

**CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BIOFUNCIONALES DE PEG –
QUITOSANO - HIDROXIAPATITA OBTENIDAS POR DIP COATING SOBRE
Ti6Al4V**

**ANA MARÍA NIETO SOTO
DOLLY KATHERINE DÍAZ MALDONADO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2015**

**CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BIOFUNCIONALES DE PEG –
QUITOSANO - HIDROXIAPATITA OBTENIDAS POR DIP COATING SOBRE
Ti6Al4V**

**ANA MARÍA NIETO SOTO
DOLLY KATHERINE DÍAZ MALDONADO**

**Proyecto de Grado en Modalidad de Trabajo de Investigación para Optar por
al Título de Químicas**

Directores

**DARIO YESID PEÑA BALLESTEROS
Ingeniero Metalúrgico, Ph.D**

**ANDERSON ANDRÉS SANDOVAL AMADOR
Físico**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2015**

AGRADECIMIENTOS

“A Dios, quien siempre nos guió y nos llenó de fortaleza para no desfallecer ante ningún obstáculo.

A nuestros padres, por su apoyo incondicional.

A nuestros amigos y conocidos, por hacer de nuestros años universitarios una gran experiencia de vida y aprendizaje.”

CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	19
1. OBJETIVOS	21
1.1 OBJETIVO GENERAL	21
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	22
2.1 BIOMATERIALES	22
2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMATERIALES	23
2.2.1 Biomateriales naturales	23
2.2.2 Biomateriales sintéticos	23
2.2.2.1 Biomateriales metálicos	24
2.2.2.1.1 Aleación Ti6Al4V	24
2.2.2.1.2 Degradación de biomateriales metálicos	25

2.2.2.2	Biomateriales cerámicos	26
2.2.2.2.1	Hidroxiapatita	26
2.2.2.3	Biomateriales poliméricos	27
2.2.2.3.1	Polietilenglicol (PEG)	27
2.2.2.3.2	Quitosano	27
2.2.2.3.3	Degradación de biomateriales poliméricos	28
3.	ESTADO DEL ARTE	29
4.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	33
4.1	ETAPA 1: PREPARACIÓN SUPERFICIAL	34
4.2	ETAPA 2: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES POLIMÉRICAS Y DE LA HAp	35
4.3	ETAPA 3: CONFORMACIÓN DE LOS RECUBIMIENTOS	38
4.4	ETAPA 4: PRE CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE	39
4.5	ETAPA 5: INDUCCIÓN DE LA FORMACIÓN DE APATITAS	39
4.6	ETAPA 6: CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE	41

4.7	ETAPA 7: EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA	41
5.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	43
6.	CONCLUSIONES	81
7.	RECOMENDACIONES	83
	CITAS BIBLIOGRÁFICAS	84
	BIBLIOGRAFÍA	92
	ANEXOS	101

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Diagrama desarrollo experimental	33
Figura 2. Dimensiones de la probeta de Ti6Al4V	34
Figura 3. Equipo de dip coating para la realización de los recubrimientos, Grupo de investigación en mineral, biohidrometalurgica y ambiente (GIMBA), UIS – Sede Guatiguará. (a) Probeta lista para inmersión, (b) Probeta en proceso de inmersión en solución polimérica, (c) Inmersión total de la probeta	38
Figura 4. Prototipo de la dilución de las alícuotas tomadas de HBSS	40
Figura 5. Gráfica para la curva de calibración para la determinación de calcio en las muestras	40
Figura 6. Montaje de celda para la caracterización por espectroscopia de impedancia electroquímica de las muestras Ti6Al4V recubiertas con quitosano, PEG e HAp	42
Figura 7. Espectro EDS de la aleación Ti6Al4V recién pulida y micrografía de la superficie lisa	43
Figura 8. Micrografía aleación Ti6Al4V atacada con reactivo Kroll	44

Figura 9. Comparación de las fases obtenidas en los métodos utilizados para la síntesis de HAp	48
Figura 10. (a) Equipo utilizado para las pruebas de ángulo de contacto (Equipo OCA 15EC – Dataphysics), Laboratorio de electroquímica, UIS – Sede Guatiguará (b) Probeta sometida a pruebas de ángulo de contacto	50
Figura 11. Imágenes de ángulo de contacto para las diferentes relaciones de Quitosano: PEG e HAp, (a) Relación 30: 70 (b) Relación 50: 50 (c) Relación 70: 30	52
Figura 12. Equipo para microscopía electrónica de barrido (Microscopio electrónico de barrido Quanta FEG 650), Laboratorio de microscopía, UIS – Sede Guatiguará	53
Figura 13. Análisis SEM y EDS de las zonas libres de recubrimiento	54
Figura 14. (a) Micrografía SEM del recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp a 40.000X	55
Figura 15. (a) Micrografía SEM del recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp a 20.000X	56
Figura 16. (a) Micrografía SEM del recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp a 20.000X	58

Figura 17. Micrografías SEM post-inmersión a 200X de los recubrimientos con relación (a) 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp, (b) 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp, (c) 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp	62
Figura 18. Análisis SEM y EDS de los precipitados de HAp sobre la superficie para la relación 30: 70 de Quitosano: PEG con 0,05 % p/v de HAp	64
Figura 19. Análisis SEM y EDS de los precipitados de HAp sobre la superficie para la relación 50: 50 de Quitosano: PEG con 0,05 % p/v de HAp	65
Figura 20. Análisis SEM y EDS de los precipitados de HAp sobre la superficie para la relación 70: 30 de Quitosano: PEG con 0,05 % p/v de HAp	66
Figura 21. Equipo de espectroscopia de absorción atómica (Thermo Electron Corporation S4 AA System),	67
Figura 22. Gráfica para la concentración de calcio presente en el fluido para las diferentes relaciones de los recubrimientos poliméricos	68
Figura 23. Representación esquemática para la formación de apatitas sobre la superficie de los recubrimientos en presencia de HAp	70
Figura 24. Equipo para espectroscopia de infrarrojo (Espectrómetro infrarrojo Bruker Tensor 27 con celda Platinum ATR), Laboratorio de análisis instrumental, UIS - Campus Central	71
Figura 25. Espectro de infrarrojo para la relación 30: 70 de Quitosano: PEG con 0,01 % p/v de HAp	72

Figura 26. Espectros de infrarrojo para la variación en las concentraciones de Quitosano: PEG e HAp, en donde, a) Relación 30: 70 variando la HAp con C1 = 0,01 % p/v, C2 = 0,03 % p/v, C3 = 0,05 % p/v; b) Relación 50: 50 variando la HAp con C4 = 0,01 % p/v, C5 = 0,03 % p/v, C6 = 0,05 % p/v; c) Relación 70: 30 variando la HAp con C7 = 0,01 % p/v, C8 = 0,03 % p/v, C9 = 0,05 % p/v

74

Figura 27. Espectros de infrarrojo para la variación en las concentraciones de HAp, en donde, a) Concentración de HAp de 0,01 % p/v con C1 = 30: 70, C4 = 50: 50, C7 = 70: 30; b) Concentración de HAp de 0,03 % p/v con C2 = 30: 70, C5 = 50: 50, C8 = 70: 30; c) Concentración de HAp de 0,05 % p/v con C3 = 30: 70, C6 = 50: 50, C9 = 70: 30

75

Figura 28. Curvas de bode para el Log. de impedancia vs. Log. frecuencia: Relación 50: 50 variando la HAp con C4 = 0,01 % p/v, C5 = 0,03 % p/v y C6 = 0,05 % p/v

76

Figura 29. Curvas de bode para el Log. de impedancia vs. Log. frecuencia y ángulo de fase vs. Log. frecuencia: Relación 50: 50 variando la HAp con C4 = 0,01 % p/v, C5 = 0,03 % p/v y C6 = 0,05 % p/v

78

Figura 30. Representación de las interfases para el sistema estudiado y su respectivo circuito equivalente

79

Figura 31. Resistencia a la polarización para la relación 50: 50 variando la HAp con C4 = 0,01 % p/v, C5 = 0,03 % p/v y C6 = 0,05 % p/v

80

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Composición química de la aleación Ti6Al4V	25
Tabla 2. Cantidades y concentraciones de polímeros en solución para la preparación de las soluciones Quitosano: PEG	35
Tabla 3. Cantidades y concentraciones de HAp empleadas para los recubrimientos	37
Tabla 4. Cantidades de quitosano, PEG e HAp utilizadas para los recubrimientos	37
Tabla 5. Curva de calibración para la determinación de calcio en las muestras	40
Tabla 6. Precursores utilizados para la síntesis de HAp	47
Tabla 7. Determinación de las fases encontradas en los difractogramas mostrados en la Figura 9	48
Tabla 8. Ángulo de contacto para las variaciones de concentración de los recubrimientos poliméricos	50
Tabla 9. Calcio presente en los recubrimientos para una concentración de 0,05 % p/v de HAp, obtenidos por EDS	59

Tabla 10. Fósforo presente en los recubrimientos para una concentración de 0,05 % p/v de HAp, obtenidos por EDS	60
Tabla 11. Concentración de calcio presente en el fluido para las diferentes relaciones de los recubrimientos poliméricos	67
Tabla 12. Asignación de las bandas presentes en el espectro de infrarrojo para la relación 30: 70 de Quitosano: PEG con 0,01 % p/v de HAp	72
Tabla 13. Valores de los elementos del circuito equivalente de la Figura 29	79

LISTA DE ANEXOS

	Pág
ANEXO A. Micrografías SEM y EDS para los recubrimientos pre-inmersión	101
ANEXO B. Micrografías SEM y EDS para los recubrimientos post-inmersión en fluido corporal simulado (HBSS) y evaluación de la formación de apatitas	107
ANEXO C. Curvas de bode para el (a) Log. impedancia vs. Log. frecuencia y (b) Ángulo de fase vs. Log. frecuencia para los recubrimientos	113
ANEXO D. Simulación del circuito equivalente para los recubrimientos realizados	114
ANEXO E. Circuito equivalente correspondiente a los recubrimientos y valores de los elementos del circuito equivalente	117

RESUMEN

TÍTULO: CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BIOFUNCIONALES DE PEG – QUITOSANO - HIDROXIAPATITA OBTENIDAS POR DIP COATING SOBRE Ti6Al4V*.

AUTORES: NIETO SOTO Ana María; DÍAZ MALDONADO Dolly Katherine**.

PALABRAS CLAVES: Biomateriales, películas biofuncionales, dip coating, hidroxiapatita, quitosano, polietilenglicol, Ti6Al4V.

DESCRIPCIÓN

Un biomaterial está definido como cualquier material usado para fabricación de dispositivos que reemplacen una parte o una función del cuerpo de manera fisiológicamente aceptable. El objeto del presente trabajo es la obtención y caracterización de superficies de PEG – Quitosano - Hidroxiapatita (HAp) sobre la aleación de Ti6Al4V para la generación de materiales con propiedades bioactivas y biocompatibles por medio de la técnica de dip coating. Utilizando técnicas de caracterización como SEM, EDS, DRX, absorción atómica y EIS se evaluaron dichas propiedades de los recubrimientos creados, así como la formación de apatitas antes y después de la inmersión en fluido corporal simulado (HBSS), y la degradación de los recubrimientos en ambientes fisiológicos simulados.

Los resultados mostraron la formación de apatitas debido a la variación de los polímeros y del cerámico, donde se observó deposición de calcio sobre la superficie de la probeta luego de estar en contacto durante 5 días con el fluido corporal simulado (HBSS), además el uso de técnicas electroquímicas permitió determinar la resistencia a la polarización junto con el comportamiento del material a altas y bajas frecuencias. Con base en los resultados obtenidos, es posible decir que la relación que presentó las mejores respuestas fue la de 50: 50 de Quitosano: PEG con 0,05 % p/v de HAp, la cual generó una capa bioactiva (altamente capacitiva) sobre la aleación de Ti6Al4V consiguiendo que hubiese mayor interacción con el medio e intercambio de iones, y a su vez logró conservar las propiedades resistivas del material base considerándose un biomaterial altamente biocompatible.

* Proyecto de Grado.

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: PhD. Darío Yesid Peña Ballesteros. Codirector: Anderson Andrés Sandoval Amador.

ABSTRACT

TITLE: CHARACTERIZATION OF BIOFUNCTIONALS PEG – CHITOSAN – HYDROXYAPATITE FILMS OBTAINED BY DIP COATING ON Ti6Al4V*.

AUTHORS: NIETO SOTO Ana María; DÍAZ MALDONADO Dolly Katherine **.

KEYWORDS: Biomaterials, biofunctional films, dip coating, hydroxyapatite, chitosan, polyethylenglycol, Ti6Al4V.

DESCRIPTION

A biomaterial is defined as any material used to manufacture devices that replace a part or function of the body physiologically acceptable way. The purpose of this work is the preparation and characterization of PEG – Chitosan - Hydroxyapatite (HAp) surfaces on Ti6Al4V alloy for generating materials with bioactive and biocompatible properties using the dip coating technique. With characterization techniques like SEM, EDS, DRX, atomic absorption and EIS can evaluate the properties of the coatings, also the formation of apatites before and after immersion in simulated body fluid (HBSS), and the degradation of the coatings in simulated physiological environments.

The results showed the formation of apatites because the variation of the polymers and the ceramics, showing calcium deposition on the surface of the sample after being in contact for 5 days in simulated body fluid (HBSS), also using electrochemical techniques allowed to determine the polarization resistance with the material behavior at high and low frequencies. Based on the results, we can say that the relationship provided the best responses was 50: 50 Chitosan: PEG and 0.05% w/v of HAp, which generated a bioactive layer (highly capacitive) on Ti6Al4V alloy getting had more interaction with the environment and ion exchange, and at the same time to retain the resistive properties of the base material considered a highly biocompatible biomaterial.

* Proyecto de Grado.

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: PhD. Darío Yesid Peña Ballesteros. Codirector: Anderson Andrés Sandoval Amador.

INTRODUCCIÓN

El creciente campo de los materiales biomédicos ha acelerado la demanda de biomaterial reabsorbible con propiedades biológicas específicas y un buen perfil de biocompatibilidad. Gran parte de este interés ha sido estimulado por los avances recientes en las técnicas de ingeniería de tejidos, en el que los materiales reabsorbibles se utilizan como una matriz de soporte para la reconstrucción de tejidos en tres dimensiones [1], [2]. El principal requerimiento de estos materiales es que sean resistentes a sufrir alguna alteración en su superficie cuando son implantados en el cuerpo y que posean óptimas propiedades mecánicas enlazadas con una excelente biocompatibilidad. Los dispositivos fabricados con estos materiales muestran un alto grado de aceptación por el cuerpo, buena respuesta celular y alta resistencia a la corrosión, la cual se deriva de la película estable de óxido que se forma en su superficie, que al dañarse, se reconstruye en presencia de fluidos fisiológicos [3], [4].

El titanio y sus aleaciones, principalmente la aleación Ti6Al4V, son ampliamente utilizados como materiales de implantes en aplicaciones biomédicas y dentales, asociado con una combinación de propiedades que presentan, tales como: resistencia a la corrosión, biocompatibilidad, resistencia mecánica, baja densidad y capacidad de integración con los tejidos y huesos del cuerpo humano; sin embargo es inerte químicamente, haciendo de esta aleación, un material carente de capacidad bioactiva (bioinerte) [5]. Debido a esto, se han buscado alternativas para convertir el titanio y sus aleaciones en materiales bioactivos y biofuncionales como tratamientos químicos, procesos de oxidación e incluso el uso de recubrimientos poliméricos que proporcionan una superficie más favorable a las condiciones del

medio, y promueven la mineralización del implante y proliferación celular; manteniendo las propiedades mecánicas e inertes de la aleación [6].

Partiendo de la necesidad de producir superficies mejoradas para los materiales de implantes de regeneración ósea y a su vez mejorar la respuesta superficie – medio biológico, en el presente trabajo se estudia la fabricación de recubrimientos de PEG – Quitosano – Hidroxiapatita empleando mezclas poliméricas y conformadas por la técnica dip coating, sobre un sustrato de Ti6Al4V expuesto a tratamientos químicos.

En ese orden de ideas, el presente trabajo está conformado en primer lugar por la fundamentación teórica necesaria para entender e interpretar los temas tratados a lo largo del mismo, partiendo desde conceptos básicos acerca de los biomateriales; en la segunda parte se expone la metodología con la cual se logró la formación de recubrimientos poliméricos de PEG – Quitosano – Hidroxiapatita sobre la aleación Ti6Al4V; seguidamente se aprecian los resultados obtenidos y el respectivo análisis de las técnicas de caracterización usadas; en la cuarta parte se muestran las conclusiones a las cuales se llegaron con la realización del presente trabajo cumpliendo las expectativas propuestas inicialmente; finalmente, en la última parte, se proporcionan algunas recomendaciones a seguir posterior al trabajo y anexos como imágenes, espectros y difractogramas proporcionados por las técnicas de caracterización.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Obtener y caracterizar superficies de PEG – Quitosano – Hidroxiapatita en aleaciones de Ti6Al4V generando materiales con propiedades bioactivas y biocompatibles.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desarrollar recubrimientos de PEG – Quitosano - Hidroxiapatita sobre una aleación de Ti6Al4V mediante la técnica de dip coating.
- Realizar la caracterización morfológica, composicional y estructural de las superficies recubiertas mediante ángulo de contacto, SEM, EDS y DRX, FTIR.
- Evaluar la capacidad de formación de apatitas y degradación de las superficies de PEG – Quitosano - Hidroxiapatita mediante absorción atómica, resistencia a la polarización lineal y espectroscopia de impedancia electroquímica, EIS.

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 Biomateriales

El concepto de biomateriales ha ido evolucionando en el tiempo, de acuerdo a las necesidades y al entendimiento que se ha logrado de la interacción material – tejido vivo [7].

Un biomaterial puede ser definido como cualquier material utilizado para fabricar dispositivos para reemplazar una parte o una función en el cuerpo de una manera segura, fiable, económica y fisiológicamente aceptable. Dicho de otro modo, un biomaterial es un material sintético utilizado para sustituir parte de un sistema vivo o para funcionar en contacto íntimo con el tejido vivo. Algunos ejemplos comunes incluyen suturas, rellenos de dientes, agujas, catéteres, placas de hueso, etc. [8].

Al entrar en contacto el biomaterial con el medio fisiológico ocurre una interacción entre el medio biológico receptor y la superficie del biomaterial que promoverán o no el proceso de crecimiento celular y tisular [6], [9].

El éxito de un biomaterial o un implante depende en gran medida de tres factores principales: las propiedades y la biocompatibilidad del implante, el estado de salud del receptor, y la competencia del cirujano que implanta y supervisa su progreso [8].

2.2 Clasificación de los biomateriales

Todos los materiales producen algún tipo de respuesta al estar en contacto con los tejidos orgánicos. De acuerdo a esta respuesta, se pueden clasificar los biomateriales como sigue.

2.2.1 Biomateriales naturales. Los biomateriales naturales son materiales que contienen arquitecturas similares a las del tejido nativo que están reemplazando con elementos naturales necesarios para la reconstrucción del tejido adecuado. En el sistema biológico humano se clasifican en tres tipos: blandos, duros y células. El uso de biomateriales naturales ha requerido pretratamientos físicos y químicos con los que se pretende: (1) preservar el tejido mediante la mejora de la resistencia del material a la degradación enzimática o química, (2) la reducción de la inmunogenicidad del material, y (3) esterilizar el tejido [10], [11].

2.2.2 Biomateriales sintéticos. Los biomateriales sintéticos son materiales diseñados artificialmente, que se utilizan para reemplazar o restaurar la función de un tejido corporal y continuamente directa o indirectamente en contacto con las condiciones del fluido corporal. Una de las razones principales para utilizar biomateriales sintéticos es reemplazar físicamente los tejidos duros y blandos que se han dañado o destruido por algún proceso patológico [10]. Los biomateriales diseñados sintéticamente se pueden clasificar en cuatro tipos principales: biomateriales metálicos, biomateriales cerámicos, biomateriales poliméricos y biomateriales compuestos.

2.2.2.1 Biomateriales metálicos. La mayoría de los biomateriales metálicos son considerados como casi inertes, su bioactividad en lo que concierne a la formación de una interfase hueso - implante es mucho menor que la de otros compuestos, tales como los fosfatos de calcio. Sin embargo, los metales siguen siendo los más utilizados en implantes donde se requiere el soporte de carga (dentales o artroplastías) debido a su alta resistencia mecánica. Los principales metales biocompatibles son aceros inoxidable, aleaciones basadas en cobalto y aleaciones basadas en titanio. Las aleaciones basadas en titanio tienen una alta resistencia mecánica y un módulo elástico bajo que se asemeja más al del hueso que otras aleaciones metálicas, y a su vez tiene una alta resistencia a la corrosión como consecuencia de la formación espontánea de la capa pasiva de óxido de titanio, lo que las ha convertido en las aleaciones más utilizadas para aplicaciones ortopédicas [7].

2.2.2.1.1 Aleación Ti6Al4V. El titanio ha sido utilizado para dispositivos biomédicos, como por ejemplo soportes cardiovasculares, cables conductores y dispositivos de fijación espinal debido a su biocompatibilidad superior y mejorada resistencia a la corrosión en comparación con los aceros inoxidable y las aleaciones de cobalto [12], [13], [14]. Se han planteado algunas propiedades de desgaste de las aleaciones de titanio, para esto se han realizado investigaciones donde se ha encontrado que con ciertas modificaciones de la superficie tales como implantación de iones, se podrían mejorar las propiedades de desgaste [1], [15], [16].

La aleación de Ti6Al4V ha sido generalmente la más usada como material de implante ortopédico debido a su excelente comunicación y biocompatibilidad, por otro lado también presenta una resistencia a la corrosión y propiedades mecánicas

importantes como su alta resistencia, bajo módulo de elasticidad y buena tolerancia de los tejidos [3], [17].

Entre sus aplicaciones se encuentran las prótesis de cadera y rodilla, dispositivos de trauma/ fijación, los instrumentos y los implantes dentales [18]. La composición de esta aleación ha sido definida por la norma ASTM F136 y se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química de la aleación Ti6Al4V [19].

Elemento	Composición, % peso
Nitrógeno, máx.	0,05
Carbono, máx.	0,08
Hidrógeno, máx.	0,012
Hierro, máx.	0,25
Oxígeno, máx.	0,13
Aluminio	5,5 – 6,50
Vanadio	3,5 – 4,5
Titanio	Balance

2.2.2.1.2 Degradación de biomateriales metálicos. Para el caso de los metales, la corrosión o degradación puede ser considerada como el proceso inverso al de su obtención, el proceso es normalmente electroquímico; es decir, una reacción química en la cual hay transferencia de electrones de una especie a otra. Para extraer el metal puro del mineral hay que entregarle energía y por ello, la energía de los metales es más alta que la de los minerales de los que provienen. Por este motivo hay una tendencia natural a devolver dicha energía lo que conduce a la corrosión de los metales y la formación de compuestos de baja energía [20], [21].

2.2.2.2 Biomateriales cerámicos. Se trata de estructuras no metálicas que se han sintetizado por la fusión o sinterización de mezclas complejas de compuestos inorgánicos tales como óxidos de metal. Resisten a la corrosión y se caracterizan por propiedades como la resistencia a las altas temperaturas, son buenos aislantes, presentan modo de rotura frágil y de elasticidad longitudinal alto, son químicamente estables, presentan resistencia mecánica al desgaste; todas estas propiedades hacen que los materiales cerámicos sean imposibles de fundir y mecanizar por medios tradicionales [10], [12], [20].

El fosfato de calcio más utilizado en la fabricación de implantes es la HAp, por ser el compuesto más parecido al componente mineral de los huesos, presenta buenas propiedades como biomaterial, tales como biocompatibilidad, bioactividad, osteoconductividad y unión directa al hueso [22].

2.2.2.2.1 Hidroxiapatita. La HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es un biomaterial que se emplea para reconstruir tejido óseo dañado o como recubrimiento de prótesis, ya que su composición química y su estructura se asemejan a la fase mineral contenida en el esqueleto; esta similitud favorece la formación de enlaces con el hueso, siendo por consiguiente un material biocompatible [23].

La HAp es una variante de la apatita CaPO_4 que puede encontrarse con diferentes iones negativos como flúor, cloro, carbonato o hidróxido. No se degrada al entrar en contacto con biofluidos o tejido humano, además es termodinámicamente estable bajo pH fisiológico normal y ayuda a la formación de fuertes uniones químicas con la superficie del hueso [18].

2.2.2.3 Biomateriales poliméricos. Los biomateriales poliméricos han sido ampliamente utilizados en productos médicos desechables. Las ventajas principales de los biomateriales poliméricos en comparación con el metal o cerámica son la facilidad de fabricación para producir diferentes formas, la facilidad de la capacidad de proceso secundario, bajos costes y la disponibilidad con propiedades mecánicas y físicas deseadas [22].

En el caso particular de los biomateriales poliméricos, se puede hacer una clasificación según el tiempo que deben mantener su funcionalidad cuando se aplican como implantes quirúrgicos: según el tiempo de permanencia y su carácter de degradación [24].

2.2.2.3.1 PEG. El polietilenglicol (PEG) son oligómeros anfipáticos solubles en agua, se utilizan con frecuencia para aplicaciones biomédicas, como excipientes hidrofílicos dotados de biocompatibilidad y baja biodegradabilidad. Se conoce que presenta una acción antitrombogénica [25] y son adecuados para cosméticos, que van desde lápices labiales hasta aerosoles para el cabello [26]. Las pomadas, supositorios, comprimidos, inyecciones preparaciones y cápsulas se formulan con PEG [2].

2.2.2.3.2 Quitosano. El quitosán o quitosano es un biopolímero natural, biocompatible, biodegradable derivado de la quitina presente en el caparazón de crustáceos, mariscos e insectos [27]. La quitina y el quitosano están compuestos principalmente por unidades de N-acetilglucosamina y de N-glucosamina en su cadena polimérica [28], [29].

El quitosano ha sido utilizado como un excipiente farmacéutico en formas de dosificación de liberación sostenida, como un inmunoestimulante y para promover

la curación de la herida [30]. El quitosano se produce comercialmente mediante la desacetilación de la quitina, polisacáridos de origen natural que es el elemento estructural [29].

2.2.2.3.3 Degradación de biomateriales poliméricos. Los biomateriales poliméricos también experimentan deterioro mediante interacciones con el ambiente. La degradación polimérica es un proceso fisicoquímico en donde tienen lugar varias reacciones y consecuencias adversas. Estos materiales se deterioran por hinchamiento y por disolución. La ruptura de enlaces covalentes, generalmente va acompañada de una disminución de la integridad mecánica. Debido a la complejidad química de los polímeros, los mecanismos de su degradación no se conocen suficientemente [21].

3. ESTADO DEL ARTE

El uso de materiales para la elaboración de utensilios se asocia a la historia de la humanidad desde tiempos remotos y dio lugar al desarrollo de tecnologías, las que en muchos casos, definieron el avance de las grandes civilizaciones [31].

Se conoce que el uso humano del quitosano se remonta a 1811 cuando la quitina, la fuente de la que se deriva, fue descubierta por primera vez por Braconnot, profesor de historia natural en Francia. Según los historiadores, mientras Braconnot realizó investigaciones sobre las setas, aisló lo que más tarde sería llamada quitina [29], [30].

La primera aplicación de biomateriales en medicina no se produce hasta 1870, cuando el cirujano inglés Lord Joseph Lister introduce las técnicas quirúrgicas asépticas. Durante los siguientes años las aleaciones metálicas constituyen la única forma de biomateriales en uso; sus aplicaciones se extienden desde reparaciones óseas hasta sistemas de liberación de medicamentos. No es hasta la segunda guerra mundial que se produce un rápido avance en la ciencia de los polímeros, principalmente enfocado a las aplicaciones médicas [24], [31], [32].

Hacia 1940 se mejoró la resistencia a la corrosión de los aceros mediante el agregado de 2 - 4% de molibdeno. En 1960 se redujo la cantidad de carbono en estos aceros inoxidable a menos del 0,03 %, por lo que se logró una mejoría adicional. Posteriormente, la introducción del titanio y de sus aleaciones con niobio y tantalio, extendió el campo de aplicación de los metales [24], [31], [32].

