

Apatite formation on the surface treated-titanium plate in a simulated body fluid

Chang Hoon Lee, Hyeng Ho Jin, Hong-Chae Park and Seog-Young Yoon[†]

School of Materials Science and Engineering, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

(Received November 10, 2008)

(Accepted November 20, 2008)

Abstract The purpose of this study was to investigate the formation of apatite layer on two different titanium substrate treated with biomimetic method. Titanium plates were heat-treated at different temperatures of 400°C, 600°C, and 800°C for 5 h in air atmosphere. And then, that plates were chemically treated with an alkali solution of 1M sodium hydroxide (NaOH). The pre-treated titanium plates were soaked in the simulated body fluid (SBF) of Kokubo's recipe. After soaking for 7 days and 21 days in SBF, the coated layers formed on the titanium plates were characterized and compared with the morphology and chemical composition. The apatite formation was more activated on the titanium plates chemically treated with NaOH compared with the only heat-treated titanium plates.

Key words Titanium and Titanium oxide, biomimetic method, SBF, NaOH

생체유사액 침적에 따른 표면 처리된 titanium plate에 아파타이트 형성

이창훈, 진형호, 박흥채, 윤석영[†]

부산대학교 재료공학부, 부산, 609-735

(2008년 11월 10일 접수)

(2008년 11월 20일 심사완료)

요 약 생체모방법을 이용하여 표면 처리된 titanium plates 표면에 아파타이트 형성에 관하여 조사하였다. 표면 처리방법으로는 우선, titanium plate 표면에 titanium oxide층을 형성시키기 위하여 열처리온도를 400°C, 600°C, 그리고 800°C에서 전기로에서 5시간 유지하였으며, 열처리된 titanium plates를 1M 수산화나트륨 용액에 침전시켜 표면을 화학적으로 처리하였다. 생체모방법으로 titanium plates 표면에 아파타이트를 형성시키기 위하여 표면처리된 titanium plates를 Kokubo's recipe에 의하여 제조된 생체유사액(SBF)에 침적시켰다. SBF 용액에 1주와 3주 기간 동안 침적 시킨 후, 표면처리를 달리한 titanium plates 표면에 형성된 코팅층을 서로 비교 분석하였다.

1. 서 론

파손된 인체조직 및 장기를 대체할 수 있는 생체재료로 금속재료, 세라믹재료, 고분자 등이 사용되어 왔으며, 이들 중 대표적인 것으로 칼슘 인산염광물의 일종인 수산화아파타이트[Hydroxyapatite(HAp), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$]를 들 수 있다. HAp는 인체의 치아 및 척추동물의 뼈나 치아와 생체 친화성이 우수하여, 치근 또는 뼈에 심으면 거부반응 없이 뼈와의 사이에 치환반응이 일어나 원래의 뼈와 같게 되어 많은 연구가 진행되어 왔다[1-3]. 그러나 골조직과 직접 화학적 결합을 하는 것으로 알려진 HAp

자체만으로는 골조직에 비하여 기계적 특성이 매우 낮아 하중이 가해지는 인체부분에는 사용하지 못하는 한계점을 나타내고 있다.

Titanium 및 alloys는 뛰어난 생체적합성과 우수한 기계적 성질, 부식에 대한 저항성이 높기 때문에 치아용 임플란트나 인공관절 대체물 등의 재료로 하중에 잘 견디는 곳에 이용되어 지고 있다[4]. 그러나, titanium 자체만으로 체내에 이식시 초기 결합강도가 낮아 고정에 문제점으로 지적되고 있다. Titanium의 체내에 이식시 생체 활성도를 향상시키기 위하여 다양한 표면 처리 방법들이 이용되고 있다[4, 5]. Titanium의 표면 처리는 표면 산화막의 화학적인 안정성을 증가시키거나, 이식 초기에 골 형성과 석회화를 촉진시켜 조직 부착을 빠르게 유도하기 위하여 사용되어 진다. 표면 처리 방법으로는 크게 물리적, 화학적, 그리고 전기화학적 방법들이 사용

