Ti-49.5Ni (at%)합금의 다공성 구조가 뼈 세포 흡착에 미치는 영향

임연민 · 최정일* · 강동우** · 남태현†

국립경상대학교 나노·신소재공학부, RIGET, *국립경상대학교 의과대학 해부학 교실,

**국립경상대학교 나노 구조 생체에너지 융합연구단

Effect of Pore Structures of a Ti-49.5Ni (at%) Alloy on Bone Cell Adhesion

Yeon-Min Im, Jung-Il Choi*, Dongwoo Khang** and Tae-Hyun Nam†

Division of Materials Eng., Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

*Department of Anatomy, Institute of Health Science and School of Medicine, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea

**School of Materials Science and Engineering and Center for Nano-Morphic Biological Energy, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea

(2011년 12월 14일 접수 : 2012년 1월 4일 최종수정 : 2012년 1월 8일 채택)

Abstract Ti-Ni alloys are widely used in numerous biomedical applications (e.g., orthodontics, cardiovascular science, orthopaedics) due to their distinctive thermomechanical and mechanical properties, such as the shape memory effect, superelasticity and low elastic modulus. In order to increase the biocompatibility of Ti-Ni alloys, many surface modification techniques, such as the sol-gel technique, plasma immersion ion implantation (PIII), laser surface melting, plasma spraying, and chemical vapor deposition, have been employed. In this study, a Ti-49.5Ni (at%) alloy was electrochemically etched in 1M $H_2SO_4 + X$ (1.5, 2.0, 2.5) wt% HF electrolytes to modify the surface morphology. The morphology, element distribution, crystal structure, roughness and energy of the surface were investigated by scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive X-ray spectrometry (EDS), X-ray diffractometry (XRD), atomic force microscopy (AFM) and contact angle analysis. Micro-sized pores were formed on the Ti-49.5Ni (at%) alloy surface by electrochemical etching with 1M $H_2SO_4 + X$ (1.5, 2.0, 2.5) wt% HF. The volume fractions of the pores were increased by increasing the concentration of the HF electrolytes. Depending on the HF concentration, different pore sizes, heights, surface roughness levels, and surface energy levels were obtained. To investigate the osteoblast adhesion of the electrochemically etched Ti-49.5Ni (at%) alloy, a MTT test was performed. The degree of osteoblast adhesion was increased at a high concentration of HF-treated surface structures.

Key words Ti-Ni alloy, electrochemical etching, roughness, contact angle, osteoblast adhesion.

1. 서 론

사회의 노령화 및 인간의 생명연장과 복지를 추구하려는 욕구가 증대됨에 따라서 의학이나 생명공학과 같은 생명현상을 이해하려는 연구가 급속도로 발전하고 있으며, 이와 더불어 선천적 또는 후천적인 사고로 인하여 유발된 인간의 손상된 기관이나 조직을 인공적으로 대체하려는 연구 또한 폭 넓게 이루어지고 있다. 이러한 의학 또는 치과학에 적용하기 위하여 재료의 제반 성질을 실험, 조사 하여 손상된 인체의 일부 장기 또는 신체 일

부분을 대체할 수 있는 인공장기를 만들기 위한 재료를 생체재료라 하며, 다른 사람의 장기를 받아 이식하는 경우 수량의 한계가 있으며, 동물로부터 장기를 얻는 방법은 윤리적인 문제와 면역체계의 문제점이 있기 때문에 생체재료의 필요성이 강조 되고 있다. 생체용 재료가 갖추어야 할 조건으로 첫째는 생물학적 안정성 즉, 임플란트가 생체 내에 삽입 되었을 때 임플란트와 세포간의 면역반응을 최소화 하여야 하며 조직과 세포에 대한 독성을 최소화시키는 생체적합성이 우수한 재료여야 한다. 둘째는 혹독한 부식환경을 가진 인체에서 독성을 가진 금속이온의 용출을 최소화시킬 수 있는 우수한 내부식성을 갖추어야 한다. 마지막으로 인장강도, 탄성률, 내마모성, 피로강도 등 기계적 성질이 우수한 재료여야 한다.

