

以微弧氧化法於鈦基材製備含銀之氫氧基磷灰石塗層 生醫特性研究

^{1,2} 林威廷、² 謝子毅、^{1,3} 李易儒、¹ 簡基勝、^{*2} 郭聰源、² 林儒禮、² 黃君偉、² 王介聰、
⁴ 李澤民

¹奇美醫院骨科、²南臺科技大學機械工程系、³中信科技大學休閒運動管理系、⁴成功大學口腔醫學研究所

* tykuo@stust.edu.tw

摘要

氫氧基磷灰石 (HA) 具有優異的生醫活性與生醫相容性，在臨床上已被廣泛用來作為金屬醫材的表面塗層，然而，HA 抗菌能力不足，而 Ag 是被公認最佳的抗菌劑，但添加後對生醫活性可能會產生不良的影響，添加量過多亦會產生細胞毒性。本研究目的為使用微弧氧化 (MAO) 於 Ti 基材表面製備含 Ag 之 HA 塗層，MAO 參數設定二種放電電壓 (300、400V)，搭配固定的放電電流 (0.6A) 與放電時間 (5min)，電解液以 0.2 mol/L 醋酸鈣 ($\text{C}_4\text{H}_8\text{CaO}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 與 0.1 mol/L 磷酸二氫鈉 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 作為基礎溶液，並分別添加 0、0.001 與 0.002 mol/L 之硝酸銀 (AgNO_3)。研究結果顯示，添加與未添加 Ag 之塗層表面皆可形成生醫性質優異的花狀結構，在添加 Ag 試件之 EDS 皆出現微量 (0.11~0.66 at%) 的銀元素，而 XRD 分析則無 Ag 或 Ag 之化合物出現，所有 MAO 試件塗層之化合物均為由 Ti、Anatase、Rutile、HA 與 DCPD 所組成，並呈現超親水性 (接觸角 $\approx 0^\circ$)。在生醫活性試驗中，試件浸泡人工模擬體液 7 天即可生成大量磷灰石並幾乎覆蓋塗層表面，顯示在 0、0.001 與 0.002 mol/L 之 AgNO_3 添加量仍可維持相當優異的生醫活性。

關鍵詞：微弧氧化 (MAO)、鈦、硝酸銀 (AgNO_3)、氫氧基磷灰石 (HA)、生醫活性

Study on the Biomedical Properties of Silver-containing Hydroxyapatite Coatings Prepared on Titanium Substrates by Micro-arc Oxidation

^{1,2}Wei-Ting Lin, ²Tzu-Yi Hsieh, ^{1,3}Yi-Ju Li, ¹Chi-Sheng Chien, ^{*2}Tsung-Yuan Kuo, ²Ru-Li Lin, ²Jun-Wei Huang, ²Chieh-Tsung Wang, ⁴Tzer-Min Lee

¹Department of Orthopedics, Chi-Mei Medical Center, ²Department of Mechanical Engineering, Southern Taiwan University of Science and Technology, ³Department of Leisure and Sports Management, CTBC University of Technology, ⁴Institute of Oral Medicine, National Cheng Kung University

Abstract

Hydroxyapatite (HA) exhibits excellent bioactivity and biocompatibility and has been widely used clinically as a surface coating for biometallic materials. However, HA has poor antibacterial properties. Silver (Ag) is recognized as the best antibacterial agent, but its addition may adversely affect bioactivity, and excessive amounts can cause cytotoxicity. This study aims to prepare silver-containing HA coatings on titanium substrates using micro-arc oxidation (MAO) under different applied voltages (300V and 400V) while maintaining a fixed applied current (0.6A) and duration (5 minutes). The electrolyte consists of 0.2 mol/L $\text{C}_4\text{H}_8\text{CaO}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and 0.1 mol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ as base solutions, with AgNO_3 added at concentrations of 0, 0.001, and 0.002 mol/L. It was found

Received: Jul. 22, 2024; first revised: Dec. 2, 2024; accepted: Dec. 2024.

Corresponding author: T.-Y. Kuo, Department of Mechanical Engineering, Southern Taiwan University of Science and Technology, Tainan 710301, Taiwan.

that the coating surface with and without Ag can form flower-like surface structures with excellent biomedical properties. A trace amount (0.11~0.66 at%) of Ag element was detected in the EDS spectrum of silver-added samples. However, XRD analysis of the MAO coatings showed no presence of Ag or Ag compounds. All specimens were composed of Ti, TiO₂-A (anatase), TiO₂-R (rutile), HA, and DCPD, and exhibited superhydrophilicity (contact angle $\approx 0^\circ$). In bioactivity tests, a large amount of apatite was produced, roughly covering the coating surface after immersion in artificial simulated body fluid (SBF) for 7 days. This finding indicates that excellent bioactivity can still be maintained when the addition amount of AgNO₃ is 0, 0.001 and 0.002 mol/L.

