

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE SUPERFICIES BASE
POLICAPROLACTONA - QUITOSANO MEZCLADO CON POLIETILENGLICOL
Y ALBÚMINA.**

**JOAQUÍN ANTONIO GUERRA HERAZO
OSCAR FERNEY CELY MARTINEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES
BUCARAMANGA
2014**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE SUPERFICIES BASE
POLICAPROLACTONA - QUITOSANO MEZCLADO CON POLIETILENGLICOL
Y ALBÚMINA.**

**JOAQUÍN ANTONIO GUERRA HERAZO
OSCAR FERNEY CELY MARTÍNEZ**

Trabajo de Grado para optar al título de Ingeniero Metalúrgico

Director

**DARÍO YESID PEÑA BALLESTEROS
Ph.D. Ingeniero Metalúrgico**

Co-directora

**LILIANA SOFÍA GÓMEZ RODRÍGUEZ
Ingeniera Química**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES
BUCARAMANGA**

2014

Primero le que todo agradezco a Dios por la fortaleza que me dio en estos años en los cuales tuve situaciones difíciles. Dedico este logro a mis padres quienes nunca me dejaron de apoyar, a mis hermanos quienes cada día me inspiran para seguir adelante cumpliendo mis sueños, a mi abuela por sus consejos y a toda mi familia por ser mi apoyo.

A mis amigos por todos los momentos de felicidad y de confianza que me brindaron durante esta etapa de mi vida y a todas aquellas personas que aportaron para cumplir este logro.

.....Oscar Cely.

A ti señor Jesús, porque con tu indudable presencia he logrado alcanzar esta meta, gracias a ti Diosito hoy puedo dar Fe de que a tu lado todo es posible, infinitas gracias Dios porque caminando de tu mano pude conseguir este apreciado resultado en mi vida.

A mis padres y a mi hermana que con el incondicional apoyo, amor, comprensión y paciencia se convirtieron en el motor que me motivó y me motiva cada amanecer a seguir caminando sin temor, gracias y este sueño conseguido es para ustedes.

A mi abuelita que siempre ha sido esa voz de sabiduría que me acompañó en el día a día de este proceso y que con sus consejos y bendiciones llegué a la meta con la frente en lo más alto, creo que 3 vidas no serían suficientes para darte las gracias mi vieji.

A esas 5 personas que han sabido llevar y cumplir ese papel de ser mis tíos, amigos y padres desde que llegué al mundo, esta felicidad que hoy siento es igualmente para ustedes.

A todos mis amigos que son los que le ponen el color y la alegría a mi vida en todos los momentos, gracias le doy a Dios porque me escogió a los mejores, sin ustedes la vida no tendría del todo un sentido, amistad para la eternidad.

Para ti mi lucero que finalizando te convertiste en la más valiosa herramienta de mi batalla para lograr este sueño, porque llegaste a cambiarme la vida, porque serás el sentido e inspiración más grande que tendré mi amor, con todo mi corazón para ti hija.....!!!!

Joaquín Guerra

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este proyecto sus más sinceros agradecimientos a:

Darío Yesid Peña, Ingeniero Metalúrgico PhD, director de esta investigación, por su incondicional apoyo y confianza depositada durante el desarrollo de este trabajo.

Liliana Sofía Gómez Rodríguez, Ingeniera Química, Co-directora de esta investigación, por sus asesorías y orientaciones las cuales fueron indispensables para culminar este estudio.

TABLA DE CONTENIDO.

INTRODUCCIÓN	16
1. OBJETIVOS	18
1.1. Objetivo general.....	18
1.2. Objetivos específicos	18
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	19
2.1. Biomaterial	19
2.2. Titanio y sus aleaciones	20
2.3. Policaprolactona	21
2.4. Quitosano.....	22
2.5. Albúmina	23
2.6. Polietilenglicol	23
3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	24
3.1. Preparación superficial	25
3.2. Tratamiento alcalino	25
3.3. Tratamiento térmico del sólido	25
3.4. Preparación de soluciones poliméricas	26
3.5. Aplicación del recubrimiento	27
3.6. Pruebas de bioactividad y caracterización	27
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS	29
4.1 Caracterización inicial de la aleación Ti_6Al_4V	29
4.2 Tratamiento superficial alcalino de la aleación Ti_6Al_4V	29
4.3 Obtención de los recubrimientos de Policaprolactona- Quitosano- Albúmina y Policaprolactona-Quitosano- Polietilenglicol.....	32
4.4 Pruebas de ángulo de contacto	32
4.5 Pruebas de SEM-EDS de los recubrimientos de PCL/QS- Albúmina y PCL/QS-PEG	35
4.6 Análisis de los recubrimientos por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)	43
4.7 Análisis mediante pruebas electroquímicas	46
4.7.1 Potencial de circuito abierto (OCP).....	46

4.7.2 Resistencia a la polarización (RP)	48
4.7.3 Espectroscopia de impedancia electroquímica EIS	49
4.8 Pruebas de bioactividad in vitro	50
5. CONCLUSIONES	58
6. RECOMENDACIONES.....	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS.....	68

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Sistema de formación de la capa de óxido.	20
Figura 2	Síntesis de policaprolactona (PCL).	21
Figura 3	Estructura del quitosano	22
Figura 4	Diagrama de flujo utilizado en el proyecto de grado.	24
Figura 5	Montaje utilizado para tratamiento alcalino de las probetas de Ti_6Al_4V	25
Figura 6	Horno utilizado para el tratamiento térmico de las probetas de Ti_6Al_4V	26
Figura 7	Soluciones poliméricas preparadas para cada una de las relaciones a trabajar.	26
Figura 8	Montaje utilizado para el conformado de los recubrimientos mediante la técnica dip-coating.	27
Figura 9	Montaje utilizado para las pruebas de bioactividad para las probetas de Ti_6Al_4V	28
Figura 10	Micrografía de Ti_6Al_4V atacada con reactivo Kroll por 10 segundos a una magnificación de 2000X.	29
Figura 11	Muestras de Ti_6Al_4V tratadas alcalinamente.	30
Figura 12	Micrografías SEM de muestras de Ti_6Al_4V .	30
Figura 13	Espectro EDS de la superficie de Ti_6Al_4V posterior al tratamiento superficial alcalino.	31
Figura 14	Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-ALBÚMINA relación (70/30).	33
Figura 15	Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS- ALBÚMINA relación (50/50).	33
Figura 16	Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS- ALBÚMINA relación (30/70).	33
Figura 17	Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-PEG relación (70/30).	34
Figura 18	Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-PEG relación (50/50).	34
Figura 19	Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-PEG relación (30/70).	34
Figura 20	Micrografías SEM del recubrimiento de PCL/QS- ALBÚMINA a diferentes relaciones.	36
Figura 21	Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS- ALBÚMINA relación 30/70	37

Figura 22	Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS- ALBÚMINA relación 50/50 a 5000x	37
Figura 23	Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS- ALBÚMINA relación 50/50 a 20000x	39
Figura 24	Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS- ALBÚMINA relación 70/30 a 20000x	39
Figura 25	Micrografía SEM y espectro EDS de una superficie de PCL/QS-ALBÚMINA con relación 30/70.	40
Figura 26	Micrografías SEM del recubrimiento de PCL/QS- PEG a diferentes relaciones.	40
Figura 27	Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS- PEG relación 70/30 a 500x	42
Figura 28	Espectro infrarrojo FTIR superpuestos para cada uno de los recubrimientos PCL-QS- ALBÚMINA.	44
Figura 29	Espectro infrarrojo FTIR superpuestos para cada uno de los recubrimientos de PCL-QS-PEG	45
Figura 30	Representación gráfica de las curvas de potencial de circuito abierto para las tres relaciones poliméricas trabajadas.	46
Figura 31	Representación gráfica de las curvas de potencial de circuito abierto para las tres relaciones poliméricas trabajadas.	47
Figura 32	Micrografías SEM y espectros EDS de los recubrimientos de PCL/QS- ALBÚMINA.	52
Figura 33	Micrografías SEM y espectros EDS de los recubrimientos de PCL/QS-PEG.	54
Figura 34	Curvas de concentración de calcio en el fluido SBF vs. tiempo de inmersión.	56

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Composición química del fluido fisiológico simulado (SBF) para pruebas de bioactividad in vitro.	28
Tabla 2.	Valores de los ángulos obtenidos para los diferentes recubrimientos PCL/QS-Albúmina y PCL/QS-PEG.	35
Tabla 3.	Valores de RP para cada uno de los recubrimientos evaluados.	49
Tabla 4.	Relación Ca/P para los fosfatos de calcio más comunes.	51

LISTA DE ANEXOS

		Pág.
ANEXO A.	Lista de reactivos utilizados	68
ANEXO B.	Lista de equipos utilizados	69
ANEXO C.	Descripción gráfica de la preparación de las soluciones poliméricas de PCL/QS-ALBÚMINA Y PCL/QS-PEG	70
ANEXO D	Análisis EDS de la superficie de la aleación Ti ₆ Al ₄ V antes de tratamiento alcalino.	71
ANEXO E.	Espectro infrarrojo policaprolactona (PCL)	71
ANEXO F.	Espectro infrarrojo quitosano	72
ANEXO G.	Espectro infrarrojo albúmina	72
ANEXO H.	Espectro infrarrojo PEG	73
ANEXO I.	Representación gráfica de las curvas de resistencia a la polarización para los recubrimientos de PCL/QS-PEG.	73
ANEXO J.	Representación gráfica de las curvas de Resistencia a la polarización para los recubrimientos de PCL/QS-ALBÚMINA.	74
ANEXO K.	Representación gráfica de los diagramas de Nyquist para los recubrimientos de PCL/QS-ALBÚMINA.	76
ANEXO L.	Representación gráfica de los diagramas de Nyquist para los recubrimiento de PCL/QS-PEG	77

INTRODUCCIÓN

El daño total o parcial de tejido y la pérdida de la función de un órgano se encuentran entre los problemas más graves y costosos de la salud humana, esto ha llevado a la medicina de la mano de diversas ciencias a crear opciones que permitan solucionar estos problemas que día a día afectan a más personas. Avances tecnológicos e ingenieriles han permitido desarrollar dispositivos médicos conocidos como implantes, estos están diseñados para ser incorporados al sistema vivo reemplazando alguna función de sus tejidos u órganos, o como soporte para la regeneración de los mismos¹. En estos dispositivos, se han enfocado la medicina y la ingeniería, con el fin de desarrollar nuevas tecnologías que no sólo permitan mejorar la expectativa de vida de las personas, sino que garanticen una mejora y/o recuperación parcial o total de ciertas funciones biológicas y estructurales ausentes en un determinado paciente².

Los materiales para implantes pueden ser metálicos, plásticos y cerámicos, pero estos deben cumplir con ciertas características que les confiera el estatus de biomaterial, y para lo cual es esencial entender las relaciones existentes entre su estructura, sus propiedades y la función que van a desarrollar. En este sentido, se acepta ampliamente que los requisitos que debe cumplir un biomaterial sean: biocompatibilidad, estabilidad química, alta resistencia mecánica, resistencia a la fatiga, baja densidad y un adecuado diseño de ingeniería en cuanto a tamaño, forma y finalidad. En el área de biomateriales se han realizado diversas investigaciones que han permitido contrarrestar los efectos negativos tanto

¹ K.F. Leong, C.K. Chua, N. Sudarmadji, W.Y. Yeong "Engineering functionally graded tissue engineering scaffolds", Rapid

² Catalina Estrada, Ana Cristina Paz, Luis Ernesto López "INGENIERÍA DE TEJIDO ÓSEO: Consideraciones Básicas", Ingeniera Biomédica, CES-EIA, Investigadora, Laboratorio de Cultivo Tisular. Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica EIA-CES (Gibec), 2006

macroscópicos como microscópicos, derivados de la interacción entre el implante y la estructura biológica receptora³.

Las aleaciones de titanio debido a sus excelentes propiedades mecánicas y resistencia a la corrosión, son ampliamente utilizadas en la actualidad como biomateriales, en especial la aleación Ti₆Al₄V. Sin embargo se ha demostrado que este material presenta problemas de bioactividad y osteointegración^{4, 5}. Por esto se hace necesario modificar superficialmente el material, con el fin de garantizar la interacción proteica que conlleve a una favorable adhesión y proliferación celular.

Dicha modificación superficial puede producirse topográficamente al desarrollar recubrimientos con gran resistencia al desgaste, a la corrosión por fluidos corporales y también que no interfieran con las excelentes propiedades mecánicas de la aleación, además que recreen las condiciones morfológicas y estructurales del tejido original y generen sitios preferenciales para el crecimiento celular, permitiendo posteriormente la formación de nuevo tejido óseo. La hidroxiapatita, es uno de los recubrimientos cerámicos más empleados en la actualidad, por tanto la utilización de biopolímeros ha empezado a generar un gran impacto, principalmente gracias a su alta capacidad de biodegradación⁶.

Este estudio busca mejorar las características bioactivas de la aleación Ti₆Al₄V, al aplicar sobre su superficie mediante la técnica dip-coating recubrimientos poliméricos biodegradables a base de Policaprolactona-Quitosa y mezclados por separado con Albúmina y Polietilenglicol (PEG).

³ María Cristina Piña Barba "los biomateriales y sus aplicaciones", investigadora adscrita al Instituto en Materiales de la Universidad Nacional autónoma de México, 2010.

⁴ D.F Williams "The science and applications of biomaterials". Int. Journal of Materials and technology, 10,3-6,pp 360-377, 1995.

⁵ S.G. Steinmann "Evaluation of Biomaterials". Biorganic Chemistry 1, 1980

⁶ Sandra E. "Modificación superficial de biomateriales metálicos". Revista latinoamericana de metalurgia y materiales, 90p, Vol. 29, Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela. pp 65-76, 2009.

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo general.

Evaluar fisicoquímicamente una superficie de recubrimientos base policaprolactona - quitosano mezclado con polietilenglicol y albúmina.

1.2 Objetivos específicos.

- Desarrollar recubrimientos de policaprolactona, quitosano-albúmina y policaprolactona, quitosano-polietilenglicol para aplicarlos superficialmente sobre sustratos de Ti_6Al_4V .
- Caracterizar las superficies poliméricas mediante microscopio electrónico de barrido (SEM), ángulo de contacto, espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), pruebas de bioactividad y medidas electroquímicas.
- Comparar los resultados obtenidos de policaprolactona, quitosano-albúmina y policaprolactona, quitosano-polietilenglicol, con el fin de determinar la efectividad de cada recubrimiento como biomaterial.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 BIOMATERIALES

Los biomateriales se pueden definir como materiales biológicos comunes tales como piel, madera, o cualquier elemento que reemplace la función de los tejidos o de los órganos vivos. En otros términos, un biomaterial es una sustancia farmacológicamente inerte diseñada para ser implantada o incorporada dentro del sistema vivo³. Los biomateriales utilizados en la elaboración de implantes se utilizan con el fin de reemplazar y/o restaurar tejidos vivientes y sus funciones, lo que implica que estos deben cumplir con una serie de requisitos, entre los que están, ser biocompatibles, es decir, deben ser aceptados por el organismo, no ser tóxicos, ni carcinógenos. Así mismo deben ser inertes y químicamente estables, presentar una adecuada resistencia mecánica, densidades y pesos apropiados. Por último deben ser relativamente económicos, reproducibles y fáciles de fabricar y procesar para su producción a gran escala⁶ en este sentido los biomateriales deben cumplir que:

- Biocompatibilidad: Capacidad del biomaterial para ser tolerado por el organismo o aceptado por el medio biológico que lo va a rodear.
- Biofuncionalidad: Se relaciona con la suficiente estabilidad e integridad para mantener unas condiciones óptimas del proceso curativo.
- Biodegradación: El material debe ser estable en cuanto a su descomposición, rotura de los enlaces y su destrucción o modificación, en un medio tan agresivo como el del organismo humano.

Además, existen varios factores que influyen en estos tres conceptos, tales como:

³ María Cristina Piña Barba "los biomateriales y sus aplicaciones", investigadora adscrita al Instituto en Materiales de la Universidad Nacional autónoma de México, 2010.

⁶ Sandra E. "Modificación superficial de biomateriales metálicos". Revista latinoamericana de metalurgia y materiales, 90p, Vol. 29, Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela. pp 65-76, 2009.

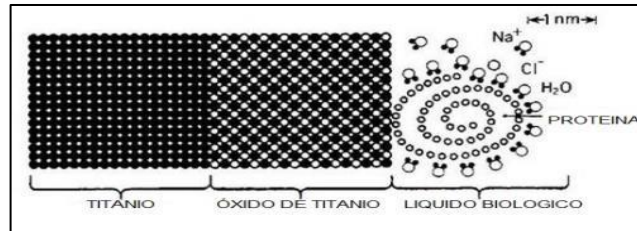
- Factores químicos: La composición del material determina en gran medida su potencial toxicidad.
- Factores eléctricos: Las corrientes de polarización anódica o catódica que presentan los metales rigen su corrosión.
- Factores superficiales: La superficie de un material puede tener características hidrofílicas o hidrofóbicas, lo que condiciona la aptitud de las proteínas para la adsorción y también su tolerancia. En general, los materiales de superficie hidrófila son los mejor tolerados.
- Factores mecánicos: Las interacciones en la interfase entre el tejido y el biomaterial condicionan la respuesta tisular. Se puede formar tejido fibroso mediante fuerzas de tracción o de cizallamiento, y/o tejido óseo por interacción de compresión.
- Factores geométricos: La respuesta biomecánica y fisicoquímica de un biomaterial depende de su morfología, de tal manera que la reacción es diferente si su formulación es compacta o particulada, siendo este último el que genera una mejor respuesta cuantitativa.²⁶

2.2 TITANIO Y SUS ALEACIONES

El titanio y sus aleaciones, son frecuentemente usados como materiales de implante, debido a que presentan buenas propiedades mecánicas y corrosivas, gracias a la formación de una capa pasiva de óxido, la cual presenta una excelente estabilidad, biocompatibilidad y espontaneidad en su formación, ayudando así al desarrollo de numerosas reacciones químicas que ocurren sobre su superficie de esta, para dar paso al crecimiento de las células en el caso de regeneración ósea, como se observa en la Figura 1

²⁶ SAZANA, E. Estudio comparativo de la utilidad de los cementos óseos y vidrios basados en fosfatos de calcio como sustitutivos óseos en defectos cavitarios experimentales. 2004.

Figura 1. Sistema de formación de la capa de óxido TiO₂.



Fuente: Leandro Barragán⁷

Entre los diversos tipos de aleaciones de titanio utilizadas como biomateriales, el Ti₆Al₄V ha sido una muy buena opción. Dicha aleación posee excelentes propiedades mecánicas y resistencia a la corrosión. Sin embargo se presentan dos principales inconvenientes en la utilización de esta aleación como implante, que son: la lixiviación del vanadio y aluminio que podría causar rechazo por el cuerpo humano y la diferencia entre el módulo de la aleación (110 GPa) y el hueso (10-40 GPa) lo que podría causar insuficiente carga del hueso adyacente al implante²⁷. El aluminio tiende a estabilizar la fase α debido a que aumenta su temperatura de transformación a la fase β , proporcionando a la aleación excelentes propiedades de esfuerzo y resistencia a la corrosión a temperaturas superiores que las soportadas en la ausencia de este elemento aleante⁷.

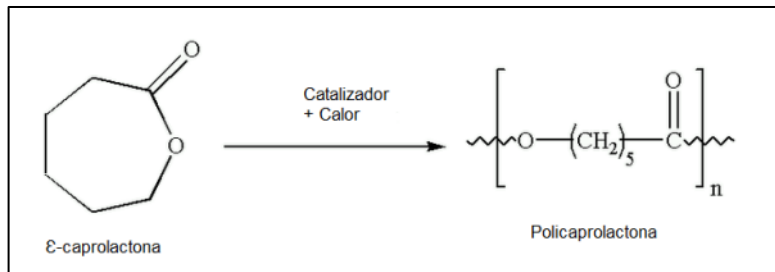
2.3 POLICAPROLACTONA.

Polímero semicristalino con punto de ebullición comprendido entre 59-64°C y una temperatura de transición vítrea de 60°C; la polimerización por apertura de anillo de la ϵ -caprolactona da lugar a la poli (ϵ -caprolactona) o PCL como se puede apreciar en la Figura 2, donde se observa el proceso de síntesis de la policaprolactona.

⁷ Leandro Barragán "UNIDAD 5 BIOMATERIALES" Instituto tecnológico de Tijuana. INTERNET disponible en <http://www.slideshare.net/herovalrey/biomateriales>, 2009

²⁷ SATENDRA KUMAR, "Thermal oxidation of Ti₆Al₄V alloy: Microstructural and electrochemical characterization", National Metallurgical Laboratory, Madras Centre, CSIR Complex, Taramani, Chennai 600 113, India. 2009.