[†]Corresponding author

Tel: +82-51-510-2487

Fax: +82-51-512-0528

E-mail: syy3@pusan.ac.kr

Table 1
Ion concentrations of SBF and blood plasma

Ion	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	pH
Blood plasma	142.0	5.0	1.5	2.5	13.0	27.0	1.0	0.5	7.2-7.4
SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5	7.4

되어 지고 있다. 그 중에서 물리적인 방법은 calcium phosphate를 titanium 표면에 코팅하는 방법으로 대표적으로는 플라즈마 용사법(plasma spray method)이 사용되고 있다[5, 6]. 이는 HAp분말을 매우 높은 온도로 가열하여 titanium 표면에 증착시키기 때문에 코팅된 HAp층의 생체 활성 재료로서의 구조나 화학적 특성이 변화되어 골조직과의 결합력이 저하되는 단점을 가지고 있다. 이에 반하여, 뼈와 유사한 HAp층을 생체모방으로 형성시키기 위하여 인간 혈액 내 혈장의 무기질과 거의 동일한 이온 농도를 갖는 생체유사용액(Simulated Body Fluid; SBF)으로부터 형성시키는 방법이 많이 사용되고 있다[7]. 이때 HAp층을 형성시키는 활성기능을 증가시키기 위하여 titanium의 표면적을 증대시키든지 또는 티타늄 표면에 수산기의 농도를 증대시키는 방법이 적용된다.

최근 고농도의 수산화나트륨(NaOH) 수용액에 티타늄을 화학적 반응을 통하여 침적시킴으로써 titanium 표면의 생체 활성도를 향상시킬 수 있음이 보고되었다[8]. 이후 화학적 처리에 의해 일어나는 titanium 표면의 구조적 변화와 SBF 내에서 titanium 표면의 HAp 피막의 형성에 관하여 많은 연구가 진행되어 오고 있다[9, 10]. 이때 SBF 내에서 형성된 titanium 표면의 HAp 층의 형상은 칼슘과 인산염의 농도, 염기도(pH), 온도 및 SBF 내에 혼합된 유기질 및 무기질의 존재에 영향을 받는다[11]. 본 연구에서는 400°C, 600°C, 800°C로 열처리 온도를 달리하여 얻은 titanium plate 표면에 형성되는 산화물 층을 분석하였다. 그 후 1 M NaOH 용액에 침적시켜 화학 처리하여 SBF 용액에 침적시 생체모방으로 인하여 titanium plate 표면에 형성되는 화합물 층을 분석하였다. 그리고 표면처리 방법에 따른 형성되는 화합물 층에 미치는 영향에 대하여 비교 검토하였다.

2. 실험 방법

본 연구에서는 titanium plate로 Cp-Ti ASTM Grade 2합금(Ti: 98.885 %, Fe: 0.30 %, V: 0.3 %, O: 0.25 %, C: 0.10 %, Al: 0.05 %, N: 0.03 %, H: 0.015 %, 치과재료)을 사용하였다. Titanium plate 표면에 형성되어 있는 피막을 제거하기 위하여 SiC 연마지로 연마하였다. 연마 후 titanium plate 표면에 잔존하는 불순물을 제거하기

