타제가 더 적합하다^{63,64)}. JCPDS (Joint Committee on Power Diffraction Standards, PCPDFWIN) #21-1272을 토대로 X선 피크(peak)를 분석한 결과 모든 시편의 25도 영역에서 아나타제 결정상이 확인되었다. Mn의 함 량이 증가할수록 25도 영역인 TiOp 피크의 강도가 감소되었으며, Si을 첨가한 경우 에는 Mn과 달리 TiO2 피크가 선명하게 나타나지 않았고, 이를 바탕으로 Si이 산화 막 형성을 저해하는 것으로 사료된다⁶⁵⁾. Si의 농도를 5%로 고정시키고 Mn의 함량 에 변화를 주었을 경우에는 Mn의 함량과 관계없이 아나타제 결정상 강도가 감소되 는 것을 확인할 수 있었으며, 이는 위에 고찰한 바와 같이 Si이 산화막 형성을 저 해하기 때문이라고 사료된다⁶⁵⁾.

Fig. 6은 다양한 전해질 내에서 PEO 처리된 Ti-6AI-4V 합금 표면에 형성된 산화 피막에 대한 화학적 조성을 EDS로 분석한 결과로 모든 원소가 합금 표면에 형성되 었음을 확인할 수 있었다.

Fig. 7은 EDS 분석 결과를 이용하여 Ca과 P의 비율을 계산하여 그래프로 나타내 었다. Mn이 함유된 경우, Ca/P비율은 각각 1.54, 1.47, 1.02으로 점점 감소하는 반면에 Ca(+Mn)/P의 경우는 2.34, 2.34, 2.00으로 높은 비율을 나타내었다. 이는 전해질 용액 내에서 Mn과 Ca이 치환되기 때문으로 사료된다^{62.66)}. Si이 함유된 경 우는 전해용액의 농도에 맞게 표면에 Si의 함량이 나타났다. Si의 농도 만큼 calcium glycerophosphate의 함량이 줄어들어 Ca/P는 각각 1.89, 2.03이 나타나 며, Ca/(P +Si)의 경우는 1.79, 1.84으로 각각 나타났다. 마지막으로 Mn과 Si이 복합으로 함유된 경우는 Ca/P의 비율이 각각 1.13, 1.12, 1.06으로, Ca(+Mn)/P(+Si)는 1.15, 1.19, 1.21로 각각 나타났으며, 1.67 이하의 비율을 갖는 것을 확인할 수 있었다.





Fig. 8은 PEO 처리된 합금 표면의 분자결합을 확인하기 위해 실시된 FT-IR 결과 이다. Mn이 첨가된 경우 Table 9에서 나타난 것처럼 PEO 처리된 표면에서 P-O, O-H 결합이 발견되었으며, Si이 첨가된 경우에는 Si-O-Si 결합과 일부 O-H 결합이 관찰되었다^{65.67)}. Mn과 Si을 이용한 복합 표면처리의 경우는 Mn의 함량의 변화에 따라 O-H 결합구조가 증가하는 것을 관찰할 수 있는데 이는 앞의 X선 회절 결과의 비정질 형성과 관계가 있음을 확인할 수 있다. 모든 실험군에서 결정화를 저해하 는 CO₃²⁻ 결합 등은 발견되지 않았다.







Fig. 5. X-ray diffraction (XRD) patterns of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with various electrolytes: (A) Mn, (B) Si, (C) xMn5Si.







Fig. 6. EDS results of PEO-treated Ti-6Al-4V alloys with Ca, P, Mn and Si: (A) 10Mn, (B) 5Si, (C) 10Mn5Si.







Fig. 7. Variation of Ca/P molar ratio with PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with Ca, P, Mn and Si: (A) Mn, (B) Si, (C) xMn5Si.







Fig. 8. FT-IR spectrum of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys with various electrolytes: (A) Mn, (B) Si, (C) xMn5Si.





Table 9. Main infrared vibration modes observed in HA⁶⁸⁾

IR wavenumbers(cm ⁻¹)	IR vibration modes
3541-3480	0-H atratabing of lattice water malegulas
3282-3166	U-IT STRETCHING OF TALLICE WATER MOTECUTES
2930	(P)0-H stretching
2385	Combination H-O-H bending and rotation of
1600-1720	residual free water
1649	H-O-H bending of lattice water molecules
1208	P-O-H in plane bending
1135	
1065	P-O stretching
987	
877	P-O(H) stretching
795	P-O-H out of plane bending





4.2. 전기화학적 특성

4.2.1. 동전위 분극특성

생체와 유사한 환경에서의 내식성을 평가하는 방법인 동전위 분극실험은 전해질 용액과 합금의 표면이 접촉할 때 표면에 있는 이온을 이용하여 부식전위를 측정할 수 있으며, 미세 전위에 의해 표면에 부식을 발생시켜 그 때 형성되는 부식생성물 에 의해 전류 차단이 일어나 금속이 용액 내로 용출되어 전해질 용액과의 반응을 단시간 내에 정량적으로 확인할 수 있다⁶⁹⁾.

