



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

치과 임플란트용 Ti-6Al-4V 합금 표면의 나노튜브 제조 및 세포부착 특성

Fabrication and Cell Attachment Characteristics of Nanotubes
on the Surface of Ti-6Al-4V Dental Implant Alloy

2009년 8월 일

조선대학교 대학원

치 의 공 학 과

안 훈

치과 임플란트용 Ti-6Al-4V 합금
표면의 나노튜브 제조 및 세포부착 특성

지도교수 김 동 기

이 논문을 치의학 박사학위신청 논문으로 제출함

2009년 4월 일

조선대학교 대학원

치 의 공 학 과

안 훈

안훈의 박사학위논문을 인준함

위원장	조선대학교	교수	장우양	인
위원	전남대학교	교수	박영준	인
위원	조선대학교	교수	김홍중	인
위원	조선대학교	교수	김도경	인
위원	조선대학교	교수	김동기	인

2009년 6월 일

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT	iv
I. 서 론	1
II. 이론적 배경	3
2.1. 티타늄의 특성	3
2.2. 생체재료용 티타늄 합금	4
2.3. 골유착성	6
2.4. 표면처리	7
III. 실험방법	15
3.1. 시료 준비	15
3.2. 미세조직 관찰 및 XRD 분석	18
3.3. 양극산화	19
3.4. 결정화처리	19
3.5. 세포배양	20
IV. 실험결과 및 고찰	21
4.1. 티타늄 합금의 미세조직 및 상 분석	21
4.2. 나노튜브 형상에 미치는 양극산화처리 시간 및 전압의 영향	22
4.3. 결정화처리	28
4.4. 세포배양 및 관찰	29
V. 결 론	32
참 고 문 헌	

표 목 차

Table 1. Physical properties of titanium and titanium alloys Ti-6Al-4V ^(21,22)	3
Table 2. Experimental sample prepared on different condition.	18

도 목 차

Fig. 1. Relationship between polarization resistance and biocompatibility of pure metals, Co-Cr alloy, and stainless steels ^{28,29)}	5
Fig. 2. Schematic illustration of the growth stages of self-organized nanotubes on Ti alloy ^{44,45,46)}	11
Fig. 3 Corrosion reaction of metal in acid solution ^{47,48)}	12
Fig. 4. Hypothetical anodic and cathodic polarization behavior for a material exhibiting passive anodic behavior ^{49,50)}	14
Fig. 5. Flow chart of experimental procedures.	15
Fig. 6. Photograph of small arc-melted ingot specimen.	16
Fig. 7. Photographs of (a) VAR equipment, (b) Copper hearth, and (c) Melting process ⁵¹⁾	17
Fig. 8. Optical microscopic image of the homogenized Ti-6Al-4V alloys(125X)21	
Fig. 9. FE-SEM images of nanotube layer formed on the Ti-6Al-4V alloy surface with various time in 10V in 1M H ₃ PO ₄ + 0.8 wt% NaF solution at 25 °C(35000X): (a) 30 min, (b) 90 min, (c) 150 min, and (d) 180 min ⁵⁹⁾	23
Fig. 10. The variation of nanotube diameter with different time: (a) 30 min, (b) 60 min, (c) 90 min, and (d) 120 min.	25
Fig. 11. FE-SEM images of nanotube layer formed on the Ti-6Al-4V alloy surface with various voltage in 1M H ₃ PO ₄ + 0.8 wt% NaF solution for 180 min.(35000X): (a) 3 V, (b) 5 V, (c) 7 V, and (d) 10 V ⁵⁹⁾	26
Fig. 12. The variation of nanotube diameter with different voltage: (a) 3 V, (b) 5 V, (c) 7 V, and (d) 10 V.	28
Fig. 13. XRD patterns of nanotubes formed on Ti-6Al-4V alloy: (a) before and (b) after annealing ⁶²⁾	29
Fig. 14. FE-SEM micrographs showing MC3T3-E1 cell cultured on the various surface of Ti-6Al-4V alloy(35000X): (a) polished, (b) anodized, and (c) crystallized.	30

ABSTRACT

Fabrication and Cell Attachment Characteristics of Nanotubes on the Surface of Ti-6Al-4V Dental Implant Alloy

Hoon Ahn

Advisor : Prof. Dong-Kie Kim, D.D.S. Ph.D.

Department of Dental Engineering,

Graduate School of Chosun University

Although titanium and titanium-based implants are widely used in different fields, the nature of uses in dentistry requires the implants to possess good mechanical strength, easy malleability, and excellent surface adhesion properties to facilitate bonding with bones.

Bonding between titanium surface and the biomolecule is an important factor for biocompatibility and properties of adhesion, morphology, cell function, and cell hyperplasia are affected by the surface characteristics of biomaterial.

In this study, fabrication and cell attachment characteristics of nanotubes on the surface of Ti-6Al-4V dental implant alloy have been investigated.

TiO₂ nanotubes were formed on the Ti-6Al-4V alloys by anodic oxidation. The electrolyte solution was prepared by adding H₃PO₄ solution to 0.8 wt% NaF solution and then stirred with a magnetic stirrer.

With a platinum electrode and a saturated calomel electrode, Electrochemical experiments were performed using a conventional three-electrode configuration. Anodic oxidation was carried out using a scanning potentiostat, and all experiments were carried out at room temperature.

Crystallization treatment of nanotube surface was at 450 °C for 3hr. MC3T3-E1 cell culture was performed with MC3T3-E1 mouse osteoblasts for 2 days.

Microstructure of the alloys and nanotube surface were observed by optical microscope(OM), field emission scanning electron microscope(FE-SEM), and crystallization of nanotube was identified by X-ray diffractometer(XRD).

The results were as follows.

1. The resulting round, closed-bottom nanotubes mainly consisted of chemically bonded TiO_2 with diameters ranging from 50 to 200 nm, and with thickness of 6 nm, which consisted of amorphous structures.
2. The nanotube diameter and thickness were increased by anodic oxidation time and voltage.
3. In as-anodized nanotubes typically have an amorphous structure, whereas nanotubes converted to mixture phases of anatase and rutile after crystallization treatment.

In conclusion, the formation of the nanotube structure on the Ti-6Al-4V alloy significantly increased the surface area, which could be useful for the adsorption and adhesion enhancements of cells and could be applied for drug delivery system.

I. 서론

기원전부터 인류는 질병 또는 사고로 손상된 인체부분에 생체재료를 적용한 임플란트로 삶의 질을 향상시켜왔으며, 이러한 생체재료로는 금속재료, 세라믹재료 그리고 고분자재료 등의 재료가 사용되고, 현재에도 꾸준히 연구가 진행되고 있다¹⁾. 특히 금속재료는 다른 재료와 비교하여 높은 강도와 인성, 부식에 대한 안정성등 우수한 기계적 성질을 지니기 때문에 정형외과 및 치과 재료에 널리 응용되고 있다.

1950년 이후 상업용 티타늄과 티타늄계 합금 대량생산으로 광범위하고 다양한 생체재료로서 사용이 증가되고 있으며, 특히 Ti-6Al-4V 합금은 순수 티타늄에 비해 높은 피로강도와 비강도, 우수한 내식성 및 골유착 특성(Bioadhesion) 때문에 가장 많이 사용되고 있다^{2,3)}.

Ti-6Al-4V 합금은 비중이 낮고 다른 생체재료보다 탄성율이 빠조직과 유사하며 표면에 안정한 산화피막(TiO_2)을 형성하여 인체내의 금속이온 용출이 없으며, 골조직과의 우수한 결합 특성 등의 생체적합성이 월등하고 응력부식균열이 없다는 장점으로 인하여 인공관절이나 치과용 임플란트 등의 생체재료로 널리 사용되고 있다⁴⁾.

그러나, Ti-6Al-4V 합금의 주요 합금원소인 알루미늄은 신경계통과 정신질환을 유발하고, 바나듐은 강한 세포독성으로 인해 주위 조직이나 세포에 축적되어 치명적인 손상을 유발할 수 있다고 보고되었다^{5,6,7)}.

이를 개선하기 위하여 새로운 생체용 합금 개발과 합금표면 개질로 이온용출 억제와 생체적합성 개선을 위한 연구가 매우 활발하게 진행되어 왔으며, 그 결과 티타늄 합금의 표면에 산화층을 형성시킴으로써 내식성을 향상시킬 수 있다고 보고되었다⁸⁾.

또한, 티타늄 합금의 표면에 수산화아파타이트 (Hydroxyapatite)를 코팅한 표면개질 공정으로 골과의 결합력을 증진시키고자 하는 연구가 진행되었으나 금속기지와 수산화아파타이트의 박리현상이 문제점으로 보고되었다⁹⁾.

티타늄 표면과 세포생체분자의 접착은 중요한 고려사항으로 세포의 접착, 형태, 기능 변화나 증식은 생체재료 표면의 특성에 영향을 받는다¹⁰⁾. 따라서 임플란트 표면의 형태와 구조를 변화시키기 위한 여러 가지 표면처리 방법이 고안되었고, 이미 많은 방법들이 실용화 되었다.

치과용 임플란트 표면을 변화시키기 위한 표면처리 기술은 크게 물질부착방법과 표면제거법으로 나눌 수 있는데 다음과 같다.

1. 물질부착방법

- ① 티타늄 입자, 수산화인회석으로 플라즈마 분사^{11,12)}
- ② 물리적 진공증착(PVD)¹³⁾
- ③ 화학적 진공증착(CVD)¹⁴⁾
- ④ 졸-겔 법¹⁵⁾

2. 표면제거법

- ① 알루미늄, TiO₂ 입자로 블라스팅 방법¹⁶⁾
- ② 산부식¹⁷⁾
- ③ 알카리처리¹⁸⁾
- ④ 화학제 혹은 전기-기계적인 부식방법¹⁹⁾

이러한 표면처리 방법은 임플란트 표면 특성에 영향을 주는데, 골과 임플란트간의 접촉비율을 높이고 기계적인 결합을 증가시켜 골 유착을 증진하기 위한 목적으로 개발되었다.

양극산화법은 골과의 결합력을 향상 시킬 수 있고, 금속 이온 방출을 억제하며, 부식 저항을 증가시켜 안정성을 부여하므로 티타늄 임플란트의 새로운 표면처리 방법으로 알려져 있다. 양극산화법은 전기화학적으로 티타늄 표면에 얇고 거친 다공성의 산화 피막을 형성 시키는 방법이다^{18,19)}.

따라서, 본 연구에서는 골과의 결합력을 향상 시키고, 금속 이온 방출을 억제하며, 또한 부식저항에 대한 안정성을 갖는 Ti-6Al-4V 합금의 골유착을 증진시키고자 하였다. 실험을 위하여 진공 아크용해로(Consumable vacuum arc furnace)에서 VAR 공정(Vacuum arc remelting process)으로 Ti-6Al-4V 합금을 제조한 후, 균질화처리 및 열간가공을 거쳐 합금을 제조하였다. 직경 15mm, 두께 1mm의 디스크형태로 가공한 시편을 전기화학적 방법인 양극산화법으로 나노튜브 구조를 형성하고, 골모세포와 유사(Osteoblast-like)한 MC3T3-E1을 나노튜브 표면에 배양하여 세포부착성을 조사하였다.

