

치과용 Ti합금의 내식성에 미치는  
표면거칠기와 세포배양효과

Effects of Surface Roughness and Cell Culture on the  
Corrosion Resistance of Ti Alloy for Dental Use

2006年 2月 日

조선대학교 대학원

치 의 학 과

윤 인 한

치과용 Ti합금의 내식성에 미치는  
표면거칠기와 세포배양효과

지도교수 고 영 무

이 논문을 치의학 박사학위 논문으로 제출함.

2005년 10월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

윤 인 한

윤인한의 박사학위 논문을 인준함.

위원장	부산대학교	교수	김형일	인
위원	경북대학교	교수	김교환	인
위원	조선대학교	교수	조영곤	인
위원	조선대학교	교수	최한철	인
위원	조선대학교	교수	고영무	인

2005 년 10월 일

조선대학교 대학원

# 목 차

영문초록 .....	iv
I. 서 론 .....	1
II. 연구재료 및 방법 .....	3
III. 연구성적 .....	6
IV. 총괄 및 고안 .....	10
V. 결 론 .....	14
참고문헌 .....	15



## 표 목 차

Table 1. Composition of artificial saliva(Fusayama-Meyer type).....	5
Table 2. Surface roughness values of various surface modified Ti-6Al-4V alloys.....	7
Table 3. EIS parameters of surface modified Ti-6Al-4V alloys.....	9

## 도 목 차

Fig. 1. FE-SEM micrographs showing non-cell cultured Ti-6Al-4V surface. a) PO b) 25-SB c) 50-SB d) 125-SB.....	18
Fig. 2. Surface roughness graphs showing the surface roughness of Ti-6Al-4V alloys. a) PO b) 25-SB c) 50-SB d) 125-SB.....	19
Fig. 3. FE-SEM micrographs showing MC3T3 E-1 cell cultured Ti-6Al-4V surface. a) PO b) 25-SB c) 50-SB d) 125-SB.....	20
Fig. 4. Potentiodynamic polarization curves of surface modified Ti-6Al-4V alloys after potentiodynamic test in the artificial saliva solution at $36.5\pm 1^\circ\text{C}$ . (a) non-cell cultured (b) MC3T3 E-1 cell cultured.....	21
Fig. 5. FE-SEM micrographs of surface with non cell cultured Ti-6Al-4V alloys after potentiodynamic test in the artificial saliva solution. a) PO b) 25-SB b) 50-SB b) 125-SB.....	22
Fig. 6. FE-SEM micrographs of surface with MC3T3 E-1 cell cultured Ti-6Al-4V alloys after potentiodynamic test in the artificial saliva solution. a) PO b) 25-SB b) 50-SB b) 125-SB.....	23
Fig. 7. EIS spectra of surface modified Ti-6Al-4V alloys after AC impedance test in the artificial saliva solution at $36.5\pm 1^\circ\text{C}$ . (a), (b) Bode plot (c), (d)Bode-Phase plot (e), (f) Nyquist plot.....	24

# Effects of Surface Roughness and Cell Culture on the Corrosion Resistance of Ti Alloy for Dental Use

Yun, In-Han, D.D.S., M.S.D.

Director : Prof. Ko, Yeong-Mu, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Dentistry,

Graduate School of Chosun University

Effects of surface roughness and cell culture on the corrosion resistance of Ti alloy for dental use was studied. This study investigated the corrosion resistance and surface roughness of surface modified and MC3T3 E-1 cell cultured Ti-6Al-4V substrates. Samples with four different surface preparations were used: 0.3  $\mu\text{m}$  polished, 25  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$  and 125  $\mu\text{m}$  sandblasted. Cell culture was performed with MC3T3 E-1 mouse osteoblasts for 2 days. Average surface roughness and surface morphology was observed using roughness tester(DSF-1000, kosaka, Japan). The corrosion resistance was measured using Electrochemical impedance spectroscopy(1000kHz ~ 1MHz: M-1025, Potentiostat, Model 263, EG&G, USA)) and Potentiodynamic(-1000 mV ~ 1600 mV) test in the artificial saliva solution.

The results were as follows.:

1. The surface roughness of polished Ti alloy were smoother than that of 25, 50 and 125  $\mu\text{m}$  sandblasted Ti alloy.
2. Morphology of MC3T3 E-1 cell cultured on the Ti-6Al-4V alloy have a

quite round form. In the case of polished sample, Cell was cultured well on the surface of Ti-6Al-4V alloy. Growth and size of cell increased and cytoplasmic prolongations observed at rough surface.

3. From corrosion test of sandblasted and cell cultured Ti-6Al-4V alloy, corrosion resistance decreased as surface roughness increased. Corrosion resistance of cell cultured Ti-6Al-4V alloy increased predominantly in compared with non cell cultured Ti-6Al-4V alloy due to inhibition of the dissolution of metal ion by covered cell.

# I. 서 론

티타늄과 그 합금은 우수한 내식성과 생체적합성 및 세포조직에 대한 독성과 알레르기 반응이 없기 때문에 의료용 및 치과용 임플란트 재료로 많이 사용되고 있다(Niinomi, 1998; Davies 등, 1990; Therin 등, 1991; Van, 1987). 티타늄 합금은 대기 중에 노출 되면  $TiO_2$ 라는 자연적인 산화막이 형성되어 내식성을 향상시키고 생리용액의 구성성분, 단백질, 경조직 및 연조직이 재료표면에 부착하는데 중요한 역할을 함으로써, 티타늄 합금의 우수한 생체적합성에 많은 기여를 할 뿐만 아니라 골 유착에도 중요한 역할을 한다고 보고되었다(Krupa 등, 2001). 그러나 이러한 자연적으로 형성된 산화막은 높은 생체활성을 유도하기에는 두께가 얇고 경도와 내마모성이 낮고 많은 격자결함을 지니고 있어 공식(pitting) 등이 발생하기 쉽다는 단점이 있다(Brauner 등, 1993). 따라서 생체조직과의 반응이 우수한 부동태막이라고 할 수 없기 때문에  $TiO_2$ 층을 두껍고 견고하게 하거나 적절한 표면처리 방법을 이용하여 표면에너지를 높임으로써 생체활성과 골 유착을 높이려는 연구가 폭 넓게 진행되어 왔다(Andrade 등, 2000). 또한 티타늄 합금은 자체적으로 생체불활성인 특성을 갖는데, 이로 인해 골과 직접 결합하지 못하고 골형성을 적극적으로 유도하지 못한다는 단점을 가지고 있다. 따라서 합금의 표면에 다양한 처리를 함으로써 정상치유와 새로운 골 및 주변조직의 생성과 유도에 영향을 줄 수 있으므로 티타늄 표면의 미세 결정구조를 변화하기 위한 방법들이 연구되어 오고 있다. 이렇게, 치과용 티타늄 임플란트의 표면 특성을 조절하는 것은 골과 연조직이 치유되는 동안 이상적인 조직반응을 위하여 매우 중요하며, 따라서 최적의 골 유착을 얻기 위한 티타늄 임플란트 표면의 처리방법에 관한 많은 연구가 활발하게 진행되고 있다(Giglio 등, 2001; 김태영 등, 2002). 이러한 표면처리 방법으로는 인산, 칼슘분말을 플라즈마를 이용하여 분사하는 방법, 양극산화법 및 sandblasting법 등 여러 가지 방법이 있으며 표면처리를 통하여 거칠기를 부여하고 이에 따라 골과의 친화성을 증가시켜 생체활성도를 높이는 방법이 많이 사용