†Corresponding author

E-Mail : tahynam@gnu.ac.kr (T. -H. Nam)

이러한 요건들을 고려할 때 현재 대표적으로 사용되고 있는 생체재료는 스테인레스 강¹⁾과 코발트계 합금,^{2,3)} Ti 및 Ti합금^{4,7)} 등이 있으며, 현재 Ti합금이 생체용으로 가장 적합한 것으로 보고 되고 있다. Ti-Ni 형상기억 합금은 우수한 형상기억효과와 초탄성 특성으로 인하여 생체재료로서 많이 사용되어 지고 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 이러한 형상기억합금을 의료용으로 사용하면 수술 시간을 단축시킬 수 있고, 조직의 외상을 감소 시키며, 어떤 위치나 형태의 골 결상이든지 치료가 가능한 장점을 가지고 있다. 이전 연구에서 형상기억합금의 생체적합성을 증가 시키기 위하여 전기화학적 처리,¹¹⁻¹²⁾ 화학적 에칭,¹³⁾ 이온 implantation,¹⁴⁾ 전자빔 조사 등 합금 표면을 개질 시키는 연구가 많이 수행 되었으나 표면 개질에 따른 세포 흡착 반응에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 Ti-Ni 형상기억합금의 생체 적합성을 증가시키기 위해 전해 에칭 방법으로 다공성 표면을 제조 하였고, 다공성 표면 구조에 따른 뼈 세포 흡착 반응을 조사 하였다.

2. 실험 방법

Ti-Ni 합금은 arc melting 용해로를 사용하여 제조하였으며 sponge Ti(순도 99.6%), 입상 Ni(순도 99.9%)을 사용하여 총5회 반복 용해하였다. 제조된 잉고트는 1123 K에서 열처리 후 냉간 압연 하여 1 mm 판재로 제작하였다. 그 후 고속정밀 절단기를 이용하여 5 mm * 15 mm * 1 mm로 모든 시편을 절단하였다. 1123 K에서 열처리 후 냉간 압연 시 생성된 산화막 제거를 위하여 #1200SiC paper로 연마 후 전해 연마를 실시하였다. 전해 연마 시 사용된 전해액은 95 vol%CH₃COOH + 5 vol%HClO₄를 사용하였다. 전해 연마 후 전해 에칭을 실시하여 표면처리를 수행하였다. 전해 에칭 시 사용된 전해질은 1 M H₂SO₄ + X(1.5,2.0,2.5)wt% HF를 사용하였고 2min, 5 V의 정전압을 가해 주었으며, 표면에 잔류하고 있는 산 용액을 완전히 제거하기 위하여 아세톤, 알코올 그리고 증류수에 각각 20분간 초음파 세척한 후 100°C의 오븐에서 건조시켰다. 전해 에칭 전과 후의 표면 형상을 조사하기 위하여 SEM (Scanning electron microscope) 관찰하였고, 표면의 화학성분 분석을 위해 EDS (Dispersive X-ray spectrometer)를 이용하여 분석 하였다. 전해 에칭 전과후의 결정구조 해석을 위하여 X-선 회절시험을 수행하였다. Cu K α 선을 이용하였고 scanning 속도는 2°/min이었으며 2 θ 는 20-80°로 하여 측정하였다. 전해 에칭 전과 후의 표면형상과 거칠기를 조사하기 위해 AFM (Atomic force microscopy)을 이용하여 분석하였다. 실험은 non-contact mode로 진행 하였으며 scan size는 X,Y 40 μ m의 범위로 scan rate는 0.5 Hz로 scan을 하였다. 실험에

사용된 장비는 parks system사의 XE-100 장비를 사용하였다. 전해 에칭 전과 후의 표면 에너지 측정을 위해 접촉 각 측정 시험을 실시 하였다. 접촉 각은 3 μ l의 증류수를 샘플표면에 떨어뜨려 측정하였다. 접촉 각 측정에 사용된 장비는 KRUSS사의 easy droplet 이었다. 전해 에칭 전과 후의 초기 뼈 세포 흡착량을 비교하기 위해 MTT test를 실시하였다. MTT에 사용된 골 형성 세포(hFOB1.19)는 미국의 ATCC로부터 구입하였다. 실험 전 모든 샘플을 autoclave안에서 멸균처리 한 후, 24시간 동안 자외선에 노출 시켰다. 골 형성 세포는 표준 세포 배양조건(37°C, 5% CO₂와 95% air)에서 10% fetal bovine serum (FBS)과 1% penicillin/streptomycin (P/S)이 공급된 DMEM 용액 안에서 배양 하였다. 그 후 골 형성 세포를 2600/cm²의 밀도로 각 샘플 표면에 뿌리고 4시간 경과 후 MTT test를 수행 하였다.

