

## 골아세포가 배양된 치과 임플란트용 Ti-Ta합금의 전기화학적 특성

김원기, 최한철\*, 고영무

조선대학교 치과대학 생체재료학교실 및 생체재료나노계면활성화센터, 2단계 BK21

### Electrochemical Characteristics of Osteoblast Cultured Ti-Ta Alloy for Dental Implant

W.G. Kim, H.C. Choe\*, Y.M. Ko

Department of Dental Materials & Research Center of Nano-Interface Activation for Biomaterials, College of Dentistry, 2nd Stage of Brain Korea 21 for College of Dentistry, Gwangju 501-759, Korea

(Received April 2, 2008 ; accepted April 22, 2008)

#### Abstract

Electrochemical behaviors of surface modified and MC3T3-E1 cell cultured Ti-30Ta alloys have been investigated using various electrochemical methods. The Ti alloys containing Ta were melted by using a vacuum furnace and then homogenized for 6 hrs at 1000°C. MC3T3-E1 cell culture was performed with MC3T3-E1 mouse osteoblasts for 2 days. The microstructures and corrosion resistance were measured using FE-SEM, XRD, EIS and potentiodynamic test in artificial saliva solution at 36.5±1°C. Ti-Ta alloy showed the martensite structure of  $\alpha+\beta$  phase and micro-structure was changed from lamellar structure to needle-like structure as Ta content increased. Corrosion resistance increased as Ta content increased. Corrosion resistance of cell cultured Ti-Ta alloy increased predominantly in compared with non cell cultured Ti-Ta alloy due to inhibition of the dissolution of metal ion by covered cell.  $R_p$  value of MC3T3-E1 cell cultured Ti-40 Ta alloy showed  $1.60 \times 10^6 \Omega \text{cm}^2$  which was higher than those of other Ti alloy. Polarization resistance of cell-cultured Ti-Ta alloy increased in compared with non-cell cultured Ti alloy.

*Keywords:* Corrosion behaviors, Ti alloy, Osteoblast, Dental implant

## 1. 서 론

티타늄과 그 합금은 우수한 내식성과 생체적합성 및 세포조직에 대한 독성과 알레르기 반응이 없기 때문에 의료용 및 치과용 임플란트 재료로 많이 사용되고 있다<sup>1,4)</sup>. 현재 생체재료에 가장 많이 사용되는 Ti합금은 CP-Ti와 Ti-6Al-4V 합금이 대표적이다. CP-Ti의 경우 산화막의 형성으로 금속 이온이 용출되지 않으므로 생체 내에서 내식성이 높고 응력부식균열을 거의 일으키지 않는 장점이 있다. 그러나 정형외과용 임플란트로 사용될 때 마모가 심하고 강도가 낮아 파손되는 경우가 있다<sup>5)</sup>.  $\alpha+\beta$  혼합상을 가지고 있는 Ti-6Al-4V 합금은 높은 강도를 가

지고 있기 때문에 임플란트, 골 고정판 및 조임쇠(clamp) 등에 주로 사용하고 있지만 V와 같은 원소는 세포독성을 유발하기 때문에 Semlitsch 등<sup>6)</sup>은 V 대신 Nb이나 Fe 등을 첨가하여 Ti-6Al-7Nb 및 Ti-5Al-2.5Fe 합금을 개발하여 생체적합성, 기계적 성질, 내식성 및 마모저항이 우수한 생체재료를 개발하였다. 그러나 Al도 알츠하이머병을 유발시키는 원인으로 알려지면서 Al원소를 대체하려는 연구가 진행되었다<sup>7,9)</sup>. 뿐만 아니라 Ti합금이 생체 내에 매식되었을 경우 골과 합금간의 탄성계수의 차이로 인하여 응력차폐현상(stress shielding)이 발생하여 인접한 골에 높은 응력이 전달되므로 생체적합도가 크게 감소하거나 임상적으로 실패가 발생한다<sup>10-12)</sup>. 이러한 생체금속재료의 한계점 때문에 이를 개선하기 위하여 탄성계수가 골과 비슷한 Mo, V, Ta 및

\*Corresponding author. E-mail : hcchoe@chosun.ac.kr

Nb 등과 같은  $\beta$ 형 안정화 원소를 첨가하여 제조한  $\beta$ 형 Ti합금 개발에 대한 관심이 증가하고 있다<sup>13-15</sup>. Zhou 등<sup>10-12</sup>에 의하면 Ti-Ta 합금은 골과 유사한 탄성계수와 동시에 높은 강도를 갖기 때문에 생체재료를 대체할 수 있는 가능성을 갖는다고 보고하였다.  $\beta$ 형 Ti 합금은  $\alpha+\beta$ 형 Ti 합금에 비해 열처리하기 쉽고 경화능이 크며 체심입방정 구조에 의한 연신율의 증가 등 많은 이점이 있을 뿐만 아니라 파괴인성에서도 뛰어난 특성을 보여 연구가 집중되고 있다<sup>16,17</sup>.