Figura 2. Síntesis de policaprolactona (PCL).



Fuente: COLLET, G.¹¹

La PCL se ha consolidado como uno de los polímeros sintéticos más empleados como biomaterial, gracias a su excelente biocompatibilidad con el cuerpo humano y su capacidad de formar matriz extracelular. Sin embargo, este biopolímero se ve bastante perjudicado por su alta hidrofobicidad (Ángulo de contacto de 80°) y lenta velocidad degradativa. Este polímero sintético se degrada por hidrólisis y la velocidad de dicho proceso depende de la forma, del tamaño del dispositivo y de los aditivos. En el proceso de degradación, primero ocurre una ruptura de cadenas de forma que disminuye el peso molecular, y posteriormente estas cadenas, más pequeñas, son transportadas fuera del sitio de implantación por los fluidos del cuerpo o por fagocitosis, a medida que se descompone el polímero es reabsorbido por las células.⁸

2.4 QUITOSANO

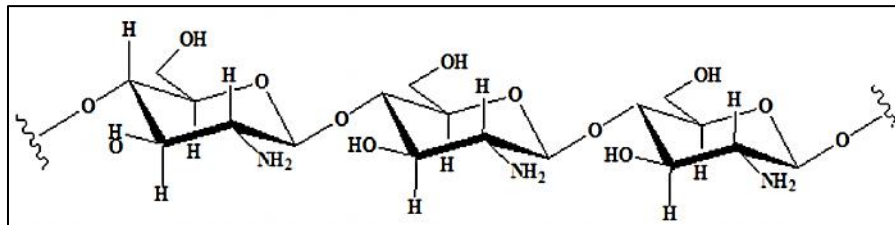
El quitosano es un biopolímero natural, obtenido de un proceso de desacetilación de la quitina presente en los caparazones de crustáceos e insectos cuya estructura se observa en la Figura 3. Al ser un polisacárido de origen natural

¹¹ GEW engineering UV. INTERNET Disponible en <http://www.gewuv.com/es/content/radiaci%C3%B3n-ultravioleta-uv>, 2014.

⁸ REBECA INFANTE "LOS POLIMEROS EN MEDICINA". INTERNET disponible en <http://www.eis.uva.es/~macromol/curso05-06/medicina/contactenos.html>, 2005.

presenta una excelente biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja hidrofobicidad y buena bioactividad; así como excelentes propiedades antibacteriales, que lo han convertido en un biopolímero importante para los biomateriales.

Figura 3. Estructura del Quitosano.



Fuente: ESAM A. EL-HEFIAN²⁸

El quitosano ha sido empleado últimamente como biomaterial en la regeneración de tejido; debido a que no sólo promueve la adhesión de las células, sino también la formación de apatitas con la misma estructura del hueso y con la misma velocidad de crecimiento del tejido¹⁴.

2.5 ALBÚMINA

La albúmina es una proteína que se encuentra en gran proporción en el plasma sanguíneo, siendo la principal proteína de la sangre y a su vez la más abundante en el ser humano. Es sintetizada en el hígado, la concentración normal en la sangre humana oscila entre 3,5 y 5,0 gramos por decilitro, y supone un 54,31% de la proteína plasmática. El resto de proteínas presentes en el plasma se llaman en conjunto globulinas.

²⁸ ESAM A. EL-HEFIAN, "Characterization of Chitosan in acetic acid: Rheologicaand thermal studies" Department of Chemistry, University of Malaya. 2009.

¹⁴ BRICEÑO B., Rubén D. Estudio de la susceptibilidad a la corrosión en presencia de fluidos corporales simulados de una aleación Ti₆Al₄V recubierta con hidroxapatita. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.. Acta Microscópica, Vol. 18, pp 150-159. 2007.

La albúmina es necesaria para la distribución correcta de los líquidos corporales entre el sistema intravascular y el extravascular, localizado entre los tejidos. Una segunda función de la albúmina es la de transportar ácidos grasos (al ser grasas apolares, no se disuelven en un solvente polar, por lo que requieren de una sustancia que se una a ellas y las vuelva solubles, similar a lo que hace un jabón). La albúmina también puede transportar hormonas, drogas y otras sustancias no solubles en un solvente polar como el plasma de la sangre¹⁰.

2.6 POLIETILENGLICOL

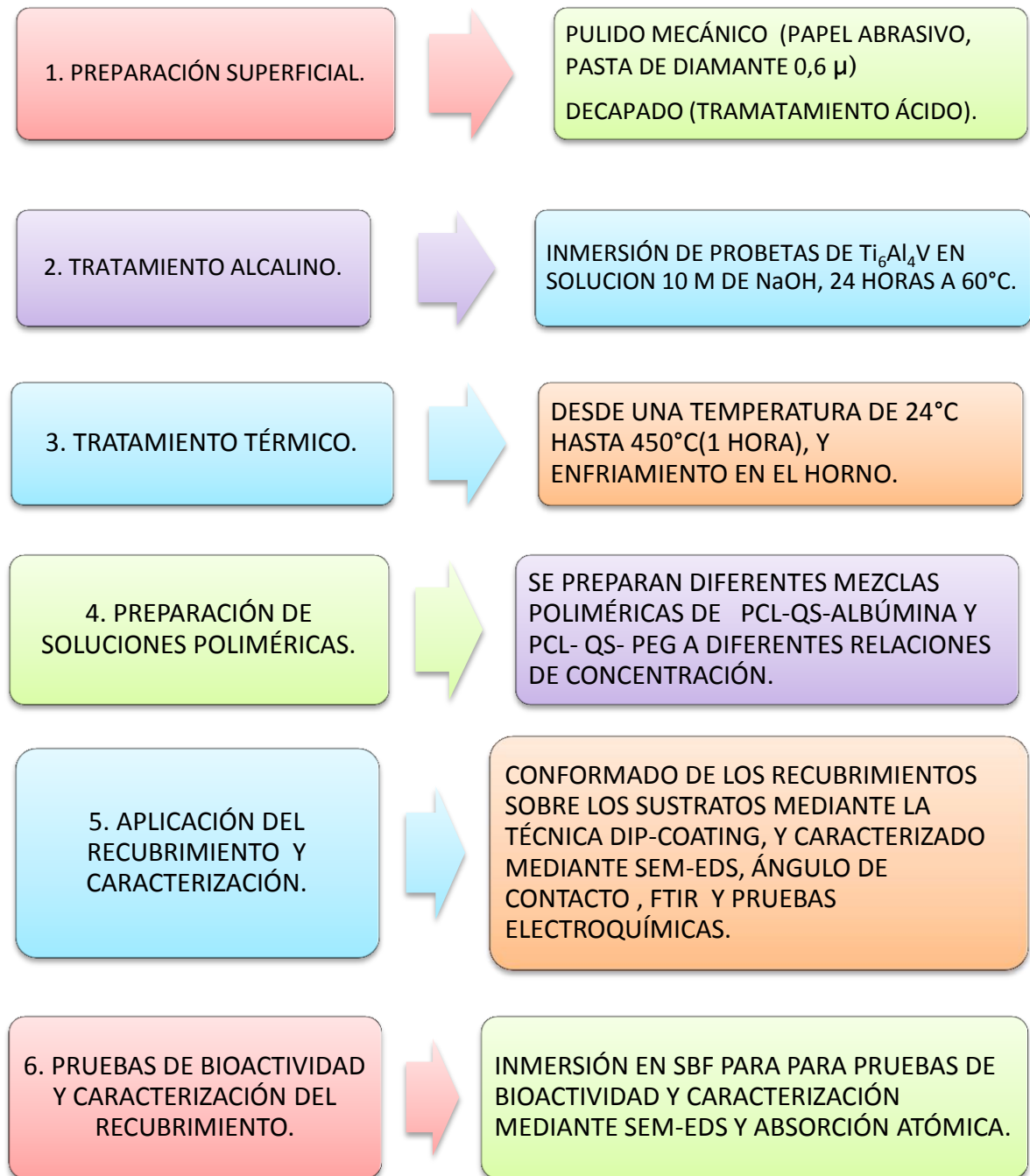
El polietilenglicol o glicol de polietileno (PEG) es un poli-éter con muchas aplicaciones desde la industria manufacturera hasta la industria medicinal, presenta propiedades fisicoquímicas únicas, tales como alto carácter hidrofílico y muy buena solubilidad en agua, es biodegradable, biocompatible y no tóxico, además se acopla a moléculas hidrófobas para producir tensoactivos no iónicos. El PEG es comúnmente utilizado como una matriz para suministro de fármacos, debido a su capacidad de resistir la absorción de proteínas y adhesión celular in vitro. El PEG puede ser usado como revestimiento para mejorar la biocompatibilidad de materiales implantados. El PEG está constituido por una simple cadena polimérica con enlaces éter²⁶.

¹⁰ ALEJANDRO ARANGO CORREA "PROTEINA GLOBULINA Y ALBÚMINA" BIOLOGIA GENERAL. INTERNET disponible en <http://proteinglobulinayalbumina.blogspot.com/>. Octubre del 2010.

²⁶ SAZANA, E. Estudio comparativo de la utilidad de los cementos óseos y vidrios basados en fosfatos de calcio como sustitutivos óseos en defectos cavitarios experimentales. 2004.

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

Figura 4. Metodología empleada en el desarrollo del proyecto de grado.



3.1 PREPARACIÓN SUPERFICIAL.

En el laboratorio de metalografía de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica de la UIS se realizó un pulido mecánico empleando papel abrasivo de carburo de silicio y posterior pulido con pasta de diamante de $0,6\ \mu\text{m}$, siguiendo la norma ASTM E3-0²⁷. Finalmente, se realizó un decapado mediante un tratamiento ácido, en una solución de 3% v/v HF, 20% v/v HNO₃ y agua destilada durante 5 minutos.

3.2 TRATAMIENTO ALCALINO.

Se realizó una activación superficial sobre las probetas de Ti₆Al₄V mediante la inmersión de las muestras en una solución 10 M de NaOH durante 24 horas, almacenada en recipientes de polipropileno a 60°C en un baño hidrotérmico. Posterior a esto las muestras se retiraron y se lavaron con agua destilada y se sometieron a un proceso de secado, que se realizó con el fin de mejorar la rugosidad de la superficie.

Figura 5. Montaje utilizado para tratamiento alcalino de las probetas de Ti₆Al₄V.



²⁷ SATENDRA KUMAR, "Thermal oxidation of Ti₆Al₄V alloy: Microstructural and electrochemical characterization", National Metallurgical Laboratory, Madras Centre, CSIR Complex, Taramani, Chennai 600 113, India. 2009.

3.3 TRATAMIENTO TÉRMICO.

Se realizó un tratamiento térmico del sólido formado con el tratamiento alcalino sobre la superficie del sustrato desde los 24°C hasta una temperatura de 450°C, con el fin de no disminuir la bioactividad por descomposición y cristalización del titanio; esto durante 1 hora a la temperatura final, luego se dejó enfriar dentro del horno hasta temperatura ambiente.

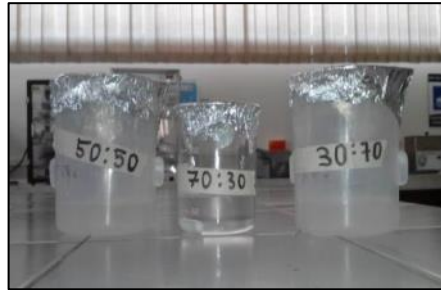
Figura 6. Horno utilizado para el tratamiento térmico de las probetas de Ti_6Al_4V .



3.4 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES POLIMÉRICAS.

Se prepararon soluciones poliméricas de quitosano-albúmina con una relación en peso de 1/1 para luego ser mezcladas con policaprolactona, obteniendo así 3 soluciones con relación 30/70, 50/50 y 70/30, Figura 7, que posteriormente fueron aplicadas sobre las probetas. Se siguió el mismo procedimiento para preparar las soluciones poliméricas de policaprolactona/quitosano-polietilenglicol como se puede apreciar en el Anexo C.

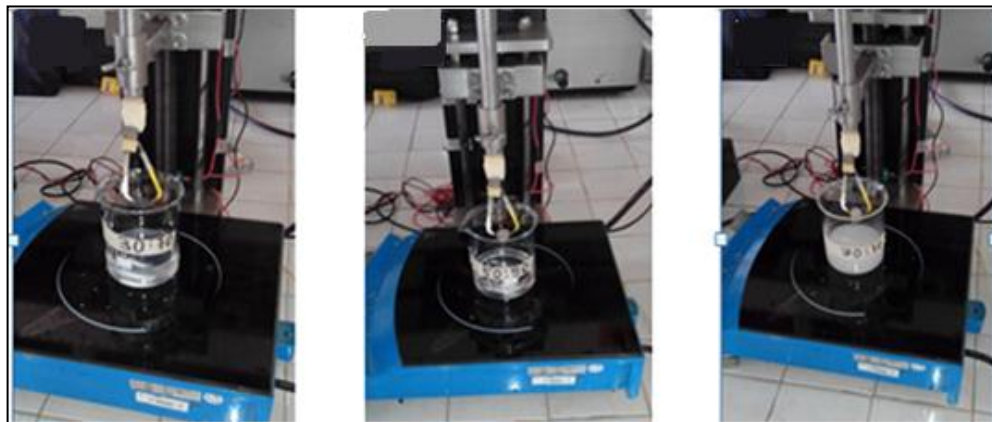
Figura 7. Soluciones poliméricas preparadas para cada una de las relaciones a trabajar.



3.5 APLICACIÓN DEL RECUBRIMIENTO.

Se realizó el conformado de los recubrimientos sobre los sustratos mediante la técnica de Dip-Coating, para la cual se obtuvieron 4 capas de la solución polimérica sobre cada una de las probetas, con un tiempo de secado entre capas de 30 minutos en una estufa de secado a 50°C.

Figura 8. Montaje utilizado para el conformado de los recubrimientos mediante la técnica dip-coating.



Una vez conformados los recubrimientos sobre las muestras de Ti_6Al_4V , se procedió a realizar la caracterización de los recubrimientos mediante medidas de ángulo de contacto, SEM-EDS, análisis FTIR y pruebas electroquímicas.

3.6 PRUEBAS DE BIOACTIVIDAD.

Las pruebas de bioactividad se llevaron a cabo mediante la inmersión de las probetas recubiertas en un fluido corporal simulado (simulated body fluid, SBF), cuya composición es similar a la del plasma sanguíneo como se puede apreciar en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química del fluido fisiológico simulado (SBF) para pruebas de bioactividad in vitro¹⁹

Elementos	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl	HCO_3^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}
Concentración [mM]	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5

El SBF se preparó siguiendo el protocolo de Kokubo disolviendo a 37°C cantidades apropiadas de NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄•3H₂O, MgCl₂•6H₂O, CaCl₂•2H₂O, y Na₂SO₄ en agua desionizada y finalmente se ajustó el pH a 7.25 mediante la adición de HCl y tris (hydroxyl–methyl) aminomethane²⁰. Este ensayo de bioactividad fue desarrollado dejando una probeta de cada relación durante 6 días a una temperatura constante de 37 °C en 20ml de SBF, el cual era renovado cada dos días luego de que se tomará la respectiva alícuota para los análisis por absorción atómica. Posterior a estas pruebas de bioactividad se realizó un análisis por SEM-EDS para evaluar la presencia de fosfatos de calcio en los recubrimientos.

19 KOKUBO, Tadashi. TAKADAMA, Hiroaki. How useful is SBF in predicting in vivo bone activity. Kosugai, Japón. 2006. Biomaterials 27 (2006) 2907-2915.

20 Evaluación de propiedades fisicoquímicas de sustratos capítulo 4 páginas 88 y 89 disponible en internet en [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2685/4_-
_Evaluaci%C3%B3n_de_propiedades_fisicoqu%C3%ADmicas_de_sustratos.pdf?sequence=9](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2685/4/_Evaluaci%C3%B3n_de_propiedades_fisicoqu%C3%ADmicas_de_sustratos.pdf?sequence=9). 2011.

Figura 9. Montaje utilizado en las pruebas de bioactividad para las probetas de Ti_6Al_4V recubiertas.

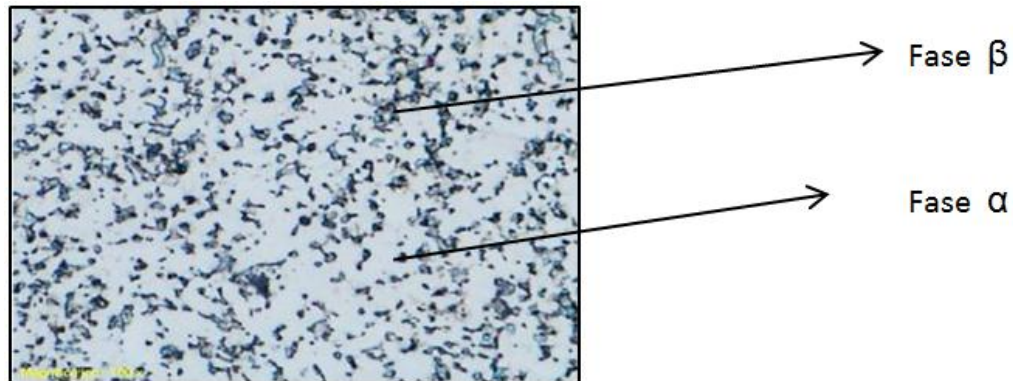


4. RESULTADOS Y ANÁLISIS.

4.1 CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LA ALEACIÓN Ti_6Al_4V .

En la primera fase del estudio se llevó a cabo un análisis microestructural de la aleación Ti_6Al_4V por lo que se realizó un ataque químico con el reactivo kroll, se revelaron dos fases alfa (α) y beta (β), la fase α que forma una matriz, (color blanco) blanda dúctil, sobre la que la precipita la fase beta (Color oscura) dura y frágil, que se encuentra de forma globular, microestructura característica de aleaciones de titanio bifásicas $\alpha+\beta$ ¹². Los granos alargados (fase alfa) brillantes con una estructura (HCP), se encuentran en una matriz oscura (fase beta) que tiene una estructura (BCC). El aluminio estabiliza la fase alfa y el vanadio estabiliza la fase beta.

Figura 10. Micrografía de Ti_6Al_4V atacada con reactivo Kroll por 10 segundos a una magnificación de 2000X.

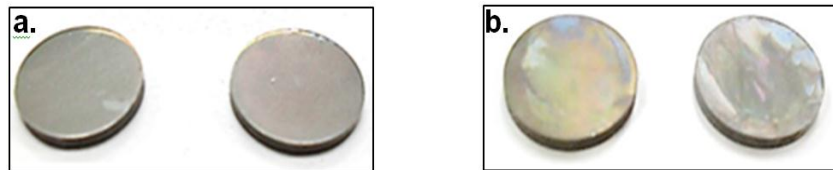


4.2 TRATAMIENTO SUPERFICIAL ALCALINO DE LA ALEACIÓN Ti_6Al_4V .

¹² DONATHIE Jr, M. Titanium: A technical guide. Second Edition. Charter 3 "Understanding the metallurgy of titanium". ASM International. 2000. Página 15. [internet] Disponible en: <http://books.google.com.co/books?id=HgzukknbnGAC&pg=PA15&dq=Ti6Al4V+diagram&hl>. Acceso 17 de diciembre de 2012.

Como se mencionó anteriormente se realizó una activación superficial de la aleación, el resultado de este tratamiento superficial fue la formación de una capa sólida y homogénea que durante el tratamiento térmico se oscureció y mostro diferentes tonalidades como se observa en la Figura 11.