II. 이론적 배경

2.1. 티타늄 특성

티타늄은 1790년에 영국의 W. Gregor 그리고 독일의 M. H. Klaproth에 의하여 Rutile로 알려진 광물에서 최초로 발견되었으며, 상업용 제품은 1950년에 Titanium Metals Company of America(TMCA)에 의해 처음 생산되었다²⁰⁾. 티타늄은 지구상에 존재하는 금속 중에서 알루미늄, 철, 마그네슘에 이어 4번째로 풍부한 원소로서 크롬의 20배, 구리의 60배, 텅스텐의 100배, 몰리브덴의 600배에 상당할 정도로 그 매장량이 풍부하다.²¹⁾ 특히 티타늄은 비강도가 높고 내식성이 우수한 장점 때문에 항공우주 산업, 석유화학장치 산업 등에 주로 이용되어 왔으며, 산업의 발전과 더불어 생활수준의 향상으로 환경 및 스포츠·레저, 건축, 토목, 자동차 부품, 생체의료 부품 그리고 악세서리에 이르기까지 그 응용 범위가 점차 확대되고 있다²⁰⁾.

티타늄의 대표적인 물리적 성질은 비교적 비중이 낮고 용점이 높으며, 열 및 도전율이 낮은 특징이 있고 883°C에서 α 상에서 β 상으로 상변태가 일어나는데 반하여 Ti-6Al-4V합금은 990°C에서 이러한 상변화가 일어난다(Table 1)^{21,22)}.

Table 1. Physical properties of titanium and titanium alloys Ti-6Al-4V^{21,22)}.

Cassification	Cp-Ti	Ti-6Al-4V
MP(°C)	1668	1540~1650
structure	hcp <883°C bcc	hcp+bcc<990°C bcc
density(g/cm ³)	4.51	4.42
atomic number	22	-
young's modulus(GPa)	106	113
poisson's ratio	0.34	0.30~0.33
electrical conductivity(%)	3.1	1.1
thermal conductivity(cal/cm ² /s/°C/cm)	0.041	0.018
thermal expansion coefficient(cm/cm °C)	8.4×10^{-6}	8.8×10^{-6}
specific heat(cal/g/°C)	0.12	0.13

티타늄의 α - β 변태에서 Burgers 방위관계는,

$(110)_\beta // (0001)_\alpha, [\bar{1}11]_\beta // [11\bar{2}0]_\alpha$ 를 따른다.

hcp 격자구조를 갖는 α 의 격자상수는 상온에서 $a=0.29504\text{nm}$, $c=0.46833\text{nm}$, $c/a=1.587$ 이고, bcc 격자구조를 갖는 β 의 격자상수는 900°C 에서 0.33065nm 이다²³⁾.

2.2. 생체재료용 티타늄 합금

인체에 삽입되는 생체용 금속재료는 주로 뼈나 치아와 같은 경조직을 대체하는 임플란트(Implant)로 사용되는데, 용도에 따라 골절 고정장치(Fracture fixation device), 인공관절 대체물(Joint replacement), 치과용 임플란트(Dental implants) 등으로 구분할 수 있다⁴⁾.

생체용 금속재료는 다음과 같은 기본적인 조건은 갖추어야 한다^{3,4)}.

- 1) 인체에 세포독성이나 발암성이 없고, 알레르기 반응과 같은 부작용이 없으며, 생체적합성이 우수하여야 한다. 특히 골조직을 대체하는 임플란트 재료로 사용될 경우 골조직과의 조직반응 및 결합 특성이 우수하여야 한다.
- 2) 인체 내에서 가해지는 높은 하중과 운동에 의한 반복 하중을 견딜 수 있는 피로강도 뿐만 아니라 인장강도, 내마모성, 낮은 탄성계수 등의 기계적 성질이 우수하여야 한다.
- 3) 인체 내에서 체액의 부식 환경에서도 견딜 수 있는 강력한 내부식성을 갖추어야 한다.

이러한 까다로운 조건들로 인해, 생체재료로 사용되는 금속재료는 스테인레스 강(316L), Co-Cr계 합금은 임플란트로 사용이 지극히 제한되어 있다²⁴⁾.

이에 반하여 티타늄과 티타늄 합금은 다른 합금에 비해 밀도(4.51g/cm^3)가 매우 낮고, 골조직과 가장 유사한 탄성계수를 가지며, 기계적 성질과 부식저항 특성이 매우 우수하여 임플란트 재료로 가장 각광받고 있는 생체용 금속재료이다²¹⁾.

뿐만 아니라, 티타늄과 티타늄 합금은 현재까지 진행된 실험실적 연구와 임상실험을 통해 다른 종류의 생체금속재료 보다 골유착성, 조직반응, 세포독성 등에서 탁월한 생체적합성을 지닌 것으로 잘 알려져 있다^{25,26,27}.

현재 임플란트로 사용되는 각종 금속원소의 생체적합성과 생물학적 안정성은 원소별로 다양하다(Fig. 1). 티타늄은 생체조직과 활성반응을 일으키는 Vital class에 속하여 우수한 생체적합성 재료임을 알 수 있다. 반면, Co-Cr 합금이나 316L 스테인레스 강은 임플란트를 인체에 이식할 때 임플란트 표면에 보호막을 형성하는 특성을 가진 Capsule class에 속해 있다^{28,29}.

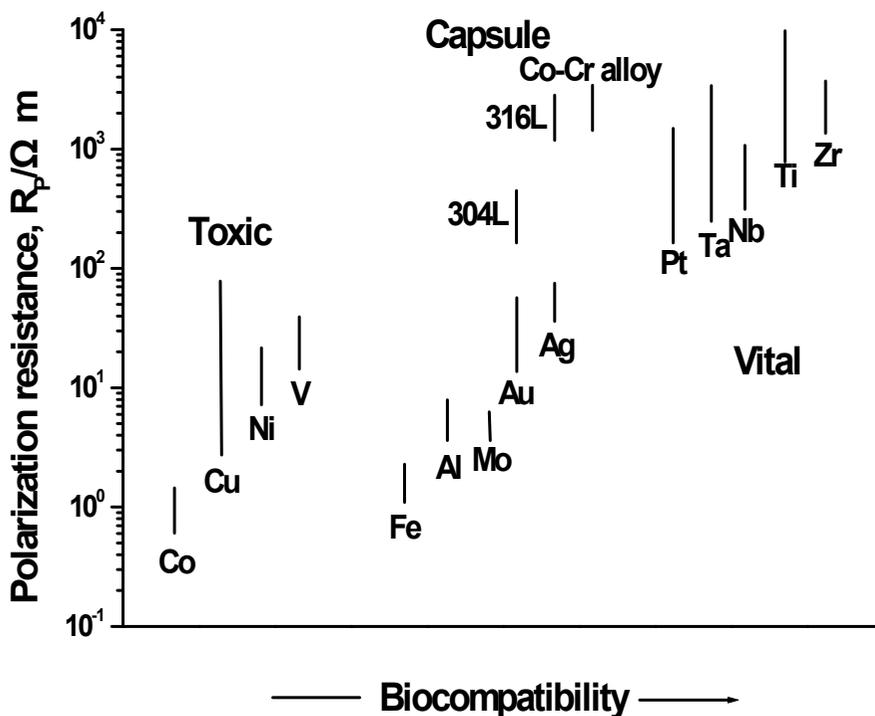


Fig. 1. Relationship between polarization resistance and biocompatibility of pure metals, Co-Cr alloy, and stainless steels^{28,29}.

2.3. 골유착성

임플란트가 골에 매식될 때 골과 결합하는 양상은 섬유성 유착과 골유착으로 요약된다¹⁰⁾. 섬유성 유착은 고정체와 골사이에 건강한 치밀결합조직(Dense collagenous tissue)이 존재하는 형태의 결합으로 정의되며, 날개깃형 매식체(Blade implant)에서 주로 발견된다³⁰⁾.

Brånemark에 의하면 골유착은 광학적 현미경으로 관찰할 때 살아있는 골과 하중을 전달하는 골내 고정체 계면 간의 직접적인 구조적, 기능적 결합이다¹⁰⁾. 즉, 보철물을 지지하는 기능을 제공할 수 있는 임플란트 고정체의 직접적인 골고정으로 교합력을 직접 골로 전달하는데, 이러한 골유착은 적응유착(Adaptive osseointegration)과 생유착(Biointegration)으로 나누어 정의된다^{10,30)}.

적응유착은 일반적으로 광학현미경 하에서 명백하게 보이는 연조직의 게재없이 임플란트 표면과 골조직이 근접되어 있는 상태를 관찰하는 것이고, 생유착은 수산화인회석이 피복된 임플란트 표면과 골조직이 생화학적으로 직접 부착된 상태를 정의한다^{10,24)}.

임플란트 골유착에 영향을 미치는 중요요소는 다음과 같다²⁴⁾.

- 1) 임플란트 재료의 생체적합성
- 2) 임플란트 디자인
- 3) 임플란트 표면
- 4) 수술부위 골의 상태
- 5) 외과적 술식
- 6) 하중조건

2.4. 표면처리(Surface treatment)

2.4.1. 기계적 표면처리

재료의 기계적 표면처리 방법은 물리적인 힘으로 표면을 제거하거나 절단하는 방법으로서, 다음과 같은 3 종류로 분류된다^{31,32,33}.

2.4.1.1. 절삭(Machining)

절삭된 표면의 특성은 작업속도, 기계적 압력 및 윤활제의 선택에 의하여 영향 받는다. 평균 거칠기 값은 $0.3\sim 0.6\mu\text{m}$ 이다.

2.4.1.2. 연삭 및 연마(Grinding and polishing)

연삭숫돌, 사포 및 다이아몬드 연마재등 연마매개물을 사용하여 재료를 제거하는 방법으로 평균 거칠기 값은 연마 매개물의 크기에 따라 변한다.

2.4.1.3 블라스팅(Blasting)

빠른 속도의 단단한 입자들이 표면에 충돌시켜 표면처리하는 방법으로 입자 크기에 따라 표면 거칠기가 다양하게 조절될 수 있다. 충돌입자가 재료 표면에 잔류될 수 있는 단점이 있다.

2.4.2. 화학적 표면처리

화학적 표면처리 방법은 처리화학용액과 재료의 계면에 발생하는 화학적인 반응에 기초하며, 생체적용과 관련하여 많은 연구가 이루어져 왔다^{34,55,36,37}.

2.4.2.1. 산 부식 처리(Acid etching treatment)

산 부식 처리는 청결하고 균질한 표면을 얻거나 산소와 오염물을 제거하기 위하여 사용된다. 티타늄 전처리에 사용되는 용액은 10~30vol% HNO_3 와 1~3vol% HF로 구성된 수용액이 주로 사용된다. 불산은 TiO_2 를 쉽게 파괴하는데 티타늄과 반응하여 가용성 티타늄 불화물과 수소를 생성한다. 티타늄과 수소의 결합은 표면층 취성을 발생시킬 수 있고, 불산(10) : 질산(1)의 용액비율은 자유수소의 영향을 최소화 시킬 수 있다. 티타늄 표면에서 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$, H_2SO_4 및 HCl을 이용하여 오염 제거 효과를 조사하였는데 그 중

HCl이 쉽게 티타늄 염을 용해시키면서 티타늄 표면을 약하게 만들지 않기 때문에 오염 제거용으로 매우 우수한 것으로 보고되고 있다³⁷⁾.