Fig. 9 (A)는 Ti-6AI-4V 합금에 다양한 전해액을 이용하여 플라즈마 전해 산화 법으로 표면 처리를 시행한 시편들의 전기화학적 특성을 관찰하기 위해 36.5±1℃ 의 0.9% NaCI 용액에서 동전위 분극실험을 실시하여 분극곡선으로 나타내었고. (B)는 구강 내의 전위인 ±300 mV 범위의 분극곡선을 확대하였다. 또한 Table 10 에 부식전위(Ecorr), 부식전류밀도(Icorr), 300 mV에서 전류밀도(I₃₀₀)와 부동태 피막 형성 전류밀도(Im)에 대한 수치를 정리하였다. 플라즈마 전기화학적 산화 처리되 지 않은 표면의 분극곡선의 경우 -500 mV에서 부식전위가 발생하고 500 mV 까지 전류밀도가 증가하다가 500~1500 mV까지 부동태피막의 형성으로 일정한 전류밀도 를 유지하여 피막의 파괴가 더 이상 나타나지 않은 것을 관찰할 수 있다. Ca과 P 이 함유된 전해질을 이용하여 생성된 플라즈마 산화막인 CaP는 bulk의 표면에 비 하여 낮은 부식전위를 나타내었다. 이는 PEO 처리한 표면에서 발생되는 기공에 의 하여 기공내부에서 나타나는 IR drop 때문에 부식전위가 낮아지는 것으로 생각된 다^0). 또한 플라즈마 산화막이 두껍게 형성된 표면을 가짐으로서 bulk 표면에 비 하여 더 낮은 전류밀도를 갖고 있는 것으로 보아 내식성이 더 향상되는 것으로 사 료된다^{17,18,31)}. CaP에 Mn이 함유된 경우에는 Mn의 함량이 증가할수록 높은 부식전류 밀도를 나타내었는데, MnO₂, Mn₂O₃, Mn₃O₄와 같은 산화물이 생성됨에도 불구하고⁴⁵⁾ PEO 표면처리를 통해 생성된 미세기공의 크기가 증가하였기 때문에 내식성이 감소 하는 것으로 사료된다^{8,29)}. 반면 CaP에 Si이 함유된 경우에는 Si의 함량이 증가할 수록 부식전위가 높아지는 것을 확인할 수 있었으며 부식전류밀도는 낮은 수치를 나타내었으며 Si의 산화물인 SiO>가 증가함에 따라 내식성이 향상된 것으로 사료된 다⁷¹⁾. CaP에 Si과 Mn이 복합적으로 처리된 경우에는 부식전위를 제외한 부식전류 밀도, 300 mV에서 전류밀도 및 부동태 피막형성 전류밀도가 CaP에 비해 상대적으

- 33 -





로 비슷하거나 낮았으며 그 중 10Mn5Si은 모든 수치가 CaP와 가장 유사하였다. MnO₂, Mn₂O₃, Mn₃O₄,MnSiO₃, Mn₂SiO₄, SiO₂와 같은 안전한 산화막의 형성을 확인할 수 있었으며 이는 내식성에 긍정적인 영향을 미쳤을 것으로 사료된다^{46,71,72)}. Mn과 Si 을 단독으로 처리하는 것보다 두 원소를 복합으로 처리하는 것이 내식성 향상에 긍정적인 영향을 끼치는 것을 확인하였다.







Fig. 9. Polarization curves of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys after potentiodynamic test in 0.9% NaCl solution at 36.5±1℃: (A) Polarization-curves, (B) Passive region at±300 mV.





Table	10.	Electrochemical	parameters	of	PE0-treated	Ti-6AI-4V	alloys	from
anod	ic p	olarization test						

Sample	l _{corr} (A/cm ²)	E _{corr} (mV)	$I_{300}(A/cm^2)$	l _{pp} (A/cm ²)
Bulk	1.64766 X10 ⁻⁷	-375.355	1.36945 X10 ⁻⁵	1.15946 X10 ⁻⁵
CaP	8.03439 X10 ⁻⁷	-760.412	4.19266 X10 ⁻⁶	3.39985 X10 ⁻⁷
5Mn	3.45674 X10 ⁻⁶	-1145.451	7.77440 X10 ⁻⁶	6.27095 X10 ⁻⁵
10Mn	4.77470 X10 ⁻⁶	-1188.257	5.31854 X10 ⁻⁶	6.65788 X10 ⁻⁵
20Mn	5.21618 X10 ⁻⁵	-1200.000	3.05197 X10 ⁻⁶	7.13361 X10 ⁻⁵
5Si	8.75863 X10 ⁻⁷	-700.238	5.77715 X10 ⁻⁶	3.31703 X10 ⁻⁶
10Si	6.43528 X10 ⁻⁷	-599.460	4.29734 X10 ⁻⁶	2.93226 X10 ⁻⁶
5Mn5Si	3.31329 X10 ⁻⁷	-1255.530	1.91616 X10 ⁻⁶	1.74539 X10 ⁻⁶
10Mn5Si	7.08055 X10 ⁻⁸	-771.181	4.43186 X10 ⁻⁷	3.91777 X10 ⁻⁷
20Mn5Si	8.13407 X10 ⁻⁸	-879.981	5.75937 X10 ⁻⁷	4.78689 X10 ⁻⁷



