

인산과 칼슘 이온을 함유한 수용액중에서의 타이타늄 표면처리

신미정 · 김도균* · 김교한

경북대학교 치과대학 치과생체재료학교실 및 생체재료연구소

*대구파타마병원 치과

A Study of Surface Treatments of Titanium in Aqueous Solutions Containing Phosphate and Calcium Ions

Mi-Jeoung Shin, Doe-Gyeun Kim* and Kyo-Han Kim

Department of Dental Biomaterials, College of Dentistry and Institute of Biomaterials Research and Development

Kyungpook National University, 2-101 Dongin-Dong, Jung-Gu, Taegu 700-422

*Department of Dentistry, Fatima Hospital, 302-1 Sinam-Dong, Dong-Gu, Taegu 701-600

(1998년 7월 2일 받음, 1998년 7월 23일 최종수정본 받음)

초 록 생체내에 매식되는 타이타늄의 표면에 골의 형성과 성장을 촉진시키기 위해 칼슘이온과 인산이온을 함유하는 용액에서 타이타늄의 표면처리를 행하였다. 표면처리방법으로는 pH 5.8, 7.0, 8.0의 인산칼슘 완충용액에 10분간 침적시킨 후 유사체액에 30일간 침적시켰다. 침적시킨 후의 타이타늄 표면에 형성된 피막의 특성을 주사전자현미경, X-ray 회절장치, Fourier 변환강도계 등으로 확인하고 유사체액에만 침적한 시편의 표면특성과 비교하였다.

실험결과 인산완충용액에서의 침적에 의해 타이타늄 표면에 인산칼슘 형성이 촉진됨을 알 수 있었다. 형성된 층은 입자형의 미세 구조를 지닌 하이드록시아파타이트나 β -TCP의 인산칼슘 층으로 확인되었다. 형성된 층의 두께는 pH 8.0, 7.0 그리고 pH 5.8의 인산완충액에서의 침적 순으로 증가하였고, 그 밀도는 pH 7.0, pH 8.0 그리고 pH 5.8의 인산완충액에서의 침적 순으로 증가하였다.

Abstract The surfaces of titanium specimens were modified by immersion in calcium phosphate buffered solutions (pH 5.8, 7.0, 8.0) for 10 days and simulated body fluid(SBF) for 30 days by turns. The modified surfaces were characterized using scanning electron microscopy(SEM), X-ray diffractometry(XRD) and Fourier transform infrared spectrophotometer(FT-IR), and compared with specimen immersed in only SBF.

The results indicated that the immersion in calcium phosphate buffered solutions accelerated the formation of the surface films. The formed layer showed granular shaped microstructure, and recognized as calcium phosphate such as a hydroxyapatite(HA) or a β -tri-calcium phosphate(β -TCP). The thickness of the layer increased of the buffered solutions in order of pH 8.0, 7.0 and 5.8 and the density increased in order of pH 7.0, 8.0 and 5.8.

1. 서 론

최근 구강악안면 영역의 수복 및 재건을 위하여 여러 형태의 임프란트 사용이 증가 추세에 있으며, 임프란트의 재료로 많이 사용되는 타이타늄(Ti)에 대해서도 다양한 연구들이 이루어지고 있다. 반응성 금속인 타이타늄은 공기, 물, 전해질 중에서 그 표면에 자연적으로 견고한 산화막을 형성하는데, 외부의 화학적 자극으로부터 금속을 보호하고, 불용성이며 금속이온의 방출을 억제하는 것으로 알려져 있다. 이러한 타이타늄 표면 산화막의 생물학적 불활성은 타이타늄이 생체 적합성을 나타내는데 매우 중요하다. 또한 타이타늄의 인장강도는 피질골과 상아질보다 높으며, 탄성계수는 치밀골보다 5배 크고, 높은 비강도(강도/비중)를 가지고 있는 등 다른 금속재료에 비해 우수한 기계적 성질을 가지고 있다. 그러나 타이타늄 임프란트를 골내에 매식 시 초기 결합 강도가 낮아 초기 고정에 문제점이 지적되고 있어, 임프란트 체부의 모양을 나선 형태로 하거나, 표면처

리된 타이타늄을 사용하는 등 골과의 결합력을 높이기 위한 다양한 노력이 이루어져 왔다.