되고 있다(Ban 등, 1999; Groot, 1987; Hanawa, 1996). Buser 등(1991;1999)등에 의하면 골과 임플란트의 유착은 표면거칠기에 따라 증가하며 표면처리된 임플란트에서 골조직과의 결합성이 우수함을 보고한 바 있다. 이러한 연구는 주로 표면의 거칠기가 골유착에 미치는 세포의 성장 또는 부착정도를 평가하는 방법들이고 세포가 표면에 성장된 경우 금속이온의 용출로 인하여 골유착에 미치는 영향에 대하여는 고찰한 연구가 미미하다. 이는 세포의 성장이 표면거칠기에 따라 어떻게 이루어지는가와 또한 표면거칠기에 따라 성장된 세포가 배양된 표면에서의 전기화학적인 평가를 통하여 금속이온의 용출에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 연구가 필요하게 되었다.

따라서 본 연구에서는 거칠기를 부여하기 위하여 Ti-6Al-4V 합금의 표면에 입자의 크기가 다른  $Al_2O_3$ 를 이용하여 sandblasting 처리한 후, 골 내부에서 성장하는 osteo-blast MC3T3-E1 세포를 Ti-6Al-4V 합금표면에 배양하였고, 그에 따른 표면의 전기화학적 특성을 알아보려고 하였다.

## II. 연구재료 및 방법

### 가. 연구재료

본 연구에서는 Ti-6Al-4V 합금을 준비하여 직경 10 mm, 두께 1 mm의 원통형으로 제작하여 실험에 사용하였다.

### 나. 연구방법

#### 1. 표면처리

총 4개 군으로 나누어 표면처리를 시행하였다. 제 1군은 SiC(silicon carbide)연마지를 이용하여 #100, #400, #800, # 1200으로 연마한 후, 1.0  $\mu\text{m}$  및 0.3  $\mu\text{m}$   $\text{Al}_2\text{O}_3$  분말용액을 이용하여 polishing처리(제 1군, PO) 하였다. 나머지 군은 1군과 같은 표면처리 과정을 거친 후, 10분간 초음파세척 하고 시편 표면에 각각 25  $\mu\text{m}$  (제 2군, 25-SB), 50  $\mu\text{m}$ (제 3군, 50-SB) 및 125  $\mu\text{m}$ (제 4군, 125-SB) 입자크기의 불규칙형  $\text{Al}_2\text{O}_3$  분말로 sandblasting 처리를 행하였다. 모든 표면처리가 끝난 시편은 아세톤 및 증류수로 각각 10분씩 초음파 세척을 하였다.

#### 2. 세포배양 및 관찰

MC3T3 E-1 세포는 구강 내 두개골에서 추출한 후 배양하여 사용하였다. 추출한 세포를 10% FBS(fetal bovine serum) 가 첨가된 alpha modified Eagle's minimum essential medium을 배지로 사용하여 37°C에서  $4 \times 10^4 \text{ cm}^2$ 로 48 시간동안 배양하였다. 배양한 후에는 PBS로 세척한 후, 70% ethanol로 20분 간 안정화하였다. 안정화시킨 후에는 위하여 2.5% glutaldehyde로 완충된 나트륨인산염에서 고정시킨 후 같은 완충제에서 세척하였다. 세척이 끝난 후에는 1%  $\text{O}_3$  가 첨가

된  $\text{HgCl}_2$  과포화용액에서 후고정시키고(post fixed), ethanol로 탈수 시켰다. 모든 과정이 끝나면 임계건도 한 후 백금으로 코팅하여 FE-SEM으로 조직을 관찰하였다(Anselme 등, 2000; Bigerelle 등, 2002; Linez-Bataillon 등, 2002).

### 3. 표면특성

표면특성을 조사하기 위하여 세포를 배양하기 전에 각 군에서 임의로 시편을 5개씩 선택하여 표면거칠기 시험기(DSF-1000, kosaka, Japan)로 평균 표면거칠기를 측정하였다. 또한, FE-SEM(field emission scanning electron microscopy)을 사용하여 거칠기에 따른 시편 표면상태를 관찰하였다.

### 4. 부식 특성

Ti-6Al-4V 합금의 부식특성을 알아보기 위해 전기화학적인 방법(Potentiostat, Model 263, EG&G, USA)을 이용하였으며,  $-1000 \text{ mV} \sim 1600 \text{ mV}$ 까지 동전위 분극실험(potentiodynamic)을 행하였고,  $1000 \text{ KHz} \sim 1 \text{ MHz}$ 까지 교류 주파수 측정 실험(A.C. impedance)을 행하였다. 실험용액으로는  $37^\circ\text{C}$ 의 인공타액(Fusayama-Meyer type)이 사용되었는데 Table 1에 그 화학적 조성을 나타내었다. 실험용액은 실험이 시작되기 30분 전 부터 끝날 때 까지 아르곤가스를 흘려보내 탈기된 분위기를 유지시켜 주었으며, 기준전극(reference electrode)으로는 포화감홍전극(saturated calomel electrode, SCE)을 보조전극(counter electrode)으로는 고밀도 탄소전극을 작업 전극은 시편을 각각 사용하였다.



Table 1. Composition of artificial saliva(Fusayama-Meyer type)

Component	Composition
NaCl	0.4g
KCl	0.4g
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.906g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.690g
Na <sub>2</sub> S · 9H <sub>2</sub> O	0.005g
Urea	1g
Distilled Water	1000ml

### Ⅲ. 연구 성적

#### 1. 표면분석

Fig. 1 은 Ti-6Al-4V 합금을 0.3  $\mu\text{m}$ 까지 연마 처리한 표면과 각각 25  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$ , 125  $\mu\text{m}$ 입자 크기의  $\text{Al}_2\text{O}_3$ 를 샌드블라스팅처리한 표면을 FE-SEM으로 보여주고 있다. 0.3  $\mu\text{m}$ 로 연마처리한 시편의 표면은 매우 매끄럽게 나타났다.

