

**DESARROLLO DE RECUBRIMIENTOS DE HIDROXIAPATITA/TiO₂ POR SOL-
GEL SOBRE ACERO INOXIDABLE QUIRÚRGICO 316L PARA APLICACIONES
BIOMÉDICAS**

DIANA CAROLINA CÁRDENAS GUERRERO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN DESARROLLO Y TECNOLOGÍA DE NUEVOS
MATERIALES
BUCARAMANGA
2009**

**DESARROLLO DE RECUBRIMIENTOS DE HIDROXIAPATITA/TiO₂ POR SOL-
GEL SOBRE ACERO INOXIDABLE QUIRÚRGICO 316L PARA APLICACIONES
BIOMÉDICAS**

DIANA CAROLINA CÁRDENAS GUERRERO

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Ingeniero Metalúrgico**

Director

Ph.D. ELCY MARÍA CÓRDOBA TUTA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN DESARROLLO Y TECNOLOGÍA DE NUEVOS
MATERIALES
BUCARAMANGA
2009**

A Elsy Guerrero y Amnerys Rodríguez.
Y, a Dios por haberme dado el privilegio de tener dos madres.

Dedico este trabajo a mi Gordita que es el motor de mi vida y la creadora de mis ilusiones, forjadora de sueños y quien me brinda tranquilidad. Ahora gordita además de todas las primarias y bachilleratos que cursaste junto a nosotros, de ser Enfermera y Contadora, también eres Ingeniera Metalúrgica; Te amo mami.

A mi madre, Elsy Isabel Guerrero Rodríguez, porque me enseñó que con ahínco y perseverancia se logra todo, porque admiro su carácter y fortaleza ante las adversidades que ha afrontado. Gracias mami por ser la mami mas bella del universo y sus alrededores. A mi tía Mimi, por ser tía, madre y amiga; a mi papi Antonio por su cariño y enseñanzas; a mi tío Juan y mi tía Stella por consentirme siempre; a Elvis, Yayi y Eludis porque más que tías son mis hermanas. A Tina porque ha sido mi hermanita, a Danielito que lo adoro. A todos mis primis: Joha, Andrés, Alex, Brandon, Camilonchis, Kevin y Jhon, Pipe, Angie, Juli, Jared, Jeremy. A los que están lejos pero siempre ahí: Mi morsis, Javi, Mao y Raque.

A todos gracias por su apoyo y cariño inigualable.

A Jader, por ser ejemplo de dedicación, por brindarme su apoyo incondicional, compañía y amor en todo este tiempo, gracias por tolerarme, quererme tanto y estar decidido a caminar en esta ruta junto a mí.

A mi mejor amigo Franco, porque ni la distancia ha podido deshacer lo bello de esta amistad, por quererme como si fuera su hermanita, y por tantas cosas bonitas compartidas, desde lejos, espero el feliz reencuentro.

A mis amigos de toda la carrera: Nidya, Erika, Tita, Maryis, Janeth, Zula, Caro, Yurany, Jenny, Leidy Taborda, Angie, Juli, Andre, Julián Morón, Julián Ruiz, Julián Gallón, Oscar, Manu, Alex, Diego Hernández, Diego Sarmiento, Ufo, Emo, Ronald, Néstor y Luisfer por todo lo que vivimos en nuestra vida universitaria y por todo el tiempo compartido.

A Lau, Sergis y Cindy porque aunque los conocí en mis últimos semestres, he disfrutado de su grandiosa amistad.

A Daniel Orozco por permitirme disfrutar muchos momentos junto a él, porque sabe que se ha convertido en otro miembro de mi familia.

DIANA CAROLINA.

AGRADECIMIENTOS

La autora de este trabajo de investigación expresa sus más sinceros agradecimientos a:

La profesora Elcy María Córdoba, directora de este proyecto, por su apoyo, sus aportes cognitivos y confianza para la realización y culminación de este trabajo.