Se cree que el uso médico de la hidroxiapatita se debe a la obra del profesor Per-Ingvar Branemark. En 1952, se llevó a cabo un experimento que implicó el uso de un implante de titanio en el hueso de conejo. Cuando el profesor fue a retirar el implante, según los informes, se encontró que el implante se había integrado con el hueso completamente que no podía ser eliminado. Esto despertó el interés en su uso para fines médicos humanos [33]. Durante la década de los 60 se publicaron los primeros estudios sobre las lesiones provocadas por la presencia de un implante, e hizo su aparición el término biocompatibilidad para definir el grado de tolerancia del material por parte de la materia viva [24], [31], [32].

En 1999, Sánchez et al. [3] llevaron a cabo un estudio de las causas de la rotura prematura de una prótesis de cadera constituida por una pieza metálica de aleación Ti6Al4V conformada en molde y recubierta por dos capas superficiales, una de titanio puro poroso de 50 μm de espesor y otra de cerámica de hidroxiapatita de 150 μm . Mediante el uso de diversas técnicas espectroscópicas se analizó cada recubrimiento y el estado de las interfases, así como el tipo de rotura presente en la superficie de fractura, llegando a la conclusión de que la rotura de la prótesis tuvo lugar por un proceso de fatiga compuesta por los propios esfuerzos del apoyo al caminar. La propagación de dicha fisura se dio por defectos de la pieza, principalmente por falta de recubrimiento.

En el 2001, Zhang et al. [34] estudiaron la biocompatibilidad del quitosano a nivel celular y proteico usando diferentes métodos físicos y biológicos. Se analizaron cinco tipos de materiales mediante la mezcla de quitosano con cinco tipos diferentes de polietilenglicol (PEG), observando que las propiedades mecánicas del material mejoraron ligeramente con la cantidad adecuada de PEG. A través de estudios biológicos y físicos se demostró que el PEG mejoró eficazmente la biocompatibilidad de los materiales, aumentando la adsorción de proteínas y la adhesión celular.

También se evidenció que una concentración óptima de PEG ayudaba a mantener la estructura natural de la proteína adsorbida en este y que el mantenimiento de la estructura molecular benefició el crecimiento celular.

En el 2008, León B., A. y Martínez G., L. [35], realizaron una evaluación comparativa de la biomineralización del ácido poliláctico – biovidrio y ácido poliláctico – HAp con el fin de reconocer cuál de estas mezclas de materiales presentaba una mejor respuesta a la oseointegración en presencia de fluidos del cuerpo humano. Además, se realizó una comparación entre las resistencias a la polarización de las distintas muestras obtenidas a diferentes días de inmersión en SBF, y se obtuvo una condición favorable a los 14 días de inmersión en SBF para las dos mezclas estudiadas, siendo la mezcla PLA/HAP la de mayor resistencia a la polarización y por tanto la de mejor efecto de biomineralización.

En el año 2011, Montañez S., N. [36] evaluó la interacción de un biomaterial polimérico electrodepositado sobre Ti6Al4V compuesto por ácido poliláctico - ácido poliglicólico - HAp, modificado con quitosano y colágeno en presencia de medio de cultivo celular y medio de cultivo de células osteoblásticas, mediante técnicas electroquímicas que incluían potencial de corrosión con respecto al tiempo, espectroscopia de impedancia electroquímica y voltametría cíclica. Finalmente se encontró la mejor superficie para la adhesión y crecimiento celular mediante análisis estadístico, correspondió al recubrimiento con la mayor concentración de quitosano y colágeno.

En el 2013, Quintero J., A. [6] estudió la obtención y evaluación de superficies de policaprolactona (PCL)/quitosano patronadas por ablación láser sobre sustratos de Ti6Al4V. Se trabajó con soluciones poliméricas en las cuales la relación de

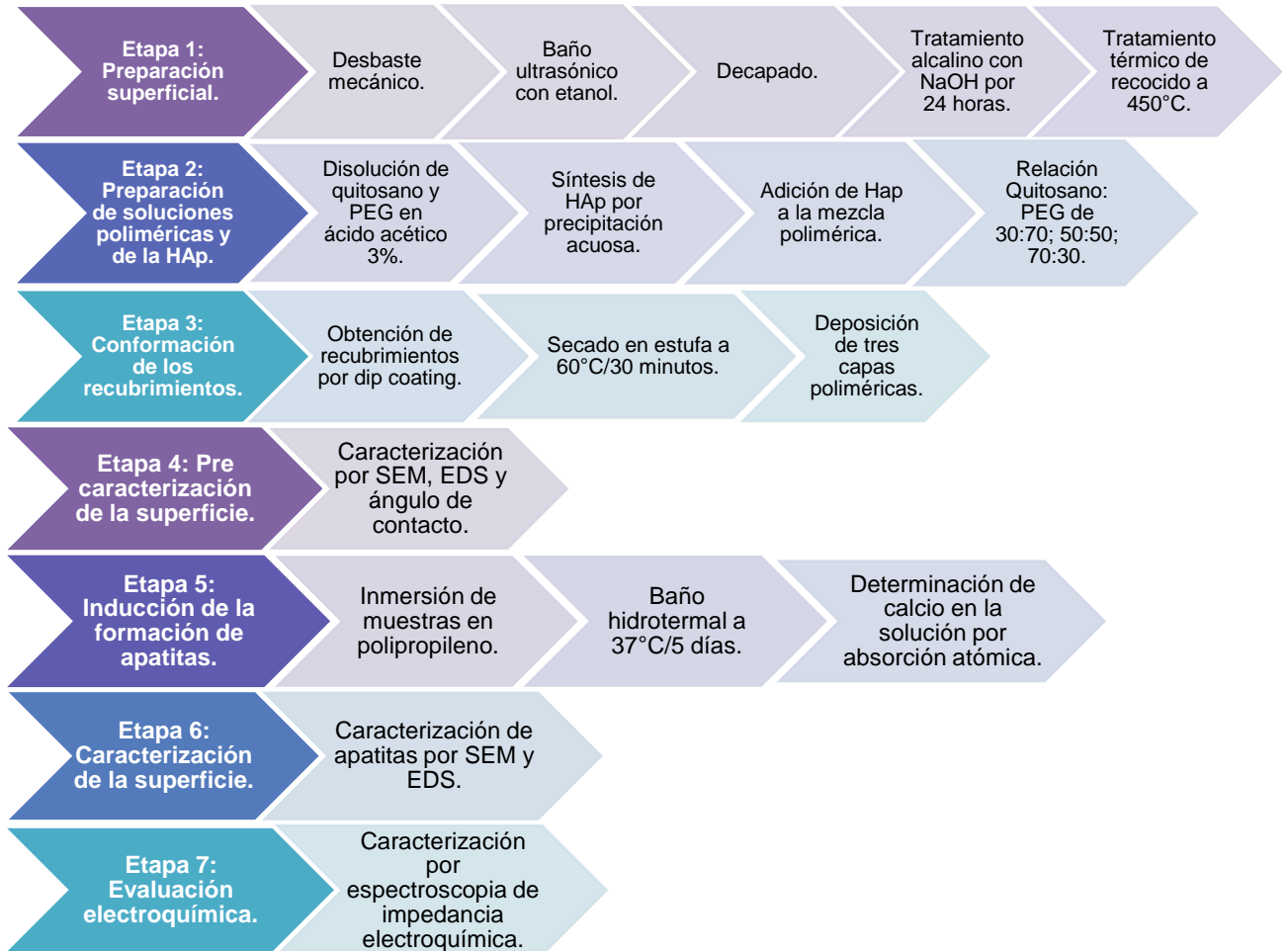
PCL/quitosano variaba así: 30/70, 50/50 y 70/30. Los resultados mostraron que en las películas con relación 50/50 la presencia de mayor cantidad de grupos hidroxilo facilitaba la adsorción de calcio mostrando un mejor carácter bioactivo.

Simultáneamente, en ese mismo año, Camero, S. et al. [5] evaluaron el comportamiento de la corrosión de una aleación de Ti6Al4V con tratamiento superficial mecánico y químico. Las muestras se sometieron a un ensayo de corrosión estático durante 0, 180, 360 horas para simular las condiciones de los implantes en el cuerpo. Finalmente encontraron que el tratamiento corrosivo de la aleación cambiaba con el tiempo de inmersión y los distintos tratamientos superficiales aplicados; además, la caracterización de la capa de productos permitió verificar la presencia de calcio en la superficie de las muestras pulidas sugiriendo la formación de apatita sobre la superficie.

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El desarrollo del presente trabajo de investigación se llevó a cabo mediante las etapas descritas en la Figura 1.

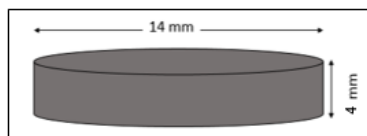
Figura 1. Diagrama desarrollo experimental.



4.1 Etapa 1. Preparación superficial

Se partió de muestras de Ti6AL4V con un diámetro de 14 mm y un espesor de 4 mm. Inicialmente la superficie fue desbastada con papel de carburo de silicio No. 120, 180, 240, 320, 400, 600, 1000 y 1200, obteniendo una superficie lisa; se continuó con un pulido con alúmina de 3 μm y 0,05 μm . Luego las muestras se enjuagaron en baño ultrasónico con etanol durante 10 minutos y fueron secadas con aire caliente para posterior almacenamiento en el desecador. Se seleccionó una muestra de forma aleatoria y se atacó con reactivo Kroll para revelar su microestructura, cuya composición fue 5% v/v de HNO_3 , 10% v/v de HF y agua destilada, para realizar análisis microestructural mediante el microscopio óptico.

Figura 2. Dimensiones de la probeta de Ti6Al4V.



A las muestras se les realizó tratamiento alcalino para activar la superficie, llevado a cabo con inmersión en solución de NaOH con concentración de 10 M a 60°C por 24 horas en un baño hidrotérmico. Las muestras se lavaron y secaron, para ser sometidas a tratamiento térmico de recocido a 450°C con rampa de calentamiento de 10°C/segundo, y sostenimiento de 1 hora. Las muestras, posteriormente, se dejaron enfriar en el horno hasta temperatura ambiente.

4.2 Etapa 2. Preparación de soluciones poliméricas y de la HAp

Se preparó una solución de ácido acético 0,5 M en agua destilada, dicha solución fue empleada como solvente para diluir las cantidades estequiométricas de quitosano, cada solución fue agitada hasta obtener una mezcla homogénea; seguidamente, se adicionaron los gramos necesarios de polietilenglicol (PEG), obteniendo tres soluciones con relaciones 30: 70, 50: 50 y 70: 30 de Quitosano: PEG, a las cuales posteriormente se les agregó HAp variando su concentración, obteniendo así una única solución con volumen final de 50 mL.

Tabla 2. Cantidades y concentraciones de polímeros en solución para la preparación de las soluciones Quitosano: PEG.

Solución quitosano		Solución PEG	Relación Solución Quitosano: PEG
Cantidad de quitosano [g]	Cantidad de ácido acético [mL]	Cantidad de PEG [g]	
0,1511	0,45	0,3503	30: 70
0,2514	0,75	0,2538	50: 50
0,3501	1,05	0,1541	70: 30

Para la síntesis de la HAp se utilizaron diversos métodos experimentales reportados en la literatura, con el fin de obtener el material con las mejores características estructurales.

Método 1: Se usó el método de precipitación acuosa para obtener sus cristales, se partió de 2,955 g nitrato de calcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y 0,8649 g fosfato de amonio dihidrogenado ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) en concentraciones 0,042 M y 0,025 M, respectivamente. Se mezclaron las soluciones hasta disolución completa y se basificó la solución final utilizando amoníaco con agitación continua obteniendo un pH de 9,40. Se sometió la solución a envejecimiento por 144 horas a temperatura ambiente y luego fue secada a 60°C por 24 horas. Finalizando con una calcinación a 1050°C durante 1 hora [35], [36].

Método 2: Se partió de soluciones acuosas de nitrato de calcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) usando 4,9579 g y fosfato de amonio dibásico ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) usando 1,6507 g, en concentraciones 0,042 M y 0,025 M, respectivamente y ajustando a pH 10 con amoníaco. Las soluciones obtenidas se mezclaron en cantidades tales que permitieron obtener una HAp estequiométrica, y fueron mantenidas bajo agitación constante por 24 horas. Una vez completada la reacción se realizaron varios lavados con agua destilada, eliminando así el nitrato de amonio formado como subproducto. El secado del precipitado obtenido se realizó en una estufa a 120°C durante 4 horas. El producto se calcinó a 1050°C/2 horas para evaluar la cristalinidad. Una vez corroborada dicha cristalinidad, se realizó una calcinación a 850°C/2 horas para obtener la HAp deseada [37].

Método 3: Se partió de soluciones de ácido fosfórico (H_3PO_4) 0,6 M usando 1081 μL y de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) 1 M usando 37,04 g, se ajustó el pH con amoníaco y se sometió a reflujo a 90°C/1 hora. La solución se dejó en envejecimiento durante 72 horas, seguidamente se filtró el precipitado y se lavó con agua destilada para eliminar el amoníaco formado como subproducto. El producto obtenido fue secado a 110°C/3 horas para eliminar el agua en exceso y luego se

sometió a proceso de calcinación a 1050°C/5 horas para favorecer la formación de la fase [38].

Tabla 3. Cantidades y concentraciones de HAp empleadas para los recubrimientos.

Concentración de HAp [%p/v]	Cantidad de HAp [g]
0,01	0,0016
0,03	0,0048
0,05	0,0080

Se adicionó HAp a las mezclas de Quitosano: PEG, de las cuales se extrajeron 16 mL con el fin de obtener tres partes de cada una de las relaciones establecidas, es decir, se obtuvieron nueve soluciones de las tres relaciones; a cada una de las partes se les agregó HAp conservando las concentraciones mostradas en la Tabla 3. La Tabla 4 muestra las cantidades finales utilizadas para obtener las nueve soluciones.

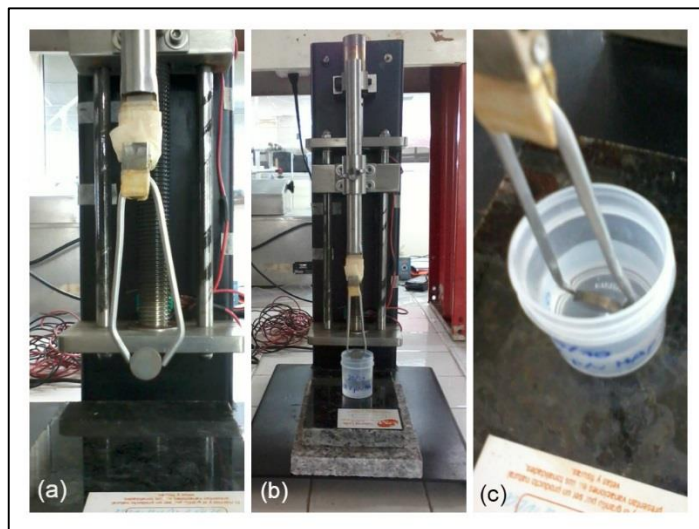
Tabla 4. Cantidades de quitosano, PEG e HAp utilizadas para los recubrimientos.

Relación Quitosano: PEG	Cantidad de quitosano [g]	Cantidad de PEG [g]	Concentración de HAp [%p/v]
30: 70	0,1511	0,3503	0,01
			0,03
			0,05
50: 50	0,2514	0,2538	0,01
			0,03
			0,05
70: 30	0,3501	0,1541	0,01
			0,03
			0,05

4.3 Etapa 3. Conformación de los recubrimientos

Las soluciones poliméricas se utilizaron para obtener un recubrimiento sobre la aleación de titanio previamente sometida a tratamiento alcalino, por medio de la inmersión y extracción del sustrato haciendo uso de la técnica “dip coating”, seguido de la evaporación del solvente (ácido acético y agua). Las probetas fueron sumergidas durante 10 segundos en la solución polimérica a una velocidad de 1,5 cm/min, luego se realizó un proceso de secado en una estufa precalentada a 60°C/30 min (se depositaron tres capas poliméricas sobre el sustrato; cada una conformada después de 30 minutos de secado en la estufa).

Figura 3. Equipo de dip coating para la realización de los recubrimientos, Grupo de investigación en mineral, biohidrometalúrgica y ambiente (GIMBA), UIS – Sede Guatiguará. (a) Probeta lista para inmersión, (b) Probeta en proceso de inmersión en solución polimérica, (c) Inmersión total de la probeta.



4.4 Etapa 4. Pre caracterización de las superficies.

Los análisis de las superficies se realizaron mediante técnicas como SEM, para conocer su morfología; EDS, para conocer su composición y ángulo de contacto, para conocer su mojabilidad.

4.5 Etapa 5. Inducción de la formación de apatitas

Después de realizar los recubrimientos, las muestras se sumergieron en recipientes de polipropileno con 30 mL de solución fisiológica simulada (HBSS o solución salina de Hank's) durante 5 días (120 horas) para inducir la formación de apatitas, el HBSS fue preparado con base en Tamilselvi et. al [39]. Las muestras se introdujeron en una incubadora a 37 °C durante los días ya mencionados, se tomó una alícuota de la solución como punto inicial y transcurridos 5 días se tomaron alícuotas para cada una de las nueve probetas inmersas en HBSS para así determinar la variación de calcio en la solución, mediante la técnica de absorción atómica.

De la solución de HBSS en la que fueron sumergidas las probetas con recubrimientos poliméricos, se tomaron alícuotas de 0,125 mL las cuales fueron llevadas a un volumen de 25 mL en un balón aforado, trabajando de esta manera con un factor de dilución de 200.

Figura 4. Prototipo de la dilución de las alícuotas tomadas de HBSS.

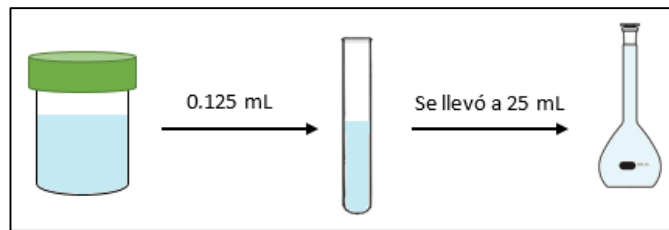
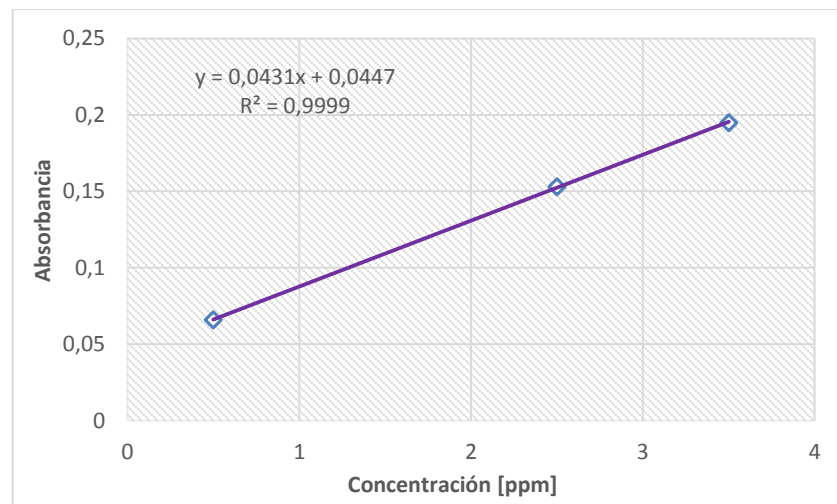


Tabla 5. Curva de calibración para la determinación de calcio en las muestras.

Concentración del patrón [ppm]	Absorbancia
0,5	0,066
2,5	0,153
3,5	0,195

Figura 5. Gráfica para la curva de calibración para la determinación de calcio en las muestras.



4.6 Etapa 6. Caracterización de las superficies

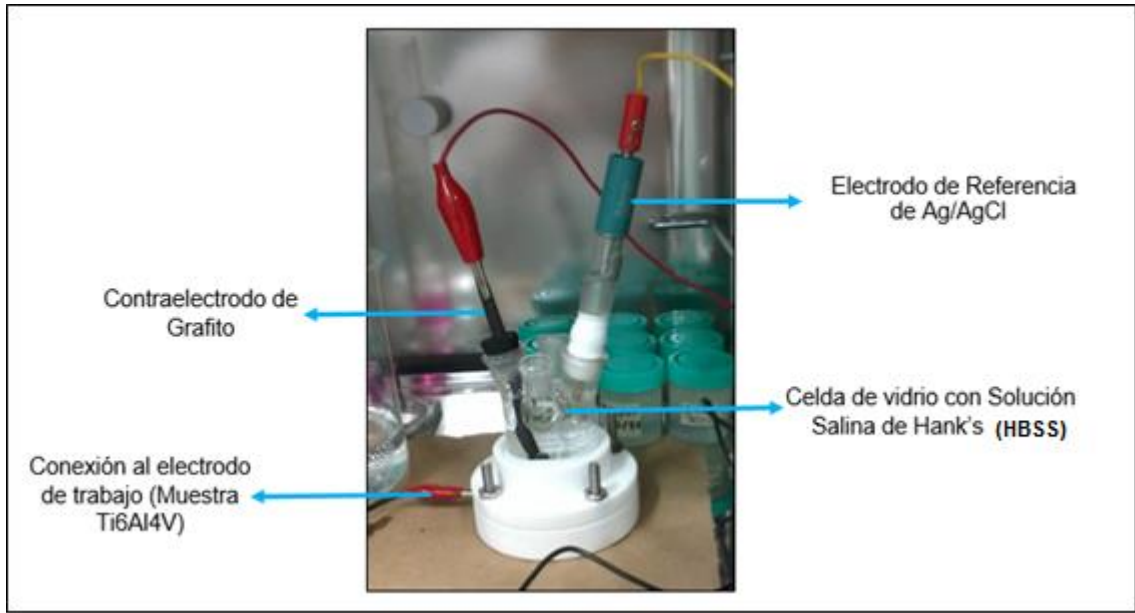
Para identificar las características superficiales obtenidas tras la formación de apatitas se hizo uso de las técnicas SEM y EDS.

4.7 Etapa 7. Evaluación electroquímica

Mediante el uso de la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica se evaluaron las muestras recubiertas por quitosano, PEG e HAp, analizando así la influencia de la variación de las concentraciones en los recubrimientos poliméricos y su comportamiento en presencia de la solución salina simulada.

El montaje experimental constaba de una celda con tres electrodos: el electrodo de trabajo (aleación Ti6Al4V recubierta), el contraelectrodo (electrodo de grafito) y un electrodo de referencia (electrodo de Ag/AgCl). El electrolito empleado fue HBSS (Solución salina de Hank's), utilizado para evaluar la formación de apatitas sobre la superficie y su respuesta frente a procesos de degradación [40, 41].

Figura 6. Montaje de celda para la caracterización por espectroscopia de impedancia electroquímica de las muestras Ti6Al4V recubiertas con quitosano, PEG e HAp.

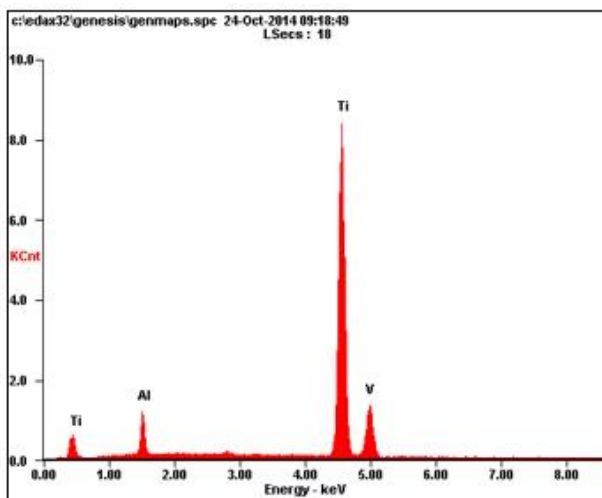


5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

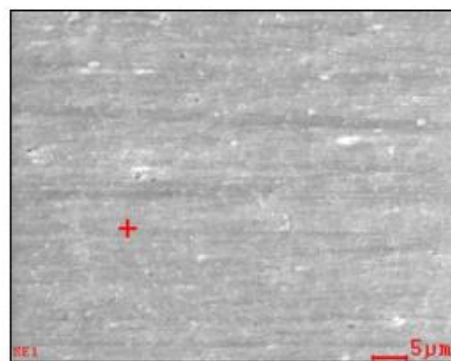
5.1 Caracterización inicial de la aleación Ti6Al4V

Se realizó un análisis de espectroscopia de energía dispersada (EDS) a la aleación para determinar su composición estructural. En el espectro obtenido se corroboró la presencia de elementos como titanio, aluminio y vanadio confirmando que en mayor proporción porcentual se encuentra el titanio, representado con 90,26 % peso y 87,50 % atómico.

Figura 7. Espectro EDS de la aleación Ti6Al4V recién pulida y micrografía de la superficie lisa.



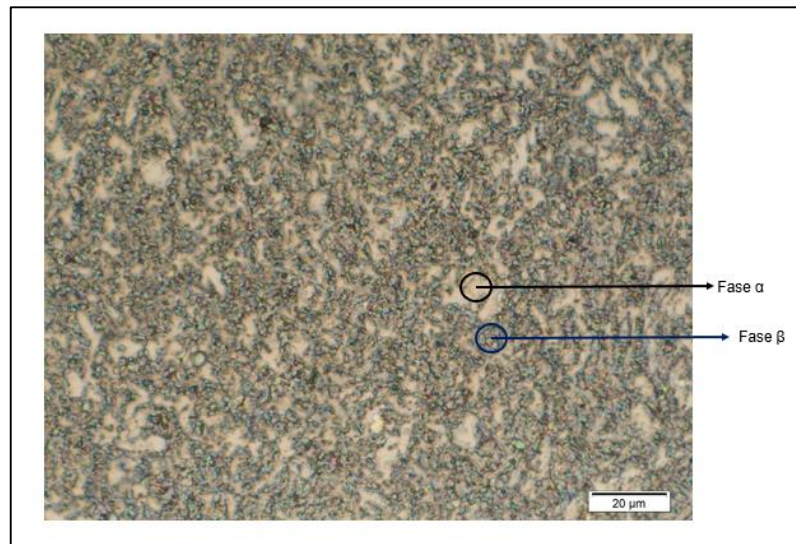
Elemento	% Wt	% At
Aluminio (Al-K)	7,06	11,91
Titanio (Ti-K)	90,26	85,70
Vanadio (V-K)	2,68	2,39



Con el ataque realizado con el reactivo Kroll se evidenció la aparición de una capa opaca y homogénea sobre la superficie de las probetas.

En la Figura 8 se presenta la micrografía de la aleación atacada con reactivo de Kroll, en esta se observa la aparición de la fase α (color claro) rica en aluminio que contiene a la fase β (color oscuro) rica en vanadio.

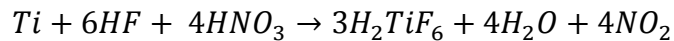
Figura 8. Micrografía aleación Ti6Al4V atacada con reactivo Kroll.



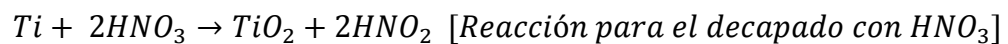
La fase β presenta una buena conformabilidad debido a su alta ductilidad y es posible mejorar su comportamiento mecánico mediante tratamiento térmico. La fase α por su parte presenta poca plasticidad, buen comportamiento a la fluencia y tiende a exhibir propiedades mecánicas y físicas anisotrópicas. Es por ello que la optimización de las propiedades mecánicas en las aleaciones de titanio se logra con una microestructura tipo $\alpha+\beta$, ya que la mezcla de ambas fases proporciona un equilibrio entre la resistencia mecánica y la capacidad de conformado, obteniéndose las excelentes propiedades mecánicas en este tipo de aleación [42].

Las reacciones que tuvieron lugar durante el ataque con el reactivo Kroll fueron las siguientes:

- *Tratamiento con HF y HNO₃*: Este tratamiento se realizó con el fin de revelar la microestructura y la aparición de las fases α y β de la aleación [43]. La presencia de la mezcla ácida formada por HF y HNO₃ reacciona con el Ti de la probeta, formando un ácido hidrofluorotitanico (H₂TiF₆); este proceso involucra la siguiente reacción.