2.4.2.2. 알칼리 처리(Alkali treatment)

생체활성을 향상시키기 위한 방법으로 알칼리처리와 열처리법이 있으며, 수산화인회석, 생체유리(Bioglass) 및 글라스세라믹(Glassceramic)과 같은 생체활성 세라믹의 표면 위에 생체적으로 활성을 갖는 골유사 아파타이트 층을 형성한다³⁷⁾. 이는 시편을 증류수로 5분간 초음파 세척하여 KOH 용액 또는 5~10mol NaOH 용액에서 24시간 침적시킨 후, 40°C의 오븐에서 24시간 유지한 다음, 600~800°C에서 1시간 동안 열처리한다. 열처리를 거친 티타늄 시편에 형성된 다공질 층을 분석한 결과 나트륨티타늄하이드로겔(Sodium titanate hydrogel)이 확인되었고, 열처리에 의하여 루타일상과 아나타제상 뿐만 아니라 결정화된 나트륨티타늄산염(Sodium titanate)이 석출되었다. 열처리된 티타늄 시편을 4주 동안 유사체액에 침적하여, 시편 표면에 골유사 아파타이트가 형성되었으며 우수한 생체활성을 보였다고 한다³⁸⁾.

2.4.2.3. 전기화학적 표면처리(Electrochemical treatment)

대표적인 전기화학적 표면처리 방법은 전해연마(Electropolishing)와 양극산화(Anodic oxidation)이다^{39,40)}. 전해연마는 금속 화합물 및 합금 표면 마무리 공정을 위해 가장 널리 사용되는 방법으로서 표면의 전기화학적 용해도를 조절함으로써 얻을 수 있다. 티타늄에 사용되는 전해질은 보통 산과 알코올을 혼합하여 사용 한다⁴⁰⁾. 전해연마는 재료의 돌출된 부분이 다른 부분보다 더 빨리 용해되는 전기화학적 연마방법으로 티타늄 표면 돌출부의 용해속도는 1~10 μ m/min 정도이다.

전해연마 공정을 거친 티타늄의 표면특성은 다음과 같다.

- 전해연마 공정을 거친 티타늄 표면은 매우 미려하며 중심선 평균 표면 거칠기 (R_a)는 10nm 이하이다.
- 전해연마 공정을 거친 티타늄 표면은 전기화학적 반응에 의해 제거되기 때문에 잔류 응력이 존재하지 않는다.
- 전해연마 공정에 의하여 생성된 표면 산화막층은 5nm 이하로 매우 얇으며 산화막층은 대부분 TiO_2 이다.

전해연마 공정을 거친 표면은 균질하고 경면의 연마면을 가지므로 양극산화처리에 가장 알맞은 표면을 제공할 수 있으며, 심미적이고 매력적인 표면연마 방법이다.

2.4.2. 양극산화(Anodic oxidation)

양극산화는 전기화학적 회로에서 시편을 양극으로 하고 전기를 연결하면 전해질을 통하여 이온 전도가 일어나 전극에 산화/환원반응이 일어난다. 전극의 전위차, 온도 및 전류와 같은 공정인자와 전해질의 선택에 따라 다양한 산화피막을 얻을 수 있는 장점이 있다^{17,27)}.

양극산화 반응에서 금속과 산소 이온 확산은 금속표면에 산화피막을 생성한다. 티타늄 양극산화의 주요 기술은 접착력을 개선하는 것이며, 산화피막의 두께나 착색 및 다공성을 가진 피막을 형성시키기 위하여 사용된다. 양극산화된 티타늄 산화피막의 구조와 화학적 특성은 양극전위, 전해질 조성, 온도 및 전류밀도 같은 공정인자를 조절함으로써 넓은 범위의 피막 층을 얻을 수 있다. 양극산화 전해질은 묽은황산, 인산, 아세트산 등이 사용된다^{17,27)}.

양극산화에서 주요 반응은 다음과 같다⁴¹⁾.

- 티타늄/티타늄산화물 계면



- 티타늄산화물 계면/전극 계면

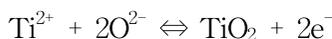


(산화물을 형성하기 위하여 산소 이온이 Ti와 반응)



(전극표면에 형성된 산소 gas)

- 최종반응



산화피막은 산화/환원반응으로 형성된 티타늄과 산소 이온이 외부에서 공급된 전기장에 의해 산화됨으로서 생성된다. 티타늄산화물은 전기회로 상에서 금속과 전해질 사

이에 높은 저항을 형성할 때 전압 낙하가 양극산화 피막에 생긴다. 이 공정에서 형성된 전기장이 산화물을 통과하여 이온을 만들만큼 강하면 전류는 흐르고 산화물은 계속 성장한다²⁷⁾.

최종 산화물 두께 t 는 공급된 전압(V)에 비례한다.

$$t \approx a V$$

여기에서 a 는 성장상수이며 보통 1.5-3nm/V 이다.

이 관계는 산화물 불꽃방전 전압 이하인 100V 근방까지 성립하고, 그 값은 공정조건이나 전해질 특성에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로 양극산화 공정은 정전류/정전압 모드로 처리하며 정전류로 최종 전압에 도달할 때까지 처리하고 그 후 정전압을 유지한다^{17,27)}. 양극산화가 불꽃방전 이상의 전압에서 처리되면 불꽃방전으로 스파크가 발생하여 불균일하고 다공성인 산화 피막을 형성하게 된다^{17,27)}.

최근 양극산화에 의한 티타늄 나노튜브형성 기구에 대한 연구에 의하면 Fig. 2와 같이 Field-assisted oxidation 과 Dissolution의 기구와 Chemical dissolution의 기구가 있으며 다음과 같이 설명된다^{42,43)}.

첫 번째, Field-assisted oxidation 과 Dissolution에 의한 방법은 티타늄 금속과 티타늄 산화막 계면에서 Ti^{4+} 이 O^{2-} 와 결합하여 TiO_2 가 되는 산화반응이 일어나는 동시에 티타늄 산화막과 전해용액사이에서 TiO_2 가 Ti^{4+} 로 용해되면서 티타늄 나노튜브가 형성 되는 것이다.

두 번째, Chemical dissolution에 의한 방법은 티타늄 산화막과 전해용액 사이에서 녹기 쉬운 TiF_6^{2-} 에 의하여 산화막이 형성되면서 SO_4^{2-} 나 PO_4^{3-} 등의 완충용액에 의하여 티타늄 산화막 내에 농도차가 형성된다. 이로 인하여 산화막 내 용해속도차가 생기게 되어 티타늄 나노튜브가 형성된다.

티타늄 나노튜브 형성기구가 Fig. 2에서 설명되었다. 완충용액에 의해 TiF_6^{2-} 가 용해

되어 나오면서 나노튜브 내에 pH가 감소하면 나노튜브의 윗부분과 아랫부분이 농도차이가 형성되어 아랫부분의 용해속도가 윗부분의 용해속도보다 상대적으로 빠르게 진행되어 나노튜브형상이 되어가는 것을 설명하였다^{44,45}).

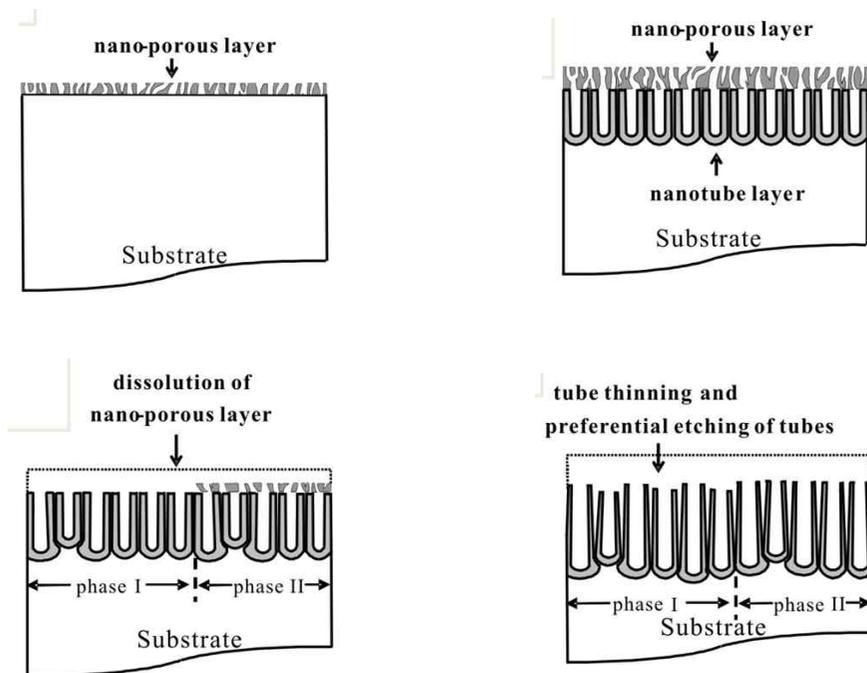
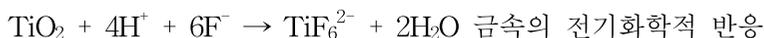
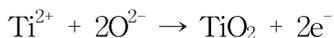


Fig. 2. Schematic illustration of the growth stages of self-organized nanotubes on Ti alloy^{44,45,46}).

티타늄의 양극산화 반응은 다음과 같은 원리로 TiO_2 층과 나노튜브가 형성되는 것으로 알려져 있다⁴⁶).



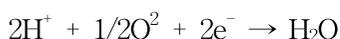
부식이란 액체용액에 의해 표면에서 발생하는 화학현상으로 주위 환경과 전기화학적 또는 화학적 반응에 의하여 금속에 가해지는 비의도적이고 파괴적인 현상이다⁴⁷⁾. 금속 재료를 수용액에 넣으면 금속표면 불균일성 때문에 양극부위와 음극부위가 형성되어 국부전지 원리에 의하여 부식이 진행된다⁴⁷⁾.

양극부는 금속이 이온으로 용출되고, 음극부는 전자를 받아 수소발생반응(또는 산소 환원반응)이 일어나 전하적으로 양쪽이 균형을 이루게 된다⁴⁸⁾. 금속의 부식 반응은 금속의 산화반응과 용액의 환원반응으로 구성되어 있으며, 환원반응은 용액 내에 존재하는 용존산소의 환원 반응과 수소이온의 환원에 의한 수소 발생 영역으로 구분할 수 있는데 세부 반응기구는 다음과 같다(Fig. 3)⁴⁸⁾.

금속을 염산용액에 넣으면 다음과 같이 반응하여 수소를 발생한다.



그러나, 용액 중에 용존산소가 존재하면 음극반응으로



산소 환원반응이 일어난다.

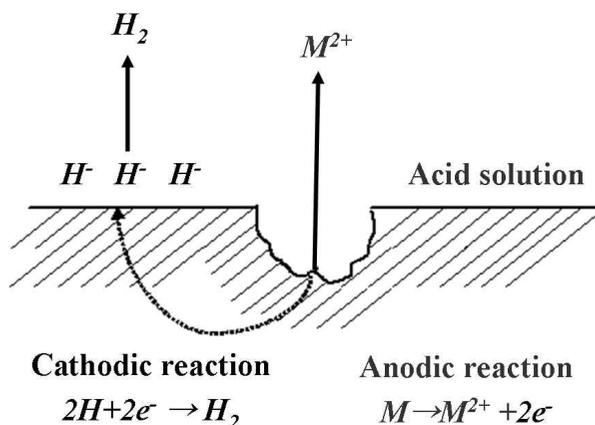
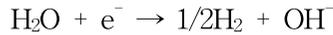
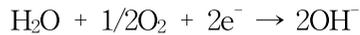


Fig. 3. Corrosion reaction of metal in acid solution^{47,48)}.

탈기한 알카리 용액 중에서는



반응이 일어나며, 용존산소를 함유하는 알카리 용액 중에서는



반응이 일어난다.