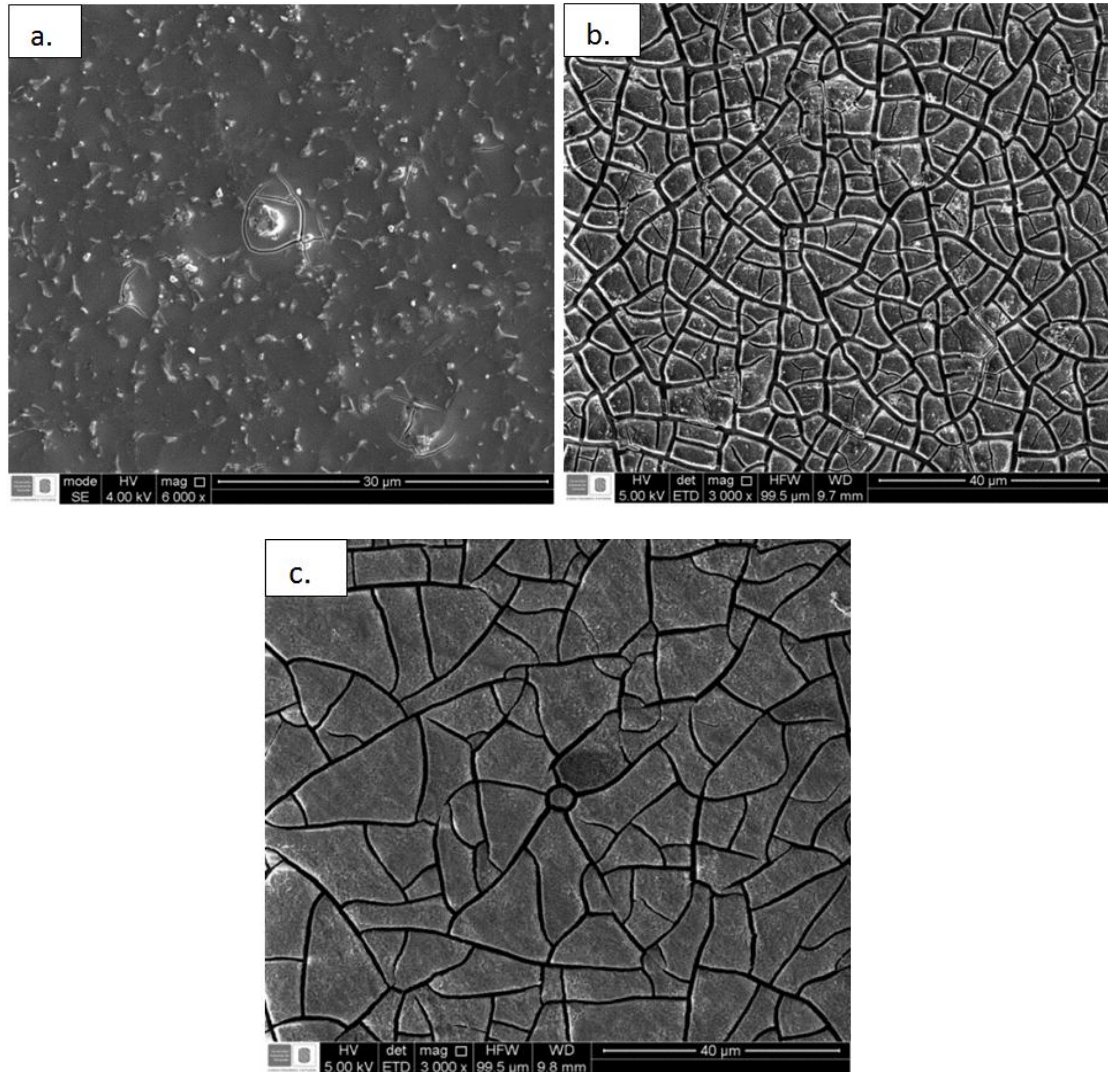
Figura 11. Muestras de Ti_6Al_4V tratadas alcalinamente a) Antes del proceso de calcinación, b) Posterior al proceso de calcinación.



Las muestras con tratamiento alcalino sin calcinar al igual que las muestras calcinadas fueron analizadas mediante microscopia electrónica de barrido (SEM), como se aprecia en la Figura 12. Inicialmente la muestra de Ti_6Al_4V presentó una morfología superficial caracterizada por ser una capa homogénea, no porosa y uniforme como se observa en la Figura 12.a, compuesta principalmente por oxígeno y titanio correspondiente a la formación de un óxido de titanio Anexo D¹³. En la micrografía de la probeta con tratamiento alcalino se puede observar una variación en la morfología de la superficie, ya no se ve una capa homogénea compuesta por óxidos de titanio, pero se ve una estructura granular, figura 12.b; además, se puede observar que el producto del tratamiento térmico a 450°C del sólido, es una densificación del cerámico como resultado de un proceso de sinterización, generando así una disminución de la cantidad de granos, Figura 12.c.

¹³ ZHENG, Y. LIU, X. SUN, J. Antimicrobial and osteogenic effect of Ag-implanted titanium with a nanostructured surface. Shanghai, Republic of China. 2012 [Internet] Disponible en: <http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php>. Acceso 10 de enero de 2013.

Figura 12. Micrografías SEM de muestras de Ti₆Al₄V a) Pulida, decapada y lavada, b) Tratada en solución de NaOH sin calcinación y c) Tratada en solución de NaOH calcinada.

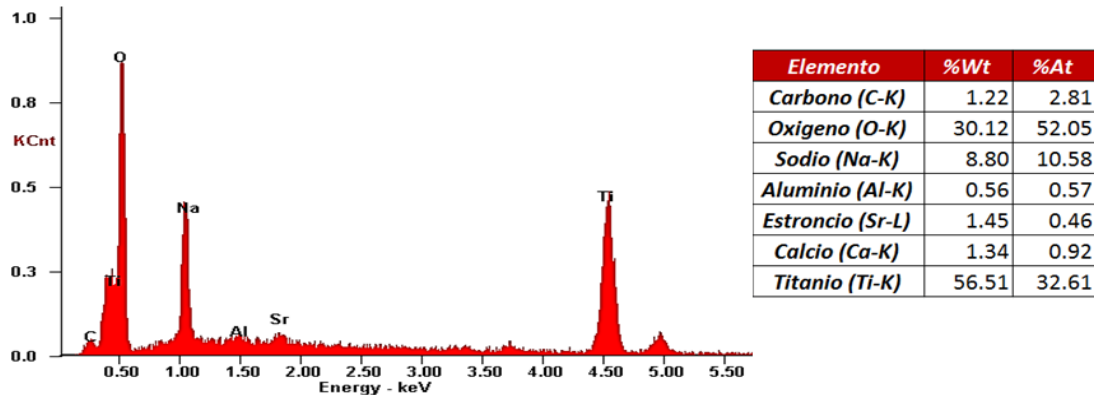


Fuente: Microscopio electrónico de barrido Quanta FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Adicional a esto se realizó un análisis de Espectroscopia de Energía Dispersa (EDS), confirmando con el espectro y el porcentaje atómico de cada elemento, que según la norma ASTM F136. Los espectros EDS de la estructura cerámica después del proceso de calcinación en la Figura 13, muestra la existencia de sodio alrededor del 9 - 11 % atómico en el material formado después del tratamiento

alcalino; de manera que durante éste proceso el ion hidroxilo ingresa a la estructura del óxido de titanio, y al deshidratarse absorbe los cationes de sodio¹⁴,¹⁵.

Figura 13. Espectro EDS de la superficie de Ti₆Al₄V posterior al tratamiento superficial alcalino y tras tratamiento térmico.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Tras la inmersión de las probetas en la solución 10 M de NaOH se encuentran valores de Na similares a los encontrados en el titanato de sodio Na₂Ti₅O₁₁ que se tiende a formar durante este tipo de tratamientos químicos, como se reporta en otros estudios.^{16, 17}

¹⁴ BRICEÑO B., Rubén D. Estudio de la susceptibilidad a la corrosión en presencia de fluidos corporales simulados de una aleación Ti₆Al₄V recubierta con hidroxiapatita. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.. Acta Microscópica, Vol. 18, pp 150-159. 2007.

¹⁵ QUINTERO JAIME ANDRES FELIPE. "OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE SUPERFICIES DE POLICAPROLACTONA-QUITOSANO PATRONADAS POR ABLACIÓN LÁSER", UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER. 2012.

¹⁶ KIM, H. M. MIYAJI, F. KOKUBO, T. Effect of heat treatment on apatite-forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. Kyoto, Japan. Journal of materials & sciences, Material medicine (1997) 341-347. 1998.

¹⁷ BLANCO VERA, Marly X. CARVAJAL REY, Johanna. Obtención de superficies bioactivas sobre el sustrato Ti₆Al₄V mediante patronamiento por litografía láser. Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de INGENIERO METALÚRGICO. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería metalúrgica. Bucaramanga. 2013.

4.3 OBTENCIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS DE POLICAPROLACTONA-QUITOSANO- ALBÚMINA Y POLICAPROLACTONA-QUITOSANO-POLIETILENGLICOL.

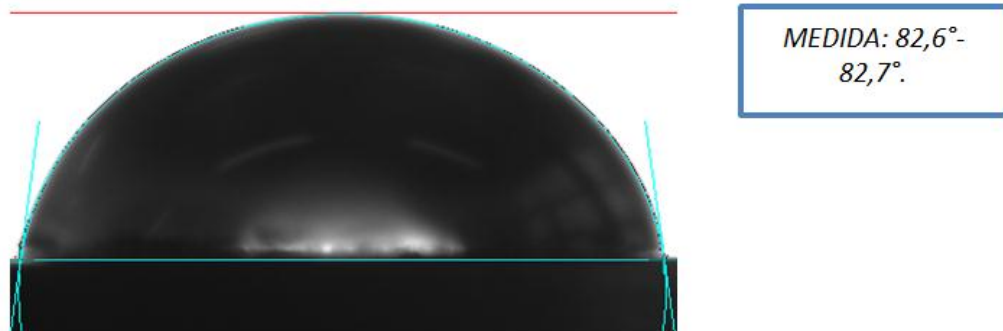
Se trabajaron relaciones de PCL/QS-Albúmina y PCL/QS-PEG (30/70, 50/50 y 70/30), conformadas sobre las probetas mediante la técnica de dip-coating como se menciona en la metodología experimental. Estas fueron caracterizadas por diferentes técnicas, tales como medición de ángulo de contacto, SEM-EDS, FTIR, y pruebas electroquímicas.

4.4 PRUEBAS DE ÁNGULO DE CONTACTO.

Para analizar la mojabilidad que tiene una superficie se utiliza el método de ángulo de contacto. Mediante este método, se logró obtener información en cuanto a que tan hidrofílica o hidrofóbica es la superficie de los recubrimientos biopoliméricos.

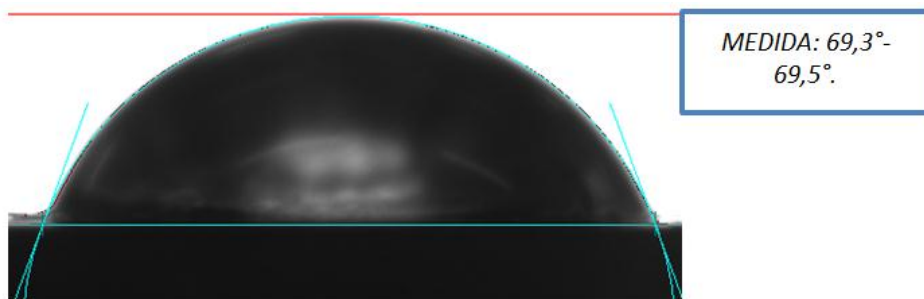
Las medidas de ángulo de contacto se realizaron usando un goniómetro a temperatura ambiente, se utilizó una gota de fluido corporal simulado en contacto con las superficies poliméricas. Los resultados obtenidos en las pruebas de ángulo de contacto se pudieron observar gráficamente donde se puede evidenciar el ángulo que forma la gota con respecto a la horizontal de la superficie de la muestra cómo se muestran a continuación.

Figura 14. Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-ALBÚMINA relación (70/30).



Fuente: Equipo DATAPHYSICS modelo OCA 15EC, software SCA 20 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Figura 15. Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-ALBÚMINA relación (50/50).



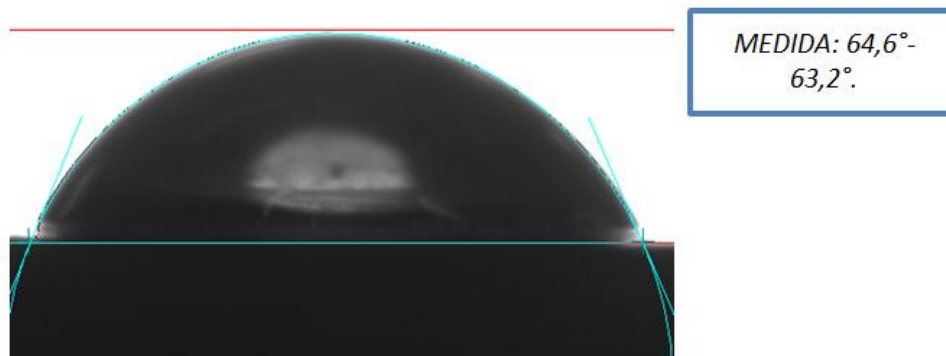
Fuente: Equipo DATAPHYSICS modelo OCA 15EC, software SCA 20 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Figura 16. Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-ALBÚMINA relación (30/70).



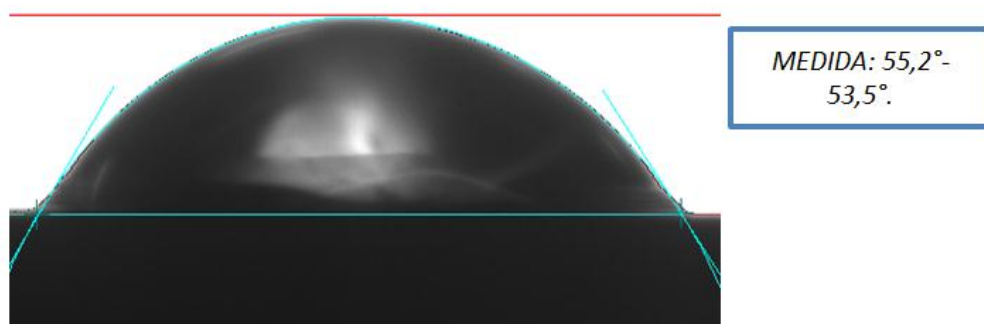
Fuente: Equipo DATAPHYSICS modelo OCA 15EC, software SCA 20 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Figura 17. Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-PEG relación (70/30).



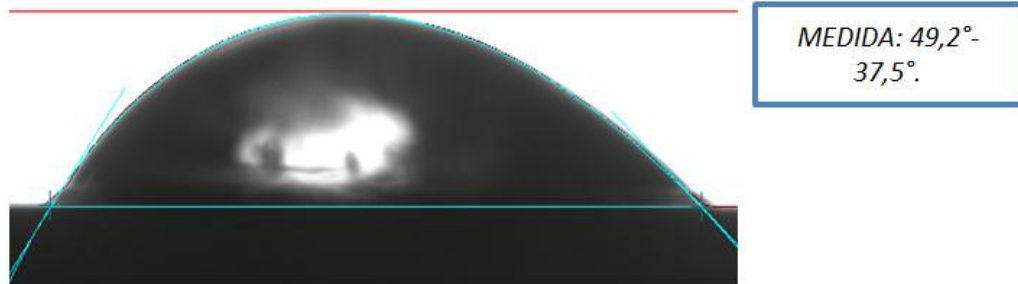
Fuente: Equipo DATAPHYSICS modelo OCA 15EC, software SCA 20 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Figura 18. Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-PEG relación (50/50).



Fuente: Equipo DATAPHYSICS modelo OCA 15EC, software SCA 20 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Figura 19 Medida ángulo de contacto mezcla PCL-QS-PEG relación (30/70).



Fuente: Equipo DATAPHYSICS modelo OCA 15EC, software SCA 20 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

De acuerdo a las figuras anteriores, para las mezclas a base de PCL/QS con albúmina y PEG, dependiendo de las relaciones de las diversas mezclas se evidenció una variación en los resultados de los ángulos formados por la gota de SBF con respecto a la superficie de los recubrimientos, como se puede observar mejor en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de los ángulos obtenidos para los diferentes recubrimientos PCL/QS-Albúmina y PCL/QS-PEG con relaciones 70/30, 50/50 y30/70.

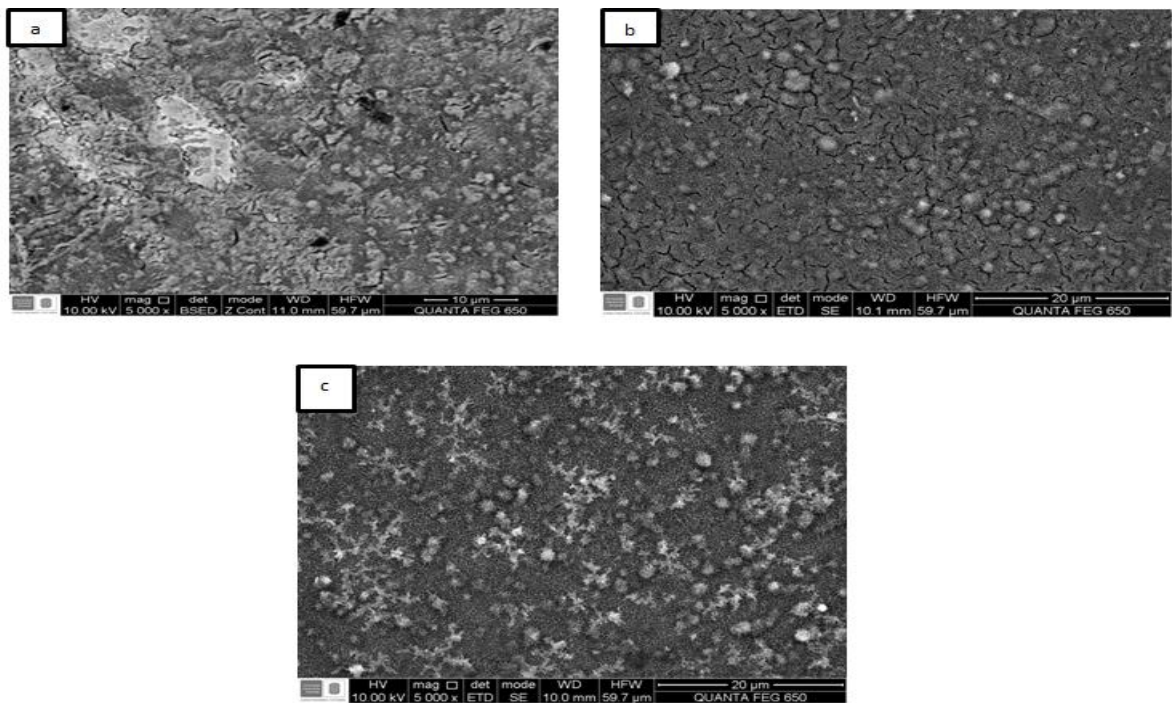
RELACIÓN	PCL/QS-ALBÚMINA		PCL/QS-PEG	
	ÁNGULOS OBTENIDOS		ÁNGULOS OBTENIDOS	
70/30	82,6	82,7	64,6	63,2
50/50	69,3	69,5	55,2	53,5
30/70	51,6	51,4	49,2	37,5

Según la tabla anterior a medida que aumenta la cantidad en peso de la PCL en las mezclas, se obtiene un valor del ángulo mayor debido a su pobres características hidrofílicas; a medida que la PCL disminuye en la mezcla y por tanto el QS como la albúmina y el PEG incrementan, el valor del ángulo disminuye indicando que sus propiedades hidrofílicas aumentan. Es decir, a medida que se incrementa la cantidad de QS, albúmina y PEG, incrementan las características de adhesión, mojabilidad y energía libre superficial del recubrimiento.

4.5 PRUEBAS DE SEM-EDS DE LOS RECUBRIMIENTOS DE PCL/QS-ALBÚMINA Y PCL/QS-PEG.

Las morfologías de los recubrimientos poliméricos conformados se analizaron por microscopia electrónica de barrido, y a continuación se presentan las micrografías de SEM obtenidas para las diferentes relaciones de cada una de las soluciones.

Figura 20. Micrografías SEM del recubrimiento de PCL/QS- ALBÚMINA a diferentes relaciones (a) 30/70, (b) 50/50 y (c) 70/30 conformadas sobre la superficie de la aleación Ti_6Al_4V a 5000X.



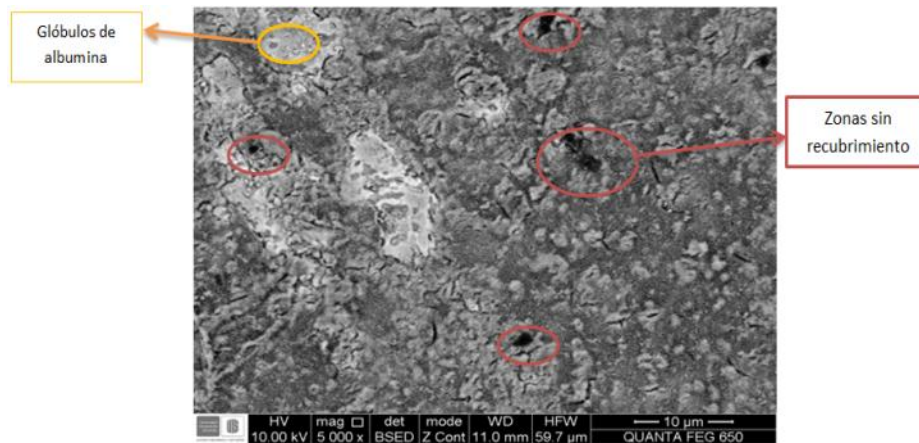
Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatimar.