Keywords: Micro-arc oxidation (MAO), Ti, AgNO₃, Hydroxyapatite (HA), Bioactivity

壹、前言

隨著全球老齡化增加，人體隨時間的增長，機能也隨之下降，小至細胞，大至器官或關節。其中，退化性關節炎與骨質疏鬆造成的骨折最為常見。在現今的醫療技術日新月異下，人工植體的置換技術與使用年限已大幅提升，但其植入手術的過程中和植體本身可能會引起細菌感染，這對患者的健康和治療結果可能產生嚴重影響，並且隨時間的推移，微生物對抗生素的抗藥性正在不斷增加[1]，使治療患部感染變得更加困難。

目前在人工植體的選用上，以鈦及其合金（如 Ti-6Al-4V）最為常見，其具有優異之生醫相容性、耐蝕性與生物力學能力[2]，然而，Ti 屬於生醫惰性（bio-inert）材料，導致骨整合能力不佳，須透過表面處理使鈦基材表面形成一層具生醫活性之塗層，目前最常見的方式為在其表面披覆一層具生物活性陶瓷材料，如氫氧基磷灰石（HA, Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂）[3]，而 HA 是一種磷酸鈣材料，其成份與人體骨組織相近（人骨中 HA 約佔 70%），其生物相容性及生物活性皆相當優異。微弧氧化（Micro-Arc Oxidation, MAO）是近期發展出來的商業化表面改質技術，經其製程可獲得基材自身氧化物的塗層，同時可經由電解液化學組成的調配獲得所需性質之塗層，且能減少高溫製程所帶來的熱分解之影響[4]。在降低人工植體於植入過程的細菌感染方面，可在植體進行表面處理時加入抗菌劑，所適用之無機抗菌劑如銀（Ag）、碳、鋅、銅，其中，因銀在術後初期可抑制微生物的生長與繁殖，並在植體植入後，將炎症風險降至最低[5]。此外，Ag 也具有良好的生物相容性和生物降解性，Ag 已成為最廣用之抗菌性材料。

為了改善 Ti 基材之生醫惰性與增添抗菌效果，本研究在 Ti 基材上進行 MAO 表面處理製程，以可形成 HA 的醋酸鈣（C₄H₈CaO₅·H₂O）和磷酸二氫鈉（NaH₂PO₄·2H₂O）為基礎電解質溶液，並添加不同濃度的硝酸銀（AgNO₃）。藉由 MAO 製程驅動 Ti 基材表面形成含 Ag 的 HA 塗層，以達到提高生醫活性和抗菌性能的目的。

貳、實驗步驟與方法

本研究選用金崧鋼鐵股份有限公司（GOLDEN WIN STEEL INDUSTRIAL CORP., Taiwan）生產之二級商用純鈦（Ti, Grade 2）棒材作為基材，並切割成 $\Phi 14 \times 3$ mm 之鈦錠。在進行 MAO 製程前，先將純鈦試件表面研磨至 #1000 號，研磨後之試件分別依序置於丙酮、酒精（去油、去水）中以超音波震盪機清洗，清潔完成後取出吹乾，並放入真空烘箱中保存。

MAO 系統架構示意圖如圖 1 所示，在 MAO 的參數中，放電電壓主要影響表面形貌的變化；而放電電流與放電時間則會影響塗層生長的速度，為了穩定實驗的再現性及控制特定形貌的條件下，選擇將放電電流與持續時間設為固定參數，根據前述將參數設定為兩組不同的放電電壓（300、400V），搭配固定的放電電流（0.6A）與放電時間（5min），電解液則以 0.2 mol/L 醋酸鈣（C₄H₈CaO₅·H₂O）與 0.1 mol/L 磷酸二氫鈉（NaH₂PO₄·2H₂O）作為基礎電解液。由於硝酸銀（AgNO₃）的添加量會直接影響試件完成後 Ag 的含量，故設計添加三種不同濃度（0、0.001、0.002 mol/L）之 AgNO₃ 進行比較。電解液浴溫維持在 20°C