위하여 아세톤으로 5분간 초음파 세척한 다음, 다시 증류수로 5분간 초음파 세척하였다. 세척된 titanium plate들을 40°C 진공 건조기에 넣어 건조시켰다. 건조된 titanium plate를 알루미늄 도가니 안에 넣어 전기로에서 5°C/min으로 승온하여 각각 400°C, 600°C, 800°C에서 5시간 동안 열처리하였다. 열처리된 titanium plate를 증류수로 세척한 후 건조시켰다. 일부 건조된 시편은 1 M NaOH 수용액에 담귀 60°C, 24시간 동안 화학처리하고, 증류수로 세척하여 건조시켰다. 전처리된 titanium plate의 *in vitro* 실험을 위하여 증류수에 NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂PO₄·3H₂O, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂, Na₂SO₄를 첨가하고 1 M-HCl, tri(hydroxymethyl) aminomethane ((CH₂OH)₃CNH₂)으로 36.5°C, pH 7.4로 조절하여 SBF 용액을 제조하였다[8]. 제조된 SBF 용액의 이온농도는 Table 1에 나타내었다. 전처리를 다르게 한 titanium plate를 SBF 용액에 침적하여 36.5°C의 shaking incubator에서 배양시키고 1주와 3주 후에 꺼내어 상온의 진공건조기에서 48시간 건조하였다. Titanium plate 전처리 및 *in vitro* 실험의 전체적인 공정도를 Fig. 1에 나타내었다.

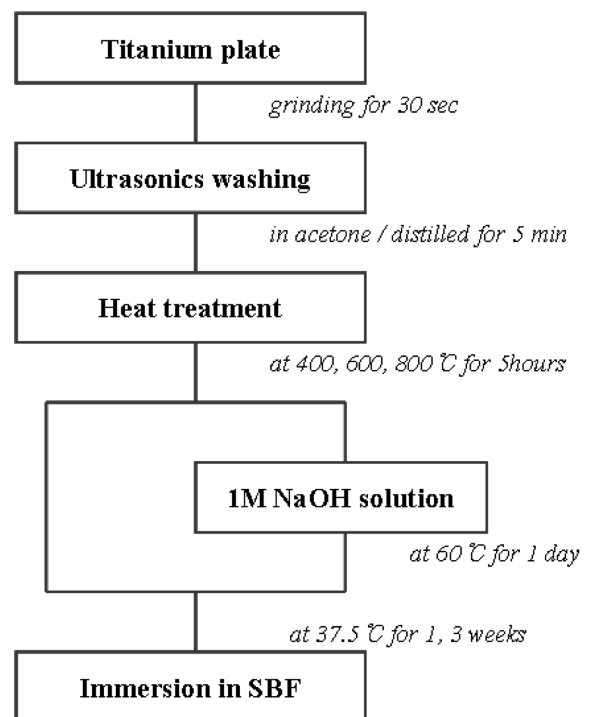


Fig. 1. The flowchart of experimental procedure.

Titanium plate 시편을 열처리 한 후 표면에 형성된 산화물층의 결정상은 X-선 회절장치(X-ray diffraction, XRD: D/max-IIA, Rigaku, Japan)를 통해 분석하였으며, *in vitro* 실험 전후의 시편 표면 및 생성된 물질의 화학 조성, 미세구조 및 형상은 EDX(Energy Dispersive X-ray Spectrometer; EDX)가 부착된 주사전자현미경(Scanning Electron Microscopy, SEM: JSM-840A, Jeol, Japan)을 사용하여 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

Fig. 2는 열처리 온도 400°C, 600°C, 800°C로 달리하여 얻은 titanium plate 시편 표면의 XRD pattern을 나타내고 있다. Fig. 2에서 볼 수 있듯이, 열처리 전의 titanium plate는 titanium의 결정상 peak[JCPDS No. 44-1294]와 일치하며, 열처리 온도에 따라 표면의 회절 패턴이 변화하고 있음을 알 수 있다. 기판을 400°C(Fig. 2b)에서 열처리한 경우 여전히 $2\theta = 35\sim 45^\circ$ 사이에서 titanium 특성 peak가 나타나고 있으나, 열처리 전의 titanium에 대한 회절패턴과 비교할 때 상대적인 강도가 다소 떨어짐을 볼 수 있다. 이는 titanium의 표면에 일종의 산화물 코팅막이 형성되었으나 산화물층의 두께가 너무 얇아 특성 peak가 나타나지 않고 다만 titanium의 상대적 회절강도를 감쇄시킨 것으로 여겨진다. 한편, 열처리 온도를 600°C로 하였을 때 titanium과 titanium oxide (rutile phase; JCPDS No. 87-920)가 공존하였으며(Fig. 2c), 열처리 온도를 800°C로 높게 하였을 때 기판인 titanium의 회절 패턴이 모두 사라지고, titanium oxide 결정상에 대한 특성 peak들만 나타남을 볼 수 있다. 이는 낮은 열처리 온도 400°C와 600°C에 비하여 비교적 고온