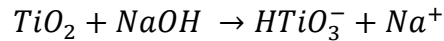
El tratamiento se realizó con la mezcla ácida, pues si se realizaba con cada ácido de forma individual era posible que el HF causara fragilización mediante la formación de iones hidruros en el material y el HNO₃ formara una capa no deseada de TiO₂ [44].



5.2 Tratamiento superficial alcalino con NaOH de la aleación Ti6Al4V

Este tratamiento fue necesario para el mejoramiento de la bioactividad, biocompatibilidad y osteoinducción del material. El TiO₂ reaccionó con el NaOH

formando el ion metatitanato de hidrógeno (HTiO_3^-). La reacción que tuvo lugar durante el proceso fue [45]:



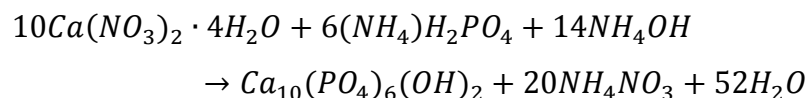
La capa de TiO_2 fue disuelta parcialmente debido al ataque por los grupos hidroxilo.

5.3 Obtención de recubrimientos poliméricos Quitosano: PEG y de HAp

Las soluciones de Quitosano: PEG se obtuvieron a través de la mezcla de soluciones individuales de quitosano y polietilenglicol; el quitosano fue disuelto en una solución de ácido acético hasta formar un gel, mientras que el PEG fue disuelto en agua hasta solución homogénea. El PEG se adicionó al quitosano y la solución final se sometió a agitación constante hasta observar una sola fase.

– Síntesis de la HAp

La reacción que tuvo lugar en la síntesis por el *Método 1* y el *Método 2*, es la siguiente:



Para el *Método 3* la reacción es la siguiente:

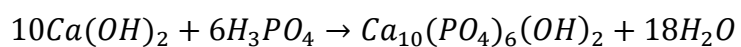


Tabla 6. Precursores utilizados para la síntesis de HAp.

Método	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O / Ca(OH)_2$	$(NH_4)H_2PO_4 / H_3PO_4$
1	2,955 g $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	0,8649 g $(NH_4)H_2PO_4$
2	4,9579 g $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	1,6507 g $(NH_4)H_2PO_4$
3	37,04 g $Ca(OH)_2$	1081 μ L H_3PO_4

La HAp fue adicionada a las mezclas poliméricas en las proporciones mostradas en la Tabla 3, se observó que a mayor concentración de quitosano el proceso de disolución de la hidroxiapatita es más rápido, es decir, para la relación 70: 30 (Quitosano: PEG) la HAp fue disuelta en menor tiempo.

Figura 9. Comparación de las fases obtenidas en los métodos utilizados para la síntesis de HAp.

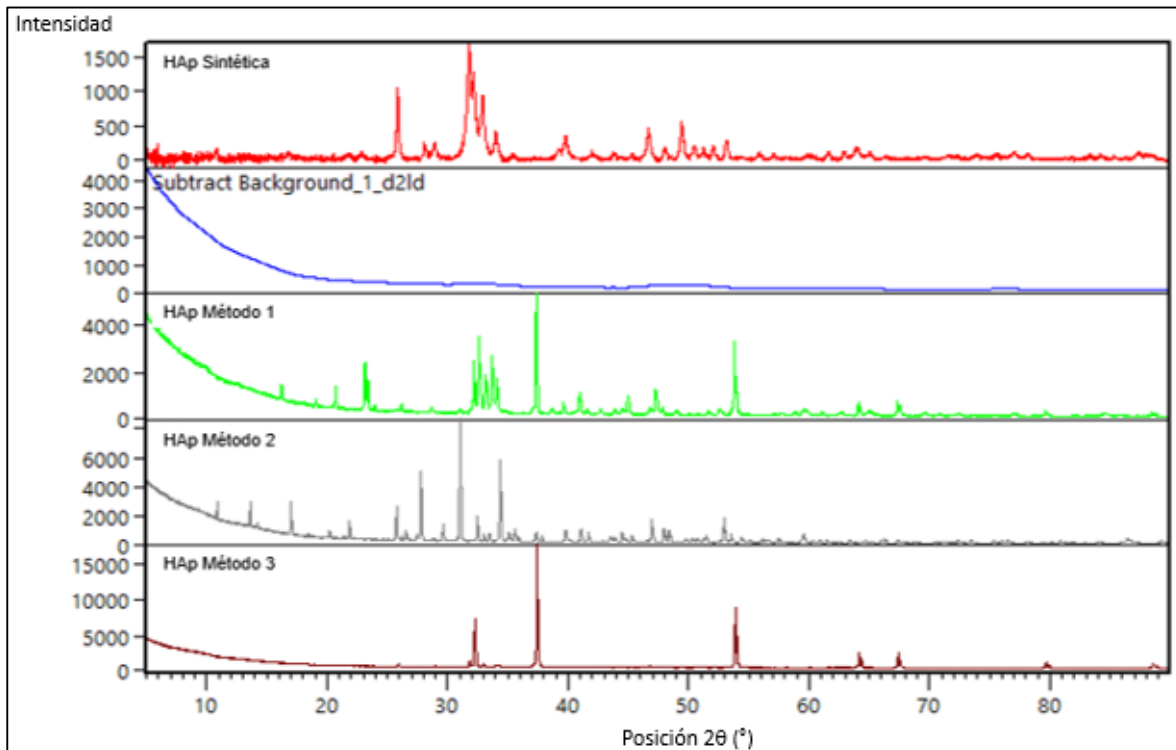


Tabla 7. Determinación de las fases encontradas en los difractogramas mostrados en la Figura 9.

Método	Fases encontradas
HAp Sintética	100% $(Ca_{10,00}P_{6,00}O_{28,00})$
HAp Método 1	57% Buchwaldita $(Ca_{12,00}Na_{12,00}P_{12,00}O_{48,00})$
	25% Óxido de calcio $(Ca_{4,00}O_{4,00})$
	18% Fluorapatita $(Ca_{10,00}P_{6,00}O_{24,00}F_{2,00})$
HAp Método 2	79% Hidroxiapatita $(Ca_{10,00}P_{6,00}O_{26,00})$
	20% Whitlockita $(Ca_{60,69}Mg_{2,31}P_{42,00}O_{168,00})$

	1% Óxido de calcio ($Ca_{4,00}O_{4,00}$)
HAp Método 3	60% Óxido de calcio ($Ca_{4,00}O_{4,00}$)
	27% Fluorapatita ($Ca_{10,00}P_{6,00}O_{24,00}F_{2,00}$)
	13% Hidroxiapatita ($Ca_{10,00}P_{6,00}O_{28,00}$)

De las fases encontradas en los diferentes difractogramas se concluyó que la HAp sintetizada por el *Método 2* fue la que mejor resultado proporcionó, pues el 79% del material corresponde a HAp, acompañado de un 20% correspondiente a whitlockita, que se considera una apatita con funciones similares a la HAp y que tiene la capacidad de integrarse al medio debido a su alto contenido de magnesio; el porcentaje de óxido de calcio presente es prácticamente nulo en comparación con las fases obtenidas por el *Método 1* y el *Método 3*. Con base a estos resultados, se decidió utilizar la HAp sintetizada por este método para conformar los recubrimientos poliméricos, ya que es posible observar la similitud y coincidencia de los picos presentes en los difractogramas y la presencia de un alto porcentaje de HAp.

5.4 Caracterización de los recubrimientos por ángulo de contacto

Después de conformar los recubrimientos poliméricos de PEG – Quitosano - HAp, se sometieron las nueve probetas a pruebas de ángulo de contacto, con esta técnica fue posible determinar la mojabilidad del biomaterial, en otras palabras, determinar el ángulo que formaba la superficie del líquido (HBSS) al entrar en contacto con el sólido (recubrimientos poliméricos).

Figura 10. (a) Equipo utilizado para las pruebas de ángulo de contacto (Equipo OCA 15EC – Dataphysics), Laboratorio de electroquímica, UIS – Sede Guatiguará (b) Probeta sometida a pruebas de ángulo de contacto.

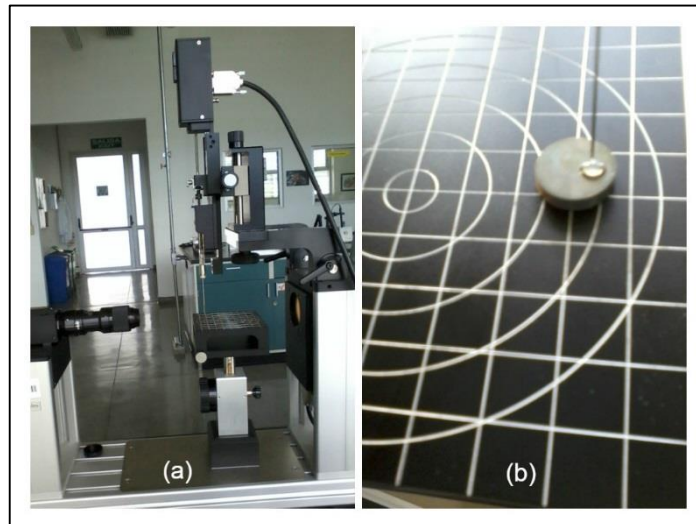


Tabla 8. Ángulo de contacto promedio para las variaciones de concentración de los recubrimientos poliméricos.

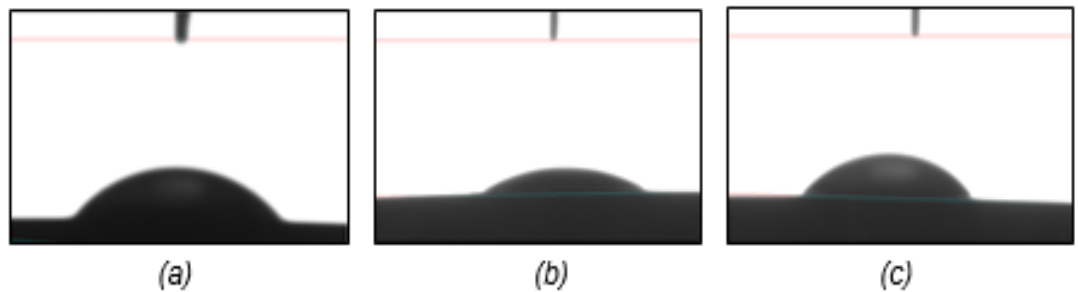
QUIT:PEG	[HAp]	Promedio	
		$\theta_{IZQUIERDA}$	$\theta_{DERECHA}$
30:70	0,01	46,35	45,80
	0,03	38,20	36,35
	0,05	30,45	32,55
50:50	0,01	28,15	27,35
	0,03	24,20	26,25
	0,05	22,45	23,00
70:30	0,01	36,55	35,75
	0,03	37,10	35,85
	0,05	45,90	47,15

Según los resultados observados en la Tabla 8, debido a que los ángulos de contacto obtenidos son inferiores a 90° se considera que el material posee una alta mojabilidad, es decir, es hidrofílico. Para la primera relación de Quitosano: PEG (30: 70) es notable que con el aumento en la concentración de HAp el ángulo de contacto disminuye lo que lo hace más hidrofílico, es decir, a menor concentración de quitosano, mayor concentración de PEG y de HAp, el recubrimiento absorbe mejor el fluido. En el caso de la relación 50: 50, en donde la cantidad de quitosano y PEG es la misma, la concentración de HAp que corresponde a 0,05 % p/v es la que menor ángulo de contacto presenta por lo que se considera la concentración más hidrofílica. Para la relación 70: 30, la menor concentración de HAp es la que menor ángulo de contacto mostró, siendo la más hidrofílica, es decir, a mayor concentración de quitosano, menor concentración de PEG y de HAp, el recubrimiento se vuelve más hidrofílico.

A modo general, la relación existente entre el PEG y la HAp en los recubrimientos poliméricos es directamente proporcional, cuando aumentan de forma simultánea el material se vuelve más hidrofílico [46], lo que lo hace más permeable y compatible con el medio bajo condiciones fisiológicas simuladas, esto se debe a que las fuerzas adhesivas con la superficie del sólido son muy grandes en relación a las fuerzas cohesivas haciendo que el líquido moje con más facilidad la superficie. El carácter hidrofílico del recubrimiento se atribuye a dos factores: el primero es la presencia de PEG en la mezcla superficial debido a que su estructura posee terminaciones con grupos hidroxilo (-OH) que interactúan fácilmente con el agua presente en el fluido; el segundo factor se relaciona con la HAp presente en la mezcla polimérica, que a pesar de no ser afín con el agua se considera un material cerámico microporoso, dichos poros permiten la absorción del agua que hace parte del fluido, estas dos propiedades disminuyen el efecto hidrofóbico del quitosano haciendo que

el biomaterial sea más compatible con el medio biológico y el recubrimiento pueda ser aceptado por el mismo.

Figura 11. Imágenes de ángulo de contacto para las diferentes relaciones de Quitosano: PEG e HAp, (a) Relación 30: 70 (b) Relación 50: 50 (c) Relación 70: 30.



5.5 Caracterización de los recubrimientos por microscopía electrónica de barrido (SEM)

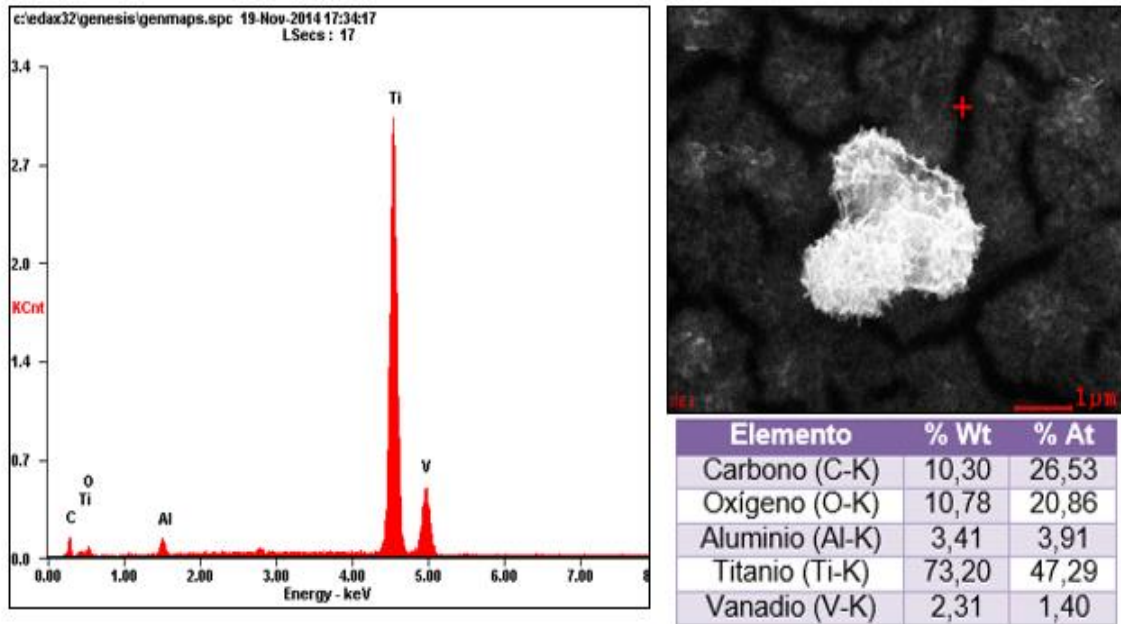
Para examinar la morfología de los recubrimientos, se tomaron micrografías a cada una de las nueve probetas por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM), evaluando así el comportamiento de los polímeros y el cerámico con la variación de sus concentraciones.

Figura 12. Equipo para microscopia electrónica de barrido (Microscopio electrónico de barrido Quanta FEG 650), Laboratorio de microscopía, UIS – Sede Guatiguará.



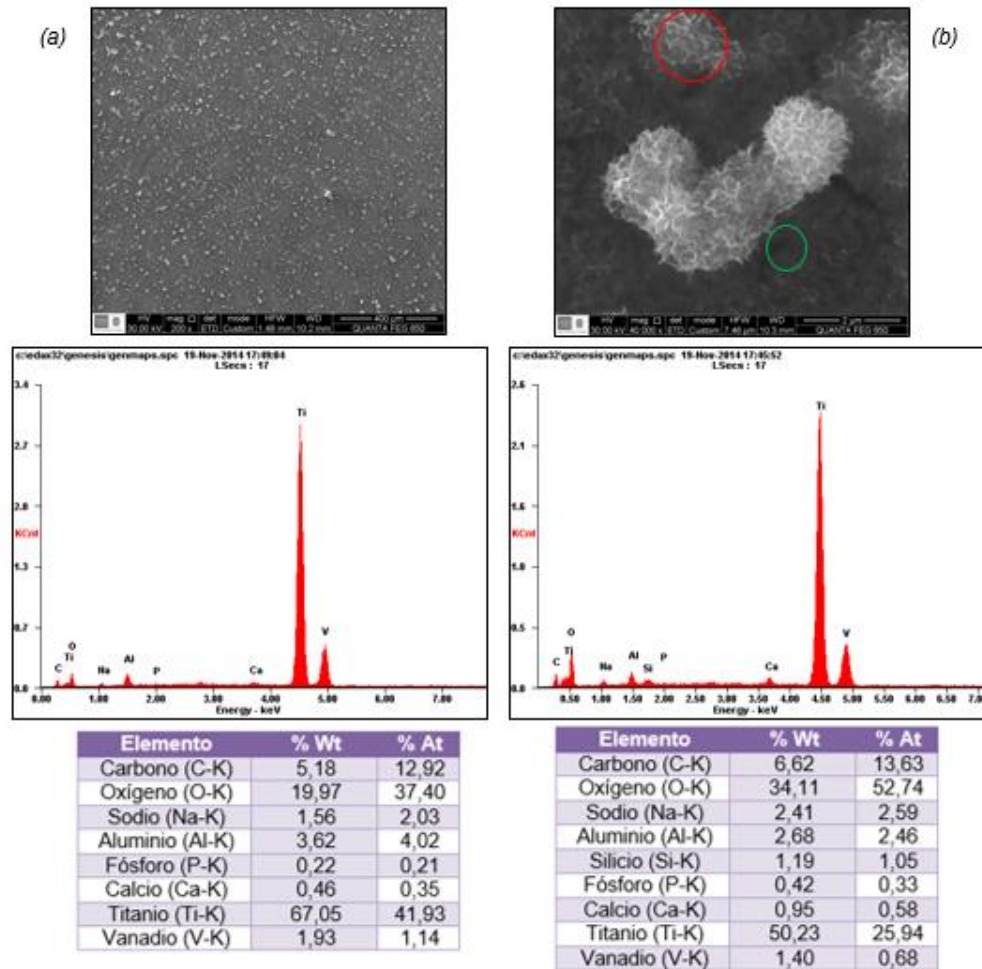
Las micrografías mostraron que para la mayor concentración de HAp (0,05 % p/v), en las diferentes relaciones de Quitosano: PEG, la morfología de la superficie se ajusta más al perfil esperado ya que se observa un aumento en el número de partículas precipitadas de HAp presentes en el recubrimiento debido a la variación en la concentración de la misma. Se encontraron zonas libres de recubrimiento, mostradas en la Figura 12, donde se observó la composición del sustrato (aleación de Ti6Al4V) debido a que la mezcla polimérica no logró adherirse de forma uniforme, densa y continua, y además el número de capas depositadas no fue suficiente para darle una protección compacta al metal [47].

Figura 13. Análisis SEM y EDS de las zonas libres de recubrimiento.



La relación 30: 70 de Quitosano: PEG presenta una matriz de color negro correspondiente a la estructura porosa del quitosano mostrada en la Figura 13 (zona verde), que a su vez contiene partículas de PEG y aglomerados de HAp apreciados de color blanco, en cambio en las fracciones separadas por las grietas el color blanco se desvanece conservando la estructura debido a que en la mezcla polimérica los polímeros (quitosano y PEG) encapsulan el cerámico (HAp) adoptando su estructura (zona roja).

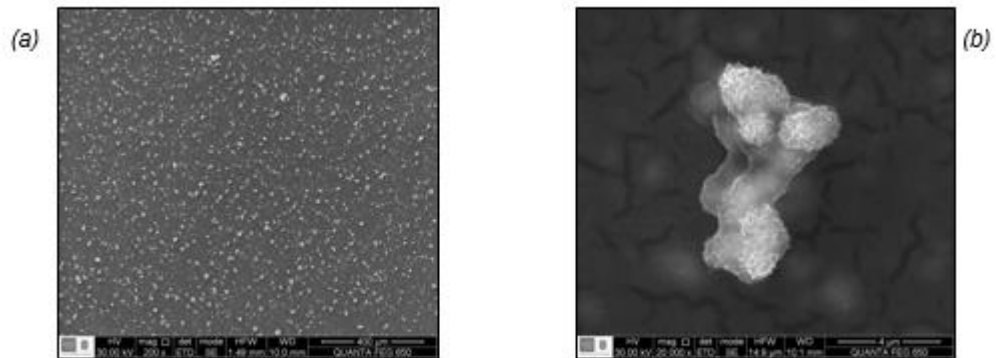
Figura 14. (a) Micrografía SEM del recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp a 40.000X.

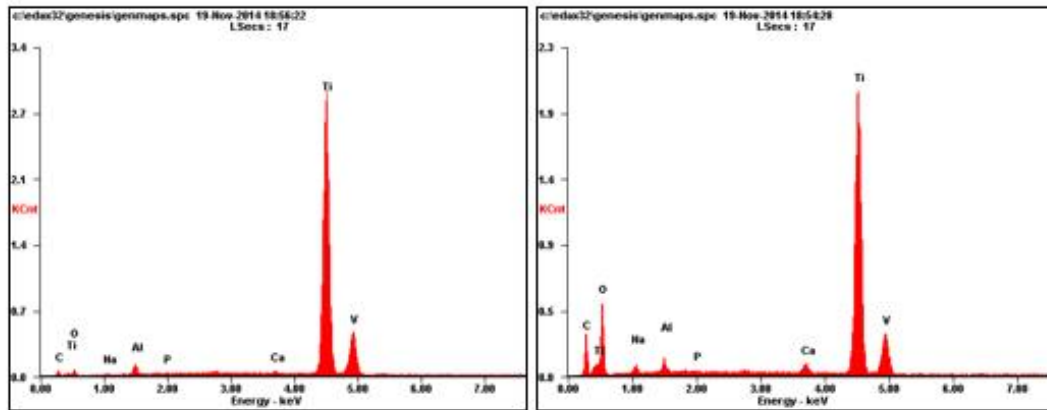


A diferencia de la relación 30: 70 de Quitosano: PEG, la relación 50: 50 presenta una superficie más homogénea, con más zonas cubiertas y menos grietas, lo cual se observa en la Figura 14 en donde se muestra el recubrimiento a dos aumentos diferentes: (a) corresponde al recubrimiento en general y (b) se refiere a la estructura de la HAp; esto se atribuye a la variación en la concentración de los

polímeros. Las grietas formadas corresponden a la matriz porosa del quitosano debido al fenómeno de degradación hidrolítica del polímero y a su contracción durante el proceso de secado para eliminar solventes, el quitosano precipita primero por la evaporación del agua causando la aparición de la matriz con estructura agrietada. Además, las precipitaciones de HAp se observan como aglomerados de mayor tamaño y mayor composición estructural, es decir, las partículas del cerámico tendieron a unirse con mayor facilidad distribuyéndose de manera uniforme sobre la superficie del sustrato. El proceso de encapsulamiento entre los polímeros y el cerámico se sigue generando con mayor frecuencia.

Figura 15. (a) Micrografía SEM del recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp a 20.000X.



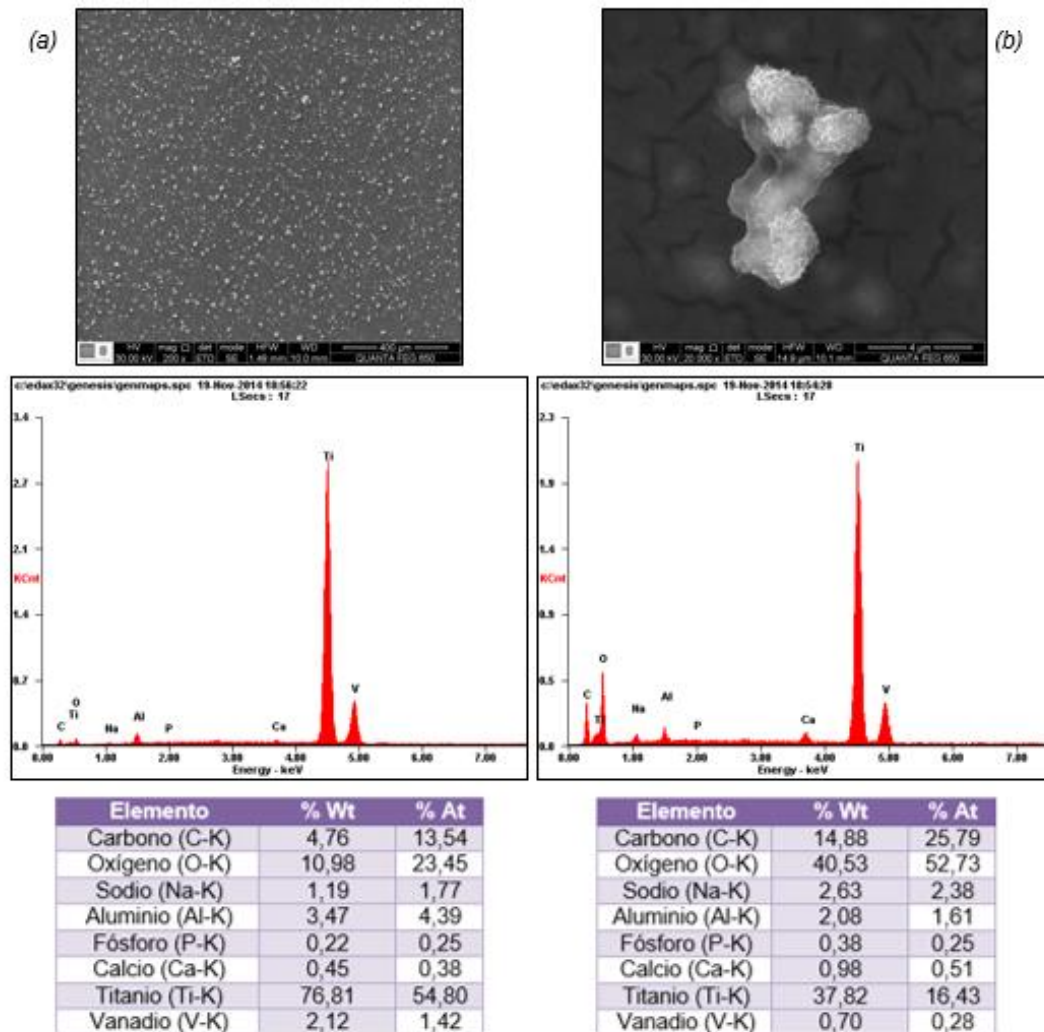


Elemento	% Wt	% At
Carbono (C-K)	4,76	13,54
Oxígeno (O-K)	10,98	23,45
Sodio (Na-K)	1,19	1,77
Aluminio (Al-K)	3,47	4,39
Fósforo (P-K)	0,22	0,25
Calcio (Ca-K)	0,45	0,38
Titanio (Ti-K)	76,81	54,80
Vanadio (V-K)	2,12	1,42

Elemento	% Wt	% At
Carbono (C-K)	14,88	25,79
Oxígeno (O-K)	40,53	52,73
Sodio (Na-K)	2,63	2,38
Aluminio (Al-K)	2,08	1,61
Fósforo (P-K)	0,38	0,25
Calcio (Ca-K)	0,98	0,51
Titanio (Ti-K)	37,82	16,43
Vanadio (V-K)	0,70	0,28

La morfología superficial de los recubrimientos 70: 30 de Quitosano: PEG presentan una estructura similar a la de la relación 50: 50, con aglomerados de HAp, precipitaciones de quitosano y encapsulamiento uniforme de los polímeros, mejorando la presencia de estos sobre la superficie, permitiendo una mejor adhesión de las capas a la aleación. La Figura 15 muestra el recubrimiento a dos aumentos diferentes: (a) corresponde al recubrimiento en general y (b) se refiere a la estructura de la HAp.