4.2.2. AC 임피던스 특성

Fig. 10 (A)는 일반적으로 전극 반응의 전체 임피던스의 등가회로로서 용액의 저항 성분(R_s)와 전기적 이중층 (CPE, constant phase element)의 캐패시터 (capacitor)로 구성되었으며, (B)는 Ti 합금표면에 형성된 분극 저항성분 (R_p), 산 화막의 저항성분 (R₁)과 산화막의 정전용량성분 (CPE₁)이 첨가된 등가회로를 구성 하였다. 등가회로를 바탕으로 정확한 내식성을 평가하기 위해 R_p 값의 변화를 관찰 하였다. Nyquist plot 상에서도 R_p의 측정이 가능하나 Fig. 10의 bode plot상에서 저주파 영역과 고주파 영역 간의 차이로 구하는 것이 더 일반적으로 사용되고 있 다⁷³⁾.

Fig. 11은 다양한 전해질로 PEO 처리한 Ti-6AI-4V 합금으로 AC 임피던스 실험 후 bode phase plot과 bode plot으로 나타내었다. 동전위 분극실험 결과를 바탕으 로 내식성이 우수했던 10Mn, 5Si, 5Mn5Si, 10Mn5Si 및 20Mn5Si을 실험군으로, 대 조군으로 표면처리 되지 않은 bulk와 Ca과 P으로 표면처리된 CaP를 선택하여 AC 임피던스 실험은 진행하였다. (A)는 bulk, CaP, 10Mn 그리고 5Si의 bode phase plot, (B)는 bulk, CaP, 10Mn, 5Si의 bode plot, (C)는 Mn과 Si이 복합으로 코팅 처리된 5Mn5Si, 10Mn5Si 및 20Mn5Si의 bode phase plot이며 마지막으로 (D)는 5Mn5Si. 10Mn5Si 및 20Mn5Si의 bode plot이다. bode phase plot을 살펴보면 고주 파 영역에서의 phase angle은 용액의 저항(Rs)을 나타낸다⁷⁴⁻⁷⁶⁾. 반면에 중·저주파 수 영역에서의 phase angle은 부동태 피막을 의미하는데 phase angle이 90°에 가 깝게 일정한 phase가 존재하며 이는 시편의 캐패시터 반응을 나타내고 있다⁷⁴⁻⁷⁶⁾. 이를 바탕으로 Fig. 11 (A)와 (C)를 보면 bulk를 제외한 대부분의 PEO 처리된 표 면에서는 초기 고주파 영역에서 상대적으로 높은 위상값을 나타내었고 중주파 영 역에서는 낮아지고 다시 저주파 영역에서는 높아지는 두 배의 임피던스 값을 나타 내며 이를 통하여 표면에 기공을 갖는 산화막 특성을 관찰할 수 있다. 고주파수에 서 Mn과 Si이 복합으로 PEO 처리된 경우에는 Mn의 함량과 관계없이 공통적으로 phase angle이 초기에 90°에 가깝게 나타는데 이것은 표면에 캐패시터 역할을 하 는 산화막의 형성과 관계가 있다77). 저주파 영역으로 가면서 감소하다가 다시 증 가하는 경향이 확인되었는데 중주파 영역에서의 증가는 전형적인 부동태 피막의 영향으로. 저주파 영역에서의 감소는 PEO 처리시 형성된 미세기공에 의한 영향으 로 사료된다⁷⁸⁾. Fig. 11 (B)와 (D)의 bode plot를 관찰한 결과 모든 시편에서 2개





의 영역으로 나뉘어 관찰되었는데 고주파 영역에서 log | Z | 의 값이 일정한 경향 을 보였으며 이것은 R_s에 의한 것으로 생각된다. 반면, 중·저주파수 영역에서는 log | Z | 값의 증가는 합금 표면의 분극저항인 R_p로 사료된다. 또한, log | Z | 의 기울기가 약 -1에 가까웠는데 이는 Ti합금에 대한 조밀한 부동태 피막의 캐패시턴 스(C_p, capacitance)를 의미한다. (B)를 보면 bulk에 비해 PEO 처리된 시편들은 곡 선의 기울기가 다른 것을 확인하였으며 (D)는 Mn의 함량에 따라 미미하게 5Mn5Si 보다 10Mn5Si과 20Mn5Si이 높은 R_p 값을 갖는 것을 확인할 수 있었다.