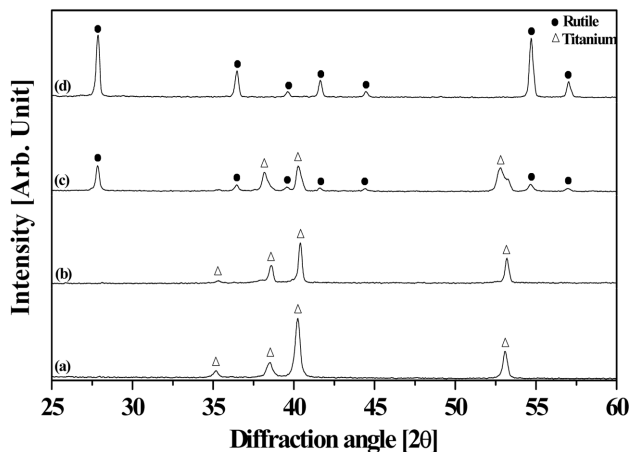


Fig. 2. XRD patterns for the titanium plate after different heat treatment temperatures; (a) titanium, and (b) 400°C, (c) 600°C, (d) 800°C.

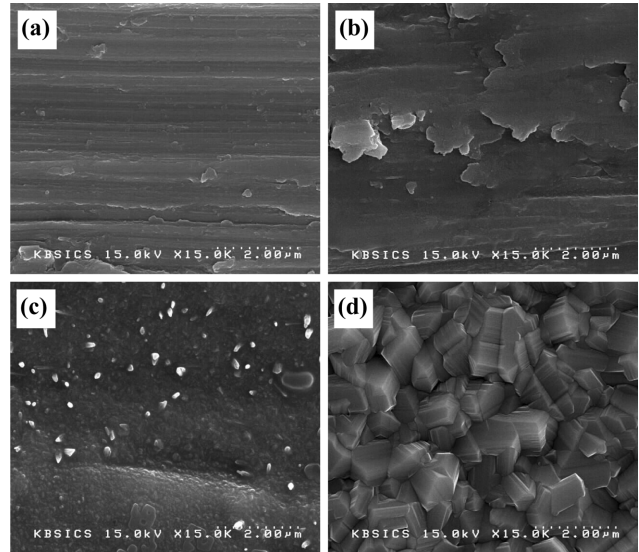


Fig. 3. Surface morphologies of (a) titanium plate and (b) 400°C, (c) 600°C, and (d) 800°C heat treatment, respectively.

이기 때문에 기판의 표면에 형성된 산화물 층의 titanium oxide 코팅층이 다소 두껍게 형성된 것으로 여겨진다.

Fig. 3은 열처리 온도에 따른 titanium plate 표면의 형상을 보여주는 SEM 관찰 사진이다. Fig. 3에서 볼 수 있듯이, 기계적 연마를 하고 열처리를 하지 않은 titanium plate의 표면에 비하여 열처리 한 titanium plate의 표면은 열처리 온도에 따라 표면의 형상이 다소 다르게 나타났다. 우선 열처리 온도가 400°C와 600°C 경우, titanium plate 표면의 형상이 열처리 전과 비교할 때 많은 차이를 보이지 않음을 볼 수 있다. 이는 앞서 XRD pattern에서 언급하였듯이 titanium의 회절패턴만 나타난 400°C와 산화물에 대한 peak와 titanium peak가 공존한 600°C의 회절 패턴 결과와 일치한다. 이에 반하여, 열처리 온도를 800로 한 경우, 열처리 동안 형성된 titanium 산화물 층이 titanium plate 표면을 전반적으로 덮고 있으며, 이는 titanium을 열처리하는 경우 800°C 이상에서 titanium oxide의 고온상인 rutile이 생성된다는 보고된 바와 일치한다[8].

