대한치과기공학회지 제27권 제1호 2005년 7월
J Kor Aca Den Tech 27(1) : 79~88, 2005

양극산화와 열수처리한 순수 니오비움 금속의 생체활성 평가

원 대 희, 최 운 재*, 이 민 호**, 배 태 성**
(순천대학교 산학협력중심대학 육성사업단, 원광보건대학 치기공과*
전북대학교 치과대학 치과생체재료학교실 및 구강생체과학연구소**)

Abstract

Evaluation of Biocompatibility of Anodized and Hydrothermally Treated Pure Niobium Metal

Dae-Hee Won, Un-Jae Choi*, Min-Ho, Lee, Tae-Sung Bae****

Fostering Project Corps of Industrial-Academic Cooperation Centered University, Sunchon National University, Sunchon, Jeonnam, 540-742, Korea
*Dept. of Dental Technology, Wonkwang Health Science College**
*Dept. of Dental Biomaterials and Institute of Oral Bioscience, School of Dentistry, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea***

This study was performed to investigate the surface properties of electrochemically oxidized pure niobium by anodic oxide and hydrothermal treatment technique. Niobium specimens of 10 × 10 ㎜ in dimension were polished sequentially from #600, #800, #1000 emery paper. The surface pure niobium specimens were anodized in an electrolytic solution that was dissolved calcium and phosphate in water. The electrolytic voltage was set in the range of 250 V and the current density was 10 ㎃/㎠. The specimen was hydrothermal treated in high-pressure steam at 300℃ for 2 hours using an autoclave. Then, specimens were immersed in the Hanks' solution with pH 7.4 at 37℃ for 30 days. The surface of specimen was characterized by scanning electron microscope(SEM), energy dispersive X-ray microanalysis(EDX), potentiostat/galvanostat test, and cytotoxicity test.

The results obtained was summarized as follows; According to the result of measuring corrosion behavior at 0.9% NaCl, corrosion resistance was improved more specimens treated with anodic

* 이 논문은 2005년도 교육인적자원부 지방연구중심대학육성사업 헬스케어기술개발사업단의 지원에 의하여 연구되었음.

교신저자 ■성 명 : 배 태 성 ■전 화 : 063-270-4041 ■E-mail : bts@chonbuk.ac.kr
■주 소 : 전주시 덕진구 덕진동1가 664-14 전북대학교 치과대학 치과생체재료학교실

oxide than in hydrothermal treated ones. The multi-porous oxide layer on surface treated through anodic oxidation showed a structure that fine pores overlap one another, and the early precipitation of apatite was observed on the surface of hydrothermal treated samples. According to the result of EDX after 30 days deposition in Hanks′ solution, Ca/P was 1.69 in hydrothermal treated specimens. In MTT test, specimens treated through anodic oxidation and hydrothermal treated ones showed spectrophotometer similar to that of the control group. Thus no significant difference in cytotoxicity was observed (P>0.05).

• Key word : Anodizing, Niobium, Hydrothermal treated, Cytotoxicity

Ⅰ. 서 론

인간의 생활수준 향상과 고령화로 인하여 건강에 대한 관심이 고조되고 있으며, 이러한 관점에서 인간 신체의 일부를 대체하는 생체재료에 대한 연구가 집중되고 있는 실정이다. 특히 치과영역에서 자연치아를 대체하는 연구 즉, 치과용 임플란트 재료에 대하여 많은 연구가 이루어져 왔다. 치과용 임플란트 재료로서 여러가지 금속이 사용되고 있지만, 그 중에서 우수한 기계적 성질과 좋은 생체적합성 때문에 티타늄과 티타늄 합금이 많이 사용되고 있으며, 이러한 우수한 생체적합성은 재료표면에 존재하는 산화피막에 기인하며, 자연적으로 생성된 산화피막은 많은 결함을 가지고 있기 때문에 이러한 단점을 보완하기 위하여 표면처리에 관한 많은 연구가 이루어지고 있다(Chung et al, 2001; Sul et al, 2001; Ishizawa et al, 1996).