Table 11은 AC 임피던스 측정 후 Fig. 10에 제시된 등가회로를 기준으로 ZSimpWin V 3.20 프로그램에 적용시켜 계산된 값을 나타낸 것이다. R_b 값을 살펴보 면 bulk가 가장 좋았으며 PEO 처리된 시편들은 bulk에 비해 낮은 저항 값을 보였 다. 이는 동전위 분극시험에서 고찰한 바와 같이 PEO에 의한 표면의 미세기공의 영향으로 낮은 R_b 값을 보인 것으로 사료된다^{8,29)}. PEO 처리된 시편들을 비교하면 전체적으로 R_b 값은 Si으로 표면 처리한 경우 높은 값을 가지는 것을 확인하였는 데, 이는 Si의 안정된 산화막인 SiO₂의 영향으로 사료된다⁷²⁾. 반면, 산화막에 의한 분극저항(R₁) 값은 Mn과 SiOI 복합으로 PEO 처리된 5Mn5Si, 10Mn5Si, 20Mn5SiOI 각 각 5.23 x10⁶, 1.97 x10⁶, 2.74 x10⁶ 으로 다른 시편들에 비해 높게 나타났는데, MnO₂, Mn₂O₃, Mn₃O₄, MnSiO₃, Mn₂SiO₄, SiO₂OI 분극저항에 많은 영향을 미친 것으로 사 료된다^{46,71,72}.



- 38 -





Fig. 10. Equivalent circuits of Ti-6AI-4V alloys: (A) without PEO treatment, (B) with PEO treatment.







Fig. 11. Electrochemical impedance results of PEO-treated Ti-6AI-4V alloys: (A,C) Bode phase plots, (B,D) Bode plots.





Table	11.	Electrochemical	parameters	obtained	from AC	impedance	test	for	PEO-treated	Ti-6AI-4V	alloys
-------	-----	-----------------	------------	----------	---------	-----------	------	-----	-------------	-----------	--------

	R _s (Ω)	CPE (F · cm ⁻² · S ⁿ)	n	R _p (Ω)	$(F \cdot cm^{-2} \cdot S^n)$	n ₁	R ₁ (Ω)
Bulk	9.15	2.62x10 ⁻⁵	0.93	9.770x10 ⁵	_	-	-
CaP	18.33	1.82×10^{-5}	0.62	4.320x10 ³	2.68×10^{-6}	0.86	6.82x10 ³
5Mn	23.36	6.57X10 ⁻⁶	0.87	4.810X10 ³	6.19X10 ⁻⁵	0.56	1.12X10 ⁵
10Mn	1.80×10^{-7}	2.44x10 ⁻⁷	0.80	1.547×10^{3}	1.57×10^{-5}	0.62	2.33×10^{5}
20Mn	17.78	5.43X10 ⁻⁶	0.84	6.81X10 ²	1.46X10 ⁻⁶	0.99	6.06×10^{5}
5Si	23.97	1.90×10^{-6}	0.82	6.990×10^3	1.18x10 ⁻⁵	0.58	3.25x10 ⁴
10Si	15.86	3.02×10^{-6}	0.80	7.641×10^3	2.45x10 ⁻⁵	0.80	1.94×10^5
5Mn5Si	1.02×10^{-7}	3.91x10 ⁻⁷	0.80	9.362x10 ²	1.78×10^{-5}	0.62	5.23x10 ⁶
10Mn5Si	1.31x10 ⁻⁷	4.73x10 ⁻⁷	0.78	1.515×10^{3}	1.13×10^{-5}	0.67	1.97x10 ⁶
20Mn5Si	1.00 x10 ⁻⁷	2.61x10 ⁻⁶	0.62	2.071x10 ³	1.03x10 ⁻⁵	0.68	2.74x10 ⁶



4-3. PEO 처리된 표면의 세포 증식 및 부착특성

PEO 처리된 표면의 세포 증식력 및 부착력에 대한 평가는 MC3T3-E1 세포를 이용 하여 시행하였다. Fig. 12 (A)와 (B)는 대조군으로 동전위 분극실험 및 AC 임피던 스 실험 결과 내식성이 우수했던 각각 10Mn과 5Si이며. (C). (D). (E)는 Mn과 Si 을 복합으로 PEO 처리한 시편인 5Mn5Si, 10Mn5Si, 및 20Mn5Si을 각각 실험군으로 이용하여 실험을 실시하였다. 초기 세포 부착 및 증식은 합금의 표면과 세포 간의 상호작용을 의미하며 이를 통하여 임플란트 표면과 골의 접촉을 확인할 수 있다 ^{43-45,51,52,79,80)}. 다양한 연구^{79,81-84)}에서의 결과를 보면 임플란트 표면 형상이 초기 조골 세포 부착에 미치는 영향에 대해 일관된 경향을 나타내지는 않았지만 가장 일반적으로 관찰되는 경향은 다공성 구조가 세포 부착에 유리하다는 것이다. 즉, PEO 처리된 다공성 구조 표면은 임플란트 표면에서 더 큰 접촉 영역을 제공함으로 써 세포의 단백질 흡착을 촉진한다^{45,46,48,53,54)}. Fig. 12를 보면 단독 원소로 PEO 처 리된 표면보다 복합으로 처리된 표면의 세포 부착력이 우수한 것을 관찰할 수 있 다. 이는 앞서 확인했던 PEO 처리 후 표면에서 관찰된 기공의 형상과 관련이 있는 것으로 생각된다. 또한, 세포 접착과 세포 조직의 성장을 증가시키는 Mn과 Si을 이용하여 표면 처리를 시행하여 보다 골모세포의 성장을 촉진하였을 것이며 39-42.44.45.49.51.52) 이것은 골의 성장을 빠르게 진행하여 임플란트 표면과 골세포 간의 결합력을 향상시킬 것으로 사료된다.