내식성을 측정하는 동전위 분극시험은 합금의 중량감소를 측정하거나 전해질에 의해 녹아 있는 금속이온의 양을 측정하는 방법으로 장시간의 실험기간이 필요하다. 그러나, 전기화학적 방법을 이용한다면 단시간에 금속의 부식특성을 정확하게 측정할 수 있는 특징을 가지고 있다⁴⁸⁾.

부식속도의 관점에서 볼 때 금속의 부동태화는 전위에 따른 전류밀도의 변화를 나타내는 분극곡선으로 알 수 있으며, 전류밀도의 증가에 따른 금속의 부동태화는 부식전위 E_{corr} 값의 전류밀도를 부식전류밀도 I_{corr} 로 나타낸다(Fig. 4)^{49,50)}. 전위 증가에 따라 금속이 활성화되고 전류밀도 즉, 부식속도가 지수의 함수로 증가된다. 준위가 초기 부동태화전위 E_{pp} 에 도달하면 부동태피막의 생성으로 반응성이 감소하고 전류밀도는 부동태구역 전류밀도 I_p 의 낮은 값으로 나타내며, 부동태 통과구역 이하에서는 전위가 증가되더라도 부동태구역에서 전류밀도는 I_p 로 유지되지만 그 이상으로 전위가 증가하면 부동태피막 파괴로 금속이 다시 활성화되어 전류밀도가 증가하게 된다⁵⁰⁾.

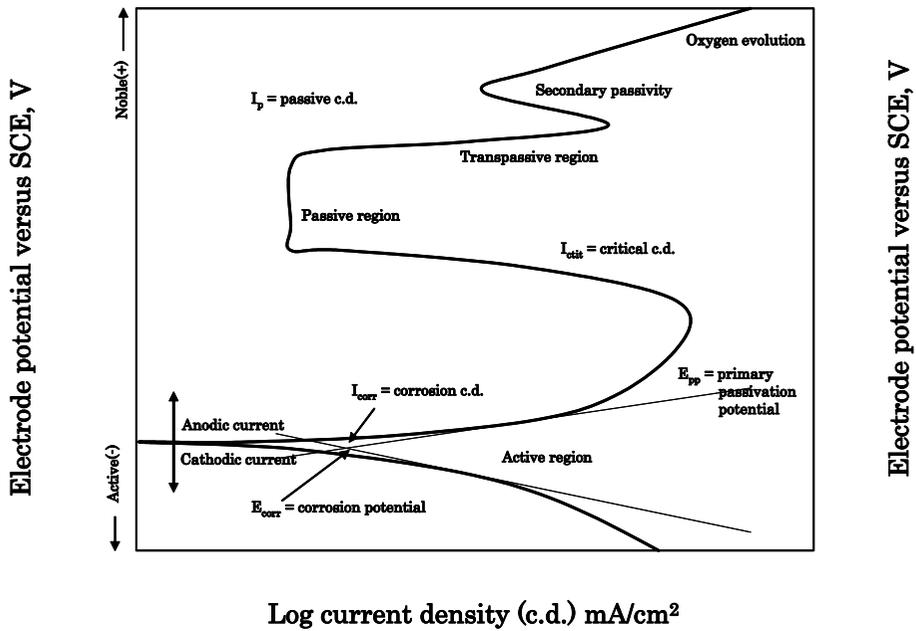


Fig. 4. Hypothetical anodic and cathodic polarization behavior for a material exhibiting passive anodic behavior^{49,50}.

Ⅲ. 실험 방법

3.1. 시료 준비

본 실험에서 사용된 Ti-6Al-4V 합금은 99% 이상의 순도를 지닌 각각의 원소를 무게비로 장입하여 소모식 진공 아크용해로(Consumable vacuum arc furnace)에서 VAR 공정(Vacuum arc remelting process)으로 제조하였으며, 균질화처리 및 열간가공을 거쳐 제조한 시편에 대하여 미세조직, 내식성 및 세포독성에 관한 실험을 수행하였다(Fig. 5).

Sample preparing

Treatments

Analysis

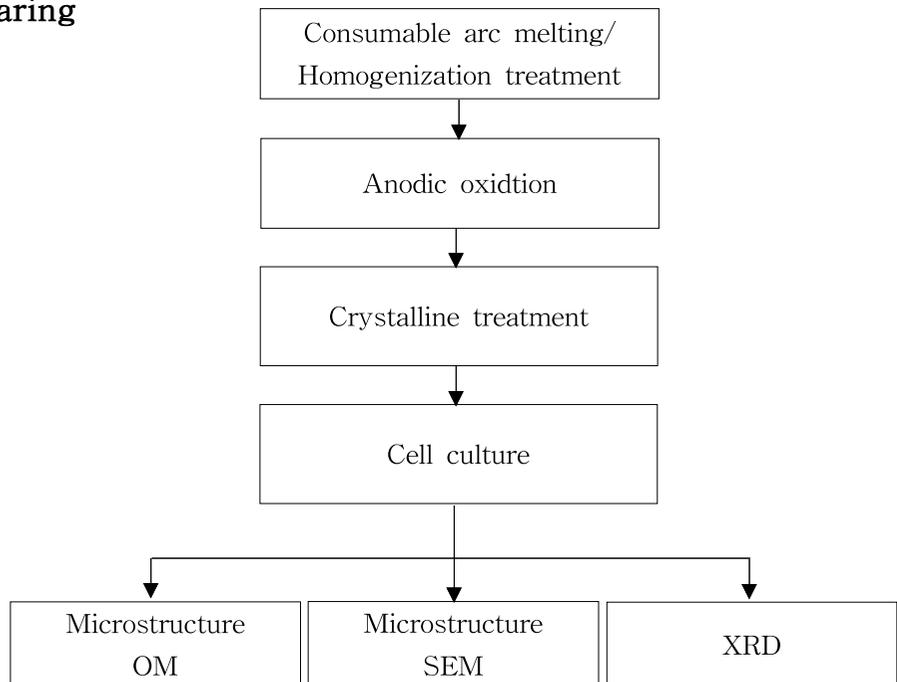


Fig. 5. Flow chart of experimental procedures.

3.1.1. 시료의 용해

시료는 먼저 장입재료를 비소모성 용해법으로 용해하여 작은 막대 형태로 만들고, 이들을 접합하여 소모성 전극을 제조한 후 소모성 아크 용해법에 의해 제조하였다. 비소모성 아크로에서는 균일한 합금을 얻기 위하여 400torr의 Ar 분위기에서 4회 이상 뒤집어 재용해를 실시하였으며, 용해된 합금은 용해 전후의 합금의 무게 변화가 0.2% 이하인 것만 선택하여 소모성 전극 제조용으로 사용하였고, Fig. 6은 비소모성 아크 용해법으로 제조된 시료를 보여준다.



Fig. 6. Photograph of small arc-melted ingot specimen.

소모성 아크 용해 장치와 그 용해 과정을 Fig. 7에 나타내었고 (a)는 소모성 아크 용해 장치를, (b)는 소모성 아크 용해시 사용되는 수냉 동 도가니를, (c)는 소모성 아크 용해 중의 내부 상태이다⁵¹⁾. 소모성 아크 용해에 사용된 수냉 동 도가니의 크기는 직경 35mm, 높이 150mm이다.



(a)



(b)



(c)

Fig. 7. Photographs of (a) VAR equipment, (b) Copper hearth, and (c) Melting process⁵¹⁾.

본 연구에서는 직경 15mm, 두께 1mm의 디스크형태로 가공한 시편을 사용하였다. 실험에 사용된 시편을 공정별로 구분한 것으로, 이들은 표준시편과 공정후 시편과 구분하기 위하여 제작되었다(Table 2). 또한, 생체 결합성의 특성을 조사하기 위하여 결정화 시편과 비결정화 시편을 구분하였다.

Table. 2. Experimental sample prepared on different condition.

Procedures	Number of sample	Treatment	Remarks
Alloy production	2 (#01-02)	Standard sample	OM/XRD
	2 (#03-04)	Homogenizing	
Anodic oxidation	2 (#05-06)	Standard sample	FE-SEM/XRD
	2 (#07-08)	Crystallization (Surface/Cross section)	
	2 (#09-10)	Amorphous (Surface/Cross section)	
Cell attachment	2 (#11-12)	Crystallization	OM/FE-SEM/XRD
	2 (#13-14)	Amorphous	

3.1.2. 열간 압연

소모성 아크 용해에 의해 제조된 잉곳은 1050°C의 탄소발열체 진공로에서 24시간 동안 균질화 열처리를 실시하였으며, 열처리 후 노냉하였다. 이 잉곳을 열간압연에 의해 1000°C에서 최종 압연율이 50%가 되도록 가공하였다. 티타늄 합금은 고온에서 산화가 심하게 발생하므로 열간압연 과정에서의 산화를 방지하기 위하여 10^{-3} torr의 304스테인리스강 튜브에 봉입하여 압연하였다.

3.2. 미세조직 관찰 및 XRD 분석

압연 전후의 미세조직 관찰을 위한 시편편은 고속정밀 절단기를 이용하여 절단한 후 2000grit의 SiC 연마지까지 단계적으로 습식 연마하고, 최종적으로 1 μ m의 알루미나 분말로 마무리 연마한 후 초음파 세척하였다. 준비된 시편은 Keller 시약인 HF(2ml)+HCl(3ml)+HNO₃(5ml)+H₂O(190ml)의 혼합용액으로 에칭한 후 광학현미경(Japan, Olympus

Co., PMG-3)을 이용하여 미세조직을 관찰하였다.

나노튜브의 열처리전후의 결정화를 조사하기 위하여 Cu Ka X-선을 이용하여 가속전압 40 KW, 관전류 35mA 조건으로 소각산란 X선회절(Small angle X-ray scattering diffraction) 시험을 하였다.

3.3. 양극산화

티타늄 및 티타늄합금 표면에 산화 피막을 형성시키기 위하여 작업전극(Working electrode)에 티타늄 시편을, 보조전극(Counter electrode)에 백금을 연결하였고 기준전극은 포화감홍전극(Saturated calomel electrode, SCE)을 사용하였다.

양극과 기준전극 간의 거리는 약 2mm로 유지하였고 전원공급장치인 Scanning potentiostat (Model 362, EG&G Company, USA)을 이용하여 10V 정전압으로 상온에서 양극산화를 실시하였다. 전해액은 증류수에 1M H₃PO₄와 0.8 wt% NaF를 첨가하여 제조하였다. 양극산화 후 시편은 전해액에서 꺼내어 흐르는 물에 약 20분 동안 세척한 후 증류수에 30분간 침적시킨 후 건조하였다.

3.4. 결정화 처리

결정화(Crystallization)란 분리기술의 일종으로 액체 혹은 기체의 균일상으로부터 조작을 통하여 고체입자, 즉 결정(Crystal)을 얻는 것을 말한다. 일반적으로 비정질상(Amorphous phase)의 결정화 과정은 다음과 같은 3가지 종류의 과정으로 이루어진다⁵¹⁾.

- 1) *Amorphous phase* → *Metastable phase(I)* → *Metastable phase(II)* → *Stable phase*
- 2) *Amorphous phase* → *Metastable phase* → *Stable phase*
- 3) *Amorphous phase* → *Stable phase*

양극산화법에 의해 형성된 TiO₂ 나노튜브의 결정화 처리는 석영관을 이용하여 Ar 분위기에서 450℃까지 5℃/min의 조건으로 승온한 다음, 3시간 동안 온도를 유지시킨 후 냉각하였다.