이와 같이 타이타늄을 표면처리하는 목적은 표면 산화막의 화학적인 안정성을 증가시키거나, 매식 초기에 골형성과 석회화를 촉진시켜 조직 부착을 빠르게 유도하기 위해서이며 표면처리법 중, 현재 상업적으로 가장 많이 사용되는 방법은 플라즈마 용사법(plasma spray method)이다.¹⁾ 이 방법은 고온의 플라즈마 불꽃으로 hydroxyapatite(HA)를 가열하여 아르곤 가스하에서 임프란트 표면에 분사하여 결합시키는 방법으로 50-100 μ m의 두께를 얻는다. 그러나 플라즈마 용사법은 고온에서 HA가 분사되기 때문에 HA가 변성되거나 글래스화되어, 타이타늄과의 계면 및 HA 내부에서의 파괴 가능성 등이 지적되고 있다.

따라서 타이타늄 표면을 처리하거나 개질시켜 경조직 내에 매입시킨 후 HA를 석출시켜 결과적으로 HA 피복 타이타늄과 같은 효과를 얻으려는 시도가 이루어지고 있다. 최근에 유사체액에 침적시 특정 생체재료 표면에 인산칼슘이

생성되는 보고가 있었으며,²⁻⁴⁾ Abe 등⁵⁾은 유사체액 중에서 불활성인 물질, 즉, 금속이나 폴리머, 세라믹의 표면에 apatite가 생성되는 것을 보고하였다. Hanawa 등⁶⁾은 타이타늄은 유사체액 침적 초기로부터 그 표면에 인산칼슘이 자연적으로 형성되는 독특한 성질이 있음을 발견하였는데, 그 생성량이 소량이어서 균일한 피막을 형성한다는 가정하에서도 30일 침적에 수 nm정도로, 이 정도의 두께로는 tunnel effect에 의해 인산칼슘 자체의 성질을 나타낼 수 없는 것으로 보고한 바 있다.

그 이후 타이타늄 산화막 표면에 생성되는 인산칼슘의 양을 증가시키려는 다양한 시도가 이루어져 왔고, 1994년 Hanawa 등⁷⁾은 칼슘 이온을 타이타늄 표면에 이식시킨 후 유사체액 중에 침적한 타이타늄 표면을 관찰한 결과 인산칼슘의 형성량이 현저히 증가함을 보고하였으며, 1996년⁸⁾에는 순수한 타이타늄에 비해 칼슘 이온이 이식된 타이타늄 표면에서 골형성 세포에 의한 석회화가 더 왕성하다고 보고하였다.

그러나 타이타늄 표면에 생성되는 인산칼슘 양을 증가시키려는 여러 방법들은 고가의 장비와 고도의 기술이 필요하므로, 본 연구에서는 플라즈마 분사법을 대신할 수 있는 비교적 손쉽고 간단한 방법의 개발을 위해 타이타늄을 pH가 다른 인산완충용액으로 전 처리한 후 유사체액에 침적함으로써 타이타늄 표면에 생성되는 인산칼슘의 양을 증가시키고자 하였다.

2. 실험 방법

1) 시료 준비

먼저 공업용 순수 타이타늄 봉을 가공하여 직경 10mm, 두께 2mm의 원판형 시편을 얻었다. 가공한 시편을 사포로 연마하고, 연마시 너무 강하게 연마하면 연마지의 실리콘 입자가 타이타늄 표면에 박히게 되어 표면 상태가 변해버리므로 표면이 검게되지 않게 조심하면서 연마하였다. 최종 연마는 힘이 너무 가해지지 않도록 주의하고 물을 연마지에 떨어뜨리면서 1000번까지 연마하였다. 최종 연마 후 아세톤에서 15분간 초음파 세척 후, 실리카겔이 들어 있는 밀봉이 가능하고 반응성이 없는 테프론 용기에 보관하였다.

2) 표면처리 용액

인산완충액에 염화칼슘을 첨가한 것을 처리용액으로 하였고, 표 1과 같은 3종류의 인산완충액을 기본용액으로 하였다.

용액 A, B, C를 각각 1) 그대로 사용, 2) 증류수로 2배 희석하여 사용, 3) 증류수로 5배 희석하여 사용하였고 그것을 각각 A-1, A-2, A-3, B-1, B-2, B-3, C-1, C-2, C-3로 하였다. 각 용액의 PO_4^{3-} 몰농도의 1.6배가 되도록 $CaCl_2$ 를 각 용액에 첨가하였고, pH는 0.1M-HCl 및 0.1M-NaOH를 적하하여 조절하였다.

3) 침적처리

비처리군 시편은 남겨두고, 처리군의 시편을 9가지의 용액에 10일간 각각 침적하여 37°C 항온조에 보관하였다. 침적용기는 테프론제 등의 반응성이 없고 완전히 밀폐될 수

Table 1. Relative concentration of phosphate buffer solutions.