또한 티타늄 합금으로는 Ti-6Al-4V에 대한 연구가 주로 이루어졌으나(Komada, 1989), 최근에는 바나듐에 대한 독성 문제로 인하여 바나듐 대신에 니오비움을 첨가한 Ti-6Al-7Nb 합금(Semlitsch et al, 1985; Semlitsch et al, 1992, 권오성 등, 2004), 탄탈륨을 첨가한 Ti-6Al-13Ta 합금에 대한 연구가 진행되고 있다(Hamanka et al, 1998). 또한 알루미늄은 혈전의 우려 때문에 알루미늄을 지르코늄으로 대체한 Ti-13Zr-13Nb에 대한 연구가 진행되어왔다(Goodman et al, 1993). 그 밖의 임플란트 생체재료로서 Ⅳa족과 Va족이 합금의 첨가원소로 많이 사용되고 있으며 바나듐을 제외한 지르코늄, 하프늄, 니오비움, 탄탈륨 등은 생체적합성이 우수한 재료이지만, 이들에 대한 연구는 그다지 많지 않으며, 순수 니오비움 금속에 대한 임플란트 재료로서의 연구는 미비하다.

따라서 본 연구에서는 Va족 금속인 니오비움 금속에 대한 임플란트 재료로서의 사용 가능성을 검토하기 위하여 순수 니오비움 표면에 양극산화와 열수처리를 실시하여 다공질 피막을 형성한 다음, 표면에 형성된 피막의 특성, 부식거동 및 in vitro 시험을 통한 세포독성을 평가하였다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 시편준비

상용 순수 니오비움(Nilaco Ltd, Japan) 금속 판을 가로 10㎜×세로 10㎜로 절단한 다음, 각각의 시편을 #600, #800, #1000 SiC emery paper로 순차적으로 연마 하였으며, 증류수와 아세톤으로 5분간 초음파 세척한 후 건조하였다. 본 실험에 사용된 순수 니오비움 시편의 화학적 조성은 〈Table. 1〉에 나타내었다.

〈Table. 1〉 Chemical compositions of pure Nb metal

Element(purity)	Nb	Fe	Ta	C	O
Niobium rod	99.9	0.002	0.03	0.004	0.009

순수 니오비움 시편을 〈Table. 2〉와 같이 양극산화, 양극산화와 열수처리의 병행실시 등으로 나누어 실험하였으며, 생체활성 평가를 위해 유사체액인 Hanks´ 용액에서 30일간 침적 처리를 하였다.

〈Table. 2〉 Experimental on the this study of pure Nb metal

Code	Experimental
Group 1	anodized
Group 2	anodized + hydrothermal treated

2. 양극산화 및 열수처리

DC 정전원 장치(Kwang Duk FA, Korea)를 사용하여 양극에 시편을, 음극에 백금판을 연결한 후 전류밀도를 10㎃/㎠으로 일정하게 유지하였으며, 전압을 250V까지 상승시켰다. 전해액은 양극산화 처리한 피막층에서 인산칼슘의 석출을 유도하기 위하여 증류수에 DL-α-glycerophosphate 0.02㏖/ℓ , calcium acetate 0.3㏖/ℓ 을 혼합하여 제조하여 사용하였다. 양극산화 처리 후 시편은 전해액에서 꺼내어 수세 건조한 후 건조기에 보관하였다. 또한 열수처리는 양극산화 처리한 시편을 오토크레이브(ISA-BC-0060-SS-05-SYS, Il Shin Eng. Korea) 장치에 넣고 고압(1250psi) 수증기 하의 300℃에서 2시간 유지하였다.

3. 동전위 분극 실험

동전위 분극 시험을 하기 위한 시편은 ISO 10271:2001(E)에 따라 제조하였으며, 시험 용기는 1000㎖ 용량의 분극실험 용기에 800㎖를 넣고 정전위 장치에 연결하였다. 표준 전극은 Ag/AgCl 전극을 사용하였다. 동전위 분극 실험 장치는 Potentiostat/Galvanostat (273A, EG& G PAR, USA)을 사용하였으며, 탄소전극을 보조전극으로 사용하여 pH 7.4인 0.9% NaCl의 용액에서 -1000㎷~+2000㎷ vs. SCE 전위구간을 5 ㎷/sec의 주사속도로 동전위 분극 시험을 하였다.