3.5. 세포 배양 및 관찰

골모세포와 유사한 MC3T3-E1은 생쥐 머리뼈에서 추출한 세포주로서 10% FBS (Fetal bovine serum)가 첨가된 α -MEM(Alpha modified eagle's minimum essential medium)을 사용하여 37°C에서 48시간 동안 배양하는 선행 연구 방법과 동일하게 세포를 배양하였다^{52,53}. 배양한 후에는 Brånemark이 실시한 세포 관찰의 정제화된 방법으로 인산염 완충제 PBS(Phosphate buffer solution)로 세척한 후, 70% 에탄올로 20분간 안정화는 방법으로 처리 하였고, 안정화시킨 후에는 2.5% 글루타알데하이드(Glutaraldehyde)로 고정시킨 다음 같은 완충제에서 세척하였다¹⁰. 세척이 끝난 다음에는 1% OsO₄가 첨가된 HgCl₂ 과포화용액에서 후 고정시키고, 에탄올로 탈수시켰다. 모든 과정이 끝난 후 임계온도에서 건조시키고 백금으로 코팅하여 전계주사전자현미경으로 조직을 관찰하였다.

3.5.1 실험재료 멸균

원통형 시편을 소독용 알콜로 세척한 후 Vapour steam damp로 각각 포장하여 멸균 소독(121°C, 15기압, 20min)을 시행하였으며 시편들은 오염방지를 위해서 티타늄 포셋만을 사용하였다.

3.5.2 시편추출액 준비

동일한 크기로 제작한 시편을 무혈청 배지에 담구어 생체내와 유사한 온도인 37°C에서 15일 동안 보관하였다. 이 추출액을 이용하여 간접적인 세포독성실험(Indirect method)을 수행하였다.

IV. 실험 결과 및 고찰

4.1. 합금의 미세조직 및 상 분석

소모식 진공 아르곤해로에서 VAR공정으로 제조된 Ti-6Al-4V 합금을 1000°C에서 24 시간 동안 균질화 처리하고 급냉한 후 광학현미경으로 관찰한 미세조직을 관찰 하였다 (Fig. 8). 결정립 내에 침상조직이 소량 석출되었으며, 이러한 침상조직은 결정립 내에 미세하게 고르게 분포하고 있다.

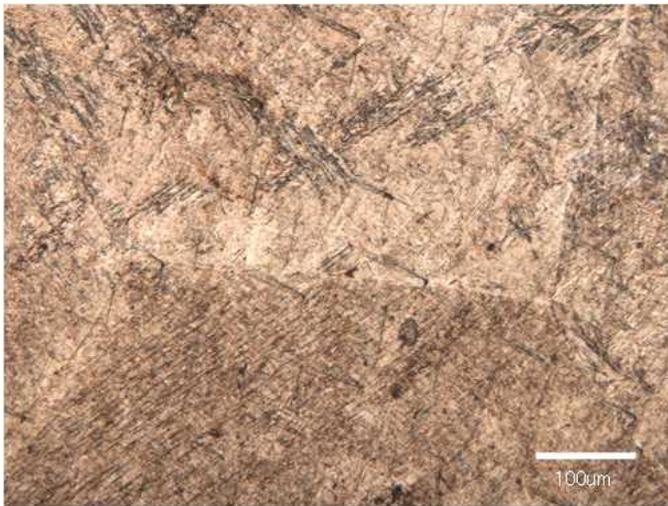


Fig. 8. Optical microscopic image of the homogenized Ti-6Al-4V alloys(125X).

Peters 등과 Klose 등은 티타늄 침상조직의 미세조직은 기계적 성질과 밀접한 관계가 있는데 침상구조로 변화될수록 기계적인 강도가 증가하나 탄성계수는 감소된다고 보고 하였다^{54,55}. 특히 탄성계수가 감소되는 이유는 합금원소가 결정격자상수를 증가시키기 때문이며, 침상구조는 α' (hcp) 및 α'' (Orthorhombic) 격자구조를 갖는 마르텐사이트 조직이고, 이 마르텐사이트 조직이 재료의 강도를 증대시키기 때문이다^{54,55}.

4.2. 나노튜브 형상에 미치는 양극산화처리 시간 및 전압의 영향

4.2.1. 시간의 영향

Ti-6Al-4V 합금 시편을 1M H_3PO_4 + 0.8wt% NaF 전해액으로 10V의 일정한 전압에서 시간의 영향을 관찰하기 위하여 시간을 각각 30, 90, 150 및 180분 변화시키며 양극산화처리한 후 주사전자현미경으로 시편을 관찰하였다(Fig. 9).

30분 동안 양극산화처리한 (a)를 살펴보면 불규칙한 산화막층과 나노 다공질 층이 보이고, 층 하부에 나노튜브 구조가 관찰되었다. 90분 동안 양극산화처리한 (c)를 살펴보면 (a)에서 나타난 산화막층은 사라지고, 표면에는 나노 다공질 층과 그 하부에는 나노튜브 층이 관찰되었다.

120분 동안 양극산화처리한 (c)는 (b)에 관찰된 것과 유사하게 표면에는 나노 다공질 층과 그 하부에는 나노튜브 층이 관찰되었고, 나노튜브 형태가 규칙적으로 변하기 시작하였다. 표면 전체에 걸쳐 나노튜브 구조가 180분 동안 양극산화처리한 (d)에서 명확하게 나타났으며 튜브 형태가 매우 선명하고 규칙적이다.

이러한 경향이 나타나는 이유는 먼저 티타늄 산화막과 전해액 사이에서 용해되기 쉬운 TiF_6^{2-} 이온이 생성되고, 충분한 시간을 확보함으로써 TiF_6^{2-} 이온이 TiO_2 산화막을 지속적으로 형성하도록 하며, 동시에 나노튜브의 핵이 생성되고 튜브가 성장 되기 때문이다. 이 경향은 나노튜브 형성기구 연구내용에 언급된 것과 비슷하였다^{46,56)}.

형성된 티타늄 산화막은 완충용액에 의해 TiF_6^{2-} 이온이 용해되어 나오면서 나노튜브 내에 pH가 감소되고 나노튜브의 윗면과 밑면의 농도차가 발생되면서 밑면의 용해속도가 윗면의 용해속도보다 상대적으로 빠르게 진행되어 나노튜브 형상이 형성된다^{45,57)}. 시간이 짧을 경우 용해과정이 충분치 않고 성장속도가 평형상태에 이르게 되는 시간이 짧기 때문에 규칙적으로 배열된(ordered orientation) 나노튜브가 형성되지 않은 것으로 판단된다. 즉, TiO_2 용해속도와 포화성장속도가 평형상태에 도달하면 나노튜브 구조는 안정한 상태로 성장을 하게하고 비로소 규칙적으로 배열된 나노튜브가 표면 전체에 덮이게 되었다. 이는 TiO_2 나노튜브의 규칙적 형성에 관한 Macák 등의 연구내용과 동일하였다^{57,58)}.

30분 동안 양극산화처리한 (a)를 살펴보면 큰 직경의 나노튜브는 약 170nm 그리고 작은 직경의 나노튜브는 약 70nm를 나타냈고, 나노튜브 밑면은 매우 불규칙한 형태를

나타내었으며 큰 나노튜브 주위에 작은 나노튜브가 둘러 쌓여있는 것을 관찰할 수 있었다.

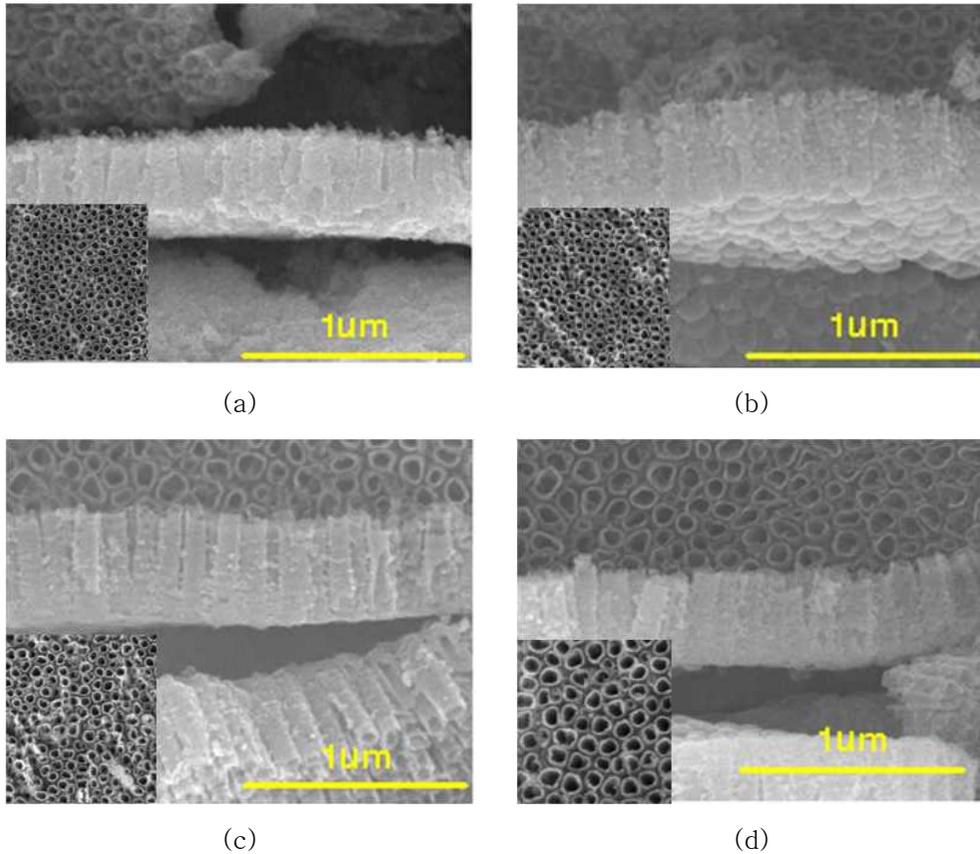


Fig. 9. FE-SEM images of nanotube layer formed on the Ti-6Al-4V alloy surface with various time in 10V in 1M H_3PO_4 + 0.8 wt% NaF solution at 25 °C(35000X): (a) 30 min, (b) 90 min, (c) 150 min, and (d) 180 min⁵⁹⁾.

90분 동안 양극산화처리한 (b)를 살펴보면 큰 나노튜브는 약 200nm 및 작은 나노튜브는 약 100nm를 나타내었고, 불규칙한 나노튜브 형태가 점점 규칙적인 형태로 변화되기 시작하였다.

150분 동안 양극산화처리한 (c)를 살펴보면 큰 나노튜브 약 210nm 및 작은 나노튜브

약 110nm가 형성되었다. 180분 동안 양극산화처리한 (d)는 큰 나노튜브 약 220nm 및 작은 나노튜브 약 115nm를 확인하였고, 이는 30분 동안 양극산화 처리한 나노튜브 직경보다 약 1.5배 커졌음을 알 수 있다. 또한 크기가 크거나 작은 나노튜브의 형태는 매우 규칙적으로 변하였으며 큰 나노튜브 주위에 작은 나노튜브가 둘러 쌓여있는 것을 관찰할 수 있었다.

규칙적으로 배열된 나노튜브 혹은 Multi-scale 구조는 Metikos-Hukovic등과 Popova 등이 보고한 경향과 유사한 양상으로 보였으며, 이는 합금원소 영향에 의해 Two-size 구조를 형성한다는 것으로 알려져 있는데, 본 연구에서는 표면에서 관찰하지 못한 직경 크기 및 형태변화를 밑면에서 Two-size 구조를 형성하였음을 확인할 수 있었다^{46,57}).