Como se puede evidenciar en las micrografías de Ti_6Al_4V los recubrimientos de PCL/QS- Albúmina obtenidos sobre las probetas por medio de la técnica Dip-Coating, presentan una estructura porosa con morfología similar a la del quitosano poroso sobre una matriz de PCL según lo reportado en otros estudios

[21]. Bajo estas condiciones de síntesis el contenido de PCL en la solución puede alcanzar alrededor del 70 % en peso e incluso puede llegar a ser más alto.

En las micrografías obtenidas para la relación 30/70 Figura 20.a, se puede observar una estructura compuesta por quitosano sobre una matriz de PCL, además de esto se puede evidenciar pequeños glóbulos de albúmina²². Sin embargo, la distribución del recubrimiento no es homogénea sobre toda la superficie, como se muestra en la Figura 21.

Figura 21. Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS-Albúmina relación 30/70 a 5000x.



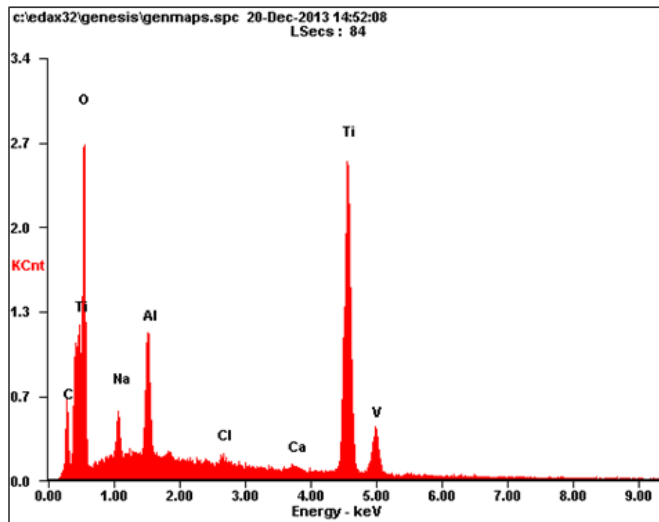
Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatimar.

En la Figura 21, se pueden observar zonas oscuras en las cuales no se adhiere el recubrimiento, esto posiblemente debido a la baja cantidad de PCL, por lo que se genera una capa poco densa y continua en la superficie de la muestra. La albúmina es la proteína más abundante en la sangre humana, por tal razón la utilización en el recubrimiento ayuda a disminuir la velocidad de corrosión de las

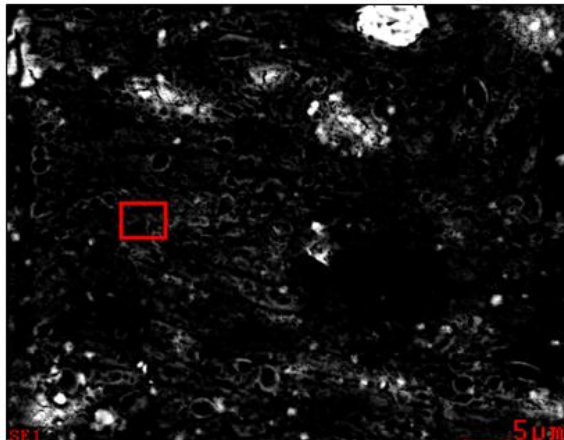
²² VICTORIA WAGENER, MANUELA S. KILLIAN, C. METEHAN TURHAN, SANNAKAISA VIRTANEN. "Albumin coating on magnesium via linker molecules—Comparing different coating mechanisms". Department of Material Science and Engineering, Chair for Surface Science and Corrosion, Friedrich-Alexander University Erlangen-Nuremberg, 2012.

muestras alargando el tiempo de vida útil de las mismas²². En la Figura 22 se observa una composición química con alto porcentaje de Ti y Na, similar a la composición inicial de la superficie del titanato de sodio, esto corrobora que para bajas concentraciones en peso de PCL quedan zonas sin recubrimiento.

Figura 22. Micrografía SEM y espectro EDS de una superficie de PCL/QS-ALBÚMINA con relación 30/70.



Element	Wt%	At%
CK	02.55	06.43
OK	22.90	43.27
NaK	01.57	02.06
AlK	04.12	04.61
ClK	00.60	00.51
CaK	00.63	00.48
TiK	66.01	41.67
VK	01.62	00.96
Matrix	Correction	ZAF

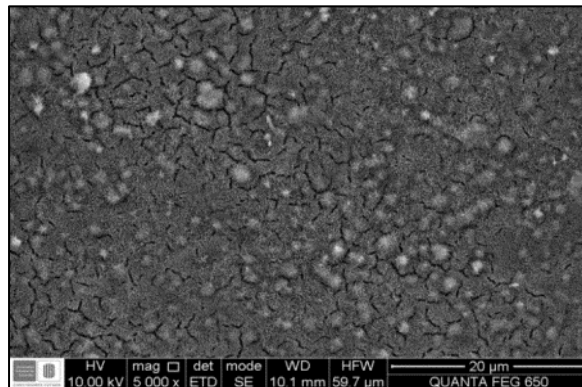


Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Para el caso de la relación 50/50 de la mezcla PCL/QS- Albúmina, se puede observar una capa más densa sobre la superficie de la muestra, Se puede evidenciar una microestructura compuesta por una morfología porosa, relacionada

con la cantidad presente de quitosano en la solución. Además se pueden evidenciar la precipitación de dos fases de PCL sobre la matriz del QS, una en forma de glóbulos situados principalmente bajo la superficie de la película del QS la cual es la responsable de producir la rugosidad de la superficie²³. También se puede evidenciar la precipitación de fases alrededor de la matriz de QS, estas fases se presentan como una red oscura pertenecientes a la PCL como se observa en las Figuras 23 y 24. En estas micrografías también se pueden observar precipitados globulares de albúminas blancas y brillantes distribuidos en toda la muestra que tienden a disminuir a medida que se disminuye su cantidad en peso²⁴.

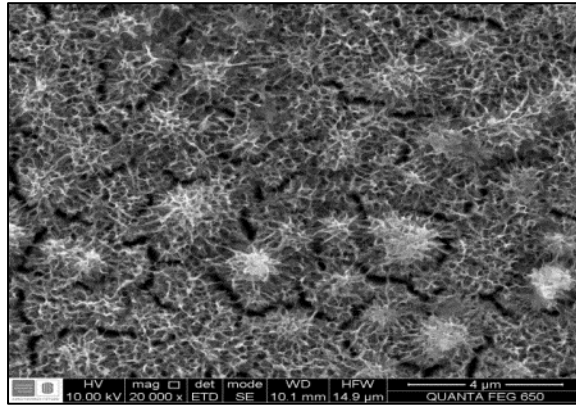
Figura 23. Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS-Albúmina relación 50/50 a 5000x.



²³ APARNA REDDY, Sarasam. Chitosan- polycaprolactone mixtures as biomaterials - influence of surface morphology on cellular activity. Oklahoma, USA. 2006. [Internet] Disponible en: <http://digital.library.okstate.edu/etd/umi-okstate-1981.pdf>. Acceso 28 de noviembre de 2012.

²⁴ DAVID VILLA, HUGO RUIZ, "Evaluación del comportamiento de la albúmina de huevo, como inhibidor en una aleación de Ti₆Al₄V expuesta en un medio fisiológico simulado". UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER, ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE LOS MATERIALES, BUCARAMANGA, 2014.

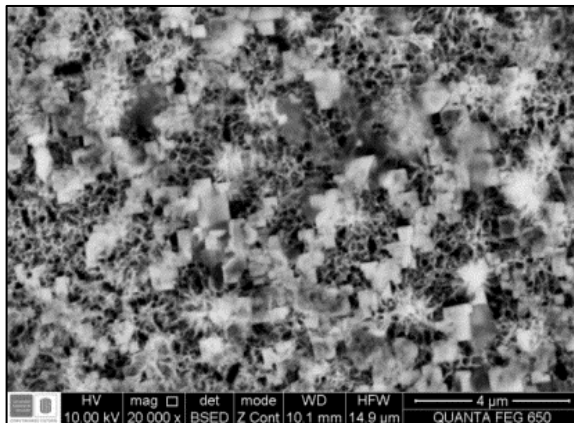
Figura 24. Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS-Albúmina relación 50/50 a 20000x.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

En la Figura 25 se pueden observar las micrografías para las relaciones 70/30, en ellas se puede evidenciar una mayor precipitación de glóbulos de PCL en sobre la matriz del QS, es por esto que se obtiene un recubrimiento más homogéneo compacto y denso que cubre toda la superficie de la muestra.

Figura 25. Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS- ALBÚMINA relación 70/30 a 20000x.



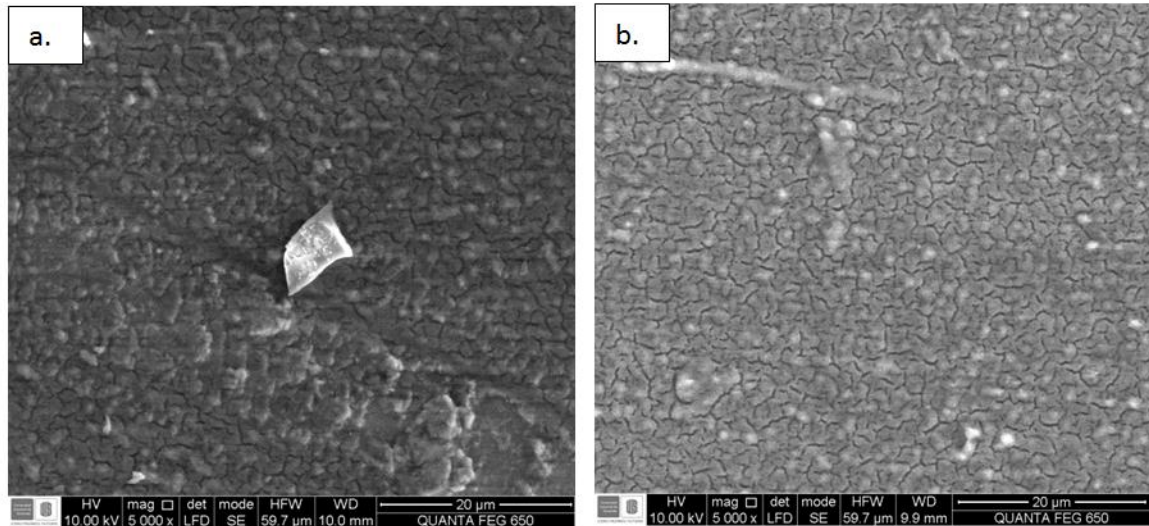
Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

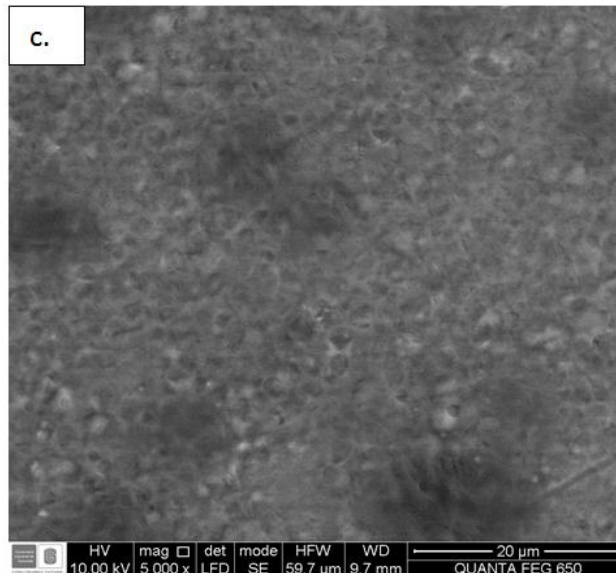
En comparación de los tres recubrimientos 30/70, 50/50 y 70/30, se evidencia que a medida que aumenta la cantidad de PCL en la mezcla se obtienen

recubrimientos más densos y homogéneos sobre las superficies de las probetas, disminuyendo así sus condiciones de porosidad y aumentando la cantidad glóbulos de PCL precipitados con tamaños uniformes y distribuidos sobre la matriz del quitosano, producto de una sobresaturación en el solvente que hace que precipite en la matriz como glóbulos.

Para el caso de los recubrimientos de PCL/QS-PEG, se encontraron diferencias en cuanto a la morfología del recubrimiento.

Figura 26. Micrografías SEM del recubrimiento de PCL/QS- PEG a diferentes relaciones (a) 30/70, (b) 50/50 y (c) 70/30 conformadas sobre la superficie de la aleación Ti_6Al_4V a 5000X.





Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

Las micrografías de los recubrimientos de PCL/QS- PEG a diferentes relaciones, evidencian la morfología superficial y porosidad de los recubrimientos, esta porosidad fue menor que la encontrada para los recubrimientos de PCL/QS- Albúmina, producto de la adición de PEG a la solución polimérica. El PEG no es tóxico, por lo que resulta ideal para aplicaciones biológicas que puede ponerse en contacto con el cuerpo humano sin causar efectos adversos; el PEG proporciona la propiedad de encapsular células y por tal razón se puede usar con propósitos de ingeniería de tejidos²⁶.

En la micrografía de la relación 30/70 para la solución PCL/QS- PEG, se puede evidenciar una alta porosidad debido a que la cantidad en peso de QS en la solución es la más alta de las tres relaciones, en la Figura 26.a. Según otros estudios realizados la adición de QS incrementa la porosidad de los recubrimientos, por lo cual las propiedades superficiales aumentan. Tales como

²⁶ SAZANA, E. Estudio comparativo de la utilidad de los cementos óseos y vidrios basados en fosfatos de calcio como sustitutos óseos en defectos cavitarios experimentales. 2004.

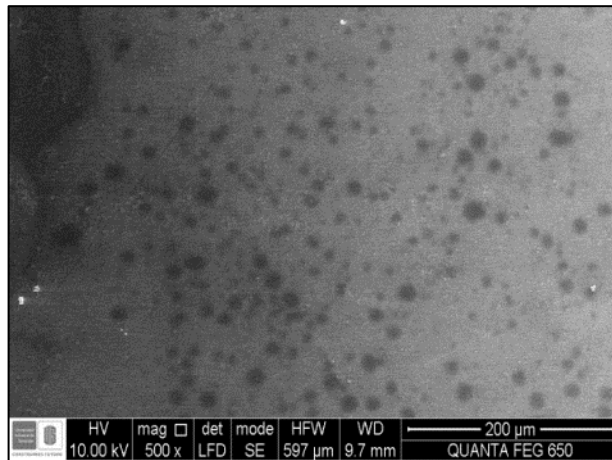
biocompatibilidad, actividad antimicrobiana y carácter hidrofílico facilitando la adhesión, proliferación y diferenciación celular ²⁹.

Para el recubrimiento en relación 50/50, se observa una superficie más lisa, homogénea, densa y continua, Figura 26.b. Esto se genera debido a que la cantidad de QS disminuye, al igual que la cantidad de PEG, razón por la cual los precipitados globulares que se observaron en la micrografía de la relación 30/70 disminuyen, pero se ven mejor distribuidos en toda la superficie; para esta relación 50/50 se obtiene una porosidad interconectada controlable para dirigir y aumentar la precipitación de los fosfatos de calcio.

Para las micrografías obtenidas de la relación 70/30, Figura 26.c, se puede evidenciar que la superficie es más lisa; se esperaría una película de recubrimiento completamente lisa, pero se observan rugosidades producto de la porosidad existente relacionada con la cantidad presente de QS en la solución. También se puede observar que para la relación 70/30 se da una precipitación de glóbulos de PCL en toda la estructura de la matriz. Como se puede corroborar en la Figura 27.

²⁹ Olivas-Armendáriz, P. García-Casillas, R. Martínez-Sánchez. "PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN D". Instituto de Ingeniería y Tecnología, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. 2009.

Figura 27. Micrografía SEM del recubrimiento de PCL/QS- PEG relación 70/30 a 500x.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650 ubicado en la sede UIS Guatiguará.

En las morfologías observadas se puede evidenciar que a medida que aumenta la cantidad de PEG en la solución disminuye considerablemente la rugosidad de la superficie ³¹. En estas micrografías se logra evidenciar que el recubrimiento que brinda las propiedades más óptimas para la precipitación de los fosfatos de calcio es la relación 50/50, ya que este recubrimiento proporciona las mejores propiedades en cuanto a la rugosidad y la formación de una película poco porosa sobre la superficie del sustrato de Ti_6Al_4V .

³¹ EVANGELOS TZIAMPAZI, JOACHIM KOHN, PRABHAS V. MOGHE. "PEG-variant biomaterials as selectively adhesive protein templates: model surfaces for controlled cell adhesion and migration". Department of Chemical and Biochemical Engineering, Rutgers University. 2000.

4.6 ANÁLISIS DE LOS RECUBRIMIENTOS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).

El análisis FTIR es usado ampliamente para determinar los componentes de distintos compuestos orgánicos, cuando estos son expuestos a radiación infrarroja²⁰.

Los espectros infrarrojos obtenidos para los recubrimientos a base de policaprolactona-quitosano desarrollados en la tesis de grado “*Obtención y evaluación de superficies de policaprolactona-quitosano patronadas por ablación láser*”¹⁵. Se observaron los estiramientos y flexiones en las diferentes bandas de los grupos funcionales encontrados en la mezcla polimérica de PCL-QS, siendo los recubrimientos con relación 50/50 los que presentan mayor intensidad en las emisiones de los grupos funcionales amino e hidroxilos, generando una mejor y mayor interacción con el medio fisiológico, lo que teóricamente promovería el proceso de osteointegración^{15, 37}.

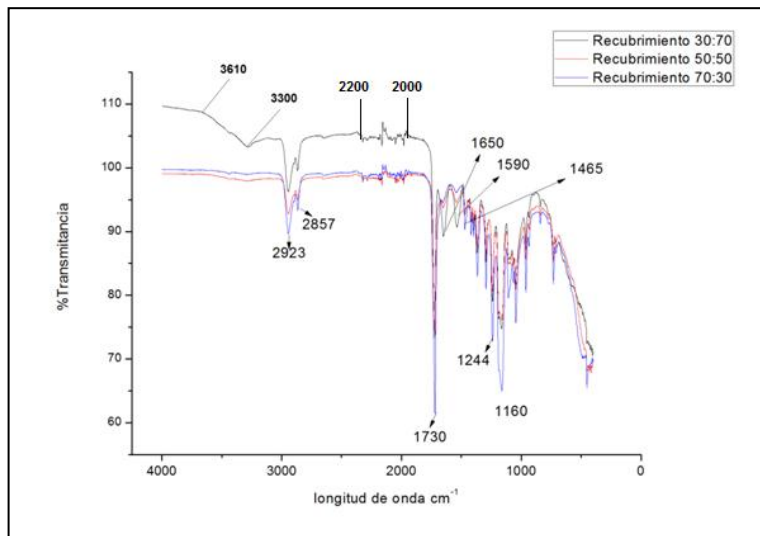
En la Figura 28 se muestran los espectros obtenidos para los recubrimiento PCL-QS-albúmina, donde observamos las diferentes bandas de absorción de la mezcla.

²⁰ Evaluación de propiedades fisicoquímicas de sustratos capítulo 4 páginas 88 y 89 disponible en internet en http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2685/4_-_Evaluaci%C3%B3n_de_propiedades_fisicoqu%C3%ADmicas_de_sustratos.pdf?sequence=9. 2011.

¹⁵ QUINTERO JAIME ANDRES FELIPE. “OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE SUPERFICIES DE POLICAPROLACTONA-QUITOSANO PATRONADAS POR ABLACIÓN LÁSER”, UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER. 2012.

³⁷ REYES CERVANTES, Eric. RUBIO ROSAS, Efraín. Crecimiento en fluido fisiológico simulado de hidroxiapatita sobre películas de PMMA-silice-CaO. Puebla, México. Revista Scielo, Volumen 24, Nro 3, pp 148-153. 2011.

FIGURA 28: Espectro infrarrojo FTIR superpuestos para cada uno de los recubrimientos PCL-QS-ALBÚMINA aplicados sobre las muestras de Ti_6Al_4V .



FUENTE: Equipo NICOLET iS50 FT-IR ubicado en la sede UIS Guatimará.