以下，所有 MAO 的陽極與陰極工作距離（放電距離）固定為 15 mm。使用掃描電子顯微鏡（SEM，JEOL JSM-6390LV, JEOL Ltd., Tokyo, Japan）觀察各種塗層的微觀結構。以能量色散 X 射線光譜法（EDS）分析微觀結構與化學成分，並以 X 射線繞射（XRD, Cu K α 輻射, D2 PHASER, Brucker, Germany）分析不同塗層的組成相，使用掃描範圍（ 2θ ）為 $10^{\circ}\sim 70^{\circ}$ 、掃描速率為 3°min^{-1} 。

親水性之性能以接觸角量測儀（Theta Lite, Biolin Scientific, Sweden）利用靜態接觸角方式來進行量測，以 $2\mu\text{l}$ 大小之水滴（DI water）滴入試件表面，並根據滴入後之時間，待水滴穩定後記錄其與試件表面之夾角（接觸角），角度越小則表示親水性越佳，本研究使用滴落 3 秒為標準進行觀察。

本研究所使用之人工模擬體液（SBF）試驗，其配方根據 Kokubo 等人[6]之研究進行調配，SBF 與人體體液之離子濃度如表 1 所示。將製備完成的試件浸泡於 SBF 中，溫度恆溫在攝氏 37°C 的環境下，分別浸泡時間為 1、7 天，浸泡完成之試件再以去離子水清洗，並於室溫中乾燥，隨後觀察各試件塗層上之磷灰石生成形貌，評估其生物活性之優劣。

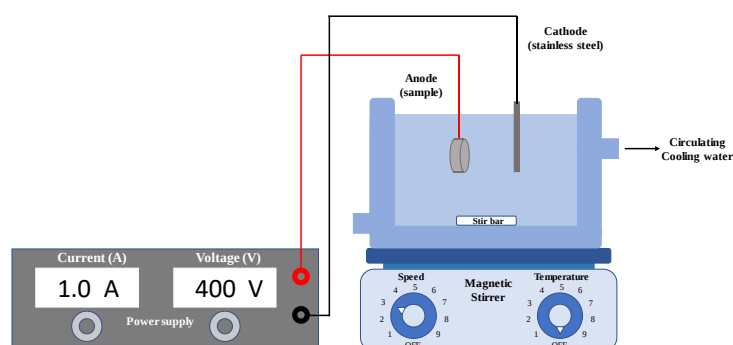


圖 1 MAO 系統架構示意圖

表 1 人工模擬體液（SBF）中離子濃度與人體體液（Blood）之離子濃度比較表

(mM)	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ⁻²
SBF	142.0	5.0	2.5	1.5	148.8	4.2	1.0
Blood	142.0	5.0	2.5	1.5	103.0	27.0	1.0

參、結果與討論

一、MAO 塗層之微觀結構分析

圖 2 為在放電電壓 300V 與 400V 下添加不同 AgNO₃ 濃度（0、0.001、0.002 mol/L）所形成之 MAO 塗層的 SEM 表面形貌。顯示在放電電壓 300V 下，試件塗層組織為片狀結構混合少量花狀結構，並夾雜少量大約 $5\sim 10\mu\text{m}$ 的孔洞。在放電電壓 400V 下，塗層形貌與 300V 試件有極大的差異，呈現花狀結構且具微量孔洞特徵，在同一電壓下，塗層形貌並不太會隨著 AgNO₃ 之濃度變化而明顯改變。依據相關研究顯示，塗層呈花狀結構可以大幅增加親水性質[7]，也可提升細胞增殖的前期貼附效果[8]，亦即增強了生醫相容性。MAO 製程之反應如圖 3 所示，在反應過程中，被微電弧解離的 Ti⁴⁺ 離子與電解液中的 O⁻ 離子反應形成多孔 TiO₂ 薄膜，逐漸遍佈整個表面，而當放電電壓持續上升，氧化層會逐漸變厚，此時，電解液中的所有離子，包括 OH⁻、PO₄³⁻、HPO₄⁻²、Ca²⁺ 和 Ag⁺，在電泳沉積（electrophoresis deposition）的作用下擴散並遷移到陽極產生反應[9]，最終形成片狀結構與花狀結構之形貌。