Solution	0.2M- Na_2HPO_4 (ml)	0.2M- NaH_2PO_4 (ml)	pH
A	8.0	92.0	5.8
B	61.0	39.0	7.0
C	94.7	5.3	8.0

Table 2. Components of Hanks' solution

Components	gram	Components	gram
Water	1000ml	$CaCl_2$	0.14g
NaCl	8.00g	KCl	0.4g
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	0.06g	KH_2PO_4	0.06g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.20g	$NaHCO_3$	0.35g

있는 것을 사용하였으며, 침적 완료 후 시편을 가볍게 물로 씻고 실리카겔이 들어 있는 테프론 용기내에 보관하였다. 사용한 용기는 물에 먼저 행군후 0.1M HCl로 씻고 증류수로 세척 후 실온에서 건조시켰다.

4) 유사체액 침적

표면처리의 효과를 확인하기 위하여 비처리 시편과 처리 시편을 유사체액의 일종인 Hanks'액(표 2)에 30일간 침적하며, 인산칼슘의 생성능을 확인하기 위해 유기물은 포함시키지 않았다. 용액 중에서 생긴 침전물이 시료에 부착되는 것을 피하기 위해 침적 용기와 용액은 2일마다 교환하고 용기는 0.1M HCl과 증류수를 이용하여 세척하였다.

5) SEM (Scanning Electron Microscopy) 관찰

침적이 완료된 타이타늄 시편의 표면 양상을 알아보기 위해 SEM (Scanning Electron Microscope, S-2300, Hitachi Co., Japan)으로 관찰하였다.

6) X-선 회절 측정과 Fourier 변환 광도계 분석

처리군과 비처리군의 타이타늄 표면에 형성된 결정질 화합물의 정성적 확인을 위해 X선 회절기(X-Ray Diffractometry, X'PERT, Philips Co., Netherland) 및 Fourier 변환 광도계(Fourier Transform Infra-Red spectrophotometry, Galaxy T020A, Mattson Instrument Inc., USA)로 분석하였다.

3. 결 과

1) SEM 관찰 결과

각각의 산도와 농도의 인산 완충액에 10일 침적 후 Hanks'액에 30일 침적한 타이타늄의 표면 양상을 그림 1에 나타내었으며, SEM 상에서 형성층의 유무의 확인이 가능하였으며 그 모양은 과립상이었다. 인산 완충액 처리를 하지 않은 타이타늄을 유사체액에 침적시 타이타늄 표면에 형성된 인산 칼슘은 수 nm정도에 불과함이 이미 알려져 있고, 이 정도의 두께는 SEM상에서는 확인이 불가능함을 감안하면 본 실험의 처리군에서는 표면의 형성층이 현저히 증가하였음을 알 수 있다.

A, B, C군을 비교하여 보면 전반적인 형성량은 C군(pH 8.0)에서 가장 많았고 다음이 B군(pH 7.0), A군(pH 5.8)

