

**SÍNTESIS DE RECUBRIMIENTOS DE HIDROXIAPATITA BIOLÓGICA DOPADA
CON MAGNESIO Y REFORZADA CON TiO₂**

**MARLY JULIETH MOGOLLÓN SARMIENTO
ASTRID CRISTINA NIÑO PINZÓN**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN DESARROLLO Y TECNOLOGÍA DE NUEVOS
MATERIALES
BUCARAMANGA
2011**

**SÍNTESIS DE RECUBRIMIENTOS DE HIDROXIAPATITA BIOLÓGICA DOPADA
CON MAGNESIO Y REFORZADA CON TiO₂**

**MARLY JULIETH MOGOLLÓN SARMIENTO
ASTRID CRISTINA NIÑO PINZÓN**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Ingeniero
Químico**

**Director
Ph.D. ELCY MARÍA CÓRDOBA TUTA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN DESARROLLO Y TECNOLOGÍA DE NUEVOS
MATERIALES
BUCARAMANGA
2011**

A Dios, padre celestial, que me dio la vida y siempre está conmigo en todo momento y lugar. Gracias Señor por permitirme culminar esta etapa de mi vida y por poner en mi camino a personas lindas que han ayudado a crecer en lo espiritual y en lo personal. A mamita María por escuchar mis oraciones e interceder ante Dios padre, para que mis suplicas fuesen escuchadas.

A mi madre por ser esa mujer incansable que trabaja por dos y lucha cada día por sacar adelante a sus hijos, por todo su esfuerzo, dedicación, amor y entrega; por ser lo más lindo que Dios puso en mi vida. Por apoyarme en todo momento y estar conmigo cuando más te necesito. Porque tus brazos se abren cuando quiero un abrazo, tu corazón comprende cuando necesito una amiga, tus ojos tiernos se endurecen cuando me hace falta una lección y tu fuerza y amor me guían y me dan alas para volar. Porque aunque no sepas de ingeniería, junto a mí también recibes el título de Ingeniera. ¡TE AMO mamita!

A todos mis familiares, en especial mi nonita Guillermina, por sus oraciones y apoyo incondicional que me brindaron.

A mi Cielito por ser esa persona tan especial que me brinda su confianza, amor y cariño. Por apoyarme en mis decisiones, estar conmigo en los buenos y malos momentos y dejar una huella en mi corazón que difícilmente se borrará. ¡TE AMO corazón!

A mi Toby hermoso por llegar a ser parte de mi vida, por tu alegría cada vez que me ves llegar, por tus lamidas que son como besitos y me ayudan a olvidar un poco el cansancio del día a día, y porque siempre te voy a llevar en mi corazón.

A mis amigos Juancho, Luis Guillermo, Luz Stella, Silvia, Leidy G., Paola H. y Cris N. Gracias por su confianza, apoyo y amistad ofrecida, por todos esos momentos de alegría compartidos que nunca se irán de mi mente.

A mi compañera Cristina, por su esfuerzo y dedicación para lograr la culminación de este proyecto. Por su alegría y compañerismo que hicieron del tiempo compartido, momentos agradables llenos de risas.

Marly Julieth Mogollón Sarmiento

A Jesucristo mi Dios y Salvador, merecedor de toda honra y gloria.
Gracias por cruzarte en mi camino, cambiar mi vida y permitirme conocerte, a ti
debo todo lo que soy.

A Patricia Pinzón, mi madre, tía, amiga, hermana; gracias por tu amor y tu
confianza, por tu paciencia y brindarme la oportunidad de salir adelante, Dios te
bendiga y te guarde siempre.

A mis abuelos Eugenia y Manuel, por su ejemplo y amor.

A mis padres por su apoyo y amor, a mis familiares por su ayuda incondicional.

A mis hermanos Diana Carolina, y Manuel por su amistad y amor.

A mis cuates Marie C, Adri C, Anita D, Paola H, Luis C, Marly M, Juancho G,
Leidy G, Ferchop. Gracias por todos esos momentos de alegría, por compartir
conmigo parte de sus vidas.

A mi compañera y cuate Marly por su ayuda, dedicación, esfuerzo y días de
trabajo para terminar este trabajo ☺.

Cristina Niño Pinzón.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a:

La profesora Elcy María Córdoba, directora de esta investigación, por su ayuda, apoyo y confianza para la realización del proyecto.

Al Grupo de Investigación en Desarrollo y Tecnología de Nuevos Materiales.

A la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander por la financiación de este Trabajo de Grado, a través del proyecto "SÍNTESIS POR SOL-GEL DE RECUBRIMIENTOS COMPUESTOS HIDROXIAPATITA/TIO₂ SOBRE ACERO INOXIDABLE QUIRÚRGICO 316L PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS", código 5437

Al Ingeniero Darling Peréa de la Universidad de Antioquía, por su colaboración en el desarrollo de las micrografías SEM.

A la Corporación para la Investigación de la Corrosión (CIC), en especial al Ingeniero Daniel Martínez, por su ayuda en la realización de las pruebas electroquímicas.

Al Ingeniero Prospero Acevedo de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (México), por su colaboración en el análisis de los resultados electroquímicos.

A los técnicos Alejandro, Wilson, Eduardo y Guillermo por su colaboración en el desarrollo de esta investigación en cada una de sus áreas.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	17
1. OBJETIVOS	18
1.1. OBJETIVO GENERAL	18
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	19
2.1. BIOMATERIALES	19
2.2. RECUBRIMIENTOS BIOCERÁMICOS	20
2.3. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS MEDIANTE EL MÉTODO SOL-GEL Y LA TÉCNICA DIP-COATING	21
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	23
3.1. REACTIVOS Y EQUIPOS	23
3.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	23
3.2.1. Obtención de HA biológica a partir de hueso bovino	24
3.2.2. Dopaje con Magnesio de los polvos de HA biológica	24
3.2.3. Obtención de las suspensiones de HA-Mg/TiO ₂	25
3.2.4. Conformación de las películas sobre el sustrato metálico.	25
3.2.5. Estudio de bioactividad de los recubrimientos	26
3.2.6. Caracterización electroquímica de los recubrimientos	27
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS	28
4.1. OBTENCIÓN DE HA BIOLÓGICA A PARTIR DE HUESO BOVINO	28
4.2. DOPAJE CON MAGNESIO DE LOS POLVOS DE HA BIOLÓGICA	30

4.3. ESTABILIZACIÓN DE LAS SUSPENSIONES DE HA/TiO ₂	32
4.4. ADHERENCIA Y MORFOLOGÍA DE LOS RECUBRIMIENTOS DE HA-Mg/TiO ₂	33
4.5. EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE LOS RECUBRIMIENTOS	35
4.6. CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS RECUBRIMIENTOS	40
5. CONCLUSIONES	44
6. RECOMENDACIONES	45
7. BIBLIOGRAFÍA	46
8. ANEXOS	53

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Etapas de la técnica dip-coating.	22
Figura 2. Metodología experimental.	23
Figura 3. Caracterización composicional del hueso bovino calcinado a diferentes temperaturas: a) Espectros FT-IR, b) Difractogramas.	29
Figura 4. Caracterización composicional del hueso bovino dopado con Magnesio luego de su calcinación a 800°C: a) Espectros FT-IR, b) Difractogramas	31
Figura 5. Efecto del pH sobre la estabilidad del sol de TiO ₂ y de la suspensión HA/TiO ₂ .	32
Figura 6. Valores promedio de adherencia, espesor y rugosidad para películas de HA/TiO ₂ con diferentes porcentajes de Mg de dopaje.	33
Figura 7. Agrietamiento formado en los recubrimientos (x1400).	34
Figura 8. Concentración de Ca en la solución SBF vs Tiempo de inmersión.	36
Figura 9. Variación del pH en el SBF vs Tiempo de inmersión.	37
Figura 10. Micrografías SEM y espectros EDX de los recubrimientos con HA dopada al 0%, 5% y 10% de Magnesio.	38
Figura 11. Resistencia a la Polarización Lineal.	41
Figura 12. Curvas Tafel.	41
Figura 13. Diagramas de: a) Nyquist b) Bode para ángulo de fase	42

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Condiciones de dopaje con Mg de los polvos de HA desde hueso bovino.	25
Tabla 2. Composición iónica del SBF y el plasma humano.	26
Tabla 3. Relaciones atómicas entre los principales elementos de los recubrimientos con HA dopada al 0%, 5% y 10% de Magnesio.	39
Tabla 4. Parámetros Electroquímicos encontrados para las diferentes probetas.	40

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Reactivos utilizados.	53
ANEXO B. Equipos utilizados.	54
ANEXO C. Obtención de los polvos de HA.	55
ANEXO D. Dopaje con Mg de los polvos de HA biológica.	56
ANEXO E. Preparación del sol de TiO ₂ .	57
ANEXO F. Equipo de inmersión y extracción con velocidad variable.	58
ANEXO G. Medidor digital de adherencia ELCOMETER 108.	59
ANEXO H. Equipo microscopia electronica de barrido (SEM).	60
ANEXO I. Estación de trabajo electroquimica SOLARTRON	61
ANEXO J. Ecuaciones norma ASTM G102-89.	62
ANEXO K. Cálculo del tamaño del cristalito.	63
ANEXO L. Cálculo de la rugosidad de las películas.	64
ANEXO M. Montaje para pruebas de bioactividad.	66

RESUMEN

TÍTULO: SÍNTESIS DE RECUBRIMIENTOS DE HIDROXIAPATITA BIOLÓGICA DOPADA CON MAGNESIO Y REFORZADA CON TiO_2 .*

AUTORES: MOGOLLÓN SARMIENTO, Marly Julieth; NIÑO PINZÓN Astrid Cristina. **

PALABRAS CLAVE: Hidroxiapatita, Magnesio, Sol-Gel, Dip-Coating, bioactividad.

DESCRIPCIÓN: La Hidroxiapatita (HA) es un fosfato de calcio ampliamente utilizado en el campo de la medicina debido a sus buenas propiedades de biocompatibilidad, bioactividad y oseointegración; se deriva tanto de fuentes naturales como sintéticas mediante diversas técnicas como precipitación química, método Sol-gel, síntesis mecanoquímica, entre otras. Dentro de éstas, una opción prometedora es la calcinación del hueso bovino; un método fácil y económico de extraer este biomaterial a partir de un material de desecho. En el presente trabajo se obtuvieron polvos de HA biológica pura y dopada con Magnesio, con el fin de mejorar la bioactividad de la misma, y se caracterizaron mediante análisis FT-IR y DRX evaluando los cambios composicionales y estructurales durante el proceso térmico. Con los polvos obtenidos se desarrollaron recubrimientos, reforzados con TiO_2 sobre acero inoxidable AISI-SAE 316L, mediante las técnicas sol-gel y dip-coating y se realizaron estudios morfológicos, de adherencia, bioactividad y electroquímicos mediante análisis SEM, EDX, espectroscopia de absorción atómica, microscopía óptica, EIS y Tafel. Los resultados muestran que el hueso calcinado entre 700°C y 1000°C permite obtener HA pura libre de material orgánico. Los estudios de bioactividad y pruebas electroquímicas realizados mediante la inmersión de las probetas recubiertas en un fluido corporal simulado (SBF), mostraron que el dopaje con Magnesio promueve y acelera la formación de apatitas sobre la superficie del recubrimiento,

*Trabajo de Grado

**Facultad de Ingenierías Físico-químicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora Ph.D Elcy María Córdoba Tuta

ABSTRACT

TÍTULO: SYNTHESIS OF BIOLOGICAL HYDROXYAPATITE COATINGS DOPED WITH MAGNESIUM AND REINFORCED WITH TiO₂.

AUTHORS: MOGOLLÓN SARMIENTO, Marly Julieth; NIÑO PINZÓN Astrid Cristina. **

KEY WORDS: Hydroxyapatite, Magnesium, Sol-Gel, Dip-Coating, bioactivity.

DESCRIPTION: Hydroxyapatite (HA) is a calcium phosphate widely used in medical field due to its favorable biocompatibility, bioactivity and osteo-integration; HA is derived from both natural and synthetics sources by different techniques like chemical precipitation, sol-gel method, mechanochemical synthesis, among other. Bovine bone calcination is a promising alternative, an easy and economic method to extract this biomaterial from bio-waste. In this work were obtained pure biological and Magnesium doped HA powders, to improve the bioactivity, and were characterized by FT-IR and XRD analysis to evaluate compositional and structural changes during thermal process. The obtained powders were used to make reinforced coatings with TiO₂, from sol-gel and dip-coating techniques. Morphological, adhesion, bioactivity and electrochemical studies were made by SEM, EDX, atomic absorption spectroscopy, optical microscopy, EIS and Tafel analysis. The results show that could be obtained organic material-free HA pure by bovine bone calcination between 700°C and 1000°C. The bioactivity and electrochemical studies made by immersion in a simulated physiological solution (SBF), show that magnesium doping in HA promotes and accelerate the apatites formation on the coating surface.

* Research work

**Physical-chemical Engineering College. Chemical Engineering Department. Advisor Ph.D Elcy María Córdoba Tuta

INTRODUCCIÓN

La Hidroxiapatita (HA), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es tal vez el biocerámico que más ha llamado la atención tanto en el uso como injertos autógenos libres de hueso, así como en biorecubrimientos de implantes óseos, dadas sus excelentes propiedades de osteoconductividad y bioactividad debido a su similitud química, biológica y cristalográfica con la parte mineral de los tejidos óseos ^[1].

Por lo tanto se han desarrollado diversos métodos de producción de la HA sintética tal como mecano-química ^[2], precipitación química ^[3], sol-gel ^[4], entre otras. No obstante, para la producción masiva de este material se requiere desarrollar un proceso económico. La respuesta a esta inquietud podría estar en la extracción de HA a partir de bioresiduos, desechos abundantes de muy bajo costo, tal como los huesos bovinos ^[5]. El método de producción de la HA biológica anticipa alta seguridad, debido a que las altas temperaturas de calcinación ($\geq 700^\circ\text{C}$) elimina todos los riesgos de transmisión de enfermedades fatales ^[6,7].