4. 유사체액 침적 및 표면 분석

생체활성도 평가 시험은 〈Table. 3〉과 같은 조성을 갖는 유사체액 중에서 실시하였다. 준비한 시편들을 121℃에서 20분 간 고압멸균 처리한 다음 5% CO_2 가스를 함유하는 인큐베이터에서 30일 간 유사체액인 Hanks´ 용액에 침적하였

다. 유사체액의 pH는 7.4를 유지하였으며, 이때의 온도는 36.5℃로 조절하였고, 실험이 진행되는 동안 농도의 변화를 방지하기 위하여 용액을 3일 간격으로 교환하였다. 침적 처리 후 표면 형상과 원소분석을 위해 EDX가 부착된 주사전자현미경(JSM-5900, Jeoul)을 사용하여 가속전압 20 kV으로 분석을 하였다.

〈Table. 3〉 Chemical compositions of Hanks' solution

Component	Concentration(㎎/ℓ)
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.185
$MgSO_4$	0.09767
KCl	0.4
KH_2PO_4	0.06
$NaHCO_3$	0.35
NaCl	8.0
Na_2HPO_4	0.04788

5. 세포배양 및 MTT assay

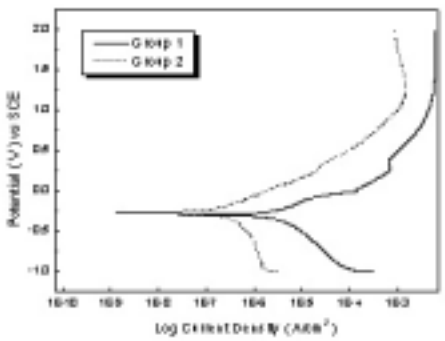
세포독성 평가 시험을 위해 시편 준비는 미처리 시편과 양극산화 시편을 121℃에서 20분간 고압 멸균처리 하였다. 세포주로는 Rat osteosarcoma cell line인 ROS 17/2.8 cell을 사용하였으며, 배양액은 1% antibiotic-antimycotic mixture(Sigma, St. Louis, MO)와 10% PBS가 첨가된 DMEM(Gibco Co., USA)로 37℃의 5% CO_2 incubator에서 배양하였다. 준비된 시편을 12 well plate에 넣고 그 위에 세포들을 각 well당 1×10^4 cells/well 씩 넣었으며 2㎖ 배양액을 넣어서 4일간 배양하였다.

MTT assay 시험은 3-(4.5-dimethylthiazol-2-yl)-2.5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)를 측정하여 세포독성을 평가하였다. MTT는 세포내 대사를 통해 tetrazolium salt가 formazan으로 전환하는데 이를 ELISA leader로 측정하여 세포의 대사 활성도를 평가하는 방법으로, 4일간 배양 후 MTT(100㎍/0.1㎖ PBS) 용액을 각 well당 100 ㎍씩 넣고 1시간 배양 후 흡입하고 Dimethlsalfoxide를 넣은 후 ELISA leader(Molecular Divices, Sunnyvale, CA94089, USA)로 측정하였다. 이때 파장은 570㎚로 대조군과의 백분율비로 나타내었으며, 각 그룹의 실험과정을 3회 반복 측정하였다. 세 그룹간의 세포독성 유의성은 분산분석(One-Way ANOVA)을 이용하였고, 두 그룹간은 t-test를 통해 통계학적으로 비교하였다($P>0.05$).

Ⅲ. 실험 결과

1. 부식실험

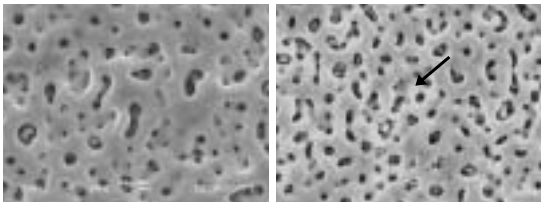
〈Fig. 1〉은 순수 니오비움 시편에 대하여 양극산화 및 열수처리 한 시편의 동전위 분극 실험한 결과를 나타내었다. 그림에서와 같이 양극산화 처리 시편의 부식전위는 -292.3㎷이고 부식전류 밀도는 2.918㎂/㎠ 이었다. 열수처리한 시편의 부식전위(Ecorr)는 -253.3㎷이고, 부식전류밀도(Icorr)는 2.011 ㎁/㎠이었다.