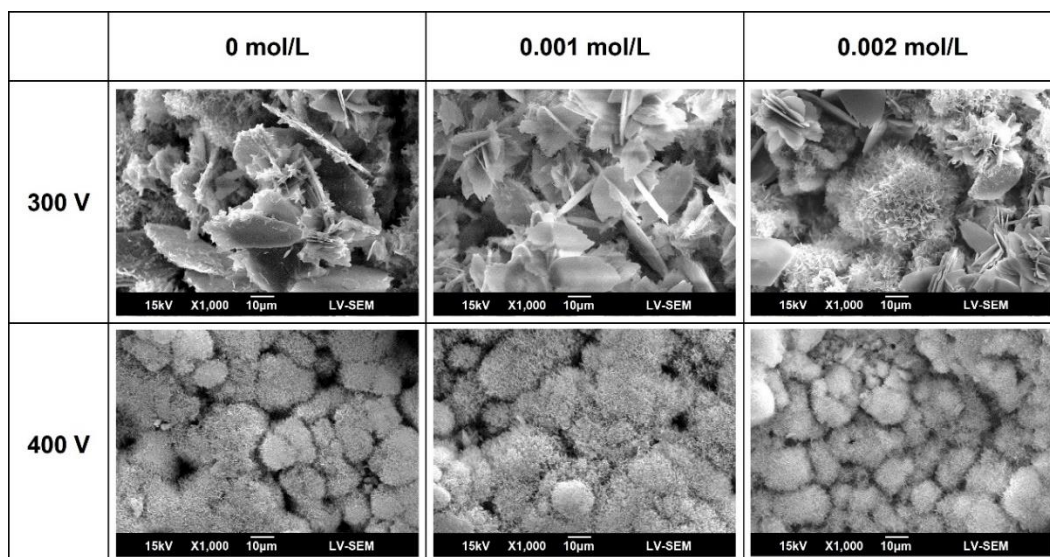
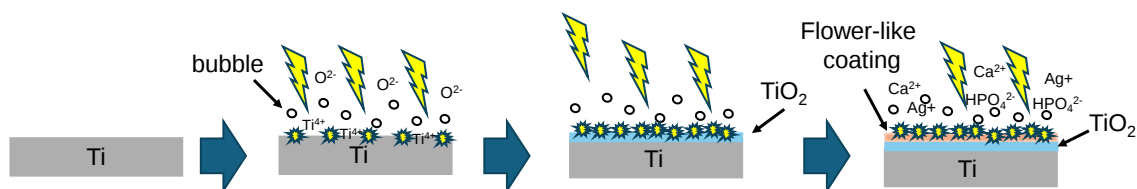
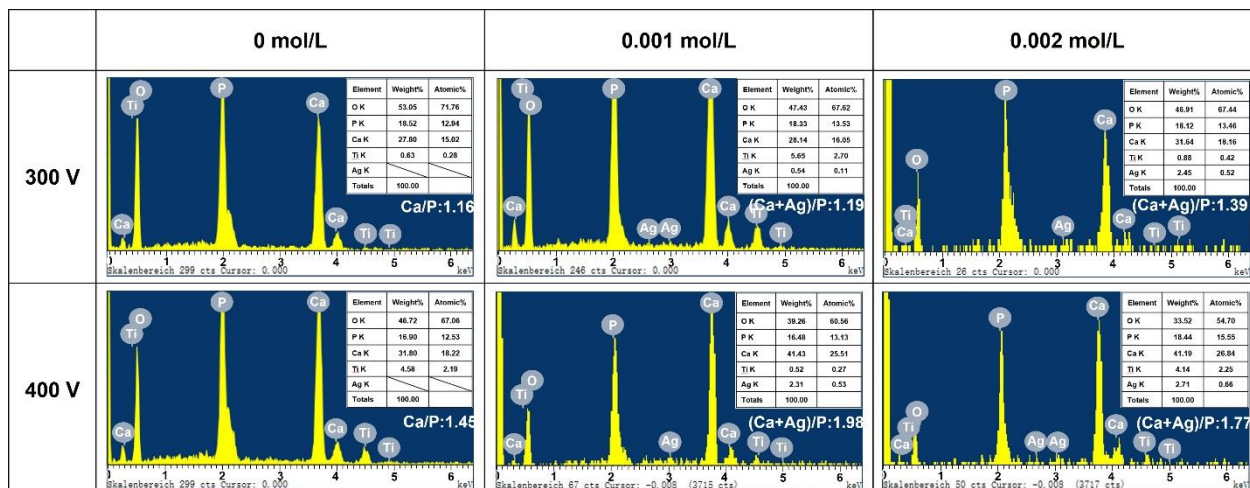
圖 2 在不同放電電壓下添加各種 AgNO_3 濃度之 MAO 塗層的 SEM 表面形貌