Al Grupo de Investigación en Biomateriales, en especial al Ingeniero Carlos Oviedo y al Ingeniero Javier Gómez por su colaboración en la toma de las micrografías ópticas de adhesión y el préstamo del baño termostatado para realizar los ensayos de bioactividad.

Al Grupo de Investigación en Corrosión, en especial al Ingeniero Hugo Estupiñán por su ayuda en la realización de los ensayos electroquímicos y al Ingeniero Custodio Vásquez por su colaboración con el manejo del software Statgraphics - Centurion.

Al Laboratorio de Difracción de Rayos X de la UIS, en especial al Químico José Luis Pinto, por su colaboración en los análisis de DRX.

Al Ingeniero Daniel Martínez por su tiempo y contribución en los ensayos de adherencia.

Al Ingeniero Esteban Correa de la Universidad de Antioquia, por su tiempo e interés en el desarrollo de las micrografías en SEM.

A Ilaria Alfieri, porque su colaboración y aportes contribuyeron en gran manera al desarrollo y culminación de este trabajo de grado.

A los profesores y técnicos de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica: Ambrosio, Javier, Fermín, Mario, Daniel y Orlando, por su paciencia, disposición y ayuda a lo largo de mi carrera universitaria.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. OBJETIVOS	3
1.1. OBJETIVO GENERAL	3
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
2. FUNDAMENTO TEÓRICO	4
2.1. BIOMATERIALES	4
2.1.1. Hidroxiapatita (HA)	6
2.1.2. Titania (TiO ₂)	7
2.1.3. Acero quirúrgico 316L	8
2.2. PROCESO SOL-GEL	9
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	14
3.1. REACTIVOS Y EQUIPOS	14
3.1.1. Reactivos	14
3.1.2. Equipos	15
3.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	15
3.2.1. Preparación De Los Soles	16
3.2.1.1. Preparación Del Sol De TiO ₂	16
3.2.1.2. Preparación Del Sol De Hidroxiapatita	17
3.2.1.3. Preparación Del Sol De Ha/TiO ₂	18
3.2.2. Conformación De Las Películas Sobre El Sustrato Metálico	19
3.2.3. Estudio De Bioactividad De Las Películas En Solución Fisiológica Simulada (SBF)	22
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS	25
4.1. PREPARACIÓN DE SOLES DE TiO ₂ , HA Y HA/TiO ₂ .	25

4.2. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS HfTiO_2	DESARROLLADAS	
BAJO DIFERENTES CONDICIONES		30
4.3. DETERMINACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE LOS	RECUBRIMIENTOS	44
4.4. CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS	RECUBRIMIENTOS	
		55
5. CONCLUSIONES		60
6. RECOMENDACIONES		61
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		62

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura1. Cristal de hidroxiapatita. Las tres moléculas de fosfato de calcio se encuentran unidas por fuerzas intermoleculares con la molécula de hidróxido de calcio.	6
Figura2. Cristales de Titania	7
Figura 3. Tecnologías sol- <i>gel</i>	11
Figura 4. Etapas del proceso de Dip-coating	12
Figura 5. Etapa de extracción controlada	12
Figura 6. Esquema Experimental	15
Figura 7. Proceso para obtener el sol de TiO ₂	16
Figura 8. Proceso para obtener el sol de HA	17
Figura 9. Proceso para obtener el sol de HA/TiO ₂	18
Figura 10. Equipo Inmensor	20
Figura 11. Ciclo de calentamiento-enfriamiento	20
Figura 12. Medidor de adherencia Hidráulico	21
Figura 13. Equipo para metalizar con oro las probetas.	23
Figura 14. Celda para ensayos electroquímicos	24
Figura 15. Viscosidad del sol de TiO ₂	25
Figura 16. Fotografías de las películas de HA	26
Figura 17. Microfotografías de las películas tomadas en el microscopio Hirox	26
Figura 18. Apariencia del recubrimiento de HA en verde.	27
Figura 19. Registro fotográfico a).Estabilidad de los soles a las 24 horas de realizados. b). Estabilidad de los soles a las 48 horas de realizados.	28
Figura 20. Apariencia de los recubrimientos después de sinterizar.	28
Figura 21. Difractogramas de la películas* a) TiO ₂ , b) HA, c) HA/TiO ₂	29
Figura 22. Películas HA/TiO ₂ en verde (antes de sinterización) obtenidas bajo diferentes condiciones experimentales.	30