Es bien conocido que la gran limitación en el uso de este biocerámico es su naturaleza frágil y baja resistencia a la fractura, por tal motivo diversas investigaciones han sido encaminadas a la mejora de sus propiedades mecánicas ^[8,9], reforzando la HA con cerámicas bioinertes más resistentes ^[10]. Otro inconveniente que presenta la HA, específicamente en su uso como biorecubrimiento para la fijación de prótesis metálicas al hueso, es que a pesar de ser reactiva, presenta una cinética de disolución muy retardada bajo condiciones fisiológicas normales ^[11]. Es decir que no garantiza la fijación del implante, específicamente en las etapas iniciales del proceso de recuperación del paciente.

Teniendo en cuenta lo anterior, el presente trabajo tuvo como fin desarrollar y caracterizar recubrimientos mixtos de TiO_2 e Hidroxiapatita biológica dopada con Magnesio sobre acero quirúrgico AISI 316L, con alta bioactividad (debido al dopaje de la HA) y alta resistencia mecánica de adherencia (provista por el refuerzo de la HA con TiO_2).

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar recubrimientos bioactivos de Hidroxiapatita biológica dopada con Magnesio y reforzada con TiO_2 .

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener polvos de Hidroxiapatita de origen biológico mediante la calcinación de hueso bovino, como un método alternativo en la síntesis de biomateriales.
- Desarrollar recubrimientos de HA-Mg/ TiO_2 utilizando el método *sol-gel* y la técnica *dip-coating*.
- Evaluar las características físico-mecánicas, químicas, morfológicas y electroquímicas de los recubrimientos desarrollados.
- Realizar un estudio de bioactividad *in vitro* de los recubrimientos en una solución fisiológica simulada.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. BIOMATERIALES

Se designa como biomaterial a aquellos materiales usados en la elaboración de dispositivos que sustituyan o modifiquen la anatomía del cuerpo, o algunas de sus funciones de forma segura, confiable, económica y fisiológicamente aceptable ^[12]. Los biomateriales que se utilizan para ser implantados en el cuerpo humano son muy diversos, en lógica concordancia con su aplicación última, pues, dependiendo de la naturaleza del material con el que se fabrica el implante, se pueden clasificar en metálicos, cerámicos, poliméricos, o biomateriales compuestos.

En la actualidad el número de metales y aleaciones utilizados de manera habitual para implantes en el organismo es bastante limitado, pues a pesar de presentar buenas propiedades mecánicas (resistencia, tenacidad, etc.) no todos los materiales metálicos son aceptados biológicamente por parte de los tejidos que están en contacto con ellos, especialmente aquellos que no garantizan una alta resistencia a la corrosión a largos plazos. Si se produce la oxidación del metal por el ambiente hostil del cuerpo humano, además de que el implante se debilita, se liberan productos de corrosión a los tejidos circundantes, los cuales producen efectos no deseables como infecciones en el paciente y el fracaso del implante ^[11]. Entre los materiales metálicos más utilizados como biomateriales se encuentran los aceros inoxidables, como el AISI 316L, las aleaciones base cobalto-cromo y titanio y sus aleaciones. Siendo el acero inoxidable el de mayor aplicación, especialmente en países subdesarrollados, por su economía y esto a pesar de presentar una disminución de la resistencia a la corrosión a largo plazo ^[13].

Como respuesta a dicho problema (corrosión de los biometales), surgieron los recubrimientos biocerámicos (Hidroxiapatita, biovidrios, etc.), los cuales además facilitan la oseointegración o fijación del implante al hueso, dado que estos cerámicos bioactivos reaccionan con los fluidos fisiológicos, promoviendo así la formación de apatitas sobre los mismos.

2.2. RECUBRIMIENTOS BIOCERÁMICOS

La aplicación de los cerámicos como biomateriales ha estado limitada por su fragilidad, baja resistencia mecánica en tracción y/o flexión y baja resistencia al impacto. Sin embargo, a partir de los años setenta se han desarrollado nuevos biocerámicos con propiedades muy mejoradas y su uso se ha extendido notablemente. Su gran inercia química, alta resistencia a la compresión, así como su apariencia estética, hicieron que los materiales cerámicos empezaran a utilizarse en odontología, sobre todo en coronas dentales. Posteriormente su uso se extendió como biomaterial del sistema locomotor (implantes óseos) ^[11].

Los cerámicos bioinertes y estructurales como la alúmina y la circonia han tenido buena acogida como alternativa a las aleaciones metálicas, utilizadas en prótesis de cadera y en implantes dentales ^[14], por presentar una excelente biocompatibilidad, buena resistencia a la corrosión, poseer un bajo coeficiente de fricción y por sus buenas propiedades, tanto mecánicas como al desgaste.

No ocurre lo mismo con los cerámicos bioactivos, tal es el caso de la Hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) debido a sus bajas propiedades mecánicas, especialmente su gran fragilidad. No obstante, en los últimos años se ha visto un gran potencial como biomaterial, al utilizarla como recubrimientos de las prótesis metálicas con varios fines: en primer lugar como barrera a la corrosión de los aceros quirúrgicos, como el AISI 316L ^[15]. También se ha probado, con regular éxito, como material de fijación de los implantes metálicos al tejido óseo. Aquí se aprovecha la capacidad de los cerámicos bioactivos de unirse directamente al hueso, a través de la formación de una capa bioactiva de carbohidroxiapatita, que promueve el crecimiento de hueso nuevo. El problema que se ha encontrado es que la HA, a pesar de ser bioactiva, su cinética de disolución es muy lenta bajo condiciones fisiológicas normales ^[11]. Motivo por el cual, al usarla como recubrimiento en implantes óseos, no otorga garantía de que tales implantes tengan una apropiada fijación al hueso en las primeras etapas de recuperación de los pacientes. En respuesta a este problema se ha investigado el uso de otros

cerámicos bioactivos en lugar de la HA, tal es el caso de los biovidrios. Sin embargo, se ha demostrado ^[16] que los biovidrios bioactivos presentan cinéticas de reacción con los fluidos fisiológicos demasiado rápidas, por lo que no garantiza la estabilidad del implante durante el tiempo de crecimiento de hueso nuevo.

Lo anterior deja de manifiesto que para sistematizar y masificar el uso de recubrimientos cerámicos bioactivos, para la fijación de prótesis metálicas, se debe primero desarrollar un material que garantice un equilibrio entre las cinéticas de su disolución y de formación de hueso nuevo, garantizándose así la estabilidad en todo momento.

Pensando en dar solución a tal problema, en el presente proyecto, se propuso la obtención de recubrimientos compuestos de Hidroxiapatita altamente bioactiva, reforzada mecánicamente con un cerámico bioinerte óxido de titanio (TiO₂). La alta bioactividad de la Hidroxiapatita (obtenida a partir de hueso bovino), se consiguió mediante su dopaje con magnesio, tal como lo habían reportado algunos investigadores ^[17,18]. El magnesio es usado como un sustituto catiónico que reemplaza al calcio en la estructura de la HA, su incorporación afecta directamente los procesos de mineralización, cristalización de apatitas promoviendo la formación de hueso ^[19,20].

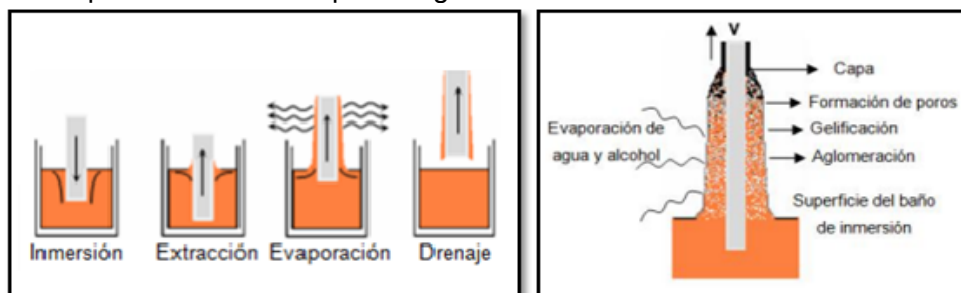
2.3. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS MEDIANTE EL MÉTODO SOL-GEL Y LA TÉCNICA DIP-COATING

El proceso sol-gel es un importante método para sintetizar muchos materiales en variedad de formas, como partículas uniformes, películas densas, cerámicos densos y fibras cerámicas. Este consiste en la polimerización química de especies en estado líquido (sol) a baja temperatura, dándose principalmente reacciones de policondensación e hidrólisis que originan especies polinucleares, oligómeros, que ocasionan un aumento en el valor de la viscosidad del sol hasta alcanzar un estado gelatinoso (gel) ^[21].

Los procesos sol-gel ofrecen importantes ventajas sobre otras técnicas tradicionales de recubrimiento, puesto que se consiguen recubrimientos con una mayor homogeneidad debido a que los procesos de mezcla ocurren a escala nanométrica, reduciéndose, además, la temperatura de sinterización debido al pequeño tamaño de partícula. Además, gracias a la versatilidad de los procesos sol-gel se pueden optimizar las condiciones de síntesis empleadas, de tal manera que los materiales resultantes presenten las propiedades específicas deseadas, que pueden ser elegidas de maneras tan dispares como para que el resultado final sea desde un material de elevada superficie específica y porosidad, hasta un material denso [22].

La técnica *dip-coating* consiste en la inmersión y extracción controlada de un sustrato en una suspensión líquida con el fin de recubrirlo con una capa de material. Como se observa en la Figura 1, esta técnica está conformada por cuatro etapas: inmersión, extracción, evaporación y drenaje; y se utiliza para la fabricación de películas delgadas que actúan como recubrimientos. El espesor que adquiere la capa adherida a la superficie sólida es el resultado de un balance entre la fuerza gravitatoria, que tiende a hacerla resbalar, y la tensión superficial en la interfase disolución-sólido, que tiende a mantenerla. Dicho espesor está determinado principalmente por la velocidad de extracción del material a recubrir y la viscosidad de la solución obtenida por el método sol-gel. Finalmente, las propiedades de las películas son adquiridas mediante un proceso de sinterización, el cual consiste en la evaporación de los solventes y la compactación de las partículas que componen la película [23].

Figura 1. Etapas de la técnica dip-coating.



Fuente: FLOREZ Sonia, PARDO Silvia, Tesis de grado Universidad Industrial de Santander (2008)

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. REACTIVOS Y EQUIPOS

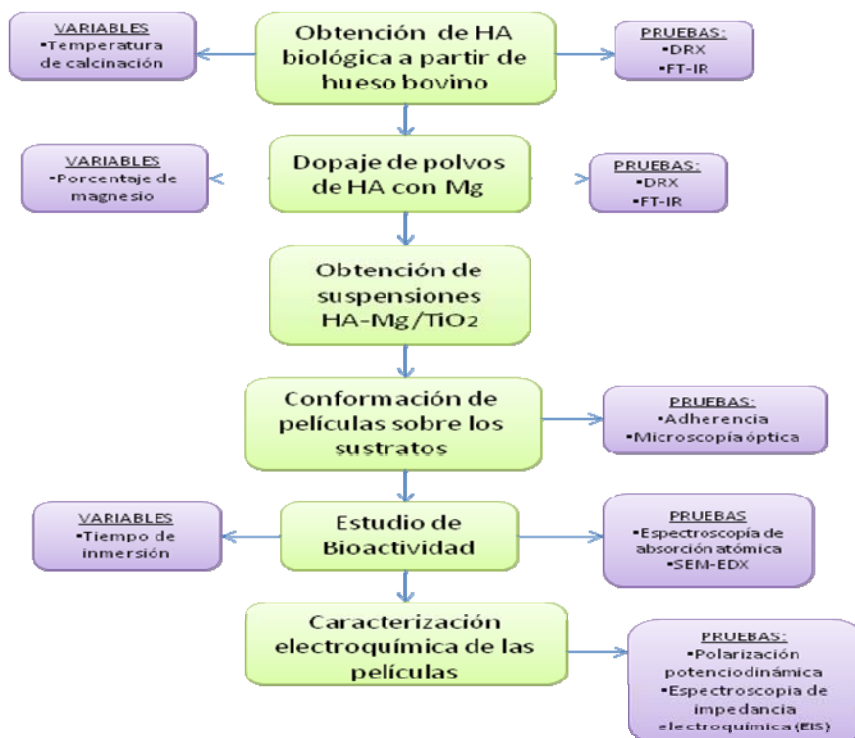
Para la realización de esta investigación se contó con los siguientes reactivos:

Tetraisopropóxido de titanio, Isopropanol, Acetilacetona, Trietanolamina (TEA), Nitrato de Magnesio hexahidratado, Hueso bovino, Acero AISI-SAE 316L (probetas), Hidróxido de amonio, Cloruro de sodio, Bicarbonato de Sodio, Cloruro de potasio, Di potasio hidrógeno Fosfato, Cloruro de magnesio, Acido clorhídrico, Cloruro de calcio, Sulfato de sodio y TRIS Hidroximetil aminometano. En el anexo A se muestran las fórmulas químicas y las especificaciones de cada reactivo. Así mismo los equipos utilizados durante el desarrollo del trabajo se presentan en el anexo B.

3.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En la Figura 2 se presentan las 6 etapas experimentales llevadas a cabo en el desarrollo de la investigación.

Figura 2. Metodología experimental.



Fuente: Los autores

3.2.1. Obtención de HA biológica a partir de hueso bovino

La HA biológica se obtuvo a partir de hueso bovino (fémur). La limpieza de éste, previa a la calcinación, consistió en la remoción manual del tejido visible en la superficie, inmersión en una solución de acetona-agua ^[24] durante 24 horas para retirar las grasas adheridas, y posteriormente un proceso de secado a 130°C durante cinco horas para eliminar los residuos orgánicos restantes.

Trozos de hueso, de 5 mm x 15 mm x 20 mm aproximadamente, fueron calcinados durante seis horas a diferentes temperaturas entre 600°C y 1000°C con una velocidad de calentamiento de 5°C/min. Las diferentes muestras de HA así obtenidas fueron reducidas de tamaño en un pulverizador de ágata durante 12 horas. Finalmente, los polvos se analizaron con las técnicas de Difracción de rayos X (DRX) y Espectroscopia de Infrarrojo (FT-IR) para evaluar los cambios composicionales del hueso durante su calcinación. De este estudio se escogió la temperatura más adecuada para la obtención de HA cristalina con la cual se desarrolló el resto de la investigación. El registro fotográfico de este procedimiento es presentado en el anexo C.