Fig. 2 는 표면처리한 Ti-6Al-4V 합금의 평균 표면거칠기를 나타낸 그래프이다. 0.3  $\mu\text{m}$ 로 연마처리한 시편의 경우에는 거칠기의 폭이 대부분 0.2 ~ -0.2 구간에서 발생하였고, 25  $\mu\text{m}$ 로 샌드블라스팅처리한 시편의 경우에는 1.0 ~ -1.0구간에서, 50  $\mu\text{m}$ 로 처리한 시편은 2.0 ~ -2.0구간, 125  $\mu\text{m}$ 로 처리한 경우에는 4.0 ~ -4.0구간으로 거칠기의 폭이 증가하였다. 이를 데이터화 하여 Table 2에 나타내었다. 연마처리한 시편의 평균 거칠기 값은 가장 낮은 0.1127  $\mu\text{m}$ 이고 125  $\mu\text{m}$  크기의 입자로 샌드블라스팅처리한 시편의 거칠기 값은 1.2724  $\mu\text{m}$ 로 가장 높았다.

#### 2. *Oseteo-blast MC3T3 E-1* 세포배양

Ti-6Al-4V합금의 표면에 MC3T3 E-1 세포를 배양한 후, FE-SEM으로 표면을 관찰한 결과, 세포는 모든 시편에서 불규칙한 형태로 성장하였고 활발한 세포내 이동을 의미하는 lamellipode는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 3). 연마처리한 시편의 경우에는 여러 방향에 걸쳐 기다란 세포질 신장(cytoplasmic prolongation)과 다양한 세포질 돌기(microvilli)가 관찰되었다. 또한 각 세포는 세포내부의 연결선을 보여주고 있다(Bigerelle 등, 2002; Linez-Bataillon 등, 2002). 샌드블라스팅처리한 시편의 경우에는 좋은 접착성을 암시하는 기다란 외반(evagination)을 가진 구 형태로 나타났으며 세포질 연장선은 거의 관찰되지 않았다(Bigerelle 등, 2002;

Linez-Bataillon 등, 2002).

Table 2. Surface roughness values of various surface modified Ti-6Al-4V alloys

Sample	Values	$R_a$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_z$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_{\text{max}}$ ( $\mu\text{m}$ )
PO		0.1127	0.5439	0.8710
25-SB		0.3979	2.1406	3.2610
50-SB		0.7285	3.7143	6.6540
125-SB		1.2724	6.0543	8.8840

### 3. 부식특성

#### 3-1. 동전위 분극곡선

세포를 배양하기 전과 후의 Ti-6Al-4V 합금의 동전위 분극 곡선은 Fig. 4와 같으며 세포를 배양하기 전의 모든 시편에서는 부동태 피막이 형성되었으며 polishing 처리한 시편의 경우에는 넓은 범위에 걸쳐 부동태 피막이 형성되었다. 거칠기 값이 가장 낮은 연마처리한 시편은 낮은 전류밀도에서 부동태피막을 형성하였고 거칠기 값이 증가할수록 부동태피막을 형성하는 전류밀도가 증가하였다.

양극분극시험 후, 표면을 FE-SEM으로 관찰한 사진으로 MC3T3 E-1 세포를 배양 시편에서는 세포를 배양하지 않은 경우에 비해 더 많은 부식생성물이 표면

에 형성되었고, sandblasting처리된 경우는 나타나지 않았다(Fig. 5~6).

### 3-2. EIS(Electrochemical Impedance Spectroscopy)

AC impedance test후 Ti-6Al-4V 합금의 Bode plot과 Bode phase plot을 나타내고 있다(Fig. 7(a~b)). 세포를 배양하지 않은 시편보다 세포를 배양한 시편의 경우 전체적으로 분극저항 값이 크게 증가하였다. 세포를 배양하지 않은 경우 25  $\mu\text{m}$ 로 샌드브라스팅처리한 시편의 부동태피막구간이 가장 길게 나타났고 세포를 배양한 경우 모든 시편이 유사한 부동태 피막 구간을 나타냈으며 그중 0.3  $\mu\text{m}$ 로 연마처리한 시편의 경우가 가장 우수 부동태피막 구간을 나타냈다.

Ti-6Al-4V 합금의 Nyquist plot에서 세포를 배양하지 않은 Ti-6Al-4V 합금의 경우 25  $\mu\text{m}$ 입자 크기의  $\text{Al}_2\text{O}_3$ 로 샌드브라스팅처리한 경우에서 순수 capacitance 거동이 나타났다(Fig. 7(e~f)). 세포를 배양한 시편의 경우 매우 유사한 거동을 나타내었다. Fig. 7을 통해 확인했듯이 분극저항은 세포 배양하지 않은 경우 25-SB에서 가장 높은 값을 나타내었던 반면 세포를 배양한 경우 polishing처리한 시편의 경우 가장 높은 값을 나타내었다. 또한 세포를 배양하지 않은 경우에 비해  $R_p$ 의 값이 증가하였음을 알 수 있었다(Table 3, Fig. 7).

Table 3. EIS parameters of surface modified Ti-6Al-4V alloys

<b>Sample</b>		<b><math>R_p</math> (<math>\Omega\text{cm}^2</math>)</b>	<b><math>R_s</math> (<math>\Omega\text{cm}^2</math>)</b>
	PO	864,940	60.3
Non cell cultured	25-SB	1,318,205	43.1
	50-SB	1,284,847	51.0
	125-SB	473,895	54.8
MC3T3 E-1 cell cultured	PO	5,259,953	47.3
	25-SB	1,819,949	51.4
	50-SB	1,309,948	52.4
	125-SB	936,940	59.9

## IV. 총괄 및 고안

티타늄 합금은  $TiO_2$  산화막의 형성으로 골유착이 우수한 재료로 잘 알려져 있다. 이러한 산화막은 내식성을 향상시키며, 경조직 및 연조직이 재료표면에 부착하는데 중요한 역할을 하는데 이러한 특성은 생체적합성에 많은 기여를 할 뿐만 아니라 골 유착에도 중요한 역할을 한다(Krupa 등, 2001). 그러나 임플란트의 표면을 증가시켜 더 나은 골유착을 유도하려는 시도가 오래전부터 이루어져 왔으며 표면처리 방법으로는 인산, 칼슘 분말을 플라즈마 분사법, 양극산화법 및 샌드브라스팅법 등을 사용하여 표면에 거칠기를 부여하였다. 거칠기가 부여됨으로써 어떤 경우는 내식성을 크게 감소시키고 어떤 경우는 내식성을 향상시키는 경우도 있다. 내식성은 생체 내에서 임플란트 표면에서 금속이온의 용출과 밀접한 관계가 있으며 세포의 성장이 내식성에 미치는 영향을 고찰할 필요가 있다.