Los espectros infrarrojos obtenidos para cada una de las películas poliméricas ya conformadas sobre los sustratos mostraron semejanzas en la los picos de emisión de los enlaces de la mezcla polimérica presentados en el rango de longitud de onda entre 40 a 4000 cm^{-1} . Se observa que para la mezcla polimérica con una relación 30/70, siendo para este caso el porcentaje en peso de la mezcla quitosano-albúmina mayor que el de la policaprolactona, la presencia de un estiramiento asimétrico de los 3300 a 3610 cm^{-1} debido a los grupos hidroxilo (R-OH) presentes en los anillos del quitosano. El pico a los 2923 cm^{-1} es asignado a la tensión asimétrica del enlace C-H y para el pico cercano pero con un intensidad más baja es asignado a la tensión simétrica del metilo (CH_2) a una longitud de onda de 2857 cm^{-1} , estando este presente para el caso del quitosano en la mezcla. El estiramiento para la molécula de C-O característico de la policaprolactona y el quitosano es mostrado a una longitud de onda de 1244 cm^{-1} .

Las bandas de absorción observadas en el rango de frecuencias de 2200 cm^{-1} y 2000 cm^{-1} son llamadas sobretonos o combinaciones de bandas vibracionales de

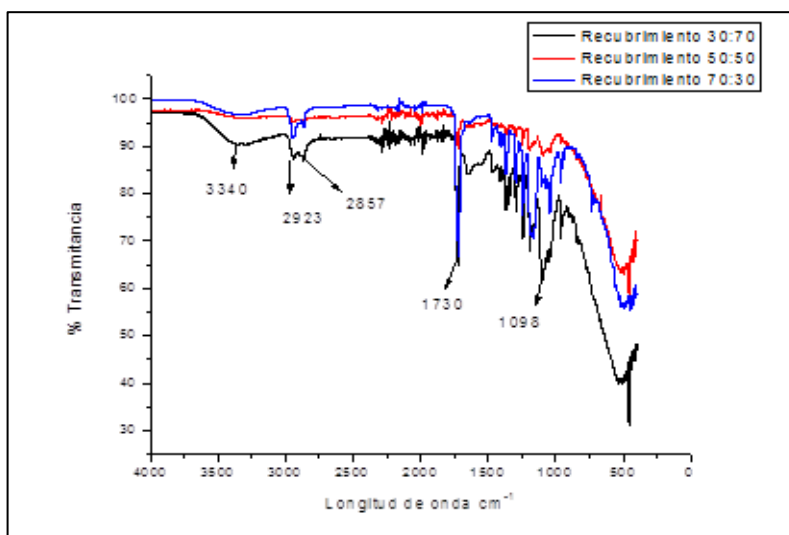
tensión que se producen en regiones de alta frecuencia, las cuales se pueden encontrar dentro de las moléculas proteicas de la albúmina^{38, 39}. Como se puede observar en cada uno de los espectros patrones de los polímeros utilizados, policaprolactona, quitosano y albúmina en los Anexos E, F y G respectivamente.

Las respectivas bandas de absorción características a 3340 cm^{-1} y 1098 cm^{-1} para los grupos hidroxilos (O-H) fueron encontradas en el espectro FTIR del PEG como se puede observar en el Anexo H. Esta banda de los 3340 cm^{-1} es observada con mayor intensidad para el recubrimiento con relación 30/70, debido a que en este es mayor el porcentaje en peso del PEG. Consecuentemente el contenido de PEG disminuye, la intensidad de la banda para los grupos hidroxilo presentes en este también disminuye. Como es de esperarse igualmente se encuentran presente las bandas correspondientes a la tensión asimétrica de los enlaces C-H y la de tensión simétrica del metilo (CH_2) características para el quitosano presente en la mezcla, observando también el estiramiento en la banda de 1730 cm^{-1} para los grupos carbonilo (C=O) de la policaprolactona, como podemos observar en la Figura 29.

³⁹ DOUGLAS A. SKOOG, JAMES J. LEARY, Análisis instrumental, Mc Graw-Hill , pag:335-338. 1994.

³⁸ JACKLYN DEPHOFF Generalidades del FT-IR. Recurso electrónico disponible en: http://www.ehowenespanol.com/ftir-sobre_156331. 2003.

FIGURA 29: Espectro infrarrojo FTIR superpuestos para cada uno de los recubrimientos de PCL-QS-PEG aplicados sobre las muestras de Ti_6Al_4V .



FUENTE: Equipo NICOLET iS50 FT-IR ubicado en la sede UIS Guatiguará.

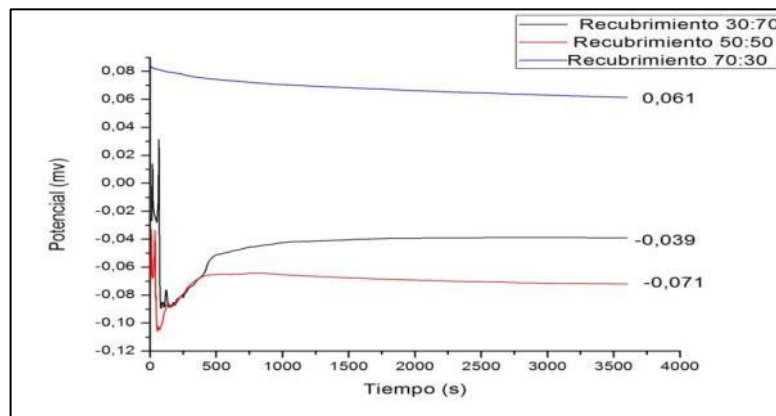
La naturaleza hidrofílica del PEG y los grupos funcionales de este mencionados con anterioridad, proporcionan un acople a las moléculas hidrófobas de la PCL, generando así tensoactivos con ausencia de grupos funcionales dissociables, en los cuales se forman sitios activos para dar inicio al proceso de nucleación y así mismo mejorar la adhesión de la hidroxiapatita. Por tal motivo la relación donde más se va a favorecer este crecimiento para el caso del recubrimiento de PCL-QS-PEG es el de 50/50, debido al equilibrio entre sus contenidos, tomando provecho de las propiedades que aportan cada uno de los polímeros por igual [40].

4.7 ANÁLISIS MEDIANTE PRUEBAS ELECTROQUÍMICAS

4.7.1 Potencial de circuito abierto (OCP). El análisis de las gráficas de potenciales de circuito abierto constituye una herramienta útil para la comprensión de la disolución de un metal en un medio dado [41]. Para nuestro caso analizamos el comportamiento del recubrimiento frente a un fluido corporal simulado (SBF). Esta representación gráfica indica que a mayores potenciales, hay un carácter

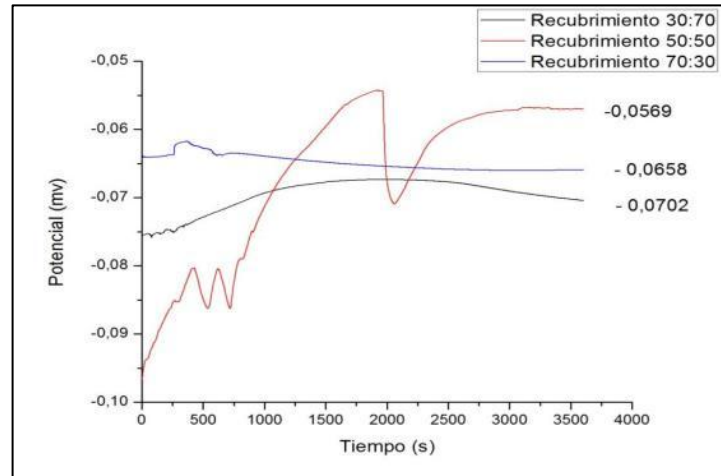
protector por parte de la película frente a la corrosión del sustrato. El recubrimiento con una relación de 70/30 para el caso de la mezcla PCL/QS-Albúmina muestra el valor de potencial de circuito abierto más elevado y estable a 0,061mv como se observa en la Figura 30.

Figura 30. Representación gráfica de las curvas de potencial de circuito abierto para las tres relaciones poliméricas trabajadas para el recubrimiento PCL/QS-Albúmina.



Para la mezcla de PCL/QS-PEG, la relación de 50/50 presenta el mayor valor de potencial a -0,0569mv como se puede apreciar en la Figura 31, esto indica que para este potencial más bajo y por tanto más noble se obtuvieron recubrimientos más compactos homogéneos y con una porosidad interconectada.

Figura 31. Representación gráfica de las curvas de potencial de circuito abierto para las tres relaciones poliméricas trabajadas para el recubrimiento PCL/QS-PEG.



Un potencial bajo indicara una mayor actividad de este recubrimiento frente a la corrosión, como es el caso de la relación 50/50 para el recubrimiento de PCL/QS-Albúmina que muestra un valor de -0,071mv y -0,0702mv en la relación 30/70 para los recubrimientos de PCL/QS-PEG, anotando así que los recubrimientos con el menor valor de OCP presentan una mayor velocidad de disolución en el fluido corporal simulado.

4.7.2 Resistencia a la polarización (RP). La velocidad de corrosión puede ser analizada o calculada mediante la resistencia a la polarización de una superficie frente a un electrolito conductor. La ecuación de Stern- Geary, establece la relación entre la densidad de corriente (i_{corr}), es decir, la velocidad de corrosión, con la resistencia a la polarización. De manera que cuando se tiene una menor resistencia a la polarización, la velocidad de corrosión es más acelerada, debido a que estas dos variables son inversamente proporcionales, siendo la pendiente de la parte lineal de las curvas de polarización la que representa dicha resistencia a la polarización ⁴¹.

⁴¹ DENNY A. JONNES "Principles and prevention of corrosion. Second edition.".1996.

Las curvas de resistencia a la polarización características para cada uno de los recubrimientos de PCL/QS-PEG y PCL/QS-Albúmina junto con la representación lineal para el cálculo de la pendiente son mostradas en los Anexo I Y J respectivamente.

Los valores de las pendientes en la parte lineal de las curvas de polarización para los recubrimientos se muestran en la Tabla 3, indicando de esta manera que la relación 50/50 es aquella con el mayor valor de RP, por ende, la que presenta velocidades de corrosión más baja en comparación a las otras relaciones de concentración para el recubrimiento de PCL/QS-PEG y para el recubrimiento de PCL/QS-Albúmina, 70/30 es la relación con un mayor valor de RP, siendo esta quien ofrece la mayor resistencia al deterioro frente al electrolito. Datos que coinciden con el comportamiento observado en las gráficas de potencial de circuito abierto para todos los recubrimientos estudiados donde igualmente se concluyó que las relaciones de 50/50 y 70/30 para los recubrimientos de PCL/QS-PEG Y PCL/QS-Albúmina respectivamente, son quienes ofrecen una mayor resistencia al deterioro por corrosión al interactuar con el electrolito.

Tabla 3. Valores de RP para cada uno de los recubrimientos evaluados.

Recubrimientos de PCL/QS-PEG	
Relación	Resistencia a la polarización RP (Ω)
70/30	2521,4
50/50	68016
30/70	43639
Recubrimientos de PCL/QS-ALBÚMINA	
70/30	1E+06
50/50	956117
30/70	23727

4.7.3 Espectroscopia de impedancia electroquímica EIS. El análisis de la información generada por la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica depende, del tipo de información que el usuario requiera, para lo que pueden considerarse dos tipos de análisis, el gráfico y el ajuste de datos a circuitos equivalente.

En estudios de corrosión, el análisis gráfico de un espectro de impedancia permite obtener parámetros relacionados con la cinética de corrosión de un metal en un medio dado ⁴¹.

La presencia de porosidades en el recubrimiento genera sitios de alta actividad frente al electrolito. Estos sitios activos disminuyen la capacidad resistiva de las películas frente a las especies electro-activas del medio o especies que suelen transformarse en otras como consecuencia de una reacción electroquímica. Así mismo, estos sitios activos o bien pueden ser vistos como porosidades, reflejan valores menores de resistencia a la transferencia de carga. De acuerdo a las conclusiones obtenidas con base en las diferentes técnicas de caracterización como SEM y los ensayos OCP Y RP, donde se observó para los recubrimientos de PCL/QS-Albúmina y PCL/QS-PEG que la película con mayor presencia de porosidad es la de 30/70, debido a la estructura del quitosano en el recubrimiento. Realizando los análisis en los diagramas de Nyquist para cada una de las películas, detallados en los Anexos K y L, se pueden evidenciar valores de transferencia de carga bajos para las películas con relación 30/70 en los dos recubrimientos obtenidos. Resultados que coinciden con trabajos anteriores [15]; donde resaltaron que las películas de PCL-QS con relaciones 70/30 y 50/50 presentan mayor resistencia a la transferencia de carga en comparación con la muestra de relación 30/70 que presenta bajos valores.

⁴¹ DENNY A. JONNES "Principles and prevention of corrosion. Second edition." 1996.

Resaltando de este modo para las películas con mayor contenido en peso de quitosano, la mayor presencia de porosidad que son las que actúan como sitios activos, permitiendo aumentar la interacción entre el fluido fisiológico y la superficie del biopolímero conformado, favoreciendo así la precipitación de fosfatos de calcio

4.8 PRUEBAS DE BIOACTIVIDAD *IN VITRO*

Una manera de evidenciar la funcionalidad de un sustituto óseo es por medio de su bioactividad. Como alternativa a las pruebas in vivo para materiales experimentales en el campo de los biomateriales surgen las pruebas in vitro, tales como la inmersión en soluciones fisiológicas simuladas o artificiales. Estas pruebas permiten corroborar, de una manera más sencilla y eficiente, si un material es bioactivo, por medio de la formación de una capa de apatita en la superficie del material. Disminuyendo así tanto la cantidad como el tiempo utilizado en la realización de las pruebas biológicas³².

Las apatitas son un mineral que pertenece a la familia de los fosfatos de calcio. El fosfato de calcio es el principal constituyente del hueso. La hidroxiapatita ha sido considerada uno de los principales constituyentes del hueso y de la parte mineralizada del cartílago. Los materiales biocompatibles forman en su superficie una capa de carbonato conteniendo hidroxiapatita que es similar a la apatita del hueso, la cual in vivo se une al mismo. El proceso de formación de apatitas requiere consumo de iones de calcio y fósforo de los alrededores del fluido corporal. El fosfato de calcio usa iones OH^- , CO_3^{2-} , Na^+ , K^+ y Mg^{2+} de la solución simulada hasta que cristaliza en hidroxiapatita^{35,36}.

³² MIRIAN MARÍN MIRANDA, "Pruebas de bioactividad en materiales usados para la regeneración ósea", Ciencias odontológicas Básicas, Facultad de Odontología UNAM. 2013.

³⁵ VALLES A, GALLEJO G, MONLEON P. Biomedic apatite coating on P(EMA-co-HEA)/SiO₂ hybrid nanocomposites. Polymer 50, 2874-2884. 2009.

³⁶ OLIVEIRA A, COSTA S, SOUSA R Y REIS. (2009). Nucleation and growth of biomimetic apatite layers on 3D plotted. Biodegradable polymeric scaffolds: Effect of static and Dinamyc coating conditions. Acta biomaterialia 5, 1626-1638. 2009.

En la tabla 4 se reportan los fosfatos de calcio más comunes y sus respectivas proporciones de Ca/P.

Tabla 4. Relación Ca/P para los fosfatos de calcio más comunes.

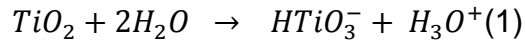
NOMBRE	ABREVIATURA	FÓRMULA	Ca/P
Fosfato tetracálcico	TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2.0
Hidroxiapatita	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67
Hidroxiapatita deficiente de calcio	CDHA	$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})_2$	1.5
Fosfato de calcio amorfo	ACP	$\text{Ca}_{10-x}\text{H}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	
Fosfato tricálcico (α,β)	TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Fosfato octacálcico	OCP	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
Fosfato dicálcico (Monetita)	DCP	CaHPO_4	1.0
Fosfato dicálcico dihidratado (Brushita)	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.0
Fosfato monocálcico monohidratado (MCPM)	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.5

FUENTE: Edgardo Santiago Sanzana Salamanca³³

Durante el proceso de precipitación sobre los recubrimientos, se dan reacciones químicas en la interfase entre el material y la solución SBF, el titanio y las aleaciones de titanio generalmente se envuelven por una película de protección de óxidos compuesta por tres capas de diferentes TiO (interiores capa en contacto con el metal), Ti_2O_3 (capa intermedia) y TiO (capa externa). El Ti_2O_3 y TiO al estar en contacto con el medio oxidante se transforman en TiO_2 , el cual se disuelve parcialmente en la solución debido al ataque corrosivo por grupos hidroxilo, el óxido reacciona con el agua produciendo hidratos cargados negativamente tales como el HTiO_3^- producido en la superficie del sustrato Formula 1³³, por lo que se genera un aumento local del pH producto de la saturación de iones OH^- , que junto con unas condiciones termodinámicas y cinéticas adecuadas, induciría las siguientes reacciones ácido-base; en las que los fosfatos ácidos formados reaccionan con los iones hidroxilo produciendo el ion

³³ XUANYONG LIU, PAUL K. CHU, CHUANXIAN DING, "Surface nano-functionalization of biomaterials", Laboratory of Inorganic Coating Materials, Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China. 2010.

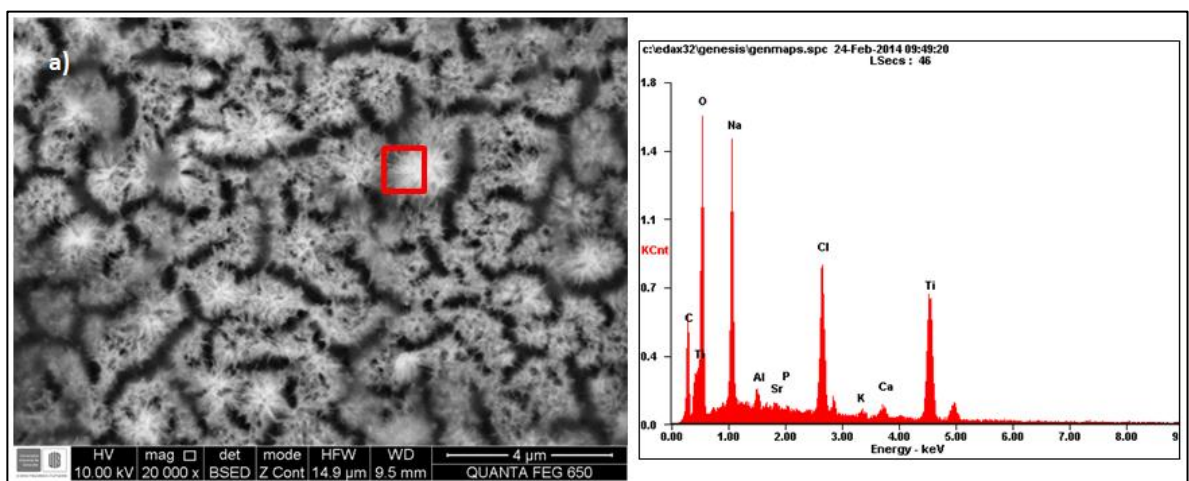
fosfato, el cual es indispensable para que se produzca la precipitación de la hidroxiapatita.

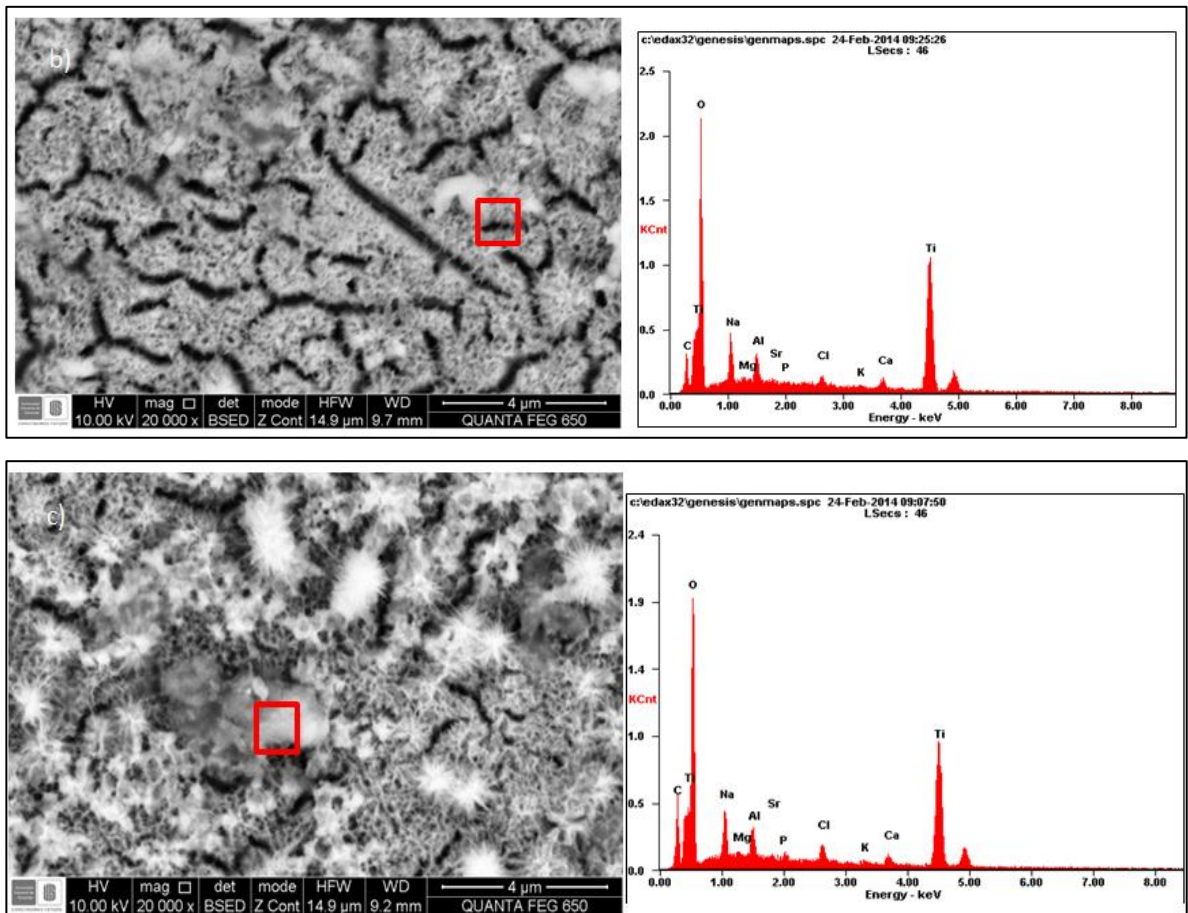


La formación de este ion permite la interacción y migración del calcio hacia el óxido que permite la formación de un titanato de calcio que actúa como nucleante para la formación del ion fosfato (PO_4^{3-}) y carbonato (CO_3^{2-}), estudios anteriores revelan que el ion carbonato está presente en los fosfatos de calcio biológicos del cuerpo ³⁴.