3.2.2. Dopaje con Magnesio de los polvos de HA biológica

Dado que cualquier tipo de reacción se facilita cuando el material no es completamente cristalino ^[25], como ocurre en la HA dentro del hueso, el dopaje de los polvos de HA con magnesio se llevó a cabo por tratamiento hidrotermal de 3 g de hueso bovino pulverizado con 20 mL de solución de nitrato de magnesio a varias concentraciones, con el fin de obtener diferentes proporciones de magnesio en la HA (ver Tabla 1). La suspensión compuesta de solución de $Mg(NO_3)_2$ y polvo de hueso bovino permaneció bajo agitación magnética durante 12 horas y, posteriormente, autoclavada a una temperatura y presión de 120°C y 0.12 MPa, respectivamente, durante cuatro horas. El producto de este proceso fue lavado, filtrado y secado a 70°C durante 6 horas y posteriormente calcinado a 800°C. En el anexo D se muestra el registro fotográfico de dicho procedimiento.

Tabla 1. Condiciones de dopaje con Mg de los polvos de HA desde hueso bovino.

VARIABLE	NIVEL EVALUADO [% p/p Mg]
Concentración de Mg en la Hidroxiapatita	0
	1
	3
	5
	10

Fuente: Los autores

Luego de su calcinación, los polvos de HA-Mg fueron caracterizados con las técnicas: DRX, con el fin de evaluar los posibles cambios mineralógicos y cristalográficos de la Hidroxiapatita, y FT-IR para la identificación de los grupos funcionales de las muestras.

3.2.3. Obtención de las suspensiones de HA-Mg/TiO₂

La preparación del sol de TiO₂ se realizó con base en el proceso desarrollado en una investigación anterior ^[10], utilizando Tetraisopropóxido de Titanio como precursor del TiO₂. Este procedimiento se describe en el anexo E.

Para la obtención de las suspensiones de HA-Mg/TiO₂ se adicionaron 0,12 mL de Trietanolamina (TEA) por cada 10 mL de sol de TiO₂ y, posteriormente, se agregó 1 g de polvo de HA-Mg ^[26]. Tal mezcla se mantuvo en agitación magnética y ultrasónica durante 30 minutos, para obtener suspensiones estables y proceder a la conformación de las películas. El TEA actúa como agente dispersante de las partículas de HA en el sol, lo cual es imprescindible para obtener recubrimientos homogéneos.

3.2.4. Conformación de las películas sobre el sustrato metálico.

Antes de realizar los recubrimientos, las probetas de acero inoxidable AISI-SAE 316L se sometieron a un tratamiento superficial con papel abrasivo de carburo de silicio número 80, 120, 180, 240 y 320. Posteriormente, se limpiaron con acetona y etanol en un baño ultrasónico durante media hora y se dejaron secar a temperatura ambiente.

La conformación de los recubrimientos se realizó mediante la técnica “Dip-coating” utilizando un equipo inmersor de velocidad variable, el cual se muestra en el Anexo F. La inmersión y extracción de las probetas en los soles se hizo a una velocidad constante de 6 cm/min, se dejó secar a temperatura ambiente durante cuatro horas y se repitió el proceso para lograr recubrimientos con doble capa. Finalmente, las probetas ya recubiertas se sinterizaron a 500°C durante una hora y con una velocidad de calentamiento de 2°C/min.

Con ayuda del microscopio óptico confocal Hirox 3D se determinó el espesor y la rugosidad de los recubrimientos. Por otro lado, y teniendo en cuenta la norma ASTM 4541-02 [27], se determinó la fuerza de adherencia de las películas al sustrato metálico utilizando un medidor de adherencia digital ELCOMETER108, que se muestra en el anexo G.

3.2.5. Estudio de bioactividad de los recubrimientos

El estudio *in vitro* de la bioactividad de los recubrimientos fue realizado sumergiendo las probetas recubiertas en un fluido corporal simulado (SBF) [8], a 36.5°C durante 7 días. El crecimiento de apatitas en la superficie de los recubrimientos se determinó mediante su observación por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) (ver equipo en el anexo H), así como por análisis de Espectroscopia de rayos-X por Dispersión de Energía (EDX) de los mismos. La bioactividad de las películas también fue evaluada mediante el seguimiento de la variación del pH y de la concentración de Ca⁺² en el SBF a diferentes tiempos de inmersión, con la ayuda de la técnica de Espectroscopia de Absorción Atómica.

La solución SBF que se usó para el estudio de bioactividad fue la desarrollada por Kokubo [8], cuya composición se compara con la del plasma humano en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición iónica del SBF y el plasma humano.

SOLUCIÓN	Composición [mmol/L]								
	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ³⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	pH
SBF	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5	7,40
PLASMA HUMANO	142,0	5,0	1,5	2,4	103,0	27,0	1,0	0,5	7,2-7,4

Fuente: KOKUBO Tadashi, TAKADAMA Hiroaki. *Biomaterials* 27 (2006) 2907-2915.

3.2.6. Caracterización electroquímica de los recubrimientos

Con el fin de evaluar el grado de reactividad de los recubrimientos HA-Mg/TiO₂ sobre el acero quirúrgico AISI-SAE 316L con la solución de fluido corporal simulado, se realizaron pruebas electroquímicas mediante las técnicas de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS) y curvas de Polarización Potencio-dinámicas (Curvas Tafel, RPL, Nyquist).

Estas pruebas fueron realizadas utilizando la estación de trabajo electroquímica SOLARTRON 1280 B (ver anexo I). Se utilizó una celda típica de tres electrodos, siendo el electrodo de trabajo las probetas recubiertas bajo diferentes condiciones, el contraelectrodo un electrodo de grafito y un electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia.

La velocidad de corrosión para cada uno de los sistemas evaluados se calculó, teniendo en cuenta las ecuaciones establecidas en la norma ASTM G102-89 ^[28], que se muestran en el anexo J.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

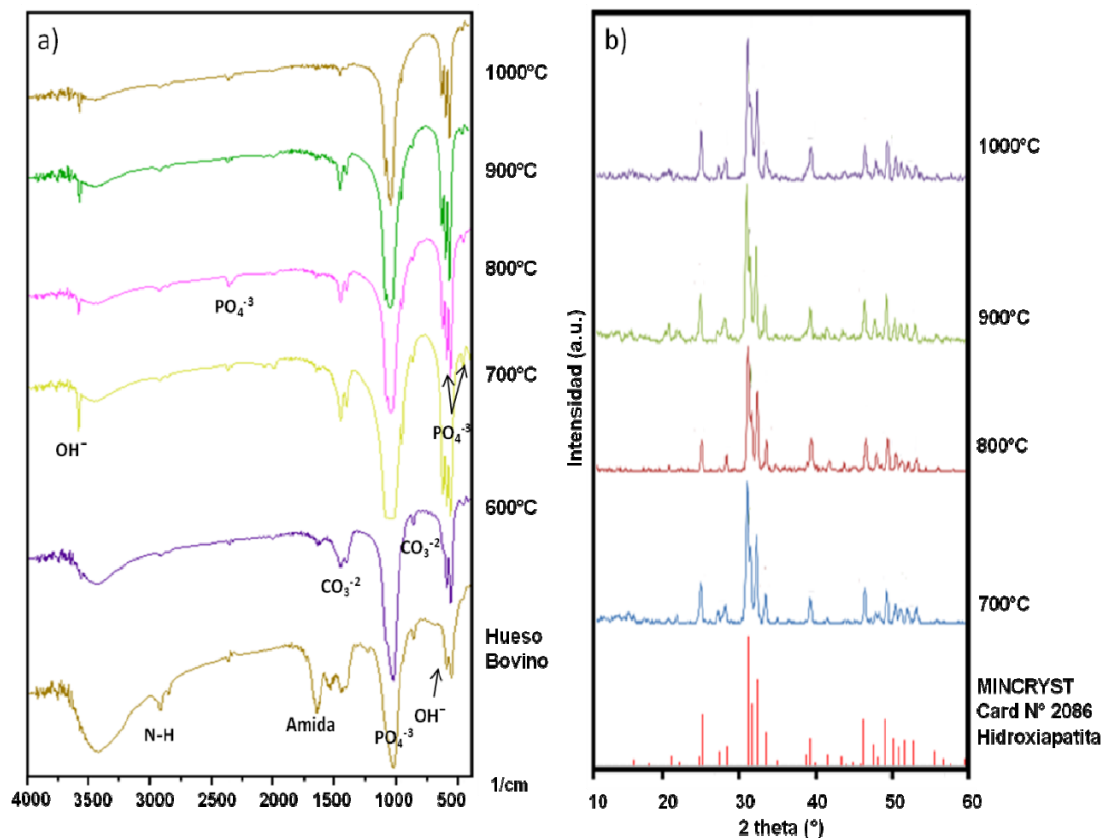
4.1. OBTENCIÓN DE HA BIOLÓGICA A PARTIR DE HUESO BOVINO

Durante la limpieza con acetona y el secado a 130°C se eliminó la mayor parte de los compuestos orgánicos adheridos a la superficie del hueso, así como la grasa del interior del mismo. En la etapa de calcinación se eliminó el resto de material orgánico y se llevó a cabo la cristalización de la HA. En esta última etapa la pérdida de peso fue de 30% aproximadamente. Se observó que al aumentar la temperatura de calcinación hasta 1000°C, la coloración del hueso se hizo más blanca por la eliminación del material orgánico.

En la Figura 3a se comparan los espectros FT-IR de los polvos de HA, obtenidos por calcinación de hueso a diferentes temperaturas, junto con el espectro del hueso sin calcinar. Los espectros infrarrojo del hueso bovino calcinado a temperaturas entre 700°C y 1000°C muestran sólo las bandas de absorción características de la HA biológica, indicando la presencia de los iones fosfato (490 cm^{-1} , 600 cm^{-1} , 900 cm^{-1} , $1000\text{-}1125\text{ cm}^{-1}$ y $2300\text{-}2350\text{ cm}^{-1}$), hidroxilo (630 cm^{-1} y 3560 cm^{-1}) y carbonato ($1375\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ y 875 cm^{-1})^[1,24,29], estas últimas bandas son típicas de las Hidroxiapatitas carbonatadas^[30].

En el caso del hueso sin calcinar se observan bandas adicionales correspondientes a enlaces fuertes de N-H (alrededor de 2850 cm^{-1}) y amida (a 1600 cm^{-1}). Estas bandas son características de macromoléculas de proteína presentes en la matriz del hueso bovino^[24], las cuales desaparecen al calcinar el hueso a temperaturas mayores de 600°C, indicando así la remoción completa del material orgánico y la cristalización de la Hidroxiapatita. Esto último concuerda con el cambio de color observado en las muestras calcinadas, al pasar de gris a blanco

Figura 3. Caracterización composicional del hueso bovino calcinado a diferentes temperaturas: a) Espectros FT-IR, b) Difractogramas.



Fuente: Espectrofotómetro FTIR-8400S SHIMADZU y Difractómetro de Rayos X RIGAKU MINIFLEX

Por otro lado, no se observan diferencias significativas en los espectros de las muestras calcinadas entre 700°C - 900°C, lo que sugiere que no hay cambios de fase debido al efecto térmico en este rango de temperaturas. Por último, en el espectro de la muestra calcinada a 1000°C se observa una disminución de la intensidad de la banda del ión hidroxilo (3560 cm^{-1}), lo cual indica una posible deshidroxilación de la HA que podría estar relacionada con un cambio de fase ^[24,31].

La Figura 3b muestra los difractogramas de los polvos de Hidroxiapatita, obtenidos por calcinación del hueso a diferentes temperaturas, comparados con el patrón estándar de este mineral según la base de datos MINCRYST ^[32]. Los patrones DRX de todas las muestras obtenidas corresponden a la fase pura de

Hidroxiapatita, por lo que se confirma su pureza dentro de la limitación del método de DRX.

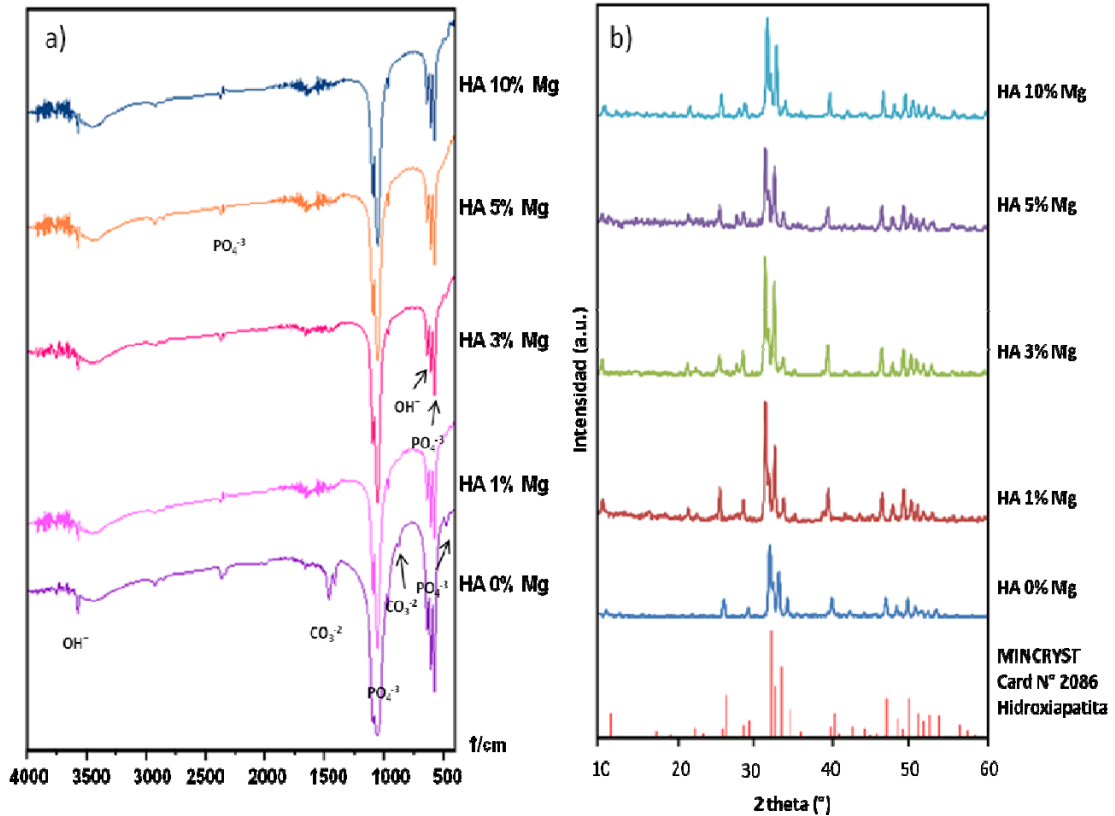
El tamaño del cristalito para las muestras de Hidroxiapatita calcinadas entre 700°C y 1000°C es de 20 nm aproximadamente, el cual fue determinado con la ayuda de la ecuación de Scherrer ^[33] (Anexo K). Dado que no hubo cambios significativos de dicho valor entre las diferentes muestras, se concluye que no hay variaciones importantes en la cristalinidad del cerámico en tal rango de temperatura.