열처리 전의 titanium를 NaOH 처리한 시편은 표면에 망사형의 균열을 발생한다고 보고된 바 있다[12]. 이는 티타늄의 기계적 성질을 현저하게 저하시킨다는 단점을 가지게 된다. 하지만, 열처리한 시편에서는 균열을 발견할 수 없었다. 이는 열처리 온도에 따라 생성된 titanium oxide층에 의해 표면이 알칼리 용액(NaOH 수용액)에 의해 부식되는 것을 방지할 수 있다고 사료된다.

Fig. 4는 열처리 온도 400°C와 열처리 후 NaOH 처리한 titanium plate를 SBF 용액에 1주와 3주간 침적시켰을 때 표면의 형상을 SEM을 이용하여 관찰한 사진을 나타내고 있다. Fig. 4(a)와 (c)에서 볼 수 있듯이,

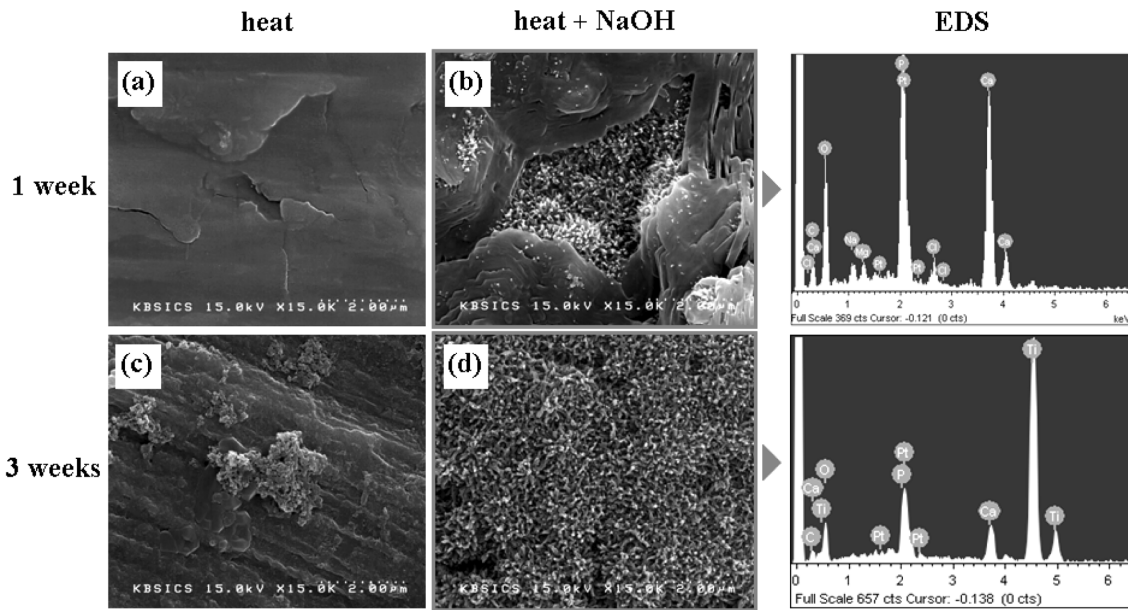


Fig. 4. SEM morphologies of the surfaces for the titanium plate immersing in SBF after heat and heat-NaOH treatment at 400°C.