3. 결과 및 고찰

다음과 같이 전해질내의 불산 함량을 달리한 전해질 1 M H₂SO₄ + X(1.5,2.0,2.5) wt% HF을 이용하여 Ti-49.5Ni합금의 표면을 전해 에칭 방법으로 다공성 표면을 제조하였다. 1 mm 두께의 판재로 제조된 Ti-49.5Ni합금의 전해 에칭 전과 후의 표면을 주사전자 현미경(SEM)을 이용하여 관찰 하였다. Fig. 1의 (a)는 전해 에칭을 하지 않고 전해 연마한 샘플의 SEM 이미지로서 샘플 표면에 pore를 관찰할 수 없으며, 표면이 매끄러운 것을 알 수 있다. 전해질 내의 불산 함량이 1.5 wt%인 (b) 샘플부터 전해 에칭 후 표면에 작은 사이즈의 pore가 생성 되는 것을 알 수 있다. 전해질 내의 불산 함량이 2.0, 2.5 wt%인 (c), (d) 샘플에서는 표면전체에 걸쳐 pore가 생성되

Fig. 1. SEM images of a Ti-49.5Ni alloy (a) electro polished and electrochemically etched by 1M H₂SO₄ + X wt% HF electrolyte; (b) 1.5, (c) 2.0 and (d) 2.5.

Fig. 2. EDS analysis of Ti-49.5Ni alloy and electrochemically etched by 1 M $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{X wt\% HF}$ electrolyte.

는 것을 알 수 있으며, 전해질 내의 불산 함량이 증가함에 따라 생성되는 pore의 크기 또한 증가하는 것을 알 수 있다. Fig. 2는 전해 에칭 전과 후의 표면 성분분석을 하기 위하여 EDS 분석을 실시하였다. 전해 에칭을 하기전과 후 표면형상의 변화가 있었으나 Ti와 Ni의 조성에는 큰 변화를 발견할 수 없으며, 전해 에칭 후 샘플 표면에 다른 화학 성분을 관찰 할 수 없다. 따라서 전해 에칭 실시 후, 표면의 조성이나 화학성분에는 큰 차이가 없는 것을 알 수 있다. Fig. 3은 전해 에칭 전과 후의 결정구조 분석을 위하여 실시한 XRD 결과로

Fig. 3. XRD patterns of Ti-49.5Ni alloy (a) electro-polished and electrochemically etched by 1M $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{X wt\% HF}$ electrolyte; (b) 1.5, (c) 2.0 and (d) 2.5.

서 전해 에칭을 하기 전과 후 모든 시편에서 B19' 마르텐사이트 상과 R상이 관찰 되는 것을 알 수 있다. 따라서, 전해 에칭을 함으로서 시편의 표면형상에는 영향을 미치나 결정구조에는 큰 영향을 끼치지 않는 것을 알 수 있다. Fig. 4는 전해 에칭 전과 후의 AFM관찰 결과로서 전해 에칭을 하지 않고 전해연마만 한 샘플 (a)에서 나타나는 돌출된 부분은 합금 용해 시, 수반되는 개재물로 생각된다. 전해질내의 불산 함량이 1.5, 2.0, 2.5 wt%

Fig. 4. AFM images of Ti-49.5Ni at% alloy electrochemically etched by 1M $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{X wt\% HF}$ electrolyte; (a) electro polishing, (b) 1.5, (c) 2.0 and (d) 2.5.

Fig. 5. The width of pore structures electrochemically etched Ti-49.5Ni at% alloy.

Fig. 6. Surface roughness of electro-polished and electrochemically etched Ti-49.5Ni at% alloy.

로 증가 된 (b), (c), (d) 샘플 에서는 전해 연마한 표면에서 나타난 개재물이 많이 줄어 든 것을 알 수 있으며, 앞의 SEM 데이터와 마찬가지로 표면에 pore가 생성 되는 것을 알 수 있다. 전해 연마한 샘플에서 볼 수 있던 개재물은 전해 에칭 과정에서 떨어져 나간 것으로 사료된다. AFM 데이터를 바탕으로 pore의 평균 width를 측정한 결과 전해질내의 불산 함량이 1.5~2.5 wt%로 증가함에 따라 pore의 width는 2~5 μm로 증가하는 것을 알 수 있었으며, height는 0.1 μm~0.8 μm로 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한 Fig. 5에서 나타나듯이 전해질 내의 불산 함량이 증가함에 따라 1~4 μm 사이즈의 작은 pore의 수는 감소하는 반면 4~8 μm사이즈의 큰 pore는 증가하는 것을 알 수 있다. Fig. 6은 전해 에칭 전과 후 샘플의 표면 거칠기를 측정한 결과로서 전해 연마한 샘플과 비교할 때 전해질 내의 불산 함량이 1.5~2.5 wt%로 증가함에 따라 표면 거칠기 또한 0.1~0.6 μm로 증가하는 것을 알 수 있었다. 이는 생성된 pore의 분율 증

Fig. 7. Contact angle measurement of electro-polished and electrochemically etched Ti-49.5Ni at% alloy.

Fig. 8. Initial bone cell adhesion of electro-polished and electrochemically etched Ti-49.5Ni at% alloy.