圖 3 MAO 反應過程示意圖

二、MAO 塗層之 EDS 分析

圖 4 為在放電電壓 300V 下添加不同 AgNO_3 濃度所形成之 MAO 塗層的 EDS 分析，顯示未添加 AgNO_3 之塗層主要由 Ca、P、O、Ti 元素所組成；而有添加 AgNO_3 之塗層則多了 Ag 之元素，且隨 AgNO_3 之添加濃度增加而有些微的提升，提升量界於 0.11~0.66 at-% 之間。上述結果顯示，在 MAO 的過程中，電解液中的 Ag 離子可以成功反應入塗層中，並隨著 AgNO_3 添加濃度與放電電壓的增加而增加，而此效應則是因帶電的 Ag 離子，在電場之 electrophoresis 的影響下，促進了 Ag 進入塗層中[10]。在 300V 試件塗層，未添加 AgNO_3 之塗層之 Ca/P 比為 1.16，而添加 AgNO_3 之 (Ca+Ag)/P 比則約 1.19~1.39 之間。在放電電壓 400V 下，在未添加 AgNO_3 之塗層之 Ca/P 比為 1.45，然而，添加 AgNO_3 之 (Ca+Ag)/P 比則提升至約 1.77~1.98，與 HA 之 Ca/P 比 (1.67) 相當接近。根據 Ciobanu 等人研究結果提到[11]， Ag^+ 會在 MAO 製程中與 HA 中的 Ca^{2+} 進行取代，因此，Ag 的添加會提升塗層的 (Ca+Ag)/P 比，而放電電壓越高，此效應也越明顯。

圖 4 在不同放電電壓下添加各種 AgNO_3 濃度之 MAO 塗層的 EDS 分析

三、MAO 塗層之 XRD 分析

圖 5 為在放電電壓 300V 下，添加不同 AgNO_3 濃度 MAO 塗層之 XRD 圖譜，顯示所有塗層之主要化合物均為 Ti、Anatase ($\text{TiO}_2\text{-A}$)、HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) 與 DCPD ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)，放電電壓在 400V 時（圖 6）之化合物種類亦相似，僅多了 Rutile phase ($\text{TiO}_2\text{-R}$)，且 DCPD 之繞射強度明顯較低。在相關研究顯示[12]，片狀微結構以 DCPD 為主；而花狀結構則以 HA 為主。其中，較奇特的 DCPD 是一種 HA 之前驅物[13]，很容易在磷酸鹽溶液形成。雖然，本研究在放電電壓 400V 下之 SEM 形貌僅出現花狀結構（HA），但在 XRD 圖譜分析中則也出現 DCPD 的繞射峰，這應是仍有少量的 DCPD 殘留在塗層內部[12]。再者，在 XRD 分析中尚未出現銀或銀化合物的峰值，He 等人的研究指出[14]，這可能是因為 Ag 在試件較表層處或粒徑過小，導致無法準確量測 Ag 相關化合物成分，本研究認為，也可能是 Ag 含量太少而沒有出現繞射峰。此外，依據相關研究顯示，以 MAO 所形成之 HA 塗層，與電漿噴塗（atmospheric plasma spraying process）相比[15-16]，因電漿噴塗製程溫度極高（通常超過 $10,000^\circ\text{C}$ ），容易造成 HA 塗層熱分解成不穩定相（如 TTCP、CaO），因此，塗層會逐漸從植體表面剝落，導致有害金屬離子釋放進入體內，並最終導致植體失效，而相對反應溫度較低之 MAO 則無此現象。至於與溶膠凝膠法（sol-gel）相比，溶膠凝膠法所獲得之結合強度不如 MAO，也無法製備生醫性質所需之多孔粗糙的表面形貌，此外，MAO 塗層厚度與化學性質亦較溶膠凝膠法優異[17]。