따라서 본 연구에서는 저탄성계수를 갖는  $\beta$ 형 Ti 합금인 Ti-Ta 합금을 제조하여 균질화 처리한 후 MC3T3-E1 골아세포를 배양하여 이에 따른 표면의 전기화학적 특성을 알아보고 Ta이 첨가됨으로써 표면에서  $\text{TiO}_2$  산화막과 함께 이들 원소가 전기화학적 특성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1 시료준비

본 실험에 사용할 Ti-10, 20, 30 및 40 wt% Ta 합금제조를 위해 순수한 Ti(G&S TITANIUM, Grade. 4, USA)과 Ta(Kurt J. Lesker company, 99.95% pure, USA)을 각각 준비하였다.

### 2.2 합금 제조

Ti-Ta 합금은 진공 아크 용해로를 이용하여 제조하였으며, Ta의 조성을 각각 10, 20, 30 및 40 wt%로 칭량하여 냉각수가 흐르는 동(Cu) 도가니에 장입하였다.  $10^{-3}$  torr의 진공분위기상태에서 정제된 아르곤 가스를 챔버에 충전하고, 다시 진공을 유지하는 방법으로 챔버 내의 분위기를 조정 하였다. 또한 챔버 내에 존재하는 산소에 의한 합금의 산화를 최소화하기 위하여 합금 용해시 시료를 용해하기 전에 스폰지 상 Ti를 용해하여 잔존하는 산소량을 제거 하였다. 그 후 합금의 균일한 용해를 위하여 텅스텐(W) 전극봉을 이용하여 시편을 6회 이상 반복하여 용해하였고 용해 전과 후의 중량차가 거의 없는(weight loss 0.3%~0.65%) 시편만을 선택하여 실험을 수행하였다. 제조된 시편은 전기로(Model KDF-S70. DENKEN, JAPAN)를 이용하여  $1000^\circ\text{C}$ 에서 Ar분위기로 하여 6시간동안 유지하여 균질화 처리를 하였다. 열처리된 시편은 Keller's 용액인 2 ml HF+3 ml HCl+5 ml  $\text{HNO}_3$ +90 ml  $\text{H}_2\text{O}$ 에서 에칭하여 주사전자현미경(S-4800H, Hitachi, Japan)을 통하여 미세조직을 관찰하였다.

### 2.3 세포배양 및 관찰

MC3T3-E1 세포는 구강 내 두개골에서 추출한 후 배양하여 사용하였으며 추출한 세포를 10% FBS (fetal bovine serum)가 첨가된 alpha modified Eagle's minimum essential medium을 배지로 사용하여  $37^\circ\text{C}$ 에서  $4 \times 10^4$   $\text{cm}^2$ 로 48시간동안 배양하였다. 배양한 후에는 PBS(Phosphate Buffer Solution)로 세척한 후, 70% ethanol로 20분 간 안정화하였다. 안정화 시킨 후에는 2.5% glutaldehyde로 완충된 나트륨인산염에서 고정시킨 후 같은 완충제에서 세척하였다. 세척이 끝난 후에는 1%  $\text{OsO}_4$ 가 첨가된  $\text{HgCl}_2$  과 포화용액에서 후 고정시키고(post fixed), 에탄올로 탈수 시켰다. 모든 과정이 끝나면 임계건조한 후 백금으로 코팅하여 주사전자현미경으로 조직을 관찰하였다<sup>18-20</sup>.

### 2.4 전기화학적 특성

Ti-Ta 이원계 합금의 부식 특성을 알아보기 위해 전기화학적 방법(Potentiostat, Model 263, EG&G, USA)을 이용하였으며,  $-1500$  mV~ $+2000$  mV까지 동전위 분극실험(potentiodynamic)을 행하였고, 100 kHz~10 mHz까지 교류 주파수 측정 실험(AC impedance)을 행하였다. 실험용액으로는  $36.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 인공타액(Fusayama-Meyer type)이 사용되었는데 표 1에 그 화학적 조성을 나타내었다. 실험용액은

Table 1. Composition of Artificial Saliva (Fusayama-Meyer type)

Component	Composition
NaCl	0.4 g
KCl	0.4 g
$\text{CaC}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.906 g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.690 g
$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	0.005 g
Urea	1 g
Distilled Water	1000 ml

Table 2. The corrosion condition of sample

Condition	
Working electrode	Sample
Reference electrode	SCE (KCl)
Counter electrode	High Dense Carbon
Solution	Artificial Saliva
Temperature	$36.5 \pm 1^\circ\text{C}$
Gas	Ar
Scan range	$-1500$ mV~ $+2000$ mV
Scan rate	100 mV/min

실험이 시작되기 30분 전 부터 끝날 때까지 아르곤가스를 흘려보내 탈기된 분위기를 유지시켜 주었으며, 작업전극(working electrode)에는 시편을 기준전극(reference electrode)은 포화감홍전극(saturated calomel electrode, SCE)을 보조전극(counter electrode)으로는 고밀도 탄소전극을 각각 사용하였으며 표 2는 부식실험 조건을 나타내고 있다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 Ta함량에 따른 Ti합금의 미세조직변화