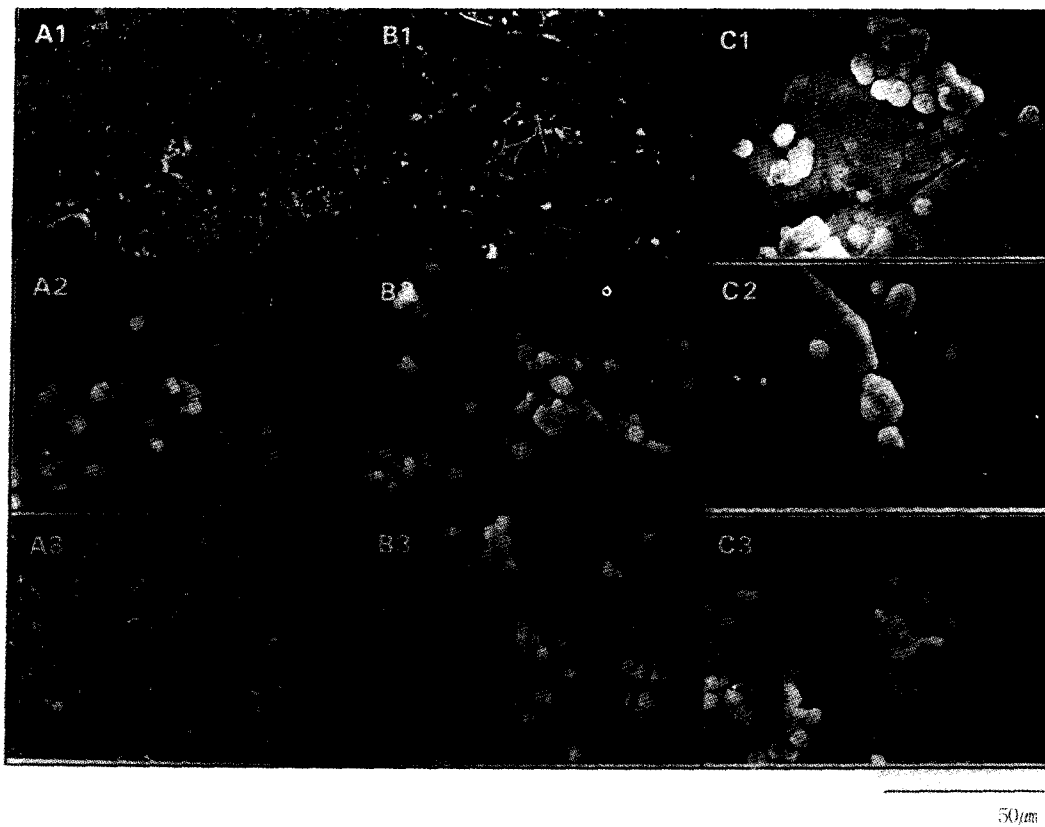


Fig. 1. SEM findings of the specimens immersed in calcium phosphate buffered solutions with different pH for 10 days followed by Hanks' solution for 30 days.

순으로 나타났으나, 입자의 균일도는 B군이 가장 우수하였고, C군, A군 순이었다. A군에서는 인산 완충액을 2배 희석하였던 A-2를 제외하고는 형성층이 거의 관찰되지 않았으며, B군에서는 2배 희석한 B-2, 5배 희석한 B-3에서, C군에서는 C-1, C-2, C-3 모두에서 양호한 결과를 보였다.

2) XRD 관찰

그림 2는 순수한 HA의 XRD 관찰 결과로서, 2θ 각이 26° - 35° 에서 높은 peak가 있음을 알 수 있다. 그림 3은 A, B, C군과 비처리군의 XRD 관찰결과이다. 인산 완충액을 2배 희석한 A-2군에서만 비처리군에서 볼 수 없는 apatite의 peak가 관찰되었으며 이것은 SEM의 결과와 잘 일치하고 있다. B군의 경우 희석하지 않은 B-1는 비처리군과 차이를 보이지 않는 반면, 2배 희석한 B-2와 5배 희석한 B-3에서는 apatite의 peak가 관찰되었다. pH 8.0의 C군의 경우, 희석치 않고 사용한 C-1, 2배 희석한 C-2, 5배 희석한 C-3 모두에서 apatite의 peak가 관찰되었으나, C-1, C-3에서 좀 더 현저하였다. 이상의 결과는 앞서의 SEM 관찰결과와 잘 일치하였고, 본 실험의 XRD 결과를 JCPDS card를 이용하여 분석한 결과 타이타늄 표면에 형성된 층은 인산칼슘 화합물이며 hydroxyapatite나 β -TCP일 가능성이 가장 높은 것으로 나타났다.

3) FT-IR 관찰

그림 4는 무정형 HA의 FT-IR 결과로서, wavenumber 750 - 1500cm^{-1} 사이에서 넓은 인산 띠가 관찰되며, 수분을

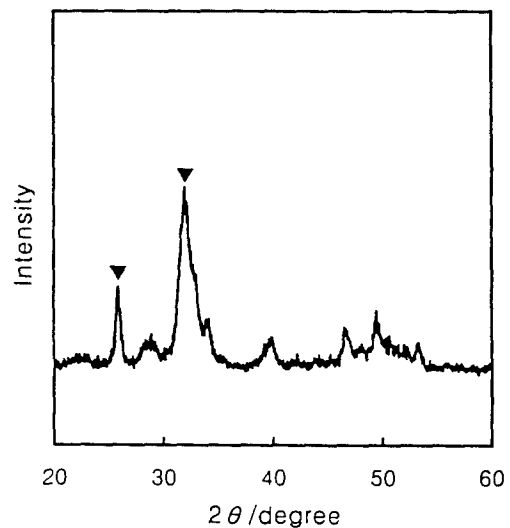


Fig. 2. XRD pattern of HA.