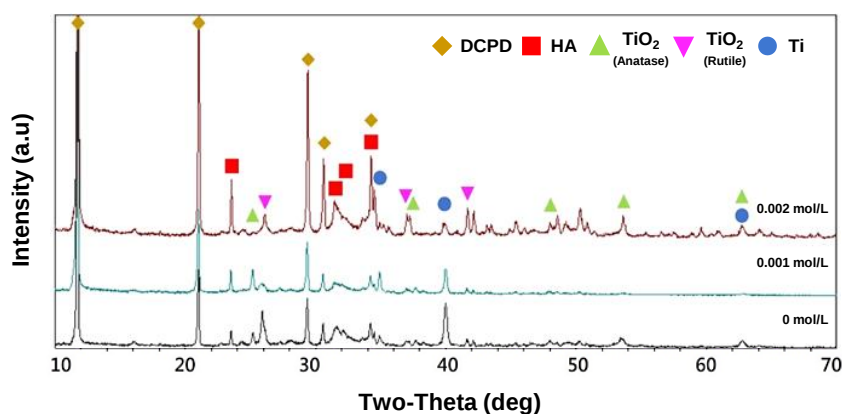


圖 5 在放電電壓 300V 下添加不同 AgNO_3 含量之 MAO 塗層 XRD 分析

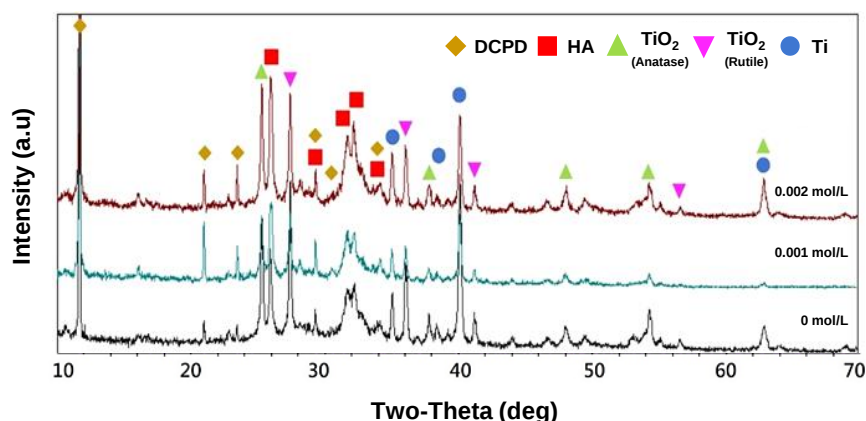


圖 6 在放電電壓 400V 下添加不同 AgNO_3 含量之 MAO 塗層 XRD 分析

四、MAO 塗層之親水性試驗

圖 7 為在放電電壓 400V 下 MAO 塗層與純 Ti 基材之接觸角量測影像圖，接觸角越低則表示親水性越佳，其中，Ti 基材所量測出之接觸角為 47° ，表示仍具備一定程度的親水性，然而，所有 MAO 塗層之接觸角則皆趨近 0° ，呈現超親水性。親水性之優劣主要取決於塗層表面形貌與表面化學性質[18]。在表面形貌上，花狀結構塗層表面粗糙度相對比無 MAO 處理之 Ti 基材高，而粗糙度越高通常越具親水性；在表面化學特性上，HA 帶有 OH^- ，而 DCPD 則通常以水合物的方式存在， OH^- 與水合物都有利於親水性的

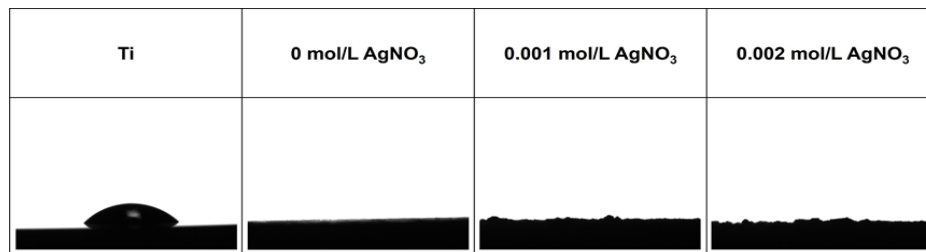


圖 7 添加不同 AgNO₃ 濃度之 MAO 塗層與 Ti 基材親水性分析 (400V ; 0.6A ; 5min)

提升，因此，使得含有 HA 與 DCPC 之 MAO 塗層之接觸角大幅降低而趨近於 0° [19]。一般來說，親水性越高，也會促進在塗層上的體液及蛋白質之擴展與流動，使得細胞更快速的成長，亦即具有更佳之生醫相容性。

五、MAO 塗層之人工模擬體液 (SBF) 試驗

本項實驗以 SBF 之體外 (In vitro) 試驗來觀察磷灰石的生長情形作為生醫活性的指標，磷灰石生長越快越完整則表示生醫活性越佳。圖 8 為在放電電壓 400V 之 MAO 塗層與基材浸泡 SBF 1-7 天之磷灰石生長情形。浸泡 1 天時，除了 Ti 基材外，其他試件之塗層中已有磷灰石成核；浸泡到第 7 天時，所有添加 AgNO₃ 之試件表面皆已被磷灰石覆蓋，但 Ti 基材表面依舊沒有變化。根據相關文獻指出[20]，Ag⁺離子的釋放可能導致 Ca²⁺和 PO₄³⁻同時吸附，驅使磷灰石加速成核。因此，含有 Ag 且 HA 含量較高的試件生醫活性較佳，也就是具有較好的骨整合能力。亦即 Ti 植體在經此 MAO 製程處理所生成之塗層，在植入人體後，預計將具有長期之穩定性。