그림 1은 Ti-Ta 이원계 합금을 균질화 처리한 후 주사전자현미경을 이용하여 미세조직을 관찰한 사진을 나타내고 있다. Ti-Ta합금의 경우 기지의  $\alpha$ 상과 새로이 형성된  $\beta$  상으로 이루어진  $\alpha+\beta$  상의 마르텐사이트(martensite) 조직이 나타나는 것을 확인할 수 있었다<sup>10-12</sup>. Ta함량이 10 wt% 첨가된 Ti-10 Ta합금의 경우  $\alpha$  상의 마르텐사이트 구조에서 층상구조(lamellar)를 형성하였음을 알 수 있다. Ta이 20 wt% 첨가된 합금의 경우에도 10 wt% 첨가된 경우와 유사하게 층상구조를 보이며 Ta이 40 wt% 첨가된 합금은  $\beta$  상의 등축정<sup>10-12</sup>내에 아주 작은 침상조직이 입계를 중심으로 입계 내로 성장되었음을 알 수 있다. 주사전자 현미경사진에서 알 수 있듯이  $\beta$  등축정 내에 미세한 침상(needle-like) 구조의  $\alpha$  상이 균일하게 나타났다. 이는 Ta의 함량이 증가됨에 따라서 우선 침상구조의 조직을 보이다가  $\beta$

안정화원소 첨가량의 증가로 등축정의 형성과 함께 침상구조를 가지는데 이는 기계적성질과 전기화학적 성질에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 이들 조직은 기계적 성질과 밀접한 관계가 있으며 침상구조로 변화될수록 기계적인 강도가 증가하며 더불어 탄성계수는 감소된다. 탄성계수가 감소되는 이유는<sup>10-12</sup> 합금원소가 결정격자의 격자상수를 증가시키기 때문이며 침상구조는  $\alpha''$  및  $\alpha'$ 과 같은 준안정상태의 마르텐사이트 구조가 형성됨으로써 강도가 증가된다고 보고하고 있다<sup>10-12</sup>. 그림 2은 균질화 처리된 Ti-Ta합금의 X선 회절 피크(PCPDWIN, JCPDS-ICDD)를 나타낸 것이다. Ti-Ta합금을 1000°C에서 6시간동안 균질화처리한 결과 near  $\beta$ 형 Ti합금으로

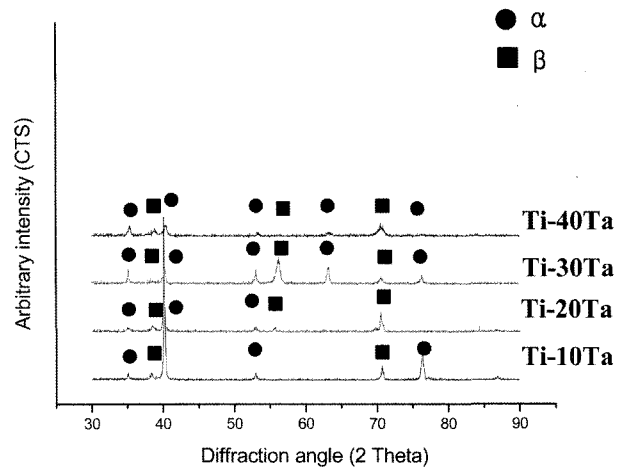


Fig. 2. X-ray diffraction patterns of Ti-Ta alloys.

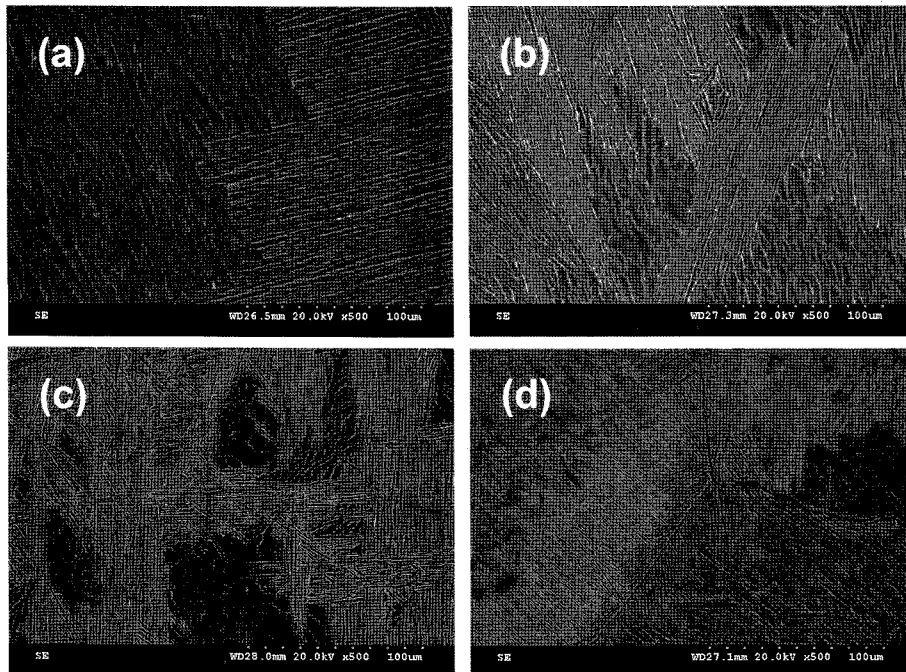


Fig. 1. FE-SEM micrographs showing the microstructure of Ti-Ta alloys; (a) Ti-10 Ta, (b) Ti-20 Ta, (c) Ti-30 Ta, (d) Ti-40 Ta.