가로 인해 샘플 표면의 거칠기 또한 증가한 것으로 사료된다. Fig. 7은 전해 에칭 전과 후의 표면에너지가 표면 형상에 의해서 어떻게 달라지는지 알아보기 위해 접촉 각 측정을 하였다. 전해 에칭을 하지 않은 것과 비교하여 전해 에칭을 함으로서 접촉 각이 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 전해질내의 불산 함량이 증가함에 따라 생성된 pore의 분율이 증가하게 되고 이로 인해 접촉 각이 증가하는 것으로 사료된다. Fig. 8은 전해 에칭 방법을 이용하여 표면 개질 시킨 샘플의 뼈 세포 흡착량을 조사하기 위하여 MTT test를 실시하였다. 전해 연마한 샘플과 비교하였을 때 전해 에칭한 샘플에서 초기 4시간 후의 뼈 세포가 많이 흡착되는 것을 알 수 있다. 이는 전해 에칭을 함으로서 샘플 표면의 pore 분율이 증가하게 되고 증가된 pore에 의해 샘플 표면의 거칠기가 증가하게 된다. 일반적으로 표면 거칠기는 표면적과 비례하므로 샘플의 표면적이 증가하게 되며 이에 따라 초기에 흡착되는 뼈 세포의 양 또한 증가하는 것으로 사료된다.

4. 결 론

전해 에칭 방법으로 다공성 표면을 가지는 Ti-49.5Ni 형상기억 합금을 제조하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 전해 에칭을 함으로서 Ti-49.5Ni 합금 표면에 평균 2~5 μm 직경을 가지는 pore가 형성되는 것을 알 수 있다.

2) 전해 에칭 전후 합금 표면의 조성에는 큰 차이가 없었으며, XRD 분석결과 모든 시편에서 R상과 B19'상이 관찰 되는 것으로 보아 전해 에칭 시 시편의 결정 구조에는 큰 영향을 끼치지 않는 것으로 사료된다.

3) 전해 에칭 시 생성된 4~8 μm 사이의 큰 pore의 증가로 인해 표면 거칠기가 증가하는 것을 알 수 있으며, 접촉 각 또한 증가하는 것을 알 수 있다.

4) 전해 에칭을 하지 않은 것과 전해 에칭을 실시한 샘플의 초기 뼈 세포 흡착량은 전해 에칭을 실시한 샘플에서 더 많은 뼈 세포가 흡착 되는 것을 알 수 있다. 이는 전해 에칭에 의한 샘플의 표면적 증가 때문으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Z. Bai, M. J. Filiaggi and J. R. Dahn, *Surf. Sci.*, **603**, 839 (2009).
2. I. Papageorgiou, C. Brown, R. Schins, S. Singh, R. Newson, S. Davis, J. Fisher, E. Ingham and C. P. Case, *Biomaterials*, **28**, 2946 (2007).
3. L. Reclaru, H. Luthy, P. -Y. Eschler, A. Blatter and C. Susz, *Biomaterials*, **26**, 4358 (2005).
4. L. -H. Li, Y. -M. Kong, H. -W. Kim, Y. -W. Kim, H. -E. Kim, S. -J. Heo and J. -Y. Koak, *Biomaterials*, **25**, 2867 (2004).
5. D. D. Deligianni, N. Katsala, S. Ladas, D. Sotiropoulou, J. Amedee and Y. F. Missirlis, *Biomaterials*, **22**, 1241 (2001).
6. A. K. Shukla, R. Balasubramaniam and S. Bhargava, *Intermetallics*, **13**, 631 (2005).
7. J. I. Kim, H. Y. Kim, T. Inamura, H. Hosoda and S. Miyazaki, *Mater. Sci. Eng.*, **403**, 334 (2005).
8. G. S. Firstov, R. G. Vitchev, H. Kumar, B. Blanpain and J. Van Humbeeck, *Biomaterials*, **23**, 4863 (2002).
9. C. L. Chu, T. Hu, S. L. Wu, Y. S. Dong, L. H. Yin, Y. P. Pu, P. H. Lin, C. Y. Chung, K. W. K. Yeung and P. K. Chu, *Acta Biomaterialia*, **3**, 795 (2007).
10. A. Bansiddhi, T. D. Sargeant, S. I. Stupp and D. C. Dunand, *Acta Biomaterialia*, **4**, 773 (2008).
11. K. Fushimi, M. Startmann and A. W. Hassel, *Electrochim. Acta*, **52**, 1290 (2006).
12. P. Shi, F. T. Cheng and H. C. Man, *Mater. Lett.*, **61**, 2385 (2007).
13. M. F. Chen, X. J. Yang, Y. Liu, S. L. Zhu, Z. D. Cui and H. C. Man, *Surf. Coating. Tech.*, **173**, 229 (2003).
14. S. Barison, S. Cattarin, S. Daolio, M. Musiani and A. Tuissi, *Electrochim. Acta*, **50**, 11 (2004).