Figura 16. (a) Micrografía SEM del recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp a 20.000X.



Las morfologías observadas en los recubrimientos 50: 50 y 70: 30 sugieren que el aumento en la concentración de quitosano proporciona una mejor adhesión de las capas poliméricas depositadas sobre el sustrato, simultáneamente, el aumento en

la concentración de HAp permite obtener una superficie casi uniforme debido a la distribución de las partículas de la misma. La presencia del cerámico en la composición de la mezcla polimérica permite la aparición de una estructura homogénea, pues los polímeros tienden a adoptar su forma. Los análisis por SEM indican que la cantidad de quitosano, PEG e HAp no son suficientes para proporcionar una protección total al sustrato en el sentido de homogeneidad y continuidad.

Sin embargo, la cantidad de calcio presente en los recubrimientos y obtenida en los análisis de EDS sobre los precipitados de HAp, permite sugerir que la adhesión del cerámico a la superficie es mejor cuando la concentración de los polímeros está bajo la relación 50: 50 en donde las cantidades poliméricas son las mismas y la superficie porosa y precipitada de quitosano es más uniforme y homogénea. Para el caso de la matriz polimérica, el contenido de calcio no varía notablemente, tiende a permanecer constante, esto se debe a que la hidroxiapatita no se disolvió en la mezcla polimérica, simplemente adoptó un tamaño de partícula muy pequeño, difícil de observar a simple vista, por lo cual se depositó como precipitados sobre la superficie.

Tabla 9. Calcio presente en los recubrimientos para una concentración de 0,05% p/v de HAp, obtenidos por EDS.

Relación Quitosano: PEG	Precipitados de HAp		Matriz Polimérica	
	% Peso	% Atómico	% Peso	% Atómico
30: 70	0,95	0,58	0,46	0,35
50: 50	1,11	0,65	0,44	0,32
70: 30	0,98	0,51	0,45	0,38

La cantidad de fósforo presente en los recubrimientos es baja en relación a la cantidad de calcio que se observó, esto se atribuye a que quizá la HAp sufrió un proceso de disociación liberando fósforo en forma de fosfatos que se depositaron sobre la superficie uniéndose con otros iones. A pesar de esto, es notable que la relación 50: 50 es la que mayor proporción de fósforo presenta, al igual que de calcio.

Tabla 10. Fósforo presente en los recubrimientos para una concentración de 0,05% p/v de HAp, obtenidos por EDS.

Relación Quitosano: PEG	Precipitados de HAp		Matriz Polimérica	
	% Peso	% Atómico	% Peso	% Atómico
30: 70	0,42	0,33	0,22	0,21
50: 50	0,44	0,33	0,22	0,21
70: 30	0,38	0,25	0,22	0,25

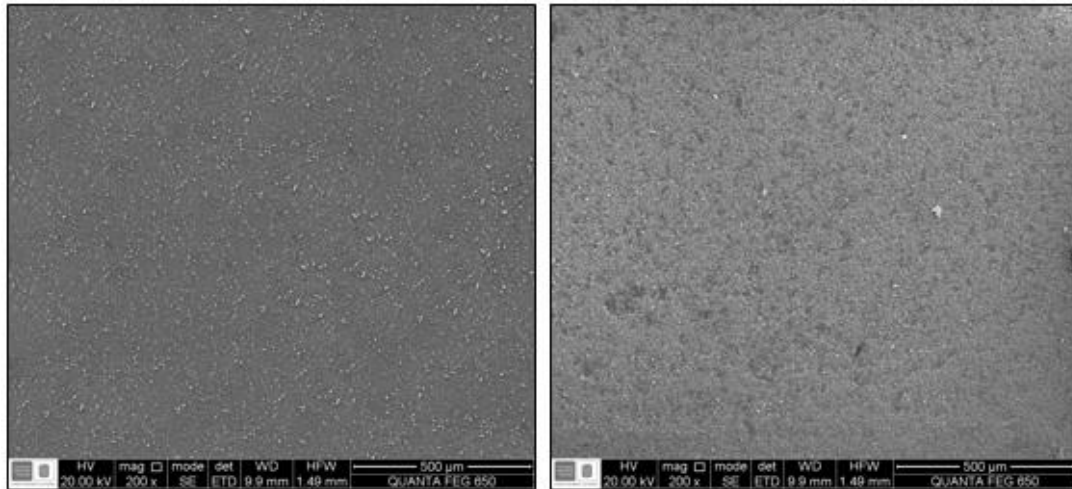
5.6 Caracterización de los recubrimientos después de inmersión en fluido corporal simulado (HBSS) por microscopia electrónica de barrido (SEM)

Con el fin de evaluar la formación de apatitas sobre los recubrimientos de PEG – Quitosano - HAp, las probetas fueron sumergidas en fluido corporal simulado (HBSS) durante cinco días a 36,5°C, permitiendo de esta manera la formación de fosfatos de calcio sobre la superficie.

El análisis morfológico indica que para la mayor concentración de HAp presente en las diferentes relaciones de Quitosano: PEG, es decir 0,05% p/v de HAp, se observa aparición de mayor cantidad de precipitados de apatitas debido a la presencia de precursores de calcio en el fluido empleado (HBSS) y a la afinidad del recubrimiento con el mismo, pues la mezcla polimérica tiene la capacidad de absorber con facilidad los fosfatos de calcio debido a las propiedades químicas que presentan cada uno de sus componentes. Las micrografías muestran que para todas las relaciones de Quitosano: PEG con 0,05% p/v de HAp, la superficie es más homogénea, está recubierta de forma continua y los precipitados de HAp presentan un tamaño de grano más pequeño y distribución uniforme en comparación con los datos obtenidos para pre-inmersión, lo cual se observa en la Figura 17.

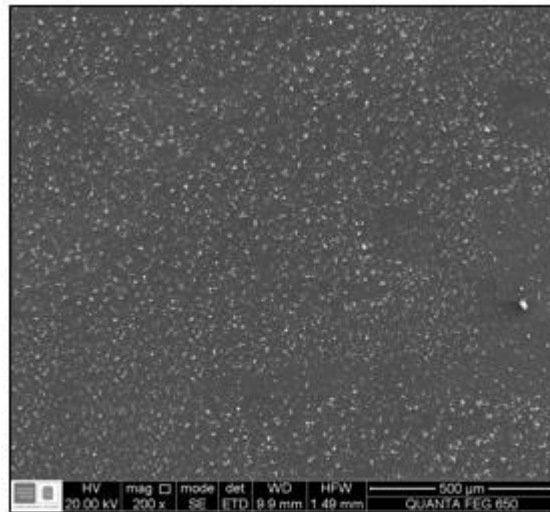
Es notable que para la relación 50: 50 de Quitosano: PEG hay un aumento en la presencia de precipitados de apatitas, por lo cual se considera que la superficie está recubierta de forma más homogénea en comparación con las demás relaciones de polímeros, esto permite confirmar el patrón observado en las micrografías pre-inmersión, para las cuales, la mejor superficie fue la de relación 50: 50, punto en el cual la concentración de los polímeros es la misma y la concentración de HAp es la que ejerce influencia en la morfología superficial. Además, en la micrografía para ésta relación, la superficie toma una coloración gris en su totalidad pues está siendo recubierta en mayor proporción por fosfatos de calcio suministrados por el fluido compensado con la cantidad de HAp ya presente en el recubrimiento.

Figura 17. Micrografías SEM post-inmersión a 200X de los recubrimientos con relación (a) 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp, (b) 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp, (c) 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp.



(a)

(b)

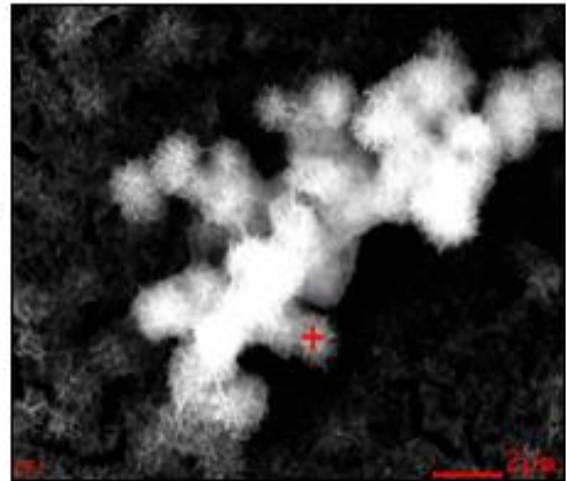
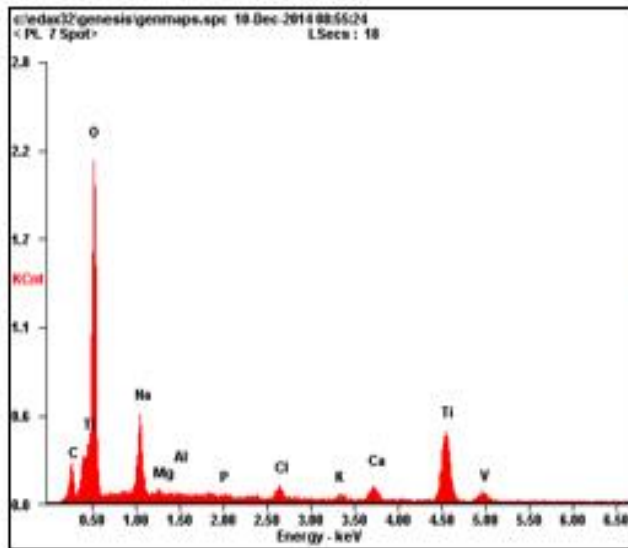


(c)

Los datos proporcionados por los análisis de EDS sobre la cantidad de calcio y fósforo presentes en los recubrimientos, muestran que el calcio aumenta notablemente respecto a las muestras pre-inmersión, lo cual era de esperarse ya que hay mayor presencia de calcio en el medio y la superficie tiende a presentar fenómenos de adsorción. Para el caso del fósforo, es evidente su disminución para las relaciones 30: 70 y 70: 30 de Quitosano: PEG, esto debido a que estas relaciones poliméricas no facilitan la precipitación del fósforo; lo contrario ocurre para la relación de 50: 50, para la cual hay un aumento significativo del fósforo presente, lo que se atribuye a que la cantidad de los polímeros en el recubrimiento es la misma y permite que haya una precipitación tanto de fósforo como de calcio.

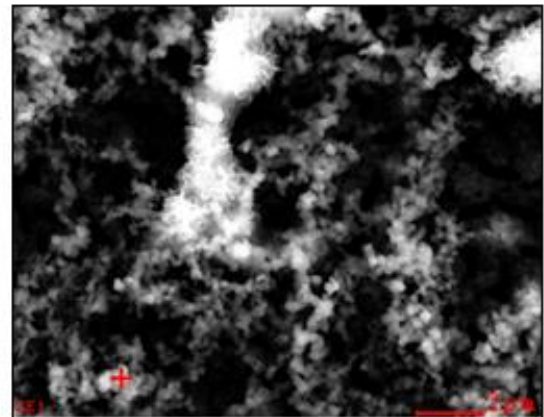
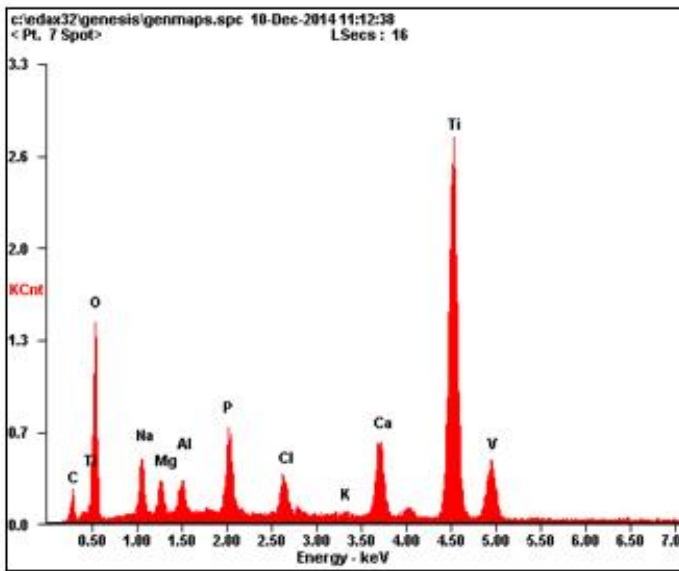
La presencia de elementos como carbono, oxígeno, sodio, magnesio, aluminio, cloro y potasio se debe a los precursores que se encuentran en el fluido corporal simulado (HBSS), compuesto por NaCl, KCl, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2 \cdot H_2O$, Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , Glucosa y $NaHCO_3$. El titanio y el vanadio hacen parte de la aleación de Ti6Al4V sobre las que se realizan los recubrimientos.

Figura 18. Análisis SEM y EDS de los precipitados de HAp sobre la superficie para la relación 30: 70 de Quitosano: PEG con 0,05% p/v de HAp.



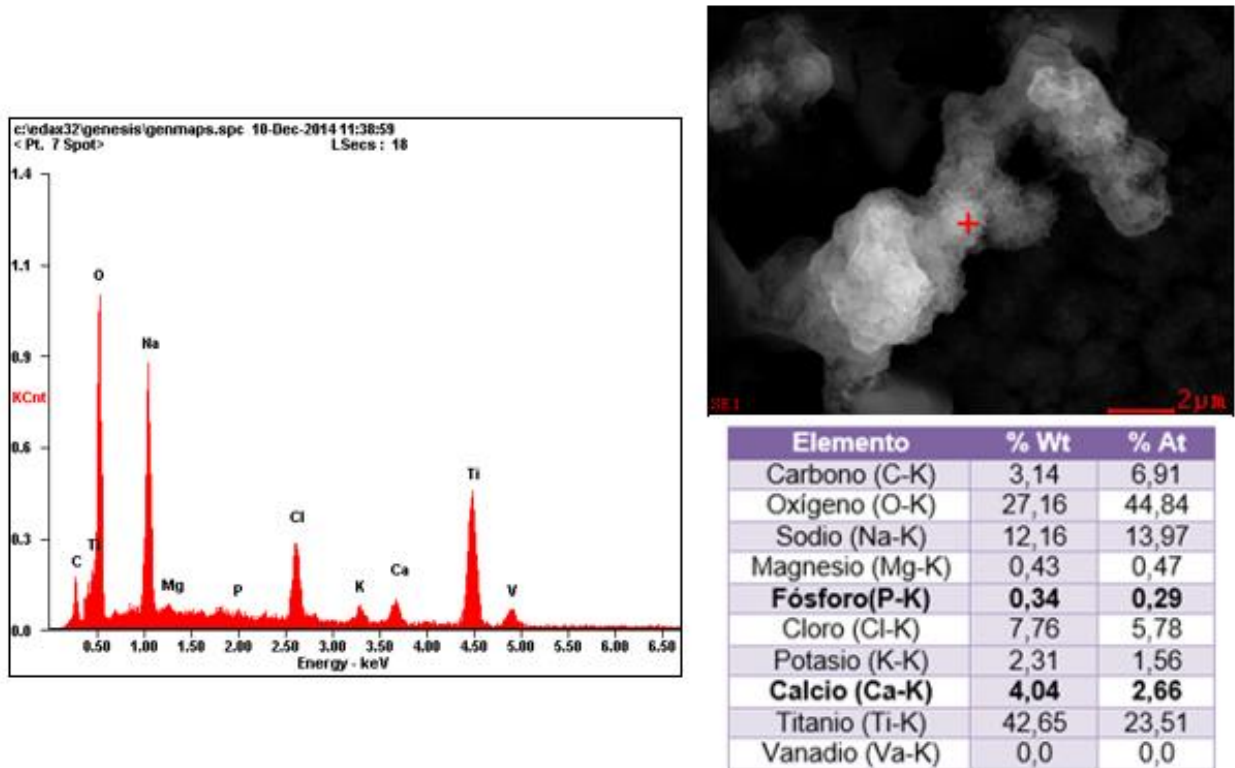
Elemento	% Wt	% At
Carbono (C-K)	3,28	6,37
Oxígeno (O-K)	43,22	63,0
Sodio (Na-K)	6,50	6,59
Magnesio (Mg-K)	0,36	0,35
Aluminio (Al-K)	0,20	0,17
Fósforo (P-K)	0,31	0,23
Cloro (Cl-K)	1,92	1,26
Potasio (K-K)	1,17	0,70
Calcio (Ca-K)	3,88	2,26
Titanio (Ti-K)	39,17	19,07

Figura 19. Análisis SEM y EDS de los precipitados de HAp sobre la superficie para la relación 50: 50 de Quitosano: PEG con 0,05% p/v de HAp.



Elemento	% Wt	% At
Carbono (C-K)	4,55	9,15
Oxígeno (O-K)	35,79	54,03
Sodio (Na-K)	5,03	5,29
Magnesio (Mg-K)	2,43	2,41
Aluminio (Al-K)	2,02	1,81
Fósforo(P-K)	4,09	3,19
Cloro (Cl-K)	2,12	1,44
Potasio (K-K)	0,26	0,16
Calcio (Ca-K)	5,05	3,05
Titanio (Ti-K)	37,72	19,02
Vanadio (Va-K)	0,93	0,44

Figura 20. Análisis SEM y EDS de los precipitados de HAp sobre la superficie para la relación 70: 30 de Quitosano: PEG con 0,05% p/v de HAp.



5.7 Determinación de la formación de apatitas después de inmersión en fluido corporal simulado (HBSS) por absorción atómica

La determinación de la concentración de calcio presente en el HBSS en el cual fueron sumergidas las probetas, se llevó a cabo utilizando la técnica de espectroscopia de absorción atómica en un equipo como el de la Figura 20. Se realizaron una serie de patrones para obtener la curva de calibración del equipo y

luego se procedió a medir la absorbancia correspondiente a las respectivas muestras.

Figura 21. Equipo de espectroscopia de absorción atómica (Thermo Electron Corporation S4 AA System), Laboratorio de análisis instrumental, UIS – Campus Central.

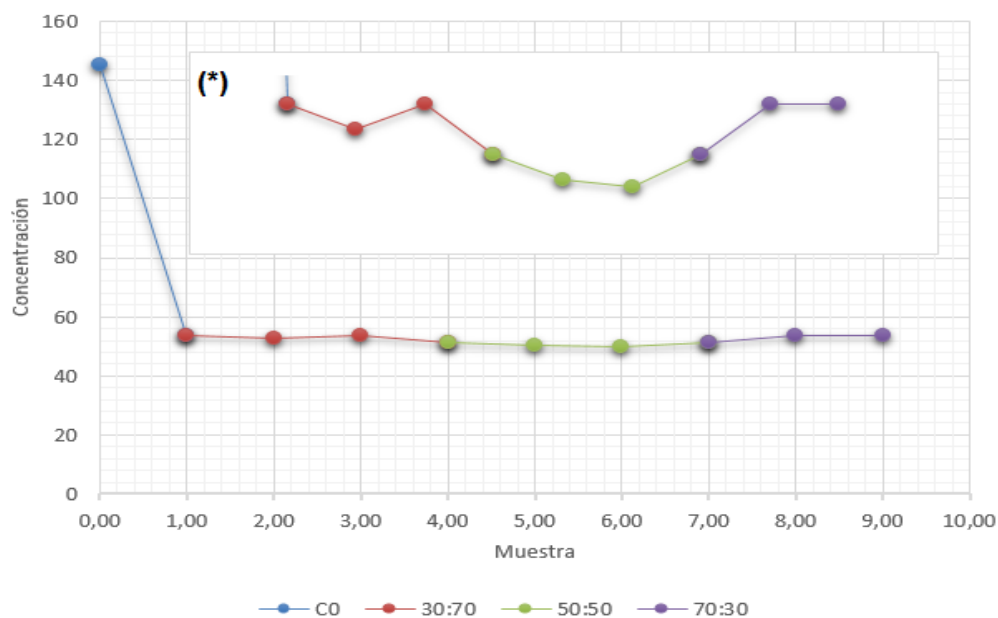


Tabla 11. Concentración de calcio presente en el fluido para las diferentes relaciones de los recubrimientos poliméricos.

Muestra	Concentración mezcla polimérica (Quitosano: PEG + HAp)	Concentración de Ca [ppm]
C0	Blanco HBSS	145,24
1	30: 70 + 0,01 % p/v	53,71
2	30: 70 + 0,03 % p/v	52,55
3	30: 70 + 0,05 % p/v	53,71
4	50: 50 + 0,01 % p/v	51,39
5	50: 50 + 0,03 % p/v	50,23
6	50: 50 + 0,05 % p/v	49,91
7	70: 30 + 0,01 % p/v	51,39

8	70: 30 + 0,03 % p/v	53,71
9	70: 30 + 0,05 % p/v	53,71

Figura 22. Gráfica para la concentración de calcio presente en el fluido para las diferentes relaciones de los recubrimientos poliméricos.



(*)Corresponde a una ampliación de la línea que representa la variación de la concentración de calcio de las tres relaciones poliméricas, observando con mayor claridad el cambio en la misma.

Es posible observar en los resultados obtenidos en la Tabla 12 y Figura 21, la variación en la concentración de calcio para cada una de las alícuotas de HBSS extraídas al sumergir las nueve probetas, debido a la presencia de HAp en los recubrimientos al comparar la muestra B (Blanco) con las demás concentraciones.

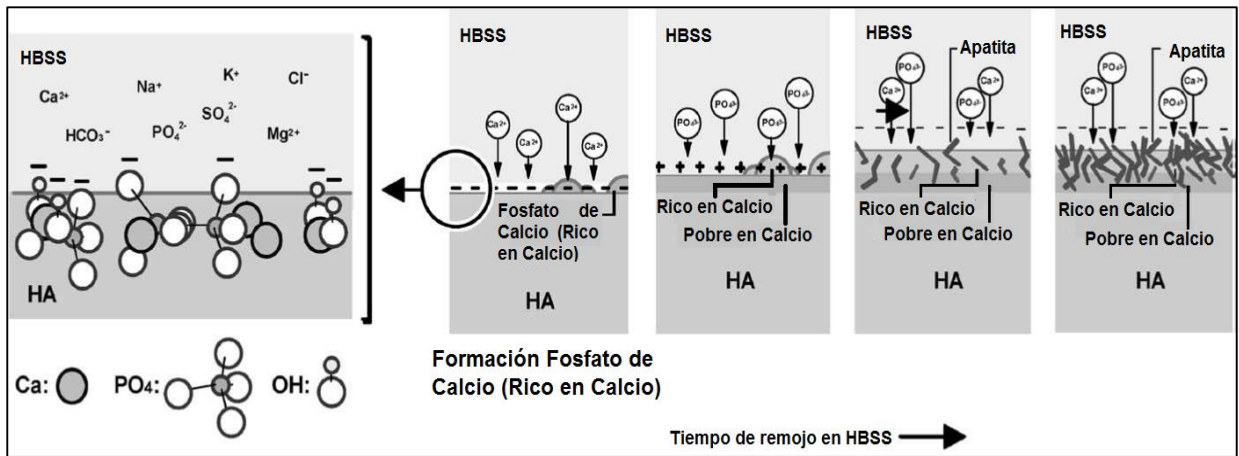
Se presentó el fenómeno de adsorción de calcio de la solución de HBSS por parte de las nueve probetas, disminuyendo así la concentración del metal presente en las alícuotas, esto debido a que los recubrimientos poseían en su estructura HAp haciendo que el biomaterial fuera más compatible con el medio y tendiera a atraer con mayor facilidad los iones calcio presentes en la solución para formar precipitados de fosfato de calcio sobre la superficie.

Con el aumento en la concentración de HAp es notable un aumento en la concentración de calcio para 0,03 y 0,05% p/v, este fenómeno ocurre para los recubrimientos con relación 50: 50 de Quitosano: PEG. Otro factor que afecta el proceso de adsorción de calcio es la composición de los recubrimientos, el quitosano se considera una matriz porosa y tiene mayor área superficial facilitando la interacción entre el polímero y los iones de calcio, favoreciendo de esta manera la nucleación y el crecimiento de los fosfatos de calcio, por lo tanto, la concentración de calcio se hace mayor en la solución para aquellas superficies con relaciones 30: 70 y 70: 30 de Quitosano: PEG, considerando que la pérdida de iones calcio en el fluido no es significativa en comparación con la relación 50: 50 de los polímeros.

Kokubo et al. proponen que el mecanismo de formación de la capa bioactiva en un recubrimiento con HAp se produce de la siguiente manera. Al sumergir las muestras en la solución salina simulada, la HAp posee una carga negativa debido a los iones OH^- y el fosfato PO_4^{3-} que se encuentran en la superficie. Estos iones selectivamente se combinan con los iones de Ca^{2+} que se encuentran en el fluido, para formar el fosfato de calcio rico en calcio. Cuando los iones de calcio se acumulan, la superficie adquiere una carga positiva, y entonces, pueden combinarse con los iones de carga negativa del fosfato que se encuentra en el medio formando así un fosfato de calcio amorfo (pobre en calcio) con una relación

Ca/P baja. Esta es una fase metaestable y eventualmente se transforma en una apatita similar a la fase mineral del hueso [44, 45].

Figura 23. Representación esquemática para la formación de apatitas sobre la superficie de los recubrimientos en presencia de HAp.



Fuente: Kokubo, T. et al. [47]; Traducción: Autores.

5.8 Caracterización de los recubrimientos por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (IR)

Los espectros infrarrojos para los recubrimientos poliméricos permitieron identificar los enlaces presentes entre los grupos funcionales de la mezcla polimérica a través de las vibraciones de los átomos en las moléculas, dentro de las cuales se consideran: deformaciones, estiramientos, flexiones, tijeretas, entre otros. Una de las variables a considerar al momento de realizar una comparación entre los

espectros obtenidos es la concentración, aunque los cambios entre un espectro y otro no son tan notables, es indispensable tener en cuenta que por la ley de Lambert-Beer la concentración del analito está relacionada de forma exponencial con la transmitancia lo cual es evidente en la intensidad de los picos, a mayor concentración de HAp el pico de menor longitud de onda se hace más intenso pero las demás interacciones se conservan de forma similar.

Figura 24. Equipo para espectroscopia de infrarrojo (Espectrómetro infrarrojo Bruker Tensor 27 con celda Platinum ATR), Laboratorio de análisis instrumental, UIS – Campus Central.



En la Figura 24 se muestra el espectro infrarrojo correspondiente a la relación 30: 70 de Quitosano: PEG y concentración de 0,01% p/v de HAp. En la *Tabla 12* se observan las asignaciones de las bandas que aparecen en el espectro tomado como prototipo, que son características de los polímeros y el cerámico; la asignación de las vibraciones se realizó teniendo en cuenta las tablas de interpretación de espectros infrarrojo y con base en autores como Arias R., D. et al. [50]; Azzaoui, K. et al. [51]; Bhattarai, N. et al. [52]; Ganji, F. et al. [53]; Gregori, B. et al. [54]; Rodríguez, N. et al [55].

Figura 25. Espectro de Infrarrojo para la relación 30: 70 de Quitosano: PEG con 0,01% p/v de HAp.