$\beta$  상 피크와  $\alpha$  상의 피크가 검출되어 Ta함량이 증가함에  $\beta$  상 피크가 현저하게 나타남을 알 수 있는데 이는 위에서 고찰한 결과와 잘 일치함을 보인다.

**3.2 Ti-Ta합금의 Oseteoblast MC3T3-E1 배양효과**

그림 3는 Ti-Ta합금의 표면에 MC3T3-E1 세포를 배양한 후, FE-SEM으로 표면을 관찰한 결과이며, 모든 시편에서 세포는 불규칙한 형태로 성장하였고 Ta이 낮은 합금에서는 활발한 세포내 이동을 의미하는 lamellipode<sup>18-20</sup>는 거의 관찰되지 않았지만 Ti-30 및 40 wt% Ta 합금의 경우 세포는 구 형태의 모습과 함께 세포내부를 연결하는 세포내 연결선이 잘 관찰되었다. 또한 세포가 전체 표면에 잘 퍼져 있는 결과를 볼 수 있으며 면에서 잘 성장되었음을 알 수 있다. 이는 Ta함량이 증가할수록 독성이 없고 생체적합성이 증가됨을 의미한다.

Ti-Ta합금에 골 내부에서 성장하는 oseteoblast MC3T3-E1을 합금표면에 배양하여 주사전자현미경으로 관찰한 결과(그림 3) 세포는 모든 시편에서 불규칙한 형태로 성장하였고 활발한 세포내 이동을 의미하는 lamellipode는 거의 관찰되지 않았다<sup>18-20</sup>. 10 wt% Ta이 첨가된 합금의 경우 기다란 세포질 신

장(cytoplasmic prolongation)과 다양한 세포질 돌기(microvilli)가 관찰되었으며 좋은 접착성을 암시하는 기다란 외반(evagination)을 가진 구 형태로 나타났으며 세포질 연장선<sup>18-20</sup>이 거의 관찰되지 않았다. Ti-20 및 30 wt% Ta 합금의 경우 세포는 구 형태의 모습을 나타냈으며 세포내부를 연결하는 세포내 연결선이 관찰되었다.

**3.3 세포성장된 Ti-Ta합금의 표면부식특성**

그림 4는 세포를 배양하기 전과 후의 Ti-Ta 이원계 합금의 동전위 분극 곡선을 보여주고 있다. 세포를 배양하기 전과 후의 모든 시편에서는 부동태 피막이 넓게 형성되었으나 세포를 배양한 시편에서 세포를 배양하지 않은 시편에 비해 부식전위가 증

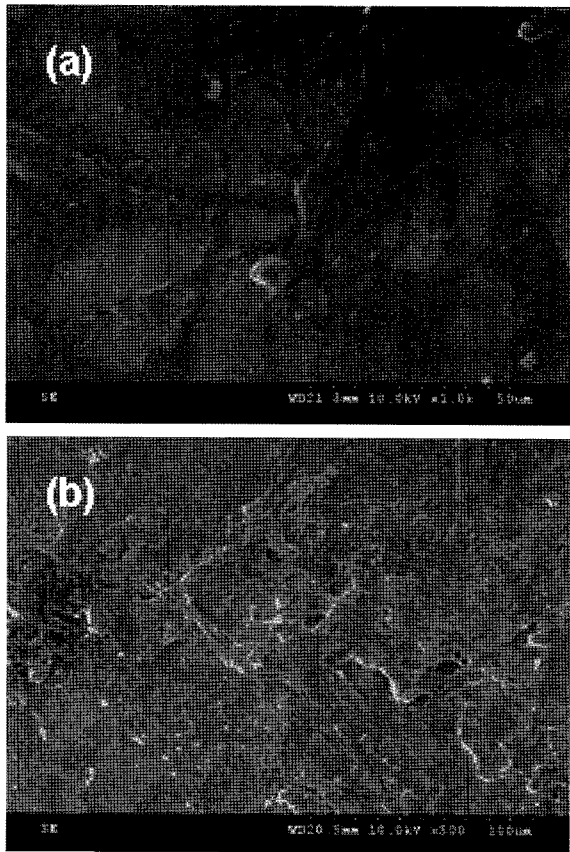
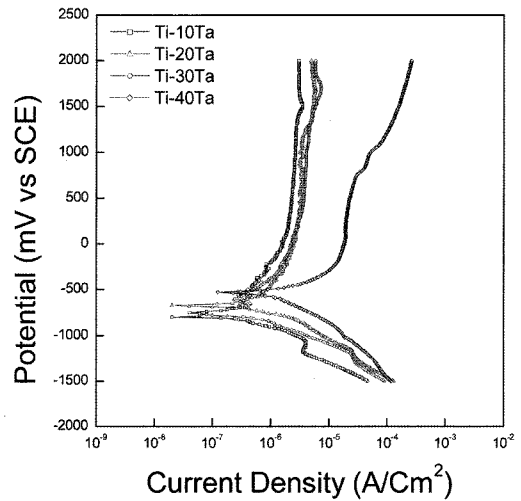


Fig. 3. FE-SEM micrographs showing the surface of MC3T3-E1 cell cultured Ti-Ta alloys; (a) Ti-30 Ta, (b) Ti-40 Ta.