〈Fig. 1〉 Anodic polarization curves of samples after various in 0.9% NaCl solution at 36.5±1℃.

2. 주사전자현미경 사진

니오비움 시편을 각 그룹별로 처리한 후 주사전자 현미경을 사용하여 표면을 관찰한 결과를 〈Fig. 2〉에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 (a)는 250V에서 양극산화 처리 후의 표면사진으로 표면에 다공성의 많은 기공이 중첩되어 생성된 것이 관찰되었다. (b)는 양극산화 처리 후 300℃ 고온 증기압 하에서 2시간 동안 열수처리 한 시편의 표면사진으로 표면에 국화 모양(화살표)의 결정과 작고 미세한 결정들이 석출되어 있는 것이 관찰되었다.

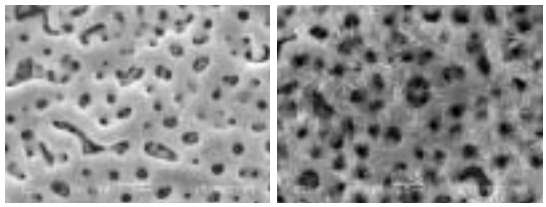


(a) Group 1 (b) Group 2

〈Fig. 2〉 SEM image of the samples after anodizing and hydrotherally treatment.

3. 생체활성 평가

〈Fig. 3〉은 순수 니오비움 시편을 각각의 Table 2의 시험단계별로 처리한 다음 Hanks′ 용액에서 30일 간 처리하여 표면형상을 관찰한 결과 이며, 〈Table. 4〉는 이러한 시편 표면에 대한 EDX 결과를 나타낸 것이다.



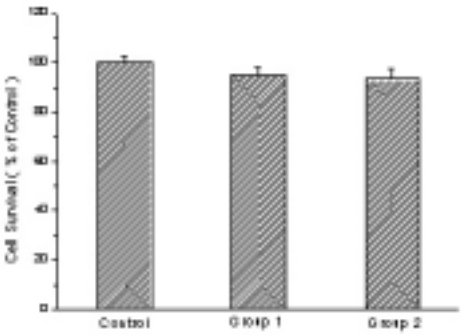
(a) Group 1 (b) Group 2

〈Fig. 3〉 SEM image of the samples after Hanks′ solution in immersion for 30 days.

〈Fig. 3〉에서 보는 바와 같이 양극산화 처리한 시편에서는 표면에서 아파타이트 초기 결정의 석출이 관찰되지 않았지만, 열수처리한 시편의 표면에서는 아파타이트 결정의 석출이 관찰되었다. 각각의 시편 표면에 대한 EDX 분석결과인 〈Table. 4〉에서 보면 양극산화 처리한 시편에서는 Ca의 양은 검출되었으나 P의 양은 미량 검출되었으며, Ca/P의 비는 2.59를 나타내었다. 또한 양극산화 및 열수처리한 시편에서는 Ca/P의 비가 1.69의 양으로 검출되었으며, 이론적인 아파타이트의(Ca/P=1.67) 비와 비슷한 값을 나타내었다.

〈Table. 4〉 EDX analysis of experimental samples after Hanks' solution immersion for 30 day.

elements(at.%) / Samples	Nb	O	Ca	P	Ca/P
Group 1	7.93	88.96	2.15	0.83	2.59
Group 2	8.18	87.80	2.35	1.39	1.69



〈Fig. 4〉 Cell survival measured after culture for 4 days at a wavelength of 570 nm by ELISA reader(n=5).