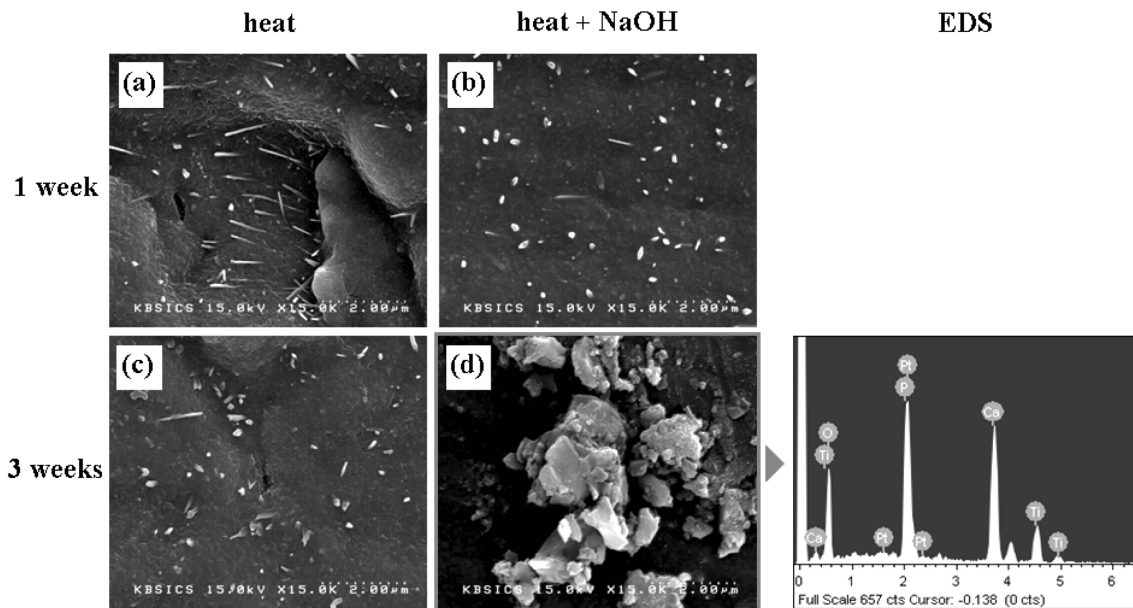


Fig. 5. SEM morphologies of the surfaces for the titanium plate immersing in SBF after heat and heat-NaOH treatment at 600°C.

titanium plate를 열처리 만 한 경우 1주 간의 SBF 침적 시 표면에 아무런 변화가 일어나지 않았으며, 3주 후에는 국부적으로 엉클어진 형태를 갖는 화합물을 볼 수 있었으나, EDS 결과 Ca와 P가 전혀 나타나지 않았으며 이는 아파타이트가 생성되기에는 충분한 침적시간이 되지 못한 것으로 사료된다. 반면에, 열처리한 후 NaOH 처리한 경우 1주 후에 국부적으로 아파타이트가 생성되기 시작하여 3주 후에는 전체적으로 아파타이트가 표면을 덮어버린 상태가 되었음을 볼 수 있었다. 이와 같이 NaOH 처리한 titanium plate 표면에 아파타이트 생성이

활발한 것은 titanium plate를 열처리하여 titanium plate 표면에 형성된 산화막이 NaOH 수용액에서 용해되어 타탄산염의 비정질층로 변화시켜 SBF 용액에 침적시 티탄산염의 비정질 층으로부터 Na^+ 이온이 방출되게 함으로서 SBF 내의 hyronium 이온(H_3O^+)이 치환되어 titanium plate 표면에 Ti-OH기를 갖는 층을 형성시키기 때문인 것으로 보인다. 이와 같이 titanium plate 표면에 형성된 Ti-OH층으로부터 Na^+ 이온의 방출은 HAp의 석출과 관련된 SBF내의 염기도를 증가시키며, titanium plate 표면에 아파타이트 핵의 생성을 유도한 것으로 여겨진다.