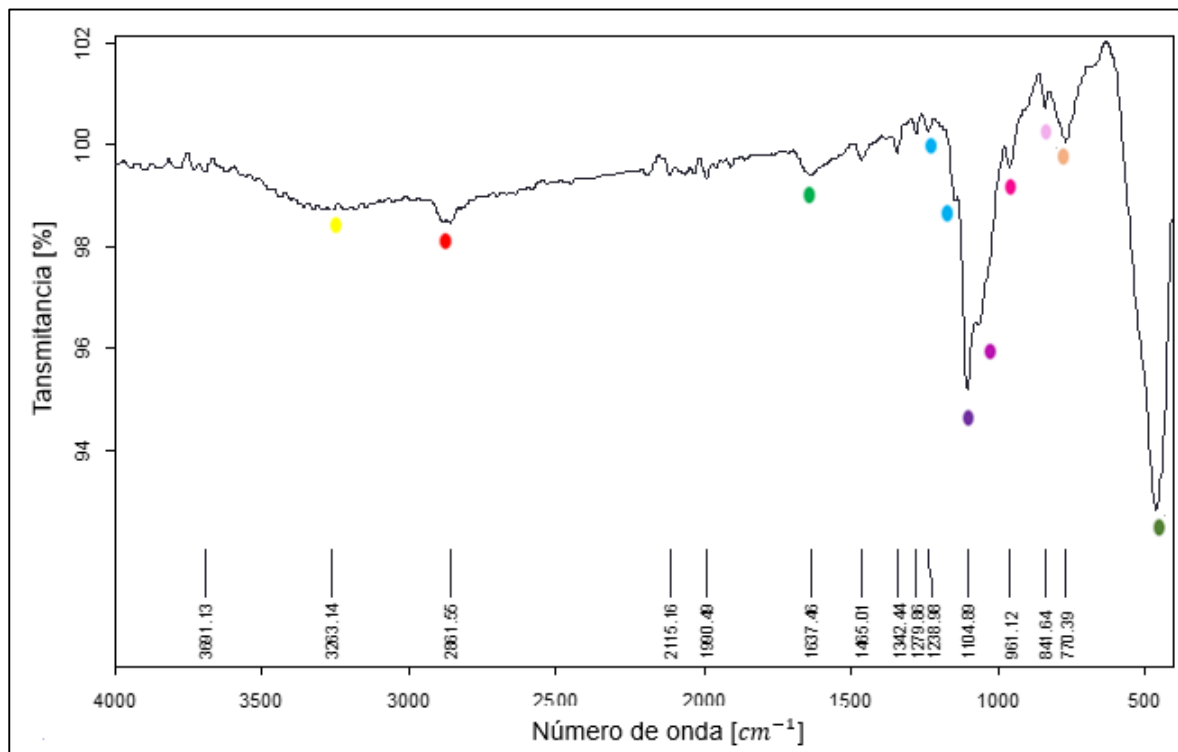


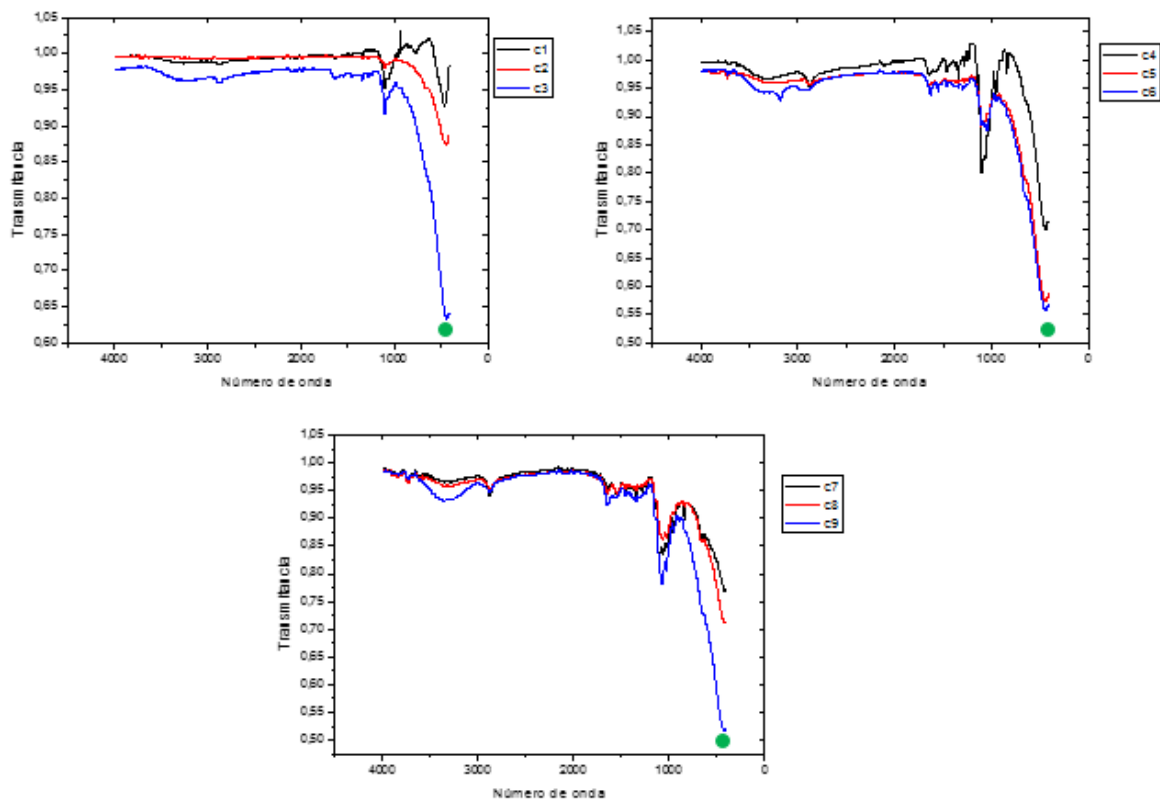
Tabla 12. Asignación de las bandas presentes en el espectro de Infrarrojo para la relación 30: 70 de Quitosano: PEG con 0,01% p/v de HAp.

Banda (cm ⁻¹)	Asignación
3.263,14	Vibración N-H amida primaria asociada del quitosano
2.861,50	Vibración C-H del quitosano
1.637,46	Deformación del N-H de la amida primaria asociada del quitosano
1.238,98 -1.279,86	Vibración C-O del PEG
1.104,79	Vibración O-Ti-O Estiramiento asimétrico del grupo PO ₄ ³⁻

1.091,67	Deformación del C-O-C del PEG
961,12	Vibración simétrica del grupo PO ₄ ³⁻
841,64	Deformación C-H fuera del plano del quitosano
770,39	Deformación del C-H fuera del plano del anillo aromático monosustituido del quitosano
468,68	Interacción O-Al y PO ₄ ³⁻

Los espectros infrarrojo para cada una de las relaciones poliméricas presentaron semejanzas demostrando así que el mismo material estaba presente en todos los recubrimientos de las probetas. Tomando como referencia el pico ubicado en 468,68 cm⁻¹ (señalado con verde en la Figura 24), correspondiente a la interacción del sustrato y el oxígeno de los polímeros, y al fosfato presente en la HAp, en la relación de 30: 70 se evidencia la variación en la intensidad con el aumento en la concentración de HAp, este mismo fenómeno se presenta para la relación 50: 50 y 70: 30 mostrando de nuevo un aumento en la intensidad de la banda. El mismo patrón ocurre para los demás picos, su intensidad varía pero su asignación es la misma.

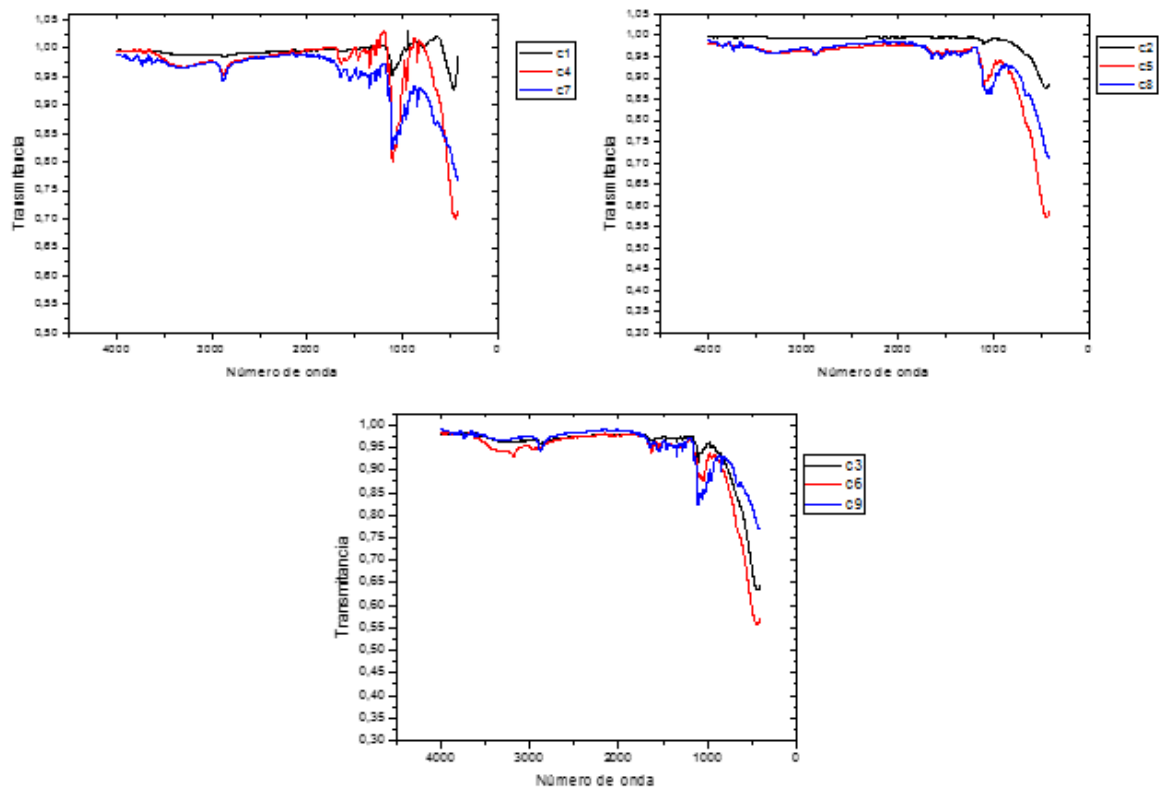
Figura 26. Espectros de infrarrojo para la variación en las concentraciones de Quitosano: PEG e HAp, en donde, a) Relación 30: 70 variando la HAp con C1 = 0,01% p/v, C2 = 0,03% p/v, C3 = 0,05% p/v; b) Relación 50: 50 variando la HAp con C4 = 0,01% p/v, C5 = 0,03% p/v, C6 = 0,05% p/v; c) Relación 70: 30 variando la HAp con C7 = 0,01% p/v, C8 = 0,03% p/v, C9 = 0,05% p/v.



Comparando la variación en las relaciones de Quitosano: PEG y manteniendo constante la concentración de HAp, se tiene que con el aumento en la concentración de los polímeros, de forma individual, la intensidad de las bandas se hace leve cuando hay mayor concentración de PEG y menor concentración de quitosano, por el contrario, a mayor concentración de quitosano mayor intensidad en las bandas; para el caso en el que las concentraciones de los polímeros son iguales, relación

50: 50, se observa mayor intensidad en las bandas y es posible decir que influye solo la cantidad de HAp presente en el recubrimiento.

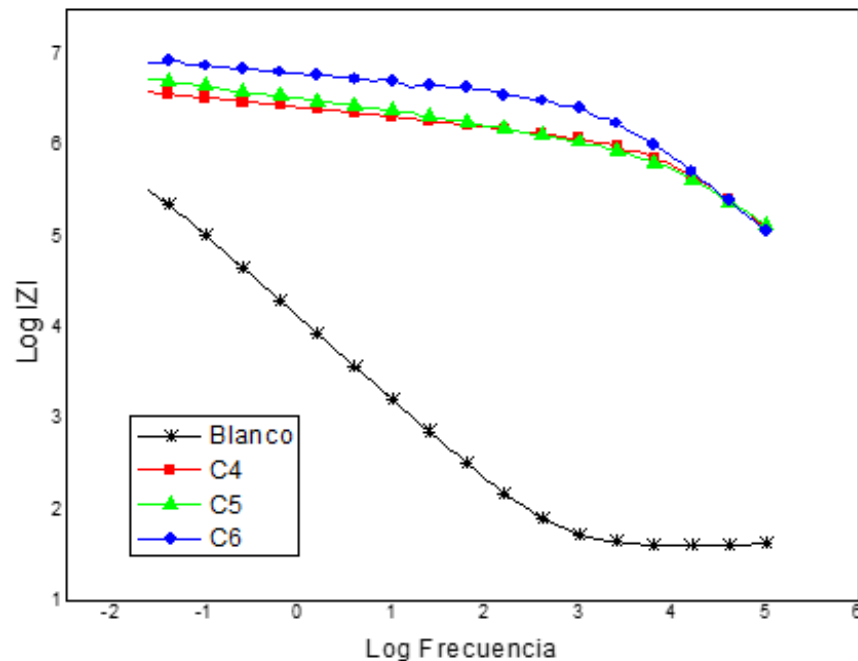
Figura 27. Espectros de Infrarrojo para la variación en las concentraciones de HAp, en donde, a) Concentración de HAp de 0,01% p/v con C1 = 30: 70, C4 = 50: 50, C7 = 70: 30; b) Concentración de HAp de 0,03% p/v con C2 = 30: 70, C5 = 50: 50, C8 = 70: 30; c) Concentración de HAp de 0,05% p/v con C3 = 30: 70, C6 = 50: 50, C9 = 70: 30.



5.9 Caracterización de los recubrimientos por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)

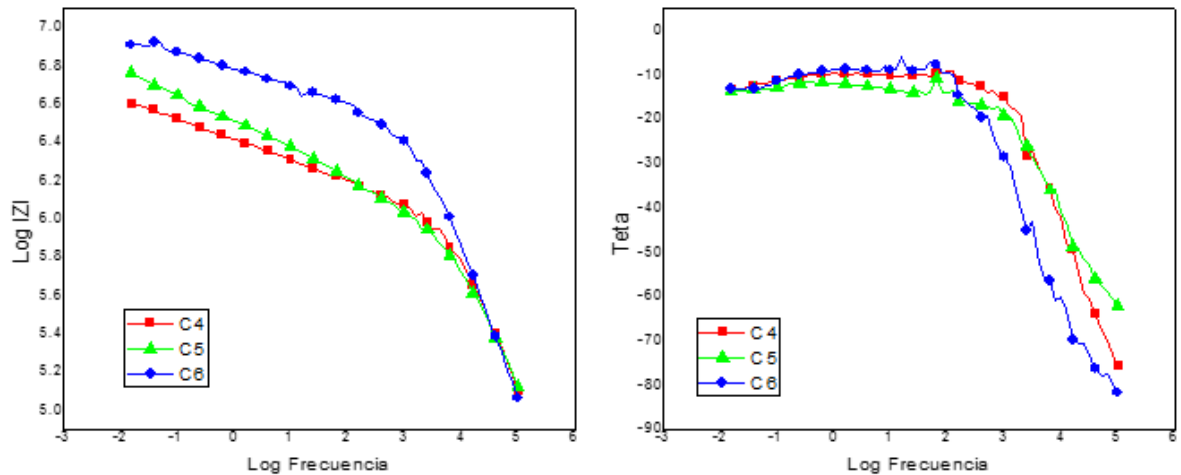
Con base en los resultados anteriores, los recubrimientos realizados con la relación 50: 50 de Quitosano: PEG fueron los que mejor respuesta generaron por lo cual el siguiente análisis se realizará a partir de ellos. En la Figura 27 se aprecian los diagramas de bode para los mayores valores de impedancia correspondientes a la relación 50: 50 de Quitosano: PEG, confirmando que poseen los módulos de impedancia más significativos y relevantes.

Figura 28. Curvas de bode para el Log. impedancia vs. Log. frecuencia: relación 50: 50 variando la HAp con C4 = 0,01% p/v, C5 = 0,03% p/v y C6 = 0,05% p/v.



El análisis de los diagramas de bode proporciona información acerca del comportamiento del biomaterial a altas y bajas frecuencias. En la región de altas frecuencias se presenta una resistencia a la solución (R_{sol}) [56], con la aparición de un recubrimiento altamente capacitivo (CPE-P oscilando entre 0,78 y 0,90) asociado a las películas poliméricas formadas sobre la aleación base que tienden a interactuar con facilidad con el fluido corporal simulado (HBSS) logrando un intercambio de iones, lo cual permite afirmar que el material presenta una buena biocompatibilidad [57]; a bajas frecuencias se observa un comportamiento altamente resistivo (CPE-P entre 0,11 y 0,25) que corresponde al material base, Ti6Al4V, este interactúa por una parte con la capa bioactiva y por otra ayuda a que el HBSS no deteriore directamente la aleación. Adicionalmente se observa un cambio de comportamiento en el biomaterial, de capacitivo a resistivo, representado por la variación en los valores del ángulo de fase y su caída al pasar de medias a altas frecuencias para la relación 50: 50 de Quitosano: PEG [58]. Para ángulos de fase bajos en el rango de altas frecuencias, se observa el comportamiento típico de una superficie porosa que permite el intercambio de iones en la interfase solución – recubrimiento. De frecuencias medias a bajas se produce un aumento en los ángulos de fase, asociado al cambio en el comportamiento del material (de resistivo a capacitivo).

Figura 29. Curvas de bode para el Log. impedancia vs. Log. frecuencia y ángulo de fase vs. Log. frecuencia: relación 50: 50 variando la HAp con C4 = 0,01% p/v, C5 = 0,03% p/v y C6 = 0,05% p/v.



Los circuitos equivalentes fueron construidos teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los diagramas de Nyquist y bode para las películas poliméricas. Los datos se ajustaron haciendo uso del programa ZView. El circuito eléctrico equivalente mostrado en la Figura 29 representa el comportamiento general de los recubrimientos, a pesar de la variación en el material cerámico (HAp). En el circuito, R1 corresponde a la resistencia de la solución, para este caso HBSS; CPE1 es la capacitancia representada como un elemento de fase constante asociado a los procesos electroquímicos entre la interfase solución – recubrimiento; R2 es la resistencia asociada al recubrimiento altamente poroso; CPE2 es la capacitancia representada como un elemento de fase constante asociada a la interfase recubrimiento – aleación base; y R3 es la resistencia correspondiente a la aleación Ti6Al4V [59]. La Tabla 14 muestra los valores de los elementos del circuito equivalente para las diferentes concentraciones de HAp.

Figura 30. Representación de las interfases para el sistema estudiado y su respectivo circuito equivalente.

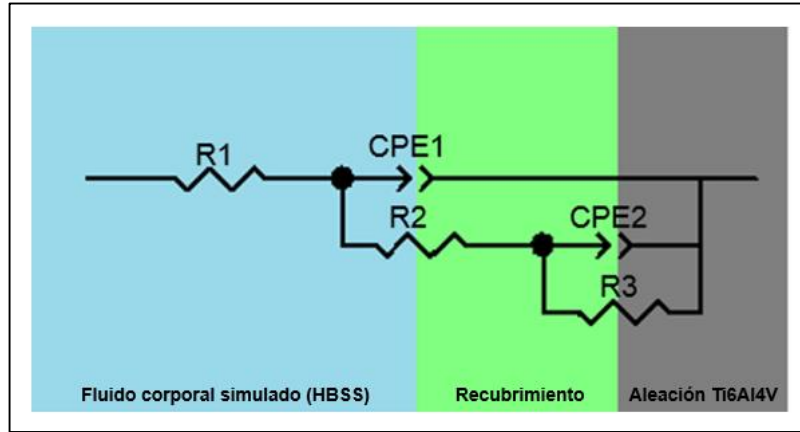


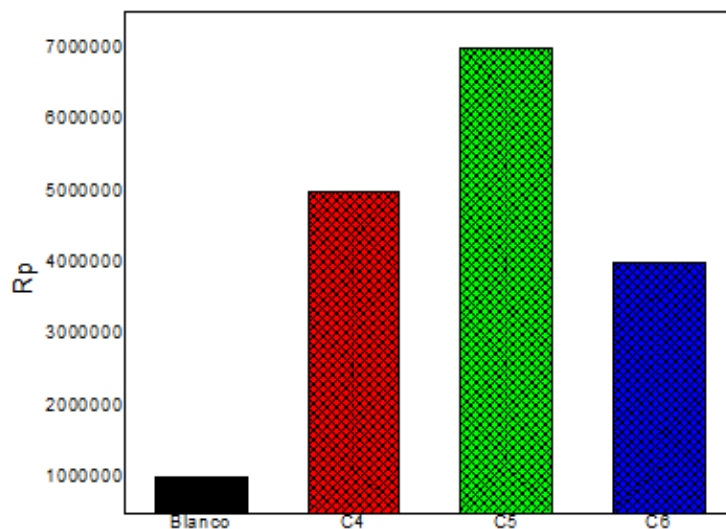
Tabla 13. Valores de los elementos del circuito equivalente de la Figura 29.

Quitosano: PEG e HAp	R1 [$\Omega \text{ cm}^2$]	CPE1 [F/cm ²]	R2 [$\Omega \text{ cm}^2$]	CPE2 [F/cm ²]	R [$\Omega \text{ cm}^2$]
50: 50 con 0,01% p/v	126	0,90325	5013	0,11473	$3,6137 \times 10^7$
50: 50 con 0,03% p/v	126	0,78828	$5,9173 \times 10^5$	0,25679	$6,989 \times 10^6$
50: 50 con 0,05% p/v	126	0,8911	1,155	0,11107	$3,797 \times 10^7$

La adición de un material polimérico para generar un recubrimiento hace que la resistencia a la polarización aumente, y con esto, la velocidad de corrosión disminuya; la naturaleza dieléctrica del recubrimiento confiere una protección extra a la estructura del sustrato, lo que supone una durabilidad superior conforme aumenta la cantidad de quitosano [60], [61]. Los resultados para la resistencia a la polarización (R_p) obtenidos para los recubrimientos se muestran en la Figura 30, los cuales fueron calculados a partir de las pendientes de las curvas proporcionadas;

dichos comportamientos permiten determinar la velocidad de degradación de los mismos. Se observa que las películas depositadas sobre la aleación base hacen que el biomaterial presente mayor resistencia a la polarización en comparación con el blanco (aleación sin recubrimiento); de las tres concentraciones de HAp utilizadas se deduce que la que menor resistencia a la polarización presenta es la de 0,05% p/v, lo cual implica que la superficie es más activa y tiende a reaccionar con el medio, sin embargo dicho R_p se mantiene por encima del blanco indicando que la superficie es altamente bioactiva y biocompatible sin degradarse fácilmente en presencia del fluido corporal simulado [62].

Figura 31. Resistencia a la polarización para la relación 50: 50 variando la HAp con C4 = 0,01 % p/v, C5 = 0,03 % p/v y C6 = 0,05 % p/v.



6. CONCLUSIONES

- ✓ Utilizando la técnica de dip coating fue posible realizar los recubrimientos poliméricos sobre la aleación base de Ti6Al4V, los cuales mostraron una morfología uniforme, homogénea y porosa.
- ✓ En la caracterización morfológica, composicional y estructural de las superficies recubiertas, los resultados de la técnica de ángulo de contacto establecieron que la mejor relación de polímeros fue la de 50: 50 de Quitosano: PEG ya que esta superficie era más hidrofílica en comparación con las otras relaciones, provocando así una respuesta positiva en lo relacionado con biocompatibilidad.
- ✓ La caracterización de la formación de los fosfatos de calcio sobre la superficie se realizó mediante la técnica de SEM, donde la relación 50: 50 de Quitosano: PEG con 0,05% p/v de HAp presentó mayor formación de apatitas aumentando proporcionalmente con la concentración de HAp. Las pruebas de inmersión en fluido corporal simulado (HBSS) mostraron que tras cinco días de inmersión bajo condiciones fisiológicas, los recubrimientos correspondientes a dicha relación mostraron mayor formación de apatitas sobre la superficie.
- ✓ La capacidad de formación de apatitas y su precipitación sobre la superficie del biomaterial se determinó por medio de absorción atómica, con la cual fue posible notar que la relación 50: 50 de Quitosano: PEG con 0,05% p/v de HAp presentó mayor absorción de calcio del fluido corporal simulado (HBSS) debido a la alta afinidad que presentan los recubrimientos con el medio gracias a la presencia del cerámico en su composición.

- ✓ Las técnicas de espectroscopia de impedancia electroquímica se observó la presencia de dos comportamientos, uno altamente capacitivo en la región de altas frecuencias asociado a la interacción entre el fluido corporal simulado y el recubrimiento, logrando un intercambio de iones; el segundo comportamiento fue altamente resistivo haciendo énfasis en la interacción con el material base. La relación polimérica de 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,05% p/v de HAp mostró un valor de R_p mayor que el del material base pero significativamente inferior al valor más alto de R_p , mostrando así un comportamiento capacitivo y resistivo adecuado.

- ✓ Finalmente, es posible afirmar que los recubrimientos obtenidos bajo la relación 50: 50 de Quitosano: PEG y la máxima concentración de HAp, posiblemente podrían ser usados como biomateriales para la sustitución ósea debido a que no presentan degradación al ser sometidos a condiciones corporales, y favorecen la formación de apatitas en la superficie permitiendo la adhesión del implante al hueso, provocando la oseointegración del mismo.

7. RECOMENDACIONES

- ✓ Usar reactivos de alta pureza para la preparación del fluido corporal simulado debido a que el exceso de agua o agentes contaminantes en alguno de los reactivos puede facilitar la precipitación de sales no deseadas como NaCl sobre la superficie tras la inducción de la formación de apatitas, impidiendo así obtener los resultados esperados.

- ✓ Aumentar el número de capas depositadas sobre la aleación de Ti6Al4V para proporcionar una superficie mejorada en cuanto a uniformidad, homogeneidad y adherencia.

CITAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Lemons, J. E.; Lucas, L. C. "Properties of biomaterials," *J. Arthroplasty*, vol. 1, no. 2, pp. 143–147, Jan. 1986.
- [2] Ramos, V. M.; Rodríguez N. M.; Henning, I.; Díaz, M. F.; Monachesi, M. P.; Rodríguez, M. S.; Abarrategi, A.; Correas-Magaña, V.; López-Lacomba, J. L.; Agulló, E. "Poly(ethylene glycol)-crosslinked N-methylene phosphonic chitosan. Preparation and characterization," *Carbohydr. Polym.*, vol. 64, no. 2, pp. 328–336, May 2006.
- [3] Sánchez, L.; Gutiérrez-Solana, F.; Alvarez, J. A.; Pérez, J. "Estudio de la rotura de una prótesis de cadera de aleación Ti-6Al-4V con recubrimientos de Ti e Hidroxiapatita," *An. mecánica la Fract.*, vol. 16, pp. 500–507, 1999.
- [4] Comercia E. L. T.; Pijho, M. "Aplicaciones biomédicas del titanio y sus aleaciones," *Biomecánica-Originales*.
- [5] Camero, S.; Olimpio Romero, F. D.; Syárez, M. "Corrosividad de una aleación Ti6Al4V sometida a diferentes tratamientos superficiales," *Rev. la Fac. Ing. Univ. Cent. Venez.*, vol. 28, no. 3, 2013.
- [6] Quintero Jaimes A. F. "Obtención y evaluación de superficies de policaprolactona-quitosano patronadas por ablación láser," Universidad Industrial de Santander, 2013.
- [7] Rodil, S. E. "modificación superficial de biomateriales metálicos," *Rev. Latinoam. Metal. y Mater.*, vol. 29, no. 2, pp. 67–83, 2009.
- [8] Park, J.; Lakes, R. S. *biomaterials: an introduction*, Tercera edición.

- [9] Bahena-Navarro, C. L. A.; Meléndez-Lira, M. A.; Velasquillo, C. "Diseño, construcción y aplicación de un sistema de electrodeposición químico: películas de quitosán sobre acero inoxidable," *Rev. Mex. Física*, vol. 52, no. 2, pp. 244–250, 2006.
- [10] Ali, S. H. R.; Almaatoq, M. M. A.; Mohamed, A. S. A. "Classifications, surface characterization and standardization of nanobiomaterials," *Int. J. Eng. Technol.*, vol. 2, no. 3, pp. 187–199, 2013.
- [11] Schmidt, C. E.; Baier, J. M. "A cellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 21, no. 22, pp. 2215–2231, Nov. 2000.
- [12] Stupp, S. I.; Braun, P. V. "Molecular manipulation of microstructures: biomaterials, ceramics, and semiconductors," *Science*, vol. 277, no. 5330, pp. 1242–1248, Aug. 1997.
- [13] Gil, F. J.; Planell, J. A. "Aplicaciones biomédicas del titanio y sus aleaciones," *Biomecánica-Originales*, no. c.
- [14] Liu, X.; Chu, P.; Ding, C. "Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications," *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 47, no. 3–4, pp. 49–121, Dec. 2004.
- [15] Gil F. J.; Ginebra, M. P. "Metales y aleaciones para la sustitución de tejidos duros," *Biomecánica*, vol. 13, pp. 73–78, 1999.
- [16] Camero, S.; Talavera, I.; González, G. "corrosion study of ti6al4v alloy used such as biomaterial," *Rev. la Fac. Ing. U.C.V*, vol. 23, no. 3, pp. 27–34, 2008.
- [17] Villada, H.; Acosta, H.; Velasco, R. "biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables," *Temas Agrar.*, vol. 12, no. 2, pp. 5–13, 2007.