**➤ Non-cell cultured**



**➤ MC3T3 E-1 cell cultured**

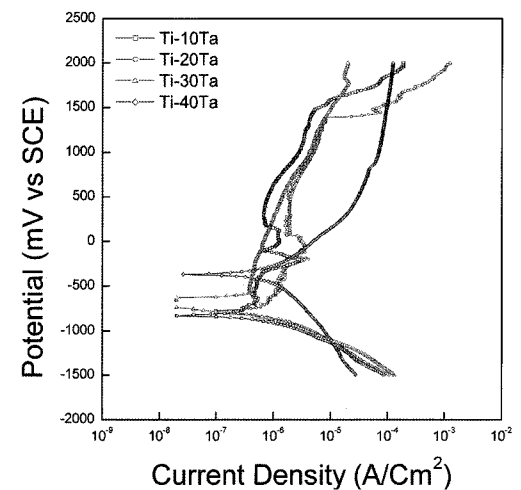


Fig. 4. Potentiodynamic polarization curves of non-cell cultured and MC3T3-E1 cell cultured Ti-Ta alloys after potentiodynamic test in artificial saliva solution at 36.5±1°C.

가하는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 세포를 배양한 시편의 부동태 전류밀도가 세포를 배양하지 않은 시편의 부동태 전류밀도에 비해 더 낮은 값을 나타내고 특히 Ta함량이 증가함에 내식성이 우수함을 관찰할 수 있는데 이는 첫째, Ta가 첨가됨으로써 Ta산화막이 형성됨에 기인하고 세포가 표면에서 이온의 용출을 억제한 효과로 생각된다.

이러한 세포 배양이 표면의 부식특성에 미치는 영향은 동전위분극시험을 통하여 쉽게 알아볼 수가 있는데 Ti-Ta 합금에 세포를 배양하기 전과 후의 동전위 분극곡선을 살펴본 결과(그림 4), 세포를 배양하기 전과 후의 모든 시편에서는 부동태 피막이 형성되지만 세포 배양 하기 전의 부동태 피막을 형성하는 전류밀도의 값이 세포를 배양한 후의 전류밀도 값에 비해 증가하는 경향을 나타내었는데 이로 인해 전기화학적 반응을 할 수 있는 자리를 제공하

게 되며 내식성은 감소하게 된다. MC3T3-E1 세포를 배양 한 후의 분극곡선은 세포를 배양하지 않은 시편의 경우에 비하여 부식전위의 값이 증가되어 내식성이 향상되는 것을 알 수 있었다.

그림 5는 cell이 형성된 표면에서 표면의 전기화학적 특성을 고찰하기 위하여 Ti-Ta합금에 MC3T3-E1 세포를 배양 전과 후의 시편을 AC 임피던스를 사용하여 실험한 결과인 Nyquist plot을 나타내고 있다. Ta함량이 증가할수록 반원의 궤적은 증가하는 것을 관찰할 수 있으며 세포를 배양하지 않은 시편보다 세포를 배양한 시편의 경우 전체적으로 반원의 궤적이 증가하는 것을 관찰할 수 있었는데 이는 표면에 형성된 세포와 Ta산화막이 세라믹과 같은 특성을 나타냄으로써 내식성이 크게 증가하였던 것으로 보인다.