흡수하고 있기 때문에 3700cm^{-1} 에서 그리고 2500cm^{-1} 사이와 1650cm^{-1} 근처에서 OH띠가 관찰되었다. 1400 과 1550cm^{-1} 사이의 띠는 carbonate이며, 870cm^{-1} 근처의 peak는 carbonate와 HPO_4^{2-} 이온의 결합된 효과이며, 이 HPO_4^{2-} 의 peak는 600°C 로 가열하면 사라지는 반면 carbonate의 peak는 남는다. 그러므로 가열한 경우 870cm^{-1} 근처의 peak는 HPO_4^{2-} 이온을 잃고 carbonate만 남으므로 약해진다. 또 $1125, 1090, 1050, 985, 965, 950\text{cm}^{-1}$

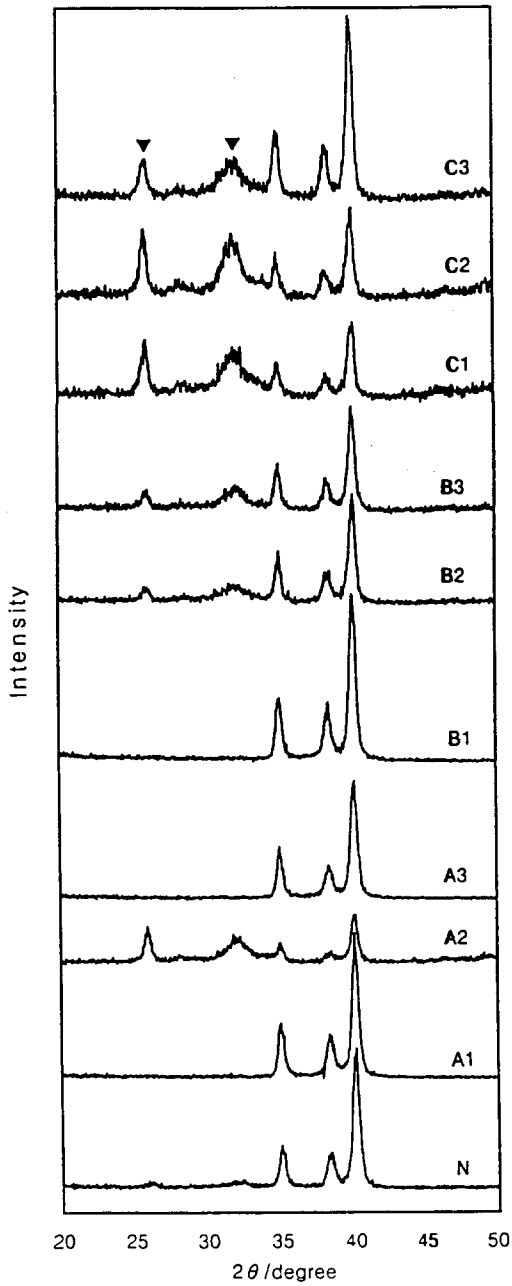


Fig. 3. XRD patterns of the specimens immersed in calcium phosphate buffered solutions in the condition of pH 5.8(A), pH 7.0(B) and pH 8.0(C) for 10 days followed by Hanks' solution for 30 days.

부위의 peak와 545cm^{-1} 근처의 shoulder는 HA와 TCP에서 공히 관찰되었다.

그림 5은 pH 5.8인 A군의 FT-IR 그래프로서 2배 회석한 A-2에서만 HA와 유사한 결과가 나타났으며, 그림 6은 pH 7.0(B군)의 결과로서 2배 회석한 B-2와 5배 회석한 B-3의 그래프에서 HA의 FT-IR 결과와 유사성이 확인되었다. 그림 7은 pH 8.0의 C군의 결과로서 C-1, C-2, C-3 모두에서 HA의 FT-IR 결과와 유사한 그래프가 얻어졌다. 이 결과는 SEM과 XRD 결과와 잘 일치하고 있음을 알 수 있었다.

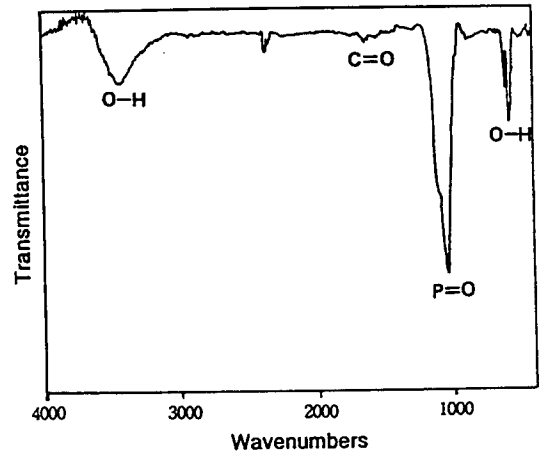


Fig. 4. FT-IR spectrum of HA.