Teniendo en cuenta estos resultados, se decidió escoger 800°C como la temperatura de calcinación del hueso para las siguientes etapas del proyecto. Dicha temperatura ha sido reportada por diversos autores ^[1, 5, 24, 25] como adecuada para la obtención de la HA cristalina a partir de hueso bovino.

4.2. DOPAJE CON MAGNESIO DE LOS POLVOS DE HA BIOLÓGICA

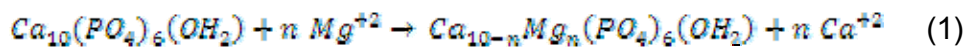
Los espectros FT-IR de los polvos de Hidroxiapatita dopada con Magnesio, en diferentes concentraciones, se muestran en la Figura 4a. En las muestras de HA dopada con Mg, se observa una notable disminución de las bandas de absorbancia situadas alrededor de 2350 cm⁻¹ y 490 cm⁻¹ correspondientes al ión fosfato, así como aquellas situadas a 1375-1500 cm⁻¹ y 875 cm⁻¹, asignadas al ión carbonato. Esta pérdida de carbonato y fosfato con el tratamiento hidrotermal, puede deberse al intercambio iónico de estos aniones con el medio. También puede indicar que en el proceso de dopaje del hueso con Magnesio predomine el mecanismo de disolución-precipitación o coprecipitación ^[30], más que el dopaje sustitucional, puesto que el magnesio es uno de los iones más difíciles de introducir en la estructura de la apatita, en reemplazo del calcio, debido a la tendencia de éste a hidratarse (Mg⁺² (H₂O)_n) en soluciones acuosas. La deshidratación de estos iones es necesaria que ocurra antes de la incorporación en la estructura cristalina, y este proceso es lento para el Magnesio ^[34].

Figura 4. Caracterización composicional del hueso bovino dopado con Magnesio luego de su calcinación a 800°C: a) Espectros FT-IR, b) Difractogramas.



Fuente: Espectrofotómetro FTIR-8400S SHIMADZU y Difractómetro de Rayos X RIGAKU MINIFLEX

Los patrones DRX, mostrados en la Figura 4b, indican que la Hidroxiapatita se mantiene como la única fase cristalina, a pesar de la adición de Mg, puesto que no se evidencia presencia de nuevas fases, tales como Withlokita y $\text{Ca}_4\text{Mg}_5(\text{PO}_4)_6$, las cuales han sido reportadas por otros autores [34, 35, 36]. Teniendo en cuenta que el Mg no forma fases nuevas, se infiere que los iones de Magnesio se introdujeron dentro de la red cristalina de la HA, ocupando algunos de los sitios del Ca^{+2} :



El análisis de los difractogramas, permite encontrar evidencia del dopaje de la HA con Mg, la cual está relacionada con el desplazamiento de las bandas de difracción de la HA hacia la izquierda (aproximadamente en 1°), efecto que puede deberse a la

sustitución de los iones Ca^{+2} por los iones Mg^{+2} [37]. La sustitución de los átomos de Ca por los de Mg produce desestabilización de la celda, de allí su mayor reactividad. Algunos autores han encontrado una reducción de los parámetros de celda (*a* y *c*) en la HA-Mg, lo cual seguramente es debido a la diferencia de tamaño de los átomos: 0.099 nm para el Ca^{+2} y de sólo 0.065 nm para el Mg^{+2} [34].

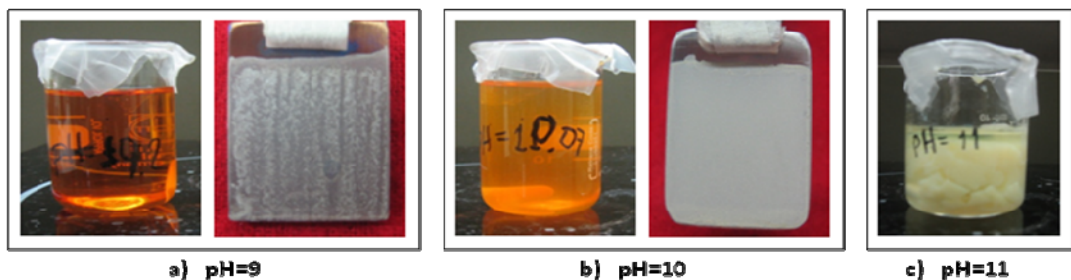
El tamaño del cristalito se mantuvo en valores cercanos a los 20 nm con el aumento del porcentaje de Mg, lo cual sugiere que no hubo cambios relevantes en la cristalinidad de la apatita que afecten su estructura [34, 35].

4.3. ESTABILIZACIÓN DE LAS SUSPENSIONES DE HA/TiO₂

La estabilidad de las suspensiones de HA/TiO₂ se logró mediante la adición del dispersante Trietanolamina (TEA) y la manipulación del pH en el sol de TiO₂. Se determinó que al aumentar esta última variable, se obtenía una mejor suspensión de los polvos en el mismo y, por ende, recubrimientos más homogéneos.

En la Figura 5 se muestran las imágenes de los soles de TiO₂ a diferentes valores de pH y de las probetas recubiertas después de preparadas las suspensiones con HA. Se estableció que el mejor pH fue de 10 (Figura 5.b) puesto que al subirlo a 11 (Figura 5.c) el sol se gelificaba de forma casi instantánea y a pH= 9 no se lograba una buena dispersión de los polvos (Figura 5.a).

Figura 5. Efecto del pH sobre la estabilidad del sol de TiO₂ y de la suspensión HA/TiO₂.



Fuente: los autores

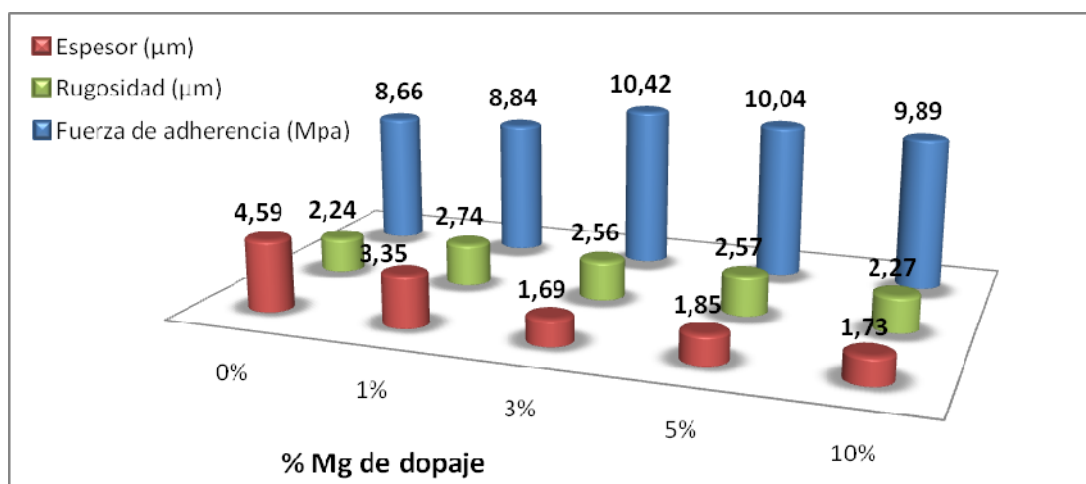
Se comprobó que las suspensiones de HA dopada con Mg mantuvieron un buen grado de estabilidad al pH seleccionado (pH= 10), por lo que todas las películas

necesarias para las siguientes etapas del proyecto, se conformaron bajo las mismas condiciones de pH y concentración de TEA en la suspensión.

4.4. ADHERENCIA Y MORFOLOGÍA DE LOS RECUBRIMIENTOS DE HA-Mg/TiO₂

En la Figura 6 se presentan los valores promedio de adherencia, espesor y rugosidad de las películas depositadas sobre los sustratos de acero. Tales películas se conformaron por dip-coating, con doble capa de HA-Mg/TiO₂ a diferentes porcentajes de Mg, a una velocidad de inmersión-extracción de 6 cm/min. Se puede observar que la adherencia de los recubrimientos no varía de forma significativa (8,66 a 10,42 MPa) al aumentar la concentración de Magnesio. Este comportamiento se explica debido a que a un cierto porcentaje de sólidos constante, la adherencia del recubrimiento al sustrato es debida principalmente al TiO₂^[10], o más exactamente a las propiedades del sol precursor de TiO₂, tales como la viscosidad y la tensión superficial. Además, se muestra que la adherencia de los recubrimientos HA-Mg/TiO₂ es relativamente mayor con respecto a los recubrimientos obtenidos con HA sin dopar.

Figura 6. Valores promedio de adherencia, espesor y rugosidad para películas de HA/TiO₂ con diferentes porcentajes de Mg de dopaje.



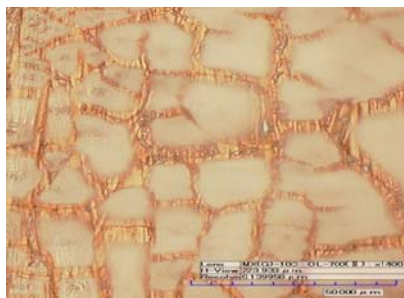
Fuente: Los autores

La mayor adherencia de los recubrimientos de HA-Mg con respecto a los de HA-pura, puede explicarse por el hecho de que las suspensiones de HA sin dopar son

más estables que los de HA-Mg, lo cual fue comprobado experimentalmente en este proyecto. La mayor estabilidad de las suspensiones de HA sin dopar conlleva a que las películas obtenidas con ellas presenten mayor espesor, por el mayor número de partículas en contacto con un cierto volumen del sol de TiO_2 , y como es bien sabido, la adherencia de la películas disminuye con el aumento de su espesor ^[10]. Estos resultados concuerdan con lo observado por Landi y Col ^[38] quienes encontraron que al dopar la HA con 1,2% Mg el punto isoeléctrico se aumentó desde un valor de de pH de 7 hasta 8.5, es decir que los potenciales zetas del sistema HA-Mg a altos valores de pH (>8.5) son menores que para la HA-pura. Lo que se traduce en que las suspensiones de HA-Mg son menos estables que las de sólo HA.

La morfología de los recubrimientos fue evaluada por microscopia óptica cofocal con el fin de determinar su homogeneidad. En dicho análisis se observó agrietamiento (Figura 7) debido al efecto térmico del proceso de sinterización, el cual produce una contracción del recubrimiento formando así grietas ^[39]. La Figura 6 presenta un promedio de los valores de rugosidad teniendo en cuenta los puntos más altos y bajos de la superficie de la película, allí se observa poca variación en los resultados indicando un comportamiento similar para todas las muestras. Es decir que el dopaje de la HA no parece tener influencia importante en la topografía de las películas.

Figura 7. Agrietamiento formado en los recubrimientos (x1400).



Fuente: Microscopio Óptico HIROX

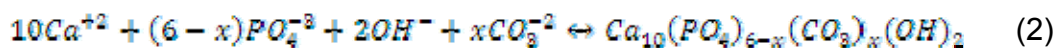
En el Anexo L se presentan las tablas de valores de espesor y rugosidad en distintos puntos de los recubrimientos y las imágenes de reconstrucción en tercera dimensión de las películas.

4.5. EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE LOS RECUBRIMIENTOS

La bioactividad *in vitro* es definida como la habilidad de un material de formar apatitas en su superficie cuando es sumergido en fluido corporal simulado (SBF). Esta prueba *in vitro* ha sido reconocida por la comunidad científica internacional como el método de referencia para la evaluación del carácter bioactivo de los biomateriales. El método consiste en sumergir un material en SBF (Anexo M) por varios periodos de tiempo y luego usar diferentes técnicas de análisis superficial para determinar si se forma una capa de apatitas en la superficie del material ^[40], y al cabo de cuánto tiempo sucede esto.

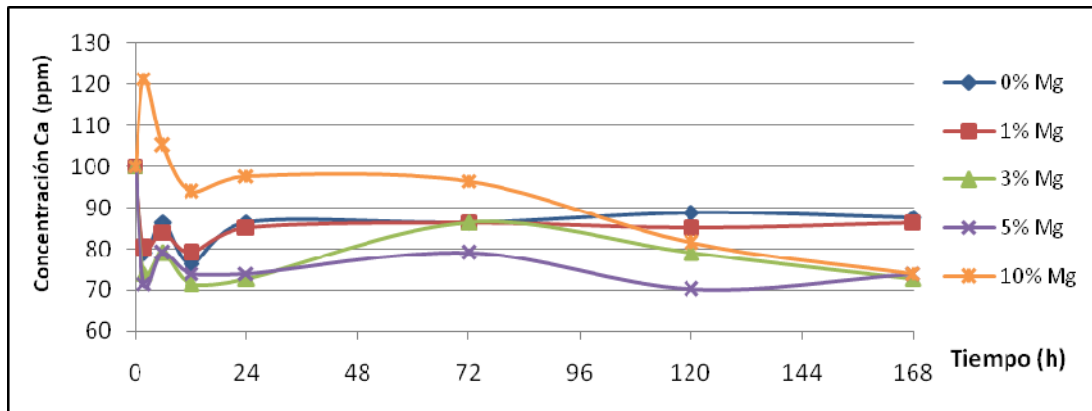
Con el fin de determinar la bioactividad de los recubrimientos, se hizo seguimiento de la concentración de calcio y variación del pH en el fluido SBF para 0, 2, 6, 12, 24, 72, 120 y 168 horas.