- [18] Long, M., Rack, H. J. "Titanium alloys in total joint replacement - a materials science perspective," *Biomaterials*, vol. 19, no. 18, pp. 1621–1639, Sep. 1998.
- [19] Rack, H. J.; Qazi, J. I. "Titanium alloys for biomedical applications," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 26, no. 8, pp. 1269–1277, Sep. 2006.
- [20] Kuroda, D.; Niinomi, M.; Morinaga, M.; Kato, Y.; Yashiro, T. "Design and mechanical properties of new β type titanium alloys for implant materials," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 243, no. 1–2, pp. 244–249, Mar. 1998.
- [21] Wang, K. "The use of titanium for medical applications in the USA," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 213, no. 1–2, pp. 134–137, Aug. 1996.
- [22] International, A. "Standard Specification for Wrought Titanium-6Aluminum-4Vanadium ELI (Extra Low Interstitial) Alloy for Surgical Implant Applications (UNS R56401)," pp. 6–9, 1875.
- [23] Callister, W. D. *introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales 2*. Utah, 2002, p. 524.
- [24] Duffó, G. S. "Una mirada a la degradación de los materiales," *IEDS*, 2010.
- [25] Rivera, J. A.; Fetter, G.; Bosch, P. "Hydroxyapatite synthesis using microwave irradiation during the crystallization step," *Rev. Matéria*, vol. 15, no. 4, pp. 506–515, 2011.
- [26] Vázquez, A. "Materiales Avanzados," *Inst. Investig. en Mater. UNAM*, vol. 4, 2005.
- [27] Tziampazis, E.; Kohn, J.; V Moghe, P. "PEG-variant biomaterials as selectively adhesive protein templates: model surfaces for controlled cell adhesion and migration.," *Biomaterials*, vol. 21, no. 5, pp. 511–20, Mar. 2000.

- [28] Pozzo, A. D.; Vanini, L.; Fagnoni, M.; Guerrini, M.; De Benedittis, A.; Muzzarelli, R. A. A. "Preparation and characterization of poly (ethylene glycol)-crosslinked reacylated chitosans," *Carbohydr. Polym.*, vol. 42, pp. 201–206, 2000.
- [29] Suh, J. K.; Matthew, H. W. "Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review," *Biomaterials*, vol. 21, no. 24, pp. 2589–2598, Dec. 2000.
- [30] Khor E.; Lim, L. Y. "Implantable applications of chitin and chitosan," *Biomaterials*, vol. 24, no. 13, pp. 2339–2349, Jun. 2003.
- [31] Bansal, V.; Sharma, P. K.; Sharma, N.; Pal, O. P.; Malviya, R. "Applications of Chitosan and Chitosan Derivatives in Drug Delivery," *Adv. Biol. Res. (Rennes)*, vol. 5, no. 1, pp. 28–37, 2011.
- [32] Juan, L.; Kirschenbaum, M.; Crowe, C. "Materiales y materias primas," in *Biomateriales*, 2011, p. 43.
- [33] Novak, K.; Cupp, M. J.; Tracy, T. S. "Chapter 2: Chitosan," in *Dietary Supplements*, 2001, pp. 33–41.
- [34] Zhang, M.; Li, X. H.; Gong, Y. D.; Zhao, N. M.; Zhang, X. F. "Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG," *Biomaterials*, vol. 23, no. 13, pp. 2641–2648, Jul. 2002.
- [35] Leon Benavides A. Y.; Martínez Galván, L. "Evaluación Comparativa de la Biomineralización del Ácido Poliláctico-Biovidrio y Ácido Poliláctico-Hidroxiapatita," Universidad Industrial de Santander, 2008.

- [36] Montañez Supelano, N. D. "Evaluación de la Respuesta Dieléctrica de Membranas Biológicas sobre Material Polimérico PLA - PGA Modificado, bajo Polarización AC y DC," Universidad Industrial de Santander, 2011.
- [37] Echavarría, A.; De Biomateriales, G. "Síntesis y caracterización de hidroxiapatita microporosa, comparación con un producto comercial," *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, no. 43, pp. 67–76, 2008.
- [38] Guzmán Vásquez, C.; Piña Barba, P.; Munguía, N. "Stoichiometric hydroxyapatite obtained by precipitation and sol gel processes," *Rev. Mex. Física*, vol. 51, no. 3, pp. 284–293, 2005.
- [39] Tamilselvi, S.; Raman, V.; Rajendran, N. "Evaluation of corrosion behavior of surface modified Ti–6Al–4V ELI alloy in hanks solution," *J. Appl. Electrochem.*, vol. 40, no. 2, pp. 285–293, Sep. 2009.
- [40] Hayakawa, T.; Yoshinari, M.; Sakae, T.; Nemoto, K. "Calcium phosphate formation on the phosphorylated dental bonding agent in electrolyte solution," *J. Oral Rehabil.*, vol. 31, no. 1, pp. 67–73, Jan. 2004.
- [41] Tamilselvi, S.; Raman, V.; Rajendran, N. "Corrosion behaviour of Ti–6Al–7Nb and Ti–6Al–4V ELI alloys in the simulated body fluid solution by electrochemical impedance spectroscopy," *Electrochim. Acta*, vol. 52, no. 3, pp. 839–846, Nov. 2006.
- [42] Talavera Jaume, I. D. "Estudio de la Corrosión de una Aleación Ti6Al4V Utilizada como Biomaterial," Universidad Central de Venezuela, 2007.
- [43] Say, W. C.; Tsai, Y. Y. "Surface characterization of cast Ti-6Al-4V in hydrofluoric-nitric pickling solutions," *Surf. Coatings Technol.*, vol. 176, no. 3, pp. 337–343, Jan. 2004.

- [44] Schneiker T.; Forsberg, K. "Process Chemistry and Acid Management for Titanium Pickling Processes," *R. Inst. Technol.*, 2014.
- [45] Briceño, B.; Rubén, D. "estudio de la susceptibilidad a la corrosión en presencia de fluidos corporales simulados de una aleación Ti6Al4V recubierta con hidroxiapatita," 2007.
- [46] Schantz, J.-T.; Brandwood, A.; Hutmacher, D. W.; Khor, H. L.; Bittner, K. "Osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells in computer designed fibrin-polymer-ceramic scaffolds manufactured by fused deposition modeling," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 16, no. 9, pp. 807–819, Sep. 2005.
- [47] Kim, H.-M.; Himeno, T.; Kokubo, T.; Nakamura, T. "Process and kinetics of bonelike apatite formation on sintered hydroxyapatite in a simulated body fluid," *Biomaterials*, vol. 26, no. 21, pp. 4366–4373, Jul. 2005.
- [48] Blanco P., R. X. "Estudio in vitro del comportamiento de cementos basados en fosfato de calcio para aplicaciones en ingeniería de tejidos óseos," 1991.
- [49] Kokubo, T.; Kim, H.-M.; Kawashita, M. "Novel bioactive materials with different mechanical properties," *Biomaterials*, vol. 24, no. 13, pp. 2161–2175, Jun. 2003.
- [50] Arias, D.; González, R. "Biomaterial de implante óseo compuesto de HAP-polivinilacetato," *Rev. CENIC Ciencias Químicas*, vol. 35, no. 2, pp. 101–103, 2004.
- [51] Azzaoui, K.; Lamhamdi, A.; Mejdoubi, E.; Berrabah, M.; Elidrissi, A.; Hammouti, B.; Zaoui, S.; Yahyaoui, R.; Sciences, L. F.; U. M. I, "Synthesis of nanostructured hydroxyapatite in presence of polyethylene glycol 1000," *J. Chem. Pharm. Res.*, vol. 5, no. 12, pp. 1209–1216, 2013.

- [52] Bhattarai, N.; Ramay, H. R.; Gunn, J.; a Matsen, F; Zhang, M. "PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release," *J. Control. Release*, vol. 103, no. 3, pp. 609–24, Apr. 2005.
- [53] Ganji, F.; Abdekhodaie, M. J. "Synthesis and characterization of a new thermosensitive chitosan–PEG diblock copolymer," *Carbohydr. Polym.*, vol. 74, no. 3, pp. 435–441, Nov. 2008.
- [54] Valdés, B. S. G.; Guerra, M.; Mieres, G.; Alba, L. "caracterización estructural de poliuretanos mediante espectroscopia FTIR y RMN (1H y C13)," *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 9, no. 4, pp. 377–388, 2008.
- [55] Rodr, N.; Negr, A. V.; Alarc, H. "preparación de partículas reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol," *Rev. Soc. Quím. Perú*, vol. 76, no. 4, pp. 336–354, 2010.
- [56] Kwok, C. T.; Wong, P. K.; Cheng, F. T.; Man, H. C. "Characterization and corrosion behavior of hydroxyapatite coatings on Ti6Al4V fabricated by electrophoretic deposition," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 255, no. 13–14, pp. 6736–6744, Apr. 2009.
- [57] Peña Ballesteros, D. Y.; Estupiñán Durán, H. A.; Córdoba Tutta, E. M.; Martínez, R.; Vásquez Quintero, C. "Recubrimientos de quitosano/fosfato de calcio obtenidos por electrodeposición sobre una aleación de titanio," *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, vol. 54, pp. 15–23, 2010.
- [58] Piratoba Morales, U.; Mariño Camargo, Á.; Olaya Flórez, J. J. "Impedancia Electroquímica - Interpretación de Diagramas Típicos con Circuitos Equivalentes," no. 164, pp. 69–75, 2010.

- [59] Karthega, M.; Raman, V.; Rajendran, N. "Influence of potential on the electrochemical behaviour of beta titanium alloys in Hank's solution," *Acta Biomater.*, vol. 3, no. 6, pp. 1019–23, Nov. 2007.
- [60] Escobar Mina, A.; Aperador Chaparro, W. A.; Caicedo Angulo, J. C.; del S. Tirado Mejía, L.; Aguilar Castro, Y. "Funcionalización electroquímica y tribológica de películas de quitosano en fosfato tricálcico depositados en acero 316L," vol. 22, no. 35, pp. 61–73, 2013.
- [61] Guzmán González, J. A. "Protección frente a la corrosión metálica con recubrimientos poliméricos: estudio electroquímico y microelectroquímico," 2009.
- [62] Wang, C.; Wang, M.; Zhou, X. "Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study," *Biomaterials*, vol. 24, no. 18, pp. 3069–3077, Aug. 2003.

BIBLIOGRAFÍA

ALI, S. H. R.; ALMAATOQ, M. M. A.; MOHAMED, A. S. A. "Classifications, surface characterization and standardization of nanobiomaterials," *Int. J. Eng. Technol.*, vol. 2, no. 3, pp. 187–199, 2013.

ARIAS, D.; GONZÁLEZ, R. "Biomaterial de implante óseo compuesto de HAP-polivinilacetato," *Rev. CENIC Ciencias Químicas*, vol. 35, no. 2, pp. 101–103, 2004.

AZZAOUI, K.; LAMHAMDI, A.; MEJDOUBI, E.; BERRABAH, M.; ELIDRISSI, A.; HAMMOUTI, B.; ZAOUI, S.; YAHYAOU, R.; SCIENCES, L. F.; U. M. I, "Synthesis of nanostructured hydroxyapatite in presence of polyethylene glycol 1000," *J. Chem. Pharm. Res.*, vol. 5, no. 12, pp. 1209–1216, 2013.

BAHENA-NAVARRO, C. L. A.; MELÉNDEZ-LIRA, M. A.; VELASQUILLO, C. "Diseño, construcción y aplicación de un sistema de electrodeposición química: películas de quitosán sobre acero inoxidable," *Rev. Mex. Física*, vol. 52, no. 2, pp. 244–250, 2006.

BANSAL, V.; SHARMA, P. K.; SHARMA, N.; PAL, O. P.; MALVIYA, R. "Applications of Chitosan and Chitosan Derivatives in Drug Delivery," *Adv. Biol. Res. (Rennes)*, vol. 5, no. 1, pp. 28–37, 2011.

BHATTARAI, N.; RAMAY, H. R.; GUNN, J.; A MATSEN, F; ZHANG, M. "PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release," *J. Control. Release*, vol. 103, no. 3, pp. 609–24, Apr. 2005.

BLANCO P., R. X. "Estudio in vitro del comportamiento de cementos basados en fosfato de calcio para aplicaciones en ingeniería de tejidos óseos," 1991.

BRICEÑO, B.; RUBÉN, D. "estudio de la susceptibilidad a la corrosión en presencia de fluidos corporales simulados de una aleación $Ti6Al4V$ recubierta con hidroxiapatita," 2007.

CALLISTER, W. D. introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales 2. Utah, 2002, p. 524.

CAMERO, S.; OLIMPIO ROMERO, F. D.; SYÁREZ, M. "Corrosividad de una aleación $Ti6Al4V$ sometida a diferentes tratamientos superficiales," Rev. la Fac. Ing. Univ. Cent. Venez., vol. 28, no. 3, 2013.

CAMERO, S.; TALAVERA, I.; GONZÁLEZ, G. "corrosion study of $Ti6Al4V$ alloy used such as biomaterial," Rev. la Fac. Ing. U.C.V, vol. 23, no. 3, pp. 27–34, 2008.

COMERCIA E. L. T.; PIJHO, M. "Aplicaciones biomédicas del titanio y sus aleaciones," Biomecánica-Originales.

DUFFÓ, G. S. "Una mirada a la degradación de los materiales," IEDS, 2010.

ECHAVARRÍA, A.; DE BIOMATERIALES, G. "Síntesis y caracterización de hidroxiapatita microporosa, comparación con un producto comercial," Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia, no. 43, pp. 67–76, 2008.

ESCOBAR MINA, A.; APERADOR CHAPARRO, W. A.; CAICEDO ANGULO, J. C.; DEL S. TIRADO MEJÍA, L.; AGUILAR CASTRO, Y. "Funcionalización

electroquímica y tribológica de películas de quitosano en fosfato tricálcico depositados en acero 316L,” vol. 22, no. 35, pp. 61–73, 2013.

GANJI, F.; ABDEKHODAIE, M. J. “Synthesis and characterization of a new thermosensitive chitosan–PEG diblock copolymer,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 74, no. 3, pp. 435–441, Nov. 2008.

GIL F. J.; GINEBRA, M. P. “Metales y aleaciones para la sustitución de tejidos duros,” *Biomecánica*, vol. 13, pp. 73–78, 1999.

GIL, F. J.; PLANELL, J. A. “Aplicaciones biomédicas del titanio y sus aleaciones,” *Biomecánica-Originales*, no. c.

GUZMÁN GONZÁLEZ, J. A. “Protección frente a la corrosión metálica con recubrimientos poliméricos: estudio electroquímico y microelectroquímico,” 2009.

GUZMÁN VÁSQUEZ, C.; PIÑA BARBA, P.; MUNGUÍA, N. “Stoichiometric hydroxyapatite obtained by precipitation and sol gel processes,” *Rev. Mex. Física*, vol. 51, no. 3, pp. 284–293, 2005.

HAYAKAWA, T.; YOSHINARI, M.; SAKAE, T.; NEMOTO, K. “Calcium phosphate formation on the phosphorylated dental bonding agent in electrolyte solution,” *J. Oral Rehabil.*, vol. 31, no. 1, pp. 67–73, Jan. 2004.

INTERNATIONAL, A. “Standard Specification for Wrought Titanium-6Aluminum-4Vanadium ELI (Extra Low Interstitial) Alloy for Surgical Implant Applications (UNS R56401),” pp. 6–9, 1875.

JUAN, L.; KIRSCHENBAUM, M.; CROWE, C. "Materiales y materias primas," in Biomateriales, 2011, p. 43.

KARTHEGA, M.; RAMAN, V.; RAJENDRAN, N. "Influence of potential on the electrochemical behaviour of beta titanium alloys in Hank's solution," Acta Biomater., vol. 3, no. 6, pp. 1019–23, Nov. 2007.

KHOR E.; LIM, L. Y. "Implantable applications of chitin and chitosan," Biomaterials, vol. 24, no. 13, pp. 2339–2349, Jun. 2003.

KIM, H.-M.; HIMENO, T.; KOKUBO, T.; NAKAMURA, T. "Process and kinetics of bonelike apatite formation on sintered hydroxyapatite in a simulated body fluid," Biomaterials, vol. 26, no. 21, pp. 4366–4373, Jul. 2005.

KOKUBO, T.; KIM, H.-M.; KAWASHITA, M. "Novel bioactive materials with different mechanical properties," Biomaterials, vol. 24, no. 13, pp. 2161–2175, Jun. 2003.

KURODA, D.; NIINOMI, M.; MORINAGA, M.; KATO, Y.; YASHIRO, T. "Design and mechanical properties of new β type titanium alloys for implant materials," Mater. Sci. Eng. A, vol. 243, no. 1–2, pp. 244–249, Mar. 1998.

KWOK, C. T.; WONG, P. K.; CHENG, F. T.; MAN, H. C. "Characterization and corrosion behavior of hydroxyapatite coatings on Ti6Al4V fabricated by electrophoretic deposition," Appl. Surf. Sci., vol. 255, no. 13–14, pp. 6736–6744, Apr. 2009.

LEMONS, J. E.; LUCAS, L. C. "Properties of biomaterials," J. Arthroplasty, vol. 1, no. 2, pp. 143–147, Jan. 1986.

LEON BENAVIDES A. Y.; MARTÍNEZ GALVÁN, L. "Evaluación Comparativa de la Biomineralización del Ácido Poliláctico-Biovidrio y Ácido Poliláctico-Hidroxiapatita," Universidad Industrial de Santander, 2008.

LIU, X.; CHU, P.; DING, C. "Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications," Mater. Sci. Eng. R Reports, vol. 47, no. 3–4, pp. 49–121, Dec. 2004.

LONG, M., RACK, H. J. "Titanium alloys in total joint replacement - a materials science perspective," Biomaterials, vol. 19, no. 18, pp. 1621–1639, Sep. 1998.

MONTAÑEZ SUPELANO, N. D. "Evaluación de la Respuesta Dieléctrica de Membranas Biológicas sobre Material Polimérico PLA - PGA Modificado, bajo Polarización AC y DC," Universidad Industrial de Santander, 2011.

NOVAK, K.; CUPP, M. J.; TRACY, T. S. "Chapter 2: Chitosan," in Dietary Supplements, 2001, pp. 33–41.

PARK, J.; LAKES, R. S. biomaterials: an introduction, Tercera edición.

PEÑA BALLESTEROS, D. Y.; ESTUPIÑÁN DURÁN, H. A.; CÓRDOBA TUTTA, E. M.; MARTÍNEZ, R.; VÁSQUEZ QUINTERO, C. "Recubrimientos de quitosano/fosfato de calcio obtenidos por electrodeposición sobre una aleación de titanio," Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia, vol. 54, pp. 15–23, 2010.

PIRATOBÁ MORALES, U.; MARIÑO CAMARGO, Á.; OLAYA FLÓREZ, J. J. "Impedancia Electroquímica - Interpretación de Diagramas Típicos con Circuitos Equivalentes," no. 164, pp. 69–75, 2010.

POZZO, A. D.; VANINI, L.; FAGNONI, M.; GUERRINI, M.; DE BENEDITTIS, A.; MUZZARELLI, R. A. A. "Preparation and characterization of poly (ethylene glycol)-crosslinked reacylated chitosans," *Carbohydr. Polym.*, vol. 42, pp. 201–206, 2000.

QUINTERO JAIMES A. F. "Obtención y evaluación de superficies de policaprolactona-quitosano patronadas por ablación láser," Universidad Industrial de Santander, 2013.

RACK, H. J.; QAZI, J. I. "Titanium alloys for biomedical applications," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 26, no. 8, pp. 1269–1277, Sep. 2006.

RAMOS, V. M.; RODRÍGUEZ N. M.; HENNING, I.; DÍAZ, M. F.; MONACHESI, M. P.; RODRÍGUEZ, M. S.; ABARRATEGI, A.; CORREAS-MAGAÑA, V.; LÓPEZ-LACOMBA, J. L.; AGULLÓ, E. "Poly(ethylene glycol)-crosslinked N-methylene phosphonic chitosan. Preparation and characterization," *Carbohydr. Polym.*, vol. 64, no. 2, pp. 328–336, May 2006.

RIVERA, J. A.; FETTER, G.; BOSCH, P. "Hydroxyapatite synthesis using microwave irradiation during the crystallization step," *Rev. Matéria*, vol. 15, no. 4, pp. 506–515, 2011.

RODIL, S. E. "modificación superficial de biomateriales metálicos," *Rev. Latinoam. Metal. y Mater.*, vol. 29, no. 2, pp. 67–83, 2009.

RODR, N.; NEGR, A. V.; ALARC, H. "preparación de partículas reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol," *Rev. Soc. Quím. Perú*, vol. 76, no. 4, pp. 336–354, 2010.

SÁNCHEZ,L.; GUTIÉRREZ-SOLANA,F.; ALVAREZ,J. A.; PÉREZ,J. “Estudio de la rotura de una prótesis de cadera de aleación Ti-6Al-4V con recubrimientos de Ti e Hidroxiapatita,” An. mecánica la Fract., vol. 16, pp. 500–507, 1999.

SAY, W. C.; TSAI, Y. Y. “Surface characterization of cast Ti-6Al-4V in hydrofluoric-nitric pickling solutions,” Surf. Coatings Technol., vol. 176, no. 3, pp. 337–343, Jan. 2004.

SCHANTZ, J.-T.; BRANDWOOD, A.; HUTMACHER, D. W.; KHOR, H. L.; BITTNER, K. “Osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells in computer designed fibrin-polymer-ceramic scaffolds manufactured by fused deposition modeling,” J. Mater. Sci. Mater. Med., vol. 16, no. 9, pp. 807–819, Sep. 2005.

SCHMIDT, C. E.; BAIER, J. M. “A cellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering,” Biomaterials, vol. 21, no. 22, pp. 2215–2231, Nov. 2000.

SCHNEIKER T.; FORSBERG, K. “Process Chemistry and Acid Management for Titanium Pickling Processes,” R. Inst. Technol., 2014.

STUPP, S. I.; BRAUN, P. V. “Molecular manipulation of microstructures: biomaterials, ceramics, and semiconductors,” Science, vol. 277, no. 5330, pp. 1242–1248, Aug. 1997.

SUH, J. K.; MATTHEW, H. W. “Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review,” Biomaterials, vol. 21, no. 24, pp. 2589–2598, Dec. 2000.

TALAVERA JAUME, I. D. "Estudio de la Corrosión de una Aleación Ti6Al4V Utilizada como Biomaterial," Universidad Central de Venezuela, 2007.

TAMILSELVI, S.; RAMAN, V.; RAJENDRAN, N. "Corrosion behaviour of Ti-6Al-7Nb and Ti-6Al-4V ELI alloys in the simulated body fluid solution by electrochemical impedance spectroscopy," *Electrochim. Acta*, vol. 52, no. 3, pp. 839-846, Nov. 2006.

TAMILSELVI, S.; RAMAN, V.; RAJENDRAN, N. "Evaluation of corrosion behavior of surface modified Ti-6Al-4V ELI alloy in hanks solution," *J. Appl. Electrochem.*, vol. 40, no. 2, pp. 285-293, Sep. 2009.

TZIAMPAZIS, E.; KOHN, J.; V MOGHE, P. "PEG-variant biomaterials as selectively adhesive protein templates: model surfaces for controlled cell adhesion and migration.," *Biomaterials*, vol. 21, no. 5, pp. 511-20, Mar. 2000.

VALDÉS, B. S. G.; GUERRA, M.; MIERES, G.; ALBA, L. "caracterización estructural de poliuretanos mediante espectroscopia ftir y rmn (1H y C13)," *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 9, no. 4, pp. 377-388, 2008.

VÁZQUEZ, A. "Materiales Avanzados," *Inst. Investig. en Mater. UNAM*, vol. 4, 2005.

VILLADA, H.; ACOSTA, H.; VELASCO, R. "biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables," *Temas Agrar.*, vol. 12, no. 2, pp. 5-13, 2007.

WANG, C.; WANG, M.; ZHOU, X. "Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study," *Biomaterials*, vol. 24, no. 18, pp. 3069–3077, Aug. 2003.

WANG, K. "The use of titanium for medical applications in the USA," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 213, no. 1–2, pp. 134–137, Aug. 1996.

ZHANG, M.; LI, X. H.; GONG, Y. D.; ZHAO, N. M.; ZHANG, X. F. "Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG," *Biomaterials*, vol. 23, no. 13, pp. 2641–2648, Jul. 2002.

ANEXOS

ANEXO A. Micrografías SEM y EDS para los recubrimientos pre-inmersión.

Figura A-1. (a) Recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 20.000X.

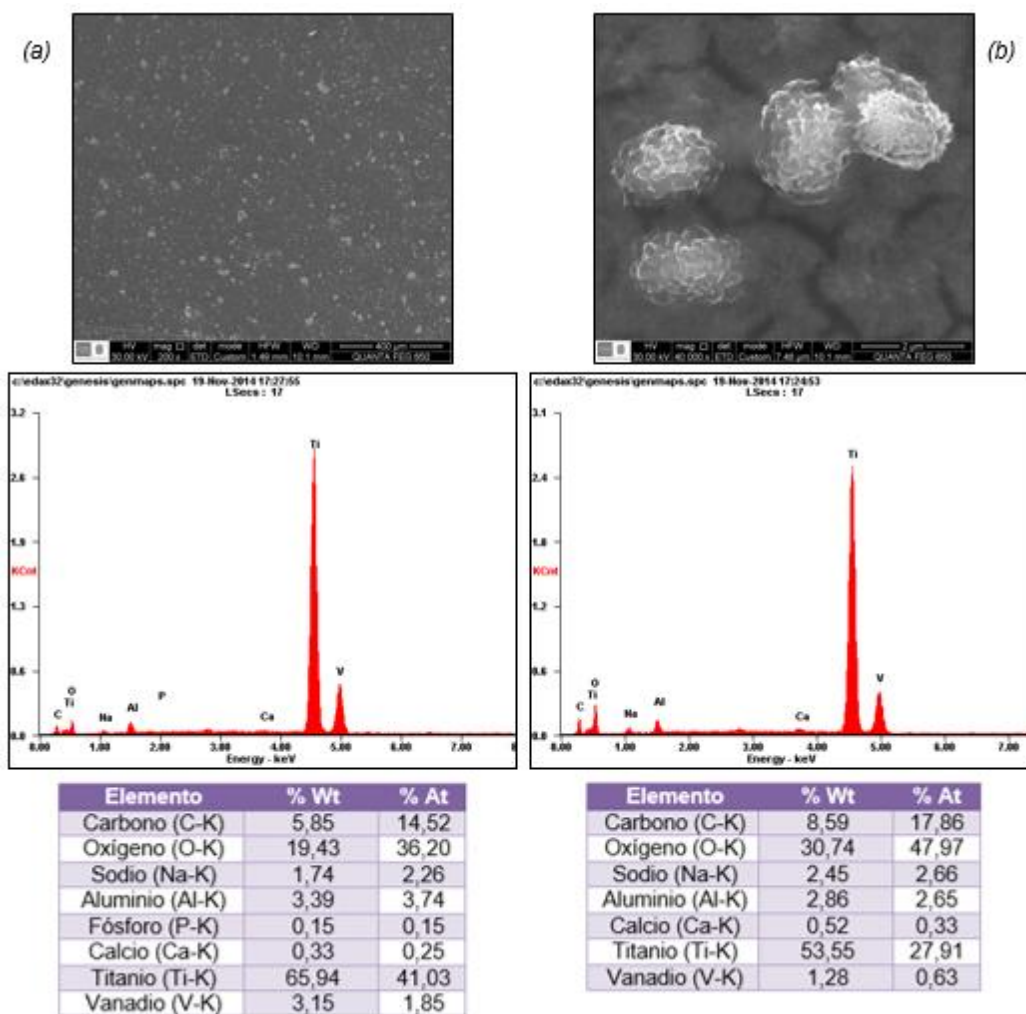


Figura A-2. (a) Recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 20.000X.