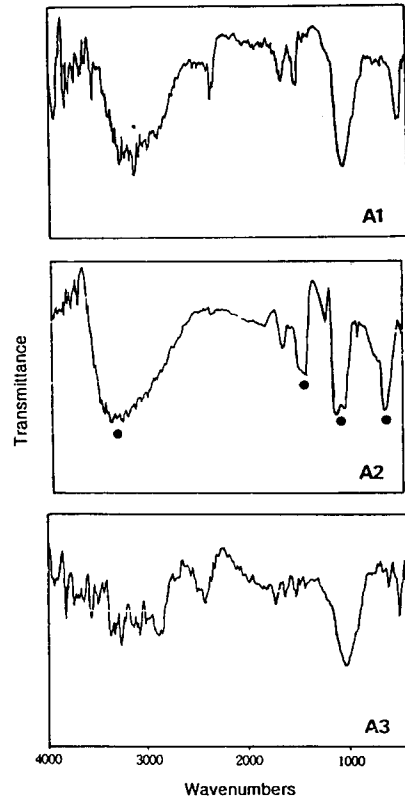


Fig. 5. FT-IR spectra of the specimens immersed in calcium phosphate buffered solutions in the condition of pH 5.8 for 10 days followed by Hanks' solution for 30 days.

4. 고 찰

타이타늄 표면에 형성되는 부동태 피막은 생체내에서 세포에 독성이 없이 양호한 생물학적 반응을 보이는 것이 매우 중요하다. 산화막은 주로 anatase, rutile로 구성되며 tetragonal structure를 가진다고 알려져 있다.¹⁰⁾ 연구자들은 Fourier transform infrared reflection absorption spectroscopy (FTIR-RAS)를 이용한 연구에서 단백질이 덮여 있는 타이타늄 산화막 표면에도 인산 이온의 흡착이 가능하다고 보고하였고, 타이타늄 산화막이 미네랄 이온,

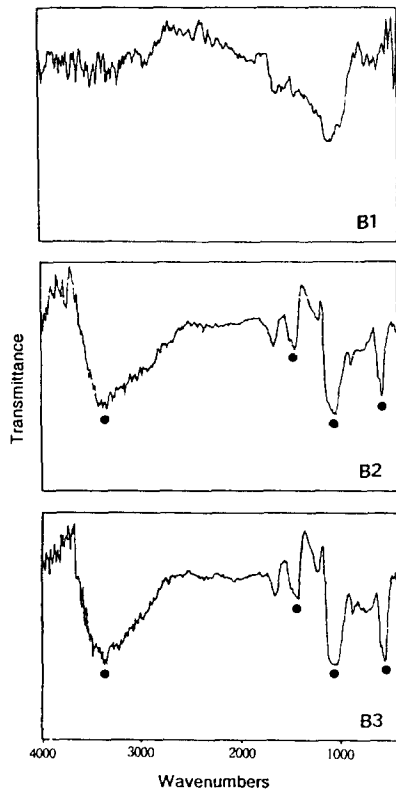


Fig. 6. FT-IR spectra of the specimens immersed in calcium phosphate buffered solutions in the condition of pH 7.0 for 10 days followed by Hanks' solution for 30 days.

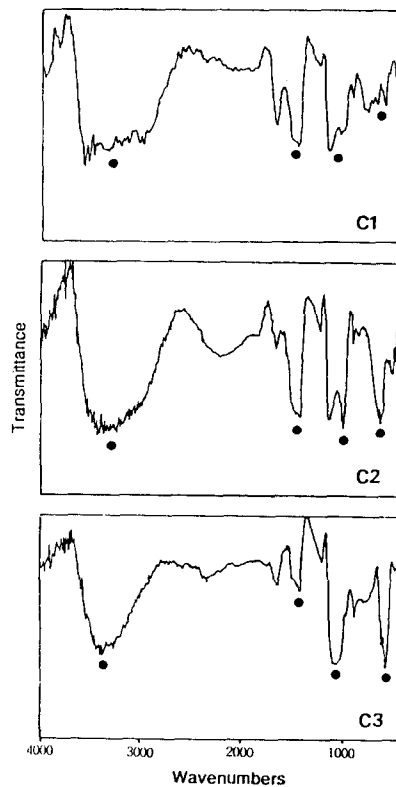


Fig. 7. FT-IR spectra of the specimens immersed in calcium phosphate buffered solutions in the condition of pH 8.0 for 10 days followed by Hanks' solution for 30 days.