En la Figura 8 se puede observar que durante las primeras 24 horas en el sistema de 10% Mg, se presentaron los procesos de disolución y precipitación de calcio en el medio, etapas necesarias para la formación de apatitas sobre el recubrimiento ^[15,41]. Estos procesos son una reacción reversible debida al contacto del material recubierto con el fluido, donde la dirección hacia la cual se mueve la reacción, se determina por la diferencia en la concentración de iones Ca^{+2} en la solución y su concentración en el equilibrio ^[42, 43], puesto que el crecimiento de cristales de apatitas se debe al consumo de iones de la solución SBF ^[44]. Este proceso dinámico de formación y crecimiento de apatitas en el SBF está dado por la siguiente reacción ^[41]:



En donde, por un lado, la disolución de la capa superficial hace que la concentración de los iones Ca en SBF incremente y, por otro lado, los iones Ca y P se consumen debido a la nucleación y crecimiento de la apatitas.

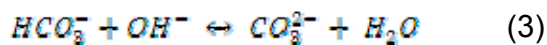
Figura 8. Concentración de Ca en la solución SBF vs Tiempo de inmersión.



Fuente: Los autores

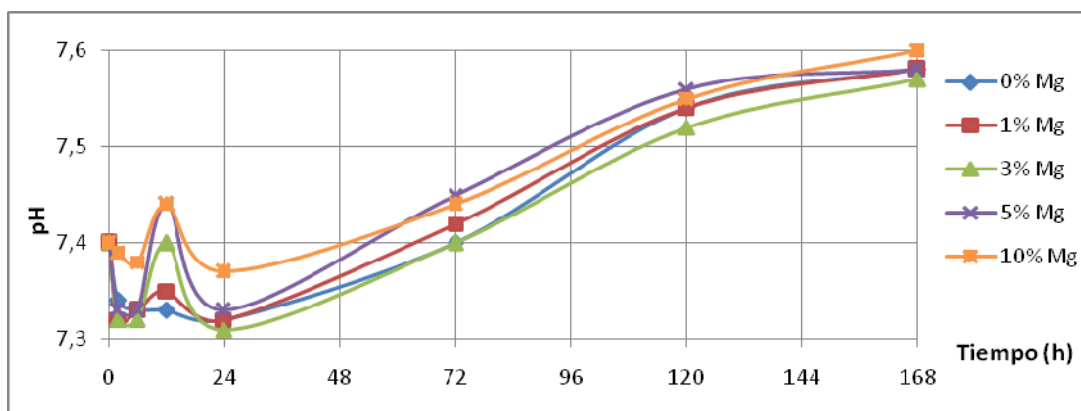
Por otro lado, se observa que los demás sistemas (0, 1, 3 y 5% Mg) no presentan la etapa inicial de disolución que de paso a la sobresaturación del medio, y posterior inicio al proceso de precipitación. Por tanto, es de esperarse que la disminución inicial de la concentración de calcio en el SBF, debida a atracciones electrostáticas, no genere la formación de una capa de apatitas.

En la Figura 9 se presentan las curvas de variación de pH del SBF con el tiempo. Es evidente que no hubo cambios significativos de pH (tan sólo de $\pm 0,2$) con respecto al inicial de 7,4. Sin embargo, es probable que estas pequeñas variaciones de pH estén relacionadas con las reacciones de equilibrio de los iones presentes en la solución, por ejemplo ^[45]:



Para el ensayo con el recubrimiento bioactivo de HA-10% Mg, el pH además es afectado por las etapas de disolución-precipitación de apatitas, tal como lo muestra la reacción (2), según la cual la formación de apatitas conlleva a una disminución del pH, por el consumo de iones OH^- .

Figura 9. Variación del pH en el SBF vs Tiempo de inmersión.



Fuente: Los autores

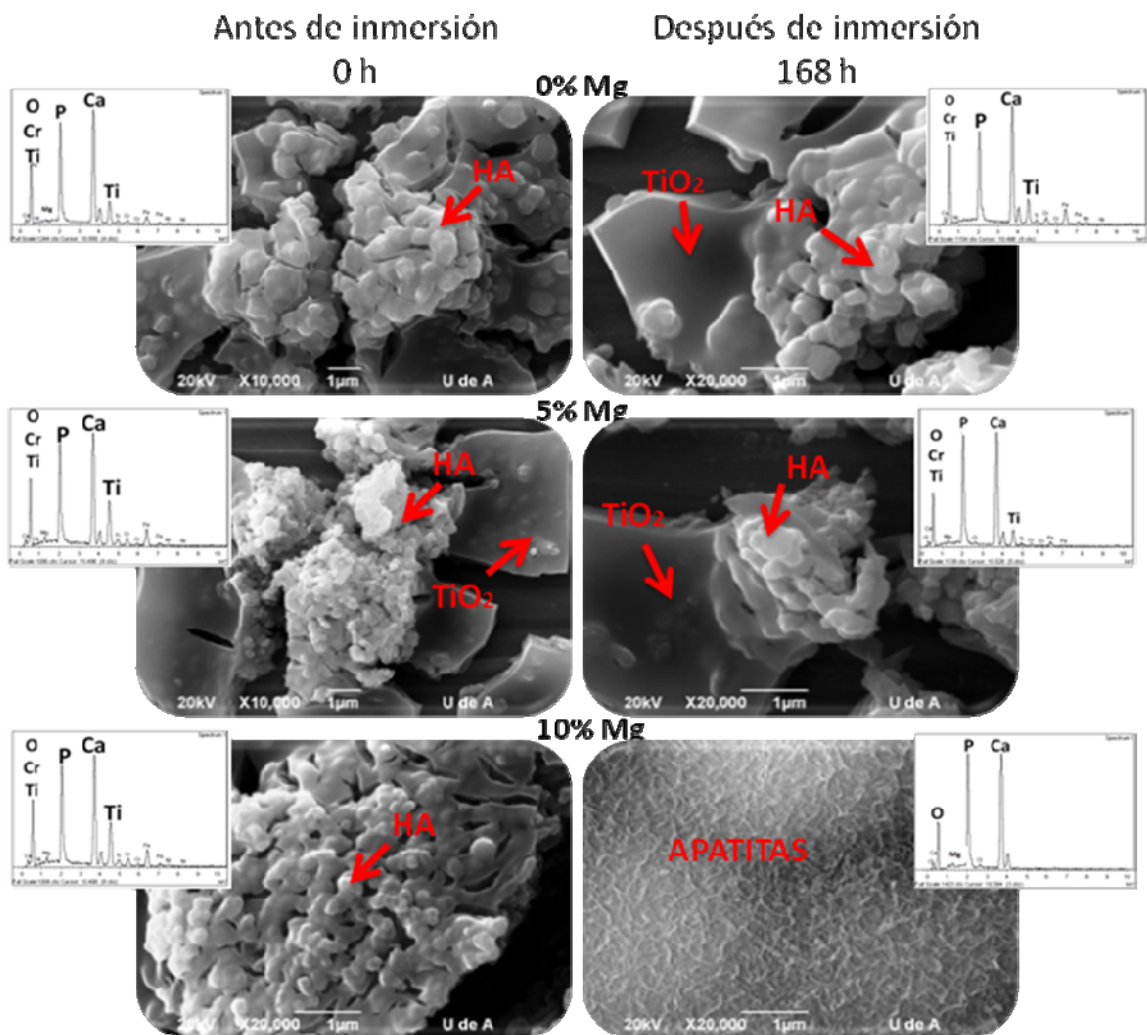
Teniendo en cuenta las diferencias en los comportamientos de las curvas de concentración de calcio para las diferentes películas, se decidió analizar por SEM los recubrimientos con 0%, 5% y 10% de Mg a las 0 y 168 horas (7 días) con el fin de comprobar el efecto del dopaje de HA con magnesio en la bioactividad de los recubrimientos, es decir, determinar si hubo o no formación de una capa de apatitas sobre los mismos.

En la Figura 10 se comparan las micrografías SEM y los espectros EDX de las películas antes y después de su inmersión en SBF. En primer lugar, hay que señalar que la microestructura inicial (0 días) de todos los recubrimientos consistió de aglomerados de HA (dopada o sin dopar) inmersos en una matriz de TiO_2 , tal microestructura era la esperada teniendo en cuenta que los recubrimientos se obtuvieron a partir de una suspensión de polvos de HA en el sol de TiO_2 .

Al cabo de 7 días de inmersión en SBF, sólo el recubrimiento con HA dopada con 10% Mg evidenció ser bioactivo ^[46], formándose una capa homogénea de apatitas que recubrió totalmente dicha película. Estos resultados no sólo comprueban la efectividad del dopaje de la HA con magnesio para aumentar su bioactividad, sino que también constituyen evidencia de que dicho dopaje también favorece la bioactividad del TiO_2 (reconocido como un cerámico bioinerte ^[47, 48]), cuando los dos biocerámicos están formando un *composite*.

Por otro lado, y dado que sólo la muestra con gran adición de magnesio resultó bioactiva, se puede concluir que el proceso de síntesis de la HA dopada, a partir de hueso bovino, debe ser perfeccionado para que el dopaje sea más efectivo, es decir, para tener mayor aprovechamiento del magnesio adicionado.

Figura 10. Micrografías SEM y espectros EDX de los recubrimientos con HA dopada al 0%, 5% y 10% de Magnesio.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6490LV

Al analizar de forma conjunta los resultados de variación de la concentración de calcio en el SBF y los de SEM, se concluye que la adsorción de iones Ca^{2+} en la superficie cerámica no es suficiente para que ocurra el crecimiento de apatitas sobre ésta, dado

que tal adsorción ocurrió en todos los ensayos y sólo se evidenció bioactividad en aquel que se utilizó el recubrimiento con HA-10% Mg. Y éste es justamente el único ensayo en el que se produjo la etapa inicial de disolución de la película antes de la de precipitación de los iones Ca^{2+} .

Por tanto, los resultados de este proyecto demuestran la necesidad de la sobresaturación de la solución con iones Ca^{2+} para la formación de apatitas sobre la superficie.

Aunque los microanálisis EDX de los recubrimientos no constituyen datos cuantitativos confiables, si dan una orientación o tendencia de los posibles cambios composicionales de los mismos. Por tal motivo se decidió comparar tales resultados para los tres sistemas analizados por SEM, es decir películas de HA con 0, 5 y 10% de Mg. Los resultados se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Relaciones atómicas entre los principales elementos de los recubrimientos con HA dopada al 0%, 5% y 10% de Magnesio.

% Mg	Antes de inmersión (0 h)			Después de inmersión (168 h)		
	Ca/Ti	P/Ti	Ca/P	Ca/Ti	P/Ti	Ca/P
0 %	6,75	4,89	1,38	2,30	1,64	1,40
5 %	2,00	1,59	1,26	5,53	4,31	1,28
10 %	4,22	3,13	1,35	39,54	31,37	1,26

Fuente: Los autores

En las relaciones Ca/Ti y P/Ti para 10% Mg se muestran cambios importantes, pasando de 4,22 a 39,54 y 3,13 a 31,37, respectivamente. Esto se debe a que la técnica analiza las capas más superficiales del material, las cuales, después de 7 días de inmersión, corresponden principalmente a las apatitas formadas sobre la película. Estos resultados parecen señalar además que las apatitas formadas están enriquecidas en fósforo dado que la relación Ca/P disminuye de 1,35 (0 días) a 1,26 (7 días después de inmersión), mientras que en los otros dos sistemas (HA con 0 y 5% Mg) no se evidencian cambios significativos en dicha relación.

4.6. CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS RECUBRIMIENTOS

De los resultados obtenidos en lugar de hablar de corrosión, se debe hablar es de interacción del recubrimiento con el fluido, puesto que la respuesta del material (recubrimiento) se rige por el intercambio de iones y los procesos electroquímicos en la interfase fluido-recubrimiento [49].

Integrando los resultados, tanto las mediciones de LPR, curvas Tafel y EIS, se determinaron los parámetros electroquímicos que se muestran en la Tabla 4.

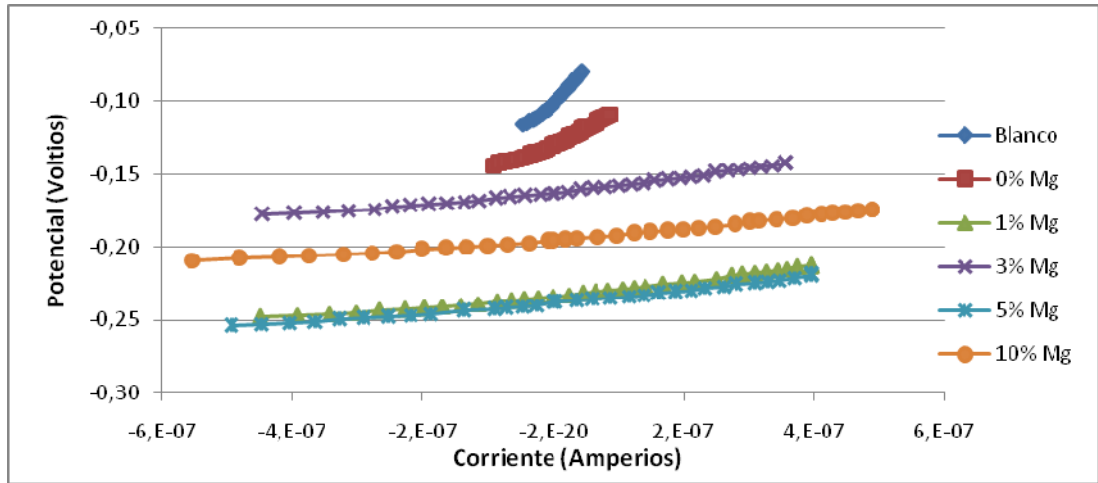
Tabla 4. Parámetros Electroquímicos encontrados para las diferentes probetas.