Como se mencionó anteriormente luego de seis días de inmersión de las muestras en SBF y tomando alícuotas cada dos días, para los dos recubrimientos obtenidos de PCL/QS- Albúmina y PCL/QS- PEG, y a diferentes relaciones 70/30, 50/50 y 30/70, resultados que fueron evaluados mediante técnicas de caracterización como SEM-EDS, como se muestra a continuación:

Figura 32. Micrografías SEM y espectros EDS de los recubrimientos de PCL/QS-Albúmina después de días de inmersión en fluido SBF: a) Película con relación 30/70 b) Película con relación 50/50, y c) Película relación 70/30.





Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650.

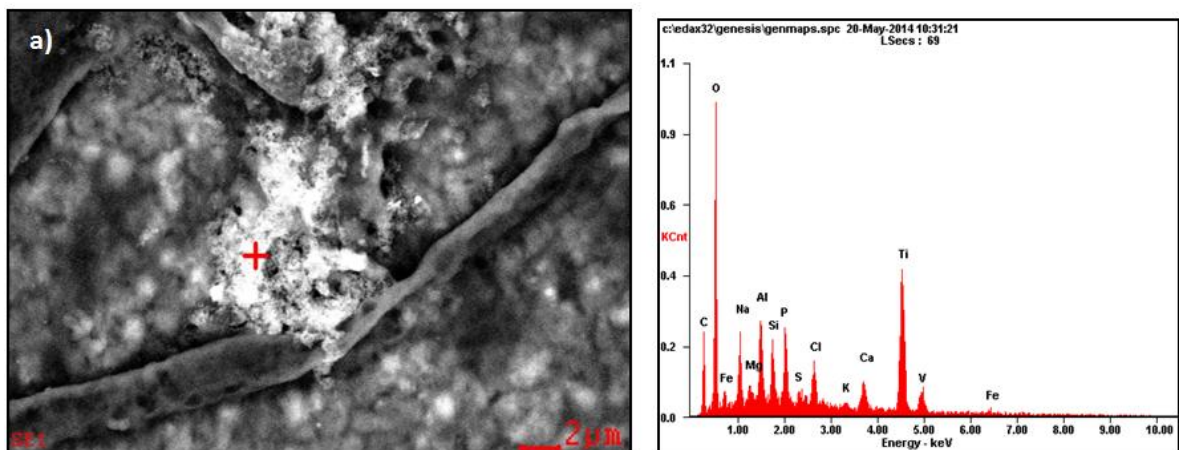
Para las soluciones PCL/QS- Albúmina a relaciones 70/30, 50/50 y 30/70 no se obtuvieron resultados satisfactorios, puesto que se encontraron valores de Ca/P, de 4.31, 3,85 y 11,84 respectivamente. Como se puede evidenciar en la Tabla 4, estos valores no corresponden a ninguno de las relaciones para los fosfatos de calcio. Esto producto de una posible ruptura de las cadenas carbonatadas de la albúmina al entrar en contacto con el ácido acético durante su preparación. Esto se puede evidenciar mejor en las Figuras 32.a. b. y c.

Las superficies de PCL/QS-Albúmina después de 6 días de inmersión presentan una baja formación de una capa homogénea de fosfatos de calcio, indicando que el recubrimiento tiene bajas características bioactivas. A pesar que los espectros

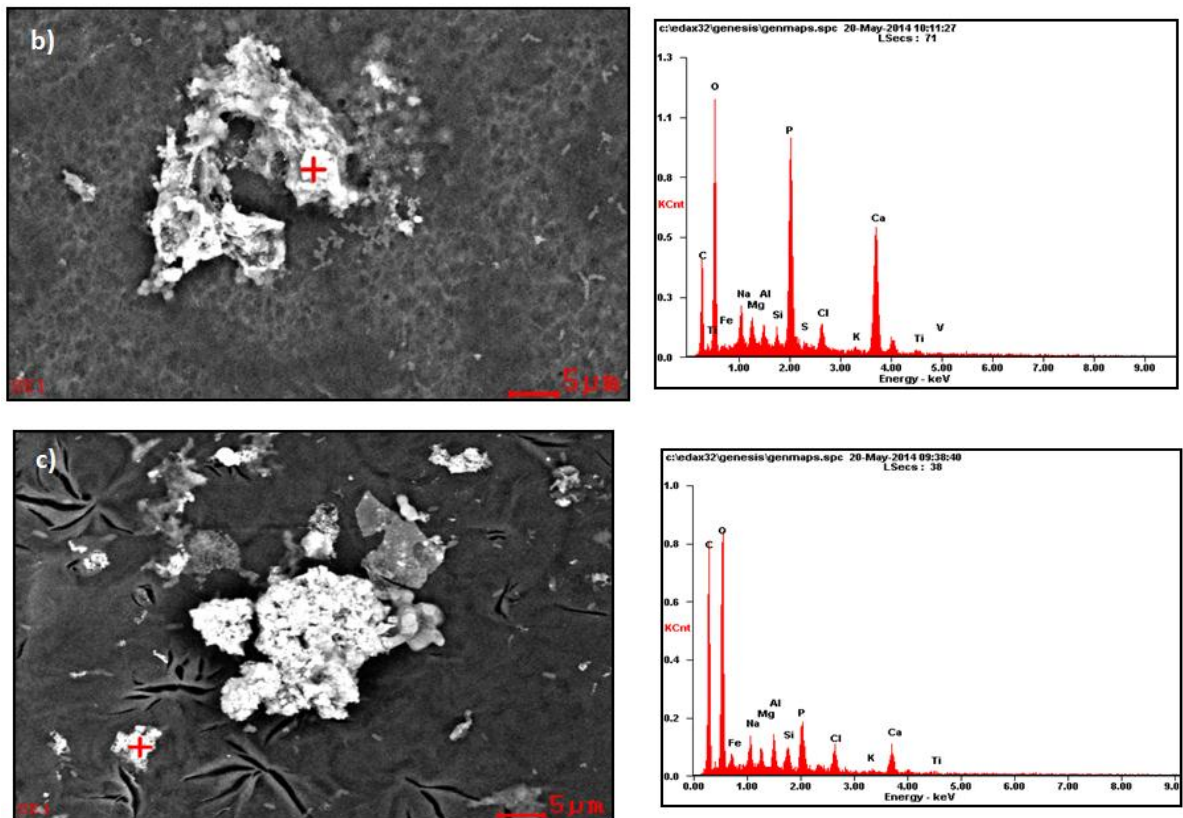
EDS de la Figuras 32.a. b. y c, indican una adsorción de iones de calcio y fosforo, no se precipitaron los fosfatos de calcio los cuales se observan como aglomerados que forman una capa continua en forma de coliflores compuestas por esferas de 1 a 5 μm ³³, indicando que las condiciones morfológicas, como la rugosidad porosidad y demás de este recubrimiento no son las adecuadas para tener el carácter bioactivo. En estas micrografías se pueden evidenciar la precipitación de cristales de hidróxido de calcio en toda la superficie de la muestra³⁴.

Los recubrimientos de PCL/QS- PEG a relaciones 70/30, 50/50 y 30/70 inmersas en SBF durante seis días, mostraron nucleación y crecimiento de los fosfatos de calcio en la superficie, lo que sugiere que estos tienen un comportamiento bioactivo, como se puede evidenciar en las Figuras 33.a. b. y c.

Figura 33. Micrografías SEM y espectros EDS de los recubrimientos de PCL/QS-PEG después de días de inmersión en fluido SBF: a) Película con relación 30/70 b) Película con relación 50/50, y c) Película relación 70/30.



³³ XUANYONG LIU, PAUL K. CHU, CHUANXIAN DING, "Surface nano-functionalization of biomaterials", Laboratory of Inorganic Coating Materials, Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China. 2010.
³⁴ FU LIU, JILIN XU, FUPING WANG, LIANCHENG ZHAO, TADAO SHIMIZU, "Biomimetic deposition of apatite coatings on micro-arc oxidation treated biomedical NiTi alloy". School of Materials Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, PR China, Department of Applied Chemistry, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, PR China, Department of Life and Environmental Science, Chiba Institute of Technology, Chiba 275-0016, Japan. 2010.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650.

Con la ayuda de los espectros EDS se puede evidenciar la precipitación de fosfato de calcio en las superficies de los recubrimientos de las relaciones 30/70, 50/50 y 70/30 Figuras 33.a, b. y c., sobre estos obtuvieron una relación de Ca/P 1,16, 1,64 y 1,15 respectivamente. Obteniéndose así diferentes tipos de fosfatos de calcio sobre las superficies de los recubrimientos, fosfato dicálcico dihidratado $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ para las relaciones 30/70 y 70/30 el cual tiene una relación de Ca/P cercana a 1. Para la relación 50/50 se obtiene la precipitación de hidroxiapatita (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ la cual tiene una relación 1,64 cercana a la de la HA 1,67 como lo muestra la Tabla 4.

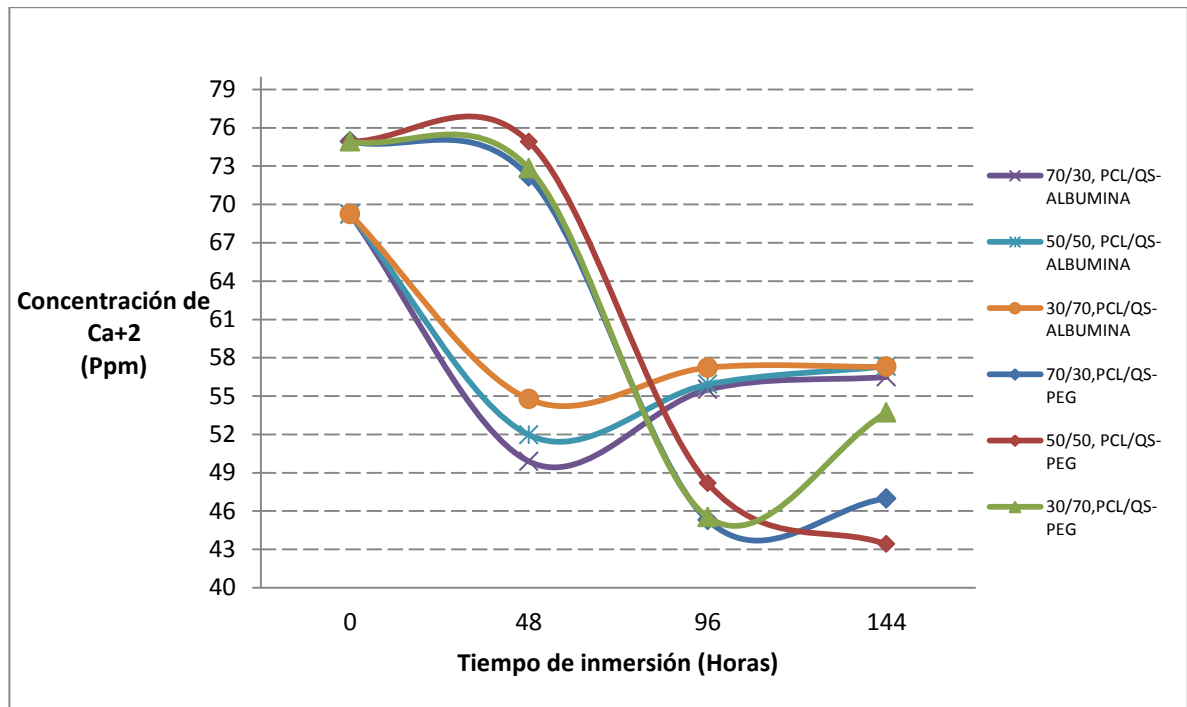
Como se pudo evidenciar los recubrimientos de PCL/QS-Albúmina registran unas pobres propiedades bioactivas, puesto que en ninguna de las relaciones se logró obtener la precipitación de los fosfatos de calcio, demostrado por la relación Ca/P

y con ayuda de los espectros EDS, Figura 32. Caso contrario para el recubrimiento de PCL/QS-PEG, en el cual se lograron obtener diferentes tipos de fosfatos de calcio en las tres relaciones 70/30, 50/50 y 30/70, siendo 50/50 la que mejores propiedades bioactivas mostró, seguido del de 70/30 y por último el de 30/70, puesto que se registra una precipitación alta de Ca y P en la superficie del recubrimiento, como se puede evidenciar en la Figura 33.b, donde se observan picos altos para el Ca y P.

En la Figura 34, se puede evidenciar que la variación de los iones calcio de la solución SBF, se puede observar que esta variación para los recubrimientos de PCL/QS-Albúmina en diferentes relaciones 70/30, 50/50 y 30/70, fue mínima puesto que la concentración de calcio en la solución SBF al finalizar los seis días de inmersión fue muy cercana a la inicial, corroborando así las pobres propiedades bioactivas de los recubrimientos.

Caso contrario para los recubrimientos de PCL/QS-PEG, en los cuales se evidencia una variación mayor de la concentración de calcio de la solución SBF al finalizar los seis días de inmersión. Se corroboran los datos obtenidos en los espectros EDS Figuras 33 a., b. y c, donde según la relación Ca/P precipitan fosfatos de calcio en las tres relaciones con las cuales se trabajaron. Fosfato dicálcico dihidratado para las relaciones 70/30 y 30/70, y HA (hidroxiapatita) para la relación 50/50.

Figura 34. Curvas de Concentración de calcio en el fluido SBF vs. Tiempo de inmersión.



Fuente: Espectrofotómetro BUCK-SCIENTIFIC 210.

En esos espectros se evidenció que para la relación 50/50 se obtuvieron picos muy altos de Ca y P, en la Figura 33 b. se evidencia que este recubrimiento fue el que mayor variación obtuvo en la concentración de calcio en la solución, alrededor de los 43 ppm de Ca, esto se traduce en la adsorción y precipitación de los fosfatos de calcio "HA", lo que induce que este recubrimiento ofrece las mejores condiciones en cuanto a rugosidad, porosidad, carácter hidrofílico y demás, que permiten una mayor precipitación HA la cual actúa como mediadora en la integración del hueso aumentado así sus características bioactivas.

5. CONCLUSIONES

- La adición de Albúmina a la mezcla polimérica de PCL/QS no fue favorable, ya que se presenta una reducción en el carácter bioactivo de toda la película como se pudo observar en los estudios de bioactividad, al igual que su morfología, resistencias al deterioro frente al electrolito y la formación de enlaces entre grupos funcionales no fueron las más óptimas para lograr sobre estas el proceso de formación de HA.
- La adición de PEG a la mezcla polimérica de PCL/QS ofrece propiedades bioactivas consideradas buenas, debido a que se dio el proceso de formación de cristales de HA luego del proceso de inmersión durante 6 días en SBF, lo cual se pudo comprobar con los análisis de las pruebas de caracterización SEM-EDS y absorción atómica. Resaltando que las condiciones fisicoquímicas como morfología, homogeneidad en el recubrimiento, su carácter hidrofílico, resistencias al deterioro frente al electrolito y presencia de sitios activos en el recubrimiento fueron favorables al momento de llevarse a cabo el inicio del proceso de formación de HA sobre la película polimérica conformada.
- La naturaleza hidrofílica del PEG y los grupos funcionales presentes en este como los hidroxilos (O-H), proporcionan un acople a las moléculas hidrófobas de la PCL, favoreciendo la formación de sitios activos para dar inicio al proceso de nucleación de fosfatos de calcio y mejorar la adhesión de estos mismos. Esto, sumado a la presencia del quitosano en el recubrimiento aumenta la posibilidad de que se genere un proceso de nucleación y crecimiento de cristales de apatitas en el recubrimiento. Por tal motivo la película con relación 50/50 para los recubrimientos de PCL/QS-PEG es aquella donde se logró observar una mayor formación de cristales de HA sobre la película en comparación con las películas 70/30 y 30/70, debido al equilibrio manejado en esta relación para cada uno de los polímeros por separado y a que en este se

encontraron valores de relación Ca/P de 1.64, valor muy cercano al estipulado en bibliografías consultadas para la HA.

- El recubrimiento polimérico PCL/QS-PEG no se había utilizado hasta el momento, pero gracias a este estudio se pudo evidenciar que la utilización de este recubrimiento puede mejorar las propiedades de Biocompatibilidad, Bioactividad y Biofuncionalidad de metales utilizados como sustitutos óseos utilizados en la actualidad.

6. RECOMENDACIONES

- Debido a que un gran número de estudios han ilustrado los excelentes efectos que tiene el PEG en la actividad y conformación de proteínas en solución, recomendamos desarrollar un recubrimiento de PCL-QS-Albúmina-PEG para posteriormente aplicarlos sobre el sustrato de Ti_6Al_4V , con el fin de favorecer aún más el crecimiento de fosfatos de calcio.
- Se recomienda implementar alguna técnica de Patronamiento como la de radiación UV con rejillas, litografía laser o Dip pen sobre recubrimientos de PCL/QS-PEG con la cual se pueda garantizar una morfología superficial específica con presencia de sitios activos que promuevan la nucleación y fijación de los fosfatos de calcio sobre las películas poliméricas.
- Gracias a las excelentes propiedades bioactivas de PCL/QS-PEG se sugiere hacer estudios más a fondo con el fin de observar su comportamiento frente a la respuesta celular y por tanto proliferación celular ante un cultivo de células.

BIBLIOGRAFÍA

APARNA. Sarasam. Chitosan-polycaprolactone mixtures as biomaterials - influence of surface morphology on cellular activity. Oklahoma, USA. 2006. Disponible en: <<http://digital.library.okstate.edu/etd/umi-okstate-1981.pdf>>.

ARANGO C. ALEJANDRO. Proteína globulina y albúmina. Biología general. 2010. Disponible en: <<http://proteinaglobulinayalbumina.blogspot.com/>>.

BARRAGÁN. Leandro. Unidad 5 biomateriales. Instituto tecnológico de Tijuana. 2009. Disponible en: <<http://www.slideshare.net/herovalrey/biomateriales>>.

BLANCO. Marly, CARVAJAL. Johanna. Obtención de superficies bioactivas sobre el sustrato Ti_6Al_4V mediante patronamiento por litografía láser. Trabajo de grado. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander. 2013.

BRICEÑO. Rubén D. Estudio de la susceptibilidad a la corrosión en presencia de fluidos corporales simulados de una aleación Ti_6Al_4V recubierta con hidroxiapatita. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Acta Microscópica, Vol. 18. 2007. 150-159p.

D.F. Williams. The science and applications of biomaterials. Int. Journal of Materials and Technology. 1995. 360-377p.

DAVID. Hugo Ruiz. Evaluación del comportamiento de la albúmina de huevo, como inhibidor en una aleación de Ti_6Al_4V expuesta en un medio fisiológico simulado. Trabajo de grado. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander. 2014.

DONATHIE Jr, M. Titanium: A Technical guide. Understanding the metallurgy of titanium. Second Edition. Chapter 3. ASM International. 2000. 15p. Disponible en: <<http://books.google.com.co/books?id=HgzukknbnGAC&pg=PA15&dq=Ti6Al4V+diagram&hl>>.