Fig. 12. FE-SEM images of MC3T3-E1 cell cultured on various surface of PEO-treated Ti-6Al-4V alloys: (A) 10Mn, (b) 5Si, (C) 5Mn5Si, (D) 10Mn5Si, (E) 20Mn5Si.





결 론

치과 임플란트용 Ti-6Al-4V 합금 표면에 Ca, P, Mn 그리고 Si을 이용하여 다양 하게 조성된 전해액을 플라즈마 전해 산화법으로 형성한 피막표면을 관찰하고, 전 기화학적 평가와 MC3T3-E1 세포를 이용한 생체적합성을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

 플라즈마 전해 산화법으로 처리한 시편의 표면형상은 공통적으로 다공성의 구 조를 나타내었으며 Mn의 함량이 증가할수록 타원형의 불규칙한 기공구조를 나타내 었으며 Si은 함량이 증가할수록 기공 분율이 증가하였다.

2. 표면의 결정상 분석 결과, Mn이 첨가된 경우에 25도 영역인 TiO₂ 피크의 강도가 감소되었으며, Si을 첨가한 경우에는 Mn과 달리 TiO₂ 피크가 선명하게 나타나지 않 았다. Si의 농도를 5%로 고정시키고 Mn의 함량에 변화를 주었을 경우에는 Mn의 함 량과 관계없이 아나타제 결정상 강도가 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

3. 전기화학적 부식 평가 결과, Mn은 함량이 증가할수록 기공의 영향으로 내식성 이 저하되었으나 Si은 안정적인 SiO₂ 산화막으로 내식성이 증가하였다. Mn과 Si이 복합으로 표면처리된 경우에는 MnO₂, Mn₂O₃, Mn₃O₄,MnSiO₃, Mn₂SiO₄, SiO₂와 같은 산 화막으로 인해 단독으로 표면처리한 경우보다 우수한 내식성을 나타내었다.

4. MC3T3-E1 세포를 이용한 증식 및 부착특성 결과, 단독 원소로 PEO 처리된 표면 보다 Mn과 Si이 복합으로 처리된 표면의 세포 부착이 더 우수한 것을 관찰할 수 있었다.

본 결과를 토대로 Mn과 Si을 복합으로 활용하여 골유착에 유리한 다공성 구조의 피막을 형성시킬 수 있으며, 전기화학적 및 세포시험으로 보아 임플란트 식립 후 회복기간의 단축이 가능할 것으로 사료된다.





참고문헌

- M Niiomi (1998). Mechanical properties of biomedical titanium alloys. Materials Sci Eng A 243:231-236.
- 2. JD Shim, HK Seok (2011). A state of the art on research and development of biomedical titanium alloys. Biomaterials Research 15:176-183.
- 3. JE Davies, B Lowenberg, A Shinga (1990). The bone-titanium interface in vitro. J Biomed Mat Res 24:1289-1306.
- 4. WD Sherman (1912). Vanadium steel plates and screw. Surg Gynecol Obster 14:629-634.
- 5. EJ Sotuw and SR Pollack (1981). The biocompatibility of certain stainless steels. Biocompatibility of Clinical Impant Materials. I. CRC Press 46.
- 6. D Krupa, J Baszkiewicz, JA Kozibowski, Barcz A, JW Sobzak, A Biliniski, MD Lewandowska-Szumiel, B Rajchel (2001). Effect of calcium-ion implantation on the corrosion resistance and biocompatibility of titanium. Biomaterials 22:2139-2151.
- XY Liu, KC Paul, CX Ding (2004). Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. Mater Sci Eng R 47:49-121.
- YJ Lee, BU Lee, YS Kim (2003). Current studies of implant surface treatment in perspective of bone healing mechanism. Implantology 12:12-29.
- 9. HM Jung, C. Yoo, SJ Park, HC Choe, YM Ko (2006). A study on microstructure characteristics of oxide film and processing factor of titanium implant by electrochemical method. J Korea Res Soc Dent Mater 33:303-310.
- K Alvarez, H Nakajima (2009). Metallic scaffolds for bone regeneration. Materials 2:790-832.
- 11. HJ Song (2010). Advanced surface modification techniques for enhancing osseointegration of titanium implant. J Korean Dent. Assoc. 48:96-105.
- 12. P Habibovic, JE Braralet (2011). Bioinorganics and biomaterials: bone







repair. Acta Biomater 7:3013-3026.