먼저 30분 동안 양극산화처리한 (a)를 살펴보면 나노튜브의 길이가 약 $3.0\mu\text{m}$, 90분 동안 양극산화처리한 (b)는 약 $3.5\mu\text{m}$ 이었다. 150분 동안 양극산화처리한 (c)는 약 $4.5\mu\text{m}$, 180분 동안 양극산화처리한 (d)는 약 $5.1\mu\text{m}$ 이었다.

시간이 증가됨에 따라 나노튜브 길이가 약 $3.0\mu\text{m}$ 에서 약 $5.1\mu\text{m}$ 까지 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 나노튜브의 화학적 용해속도가 평형상태에 도달할 때까지 지속적인 용해 결과로 나노튜브의 길이가 증가하다가 3단계에 해당되는 평형상태까지 도달한 후에도 양극산화를 유지하면 더 이상 나노튜브의 길이에 영향을 주지 않는 보고와 일치하였다^{45,49}).

시간의 영향에 따른 나노튜브 직경 변화를 도표화하여 분석하여 시간 증가에 따라 Two-size 나노튜브 직경이 증가하는 경향을 확인하였다(Fig. 10).

큰 나노튜브 직경과 작은 나노튜브 직경을 합한 전체평균 나노튜브 직경은 180nm, 220nm, 245nm 및 260nm로 시간이 증가함에 따라 나노튜브의 직경이 증가됨을 확인할 수 있었다.

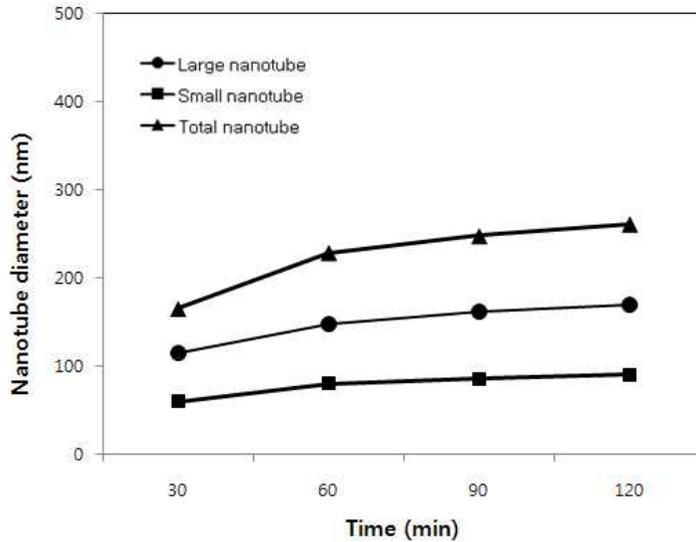


Fig. 10. The variation of nanotube diameter with different time: (a) 30 min, (b) 60 min, (c) 90 min, and (d) 120 min.

4.2.2. 전압의 영향

Ti-6Al-4V 합금을 이용하여 1M H₃PO₄ + 0.8wt% NaF 용액에 180분 동안 양극산화 처리 하는 과정에서 전압 변화에 따른 나노튜브 형상에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 각각 3, 5, 7 및 10V 전압을 인가하여 양극산화처리한 후, 주사전자현미경으로 시편을 관찰하였다(Fig. 11).

3V 전압에서 양극산화처리한 (a)를 살펴보면 형성된 나노튜브 위에 불규칙하고 스폰지 형태의 나노 산화막층이 표면 전체에 관찰되었으며, 5V 전압에서 양극산화 처리한 (b)를 살펴보면 (a)와 유사한 형태를 나타내었다. 7V 전압에 양극산화 처리한 (c)를 살펴보면 표면 전체에 덮여있던 불규칙하고 스폰지 형태의 산화막 층이 사라지고 나노튜브 형태가 나타나기 시작하였다.

10V 전압에서 양극산화처리한 (d)를 살펴보면 매우 규칙적이고 선명한 나노튜브가 형성되었고 나노튜브 형태는 원형으로 나타났다. 전압을 인가하기 전 전압이 Ti 산화막을 용해하는데 영향을 주었을 것이라고 간주되며, 전압이 증가함에 따라 나노튜브의 직경이 점점 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

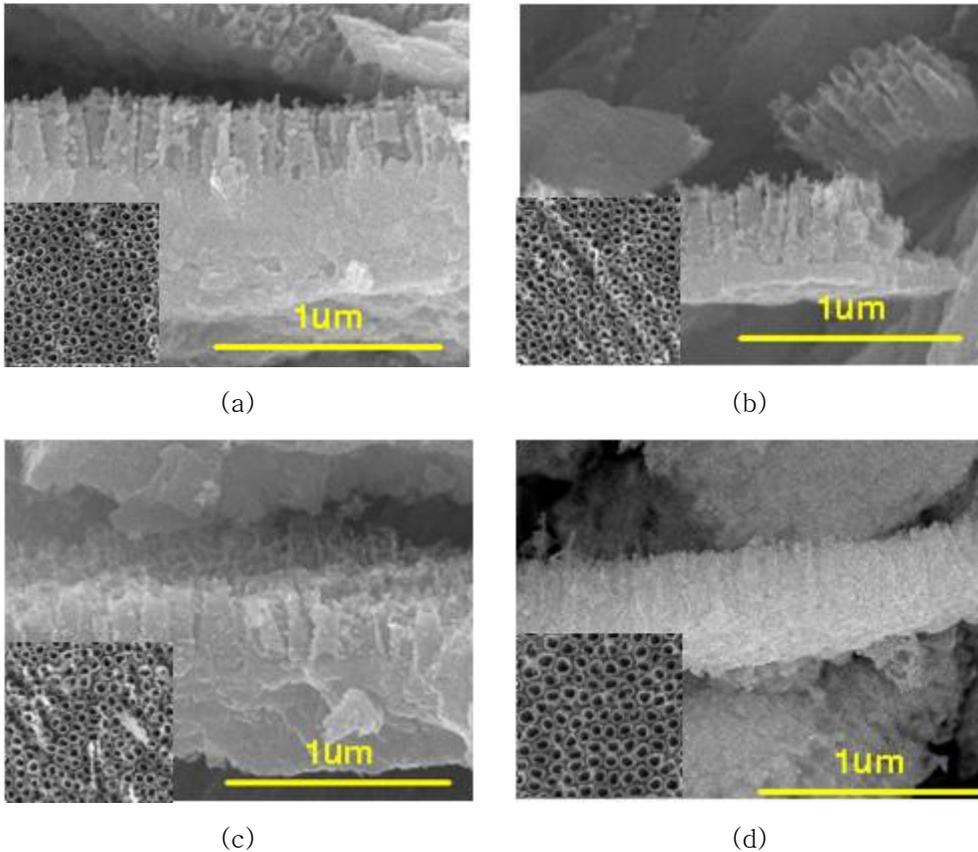


Fig. 11. FE-SEM images of nanotube layer formed on the Ti-6Al-4V alloy surface with various voltage in 1M H_3PO_4 + 0.8 wt% NaF solution for 180 min.(35000X): (a) 3 V, (b) 5 V, (c) 7 V, and (d) 10 V⁵⁹⁾.

모든 밑면에 Two-size 구조의 나노튜브가 형성되었으며 큰 나노튜브를 작은 나노튜브가 둘러 싸고있는 것을 확인할 수 있었다. 3V 전압에서 양극산화처리한 (a)를 살펴보면 큰 나노튜브는 125nm 및 작은 나노튜브는 60nm를 나타내었고, 5V 전압에서 양극산화처리한 (b)를 살펴보면 큰 나노튜브는 130nm 및 작은 나노튜브는 63nm로 나타났으며, 7V 전압에서 양극산화처리한 (c)를 살펴보면 큰 나노튜브는 190nm 및 작은 나노튜브는 90nm를 나타냈다. 마지막으로 10V 전압에서 양극산화 처리한 (d)를 살펴보면 큰 나노튜브는 205nm 및 작은 나노튜브는 110nm를 나타내 3V 전압에서 형성된 나노튜브 직경보다 약 2배 정도 증가한 것을 확인할 수 있었다.

이와 같이 현저하게 나노튜브의 직경이 증가되고 있는데 전압이 상승함에 따라 F 이

온의 침식을 가속화시키며 나노튜브 내에서 F 이온 농도를 높여 용해 속도를 증가시켰기 때문으로 간주된다⁶⁰⁾.

모든 전압에서의 나노튜브는 가늘고 길게 뻗은 형태를 나타내었고, 3V 전압에서 양극산화처리한 (a)를 살펴보면 나노튜브 길이가 약 $2.5\mu\text{m}$ 를 나타냈고, 5V 전압 (b)를 살펴보면 나노튜브 길이가 약 $3.0\mu\text{m}$ 를 나타냈으며, 7V 전압 (c)를 살펴보면 나노튜브 길이가 약 $4.8\mu\text{m}$ 를 나타냈다. 마지막으로 10V 전압에 양극산화처리한 (d)를 살펴보면 나노튜브 길이가 약 $5.9\mu\text{m}$ 를 나타내 3V 전압에서 형성된 $2.5\mu\text{m}$ 보다 약 2배 이상 증가한 것을 확인할 수 있었다.

이는 산화막이 성장하기 위한 양극산화 반응과 산화막을 용해하기 위한 불화물 이온의 반응 사이에 전압을 지속적으로 가해주거나 혹은 증가시켜주면 둘 사이의 반응에서 경쟁이 일어나 나노튜브 구조가 형성되고 용해속도가 평형상태에 도달될 때까지 길이는 증가된 것으로 보고된 내용과 유사하다고 생각된다^{47,58)}.

전압의 영향에 따른 나노튜브 직경 변화를 도표화 한 것이다. 앞서 기술한 바와 같이 전압이 증가됨에 따라 Two-size 나노튜브 직경이 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 12). 또한 큰 나노튜브 직경과 작은 나노튜브 직경을 합한 전체평균 나노튜브 직경의 크기는 각각 185, 193, 280 및 315nm를 나타내었다.

나노튜브는 10V에서 $5.9\mu\text{m}$ 까지 증가되어 나타나 전압이 증가될수록 F 이온의 침식을 촉진하여 나노튜브의 직경 변화에 영향을 미친 것으로 간주된다.

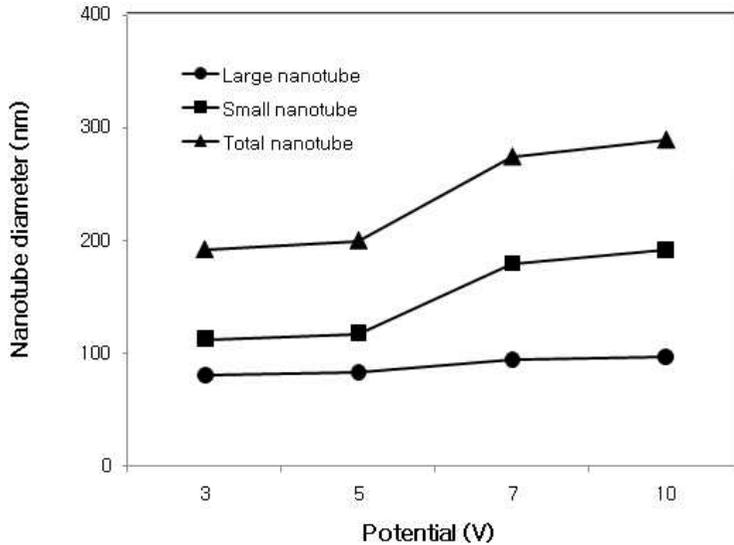


Fig. 12. The variation of nanotube diameter with different voltage: (a) 3 V, (b) 5 V, (c) 7 V, and (d) 10 V.