Figura 23. Variación de la adherencia dependiendo de la velocidad de inmersión y número de capas	32
Figura 24. Comparación de la adherencia de las películas.	33
Figura 25. Cambio de espesor dependiendo del número de capas depositadas y de la velocidad de inmersión utilizada.	35
Figura 26. Carta de Pareto para la resistencia.	37
Figura 27. Diagrama del efecto de la resistencia.	37
Figura 28. Carta de Pareto para el espesor.	38
Figura 29. Diagrama del efecto del espesor.	38
Figura 30. Superficie de la probeta P1 a 20x, luego del ensayo de adherencia.	40
Figura 31. Superficie de la probeta P2 a 20x, luego del ensayo de adherencia	41
Figura 32. Superficie de la probeta P3 a 20x, luego del ensayo de adherencia.	41
Figura 33. Superficie de la probeta P4 a 20x, luego del ensayo de adherencia	41
Figura 34. Superficie de la probeta P5 a 20x, luego del ensayo de adherencia.	42
Figura 35. Superficie de la probeta P6 a 20x, luego del ensayo de adherencia	42
Figura 36. Superficie de la probeta P7 a 20x, luego del ensayo de adherencia.	42
Figura 37. Superficie de la probeta P8 a 20x, luego del ensayo de adherencia.	43
Figura 38. Superficie de la probeta P9 a 20x, luego del ensayo de adherencia.	43
Figura 39. Superficies de las probetas de HA (a) y TiO ₂ (b) a 20x, luego del ensayo de adherencia.	43
Figura 40. Micrografía de electrones secundarios de la muestra HA (S0H)	44
Figura 41. Espectro EDX de la muestra HA (S0H)	45
Figura 42. Micrografía de electrones secundarios de la muestra TiO ₂ (S0T)	46
Figura 43. Micrografía de electrones secundarios de la muestra HA/TiO ₂ (S0HT)	47
Figura 44. Espectro EDX de la muestra HA/TiO ₂ (S0HT)	48
Figura 45. Micrografía de electrones secundarios de las muestras S1H, S1T y S1HT	49
Figura 46. Espectro EDX de la muestra HA/TiO ₂ (S1HT)	50

Figura 47. Micrografía de electrones secundarios y Espectro EDX de la muestra HA (S2H)	51
Figura 48. Micrografía de electrones secundarios y Espectro EDX de la muestra TiO ₂ (S2T)	52
Figura 49. Difractogramas después de Bioactividad de S2T, S2H y S2HT.	53
Figura 50. Micrografía de electrones secundarios de la muestra HA/TiO ₂ (S2HT)	54
Figura 51. Espectro EDX de la muestra HA/TiO ₂ (S2HT)	54
Figura 52. Curvas de Resistencia a la polarización	57
Figura 53. Diagramas de Nyquist	58
Figura 54. Curvas de Tafel	59

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición del acero inoxidable 316L	8
Tabla 2. Reactivos químicos empleados	14
Tabla 3. Equipos empleados	15
Tabla 4. Variables evaluadas en el sol de HA	18
Tabla 5. Variables evaluadas en el sol HA/TiO ₂	18
Tabla 6. Diseño experimental en la etapa de conformación de recubrimientos.	19
Tabla 7. Concentración del SBF	22
Tabla 8. Composición Iónica del SBF y el Plasma Humano [mmol]	22
Tabla 9. Mediciones de adherencia.	31
Tabla 10. Mediciones de adherencia de HA y TiO ₂	33
Tabla 11. Espesor de las películas	34
Tabla 12. Naturaleza de la falla en los ensayos de adherencia.	39
Tabla 13. Espectro 2 HA (S0H). Matriz de la película	45
Tabla 14. Espectro 1 HA (S0H). Afloración sobre la película.	46
Tabla 15. ESPECTRO 1 HA/TiO ₂ (S0HT)	48
Tabla 16. ESPECTRO 2 HA/TiO ₂ (S0HT)	48
Tabla 17. ESPECTRO 1 HA/TiO ₂ (S1HT)	50
Tabla 18. ESPECTRO 2 HA/TiO ₂ (S1HT)	51
Tabla 19. ESPECTRO 1 HA (S2H)	52
Tabla 20. ESPECTRO 1 TiO ₂ (S2T)	53
Tabla 21. ESPECTRO 1 HA/TiO ₂ (S2HT)	55
Tabla 22. ESPECTRO 2 HA/TiO ₂ (S2HT)	55
Tabla 23. Resultados de los ensayos electroquímicos por medio de curvas de polarización y RPL	56