- 13. Y Huang, H Qiao, X Nian, X Zhang, X Zhang, G Song, Z Xu, H Zhang, S Han (2016). Improving the bioactivity and corrosion resistance properties of electrodeposited hydroxyapatite coating by dual doping of bivalent strontium and manganese ion. Surf Coat Technol 291:205-215.
- 14. D Krupa, J Baszkiewicz, J Zdunek, JW Sobczak, W Lisowski, J Smolik, Z Słomka (2012). Effect of plasma electrolytic oxidation in the solutions containing Ca, P, Si, Na on the properties of titanium. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 100:2156-2166.
- 15. S Roessler, R Born, D Scharnweber, H Worch, A Sewing M Dard (2001). Biomimetic coatings functionalized with adhesion peptides for dental implants. J Mater Sci Mater Med 12:871-877.
- 16. BS Kim (2003). Microstructure and processing of bioactive ceramic composites as dental implants. J Kor Aca Den Tech 25:21~28.
- M Long, HJ Rack (1998) Titanium alloys in total joint replacement-a materials science perspective Biomaterials 19:1621-1639.
- 18. DR Sumner, TM Tumer, R Igloria, RM Urban, JO Galante (1998). Functional adaptation and ingrowth of bone vary as a function of hip implant stiffness. J Biomechanics 31:909-917.
- 19. T Albrektsson, ΡI Brånemark, HA Hansson. J Lindström (1981).Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensur ing а long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta Orthop Scand 52:155-170.
- 20. YH Kim (2011). Making and dual-surface treatments of the porous Ti implants for rapid osseointegration. Biomaterials 15:7-11.
- 21. WH Choi, YS Lee, DH Kim, YH Kwon, TS Bae (2003). Characterization of Titanium oxide films containing Ca and P by anodic spark deposition. J. Korea Res. Soc. Dent. Mater. 30:47-54.
- 22. DD Deligiainni, N Katsala, S Ladas, D Sotiropoulou, J Amedee, YF Missirlis (2001). Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption.





Biomaterials 22:1241-1251.

- 23. Z Schwartz, K Kieswetter, DD Dean, BD Boyan (1997). Underlying mechanisms at the bone-surface interface during regeneration. J. Periodontal Res. 32:166-171.
- 24. YT Sul, CB Johansson, K Roser, T Albrektsson (2002). Qualitative and quantitative observations of bone tissue reactions to anodised implants. Biomaterials 23:1809-1817.
- 25. YT Sul, CB Johansson, Y Jeong, A Wennerberg, T Albrektsson (2002). Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. Clin Oral Implants Res. 13:252-259.
- 26. YT Sul, CB Johansson, S Petronis, A Krozer, Y Jeong, A Wennerberg, T Albrektsson (20002). Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition. Biomaterials 23:491-501.
- 27. YT Sul, CB Johansson, T Albrektsson (2002). Oxidized titanium screws coated with calcium ions and their performance in rabbit bone. Int J Oral Maxillofac Implants 17:625-634.
- 28. YT Sul, CB Johansson, Y Kang, DG Jeon, T Albrektsson (2002). Bone reactions to oxidized titanium implants with electrochemical anion sulphuric acid and phosphoric acid incorporation. Clin Implant Dent Relat Res. 4:78-87.
- 29. YT Sul (2003). The significance of the surface properties of oxidized titanium to the bone response: special emphasis on potential biochemical bonding of oxidized titanium implant. Biomaterials 24:3893-3907.
- 30. MN Hong, YS Kim, CW Kim, KS Jang, JI Lee (2003). A study on osteoblast-like cell responses to surface-modified titanium. J Korean Academy of Prosthodontics 41:300-318.
- 31. X Liu, PK Chub,, Chuanxian Ding (2004). Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical





applications. Mater. Sci Eng R 47:49-121.