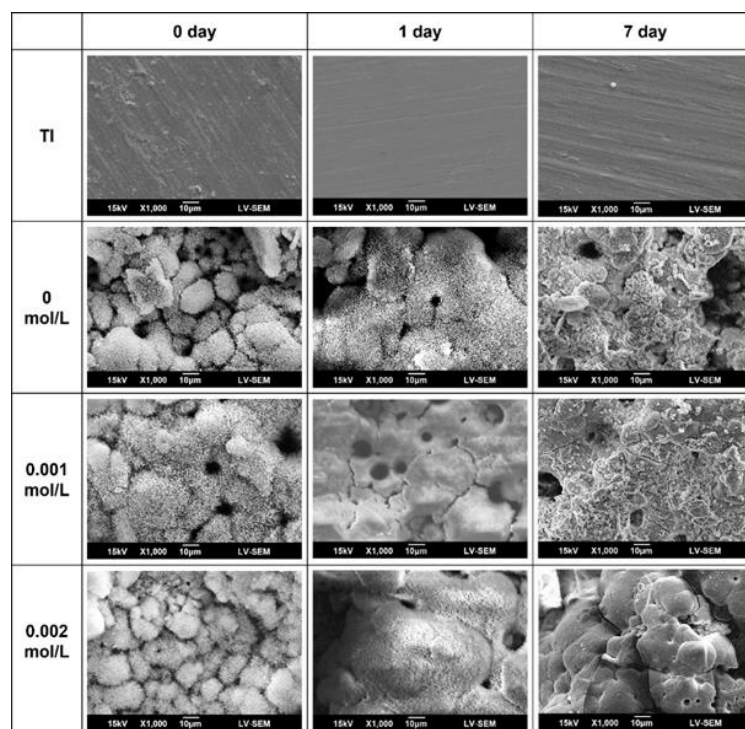


圖 8 添加不同 AgNO₃ 濃度之 MAO 塗層浸泡 0、1、7 天人工模擬體液後磷灰石之生長情形 (400V ; 0.6A ; 5min)

肆、結論

本研究以 MAO 製程，選擇二種放電電壓 (300、400V)，搭配固定的放電電流 (0.6A) 與放電時間 (5min)，電解液以 0.2 mol/L 醋酸鈣 (C₄H₈CaO₅·H₂O) 與 0.1 mol/L 磷酸二氫鈉 (NaH₂PO₄·2H₂O) 作為基

礎溶液，並分別添加 0、0.001 與 0.002 mol/L 之硝酸銀 (AgNO_3)。藉由 MAO 製程驅動 Ti 基體表面形成含 Ag 的 HA 塗層，以達到提高生醫活性和抗菌性能的目的，重要結論如下：

- 一、經 MAO 製程後，在放電電壓 300V 之試件塗層皆呈現以片狀為主的結構；在放電電壓 400V 之試件則幾乎呈現完全的花狀結構。而 AgNO_3 的添加對塗層微結構並不會產生明顯的影響。
- 二、EDS 分析顯示，添加 AgNO_3 之塗層會含有微量的銀元素 (0.11~0.66 at-%)。在放電電壓 300V 下，未添加 AgNO_3 之 Ca/P 為 1.16，有添加 AgNO_3 之 (Ca+Ag)/P 之值約為 1.19~1.39；在放電電壓 400V 下，未添加 AgNO_3 之 Ca/P 為 1.45，添加 AgNO_3 之 (Ca+Ag)/P 之值約為 1.77~1.98。
- 三、MAO 塗層之化合物主要為 Ti、Anatase、HA 與 DCPD，而放電電壓 400V 試件則多了 Rutile 相，然而，但其 DCPD 則明顯較低。
- 四、接觸角量測顯示，MAO 塗層皆具超親水性 (0°)，歸因於 HA 與 DCPD 的出現。在 SBF 試驗中，浸泡至第 1 天，所有 MAO 塗層已有磷灰石成核；浸泡至第 7 天，添加 AgNO_3 之試件表面皆已大致被磷灰石覆蓋，顯示生醫性質優異。