Muestra	Parámetros electroquímicos		
	R _p (Ω)	I _{corr} (μA/cm ²)	Vel _{corr} (mpy)
Acero (blanco)	426672	0,09	0,04
HA 0%Mg	204711	0,15	0,07
HA 1%Mg	44588	0,69	0,32
HA 3%Mg	46672	0,72	0,33
HA 5%Mg	39023	1,05	0,48
HA 10%Mg	36749	0,88	0,40

Fuente: Los autores

La Figura 11 muestra las curvas de LPR (Potencial Vs Corriente) para las probetas de acero inoxidable AISI-SAE 316L recubiertas y el blanco (acero sin recubrir). La pendiente de ésta gráfica es la Resistencia a la Polarización (R_p) del sistema (ver Tabla 4), donde a mayor resistencia menor es la interacción fluido-recubrimiento, que para los sistemas estudiados en este proyecto estaría relacionada con la bioactividad de las películas. El sistema HA 0% Mg es el que presenta mayor pendiente y por tanto resulta ser menos reactivo. Por su parte, la tendencia para las curvas correspondientes a las películas de HA dopada con Mg es que a medida que aumenta el % Mg, se disminuye la resistencia a la polarización, es decir se aumenta la reactividad de los recubrimientos. Estos resultados concuerdan con lo observado en los estudios de bioactividad, según los cuales el recubrimiento con 10% Mg en la Hidroxiapatita es el más bioactivo.

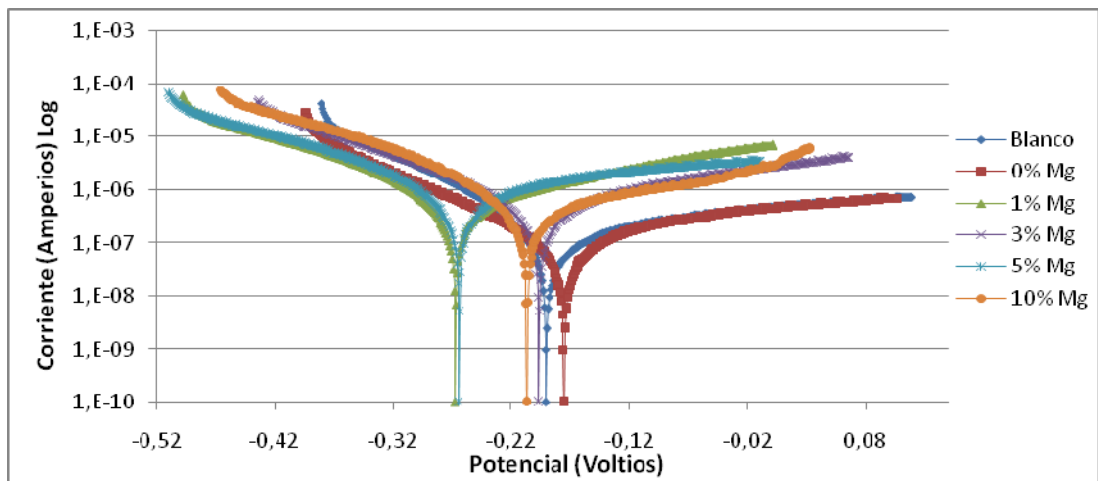
Figura 11. Resistencia a la Polarización Lineal.



Fuente: Estación de trabajo electroquímica SOLARTRON 1280 B

Las pendientes anódicas y catódicas de las curvas de Tafel (Figura 12), fueron determinadas por ajuste a una línea recta en la región controlada por transferencia de carga para cada uno de los sistemas. Con ellas se encontraron los valores de velocidad de corrosión ^[50,51] (ver Tabla 4), que hace referencia a la reactividad. Los resultados muestran que los recubrimientos HA 5% Mg y HA 10% Mg presentan una mayor reactividad que los demás sistemas analizados, confirmando los resultados anteriores.

Figura 12. Curvas Tafel.

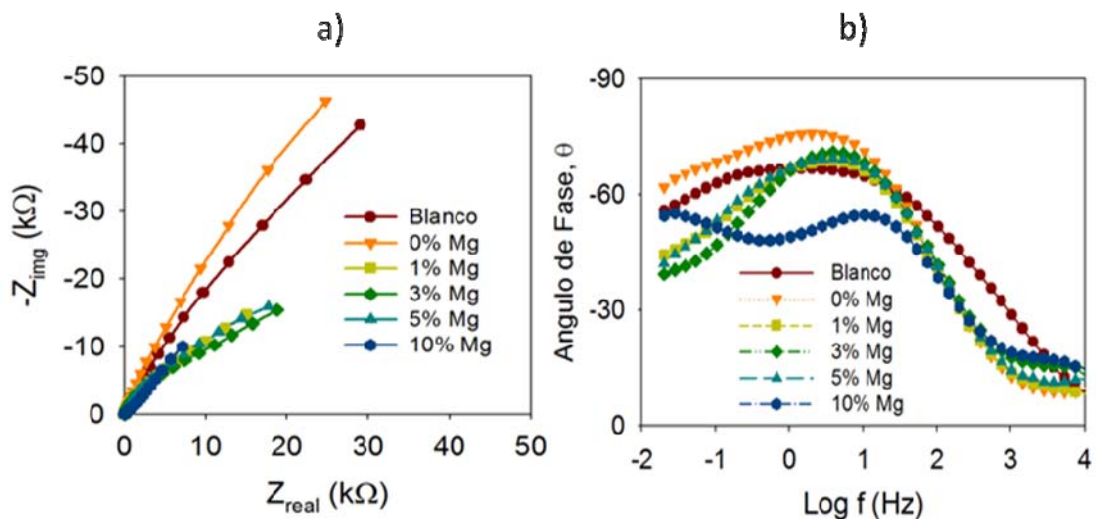


Fuente: Estación de trabajo electroquímica SOLARTRON 1280 B

Por su parte, las curvas de Nyquist y de Bode (Figuras 13a y 13b, respectivamente) revelan un comportamiento capacitivo para el electrodo descubierto (blanco), tomando altos valores en el eje de $-Z_{img}$, debido al carácter protector de la película de óxido formada sobre el electrodo. Al recubrir el acero con el *composite* $TiO_2/HA-0\%Mg$ se produce un incremento de las impedancias involucradas, así como del ángulo de fase, lo que permite inferir que tal recubrimiento tiene mayor carácter protector que la del óxido metálico.

Finalmente, hay que resaltar que para los recubrimientos con diferentes proporciones de magnesio se observa, en la zona de bajas frecuencias, una disminución del ángulo de fase. Además, aparece claramente una nueva constante de tiempo (nuevo incremento en el ángulo de fase) en el sistema HA-10%Mg. Dicho comportamiento también se ve reflejado en los diagramas de Nyquist, como una disminución en las impedancias involucradas. La aparición de esta segunda constante de tiempo es debida a la formación de la película de apatitas.

Figura 13. Diagramas de: a) Nyquist b) Bode para ángulo de fase



Fuente: Estación de trabajo electroquímica SOLARTRON 1280 B

De los resultados obtenidos se evidencia, que para las probetas recubiertas, el sistema HA 0% Mg no favorece el crecimiento de apatitas puesto que presenta menor interacción con el fluido (mayor resistencia a la polarización). Mientras el resto de los sistemas muestran mayor susceptibilidad a esta interacción, especialmente los sistemas HA 5% Mg y HA 10% Mg, los cuales son los más reactivos de todas las muestras estudiadas. No obstante, sólo en esta última, dicha reactividad está relacionada con su carácter bioactivo, tal como lo evidenció la presencia de una segunda constante de tiempo en el diagrama de Bode.

5. CONCLUSIONES

- El método de calcinación de hueso bovino a temperaturas entre 700°C y 900°C se establece como un proceso práctico para la obtención masiva de HA biológica pura.
- El dopaje con Magnesio del hueso, mediante el proceso hidrotermal y su posterior calcinación, permite obtener polvos de HA-Mg sin afectar la estabilidad de la fase de HA.
- La incorporación de iones de Mg en la estructura cristalina de la HA es un método efectivo de aumentar su bioactividad, lo cual se refleja en la rápida formación de una capa de apatitas sobre la superficie de los recubrimientos sumergidos en el fluido corporal simulado (SBF).
- El dopaje con magnesio de la HA no sólo favorece la bioactividad de ésta, sino también la del TiO₂ utilizado para reforzar los recubrimientos.
- La adsorción electrostática de iones Ca²⁺ sobre las superficies biocerámicas no es suficiente para promover la formación de apatitas sobre ellas, al estar sumergidas en un fluido fisiológico simulado. Para que ello ocurra es imprescindible la disolución inicial del biorecubrimiento, de tal forma que la solución se sobresature en dichos iones.
- Las pruebas electroquímicas como RPL, curvas de Tafel y diagramas de Nyquist y Bode permiten predecir el carácter reactivo o bioactivo de los biorecubrimientos, dado que sus resultados son concordantes con los de los ensayos de bioactividad.

6. RECOMENDACIONES

- Estudiar los cambios en las propiedades mecánicas del acero AISI 316L al ser sometido a altas temperaturas de sinterización de los recubrimientos, para determinar si dicho proceso perjudica su funcionamiento como implante óseo.
- Llevar a cabo un estudio más completo sobre la estabilidad de las suspensiones de Hidroxiapatita dopada con Mg-sol de TiO_2 , incluyendo medidas de potencial zeta, con miras a obtener recubrimientos más homogéneos.
- Teniendo en cuenta que buena parte del Mg usado para dopar la HA, no llegó a incorporarse dentro de su red cristalina, se sugiere perfeccionar el proceso de síntesis de la Hidroxiapatita modificada con Mg, mejorando el contacto entre la solución dopante y el polvo de hueso.
- Utilizar técnicas analíticas más avanzadas, tales como XPS, RMN, etc., para caracterizar los polvos de Hidroxiapatita bovina dopadas con Mg y dar, así, explicación a los mecanismos involucrados en tal proceso.
- Para proyectos posteriores, se recomienda llevar a cabo pruebas simultáneas de bioactividad y electroquímicas, de manera que puedan estudiarse las diferentes etapas involucradas en el proceso de formación de las apatitas, tales como adsorción de iones, disolución de las biopelículas y precipitación de apatitas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] M.K. Herliansyah, M. Handi, A. Ide-Ektessabi, M.W. Wildan, J. A. Toque, The influence of sintering temperature on the properties of compacted bovine hydroxyapatite, *Materials Science and Engineering C* 29 (2009) 1674-1680
- [2] T. Isobe, S. Nakamura, R. Nemoto, M. Senna, H.Sfihi, Solid –State double nuclear magnetic resonance study of the local structure of calcium phosphate nanoparticles synthesized by a wet-mechanochemical reaction, *Journal Physical Chemistry B* 106 (2002) 5169-5176
- [3] L. J. Xu, K. A. Khor, Z. L. Dong, Y. W. Gu, R. Kumar, Preparation and characterization of nano-sized hydroxiapatite powders produced in a radio frequency (rf) thermal plasma. *Materials Science and Engineering A* 374 (2004) 101-108.
- [4] G. Bezzi, G. Celotti, E. Landi, T. M. G. La Torretta, I. Sopyan, A. Tampieri, A nobel sol-gel techinque for hydroxyapatite preparation. *Materials Chemical Physicis* 78 (2003) 816-824.
- [5] A. Nasser, K. Khalil, F. Sheikh, A. Omran B. Gaihre, S. Khil, H. Kim, Physicochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones by three different methods: Extraction of biologically desirable HAp, *Materials Science and Engineering C* 28 (2008) 1381-1287
- [6] F. Nüzhet Oktar, S. Agathopoulos, L. Sevgi. Mechanical properties of bovine hydroxyapatite (BHA) composites doped with SiO₂, MgO, Al₂O₃ and ZrO₂. *J Mater Sci: Mater Med* (2007) 18:2137 2143

[7] L. S. Ozyegin, F. N. Oktar, G. Goller. Plasma-sprayed human bone-derived hydroxyapatite coatings: effective and reliable. *Materials Letters* 58 (2004) 2599-2604.

[8] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials* 27 (2006) 2907-2915.

[9] L. M. Rodríguez, M. Vallet, J. M. F. Ferreira, M. P. Ginebra, Hydroxyapatite ceramic bodies with tailored mechanical properties for different applications. *Journal of Biomedical Materials Research A* 60 (2002) 159-166.

[10] CARDENAS GUERRERO Diana. Desarrollo de recubrimientos de Hidroxiapatita/ TiO_2 por Sol-Gel sobre acero Inoxidable Quirúrgico 316L para aplicaciones Biomédicas. Bucaramanga, 2009, 86 h. Trabajo de grado (Ingeniero Metalurgico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Disponible en el catálogo en línea de la biblioteca Universidad Industrial de Santander: <http://biblioteca.uis.edu.co/>

[11] SASTRE, Roberto; SAN ROMÁN, Julio; DE AZA, Salvador. *Biomateriales*, primera edición, editorial CYTED. (2004) Capítulo 3.

[12] JOON, Park. LAKES R.S. *Biomaterials: an introduction*, tercera edición, editorial Springer, (2007) páginas 2-3.

[13] D.A. López; A. Durán; S. Ceré. Caracterización superficial de acero inoxidable AISI 316L en contacto con solución fisiológica simulada. *Memorias de CONGRESO CONAMET/SAM 2004*, Mar del Plata (2004).

[14] VALLET REGÍ, María. Biomateriales para la sustitución y reparación de tejidos. Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica, Facultad de farmacia. Universidad Complutense 28040-Madrid.

[15] F. Xin, C Jian, Z Jian-Peng, W. Quian. Bone-like apatite formation on HA/316L stainless steel composite surface in simulated body fluid. Transactions of Nonferrous Metals Society of China 19 (2009) 347-352

[16] J Saenz and A. Boccaccini. Modelling Bioactivity and degradation of bioactive glass based tissue engineering scaffolds. International Journal of Solids and Structures 48 (2011) 257-268.