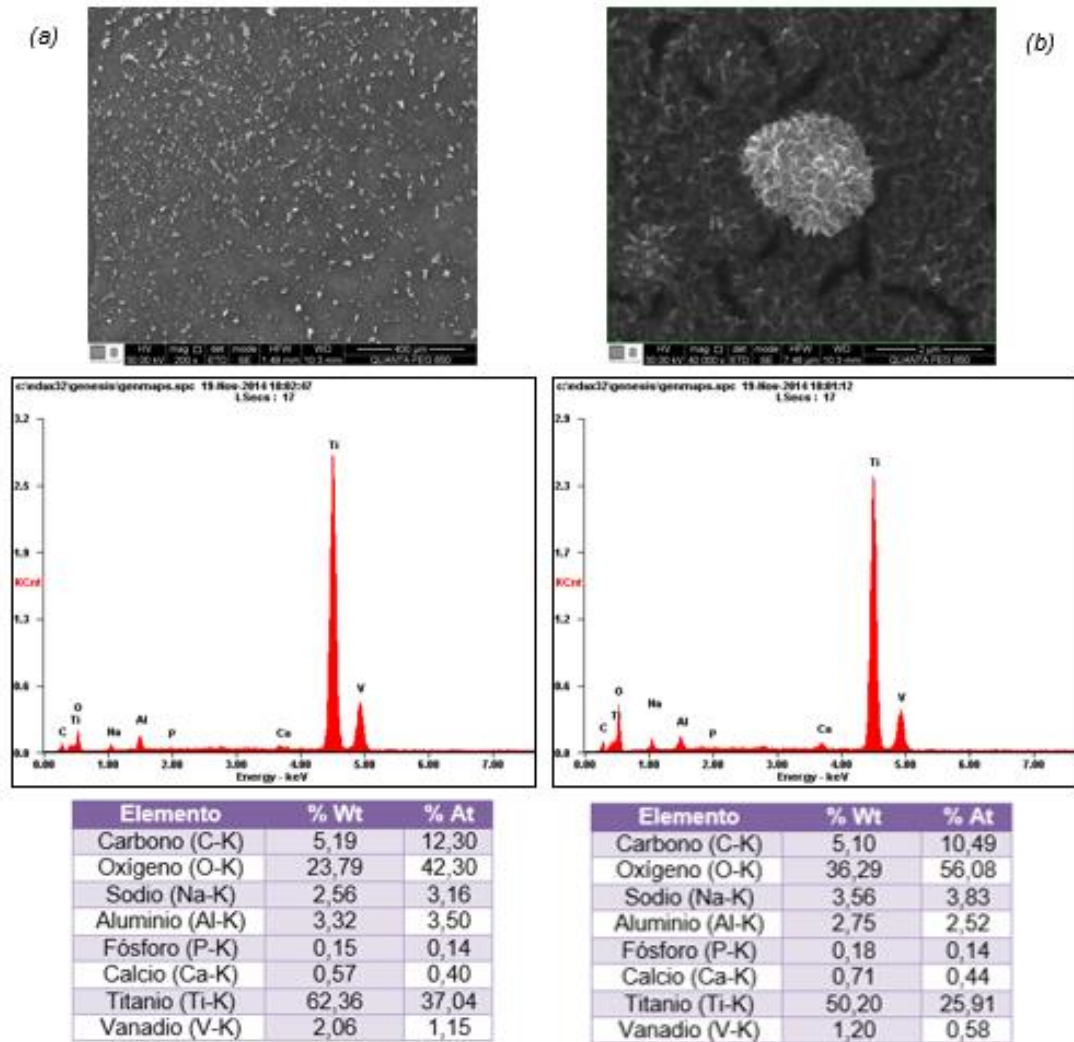


Figura A-3. (a) Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 20.000X.

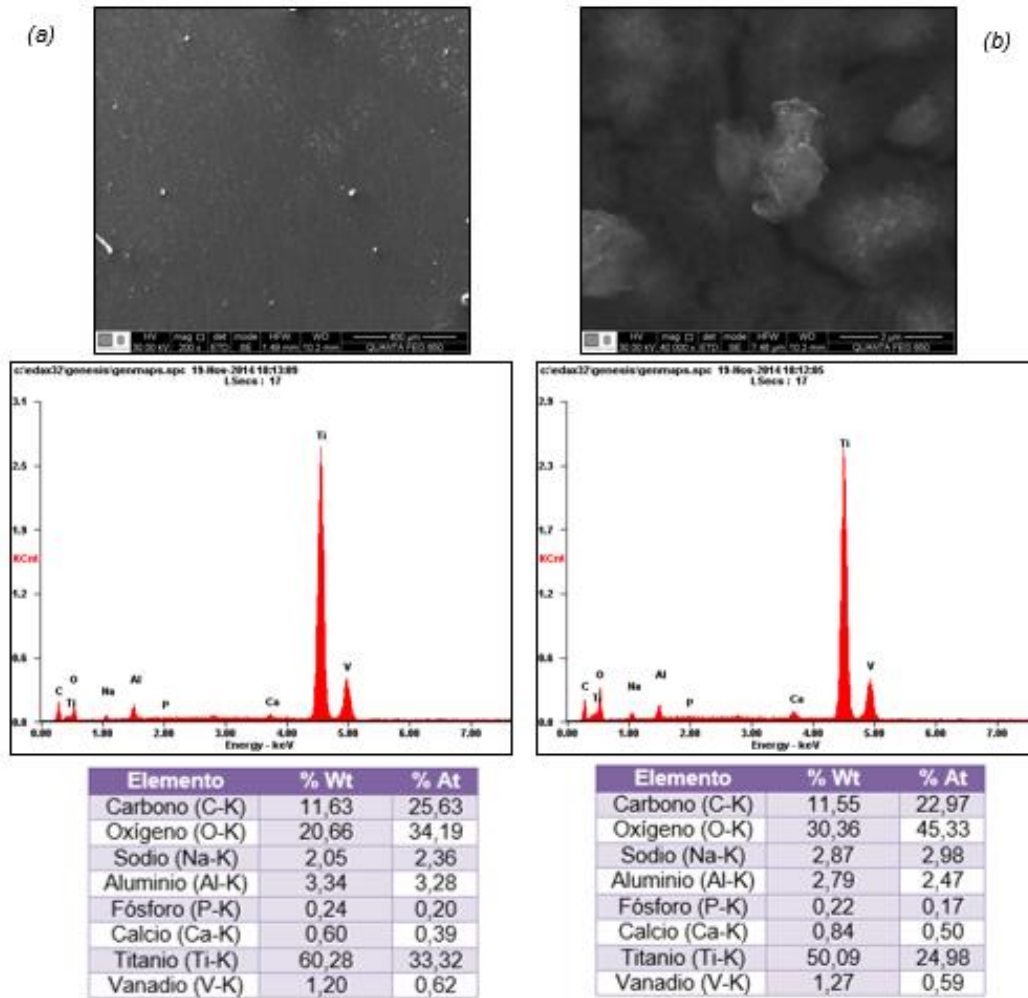


Figura A-4. (a) Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 20.000X.

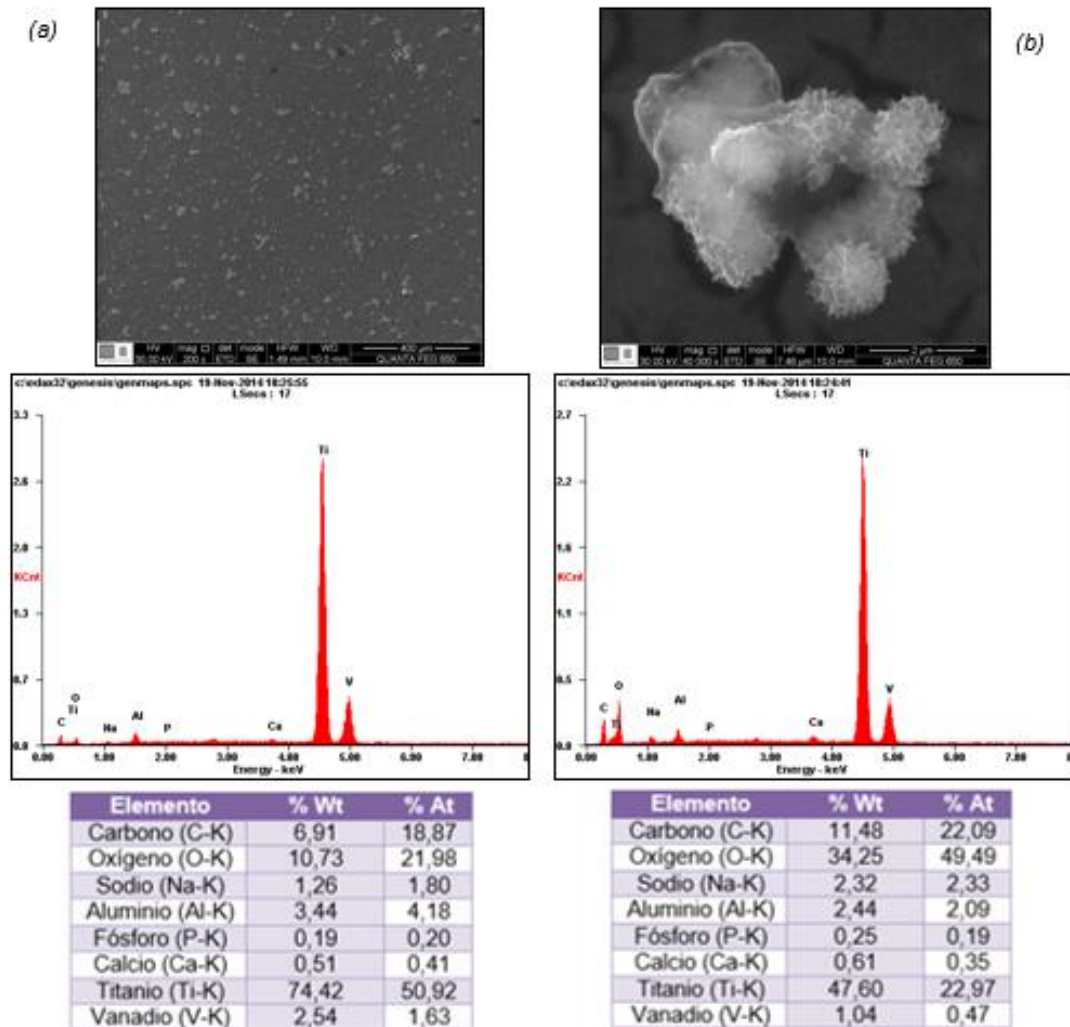


Figura A-5. (a) Recubrimiento con relación 70:30 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 20.000X.

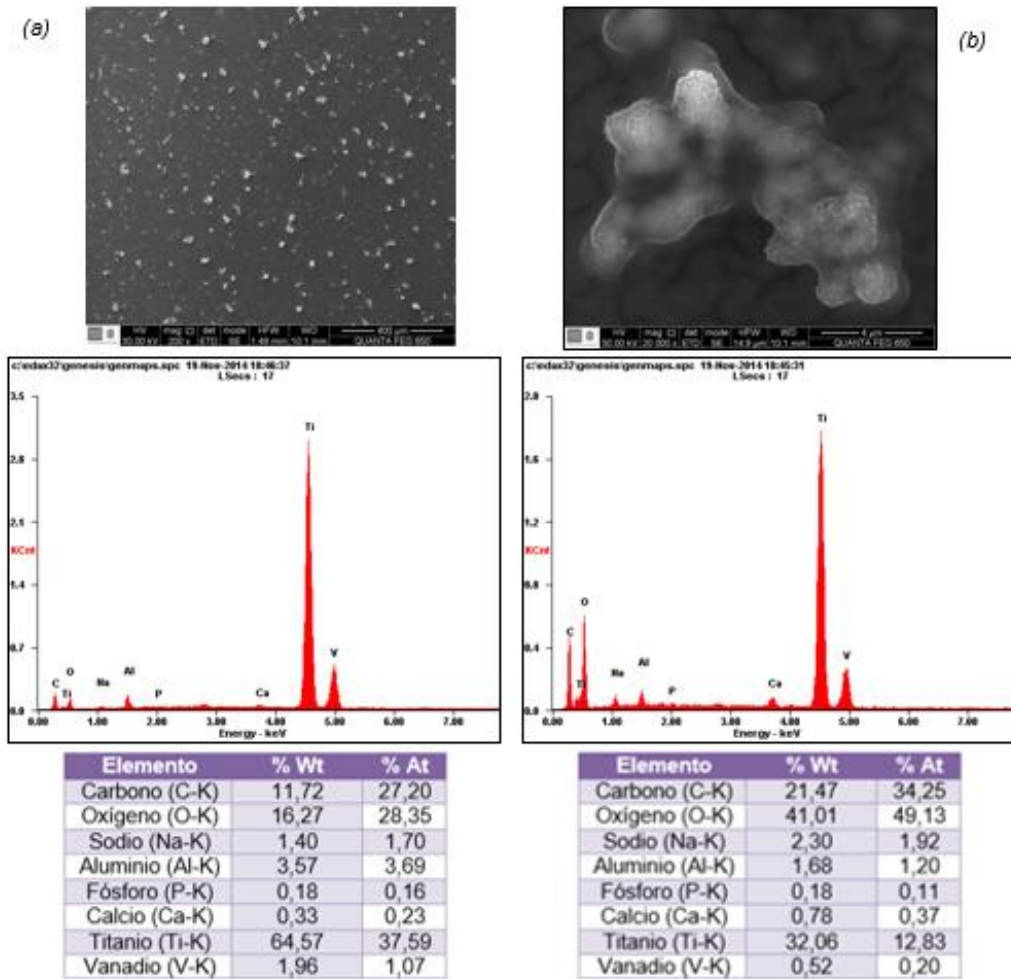
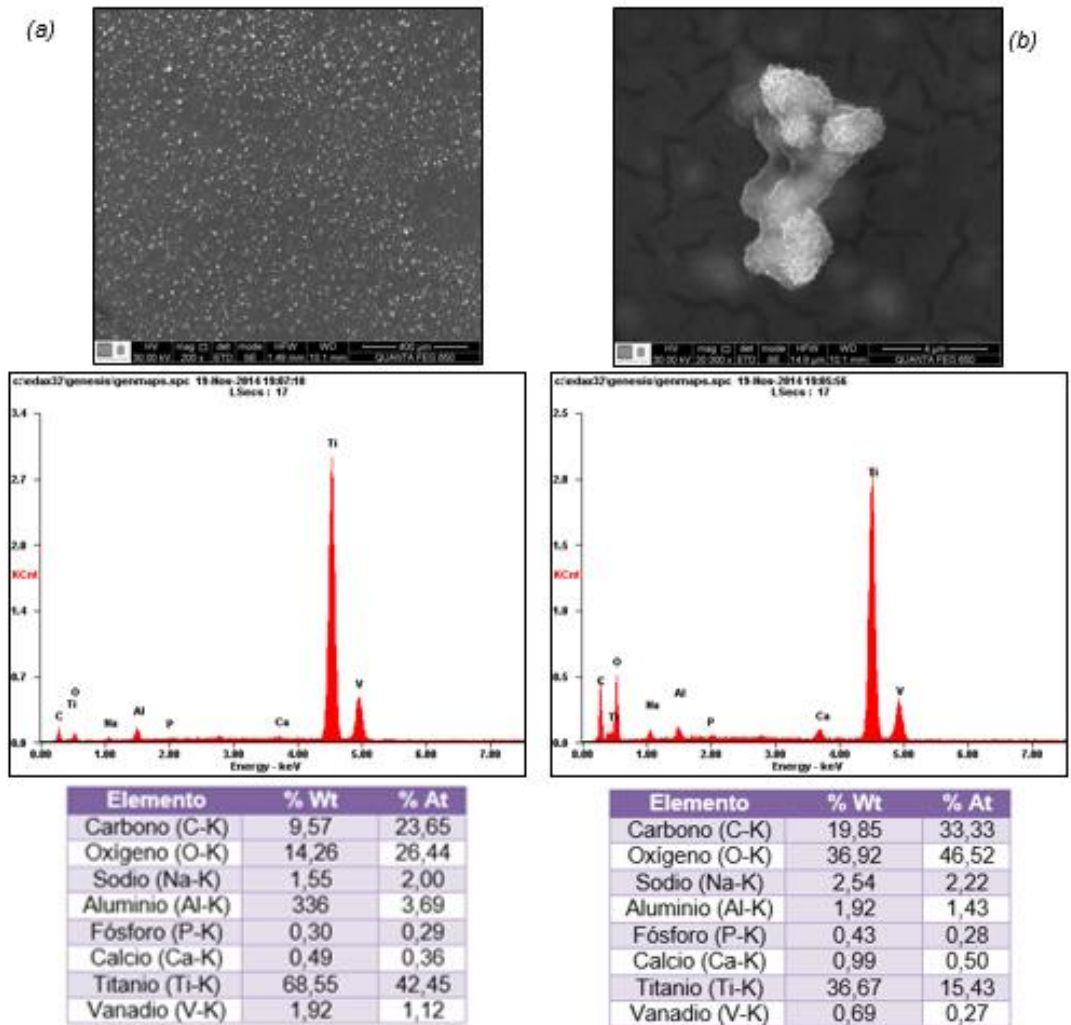


Figura A-6. (a) Recubrimiento con relación 70:30 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 20.000X.



ANEXO B. Micrográficas SEM y EDS para los recubrimientos post-inmersión en fluido corporal simulado (HBSS) y evaluación de la formación de apatitas.

Figura B-1. (a) Recubrimiento con relación 30:70 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 20.000X.

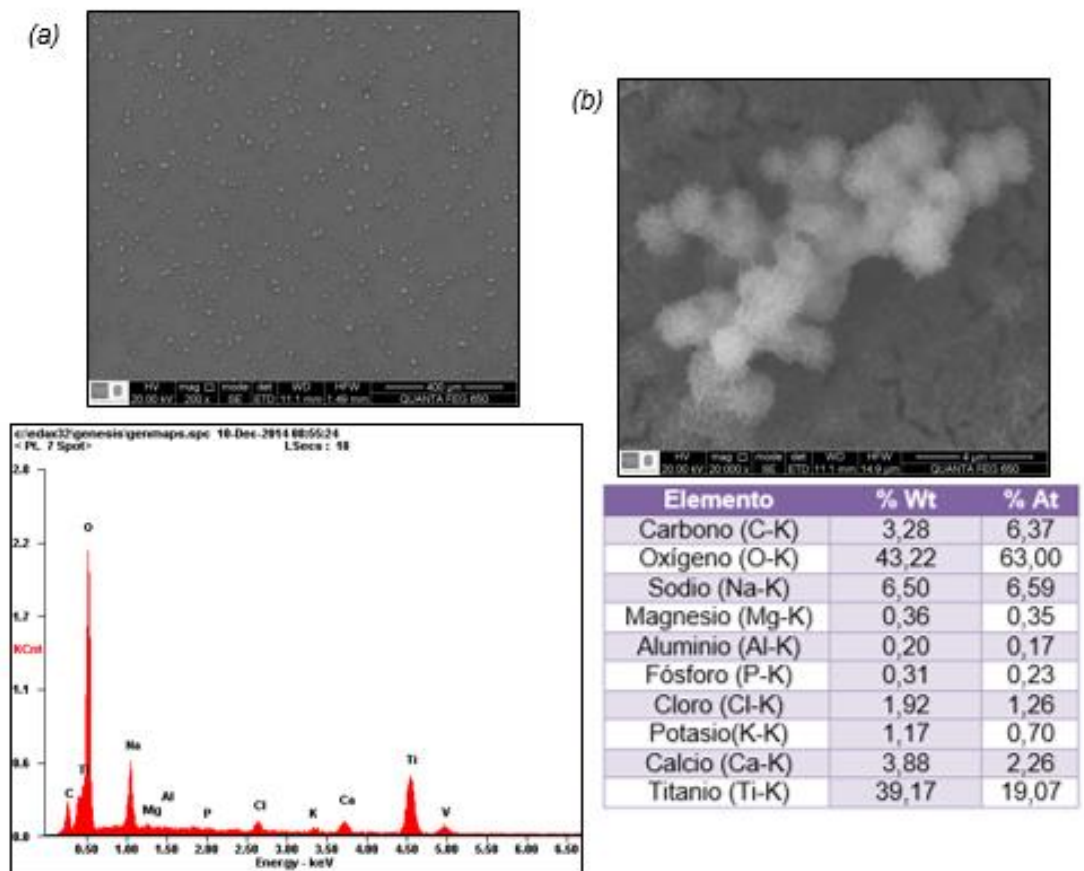


Figura B-2. (a) Recubrimiento con relación 30:70 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 30: 70 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 20.000X.

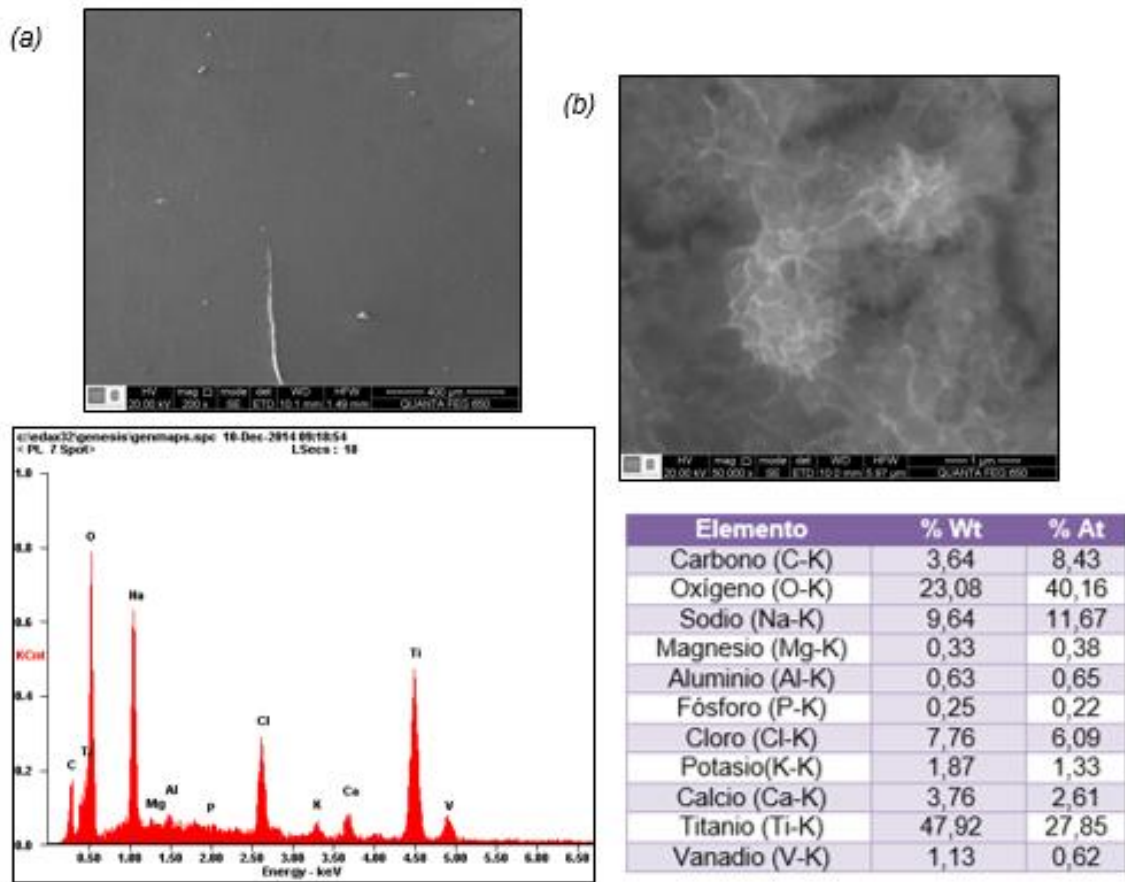


Figura B-3. (a) Recubrimiento con relación 50:50 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 20.000X.

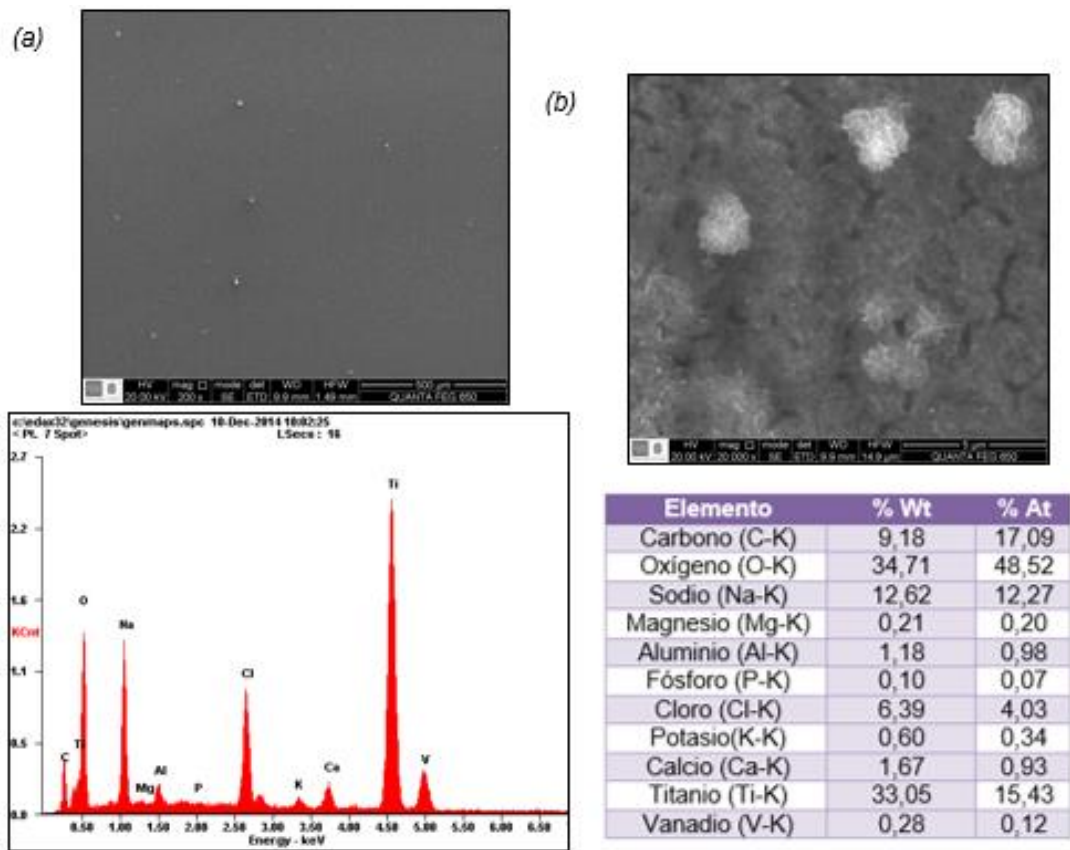


Figura B-4. (a) Recubrimiento con relación 50:50 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 20.000X.