물, biofluid의 구성 성분과 반응하여 타이타늄 표면의 remodeling을 일으킨다고 보고하였다.^{11~14)}

산화막 표면에서 인산칼슘층의 형성은 먼저 공기 또는 용액 중에서 산화막이 물 분자와 반응하여 hydroxyl group으로 덮이는 hydroxylation 현상에 의해 발생하며, 이 때 crystal은 +2가 이상의 이온보다는 +1가 이온에 의해 덮이는 것이 좀 더 안정적인 것으로 알려져 있다. 이 hydroxyl group은 수용액 중에서 해리가 되고 용액의 산도는 해리가 평형을 이루고 표면 전위가 0이 되는 점에서 정해지며, 타이타늄 산화막인 경우는 7에 가깝다. 산화막 표면은 초기에는 인산 이온의 농도가 높고, 시간이 지남에 따라 칼슘 이온의 농도가 상대적으로 더욱 급속히 증가한다. 인산은 PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$ 의 형태로 부착되며 인산 이온의 부착 후에 칼슘 이온이 부착하게 되어 인산칼슘 화합물을 형성한다.¹⁰⁾

본 실험에서는 인산칼슘의 생성량을 증가시키기 위해 인산완충액을 전처리한 후 유사체액의 일종인 Hanks'액에 침적하였는데, Hanks'액에서의 침적은 생체 내에 타이타늄을 매식할 경우의 반응을 알아보기 위하여 생체내를 가정한 것이다.^{6, 8, 15, 16)} 또한 Abe 등⁵⁾은 임플란트 표면에 HA의 얇은 층을 피복하기 위해 유사체액을 사용하였으며, Geesink 등¹⁷⁾은 플라즈마 피복된 HA를 대신하기 위해 유사체액을 사용하였다고 보고하고 있다. 본 연구에서는 Hanks'용액을 이용하였으며 산도의 변화로 인한 실험의 오차를 최소로 하기 위해 일주일에 한번씩 필요한 양을 제조하고 남은 액은 폐기하였다.

실험이 완료된 타이타늄 시편을 SEM으로 관찰한 결과, 특정 농도와 산도를 가지는 인산완충액에 10일간 침적후 유사체액 중에서 30일 침적한 타이타늄 산화막 표면에 결정질의 형성층이 육안으로 관찰되었으며, 이것은 유사체액에서만 30일 침적한 결과와 현격한 차이를 보였다. 즉 유사체액 중에서 타이타늄 산화막 표면에 형성되는 인산칼슘은 균일한 피막을 형성한다는 가정하에서도 30일 침적에 수 nm 정도로 이 정도의 두께는 SEM 상에서의 관찰은 불가능하나, 본 실험의 결과에서는 몇몇 처리군을 제외하고는 타이타늄 산화막 표면에 과립상의 인산칼슘층이 관찰되었다. Ban 등¹⁸⁾은 $NaCl_2$, K_2HPO_4 와 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 의 수용액에서 온도를 4°C에서 92°C로 조절하여 타이타늄 기관상에 형성되는 인산칼슘의 양상에 대하여 보고하였으며, 4°C, 22°C, 37°C에서는 입상의 침전물이, 52-92°C의 온도 범위에서는 침상의 침전물이 형성된다고 보고하였다. 본 실험은 37°C 항온조에서 이루어졌으며 형성된 침전층은 입상 형태의 침전물로 위의 결과와 일치하였다. 표면 형성층에서 관찰된 crack은 건조 과정에서 수분이 증발하면서 생긴 것으로 생각된다.¹⁹⁾

각 군을 비교하여 보면 전반적인 형성량은 산도 8.0의 C군에서 가장 많았고, 그 다음이 산도 7.0의 B군, 산도 5.8의 A군 순으로 나타났으나, 입자의 조밀도는 산도 7.0인 B군이 가장 높게 나타났다. A군을 SEM으로 관찰한 결과 2배 희석한 A-2에서 apatite의 형성을 관찰할 수 있었으

나, 회색하지 않은 A-1과 5배 회색한 A-3에서는 비처리 군과 큰 차이가 발견되지 않았다. B군에서는 B-2와 B-3에서 apatite층이 관찰되나, 회색하지 않은 B-1에서는 관찰되지 않았다. C군의 모든 시편은 비처리군에 비해 현격히 증가된 표면 형성층이 관찰되었으며, 이상의 결과는 반복 실험을 통하여 검증이 필요할 것으로 사료된다.