[17] Y. Cai; S. Zhang; X. Zeng; Y. Wang. Improvement of bioactivity with magnesium and fluoride ions incorporated hydroxyapatite coatings via sol-gel deposition on Ti6Al4V alloys. Thin Solid Films 517 (2009) 5347-5351.

[18] M. Jie, X. Xiang. Electrolytic deposition of magnesium-substituted hydroxyapatite crystal on titanium substrate. Materials Letters 63 (2009) 2286-2289.

[19] Y. Yamasaki, Y. Yoshida, M. Okazaki, A. Shimazu, T. Kubo, Y. Akagawa, T. Uchida, Action of FGMgCO₃Ap-collagen composite in promoting bone formation Biomaterials 24/27 (2003) 4913-4920.

[19] Y. Cai; S. Zhang; X. Zeng; Y. Wang. Improvement of bioactivity with magnesium and fluoride ions incorporated hydroxyapatite coatings via sol-gel deposition on Ti6Al4V alloys. Thin Solid Films 517 (2009) 5347-5351.

[20] G. Qi, S Zhang, K Khor, C. Liu. In vitro effect of magnesium inclusion sol-gel derived apatite. Thin Solid Films 516(2008) 5176-5180.

[21] A. Mazzoli; G. Moriconi; O. Favoni. "Thin Films of Calcium Phosphate on Titanium Implants: Sol-Gel Route versus Pulsed Laser Deposition" 19th European Conference on Biomaterials (ESB 2005), Sorrento 11-15 Septiembre 2005.

[22] Liu D.M., Yang Q., Troczynski T. Water-based sol-gel synthesis of hydroxyapatite: process development. *Biomaterials* 22 (2001) 1721-1730.

[23] HERNÁNDEZ A. y colaboradores, Procesos de transporte y separación de membranas: Microfiltración, Ultrafiltración y Ósmosis Inversa, Volumen 4. Universidad de Murcia, 1990.

[24] C. Ooi, M. Hamdi, S. Ramesh, Properties of hydroxyapatite produced by annealing of bovine bone, *Ceramics International* 33 (2007) 1171-1177.

[25] R. Murugan, T.S. Sampath, K. Panduranga, Fluorinated bovine hydroxyapatite: preparation and characterization, *Materials letters* 57 (2002) 429-433.

[26] XIU F. X. and RONG F. L. Effect of suspension stability on electrophoretic deposition of hydroxyapatite coatings. College of Chemistry and Materials Science, Fujian Normal University, Fujian, Fuzhou 350007, China.

[27] Standard test method for pull-off strength of coatings using portable adhesion testers. ASTM International D 4541-02.

[28] Standard practice for calculation of corrosion rates and related information from electrochemical measurements. ASTM G102-89.

[29] W. Mróz, A. Bombalska, S. Burdyska, M. Jedynski, A. Prokopiuk, B. Budner. Structural of magnesium doped hydroxyapatite coatings after osteoblast culture. *Journal of Molecular Structure* 977 (2010) 145-152.

- [30] G. Qi, S. Zhang, K. Aik, S. Who, X. Zeng. Osteoblastic cell response on magnesium incorporated apatite coatings. *Applied Surface Science* 255 (2008) 304-307.
- [31] C.Y. Tan, K.L. Aw, W.H. Yeo, S. Ramesh, M. Handi. Influence of Magnesium Doping in Hydroxyapatite Ceramics. *International Federation For Medical and Biological Engineering Proceedings*. (2008) 21 326-329
- [32] Data base MYNCRYST. Crystallographic and Crystallochemical Database for Minerals and their Structural Analogues. Patron DRX hydroxyapatite. <http://database.iem.ac.ru/mincryst/>
- [33] I.Cacciotti, A Bianco, M Lombardi, L. Montanaro. Mg-Substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sintering behavior. *Journal of the European ceramic society* 29 (2009) 2969-2978.
- [34] F. Ren, Y. Leng, R. Xin, X. G, Synthesis, characterization and ab initio simulation of magnesium-substituted hydroxyapatite, *Acta Biomaterialia* 6 (2010) 2787-2796.
- [35] L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, E. Riman, F. Janas, S. TenHuisen, Mechanochemical-hydrothermal synthesis of calcium phosphate powders with coupled magnesium and carbonate substitution. *Biomaterials* 25 (2004) 4647-4657.
- [36] L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, E. Riman, F. Janas, S. TenHuisen, Preparation of magnesium-substituted hydroxyapatite powders by the mechanochemical–hydrothermal method. *Biomaterials* 25 (2004) 4647–4657

- [37] M Santiago, L Hernández, H Montiel, M Flores. Síntesis y estudio de resonancia paramagnética electrónica de CaMnO_3 y $\text{Eu}_{0,05} \text{Ca}_{0,95} \text{MnO}_3$ obtenidos por coprecipitación. *Superficies y vacío* 23 (2010) 25-30.
- [38] E. Landi, A Tampieri, M Mattioli-Belmonte, G. Celotti, M. Sandri Biomimetic Mg and MgCO_3 -substituted hydroxyapatite synthesis characterization and in vitro behavior. *Journal of the European ceramic society* 26 (2006) 2593-2601.
- [39] H. Seung, K Sun, J. Kun, D. Joong, J. Hyup. Magnesia-doped HA/b-TCP ceramics and evaluation of their biocompatibility. *Biomaterials* 25 (2004) 393-401.
- [40] J. Löf, F. Svahn, T. Jarmar. A comparative study of the bioactivity of three materials for dental applications, *Dental Materials* 24 (2008) 653-659.
- [41]] H. Kim, T. Himeno, T. Kokubo, T. Nakamura. Process and kinetics of bonelike apatite formation on sintered hydroxyapatite in a simulated body fluid. *Biomaterials* 26 (2005) 4366-4373.
- [42] Q. Zhang, J. Chen, J. Feng. Dissolution and mineralization behaviors of HA coatings. *Biomaterials* 24 (2003) 4741-4748.
- [43] Z. Mohammadi, A. Ziaei-Moayyed, A. Mesgar. Analytically modeling of in vitro calcium dissolution of Plasma Sprayed Hydroxyapatite coatings. *Iranian Journal of Pharmaceutical Science*, Summer 2008: 4 (3): 209-216.
- [44] I. B. Leonor, A. Ito, K. Onuma. In vitro bioactivity of starch thermoplastic /hydroxyapatite composite biomaterials: an in situ study using atomic force microscopy. *Biomaterials* 24 (2003) 579-585.

- [45] L. Müller, F. A. Müller. Preparation of SBF with different HCO_3^- content and its influence on the composition of biomimetic apatites. *Acta Biomaterialia* 2 (2006) 181-189.
- [46] W. Xu, W Y Hu, M. Li, Q. MA. Sol-gel derived HA/TiO₂ double coatings on Ti scaffolds for orthopaedic applications. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 16 (2006) s209-s216.
- [47] X. Zhao, X. Liu, C. Ding. Effects of plasma treatment on bioactivity of TiO₂ coatings. *Surface & Coatings technology* 201 (2007) 6878-6881.
- [48] Balamurugan, A. Balossier, G. Kannan, S. Michel, J. Rajeswari, S. In vitro biological, chemical and electrochemical evaluation of titania reinforced HA sol-gel coatings on surgical grade 316L. *Materials Science and Engineering C* 27 (2007) 162–171
- [49] R. Souto, M. Laz, R. Reis. Degradation characteristics of hydroxyapatite coatings on orthopaedic TiAlV in simulated physiological media investigated by electrochemical impedance spectroscopy. *Biomaterial* 24 (2003) 4213-4221.
- [50] PEREZ, Nestor. *Electrochemistry and corrosion science*. Kluwer academic publishers. United States of America, 2004.
- [51] WENT H, KREYSA G. *Electrochemical Engineering Science and Technology in Chemical and Other Industries*. Springer Editorial. Germany 1999

8. ANEXOS

ANEXO A. REACTIVOS UTILIZADOS.

REACTIVO	FÓRMULA	ESPECIFICACIONES
Tetraisopropóxido de titanio	$Ti[OCH(CH_3)_2]_4$	97% (Aldrich)
Isopropanol	$CH_3CHOHCH_3$	99,5% (Merck)
Acetilacetona	$CH_3COCH_2COCH_3$	99% (Aldrich)
Agua destilada	H_2O	Ninguna
Trietanolamina (TEA)	$C_6H_{15}NO_3$	98% (Merck)
Nitrato de Magnesio hexahidratado	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	99% (Merck)
Hueso bovino		
Acero AISI 316L (probetas)	Fe, C, Ni, Cr, Mo, Mn, Si, P, S	Imporinox S.A.
Hidróxido de amonio	NH_4OH	(Merck)
Cloruro de sodio	$NaCl$	Analítico (Merck)
Bicarbonato de Sodio	$NaHCO_3$	99.7% (Merck)
Cloruro de potasio	KCl	99,55% (Merck)
Di potasio hidrógeno Fosfato	K_2HPO_4	98% (Carlo Erba)
Cloruro de magnesio	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	99% (Carlo Erba)
Acido clorhídrico	HCl	Analítico (Merck)
Cloruro de calcio	$CaCl_2$	98% (Merck)
Sulfato de sodio	Na_2SO_4	99% (Merck)
TRIS Hidroximetil aminometano	$NH_2C(CH_2OH)_3$	Analítico (Merck)

Fuente: Los autores

ANEXO B. EQUIPOS UTILIZADOS.

EQUIPO	APLICACIÓN
Agitador magnético FM-008	Mezcla de soles
pH-metro Thermo Scientific (Orión 3 star)	Medición de pH
Baño Ultrasónico Elma E3OH (EMASONIC)	Limpieza de sustratos y preparación de las suspensiones HA/TiO ₂ y HA-Mg/TiO ₂
Equipo de inmersión con velocidad variable "DIP-COATER"	Elaboración de recubrimientos
Mufla VULCAN A-550 NEY	Calcinación del hueso y sinterización de películas
Estufa MEMMERT	Secado de polvos
Baño Termostatado MEMMERT	Control de temperatura de la solución SBF
Pulverizador de Ágata JANETZKI KM1	Reducción de tamaño de los polvos
Espectrofotómetro de infrarrojos FTIR-8400S SHIMADZU	Caracterización polvos de HA y HA-Mg
Difractómetro de rayos X PHILIPS X PERT-PRO	Determinación de fases cristalinas
Microscopio Óptico HIROX KH7700	Determinación del espesor y micrografía de las películas
Autoclave (Esterilizador eléctrico de vapor a presión) Model No. 25X	Dopaje de los polvos de HA con Mg
Potenciostato/Galvanostato SOLARTRON 1280 B	Pruebas electroquímicas
Medidor digital de fuerza de adhesión ELCOMETER 108	Medición de la adherencia de los recubrimientos
Microscopio eléctrico de barrido JEOL JSM-6490LV	Micrografías SEM de los recubrimientos
Espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN HELMER 372	Medición de concentración de calcio.

Fuente: Los autores

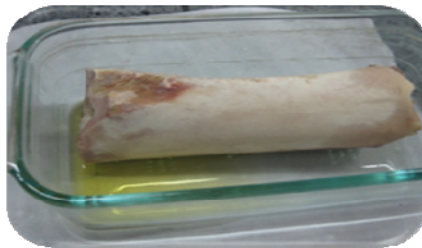
ANEXO C. OBTENCIÓN DE LOS POLVOS DE HA.



Hueso bovino



Remoción Material orgánico



Secado



Limpieza con acetona-agua



Corte



Calcinación del hueso



Polvos de HA



Pulverización

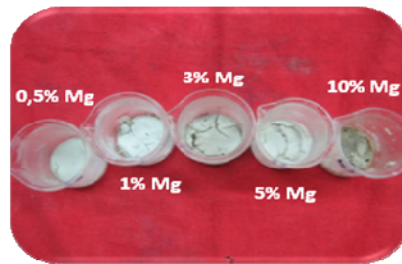
ANEXO D. DOPAJE CON Mg DE LOS POLVOS DE HA BIOLÓGICA.



Corte



Pulverización



Dopaje



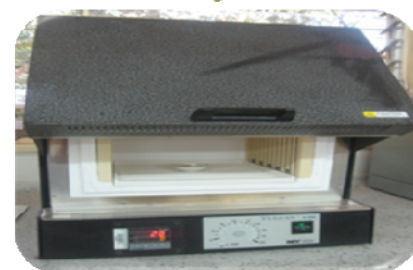
Filtración



Polvos secos del hueso dopado

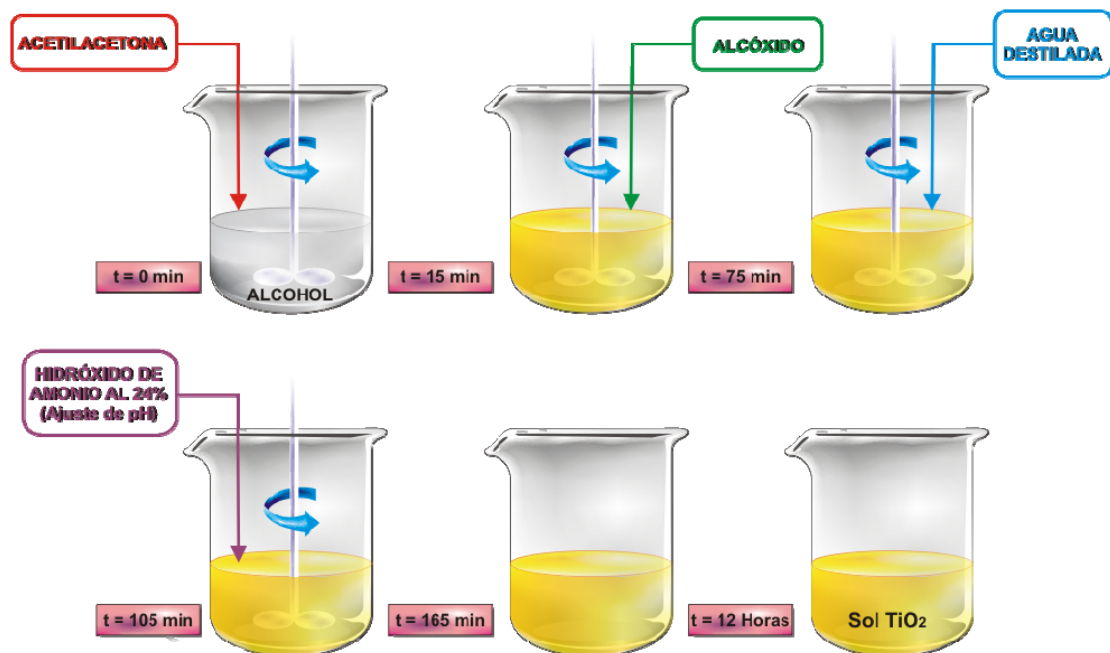


Polvos de HA-Mg

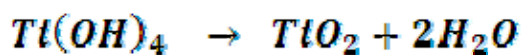
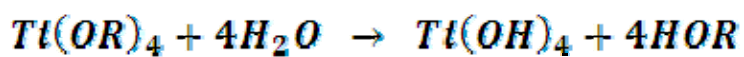


Calcinación del hueso dopado

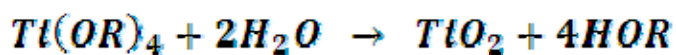
ANEXO E. PREPARACIÓN DEL SOL DE TiO₂.