〈Fig. 4〉는 양극산화와 열수처리한 시편에 대한 MTT 시험 결과이고, 이때, 대조군의 흡광도를 100%으로 하였다. 양극산화 처리한 시편에서의 흡광도값은 95.2%, 열수처리한 시편에서의 흡광도는 93.4%으로 대조군과 유사한 흡광도를 보임으로써 독성에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(P〉0.05).

Ⅳ. 고 찰

치과용 임플란트 재료로서 가장 널리 사용되고 있는 티타늄은 생체친화성이 우수하고, 생체불활성이며, 파절저항이 우수할 뿐만 아니라 다른 금속에 비해 탄성계수가 낮아 생체역학적으로 유리한 특징을 갖고 있다. 그러나 생체활성재료와 비교하여 초기에 골형성을 적극 유도하지 못하여 골의 생성속도가 낮은 단점을 가지고 있다(박영준 등, 2003). 이러한 단점을 보완하기 위하여 여러 가지 표면처리 방법이 도입되고 있으며, 그 중 표면에 HA(hydroxyapatite) 코팅을 유도하는 방법(Chen et al, 1997; Dasarthy et al, 1993; Dasarathy et al, 1996)은 장기간 인체내에 사용시 HA의 흡수가 일어나고 HA층에 균열이 생기면서 박리가 일어날 수 있는 단점이 있다. 또한 생체활성의 세라믹 재료를 플라즈마 코팅하는 방법이 사용되었으나, 이는 10,000 ℃ 이상의 초고온 플라즈마로 용해 분사하여 코팅하는 과정에서 결정상의 상당부분이 무정형이나 불안정한 구조로 변화되어 매식 후 피막의 용해가 일어나거나, 하부금속과의 계면에 균열이 일어나거나, 용착된 입자가 탈락되는 등의 문제점이 보고되었다(Wang et al, 1993). 또한 티타늄 표면에 칼슘을 이온빔으로 주입하는 방법은 칼슘이온에 인산염이 흡착되면서 인산칼슘의 석출이 일어나 아파타이트의 석출을 촉진하는 것이다. 이와 같이 최근에 골 조직과 빠르게 결합을 촉진하는 표면처리 방법에 대한 연구에 관심이 집중되고 있다.

전기 화학적인 방법으로 표면을 처리하는 방법의 일종인 양극산화처리법은 티타늄 표면에 방전을 일으켜 칼슘과 인을 포함하는 다공성의 산화피막을 형성시키는 방법으로 산화피막의 결정구조와 두께는 전해질, 전류밀도 등의 조건들에 의해 영향을 받는다(Camara et al, 1984; Fleske et al, 1989). 본 연구에서는 β-glycerophosphate 0.02 ㏖/ℓ , calcium acetate 0.3 ㏖/을 혼합한 전해질 용액을 제조하여 순 니오비움 시편을 양극산화 및 열수처리를 한 후 표면의 형상, 결정상 분석, 원소분석, 부식거동 및 세포독성을 조사하였다.

순수 니오비움 시편에 대하여 양극산화 및 열

수처리 한 시편의 동전위 분극 실험한 결과 양극산화처리 시편의 부식전위는 -292.3㎷, 부식전류 밀도는 2.918㎂/㎠ 이었다. 열수처리한 시편의 부식전위(Ecorr)는 -253.3㎷, 부식전류 밀도(Icorr)는 2.011㎁/㎠이었다. 이와 같이 열수처리한 시편에서 분식전위가 낮은 값을 보이는 이유는 고온고압의 수증기 하에서 양극산화된 산화층이 OH^-기와 결합하여 표면에 미세한 산화물이 생겨 내식성이 개선되었다고 생각된다.