그림 6과 7은 Ti-Ta합금을 인공타액에서 AC 임

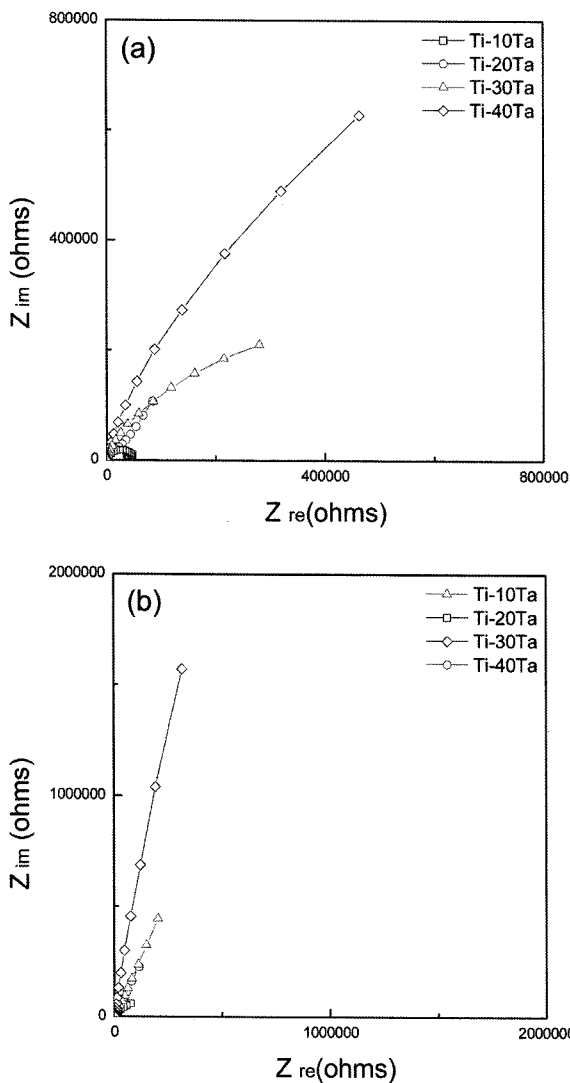


Fig. 5. Nyquist plots of MC3T3-E1 cell cultured Ti-Ta alloys after AC impedance test in artificial saliva solution at  $36.5 \pm 1^\circ\text{C}$ .

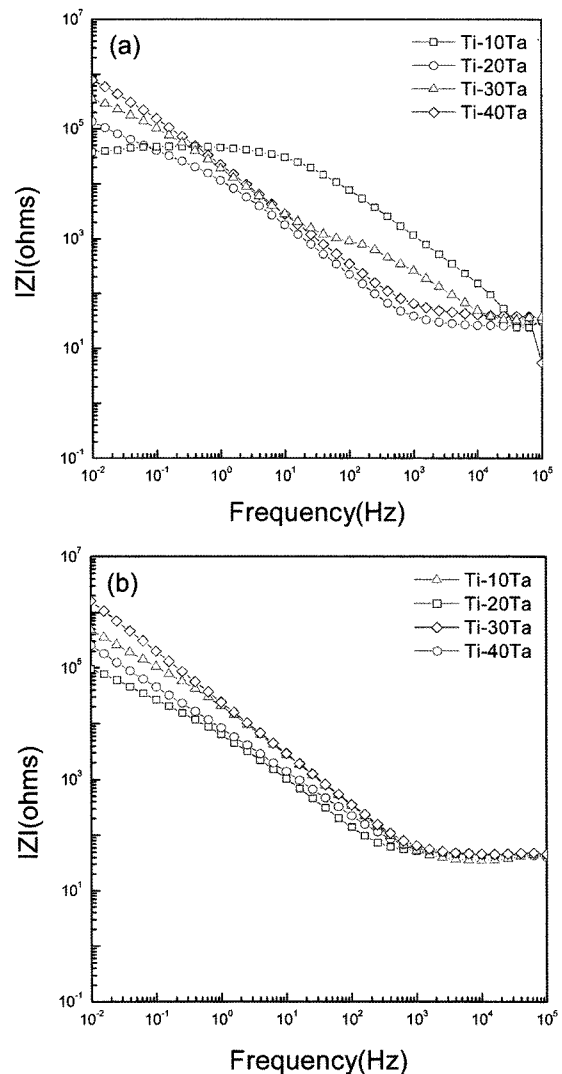


Fig. 6. Bode plots of MC3T3-E1 cell cultured Ti-Ta alloys after AC impedance test in artificial saliva solution at  $36.5 \pm 1^\circ\text{C}$ .

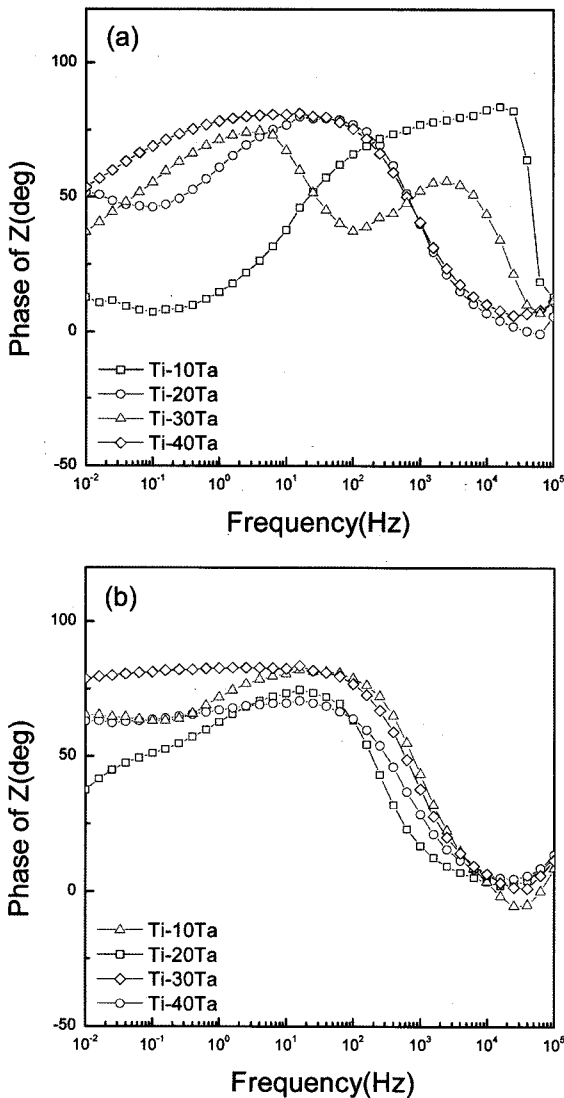


Fig. 7. Bode-Phase plots of MC3T3-E1 cell cultured Ti-Ta alloys after AC impedance test in artificial saliva solution at 36.5±1°C.