- 32. Sk Son, IT Choi, YM Ko (2017). Evaluation of calcium phosphate film coated dental implant with various electrochemical parameter. Korean J Dent Mater 44:43-51.
- 33. FCM Driessens (1982) Monographs in oral science 10 Karger.
- 34. KD Groot (1983) Bioceramics of calcium phosphate CRC Press Inc.
- 35. RZ Legreros (1991) Calcium phosphates in oral biology and medicine. Monographs Oral Sci 15 Karger.
- 36. JC Elliot (1994) Structures and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophospate. Studies in Inorganic Chem 18.
- 37. LC Chow, ED Eanes (2001) Octacalcium phosphate Karger.
- FH Lin, TL, Harn and MH Hon (1989). A study on synthesized hydroxyapatite bioceramics. Ceram. International 15:351-356.
- 39. H Rico, NG Raso, M Revilla, E.R Hernandez, C Seco, E Paez, E Crespo (2000). Effects on bone loss of manganese alone or with copper supplement in ovariectomized rats A morphometric and densitomeric study. EUR J OBSTET GYN R B. 90:97-101.
- 40. L Strause, P Saltman, KT Smith, M Bracker, MB Andon (1994). Spinal bone loss in postmenopausal women supplemented with calcium and trace minerals, J Nutr. 124:1060-1064.
- 41. O' Dell BL, RA Sunde (1997). Introduction. In: O' Dell BL, Sunde RA, editors, Handbook of nutritionally essential mineral elements, New York: Marcel Dekker 1-12.
- 42. MB. Pabbruwe, OC Standard, CC Sorrell, CR Howlett (2004). Bone formation within alumina tubes: effect of calcium, manganese, and chromium dopants, Biomaterials 25:4901-4910.
- 43. FT Afshari, JC Kwok, MR Andrews, A Faissner, CF Constant, JW Fawcett (2010). Integrin activation or alpha 9 expression allows retinal pigmented epithelial cell adhesion on Bruch's membrane in wet age-related macular degeneration, Brain 133:448-464.
- 44. M Rabinovitch, MJ DeStefano (1973). Manganese stimulates adhesion and

- 48 -



spreading of mouse sarcoma | ascites cells, J. Cell Biol. 59:165-176.

- 45. Z Zhang, B Gu, W Zhu, L Zhu (2013). Integrin mediated osteoblastic adhesion on porous manganese-incorporated TiO₂ coating prepared by plasma electrolytic oxidation. Exp.Ther.Med. 6:707–714.
- 46. MP Moreira, GDDA Soares, J Dentzer, K Anselme, LAD Sena, A Kuznetsov, EAD Santos (2016). Synthesis of magnesium- and manganese-doped hydroxyapatite structures assisted by the simultaneous incorporation of strontium. Mater. Sci. Eng. C. 61:736-743.
- 47. M Šupován (2015). Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review. Ceram international 41:9203-9231.
- 48. PS Gomes, C Botelho, MA Lopes, JD Santos, MH Fernandes (2010). Evaluation of human osteoblastic cell response to plasma-sprayed silicon-substituted hydroxyapatite coatings over titanium substrates. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 94:337-346.
- K Schwarz, DB Milne (1972). Growth-promoting effects of silicon in rats. Nature 6:333-334.
- 50. R Jugdaohsingh, KL Tucker, N Qiao, LA Cupples, DP Kiel, JJ Powell (2004). Dietary silicon intake is positively associated with bone mineral density in men and premenopausal women of the Framingham Offspring cohort. J Bone Miner Res. 19:297-307.
- 51. DM Reffitt, N Ogston, R Jugdaohsingh, HF Cheung, BA Evans, RP Thompson, JJ Powell, GN Hampson (2003). Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. Bone 32:127-135.
- 52. M Arumugam, D Ireland, R Brooks, N Rushton, W Bonfield (2004). The effect orthosilicic acid on collagen type I, alkaline phosphatase and osteocalcin mRNA expression in human bone-derived osteoblasts in vitro. Key. Eng. Mater. 254:869-872.
- 53. CM Han, EJ Lee, HH Lee, HW Kim (2013). Micro-arc oxidation and its application in implant surface modification. Biomaterials Research 17:102-108.





- 54. A Wennerburg (1998). The importance of surface roughness for implant incorporation. *Int. J. Mach. Tool. Manu.* 38:657-662.
- 55. C Yao, TJ Webster (2006). Anodization: a promising nano-modification technique of titanium implants for orthopedic applications. J. Nanosci. Nanotechnol. 6:2682-2692.
- 56. Z Schwartz, CH Lohmann, J Oefinger, LF Bonewald, DD Dean, BD Boyan (1999). Implant surface characteristics modulate differentiation behavior of cells in the osteoblastic lineage, Adv Dent Res. 13:38-48.
- 57. AL Bacarella, HS Gadiyar, AL Sutton (1981). Anodic Film Growth on Titanium at Temperatures from 200° to 257°C. *J Electrochem Soc* 128:1531-1537
- 58. NA Sato (1971). A theory for breakdown of anodic oxide films on metals. *Electrochim Acta* 16:1683-1692.
- 59. AL Yerokhin, X Nie, A Leyland (1999). Plasma electrolysis for surface engineering. Surf. Coat. Technol. 15:73-93.
- 60. KH Dittrich, W Krysmann, P Kurze, HG Schneider (1984). Structure and properties of ANOF layers. Crystal Res. Technol. 19:93-99.
- 61. JI Kang, MK Son, HC Choe, WA Brantly (2016). Bone-like apatite formation on manganese-hydroxyapatite coating formed on Ti-6AI-4V alloy by plasma electrolytic oxidation. Thin Solid Films 620:126-131.
- 62. DA Hanaor, CC Sorrell (2011). Review of the anatase to rutile phase transformation. J. Mater.Sci. 46:855-874.
- 63. YH Jeong, ES Kim, WA Brantly, HC Choe (2014). Morphology of hydroxyapatite nanoparticles in coatings on nanotube-formed Ti-Nb-Zr alloys for dental implants. Vacuum 107:297-303.
- 64. J. Lausmaa, L. Mattsson, U. Rolander, B. Kasemo (1985). Chemical composition and morphology of titanium surface oxides. MRS Online Proceedings Library Archive 55.
- 65. MN Asiah, MH Mamat, Z Khusaimi, S Abdullah, M Rusop, A Qurashi (2015). Structural and optical properties of hydrothermally synthesized mesoporous Si/TiO₂ nanowire composites. Microelectron. Eng 136:31-35.