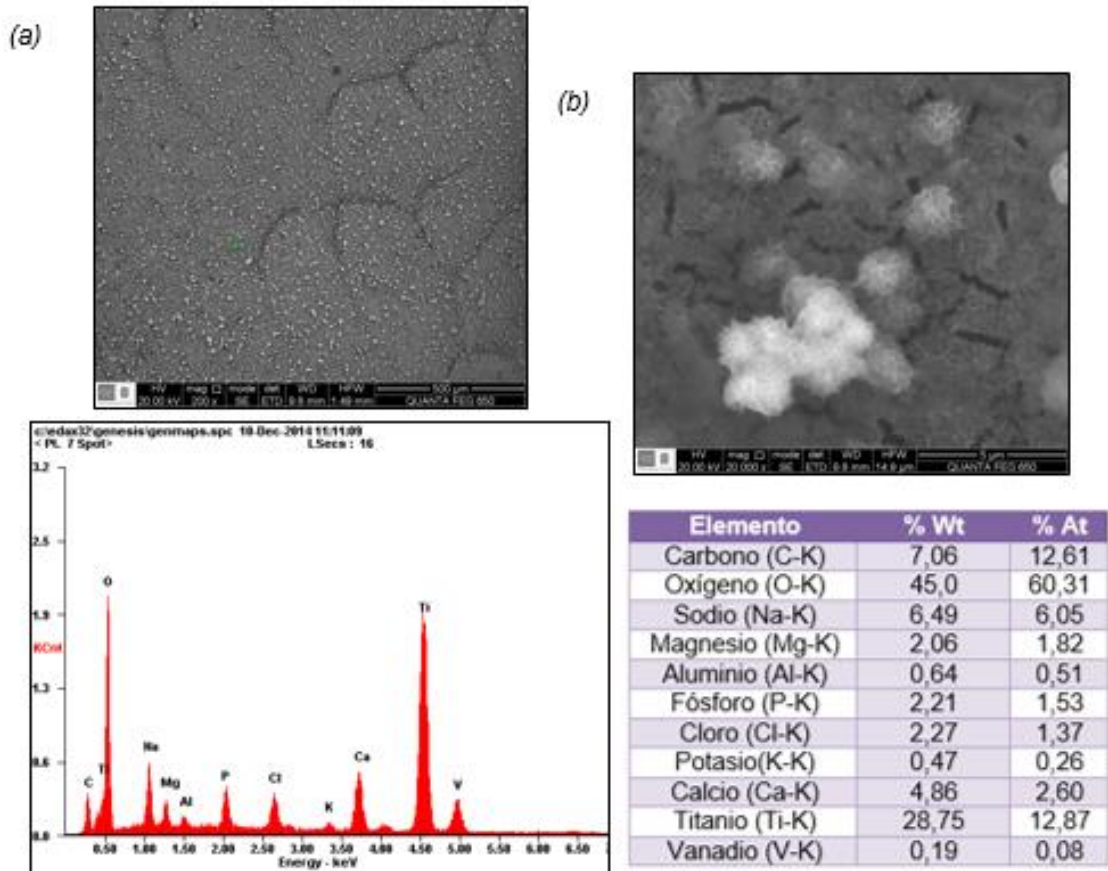


Figura B-5. (a) Recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,01% p/v de HAp a 20.000X.

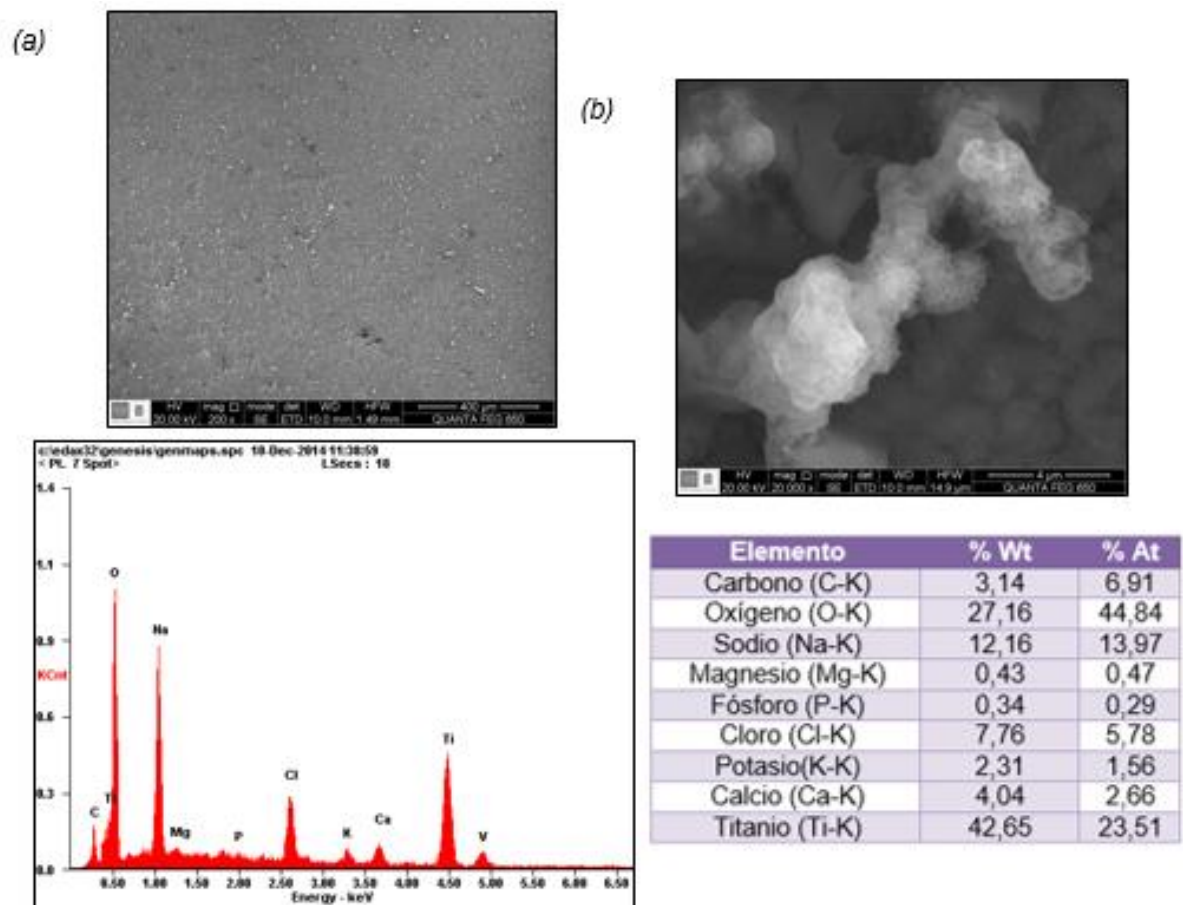
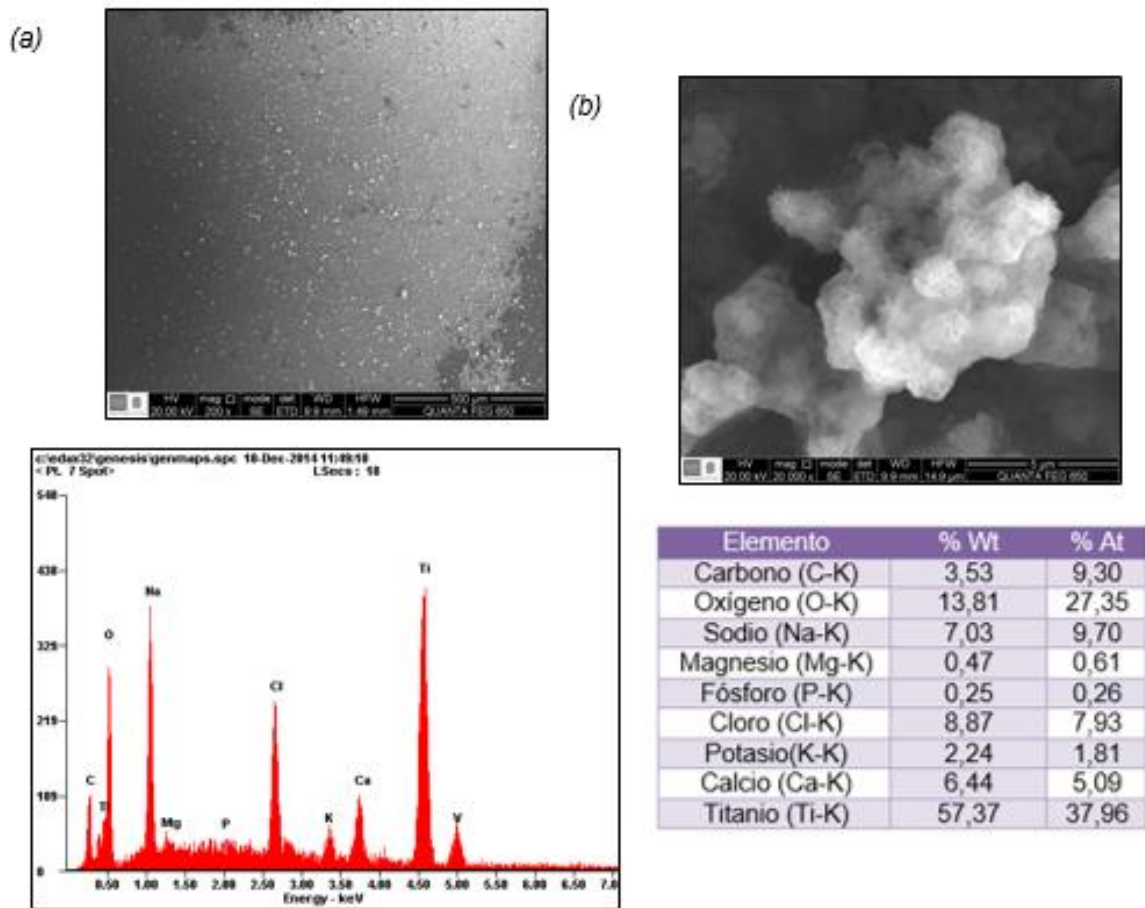


Figura B-6. (a) Recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 200X, (b) Recubrimiento con relación 70: 30 de Quitosano: PEG y 0,03% p/v de HAp a 20.000X.



ANEXO C. Curvas de bode para el Log. impedancia vs. Log. Frecuencia, y ángulo de fase vs. Log. frecuencia para los recubrimientos.

Figura C-1. Relación 30: 70 variando la HAp con C1 = 0,01% p/v, C2 = 0,03% p/v y C3 = 0,05% p/v.

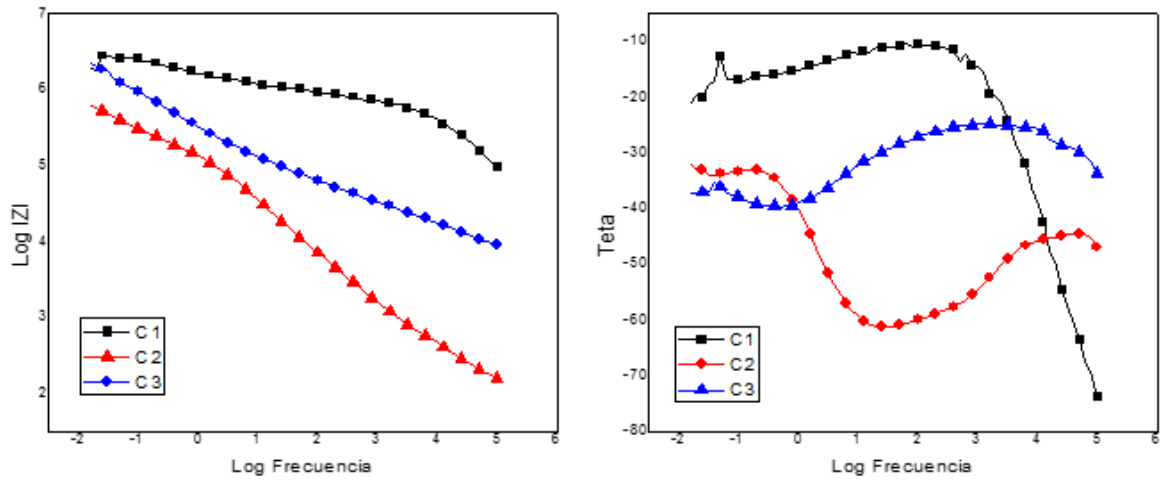
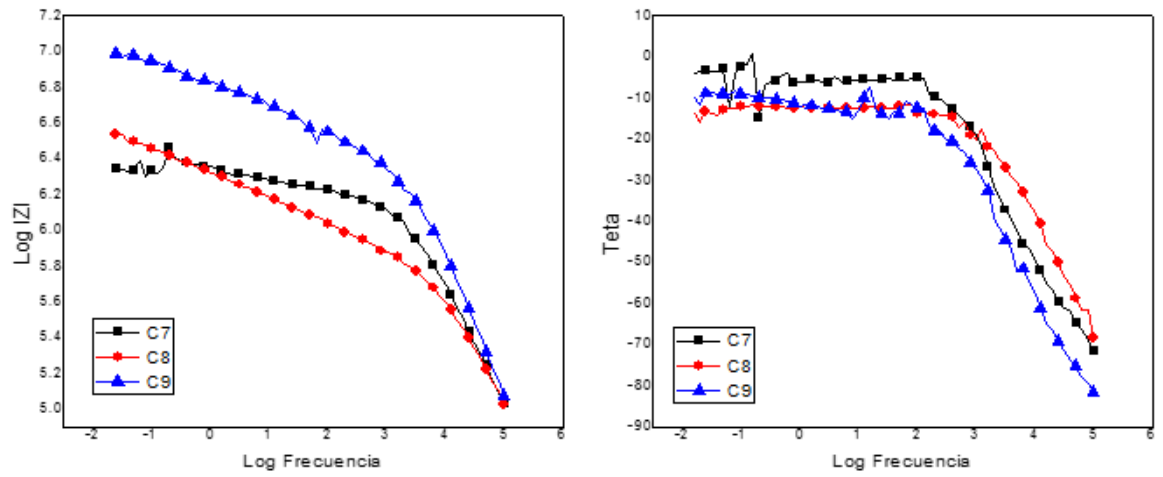
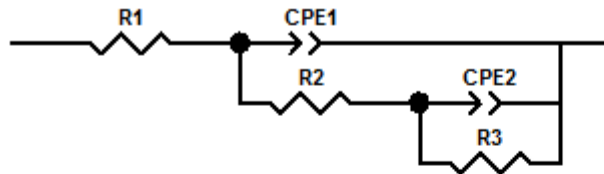
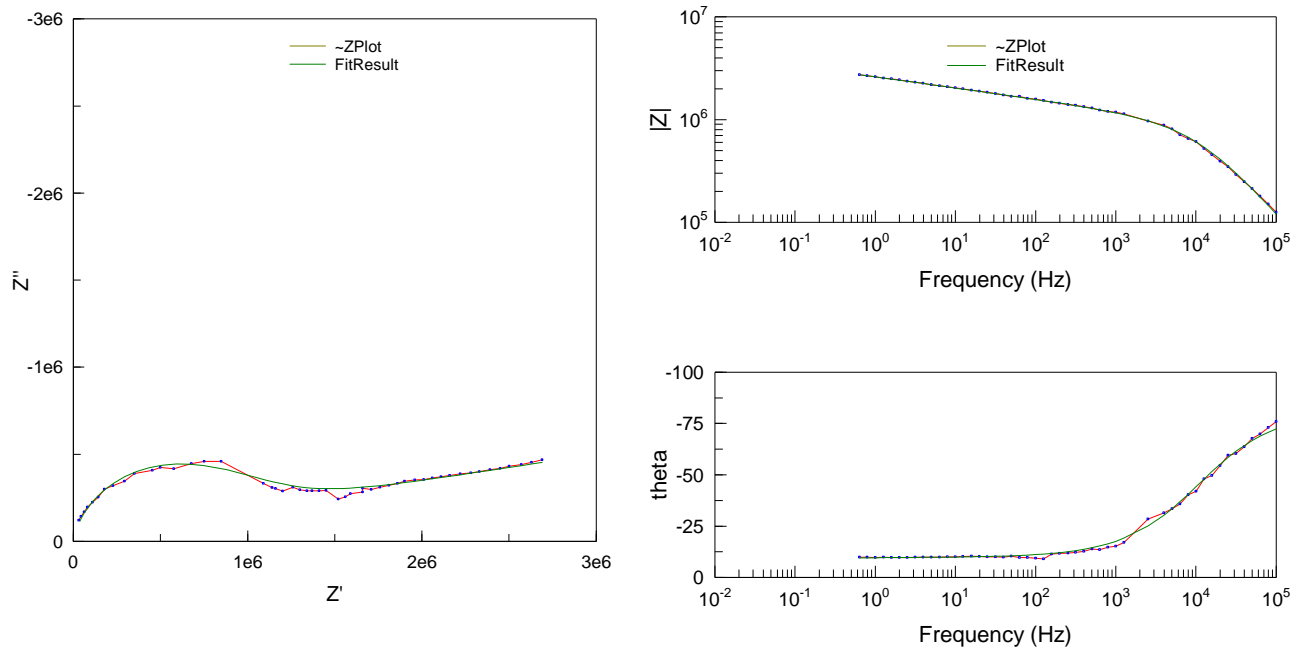


Figura C-2. Relación 70: 30 variando la HAp con C1 = 0,01% p/v, C2 = 0,03% p/v y C3 = 0,05% p/v.



ANEXO D. Simulación del circuito equivalente para los recubrimientos realizados.

Figura D-1. Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,01 % p/v de HAp.

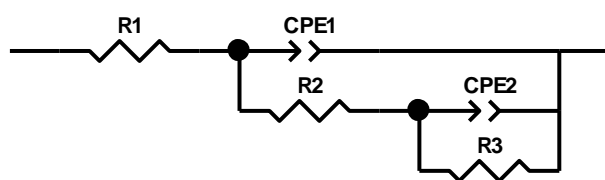
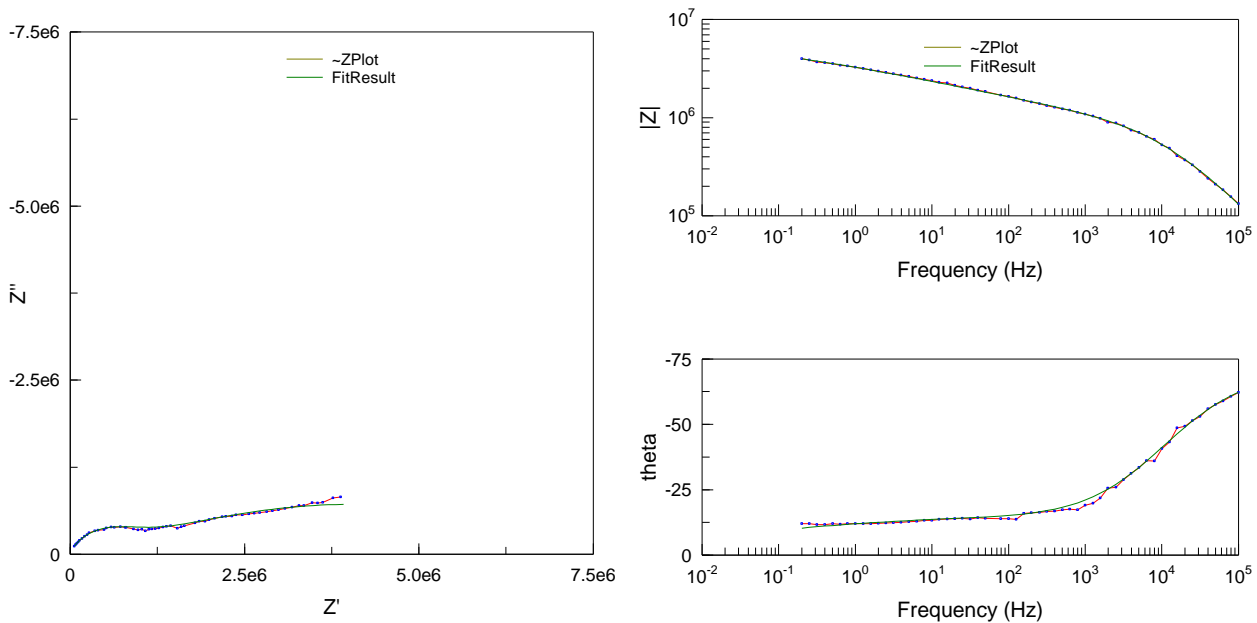


Element	Freedom	Value	Error	Error %
R1	Fixed(X)	126	N/A	N/A
CPE1-T	Free(+)	2,5289E-10	2,0165E-11	7,9738
CPE1-P	Free(+)	0,76138	0,0060779	0,79827
R2	Free(+)	1,1521E06	55887	4,8509
CPE2-T	Free(+)	1,9933E-07	2,3207E-08	11,643
CPE2-P	Free(+)	0,32597	0,031056	9,5273
R3	Free(+)	3,2111E06	4,7637E05	14,835

Chi-Squared: 0,0014575

Weighted Sum of Squares: 0,13118

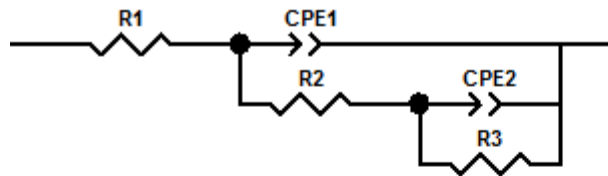
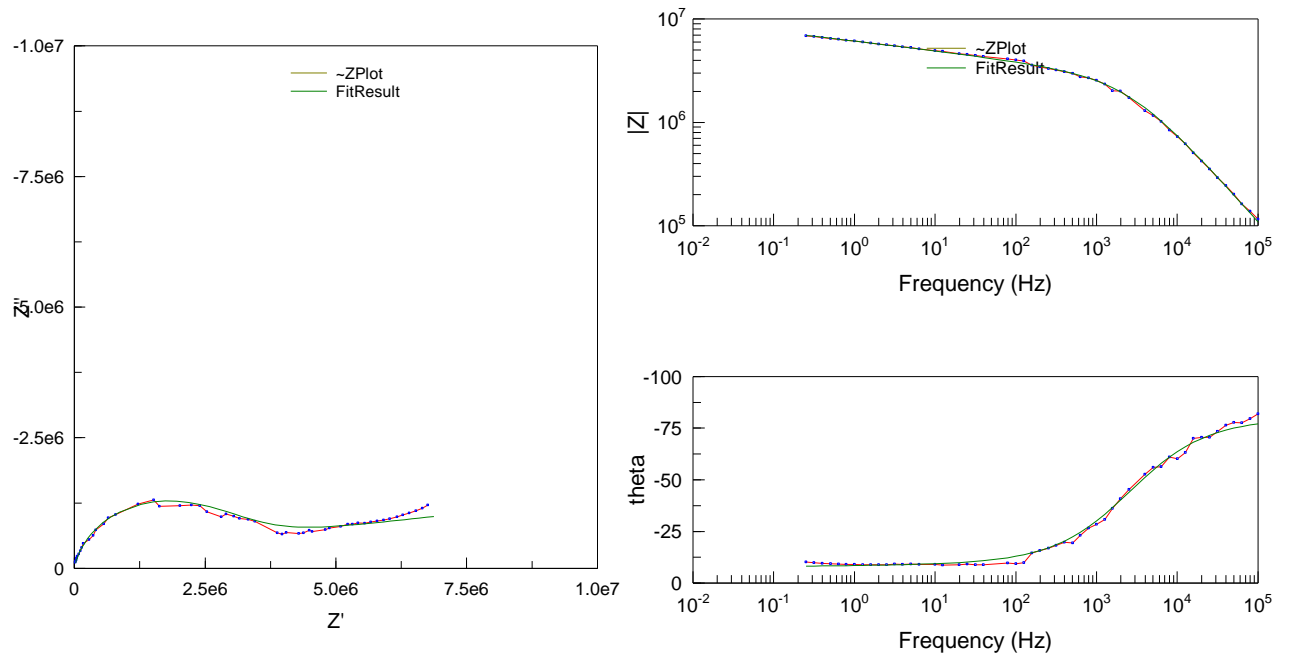
Figura D-2. Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,03 % p/v de HAp.



<u>Element</u>	<u>Freedom</u>	<u>Value</u>	<u>Error</u>	<u>Error %</u>
R1	Fixed(X)	126	N/A	N/A
CPE1-T	Free(+)	1.884E-10	2.2476E-11	11.93
CPE1-P	Free(+)	0.78828	0.0086808	1.1012
R2	Free(+)	5.9173E05	74714	12.626
CPE2-T	Free(+)	1.4783E-07	7.7472E-09	5.2406
CPE2-P	Free(+)	0.25679	0.015994	6.2284
R3	Free(+)	6.989E06	7.1359E05	10.21

Chi-Squared: 0.000882
 Weighted Sum of Squares: 0.095255

Figura D-3. Recubrimiento con relación 50: 50 de Quitosano: PEG y 0,05 % p/v de HAp.



<u>Element</u>	<u>Freedom</u>	<u>Value</u>	<u>Error</u>	<u>Error %</u>
R1	Fixed(X)	126	N/A	N/A
CPE1-T	Free(+)	7,1662E-11	4,587E-12	6,4009
CPE1-P	Free(+)	0,87986	0,0052735	0,59936
R2	Fixed(X)	1,55E06	74714	12,626
CPE2-T	Free(+)	1,1E-07	1,4669E-08	13,335
CPE2-P	Free(+)	0,18029	0,014107	7,8246
R3	Free(+)	1,5132E07	3,8677E06	25,56

Chi-Squared: 0,0035434
 Weighted Sum of Squares: 0,33662

ANEXO E. Circuito equivalente correspondiente a los recubrimientos y valores de los elementos del circuito equivalente.

Figura E-1. Circuito equivalente con R1: resistencia de la solución; CPE1: capacitancia entre la interfase solución – recubrimiento; R2: resistencia del recubrimiento altamente poroso; CPE2: capacitancia de la interfase recubrimiento – aleación base; y R3: resistencia correspondiente a la aleación Ti6Al4V.

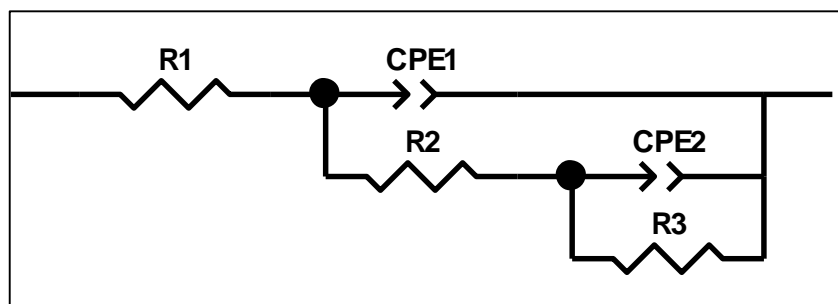


Tabla E-1. Valores de los elementos del circuito equivalente obtenidos de la simulación en ZView.

Relación Quitosano: PEG	HAp [% p/v]	Elementos del Circuito							Chi-Squared
		R1 [$\Omega \text{ cm}^2$]	CPE1-T [F/cm^2]	CPE1	R2 [$\Omega \text{ cm}^2$]	CPE2-T [F/cm^2]	CPE2	R3 [$\Omega \text{ cm}^2$]	
30: 70	0,01	126	$1,2257 \times 10^{-10}$	0,85227	$5,0884 \times 10^5$	$5,6063 \times 10^{-7}$	0,22699	1×10^{20}	0,001824
	0,03	126	$1,717 \times 10^{-6}$	0,6733	$3,6607 \times 10^5$	$1,0302 \times 10^{-5}$	0,89	$7,6976 \times 10^5$	0,002104
	0,05	126	$1,543 \times 10^{-7}$	0,7345	$4,345 \times 10^5$	$3,457 \times 10^{-7}$	0,3295	$3,5787 \times 10^6$	0,000975
50: 50	0,01	126	$2,5289 \times 10^{-4}$	0,76138	$1,1521 \times 10^6$	$1,9933 \times 10^{-7}$	0,32597	$3,2111 \times 10^8$	0,0014575
	0,03	126	$1,884 \times 10^{-10}$	0,78828	$5,9173 \times 10^5$	$1,4783 \times 10^{-7}$	0,25679	$6,989 \times 10^6$	0,000882
	0,05	126	$7,1662 \times 10^{-11}$	0,87986	$1,5500 \times 10^6$	$1,1 \times 10^{-7}$	0,18029	$1,5132 \times 10^7$	0,0035434
70: 30	0,01	126	$3,0635 \times 10^{-10}$	0,77542	$1,2933 \times 10^6$	$7,2109 \times 10^{-7}$	0,1756	$1,494 \times 10^7$	0,0024686
	0,03	126	$1,1199 \times 10^{-10}$	0,8453	$1,467 \times 10^5$	$3,25 \times 10^{-7}$	0,17047	$1,4767 \times 10^7$	0,0007256
	0,05	126	$1,9617 \times 10^{-10}$	0,78531	$2,4514 \times 10^6$	$6,6589 \times 10^{-8}$	0,35094	$9,2651 \times 10^6$	0,0024187