피던스 실험한 후 Bode plot과 Bode-Phase plot을 나타내고 있다. 세포를 배양하지 않은 경우 전해액에 대한 저항( $R_s$ )은 모든 시편에서 유사하게 나타났으나 분극저항( $R_p$ )은 Ta함량이 증가할수록 증가되는 것을 관찰할 수 있었다. 세포를 배양한 경우 세포를 배양하지 않은 시편에 비해 내식성이 향상되는 것을 관찰할 수 있었으며 Ta함량이 증가할수록  $R_p$  값도 증가됨을 관찰할 수 있었다. 또한 세포를 배양한 경우 부동태 피막이 안정하게 형성되는 것을 관찰할 수 있었고 40 wt% Ta의 경우 가장 넓은 부동태 피막을 형성하는 것을 관찰할 수 있었다.

표 3은 AC 임피던스 실험 후 얻을 수 있는 데이터를 수치화한 것을 나타내고 있다. 세포를 배양하기 전 시편의 경우 합금에 첨가된 Ta원소의 함량이 40 wt%일 때  $R_p$ 의 값과 779,122  $\Omega\text{cm}^2$ 로 가장

Table 3. The corrosion potential ( $E_{\text{corr}}$ ), polarization resistance ( $R_p$ ) and solution resistance ( $R_s$ ) of Ti-Ta alloys from electrochemical test in artificial saliva at 36.5±1°C

Sample		$E_{\text{corr}}$ (mV)	$R_p$ ( $\Omega\text{cm}^2$ )	$R_s$ ( $\Omega\text{cm}^2$ )
Non-cell cultured	Ti-10Ta	-800	37,301	23
	Ti-20Ta	-740	135,585	25
	Ti-30Ta	-670	350,237	33
	Ti-40Ta	-530	779,122	38
MC3T3-E1 cell cultured	Ti-10Ta	-780	96,418	44
	Ti-20Ta	-710	253,765	44
	Ti-30Ta	-640	487,044	35
	Ti-40Ta	-370	1,604,954	46

높았으며 세포를 배양한 경우에도 마찬가지로 1,604,954  $\Omega\text{cm}^2$ 로 40 wt%일 때 가장 높은 값을 보여 Ta함량이 증가할수록  $R_p$  값은 증가함을 관찰할 수 있었다. 이는 Ta함량의 증가에 따라 내식성이 향상됨을 의미하는 것이다. 세포를 배양하지 않은 경우에 비해 MC3T3-E1 세포를 배양한 경우  $R_p$  값은 전체적으로 증가함을 관찰할 수 있었다. 즉, 세포를 배양한 시편의 경우 배양하지 않은 시편에 비해 내식성이 향상되었음을 관찰할 수 있었다.

임피던스 데이터는 부동태피막의 특성을 정교하게 교류전압을 이용하여 측정할 수 있는 방법으로 세포배양 시 부동태영역에서의 전기화학적 거동을 고찰할 수 있다<sup>21-24</sup>). Bode phase plot을 살펴보면 모든 시편에서 위상각이 고 주파수에서 0° 쪽으로 떨어지다가 증가하는 것을 관찰할 수 있는데 이러한 고주파수영역에서의 임피던스는 용액의 저항 ( $R_s$ ) 때문이다<sup>21-24</sup>). 또한 중·저 주파수영역에서 위상각이 낮은 값으로 떨어지는 경우를 관찰할 수 있는데 이는 임피던스에서 표면필름의 저항에 의해 지배를 받은 것이다. 또한 넓은 주파수 영역에 걸쳐 위상각이 90°에 가깝게 일정한 phase가 존재하는데, 이는 모든 시편에서 캐퍼시티 반응을 나타내고 있으며 이런 현상은 표면에 존재하는 부동태피막의 형성을 암시한다<sup>21-24</sup>). 따라서 90°에 가까운 위상각 영역이 넓을수록 매우 안정한 부동태피막을 형성하여 내식성이 우수함을 의미한다(그림 7). Bode plot은(그림 5) 모든 시편에서 2개 영역으로 특성화되는 유사한 현상을 보였다. 먼저, 고 주파수영역에서의 Bode plot은 위상각이 0에 가까워질수록 log(f)에 따른 log|Z|의 값이 일정하였는데 이는 전해질의 저항( $R_s$ )에 의한 것이다<sup>21-24</sup>). 중·저 주파수영역에서는 log(f)에 따른 log|Z|의 값이 대략 -1에 가까운 기울기를 갖는 것을 확인하였는데 이것은 순수 캐퍼시티한 지역에서 Ti합금에 대한 조밀한 부

동태 피막의 캐퍼시턴스( $C_p$ )를 의미한다<sup>21-24</sup>. 이러한 해석을 바탕으로 그래프를 관찰하면 세포를 배양하지 않은 시편보다 세포를 배양한 시편의 경우 전체적으로 표면에 세포막의 영향으로 내식성이 향상되었음을 알 수 있었다.