지금까지 거의 대부분의 연구가 표면거칠기를 부여하고 주로 표면의 거칠기가 골유착에 미치는 세포의 성장 또는 부착정도를 평가하는 방법들에 국한 되어있고 세포가 표면에 성장된 경우 금속이온의 용출로 인하여 골유착에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 없다.

본 연구에서는 세포의 성장이 표면거칠기에 따라 어떻게 이루어지고 표면거칠기에 따라 성장된 세포가 배양된 표면에서의 이온의 용출거동은 어떠한가에 대하여 연구하였다.

본 실험에서 Ti-6Al-4V 합금의 표면에  $Al_2O_3$ 를 이용하여 샌드브라스팅 처리하고 골 내부에서 성장하는 osteo-blast MC3T3-E1 세포를 합금표면에 배양하여 전기화학적 특성을 측정된 결과를 보면 Ti-6Al-4V 합금의 표면에 MC3T3 E-1 세포를 배양한 후, FE-SEM으로 표면을 관찰한 결과에서 세포는 모든 시편에서 불규칙한 형태로 성장하였다(Fig. 3). 연마처리한 시편의 경우에는 여러 방향에 걸쳐

기다란 세포질 신장(cytoplasmic prolongation)과 다양한 세포질 돌기(microvilli)가 관찰되었는데 이는 기존의 연구자들의 보고에 의하면 매끄러운 표면에서는 세포가 많이 증식하지만, 거친 표면에서는 세포가 많이 증식하지는 않고 크게 성장하는 것인데(Anselme 등, 2000; Bigerelle 등, 2002; Linez-Bataillon 등, 2002). 본 연구에서도 이전의 연구와 유사하게 매끄러운 표면에서는 세포가 여러 방향으로 증식되어 있었고 거친 표면에서는 세포가 크게 성장한 모습을 관찰할 수 있었다. 표면의 거칠기는 산화알루미나의 입자크기에 따라 좌우되며 Fig. 1과 2에서 연마한 경우에 비하여 알루미나의 입자크기가 증가할수록 거칠기가 증가함을 보였다. 따라서 세포의 성장도 표면거칠기에 따라 큰 세포가 거친 시편에서 주로 보이고 연마한 경우는 전체 면에서 세포가 덮여져 있는 양상으로 나타났다. 이러한 세포의 배양이 표면의 부식특성에 미치는 영향은 동전위분극시험을 통하여 쉽게 알아볼 수 가있는데 Ti-6Al-4V 합금에 세포를 배양하기 전과 후의 동전위 분극곡선을 살펴본 결과, 세포를 배양하기 전의 모든 시편에서는 부동태 피막이 형성되지만 거칠기 값이 증가할수록 부동태피막을 형성하는 영역에서 변화가 있음을 알 수 있다(Fig. 4). 즉 전류밀도가 표면이 거칠어짐에 따라 크게 증가하여 부동태피막 형성 영역이 크게 우측으로 이동한 양상을 보인다. 이는 위에서 언급한 바와 같이 표면의 거칠기가 증가할 수 록 내식성이 감소하는데 전기화학적 반응을 할 수 있는 자리를 제공하기 때문이다. MC3T3 E-1 세포를 배양 한 후의 분극곡선에서 세포를 배양하지 않은 시편의 경우에 비하여 큰 차이는 없지만 거칠기 값이 낮아질수록 약간 낮은 전류밀도에서 부동태 피막이 형성된다. 특히 세포를 배양하기 전의 경우와 다른 점은 부동태 피막의 형성의 범위가 작아 졌고 거의 모든 시편이 비슷한 부동태전류밀도 영역에서 존재하여 표면에 세포가 배양됨으로써 표면의 거칠기 효과를 상쇄시키는 효과를 나타낸 것으로 생각된다. 또한 세포 배양된 경우는 분극곡선의 넓은 전위범위에 걸쳐 매우 불안정한 곡선의 형태를 보이는데 이는 세포에 의한 전하의 흐름을 방해하는 효과가 있어 표면이 불안정할 때 나타나는 분극현상을 보이고 있다. 즉 이러한 현상은 인공타액 내에 존재하는 불화이온과 MC3T3 E-1 세포가 부식특성에 영향을 준 것으로 생각된다. 인공타액

내에 존재하는 불화이온의 영향은 Ti합금을 평가한 Ibris와 Rosca(Rosca 등, 2002)의 보고서에서 보고되었는데, Ti-7Al-4.5V 합금과 Ti-5Al-2.5Fe 합금이 불화이온이 포함된 인공타액 내에 침전되면 부동태피막은 불화이온에 의해 용해된다고 설명하고 있다(Gonzalez 등, 1999). 이러한 전류의 파동은 활성화 영역과 부동태 영역의 사이의 전위에서 현저하게 나타나는데, 이 영역에서의 부동태피막은 매우 불안정한 것으로 알려져 있다. 분극곡선에서 양극 반응은 전류를 증가시키는 반면, 부동태 피막의 형성은 전극의 활성화표면을 방해하며 전류를 감소시키는데, 이러한 두 가지 자발적인 현상으로 인하여 전류밀도의 파동이 발생하는 것으로 보고되고 있다(Gonzalez 등, 1999). 이러한 전류밀도의 파동은 MC3T3 E-1 세포를 배양한 경우가 세포를 배양하지 않은 시편에 비해 훨씬 더 넓은 범위에 걸쳐 나타난 것으로 보아 세포가 전기적 부식 특성에 영향을 준 것으로 보인다. 이러한 불안정한 영역을 지나서 전위가 증가하면 시편의 표면은 안정해지기 시작하고 분극곡선 상에서 부동태 영역이 발생하기 시작한다. 부식 후 주사전자현미경으로 관찰한 사진에서 세포를 배양하지 않은 시편의 경우 거칠기가 증가함에 따라 산화알루미나 입자가 표면 거칠기를 형성한 자리에서 공식이 집중적으로 발생된 양상을 보이고 커다란 핏트가 발견되고 있다(Fig. 5(c), (d)). 그러나 세포배양된 표면에서는 거의 부식의 양상이 갖게 나타나 있다(Fig. 6). 표면거칠기가 가장 낮은 연마시편은 거의 부식이 되지 않았지만 (b), (c) 및 (d)는 부식이 심하게 된 양상이다. 이와 같이 표면거칠기에 따라 부식의 정도차이가 거의 없는 이유는 세포배양 효과로 분극곡선에서 나타난 특성과 잘 일치하고 있음을 알 수 있다.