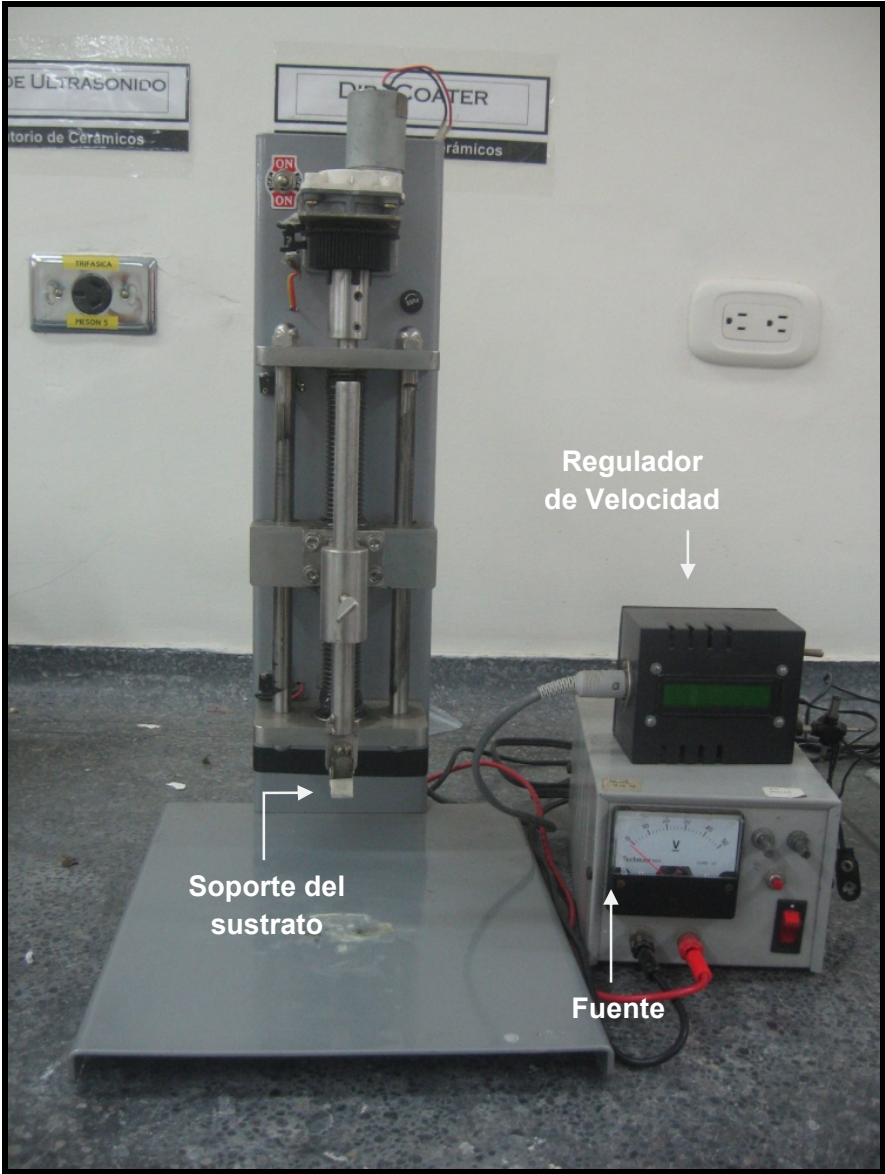
REACCIONES DE HIDRÓLISIS Y CONDENSACIÓN



REACCIÓN GLOBAL



ANEXO F. EQUIPO DE INMERSIÓN Y EXTRACCIÓN CON VELOCIDAD VARIABLE.



ANEXO G. MEDIDOR DIGITAL DE ADHERENCIA ELCOMETER 108.



ANEXO H. EQUIPO MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO (SEM).



**ANEXO I. ESTACIÓN DE TRABAJO ELECTROQUIMICA SOLARTRON
1280.**



ANEXO J. ECUACIONES NORMA ASTM G102-89.

Con cada uno de los valores de Resistencia de Polarización y Pendientes Tafel obtenidos a partir de los ensayos electroquímicos, se determinó la velocidad de corrosión para cada uno de los sistemas evaluados, teniendo en cuenta las ecuaciones establecidas en la norma ASTM G102-89 [23]:

$$Vel_{corr} = 0,13 \cdot (i_{corr}) \cdot \frac{W_e}{d} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Vel_{corr} : Velocidad de corrosión en mili pulgadas por año (mpy).

i_{corr} : Corriente de corrosión en $\mu\text{A}/\text{cm}^2$.

W_e : Equivalente electroquímico (peso molecular/ # de electrones transferidos)

d : Densidad del material de prueba en g/cm^3 .

$$i_{corr} = \frac{\beta_a \beta_c}{2,3(\beta_a + \beta_c)(Rp)A} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

i_{corr} : Corriente de corrosión.

β_a y β_c : Pendientes anódica y catódica, respectivamente.

Rp : Resistencia de Polarización (Se obtiene a partir de Curvas de Resistencia de Polarización Lineal, o Espectroscopía de Impedancia Electroquímica).

A : Área de la superficie del electrodo de trabajo en contacto con el electrolito.

ANEXO K. CÁLCULO DEL TAMAÑO DEL CRISTALITO.

El cálculo del tamaño del cristalito se realizó teniendo en cuenta la ecuación de Scherrer:

$$\beta = \frac{K \cdot \lambda}{FWHM(S) \cdot \cos \theta}$$

Donde:

β es el tamaño promedio de cristal.

K es el factor de forma del cristal y su valor es de 0,89.

λ es la Longitud de onda de la radiación utilizada (λ_{Cu}) que corresponde a 0,154 nm.

θ es la posición del pico de difracción.

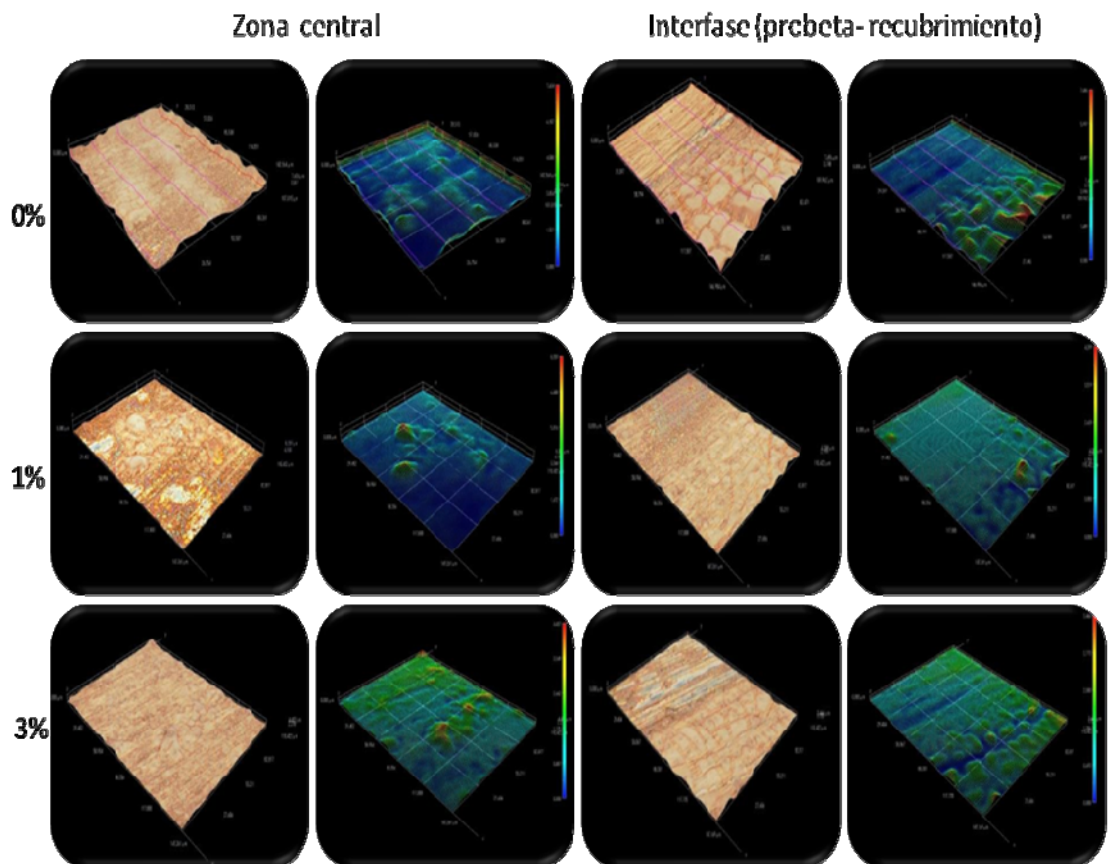
$FWHM(S)$ es el ancho a la altura media del pico de difracción de la muestra.

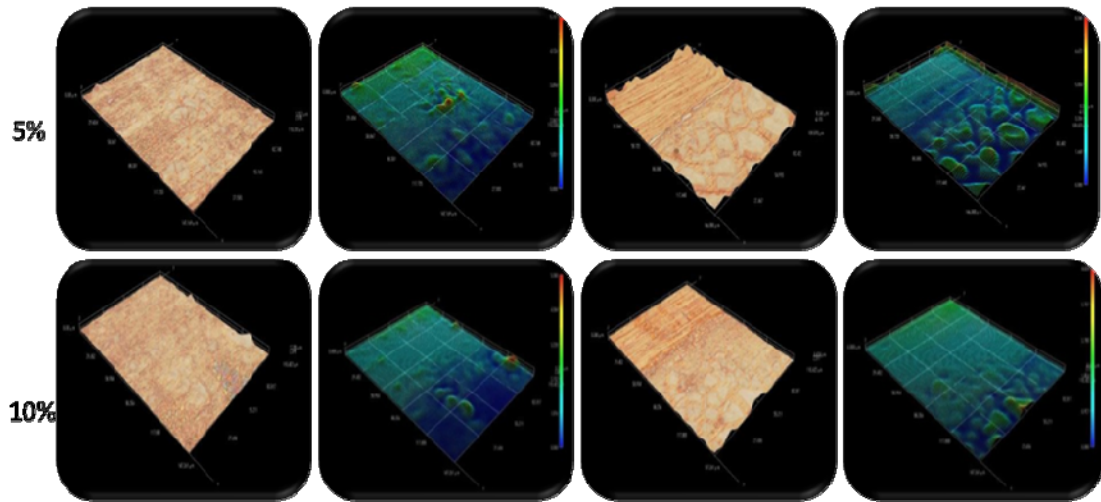
Para calcular el tamaño de cristal se debe escoger un pico de difracción resuelto y hay que asegurarse de que el valor de FWHM (S) esté convertido a radianes para que el tamaño de cristal tome las unidades de la longitud de onda del ánodo utilizado.

ANEXO L. CÁLCULO DE LA RUGOSIDAD DE LAS PELÍCULAS.

El cálculo de la rugosidad y espesor de los recubrimientos de HA con diferentes porcentajes de Mg, se llevó a cabo a través de un barrido en la reconstrucción en tercera dimensión a 1400x hecha en el microscopio óptico Hirox. Se tomaron 5 puntos en distintas posiciones de la reconstrucción tanto en la interfase como en la zona central de la probeta.

En las siguientes figuras se muestran las reconstrucciones en tercera dimensión para los recubrimientos con 0%, 1%, 3%,5% y 10% de Mg.





Los datos obtenidos para cada recubrimiento se muestran en las siguientes tablas:

Datos de Espesor para recubrimientos HA-Mg Antes de Bioactividad				
0%	1%	3%	5%	10%
4,796	3,990	2,154	1,734	1,211
4,750	2,589	1,566	1,440	1,868
7,011	4,007	1,384	1,118	2,964
4,997	2,365	1,438	1,065	1,287
1,418	3,786	1,920	3,888	1,319

% Mg	0%	1%	3%	5%	10%
Espeor	4,594	3,347	1,692	1,849	1,730
Desviación Estándar	1,097	1,017	0,802	1,018	0,937

Datos en μm

Datos de Rugosidad para recubrimientos HA-Mg Antes de Bioactividad				
0%	1%	3%	5%	10%
3,045	0,906	2,130	1,893	1,672
2,061	3,309	2,110	1,825	1,604
1,454	4,884	2,132	3,493	1,796
1,954	3,399	3,349	3,559	1,726
2,669	1,188	3,103	2,086	4,555

% Mg	0%	1%	3%	5%	10%
Rugosidad	2,237	2,737	2,565	2,571	2,271
Desviación Estándar	0,921	1,187	0,950	1,041	1,064

Datos en μm

ANEXO M. MONTAJE PARA PRUEBAS DE BIOACTIVIDAD.