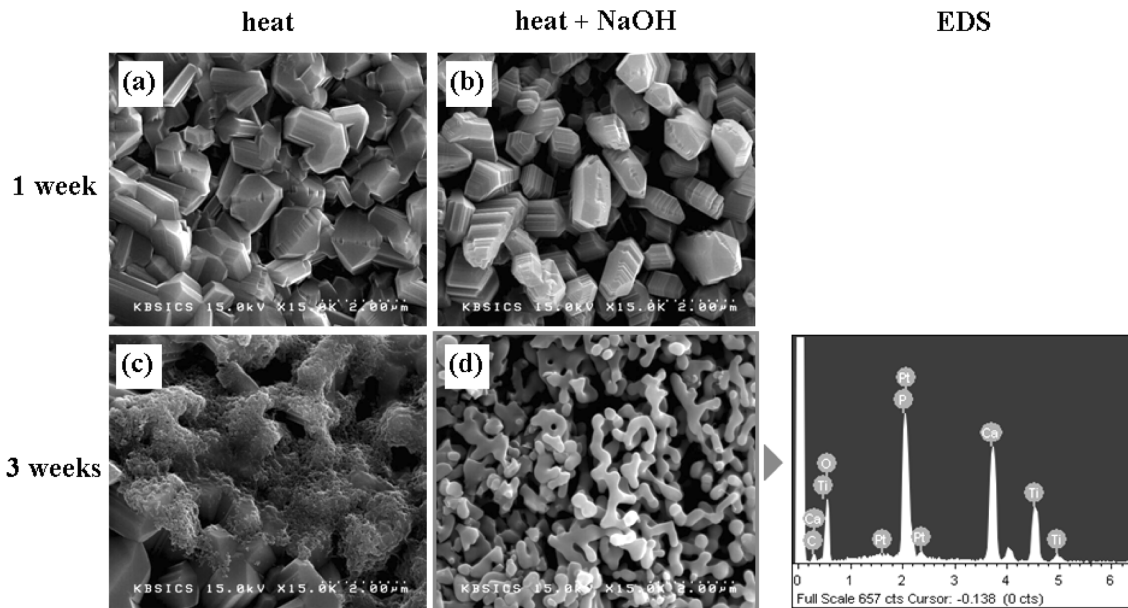


Fig. 6. SEM morphologies of the surfaces for the titanium plate immersing in SBF after heat and heat-NaOH treatment at 800°C.

이러한 현상은 앞선 연구결과[8]와도 일치한다. 열처리 온도 600°C와 열처리 후 NaOH 처리한 titanium plate를 SBF 용액에 1주와 3주간 침적시켰을 때 표면의 형상을 SEM을 이용하여 관찰한 사진을 Fig. 5에 나타내었다. Fig. 5(a)와 (c)에서 볼 수 있듯이, titanium plate를 열처리만 한 경우 1주 및 3주간의 SBF 침적시 표면에 변화가 일어나지 않았으며, 열처리한 후 NaOH 처리한 경우 1주 후(Fig. 5(b))에도 아무런 변화가 일어나지 않았음을 볼 수 있다. 하지만, NaOH 처리 후 3주간 SBF 침적시 부분적으로 인산을 함유하는 인산칼슘화합물이 형성되었음을 볼 수 있었다.

Fig. 6은 열처리 온도 800°C와 열처리 후 NaOH 처리한 titanium plate를 SBF 용액에 1주와 3주간 침적시켰을 때 표면의 형상을 SEM을 이용하여 관찰한 사진을 나타내고 있다. Fig. 6(a)에서 볼 수 있듯이, titanium plate를 열처리만 한 경우 1주간의 SBF 침적시 표면에 아무런 변화가 일어나지 않았으며, 3주 후에는 전체적으로 titanium oxide의 표면에 인산칼슘화합물이 형성되고 있음을 볼 수 있었다. 한편, 열처리한 후 NaOH 처리한 경우 SBF 침적 1주 후에 아무런 변화가 일어나지 않았으며, 3주 후에는 전체적으로 아파타이트가 생성되었음을 볼 수 있었다. 이는 앞서 언급한 titanium plate 표면에 형성된 Ti-OH층으로부터 Na^+ 이온의 방출이 HAp의 석출과 관련된 SBF내의 염기도를 증가시키며, titanium plate 표면에 아파타이트 핵의 생성을 유도[10]한 것으로 여겨진다. 하지만, 앞선 400°C의 실험결과 (Fig. 4)와는 서로 다른 입자 형태의 아파타이트가 생성되고 있음을 알 수 있다. 이는 생체모방법을 이용하여 titanium plate

표면에 아파타이트를 생성시킬 때 titanium plate 표면처리 후 형성된 표면층의 결정구조와 밀접한 관계가 있는 것으로 여겨지며 추후 titanium plate 표면 처리 후 결정구조를 보다 정밀한 분석을 통한 실험을 통하여 규명이 가능하리라 판단되어진다.