DOUGLAS A. Skoog, JAMES J. Leary. Análisis instrumental. Mc Graw-Hill. 1994. 335-338p.

E. Sandra. Modificación superficial de biomateriales metálicos. Revista latinoamericana de metalurgia y materiales. Vol. 29, Universidad Simón Bolívar. Caracas. 2009. 65-76 pp.

ESAM. El-Hefian. Characterization of Chitosan in acetic acid: Rheologicaand thermal studies. University of Malaya. 2009

ESTRADA. Catalina, PAZ. Ana Cristina, LÓPEZ. Luis Ernesto. Ingeniería de tejido óseo: Consideraciones Básicas, Ingeniera Biomédica, CES-EIA. Grupo de Investigación en Ingeniería Biomédica EIA-CES (GIBEC). 2006

EVANGELOS. Joachim Kohn, PRABHAS. Moghe. PEG-variant biomaterials as selectively adhesive protein templates: model surfaces for controlled cell adhesion and migration. Rutgers University. 2000.

FLÓREZ. Juan Mendoza, DURAN. Rubén. Espectroscopia de impedancia electroquímica en Corrosion. UNAM. Instituto Mexicano del Petróleo. 2005.

FU. Liu, JILIN. Xu, FUPING. Wang, LIANCHENG. Zhao, TADAO. Shimizu. Biomimetic deposition of apatite coatings on micro-arc oxidation treated biomedical NiTi alloy. Chiba Institute of Technology. Chiba 275-0016, Japan. 2010.

GEW. UV. 2014. Disponible en:
<<http://www.gewuv.com/es/content/radiaci%C3%B3n-ultravioleta-uv>>.

INFANTE. Rebeca. Los polímeros en medicina. 2005. Disponible en:
<<http://www.eis.uva.es/~macromol/curso05-06/medicina/contactenos.html>>.

JACKLYN. Dephoff. Generalidades del FT-IR. 2003. Disponible en:
<http://www.ehowenespanol.com/ftir-sobre_156331>.

JONNES. Denny A. Principles and prevention of corrosion. Second edition.1996.

K.F. Leong, C.K. Chua, N. Sudarmadji, W.Y. Yeong. Engineering functionally graded tissue engineering scaffolds, Rapid Prototyping Laboratory. School of Mechanical and Aerospace Engineering, Nanyang Technological University, North Spine. 2007.

KIM. H, M. MIYAJI. F, KOKUBO. T. Effect of heat treatment on apatite-forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. Journal of Materials & Science, Material medicine. Kyoto. 1997. 341-347p.

KOKUBO. Tadashi, TAKADAMA. Hiroaki. How useful is SBF in predicting in vivo bone activity. Kosugai, Japan. Biomaterials 27. 2006. 2907-2915p.

M. J. Santillán, N. E. QUARANTA. F, MEMBRIVES. A, R. Boccaccini. Recubrimientos bioactivos para regeneración de tejido óseo obtenidos por deposición electroforética. UNCuyo. San Rafael-Mendoza, Argentina. 2004.

MIRANDA. Miriam. Pruebas de bioactividad en materiales usados para la regeneración ósea. UNAM, México. 2013.

OLIVAS-ARMENDÁRIZ. P., GARCÍA-CASILLAS. R. Preparación y caracterización. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Ciudad Juárez. 2009.

OLIVEIRA. A, COSTA. S, SOUSA. R and REIS. Nucleation and growth of Biomimetic apatite layers on 3D plotted. Biodegradable polymeric scaffolds: Effect of static and dynamic coating conditions. Acta biomaterialia 5. 2009. 1626-1638p.

[Página Web], _____. Evaluación de propiedades fisicoquímicas de sustratos. Capítulo 4. 2011. 88-89p. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2685/4__Evaluaci%C3%B3n_de_propiedades_fisicoqu%C3%ADmicas_de_sustratos.pdf?sequence=9>.

PIÑA. María Cristina. Los biomateriales y sus aplicaciones. Instituto en Materiales de la Universidad Nacional autónoma de México. 2010.

QUINTERO. Andrés F. Obtención y evaluación de superficies de policaprolactona-Quitosano patronadas por ablación láser. Trabajo de grado. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander. 2012.

REYES. Eric, RUBIO. Efraín. Crecimiento en fluido fisiológico simulado de hidroxiapatita sobre películas de PMMA-sílice-CaO. Puebla, México. Revista Scielo, Volumen 24, No 3. 2011. 148-153p.

S.G. Steinmann. Evaluation of Biomaterials. Biorganic Chemistry 1. 1980

SATENDRA. Kumar. Thermal oxidation of Ti₆Al₄V alloy: Microstructural and electrochemical characterization”, National Metallurgical Laboratory. Taramani, India. 2009.

SAZANA. E. Estudio comparativo de la utilidad de los cementos óseos y vidrios basados en fosfatos de calcio como sustitutivos óseos en defectos cavitarios experimentales. 2004.

SOMAYEH. Z, SEPIDEH. Khoee. Preparation of core-shell Chitosan/PCL-PEG triblock copolymer nanoparticles with ABA and BAB morphologies: Effect of intraparticle interactions on physicochemical properties. University of Tehran. Tehran. 2012

V.M. Ramos, N.M. RODRÍGUEZ, I. HENNING A, M.F. DIAZ, M.P. Monachesi. Poly (ethyleneglycol)-crosslinked N-methylene phosphoric Chitosan. Preparation and characterization. 2005.

VALLES. A, GALLEJO. G, MONLEON. P. Biomedic apatite coating on P (EMA-co-HEA)/SiO₂ hybrid nanocomposites. Polymer 50. 2009. 2874-2884p.

VICTORIA. Manuela S, KILLIAN. C. METEHAN. Sannakaisa. Albumin coating on magnesium via linker molecules—comparing different coating mechanisms”. Friedrich-Alexander University Erlangen-Nuremberg. 2012.

XUANYONG. Liu, PAUL. Chu, CHUANXIAN. Ding. Surface nanofunctionalization of biomaterials. Shanghai Institute of Ceramics. Shanghai 200050, China. 2010.

YALI. Kai, LIANG. Xinyuan, SHEN. Gary L. Electrospinning and characterization of chitinnanofibril/polycaprolactone nanocomposite fiber mats. Donghua University, Shanghai 201620, China. 2013.

YING. Wan, JUNCHAO. Huang, JUN. Zhang. Investigation of mechanical properties and degradability of multi-channel chitosan/polycaprolactone/collagen

conduits. University of Science and Technology. Xianning 437100, PR China. 1986.

ZHENG. Y, LIU, X. SUN, J. Antimicrobial and osteogenic effect of Ag-implanted titanium with a nanostructured surface. Shanghai. 2012. Disponible en: <<http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php>. Acceso 10 de enero de 2013>.

ANEXOS

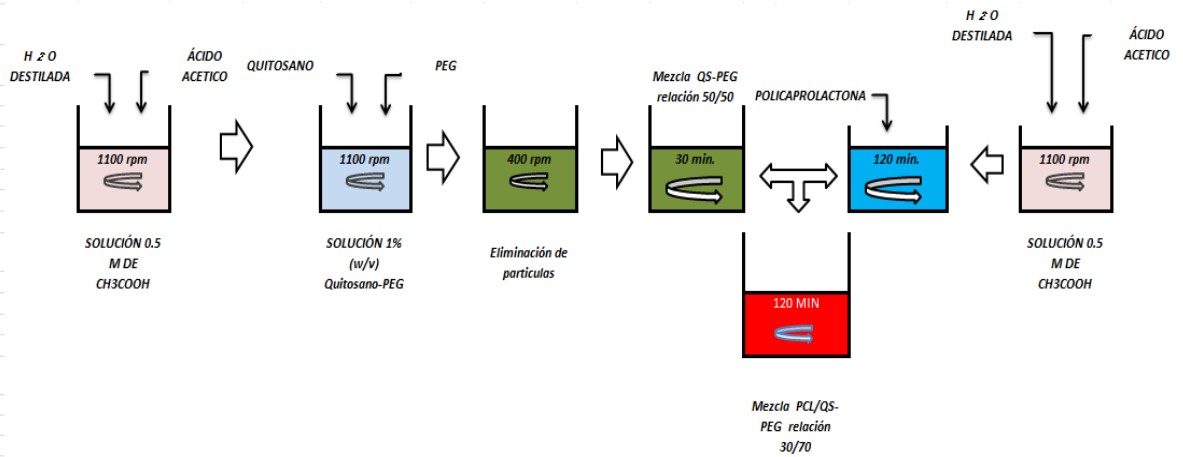
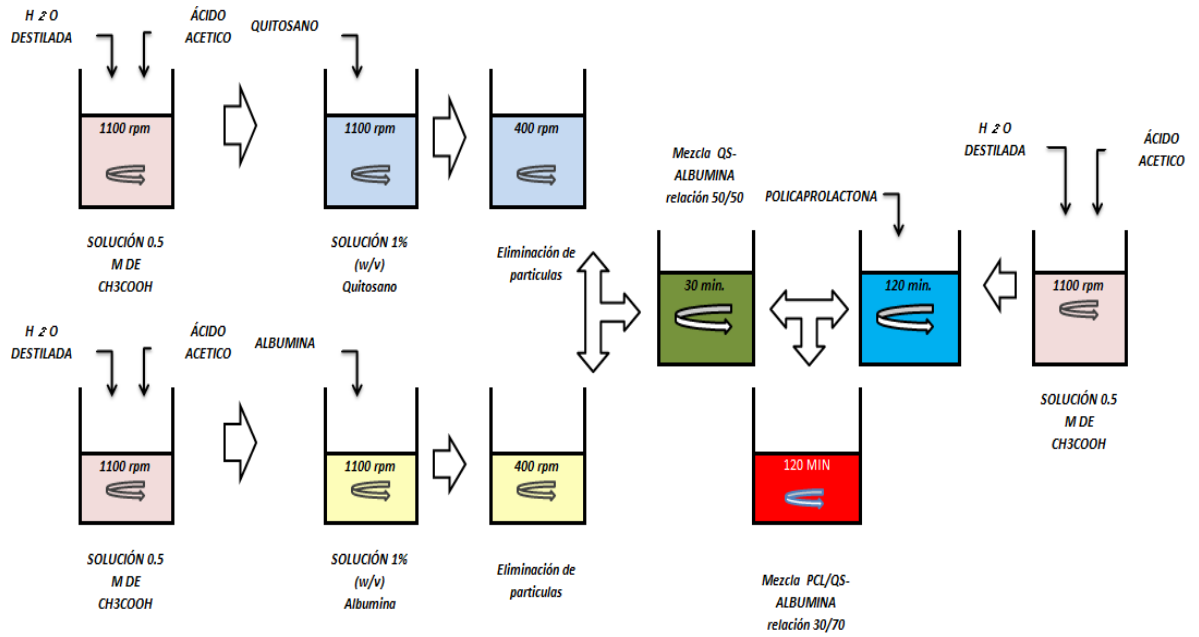
ANEXO A. Lista de reactivos utilizados

REACTIVO	FÓRMULA QUÍMICA	CARACTERÍSTICAS
Ácido acético glacial	CH ₃ COOH	Mallinckrodt, 99.8% Pureza.
Ácido clorhídrico	HCl	Merck, 37% Pureza.
Ácido fluorhídrico	HF	Panreac, 40% Pureza.
Ácido nítrico	HNO ₃	Carlo Erba, 65% Pureza.
Agua destilada y desionizada	H ₂ O	Agua tipo I.
Albúmina		
Aleación de titanio	Ti ₆ Al ₄ V	Quirúrgicos especializados S.A
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	Merck, 99.7% Pureza.
Cloruro de calcio	CaCl ₂	Carlo Erba, 92% Pureza.
Cloruro de magnesio hexahidratado	MgCl ₂ ·6H ₂ O	Mallinckrodt (Cristal), 99.7% Pureza.
Cloruro de potasio	KCl	Merck, 99.5% Pureza.
Cloruro de sodio	NaCl	Merck, 99% Pureza.
Di-potasio hidrogeno fosfato trihidratado	K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	Panreac, 98.102% Pureza.
Etanol	C ₂ H ₆ O	Merck, 99% Pureza.
Hidróxido de sodio	NaOH	Merck, 99% Pureza.
Policaprolactona	(C ₆ H ₁₀ O ₂) _n	Aldrich Chemistry, Mn=80.000.
Polietilenglicol		PEG6000
Quitosano		Aldrich Chemistry, 85% Desacetilación.
Sulfato de sodio	Na ₂ SO ₄	Merck, 99% Pureza.
Tris(Hidroximetil) aminometano)	(HOCH ₂) ₃ CNH ₂	Merck.

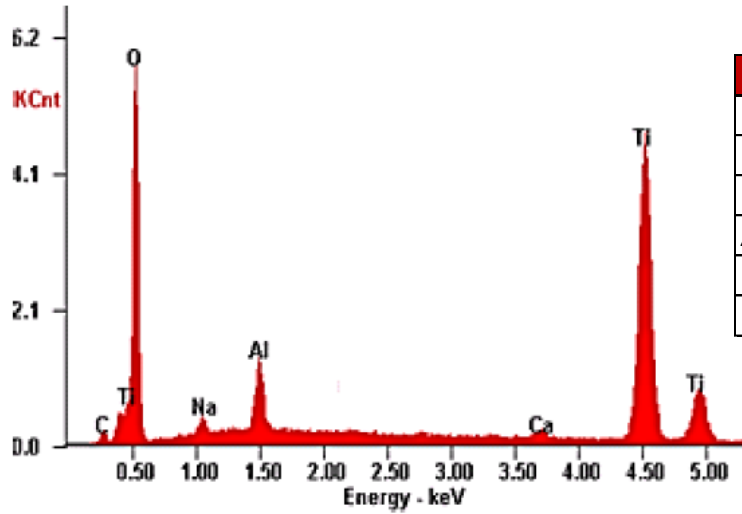
ANEXO B. Lista de equipos utilizados

EQUIPO	APLICACIÓN
Balanza - Santorius TE2145.	Pesado de cantidades de NaOH, Quitosano, PEG, albúmina, Policaprolactona y reactivos para el SBF.
Baño termostataado -Polystast CC1. HUBER.	Tratamiento superficial alcalino de la Ti ₆ Al ₄ V y pruebas de bioactividad in vitro.
Equipo de inmersión "Dip Coating"- Versión 3.0.	Conformación de los recubrimientos Policaprolactona/Quitosano.
Espectrofotómetro infrarrojo Shimadzu 8400S Fourier transform.	Caracterización por espectroscopia infrarroja de los recubrimiento Policaprolactona/Quitosano.
Estufa MERMMET	Secado de los recubrimientos poliméricos policaprolactona/Quitosano.
Espectrofotómetro BUCK-SCIENTIFIC 210.	Equipo para espectroscopia de absorción atómica
Goniómetro DATAPHYSICS modelo OCA 15EC, software SCA 20	Medidas de ángulo de contacto
Horno Heraeus	Tratamiento térmico posterior al tratamiento con NaOH.
Microscopio electrónico de barrido FEI. Quanta FEG 650.	Caracterización morfológica y química de la superficie del material inicial cerámico-polimérico antes y después de patronar.
Microscopio óptico Olympus GX71	Caracterización microestructural de la aleación Ti ₆ Al ₄ V.
Plancha de agitación -SCHOTT	Preparación de la solución de quitosano, policaprolactona y SBF.
Potenciostato/Galvanostato GAMRY INSTRUMENTS Serie G750	Pruebas de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIE) sobre las muestras patronadas y sin patronas de Policaprolactona/Quitosano.
Pulidora Metkan-Grinder/Polisher.	Preparación superficial de la aleación Ti ₆ Al ₄ V.

ANEXO C. Descripción grafica de la preparación de los soluciones poliméricas de PCL/QS-ALBÚMINA y PCL/QS-PEG

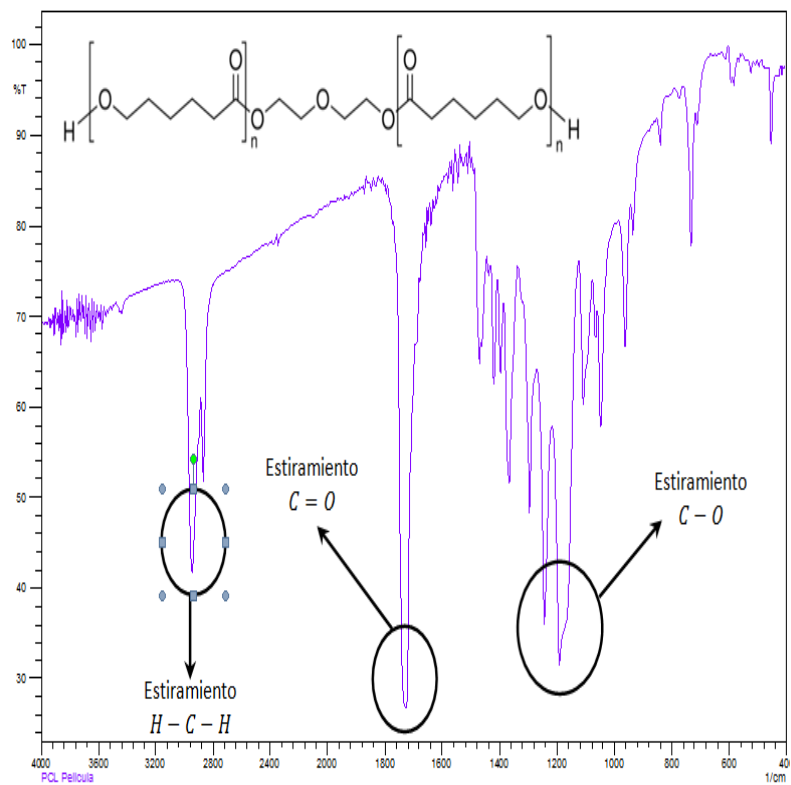


ANEXO D: Analisis EDS de la superficie de la aleación Ti₆Al₄V antes del tratamiento alcalino.

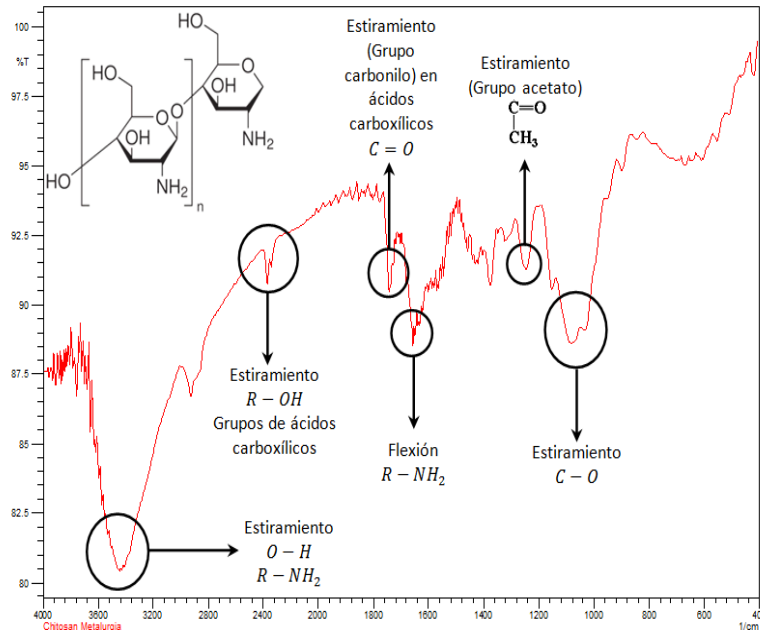


Elemento	%Wt	%At
Carbono (C-K)	1.54	3.15
Oxígeno (O-K)	39.26	60.50
Sodio (Na-K)	0.88	0.94
Aluminio (Al-K)	2.79	2.55
Calcio (Ca-K)	0.67	0.41
Titanio (Ti-K)	54.86	32.44

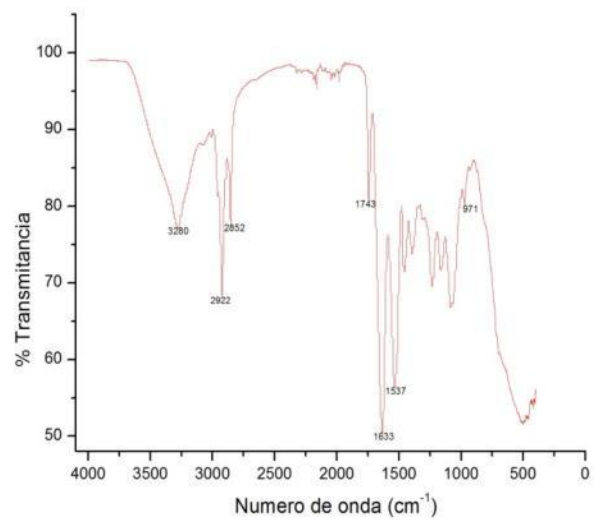
ANEXO E. Espectro infrarrojo FTIR policaprolactona (PCL)



ANEXO F. Espectro infrarrojo Quitosano.