4.3. 결정화 처리(Crystalline treatment)

나노튜브 결정화처리는 나노튜브가 비정질 결정구조를 갖기 때문에 쉽게 용해 되므로 이를 제어하기 위하여 세포배양 거동을 조사한 다음 결정화처리를 하였다.

Ti-6Al-4V 합금에 나노튜브를 형성한 다음 XRD를 이용하여 결정화 처리 전 후의 X-선 회절도형 분석을 하였다(Fig. 13). 결정화처리 전단계 시편은 피크가 관찰되지 않는 비정질 상태를 보였다(Fig. 13(a)).

나노튜브가 형성된 Ti-6Al-4V 합금을 결정화 처리한 Fig. 13(b) 시편은 주 피크인 $2\theta=25^\circ(101)$ 에서 아나타제 상이 검출되었고, $2\theta=37^\circ(004)$ 및 $2\theta=47^\circ(200)$ 에서도 각각 검출되었다. $2\theta=36^\circ(101)$ 에서는 루타일 상 피크가 검출되었으며, 얇은 산화막 두께와 다공성 구조로 인하여 hcp 및 Orthorhombic 구조의 Ti 회절도형이 검출되기도 한다. 이때 비정질 단상에서 준안정상(Metastable phase)으로 결정화에 의한 것으로 판단된다.

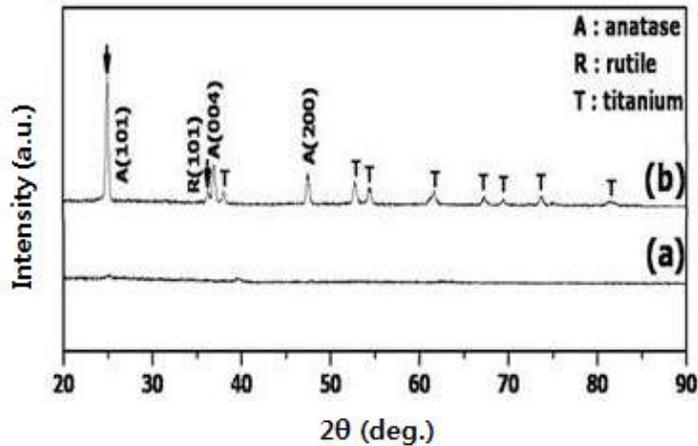
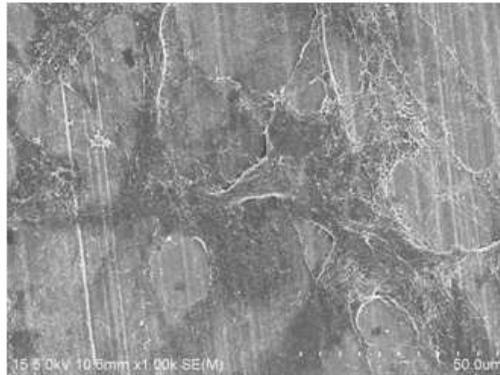


Fig. 13. XRD patterns of nanotubes formed on Ti-6Al-4V alloy: (a) before and (b) after annealing⁶²⁾.

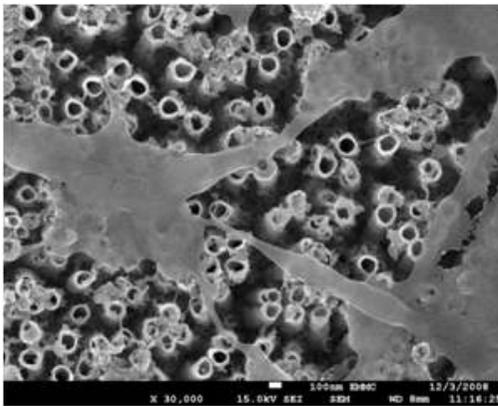
수산화인회석은 인간의 골 및 치아를 이루는 경조직과 화학적으로 유사한 물질이며 생체활성 특성을 갖는 물질 중 하나로서 골성장 및 골유착 성질이 우수하여 정형외과, 치과 및 성형외과 등에서 시술되고 있다. 이때, 수산화인회석이 더욱 쉽게 골과 결합하거나 혹은 골을 형성하기 위해서는 비정질 구조보다는 아나타제 구조가 더욱 우수하다고 보고되었다^{61,62)}. 본 연구의 분석 결과와 마찬가지로 보고된 내용과 같은 맥락으로 세포의 성장 및 증식률을 향상시키기 위해서 결정화 처리를 하여 나노튜브 구조가 결정상을 가질 필요가 있다고 간주한다.

4.4. 세포 배양(Cell culture) 및 관찰

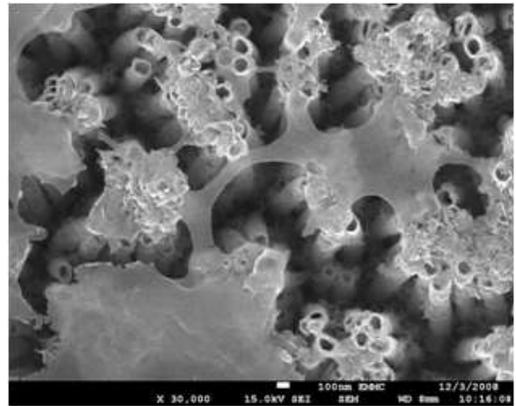
세포부착 특성을 조사하기 위하여 Ti-6Al-4V 합금의 표면에 골모세포와 유사한 MC3T3-E1을 37°C에서 48시간동안 배양한 후 주사전자현미경으로 관찰한 사진이다 (Fig. 14).



(a)



(b)



(c)

Fig. 14. FE-SEM micrographs showing MC3T3-E1 cell cultured on the various surface of Ti-6Al-4V alloy(35000X): (a) polished, (b) anodized, and (c) crystallized.

나노튜브가 형성후 결정화 처리된 시편은 비정질 시편에 비하여 세포부착이 우수하다고 보고 되었는데 이는 Ti-Ta-Zr 합금표면에 형성된 나노튜브의 세포부착 연구에 관한 선행연구와 같은 결과로 나노튜브가 형성된 임플란트가 생체와 혈액내의 단백질에 짧은 시간에 흡착되어 골모세포들의 부착을 촉진시킴으로써 바른 골유착을 유도할 수 있을 것으로 간주된다^{24,62,63}.

본 실험 결과 나노튜브 형성후 결정화 처리된 시편은 비정질 시편에 비하여 세포의 부착 상태가 더욱 밀집되었음을 알 수 있다. 표면에서는 여러 방향에 걸쳐 특정한 방향성이 없는 기다란 세포질이 관찰되었으며, 이러한 세포질들이 나노튜브 구조에 직접

부착하였음을 관찰할 수 있었다.

향후 나노튜브 형태를 갖는 Ti-6Al-4V 합금의 구조는 세포의 부착을 아주 우수하게 촉진시킬 수 있으리라 간주하며, 표면에너지 증가로 나노튜브 내에 약물이나 단백질을 함유할 수 있는 기능성을 요구하는 의약산업에 사용이 가능하리라 기대된다.

앞으로 다양한 티타늄계 생체합금의 나노튜브에 대한 특성과 성질에 대한 연구 및 생리학적 연구가 임상적용과 병행되어 지속적인 이루어져야 할 것이다.

V. 결 론

본 연구는 치과용 임플란트의 골결합력을 향상시키기 위하여, 양극산화법으로 치과용 생체용 Ti-6Al-4V 합금을 전기화학적으로 티타늄 표면에 얇고 거친 다공성의 산화 피막을 형성시켜 세포의 부착성을 향상시키고자 하였다.

VAR공정(Vacuum arc remelting process)으로 제조한 Ti-6Al-4V 합금을 양극산화법으로 나노튜브를 형성한 후 표면 미세구조, 전기화학적 특성 및 세포부착성에 관한 연구결과에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Ti-6Al-4V 합금의 나노튜브 내경은 약 50~200nm 범위였으며, 튜브의 길이는 약 6 μ m 범위를 보였다.
2. 양극산화처리 시간과 전압이 증가할수록 Ti-6Al-4V 합금에 형성된 나노튜브의 직경과 길이는 증가하였다.
3. 표면을 열처리하면 아나타제와 루타일상이 형성되었지만 처리하지 않는 경우는 비정질상만 관찰되었다.
4. 나노튜브가 형성후 결정화 처리된 시편은 비정질 시편에 비하여 세포의 부착 상태가 더욱 밀집되었다.

위의 연구결과로부터 나노튜브 형태를 갖는 Ti-6Al-4V 합금 구조는 세포의 부착을 촉진시킬 수 있으리라 간주하며, 표면에너지 증가로 나노튜브 내에 약물이나 단백질을 함유할 수 있는 가능성을 요구하는 의약산업에 사용이 가능하리라 기대된다.

앞으로 다양한 티타늄계 생체합금의 나노튜브에 대한 특성과 성질에 대한 연구 및 생리학적 연구가 임상적용과 병행되어 지속적인 이루어져야 할 것이다.

VI. 참고 문헌

1. Jarcho M, Bolen CH and Thomas MB. Hydroxyapatite synthesis and characterization in the dense polycrystalline form. *J Mater Sci.* Vol.11 (1976). 2027-2035.
2. Donachie M. Biomedical alloys. *Advanced Materials and Processes* (1998). 63-65.
3. Ahmed T, Long M, Silvestri J, Ruiz C, Rack HJ. A new modulus, biocompatible titanium alloy. *Titanium 95 Sci Tech.* Vol.2 (1995). 1760-1767.
4. Petrunko AN and Anokhin VM. Titanium in medicine, food industry and ecology. *Titanium 95 Sci Tech.* Vol.2 (1995). 1816-1823.
5. Landsberg JP, Mcdonald B, Watt F. Absence of aluminum in neurotic plaque cores in Alzheimer's disease. *Nature(London)* Vol.360 (1992). 65-68.
6. Farrar G, Altmann P, Welch S, Wychrij O, Ghose B, Lejeune J, Corbett J, Prasher V and Blair JA. Defective gallium-transferrin binding in Alzheimer disease and Down syndrome: possible mechanism for accumulation of aluminium in brain. *Lancet* Vol.335 (1990). 747-750.
7. Okazaki Y, Kyo K, Ito Y and Tateishi T. Effect of Mo and Pd on corrosion resistance of V-free titanium alloys for medical implantation. *J. Japan Inst. Metals* Vol.59(1) (1995). 1061-1065.
8. Velten D, Biehl V, Aubertin F, Valeske B, Possart W and Breme J. Preparation of TiO₂ layers on cp-Ti and Ti6Al4V by thermal and anodic oxidation and by sol-gel coating techniques and their characterization. *J Biomed Mater Res.* Vol.59(1) (2002). 18-28.
9. 신지훈, 이규환, 이창희. 생체용 Ti합금의 생체활성 표면개질에 관한 연구. *대한 금속재료학회지* Vol.39(1) (2001). 206-214.
10. Brånemark P-I, Osseointegration and its experimental studies. *J Prosthetic*