參考文獻

- [1] Brown, E.D., & Wright, G.D. (2016). Antibacterial drug discovery in the resistance era. *Nature*, 529 (7586), 336–343.
- [2] Stich, T., Alagboso, F., Křenek, T., Kovářik, T., Alt, V., & Docheva, D. (2021). Implant-bone-interface: Reviewing the impact of titanium surface modifications on osteogenic processes in vitro and in vivo. *Bioeng. Transl. Med.*, 7, 10239.
- [3] Szcześ, A., Hołysz, L., & Chibowski, E. (2017). Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 249, 321–330.
- [4] Yerokhin, A.L., Nie, X., Leyland, A., Matthews, A., & Dowey, S.J. (1999). Plasma electrolysis for surface engineering. *Surf. Coat. Technol.*, 3144, 73–93.
- [5] Dunn, D.S., Raghavan, S., & Volz, R.G. (1993). Gentamicin sulfate attachment and release from anodized Ti-6Al-4V orthopedic materials. *J. Biomed. Mater. Res.*, 27, 895–900.
- [6] Kokubo, T., & Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27, 2907–2915.
- [7] Kwok, D.Y., & Neumann, A.W. (1999). Contact angle measurement and contact angle interpretation. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 81, 167–249.
- [8] Huang, Q., Elkhooly, T.A., Liu, X., Zhang, R., Yang, X., Shen, Z., & Feng, Q. (2016) Effects of hierarchical micro/nano-topographies on the morphology, proliferation and differentiation of osteoblast-like cells. *Colloids Surf., B*, 145, 37–45.
- [9] Hussein, R.O., & Northwood, D.O. (2014). Production of anti-corrosion coatings on light alloys (Al, Mg, Ti) by Plasma-Electrolytic Oxidation (PEO). *Development in Corrosion Protection*, 201–240.
- [10] Zhang, L., Gao, Q., & Han, Y. (2016). Zn and Ag co-doped anti-microbial TiO_2 coatings on Ti by micro-arc oxidation. *J. Mater. Process. Technol.*, 32, 919–924.
- [11] Ciobanu, C.S., Iconaru, S.L., Pasuk, I., Vasile, B.S., Lupu, A.R., Hermenean, A., Dinischiotu, A., & Predoi, D. (2013). Structural properties of silver doped hydroxyapatite and their biocompatibility. *Mater. Sci. Eng. C*, 33, 1395–1402.
- [12] Chen, K.T., Huang, J.W., Lin, W.T., Kuo, T.Y., Chien, C.S., Chang, C.P., & Lin, Y.D. (2023). Effects of micro-arc oxidation discharge parameters on formation and biomedical properties of hydroxyapatite-containing flower-like structure coatings. *Materials*, 16, 1–18.

- [13] Ohta, K., Kikuchi, M., Tanaka, J., & Eda, H. (2002). Synthesis of c axes oriented hydroxyapatite aggregate. *J. Chem. Lett.*, 31, 894–895.
- [14] He, X., Zhang, X., Wang, X., & Qin, L. (2017). Review of antibacterial activity of titanium-based implants' surfaces fabricated by micro-arc oxidation. *Coatings*, 7, 45–67.
- [15] Gadow, R., Killinger, A., & Stiegler, N. (2010) Hydroxyapatite coatings for biomedical applications deposited by different thermal spray techniques. *Surf. Coat. Technol.*, 205, 1157–1164.
- [16] Surmenev, R. (2012) A review of plasma-assisted methods for calcium phosphate-based coatings fabrication. *Surf. Coat. Technol.*, 206, 2035–2056.
- [17] Chung, R.J., Hsieh, M.F., Huang, K.C., Perng, L.H., Chou, F.I., & Chin, T.S. (2005) Anti-microbial hydroxyapatite particles synthesized by a sol-gel route. *J. Solgel Sci. Technol.*, 33, 229–239.
- [18] Lin, S.H., Chien, C.S., Kuo, T.Y., Hsieh, Y.H., Huang, J.W., Chin, W.H., Chang, C.P., Lee, T.M., & Lee, H.T. (2020). Biomedical evaluation of vacuum plasma sprayed tantalum coatings processed by alkali treatment and alkali-heat treatment with different NaOH concentrations. *Surf. Coat. Technol.*, 40, 126400.
- [19] Liu, S., Yang, X., Cui, Z, Zhu, S. & Wei, Q. (2011). One step synthesis of petal like apatite/titania composite coating on a titanium by micro arc oxidation. *Mater. Lett.*, 65, 1041–1044.
- [20] Rajendran, A., & Pattanayak, D.K. (2020). Mechanistic studies of biomineralization on silver incorporated anatase TiO₂. *Mater. Sci. Eng. C*, 109, 110558.