- 66. EV Mostovshchikova, SV Naumov, RI Zainullina, NG Bebenin, TI Arbuzova, NI Solin (2015). Electron Doped CaMnO₃: Mn-Site substitution versus Ca-site substitution. Solid State Phenom. 233:169-172.
- 67. JA Luna-López, J Carrillo-López, M Aceves-Mijares, A Morales-Sánchez, C Falcony (2009). FTIR and photoluminescence of annealed silicon rich oxide films. *Superficies y Vacío* 22:11-14.
- 68. SH Kwon, YK Jun, SH Hong, HE Kim (2003). Synthesis and dissolution behavior of β -TCP and HA/ β -TCP composite powders. *J Eur Ceram Soc* 23 :1039-1045.
- 69. K Shukla, R Balasubramaniam, S Bharagava (2005). Effect of replacement of V by Fe and Nb on passive film behavior of Ti-6Al-4V in simulated body fluid conditions. *J Alloys Comp* 2005:144-152.
- 70. WG Kim, HC Choe (2009). Nanostructure and corrosion behaviors of nanotube formed Ti-Zr alloy. Trans. Nonferrous Met. Soc. China. 19:1005-1008.
- 71. G Singh, H Singh, BS Sidhu (2013).Characterization and corrosion resistance of plasma sprayed HA and HA-SiO₂ coatings on Ti-6AI-4V. Surf. Coat. Techol. 228:242-247.
- 72. X Lu, M Mohedano, C Blawert, E Matykina, R Arrabal, KU Kainer, ML Zheludkevich (2016). Plasma electrolytic oxidation coatings with particle additions - A review. Surf. Coat. Techol. 307:1165-1182.
- 73. N Ibris and JCM Rosca (2002). EIS study of Ti and its alloys in biological media. *J. Electroanalytical Chem* 526:53-62.
- 74. JEG Gonzalez and JC Mirza-Rosca (1999). Study of the corrosion behavior of titanium and some of its alloys for biomedical and dental implant applications. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 471:109-115.
- 75. E Kobayashi, TJ Wang, H Doi, T Yoneyama and H Hamanaka (1998). Mechanical properties and corrosion resistance Ti-6AI-7Nb alloy dental casting. *Mater Sci.:Mater. Med.* 9:567-574.
- 76. AK Shukla, R balasubramaniam and S Bhargava (2005). Properties of passive film on CP-Titanium, Ti-6AI-4V and Ti-13.4AI-29Nb alloys in



simulated human body conditions. Intermetallics 13:631-637.

- 77. J Pan, D Thierry and C Leygraf (1996). Electrochemical impedance spectroschopy study of the passive oxide film on titanium for implant application. *Electrochim Acta* 41:1143-1153.
- 78. X Shi, L Xu, Q Wang (2010). Porous TiO₂ film prepared by micro-arc oxidation and its electrochemical behaviors in Hank's solution. Surf. Coat. Techol. 205:1730-1735.
- 79. Z Zhang, B Gu, W Zhu, L Zhu (2013). Integrin-mediated osteoblastic adhesion on a porous manganese-incorporated TiO2 coating prepared by plasma electrolytic oxidation. Exp Ther Med. 6:707-714.
- K Anselme (2000). Osteoblast adhesion on biomaterials. Biomaterials 21: 667-681.
- 81. L Bacakova, L Grausova, J Vacik, A Fraczek, S Blazewicz, A Kromka, M Vanecek, V Svorcik (2007). Improved adhesion and growth of human osteoblast-like MG 63 cells on biomaterials modified with carbon nanoparticles. Diam Relat Mater 16:2133-2140.
- SE Rodil, C Ramírez, R Olivares, H Arzate, J Réyes-Gasga, Magaña (2006).
 Osteoblasts attachment on amorphous carbon films. Diam Relat Mater 15: 1300-1309.
- 83. HH Huang, CT Ho, TH Lee, TL Lee, KK Liao, FL Chen (2004). Effect of surface roughness of ground titanium on initial cell adhesion. Biomol Eng 21:93-97.
- MJ Dalby, MW Kayser, W Bonfield, LD Silvio (2002). Initial attachment of osteoblasts to an optimised HAPEX topography. Biomaterials 23:681-690.