impedance 데이터는 부동태피막의 특성을 정교하게 교류전압을 이용하여 측정할 수 있는 방법으로 세포배양시 부동태영역에서의 전기화학적인 거동을 고찰할 수 있다. Bode phase plot을 살펴보면 모든 시편에서 phase angle이 고주파수에서 0°쪽으로 떨어지다가 증가하는 것을 관찰할 수 있는데 이러한 고주파수영역에서의 impedance는 용액의 저항( $R_s$ ) 때문이다.(Gonzalez 등, 1999; Kobayashi 등, 1998; Rosca 등 2002). 또한 중 주파수 및 저 주파수영역에서 phase angle이 낮은 값으로 떨어지는 경우를 관찰할 수 있는데 이는 impedance에서 표면필름의 저항



에 의해 지배를 받은 것이다. 또한 넓은 frequency 영역에 걸쳐 phase angle이  $90^\circ$ 에 가깝게 일정한 phase가 존재하는데, 이는 모든 시편에서 capacity 반응을 나타내고 있으며 이런 현상은 표면에 존재하는 부동태피막의 형성을 암시한다. 따라서  $90^\circ$ 에 가까운 phase angle 영역이 넓을수록 매우 안정한 부동태피막을 형성하여 내식성이 우수함을 의미한다(Fig. 7의 c,d). Bode magnitude plot은 모든 시편에서 2개 영역으로 특성화되는 유사한 현상을 보였다(Gonzalez 등, 1999; Kobayashi 등, 1998; Rosca 등 2002)(Fig. 7(a), (b)). 먼저, 고 frequency 영역에서의 bode magnitude plot은 phase angle이 0에 가까워질수록  $\log(f)$ 에 따른  $\log |Z|$ 의 값이 일정하였는데 이는 전해질의 저항 ( $R_s$ )에 의한 것이다. 중, 저의 frequency 영역에서는  $\log(f)$ 에 따른  $\log |Z|$ 의 값이 대략 -1에 가까운 기울기를 갖는 것을 확인하였는데 이것은 순수 capacitive한 지역에서 Ti합금에 대한 조밀한 부동태 피막의 capacitance( $C_p$ )를 의미한다(Gonzalez 등, 1999; Kobayashi 등, 1998; Rosca 등, 2002). 이러한 해석을 바탕으로 그래프를 관찰하면 세포를 배양하지 않은 시편보다 세포를 배양한 시편의 경우 전체적으로 표면에 세포막의 영향으로 내식성이 향상되었음을 알 수 있었다.

결론적으로 표면의 거칠기가 증가할수록 내식성을 크게 감소시키며 세포가 배양된 경우는 표면의 거칠기의 효과보다는 세포의 배양효과가 우선적으로 전기화학적 특성에 기여한 것으로 생각되었다.

## V. 결 론

Ti-6Al-4V 합금 표면에  $Al_2O_3$ 로 샌드브라스팅 처리한 후 osteo-blast MC3T3 E-1 세포를 배양하여 전기화학적인 부식 특성을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 표면 평균거칠기 값은 연마한 경우에 가장 낮았으며 25  $\mu m$ , 50  $\mu m$  및 125  $\mu m$ 크기의 산화알루미나 입자로 샌드브라스팅 처리한 순으로 거칠기 값이 증가하였다.

2. Ti-6Al-4V 합금에 MC3T3 E-1 세포를 배양하여 관찰한 결과, 세포는 모든 시편에서 구 모양을 나타냈으며 연마처리된 경우의 세포성장은 거칠기를 부여한 경우에 비하여 잘 이루어졌으며 거칠기가 증가할수록 세포질 연장선이 관찰되고 세포의 크기가 증가하였다.

3. Ti-6Al-4V 합금의 표면에 샌드브라스팅처리한 후 세포를 배양하여 부식특성을 관찰한 결과, 표면 평균 거칠기 값이 증가할수록 내식성은 감소하는 경향을 나타내었고 세포가 성장된 경우에 표면거칠기에 의한 내식성을 감소를 억제하는 효과가 나타났다.

결론적으로 표면의 거칠기가 증가할수록 내식성을 크게 감소시키며 세포가 배양된 경우는 표면의 거칠기의 효과보다는 세포의 배양효과가 우선적으로 전기화학적인 특성에 기여한 것으로 생각되었다.

## 참 고 문 헌

- 김태영, 손원우, 권태엽, 강인규, 김교환(2002). 전기화학법에 의한 Ti양극산화피막의 특성. *대한치과기재학회지* 29:253-261.
- Andrade MC, Sader MS, Filgueiras MRT, Orasawara T(2000). Microstructure of ceramic coating on titanium surface as a result of hydrothermal treatment. *J Mater Sci; Mater Med* 11:751-755.
- Anselme K, Linez P, Bigerelle M(2000). The relative influence of the topography and chemistry of Ti6Al4V surfaces on osteoblastic cell behaviour. *Biomaterials* 21:1567-1577.
- Ban S, Matsuo K, Mizutani N, Hasegawa J(1999). Hydrothermal-electrochemical deposition of calcium phosphates on various metals. *Dent Mater* 259-270.
- Bigerelle M, Anselme K, Noël B, Ruderman I, Hardouin P, Iost A (2002). Improvement in the morphology of Ti-based surfaces: a new process to increase in vitro human osteoblast response. *Biomaterials* 23:1563-1577.
- Brauner H (1993). Corrosion resistance and biocompatibility of physical vapour deposition coatings for dental applications. *Surf Coat Technol* 62:618-625.
- Buser D, Nydegger T, Oxalund T(1999). Interface shear strength of titanium implants with sandblasted and acid-etched surface: A biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 45:75-83.
- Buser D, Schenk S, Steinemann JP, Fiorellini CH, Fox H Stich(1991). Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implant: A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 25:889-902.