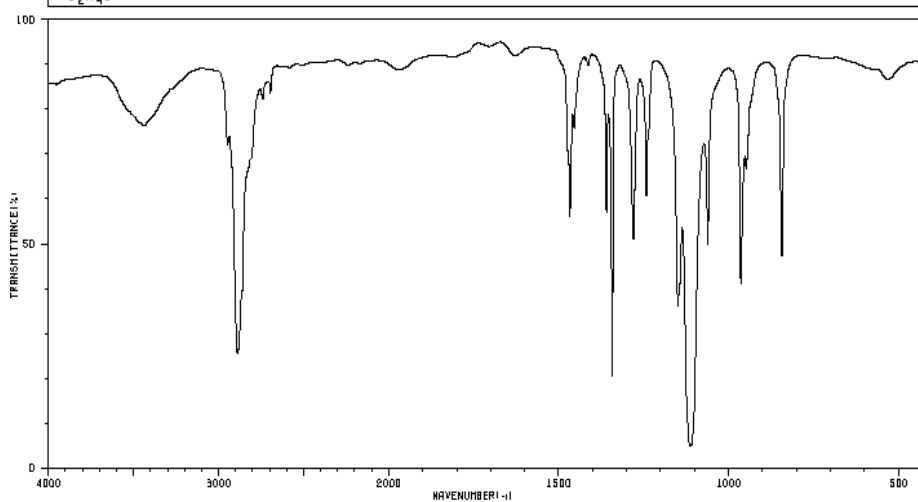


ANEXO G. Espectro infrarrojo FTIR albúmina.

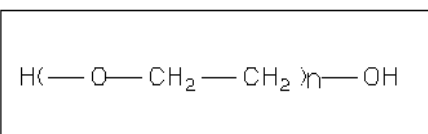


ANEXO H. Espectro infrarrojo FTIR PEG.

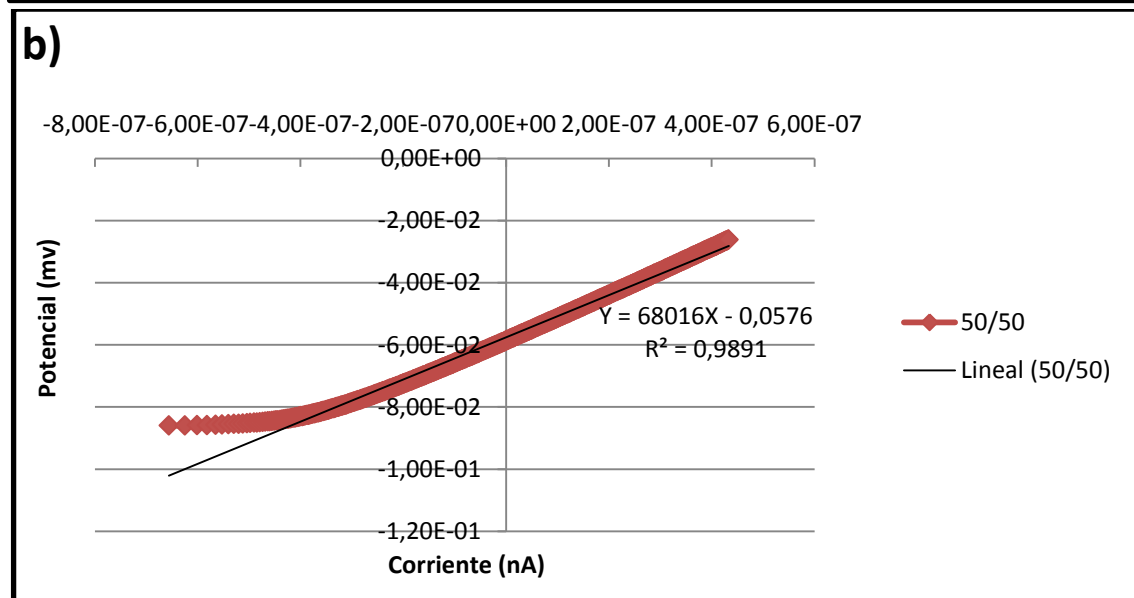
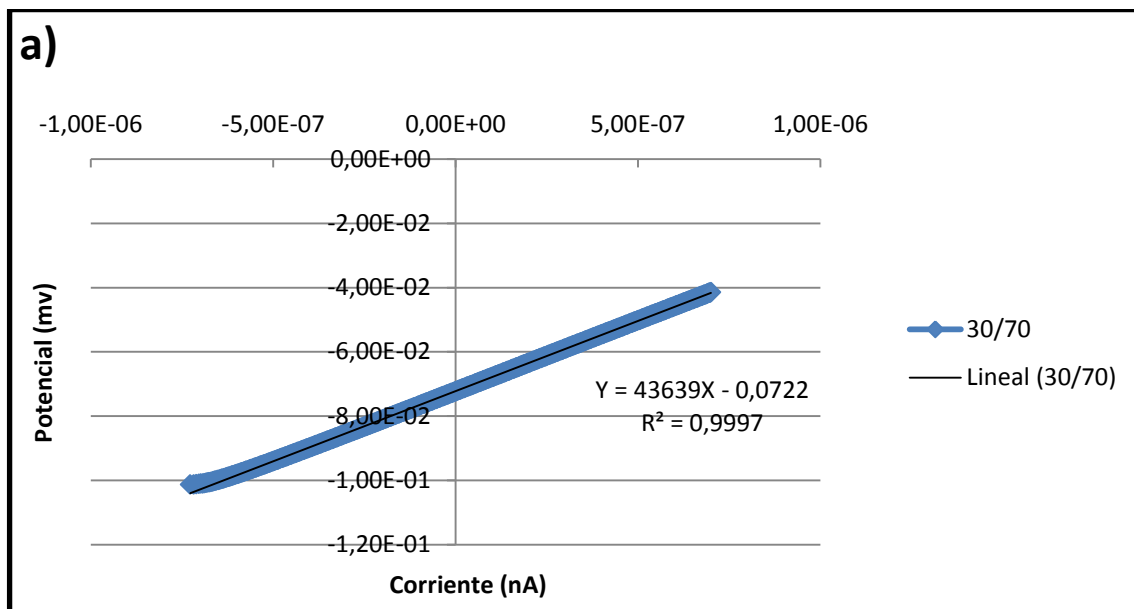
HIT-NO=2157	SCORE= ()	SDBS-NO=2712	IR-NIDA-00804 ; KBR DISC
POLYETHYLENE GLYCOL 6000			
(C ₂ H ₄ O)			



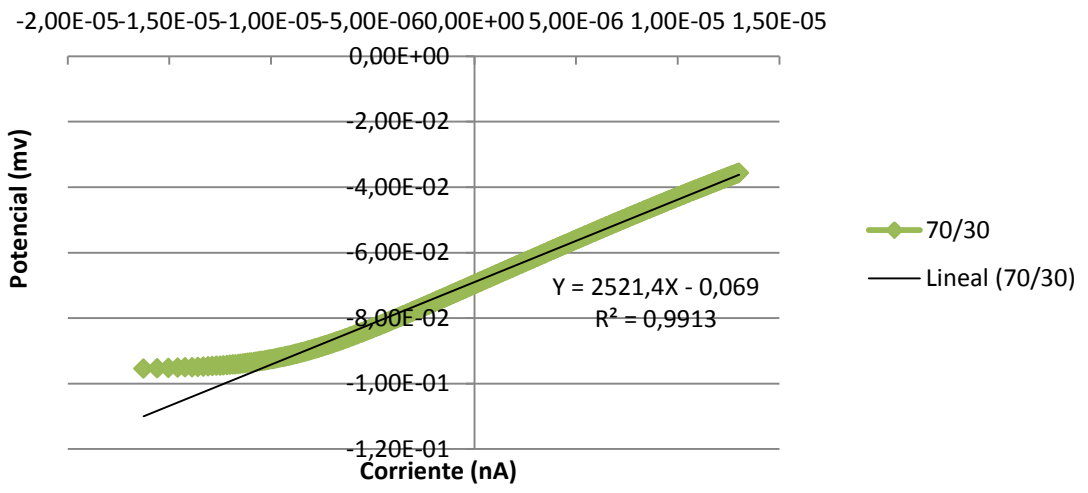
3440	74	1413	86	1113	4
2947	70	1360	55	1061	49
2869	25	1343	20	964	39
2740	79	1280	49	948	64
2695	81	1242	58	843	46
1467	53	1238	72	532	84
1455	72	1160	36	527	84



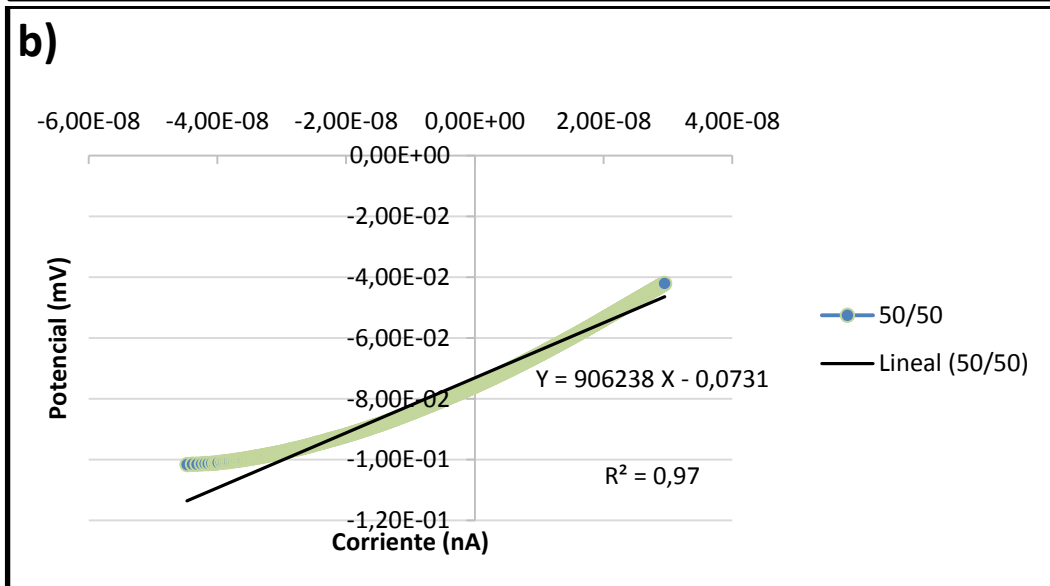
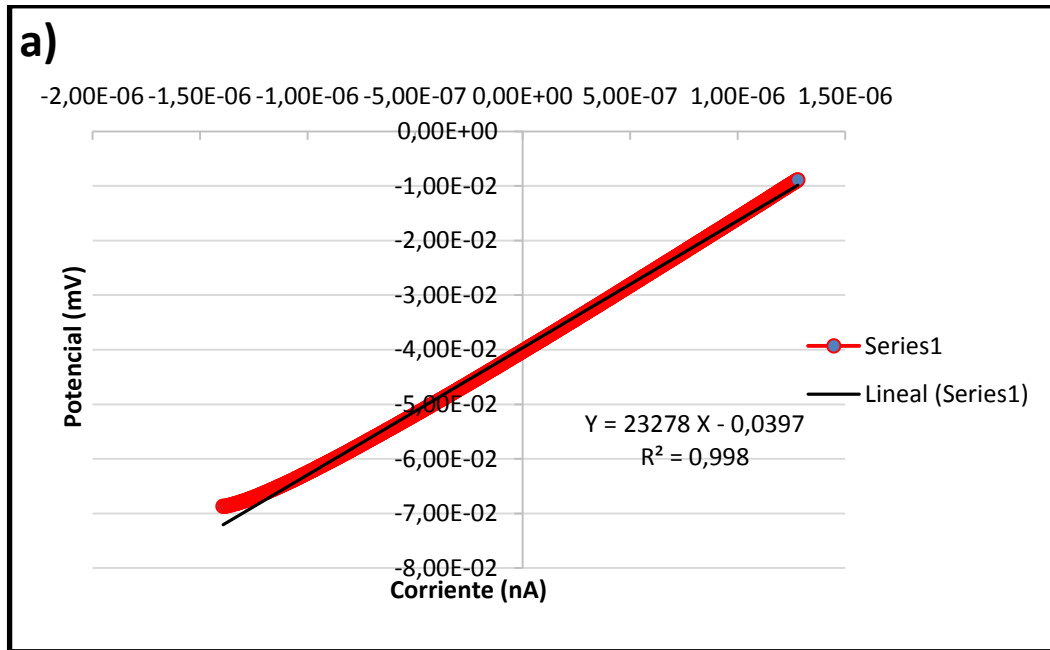
ANEXO I. Representación gráfica de las curvas de resistencia a la polarización para los recubrimientos de PCL/QS-PEG (a) 30/70 (b) 50/50 y (c) 70/30.



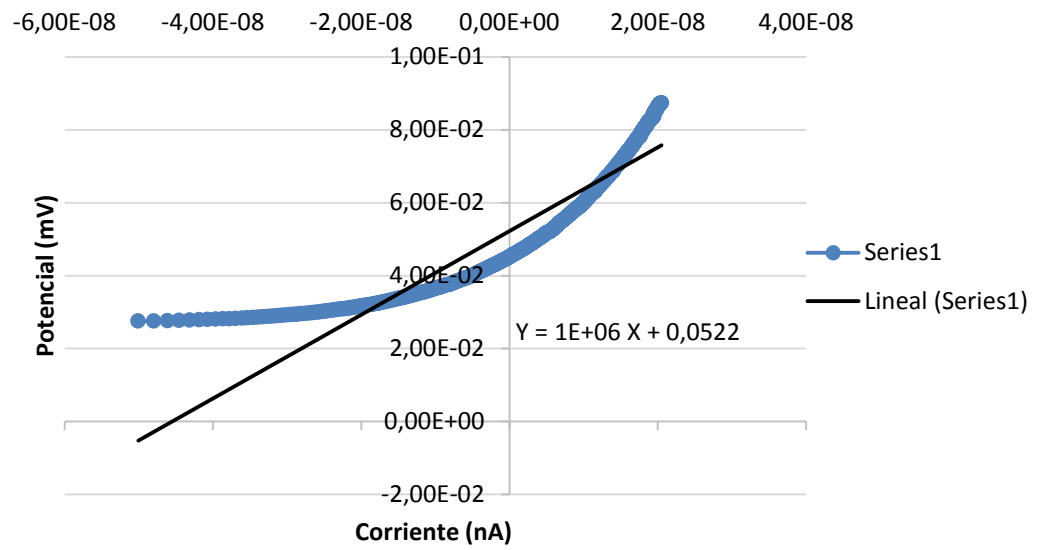
c)



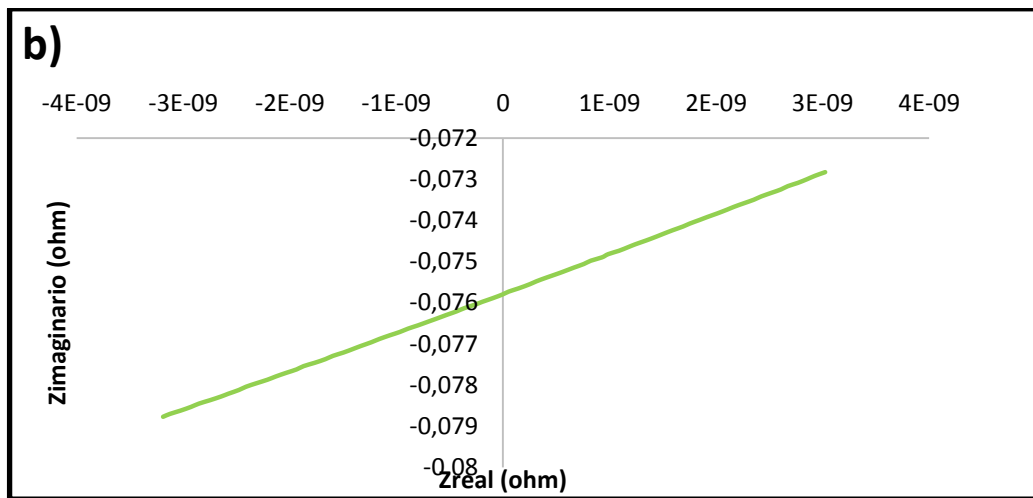
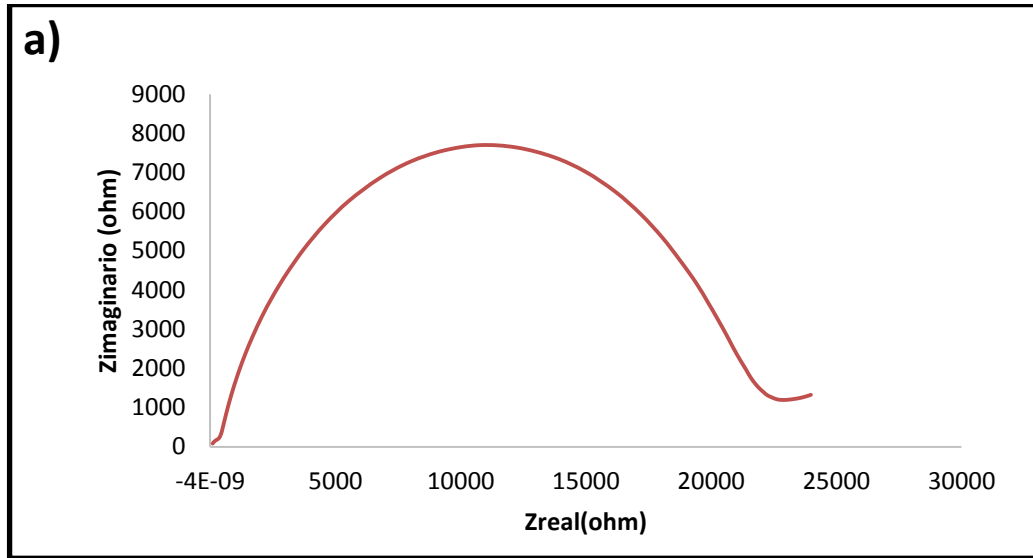
ANEXO J. Representación gráfica de las curvas de resistencia a la polarización para los recubrimientos de PCL/QS-ALBÚMINA (a) 30/70 (b) 50/50 y (c) 70/30.

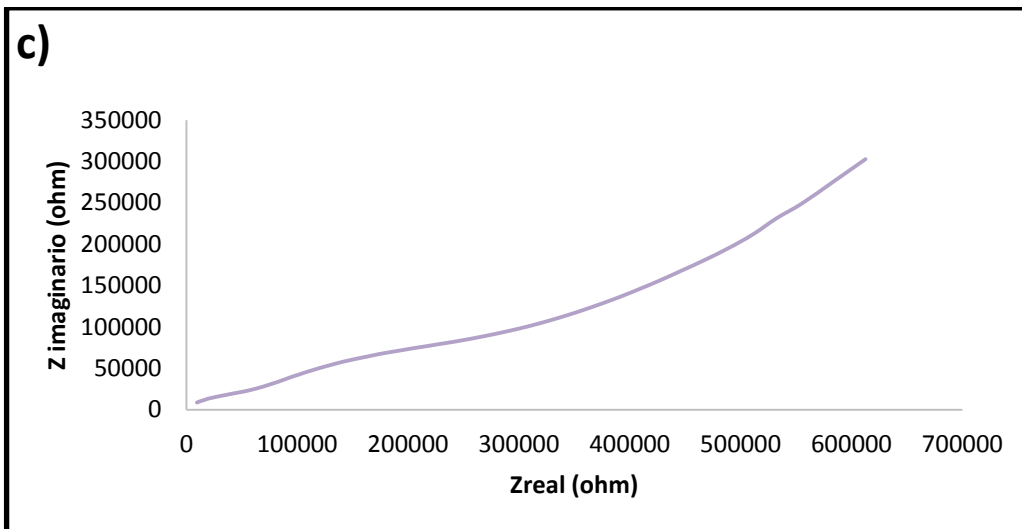


c)



ANEXO K. Representación gráfica de los diagramas de Nyquist para los recubrimientos de PCL/QS-ALBÚMINA (a) Recubrimiento 30/70 (b) 50/50 y (c) 70/30.





ANEXO L. Representación gráfica de los diagramas de Nyquist para los recubrimientos de PCL/QS-PEG (a) Recubrimiento 30/70 (b) 50/50 y (c) 70/30.