4. 결 론

Titanium plate를 400°C, 600°C, 800°C로 열처리 하였을 때, 열처리 전의 Titanium을 NaOH 처리한 시편에서는 균열이 발생하여 티타늄의 기계적 성질을 현저히 떨어뜨린다고 하나, 열처리 후 NaOH 처리한 시편에서는 균열이 발생하지 않았다. 이는 열처리하여 titanium oxide층을 형성시킴으로써 아파타이트의 결합력을 높일 뿐만 아니라 titanium 자체의 기계적 우수성을 유지하는데 중요한 역할을 한다고 사료된다.

시편의 표면에 따라 각기 다른 형태의 생성물이 발생하였으며, 3주 후에는 모든 시편에서 생성물을 확인 할 수 있었다. 이는 열처리 후 알칼리 처리에 의해 생성된 티탄산염의 비정질 층이 400°C, 800°C, 그리고 600°C 순으로 잘 생성되었기 때문이다.

참 고 문 헌

- [1] J.W. Boretos, "Advances in bioceramics", *Advan. Ceram. Mater.* 2[1] (1987) 15.

- [2] H.G. Willert, G.H. Buchhorn, and Th. Hess, The Significance of Wear and Material Fatigue in Lossening of Hip Protheses, edited by H. Wagner and N. Gschwend, Springer-Verlargo (1992) pp. 11-30.
- [3] J.H. Lee, J.W. Lee and C.Y. Kim, "Apatite formation behavior on bioactive glasses with glass composition and reaction solution", J. Kor. Ceram. Soc. 37[11] (2000) 1105.
- [4] C. Zang, Y. Leng and X. Zang, "In vitro stability of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings on Ti-6Al-4V implant under cyclic loading", J. Biomed Mater Res. 50 (2000) 267.
- [5] K. de Groot, RGT Geesink, CPAT Klein and P. Serekian, "Plasma sprayed coatings of hydroxylapatite", J. Biomed. Mater. Res. 21 (1987) 1375.
- [6] CAPT. Klein, P. Patka, HBM. van der Lubbe, JGC. Wolke and K. de Groot, "Plasma-sprayed coatings of tetracalciumphosphate, hydroxyl-apatite, and -TCP on titanium alloy: An interface study", J. Biomed. Mater. Res. 25 (1991) 53.
- [7] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi and T. Yamamuro, "Solutions able to reproduce *in vivo* surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W3", J. Biomed. Mater. Res. 24 (1990) 721.
- [8] H. Takatama, H.M. Kim, T. Kokubo and T. Nakamura, "TEM-EDX study of mechanism of bonelike apatite formation on bioactive titanium metal in simulated body fluid", J. Biomed. Mater. Res. 57 (2001) 441.
- [9] M. Uchida, H.M. Kim, T. Kokubo and T. Nakamura, "Apatite-forming ability of sodium-containing titania gels in a simulated body fluid preview", J. Am. Ceram. Soc. 84 (2001) 2969.
- [10] M. Wei, M. Uchida, H.M. Kim, T. Kokubo and T. Nakamura, "Apatite-forming ability of CaO-containing titania", Biomaterials 23 (2002) 167.
- [11] L. Jonasova, F.A. Muller, A. Helebrant, J. Strnad and P. Greil, "Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium", Biomaterial 25 (2004) 1187.
- [12] J.-H. Shin, K.-H. Lee and C.-H. Lee, "A study on bioactive surface modification of biomedical Ti-based alloys", J. Kor. Inst. Met. & Mater. 39(2) (2001) 206.