#### 4. 결 론

Ti에 10, 20, 30 및 40 wt% Ta을 첨가하여 이원계 합금을 제조하여 균질화처리를 한 후 합금의 표면에 구강내 골아세포인 MC3T3-E1을 배양하여 전기화학적 특성을 관찰하였고 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Ti-Ta합금을 균질화 처리한 결과 합금의 조직은  $\alpha$ 상의 층상구조(lamellar)에서  $\beta$  등축정 내의 침상구조(needle-like)로 변화하는 것을 관찰할 수 있었다.
2. 구강 내 세포인 MC3T3-E1을 배양하여 관찰한 결과 모든 시편에서 구모양의 세포가 관찰되었다.
3. 동전위시험결과, MC3T3-E1세포를 배양한 시편의 경우 배양하지 않은 시편에 비해 전체적으로 부식전위(Ecorr)가 증가하여 내식성이 향상되었다.
4. 교류주파수 측정 시험한 결과, 세포를 배양하지 않은 시편에 비해 MC3T3-E1세포를 배양한 시편의  $R_p$  값이 훨씬 더 높았다. Ti-40 wt% Ta 합금의 경우 779,122  $\Omega\text{cm}^2$ 으로 가장 높았고 Ta함량이 증가할수록  $R_p$  값도 증가하는 것을 알 수 있었다.

#### 참고문헌

1. M. Niinomi, Mater. Sci. Eng. A, 243 (1998) 231.
2. J. E. Davies, B. Lowenberg, A. Shiga, J. Biomed. Mat. Res., 24 (1990) 1289.
3. M. Therin, A. Meunier, P. Christel, J. Mat. Sci. Mat. in Med., 2 (1991) 1.
4. N. R. Van, J. Mater. Sci., 22 (1987) 3801.
5. E. Kobayashi, L. K. Gardner, R. W. Toth, J. Prosthet

- Dent., 54 (1985) 410.
6. M. F. Semlitsch, H. Weber, R. M. Streicher, R. Schon, Biomaterials, 13 (1992) 781.
7. Y. Okazaki, S. Rao, S. Asao, T. Tateishi, S. Katsuda, Y. Furuki, J. Japan Inst. Metals, 9 (1996) 890.
8. A. K. Shukla, R. Balasubramaniam, S. Bhargava, J. Alloys Comp., 389 (2005) 144.
9. D. Kuroda, M. Niinomi, Materials Sci. and Eng., A 243 (2001) 244.
10. Y. L. Zhou, M. Niinomi, T. Akahori, Materials Sci. and Eng., A 384 (2004) 92.
11. Y. L. Zhou, M. Niinomi, T. Akahori, Materials Sci. and Eng., A 371 (2004) 283.
12. Y. L. Zhou, M. Niinomi, T. Akahori, H. Fukui, H. Toda, Materials Sci. and Eng., A 398 (2005) 28.
13. S. G. Fedotov, K. M. Konstantinov, R. G. Koknaev, E. P. Sinodova. Nauka Moscow, (1982) 29.
14. S. G. Fedotov, K. M. Konstantinov, E. P. Sinodova, Nauka Moscow, (1982) 78.
15. G. I. Nosova, Nauka Moscow, (1968).
16. E. W. Collings, ASM (1986).
17. R. Boyer, G. Welsch, E. W. Collings, Titanium Alloys, ASM, (1994).
18. K. Anselme, P. Linez, M. Biggerelle, Biomaterials, 21 (2000) 1567.
19. M. Biggerelle, K. Anselme, B. Noël, I. Ruderman, P. Hardouin, A. Iost. Biomaterials, 23 (2002) 1563.
20. P. Linez-Bataillon, F. Monchau, M. Biggerelle, H. F. Hildebrand, Biomolecular Engineering, 19 (2002) 133.
21. N. Ibris, J. C. M. Rosca, Journal of Electroanalytical Chemistry, 52 (2002) 653.
22. J. E. G. Gonzalez, J. C. Mirza-Rosca, Journal of Electroanalytical Chemistry, 471 (1999) 109.
23. E. Kobayashi, T. J. Wang, H. Doi, T. Yoneyama, H. Hamanaka, Mater. Sci.: Mater. Med., 9 (1998) 567.
24. D. Krupa, J. Baszkiewicz, J. A. Kozubowski, A. Barcz, J. W. Sobzak, A. Bilinski, M. D. Lewandowska-Szumiel, B. Rajchel, Biomaterials, 22 (2001) 2139.