- Davies JE, Lowenberg B, Shiga A(1990). The bone-titanium interface in vitro. *J Biomed Mat Res* 24:1289-1306.
- Giglio E, Guascito MR, Sabbatin L, Zambonin G(2001). Electropolymerization of pyrrole on titanium substrates for the future development of new biocompatible surfaces. *Biomaterials* 22:2609-2616.
- Gonzalez JEG, Mirza-Rosca JC(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.
- Groot K, Geesink R, Klein CPAT, Serekian P(1987). Plasma sprayed coatings of hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res* 21:1375-1381.
- Hanawa T, Asami K, Asaoka K(1996). Microdissolution of calcium ions from calcium-ion-implanted titanium. *Corros Sci* 38:1579-1594.
- Ibris N, Rosca JCM(2002). EIS study of Ti and its alloys in biological media. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 526:53 - 62.
- Kobayashi E, Wang TJ, Doi H, Yoneyama T, Hamanaka H(1998). Mechanical properties and corrosion resistance Ti-6Al-7Nb alloy dental casting. *Mater Sci: Mater Med* 9:567.
- Krupa D, Baszkiewicz J, Kozubowski JA, Barcz A, Sobzak JW, Bilinski A, Lewandowska-Szumiel MD, Rajchel B(2001). Effect of calcium-ion implantation on the corrosion resistance and biocompatibility of titanium. *Biomaterials* 22:2139-2151.
- Niinomi M(1998). Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Materials Sci Eng A* 243:231-236.
- Linez-Bataillon P, Monchau F, Bigerelle M, Hildebrand HF(2002). In vitro MC3T3 osteoblast adhesion with respect to surface roughness of Ti6Al4V substrates. *Biomolecular Engineering* 19:133-141.
- Therin M, Meunier A, Christel P(1991). A histomorphometric comparison of the

muscular tissue reaction to stainless steel, pure titanium and titanium alloy implant materials. *J Mat Sci Mat in Med* 2:1-8.

Van NR(1987). Titanium : The implant material of today. *J Mater Sci* 22:3801-3811.

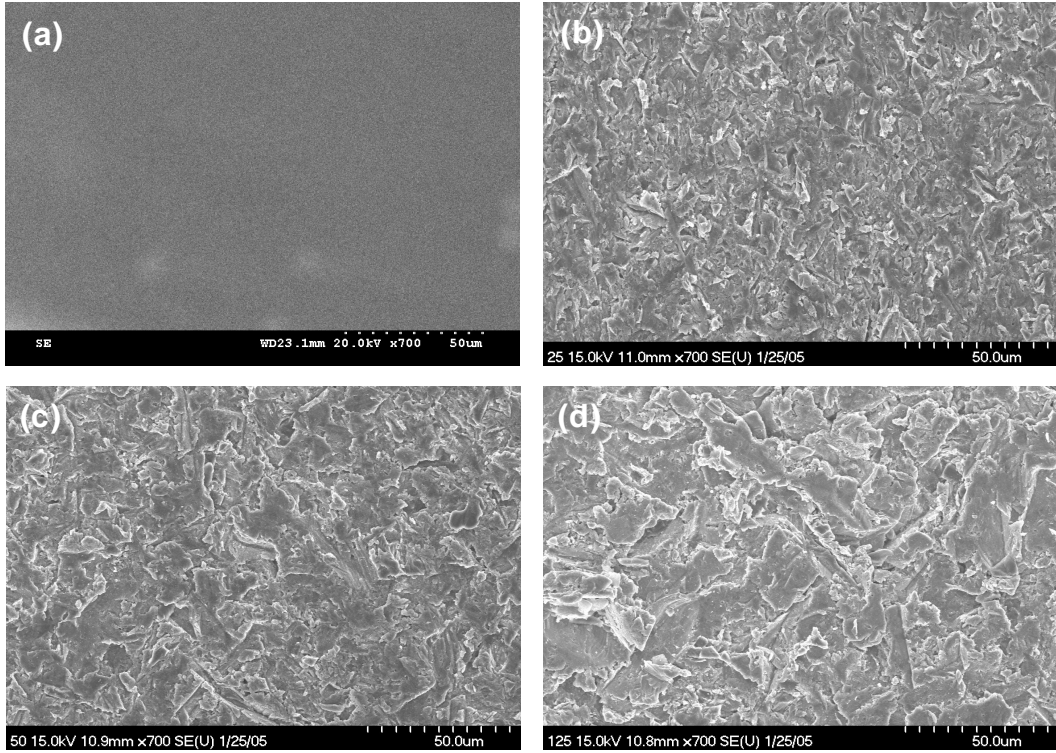


Fig. 1. FE-SEM micrographs showing non-cell cultured Ti-6Al-4V surface.  
(a) PO, (b) 25-SB, (c) 50-SB, (d) 125-SB.

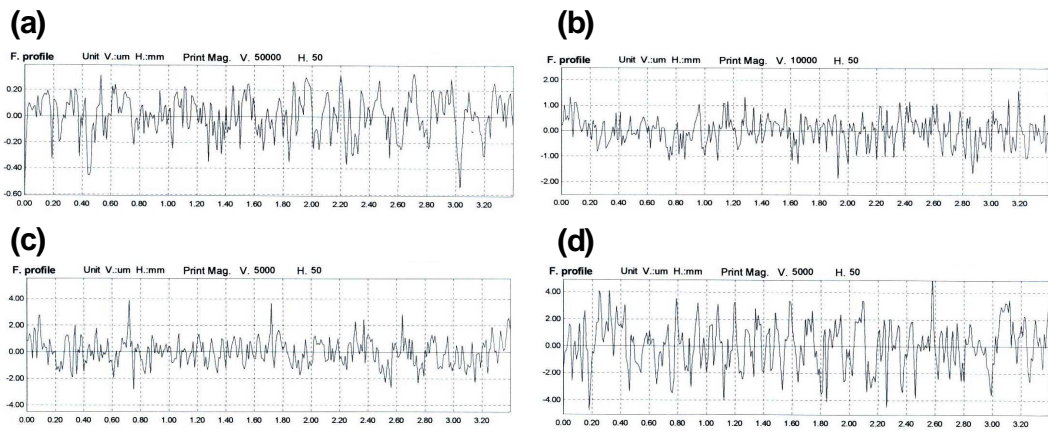


Fig. 2. Surface roughness graphs showing the surface roughness of Ti-6Al-4V alloys. (a) PO, (b) 25-SB, (c) 50-SB, (d) 125-SB.