주사전자현미경 관찰 결과 양극산화 처리에 의해 형성된 미세돌기를 갖는 기공이 중첩된 구조를 보이고 있으며, 양극산화 후 열수처리한 시편에서는 미세한 아파타이트 결정이 석출되었다(Fig. 2). 권 등(권오성 등, 2004)은 Ti-6Al-7Nb 합금을 칼슘과 인산이 함유된 수용액에서 양극산화 처리 후 열수처리 한 시편에서 침상과 육각기둥의 아파타이트가 석출되었다고 하였으며, Ishizawa와 Ogino(Ishizwa et al, 1995)는 티타늄을 저농도의 칼슘과 인이 함유된 수용액에서 양극산화 처리한 다음 300℃에서 고압 수증기로 열수처리를 시행하였을 때 티타늄 표면층에 아파타이트 결정의 석출양상이 관찰되었다고 하였다. 원 등(원대희 등, 2005)은 니오비움 시편을 양극산화 및 알카리 처리한 다음 Hanks´용액에서 30일간 침적한 후 표면층에 아파타이트 결정의 생성을 관찰하였으며, 순수 니오비움 시편을 양극산화 처리 및 열수처리한 시편의 표면에 대하여 XPS 분석결과 표면에 Ca과 P의 원소가 검출되었다고 하였다. Hanks´용액에서 30일간 침적한 후의 표면사진을 관찰한 결과 양극산화 시편에서는 결정의 석출이 관찰되지 않았지만, 열수처리한 시편에서는 표면에 아파타이트의 석출이 관찰되었다. 유사체액에서 침적한 표면에 대하여 EDX 분석결과 양극산화 시편에서 Ca와 P비는 2.59을 나타내었으며, 열수처리한 시편에서는 1.69으로 이론적인 수산화아파타이트의 Ca/P의 비인 1.67로 비슷한 결과를 나타내었다. 이상과 같이 표면에 나타난 SEM 형상과 EDX 결과에 따라 열수처리 및 유사체액 침적 처리한 시편의 표면에 생성된 결정은 하이드록시아파타이트 결정(HA)으로 생각된다.

MTT 시험은 세포의 활성도와 살아있는 능력을 평가하는 방법으로 세포가 쉽게 사멸되지않는 일부 재료들의 미미한 독성 검사에 널리 이용되고 있다(Ciaprtti et al, 1993). 본 연구에서는 MTT 시험의 독성 유무를 평가하고자 하였으며, 시편위에 세포를 배양한 후 세포만 따로 분리하여 적정량의 MTT 용액을 첨가하여 ELISA reader로 570㎚에서 흡광도를 측정하였다. 이때 흡광도의 수치는 대사과정이 활발한 즉, 살아있는 세포수와 비례하기 때문에 흡광도 수치가 높을수록 독성이 없음을 나타낸다(Schreckenbath et al, 1997; Sul et al, 2002).

〈Fig. 6〉은 양극산화와 열수처리한 시편 5개에 대하여 MTT 시험한 결과로 대조군의 흡광도를 100%으로 하였다. 양극산화 처리한 시편에서의 흡광도는 95.2%, 열수처리한 시편에서는 93.4%로 독성에서는 유의한 차이를 보이지 않았다($P>0.05$).

V. 결 론

본 연구에서는 임플란트 재료로의 사용 가능성을 검토하기 위하여 순수 니오비움 금속에 칼슘과 인이 함유되어 있는 전해질 수용액에서 양극산화와 열수처리를 실시하여 다공성 피막을 형성하였다. 또한 Hanks′ 용액에서 30일간 침적한 후 표면의 형상, 부식거동 및 EDX 분석을 하였으며, MTT 시험을 통하여 세포독성을 측정한 후, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 0.9% NaCl에서 부식거동을 측정한 결과 양극산화처리 보다 열수처리 한 시편에서 내식성이 개선되었다.
2. 양극산화 처리한 표면의 다공질 산화층은 미세기공이 중첩된 구조를 보였으며, 열수처리한 시편에서는 표면에 아파타이트의 초기 석출이 관찰되었다.
3. 유사체액에 30일 간 침적한 후의 Ca/P 비의 값은 열수처리 한 시편에서 1.69 값을 나타내었다.
4. MTT 시험에서는 양극산화와 열수처리 한 시편에서 대조군과 유사한 흡광도를 보여 세포독성에서는 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P>0.05$).

참 고 문 헌

권오성, 김강남, 원대희, 이민호, 배태성, 이오연. 양극산화와 열수처리된 Ti-6Al-7Nb 합금의 생체활성 평가. 한국생체재료학회지, 8, 20-25, 2004.