각각의 실험군을 Fourier 변환 광도계로 분석한 결과를 순수한 HA의 결과와 비교한 결과, A군에서는 A-2, B군에서는 B-2, B-3에서, C군에서는 모두가 HA의 결과와 유사한 그래프가 관찰되었으며, 이는 앞서의 SEM, XRD의 결과와 잘 일치하였다. 보통 합성 HA는 탄산염을 함유하고 있어 carbonate apatite 형태로 존재하며, 본 실험에서 관찰된 형성층의 FT-IR 결과는 그림 4에 나타난 전형적인 carbonate apatite의 그래프와 매우 유사하였다.²¹⁾

본 실험은 유사체액 중에서 타이타늄 표면에 생성되는 인산칼슘 층을 증가시키기 위해 전처리제로 여러 산도와 농도를 갖는 인산완충액을 사용한 결과, 유사체액에만 30일 침적한 군에 비해 인산완충액을 전처리한 군에서 형성층이 증가하였으며, 증가량은 중성과 약알칼리성의 산도를 갖는 군에서 두드러지게 나타났음을 알 수 있었다.

5. 결 론

본 연구는 타이타늄을 인산완충액으로 전처리한 후 유사체액에 침적함으로써 타이타늄 표면에 생성되는 인산칼슘의 양을 증가시키기 위하여 실험조건으로서, 산도와 농도가 다른 9가지의 용액에 10일간 침적처리한 후 유사체액의 일종인 Hanks'액에 30일간 침적하고 SEM, XRD, FT-IR로 분석하여 다음의 결과를 얻었다.

- 1) 유사체액에만 30일간 침적한 타이타늄에 비해 각각의 농도와 산도를 가지는 인산완충액에 전처리후 유사체액에 침적시 표면의 결정질 형성층이 증가하였다.
- 2) 타이타늄 표면의 결정 형성층은 과립상으로, 중성과 알칼리의 인산 완충액을 사용한 경우가 산성의 인산완충액을 사용한 경우 보다 그 양이 많고, 조밀도도 우수하였다.
- 3) 인산완충액에 전처리한 후 유사체액에 30일간 침적한 경우 형성된 결정질은 인산칼슘이며, HA나 β -TCP일 가능성이 가장 높았다.

참 고 문 헌

1. C.W. Warren, J. Oral Implantology, **18**, 231 (1992)
2. T. Kokubo, and T. Huang, J. Biomed. Mater. Res., **24**, 331 (1990)
3. P. Li, X. Te, T. Kangasniemi, and de Blicck-Hogervorst, J. Biomed. Mater. Res., **29**, 325 (1995)
4. P. Li, and C. Obtsuki, J. Am. Ceram. Soc., **75**, 2094 (1992)
5. Y. Abe, T. Kokubo, and T. Yamamoto, J. Mater. Sci. Mater Med., **1**, 233 (1990)
6. T. Hanawa, and M. Ota, Biomaterials, **12**, 767 (1991)
7. T. Hanawa, K. Murakami, and S. Kihara, American Society for Testing and Materials, 170 (1994)
8. T. Hanawa, T. Yamashita, #2330 IADR-AADR, 1 (1996)
9. Effah, E.A.B., Bianco, P.D. and Ducheyne, P., J. Biomed. Mat. Res., **29**, 73 (1995)
10. D. McQueen, J.E. Sundgren, B. Ivarsson, I. Lundstrom, C.B. af Ekenstam, A. Svesson, P.I. Branemark, and T. Albrektsson, In: A.J.C. Lee, T. Albrektsson, Branemark PI (eds), Clinical application of biomaterials, Wiley, New York, pp. 179-185 (1982)
11. B. Liedberg, B. Ivarsson, and I.J. Lundstrom, Biochem. Biophys. Method, **9**, 233 (1984)
12. T. Hanawa, J. J. Dent. Mater., **8**, 832 (1989)
13. K. Asami, K. Hashimoto, and S. Shimodaira, Corr. Sci., **17**, 713 (1977)
14. T. Kokubo, H. Kushitani, C. Ohtsuki, S. Sakka, and T. Yamamuro, J. Mater. Sci. Mater. Med., **1**, 79 (1992)
15. T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, and T. Yamamuro, J. Biomed. Mater. Res., **24**, 721 (1990)
16. R.G.T. Geesink, K. DeGroot, and P.A.T. Klein, Clin. Orthop., **225**, 147 (1987)
17. S. Ban, S. Maruno, A. Harada, M. Hattori, K. Narita, and J. Hasegawa, J. Dent. Mat., **15**, 31 (1996)
18. J. Li, H. Liao, and M. Sjostrom, Biomaterials, **18**, 743 (1997)
19. R.Z. KeGeros, M.H. Taheri, G.M. Quirolgico, and J. P. LeGeros, In Proc. 2nd Int. Congr. on Phosphorus Compounds, Boston, pp. 89-103 (1980)