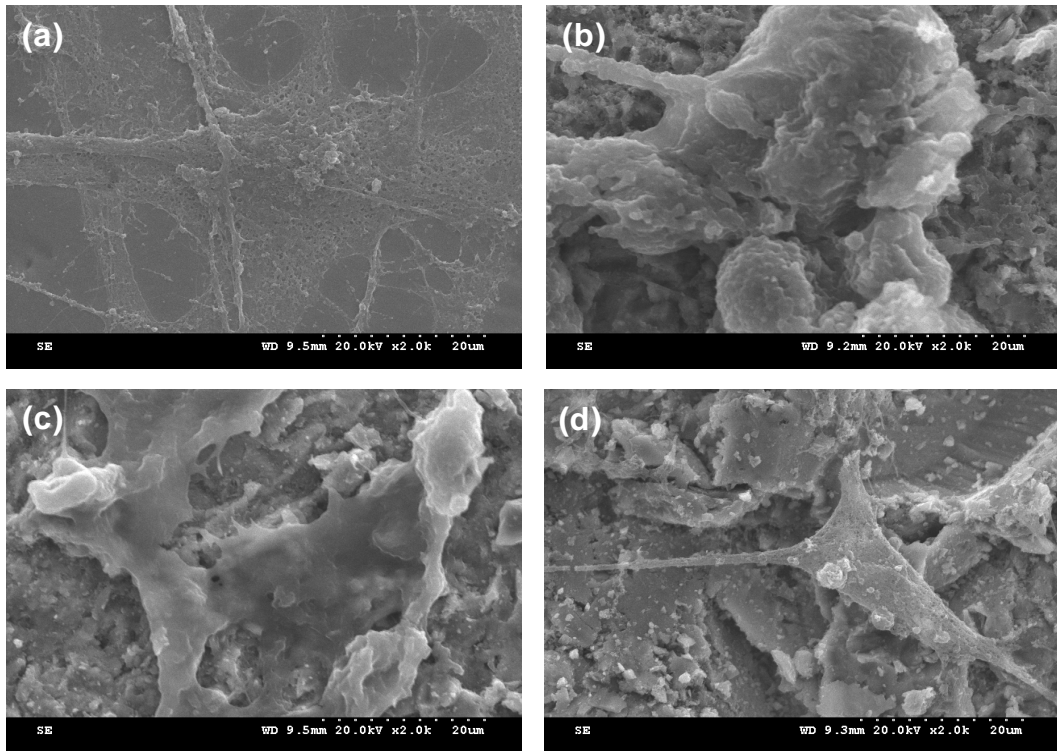


Fig. 3. FE-SEM micrographs showing MC3T3 E-1 cell cultured Ti-6Al-4V surface. (a) PO, (b) 25-SB, (c) 50-SB, (d) 125-SB.



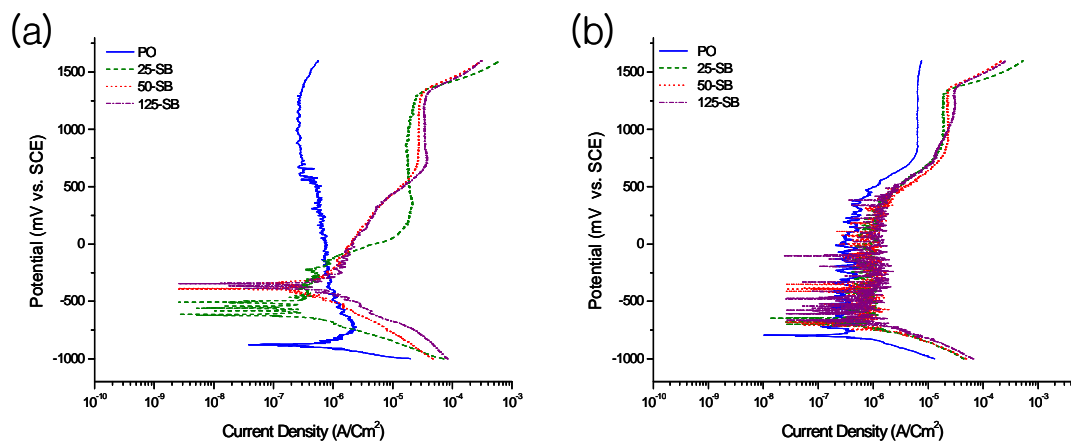


Fig. 4. Potentiodynamic polarization curves of surface modified Ti-6Al-4V alloys after potentiodynamic test in the artificial saliva solution at  $36.5 \pm 1^\circ\text{C}$ . (a) non-cell cultured, (b) MC3T3 E-1 cell cultured.

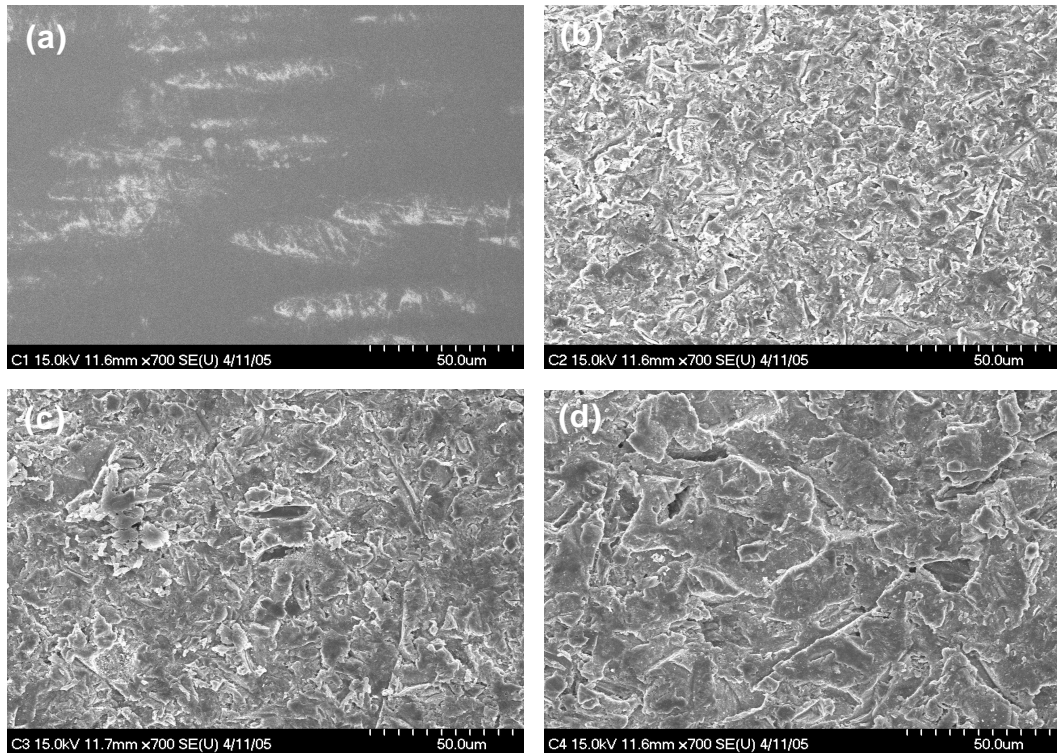


Fig. 5. FE-SEM micrographs of surface with non cell cultured Ti-6Al-4V alloys after potentiodynamic test in the artificial saliva solution. (a) PO, (b) 25-SB, (c) 50-SB, (d) 125-SB.