- Dentistry Vol.50 (1983). 399-410.
11. Becka U, Langea R and Neumannb H-G. Micro-plasma textured Ti-implant surfaces. *Biomolecular Engineering* Vol.24(Issue 1) (2007). 47-51.
 12. Battistoni C, Casaletto MP, Ingo GM, Kaciulis S, Mattogno G and Pandolfi L. Surface characterization of biocompatible hydroxyapatite coatings. *Surface and Interface Analysis* Vol.29 (2000). 773-781.
 13. Long J, Sim, L Xu S and Ostrikov K. Reactive Plasma-Aided RF Sputtering Deposition of Hydroxyapatite Bio-implant Coatings. *Chemical Vapor Deposition* Vol.13(Issue 6-7) (2007). 299-306.
 14. Gianluca G, Luigi A, Giovanni AB, Umberto C, Rosalba G, Milena F, Nicolò NA, Lucia M, Lia R and Roberto G. Histomorphometric, ultrastructural and microhardness evaluation of the osseointegration of a nanostructured titanium oxide coating by metal-organic chemical vapour deposition: an in vivo study. *Biomaterials* Vol.25 (2004). 5583-5591.
 15. 김윤중, 김택남, 이성호. Cp-Ti 표면의 Hydroxyapatite+TiO₂ 복합 Sol 코팅에 관한 연구. *한국재료학회지* Vol.15(7) (2005). 444-447.
 16. Li D, Ferguson SJ, Beutler T, Cochran DL, Sittig C, Hirt HP and Buser D. Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants. *J Biomed Mater Res Part A* Vol.60(Issue 2) (2002). 325-332.
 17. Ahn H, Lee D, Lee KM, Lee K, Baek D and Park SW. Oxidation behavior and corrosion resistance of Ti-10Ta- 10Nb. *Surf & Coat Tech* Vol.202 (2008). 5784-5789.
 18. Feng QL, Wang H, Cui FZ and Kim TN. Controlled crystal growth of calcium phosphate on titanium surface by NaOH-treatment. *J Crystal Growth* Vol.200 (1999). 500-557.
 19. Vasilescu E, Drob P, Popa MV, Anghel M, Lopez AS and Mirza-Rosca I. Characterisation of anodic oxide film formed on titanium and two ternary

- titanium alloys in hydrochloric acid solutions. *Materials and Corrosion* Vol.51 (2000). 413-417.
20. Boyer R, Welsch G and Collings EW. *Materials Properties Handbook Titanium Alloys* ASM International (1994). 3-4.
 21. Boyer R, Welsch G and Collings EW. *Materials Properties Handbook Titanium Alloys* ASM International (1994). 125-129.
 22. Boyer R, Welsch G and Collings EW. *Materials Properties Handbook Titanium Alloys* ASM International (1994). 483-484.
 23. 신지훈, 이규환. 생체용 금속재료. *Biomaterials Research* Vol.3(1) (1999). 28-38.
 24. Agrawal CM. Reconstructing the Human. Body Using Biomaterials. *JOM* Vol.50(1) (1998). 31-35.
 25. Rohanzadeh R, LeGeros RZ, Harsono M and Bendavid A. Adherent apatite coating on titanium substrate using chemical deposition. *J Biomed Mater Res* Vol.72A (2005). 428-438.
 26. Ahn H, Lee D, Moon CW, Lee KM and Lee K. A study about the bio-compatibility of Ti-8Ta-3Nb alloys with surface modification. *Surf & Coat Tech* Vol.202 (2008). 5779-5783.
 27. 박영준, 송호준, 이용렬. 양극산화와 열산화 처리로 형성된 티타늄 산화막의 표면 특성과 생체활성에 관한 연구. *대한치과기재학회지* Vol.31(4) (2004). 255-265.
 28. Steinmann SG. Corrosion of surgical implants - in vivo and in vitro tests, *Evaluation of Biomaterials*, Winter GD, Leray JL de Groot K. eds, John Wiley & Sons New York USA (1980). 1-34.
 29. Okazaki Y, Ito Y, Ito A and Tateishi T. Effect of alloying elements on mechanical properties of titanium alloys for medical implants. *Mater. Trans. JIM* Vol.34 (1993). 1217-1222.
 30. Arys A, Philippart C, Dourouv N, He Y, Le QT and Pireaux JJ. Analysis of

- titanium dental implants after failure of osseointegration, combined histological, electron microscopy and X-ray photoelectron spectroscopy approach. *J Biomed Mater Res* Vol.43(3) (1998). 300–312.
31. Buser D, Nydegger T, Oxlad T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, Snetivy D and Nolte LP. Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: A biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res* Vol.45(2) (1999). 75–83.
 32. Wennerberg A, Albrektsson T, Johansson C and Andersson B. Experimental study of turned and grit-blasted screw-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography. *Biomaterials* Vol.17(1) (1996). 15–22.
 33. Könönen M, Hormia M, Kivilahti J, Hautaniemi J and Thesleff I. Effect of surface processing on the attachment, orientation, and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium. *J Biomed Mater Res* Vol.26(1) (1992). 1325–1341.
 34. Nanci A, Wuest JD, Peru L, Brunet P, Sharma V, Zalzal S and McKee MD. Chemical modification of titanium surfaces for covalent attachment of biological molecules. *J Biomed Mater Res* Vol.40(2) (1998). 324–335.
 35. Schwartz Z, Martin JY, Dean DD, Simpson J, Cochran DL and Boyan BD. Effect of titanium surface roughness on chondrocyte proliferation, matrix production, and differentiation depends on the state of cell maturation. *J. Biomed. Mater. Res.* Vol.30(2) (1996). 145–155.
 36. Kim HM, Miyaji F, Kokubo T and Nakamura T. Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment. *J Biomed Mater Res* Vol.32(3) (1996). 409–417.
 37. Kokubo T, Ito S, Hayashi Z, Sakka S, Kitsugi T and Yamamoto T. Ca, P-rich. Layer formed on High-Strength Bioactive Glass-Ceramic AW. *J Biomed Mater Res* Vol.24 No.3 (1990). 331–343.

38. Bamberger CE and Begun GM. Sodium titanates, stoichiometry and Raman spectra. *J Am Ceram Soc* Vol.70 (1987). 48–51.
39. Larssoni C, Emanuelsson L, Thomsen P, Ericson L, Aronsson BO, Kasemo B and Lausmaa J. Bone response to surface modified titanium implants –studies on the tissue response after 1 year to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses. *J Mat Sci, Materials in Medicine* Vol.8(12) (1997). 721–729.
40. Könönen M and Kivilahti J. Bonding of low-fusing dental porcelain to commercially pure titanium. *J Biomed Mat Res* Vol.28(Issue 9) (2004). 1027–1035.
41. Nelson JC and Oriani RA. Stress generation during anodic oxidation of titanium and aluminum. *Corrosion science* Vol.34(22) (1993). 307–326.
42. Scully JR. Electrochemical methods of corrosion testing. *Metal handbook* ed by Baker H et al. 9th eds *Corrosion* Vol.13 (1987). 212–228.
43. Anselme K, Linez P and Bigerelle M. The relative influence of the topography and chemistry of Ti6Al4V surfaces on osteoblastic cell behavior. *Biomaterials* Vol.21 (2000). 1567–1577.
44. Jurčik–Rajmana M, Vepřeka S. Corrosion passivation of plasma nitrided iron. *Surf Sci.* Vol. 189–190 (1987). 221–225.
45. Hiromasa T, Masahiro M. Electrochromism of Titanate Based Nanotubes. *Angewandte Chemie* Vol.117(Issue 13) (2005). 2010–2013.
46. Metikos–Hukovic M, Ceraj–Ceric Anodic M. Anodic oxidation of titanium, mechanism of non-stoichiometric oxide formation. *Surf Tech* Vol.24(33) (1985). 273–283.
47. Popova A, Sokolova E, Raicheva S and Christov M. AC and DC study of the temperature effect on mild steel corrosion in acid media in the presence of benzimidazole derivatives. *Corrosion Science* Vol.45(Issue 1) (2003). 33–58.
48. Marie K, Hiroyuki F. The corrosion resistance of pure titanium in organic

- acids. *Biomaterials* Vol.22(Issue 21) (2001). 2931–2936.
49. Salvago G, Magagnin L. Biofilm effect on the cathodic and anodic processes on stainless steel in seawater near the corrosion potential: Part1 – Corrosion potential. *Corrosion* Vol.57(8) (2001). 680–692.
50. Singh VB and Hosseini SMA. The electrochemical and corrosion behaviour of titanium and its alloy (VT-9) in phosphoric acid. *Corrosion science* Vol.34 (10) (1993). 1723–1732.
51. Kazumichi Y, and James O. Crystallization of anatase from amorphous titania using the hydrothermal technique: Effects of starting material and temperature. *J Phys Chem B* Vol.103(37) (1999). 7781–7787.
52. Emi S, Masayoshi Y. Stimulatory effect of daidzein in osteoblastic MC3T3–E1 cells. *Biochemi Pharm* Vol.59(Issue 5) (2000). 471–475.
53. Trentz OA, Zellweger R, Amgwerd MG und Uhlschmid GK. Testung von Knochenimplantaten auf Zelllinien und humanen Osteoblasten. *Der Unfallchirurg* Vol.100(1) (1997). 39–43.
54. Peters M, Leyens C. Formgebung von Titan und Titanlegierungen. *Titan und Titanlegierungen* Wiley–VCH Weinheim Germany (2002). 259–274.
55. Klose J, Rehtanz E, Rothe C, Eulitz I, Güther V and Beck W. Manufacture of titanium implants. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* Vol.39 (Issue 4–5) (2008). 304–308.
56. Macák JM, Tsuchiya H, Ghicov A and Schmuki P. Dye-sensitized anodic TiO₂ nanotubes. *Electrochemistry Communications* Vol.7(Issue 11) (2005). 1133–1137.
57. Macák JM, Tsuchiya H and Schmuki P. High-Aspect-Ratio TiO₂ Nanotubes by Anodization of Titanium. *Angew Chem Int Ed* Vol.44 (2005). 2100–2102.
58. Macák JM, Tsuchiya H, Taveira L, Aldabergerova S and Schemuki P. Smooth Anodic TiO₂ Nanotubes. *Angew Chem Int Ed* Vol.44 (2005). 7463–7465.

59. 민동렬. 양극산화된 타이타늄 나노튜브의 열처리에 따른 상변화. 전남대학교 대학원 석사학위 논문 (2008)
60. Tsuchiya H, Schmuki P. Thick self-organized porous zirconium oxide formed in H_2SO_4/NH_4F electrolytes. *Electrochemistry Communications* Vol.6 (2004). 1131-1134.
61. Yang BC, Uchida M, Kim HM, Zhang XD and Kokubo T. Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. *Biomaterials* Vol.25 (2004). 1003-1010.
62. 김원기. 치과 임플란트용 Ti-Ta-Zr 합금표면에 형성된 나노튜브의 표면특성과 생체적합성. 조선대학교 대학원 박사학위 논문 (2009).
63. Cooper LF, Zhou Y, Takebe J, Guo J, Abron A, Holmen A and Ellingsen JE. Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO_2 grit-blasted Cp titanium endosseous implants. *Biomaterials* Vol.27 (2006). 926-928.

저작물 이용 허락서

학 과	치의공학과	학 번	20077499	과 정	박사
성 명	한글: 안 훈	한문: 安 勳	영문: Hoon Ahn		
주 소	광주광역시 서구 상무1동 현대아파트 109동 501호				
연락처	E-MAIL: ahn217@gmail.com				
논문제목	한글: 치과 임플란트용 Ti-6Al-4V 합금 표면의 나노튜브 제조 및 세포부착 특성 영문: Fabrication and Cell Attachment Characteristics of Nanotubes on the Surface of Ti-6Al-4V Dental Implant Alloy				
본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.					
- 다 음 -					
1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함 2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함. 3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함. 4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함. 5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함. 6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음 7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.					
동의여부 : 동의(O) 반대()					
2009년 8월 일					
저작자: 안 훈 (서명 또는 인)					
<h3 style="margin: 0;">조선대학교 총장 귀하</h3>					