박영준, 정화영, 곽인주, 이용렬, 송호준, 노세라, 황규석, 임용무. 티타늄 표면상에 코팅된 강유전성 $BaTiO_3$ 박막의 생체적합성과 골아세포 활동도에 미치는 영향. 대한치과기재학회지, 30, 267-281, 2003.

원대희, 김동환, 이용승, 배태성. 양극산화 불꽃방전 처리한 Ti, Nb, Ta 산화피막의 특성. 한국생체재료학회지, 7, 163-167, 2003.

원대희, 김영순, 윤동주, 이민호, 배태성. 양극산화와 열수처리한 니오비움 금속의 표면특성. 한국재료학회지, 15, 134-138, 2005.

Camara OR, De Pauli CP, Giordano MC. Potentiodynamic behavior of mechanically polished titanium electrodes. Electrochemical. Acta., 29, 1111-7, 1984.

Chung HW, Won DH, Bae TS, Lee MH. Effect of potassium hydroxide treatment of titanium implant on the precipitation of calcium phosphate and tissue compatibility. J Korean Res Soc Dent Mater, 28, 223-233, 2001.

Chen J, Tong W, CaO Y, Feng J, Zhang X. Effect of atmosphere on phase transformation in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings during heat treatment, J. Biomed Mater Res, 34, 15-20, 1997.

Ciapetti G, Cenni E, Pratelli L and Pizzoferrato A. In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay. Biomaterials, 14, 359-364, 1993.

Dasarathy H, Riley C, Coble HD. Analysis of apatite deposits on substrates, J Biomed Mater Res, 27, 477-482, 1993.

Dasarathy H, Riley C, Coble HD, Lacefield WR, Maybee G. Hydroxyapatite /metal composite coatings formed by electrodeposition. J Biomed Mater Res, 31, 81-89, 1996.

Fleske A, Plieth WJ. Raman spectroscopy of titanium dioside layers. Electrochemical Acta, 34, 75-7, 1989.

Goodman SB, Davidson JA, Fornasier VL, Mishra AK. Histological response to cylinders of a low modulus titanium alloy(Ti-13Nb-13Zr) and a wear resistance zirconium alloy(Zr-2.5Nb) implanted in the rabit tibia. J Appl Biomater, 4, 331-9, 1993.

Hamanaka H, Doi H, Kobayashi E, Nakano T, Yoneyama T. Corrosion resistance and mechanical properties of cast Ti-5Al-13Ta alloys. J Dent Mater (Special Issue 31), 17, 88, 1998.

Ishizawa H, Ogino M. Formation and characterization of titanium anodic oxide film containing Ca and P. J Biomed Mater Res, 29, 65-72, 1995.

Ishizawa H, Ogino M. Thin hydroxyapatite layers formed on porous titanium using electrochemical and hydrothermal reaction. J Mater Sci, 31, 6279-6284, 1996.

Kodama T. Study on biocompatibility of titanium alloys. J Stomatol Soc Jpn, 51, 263-88, 1989.

Schreckenbath JP, Marx G. Characterization of anodic spark-converted titanium surface for biomedical applications. J Mater Sci Mater Med, 10, 453-457, 1997.

Semlitsch MF, Staub F, Weber H, Streicher RM. Titanium-aluminium-niobium alloy, developments for biocompatibility high strength surgical implants. Biomedizinische, Technik, 30, 334-349, 1985.

Semlitsch MF, Weber H, Streicher RM. Joint replacement components made of hot-forged and surface-treated Ti-6Al-7Nb alloy. Biomaterials, 13, 781-8, 1992.

Sul YJ, Johansson CB, Jeong YS, Albrektsson T. The electrochemical oxide growth behavior on titanium in acid and alkaline electrolytes. Med Eng Phy, 23, 329-346. 2001.

Sul YT, Johansson CB, Petronis S, Krozer A, Jeong Y, Wennerberg A, and Albrektsson T. 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, 2002.

Wang BC, Lee M, Chang E, Yang CY. The shear strength and failure mode of plasma-sprayed hydroxyapatite coating to bone: the effects of coating thickness. J Biomed Mater Res, 27, 1315-1327, 1993.