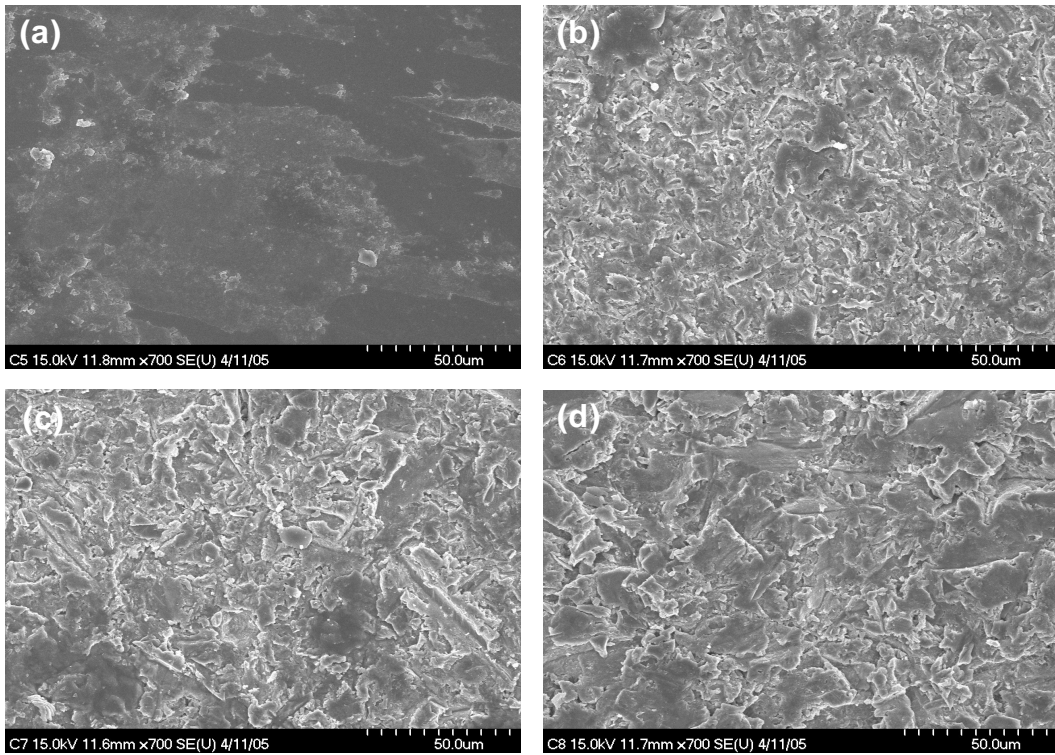


Fig. 6. FE-SEM micrographs of surface with MC3T3 E-1 cell cultured Ti-6Al-4V alloys after potentiodynamic test in the artificial saliva solution. (a) PO, (b) 25-SB, (c) 50-SB, (d) 125-SB.

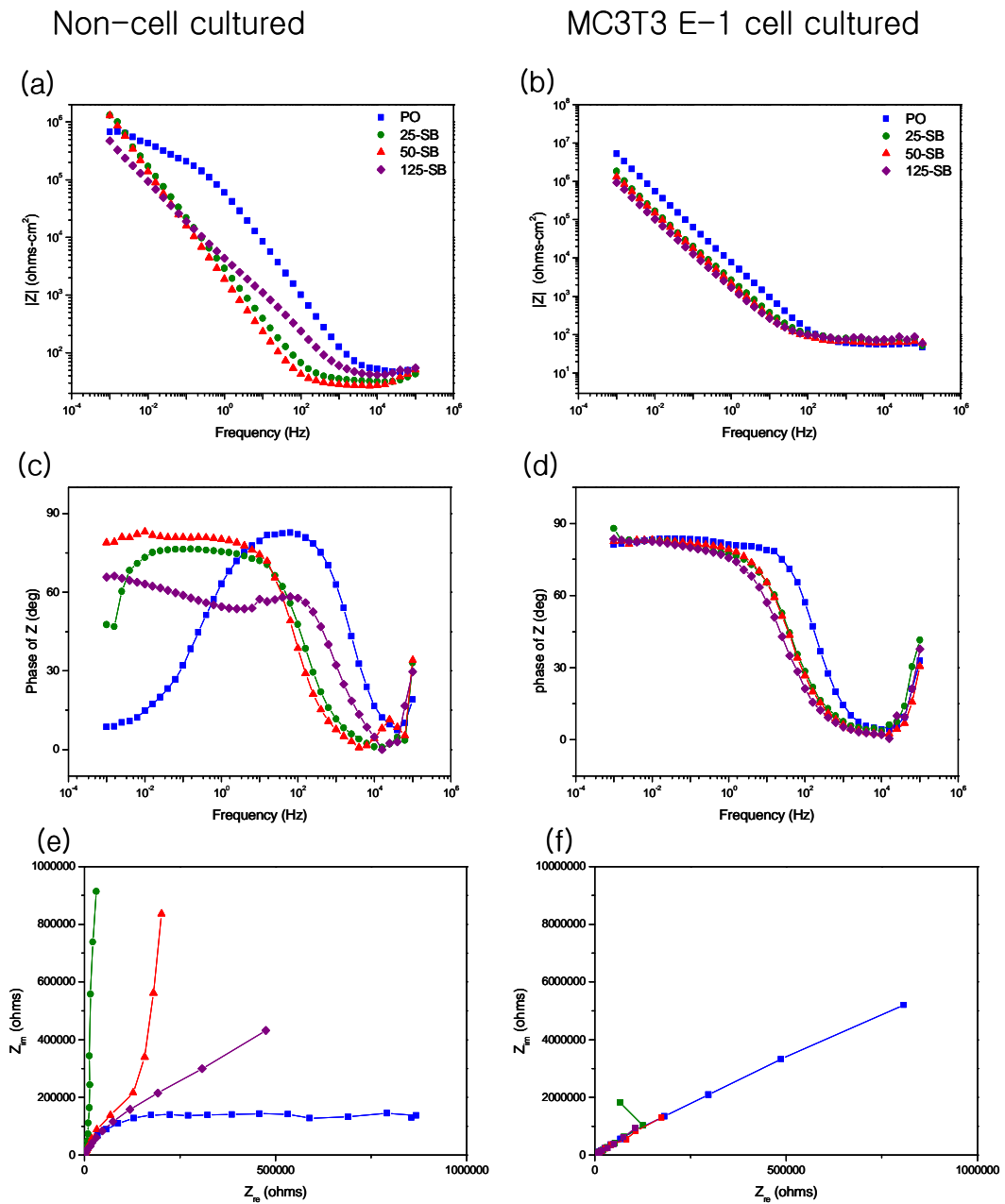


Fig. 7. EIS spectra of surface modified Ti-6Al-4V alloys after AC impedance test in the artificial saliva solution at 36.5±1°C. (a), (b) Bode plot, (c), (d) Bode-Phase plot, (e), (f) Nyquist plot.