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. FABRICACIÓN DEL SOL COMPUESTO HA/TiO ₂	67
ANEXO B. APARIENCIA DE LOS SOLES	68
ANEXO C. MINERALES CORRESPONDIENTES AL DRX	69

RESUMEN

TITULO: DESARROLLO DE RECUBRIMIENTOS DE HIDROXIAPATITA/TiO₂ POR SOL-GEL SOBRE ACERO INOXIDABLE QUIRÚRGICO 316L PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS*

AUTOR: DIANA CAROLINA CÁRDENAS GUERRERO**

PALABRS CLAVES: 316L, sol-gel, Dip-coating, Hidroxiapatita, TiO₂, SBF,

CONTENIDO

Utilizando como precursores nitrato de calcio tetrahidratado, diamonio hidrógeno fosfato e isopropóxido de titanio (IV) y mediante el proceso sol-gel, se obtuvieron soles estables de hidroxiapatita y TiO₂. A partir de mezclas de dichos soles, con ayuda de la técnica dip-coating; se desarrollaron, bajo diferentes condiciones películas compuestas de Hidroxiapatita/TiO₂ sobre sustratos de acero 316L. Tales recubrimientos se caracterizaron con ayuda de las técnicas de DRX, EDX, (SEM), (EIS), curvas de polarización anódica y (RPL). Igualmente, se determinó la adhesión de las películas con ayuda de un medidor de adherencia hidráulico HATE® así como también se determinó el espesor de los recubrimientos mediante Rugosidad media (Ra). Finalmente, se evaluó la bioactividad *in vitro* de los recubrimientos durante dos semanas manteniendo las probetas sumergidas en SBF a 37°C para simular la temperatura corporal. La mejor adherencia la exhibe el recubrimiento de HA/TiO₂ (8,276 MPa) realizado a 6 cm/min y con una sola capa. A las mismas condiciones la HA y el TiO₂ presentan una adherencia de 2,919 y 5,379 MPa respectivamente, por lo cual se concluye que en efecto, la HA mejora su estabilidad mecánica notablemente con un refuerzo de TiO₂. A pesar de que la fase rutilo no es bioactiva, al formar un material compuesto con la HA, toma un carácter bioactivo, creciendo sobre ella apatitas al estar inmersa en SBF. El comportamiento electroquímico de la capa reforzada evidencia una mayor resistencia a la corrosión en SBF que las capas de HA y TiO₂ por separado. Presenta una velocidad de degradación bastante baja, aunque su resistencia a la polarización disminuye después de su permanencia en SBF. Sin embargo, estos biomateriales son promisorias alternativas para la aplicación en implantes ortopédicos y dentales.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico Químicas, Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencias de Materiales, Director Ph.D. Elcy María Córdoba Tuta

ABSTRACT

TITLE: DEVELOPMENT OF HIDROXIAPATITA/TIO₂ COATINGS BY SOL-GEL ON SURGICAL STAINLESS STEEL 316L FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS *

AUTOR: DIANA CAROLINA CÁRDENAS GUERRERO**

KEY WORDS: 316L, sol-gel, Dip-coating, Hydroxyapatite, TiO₂, SBF,

DESCRIPOTION

Using as precursors of Calcium nitrate tetrahydrate, diammonium hydrogen phosphate, Titanium tetraisopropoxide (IV) and by sol-gel process, there were obtained stables sols of hydroxyapatite and TiO₂. These sols were mixed, and by dip-coating technique were development under different conditions HA/TiO₂ composite films on 316L stainless steel substrates. These coatings were characterized with help of DRX, EDX, SEM, EIS, RPL and anodic polarization curves. Equally, the adhesion of films was determined with help of a hydraulic adherence measurer trademark HATE® in this way as well the thickness coatings was determined by means of Ra. Finally, the bioactivity *in vitro* of coatings was evaluated by a period of two weeks keeping test specimen dip to 37°C to simulate the human body temperature. The best adherence is exhibit by HA/TiO₂ coating with 8,276 MPa, realized to 6 cm/min and one layer. In the same conditions the HA and TiO₂ coatings separate show an adherence of 2,919 and 5,379 MPa respectively, for this reason is possible to conclude that the hydroxyapatite improves their mechanical stability in a notable way when this has a Titania reinforcement. Even though the Rutile phase is not bioactive, when it forms a composite material with hydroxyapatite, takes a bioactive character, then over HA grow apatite when it is immerse in simulated body fluid. The electrochemical behavior of reinforce coating shows that its corrosion resistance is better than the HA and TiO₂ separated. It shows a degradation velocity very low although their polarization resistance decreases after its permanence in simulated body fluid. However, these biomaterials are good alternatives for the application in orthopedic and dental implants.

** Ability Of Engineerings Físicoquímicas, School Of Engineering Metalúrgica And Science Of Materials,
Director Director Ph.D. Elcy María Córdoba Tuta

INTRODUCCIÓN

La utilización de metales en implantes biomédicos ortopédicos y odontológicos es bastante conocida. Idealmente, un implante metálico debería ser completamente inerte en el cuerpo humano, sin embargo, rara vez sucede así. Los fluidos orgánicos inciden hostilmente sobre los materiales metálicos y estos a su vez sobre los tejidos circundantes.

Dichos biomateriales tienen tendencia a corroerse, y los productos de corrosión pueden resultar tóxicos para los tejidos. Por tanto, el uso de metales en cirugía ortopédica está condicionado por la agresividad del medio físico, que puede originar la liberación de productos de degradación y/o desgaste no deseados en el organismo.

El acero inoxidable 316L ha sido ampliamente usado durante muchos años en la fabricación de implantes temporales, aunque también es usado en implantes permanentes en países en vía de desarrollo ^[8]. Sin embargo ésta aleación tiende a sufrir corrosión localizada y liberar importantes cantidades de iones hierro a los tejidos circundantes, lo cual produce respuestas adversas en los tejidos ubicados alrededor del implante ^[12].

La necesidad de reducción de costos ha hecho que se use de forma masiva el acero inoxidable como la opción más económica dentro de las aleaciones metálicas usadas en cirugía ortopédica; tales como las de Ti o las de Co-Cr ^[8].

Una forma de reducir la toxicidad del implante de dicho acero es con el uso de recubrimientos en su superficie, los cuales al impedir el contacto directo de la aleación con los fluidos y tejidos corporales disminuye la liberación de los iones tóxicos.

Estos recubrimientos deben, además, ser biocompatibles, capaces de resistir los mismos esfuerzos que la aleación, contener fases bioactivas que promuevan la fijación natural a los tejidos duros y blandos.

Son muchas las investigaciones llevadas a cabo sobre el desarrollo de películas de fases cristalinas de fosfato de calcio (incluyendo la Hidroxiapatita) sobre sustratos de acero inoxidable 316L; y, si bien ha sido comprobado que la Hidroxiapatita (HA) mejora la oseointegración del implante, dada su similitud química con los tejidos duros ^[13], es posible mejorar su comportamiento como recubrimiento al combinarla con otro material biocompatible que le mejore sus propiedades mecánicas ^[12].

En este sentido, la combinación TiO₂/HA, podría tener una alta efectividad, dado que provee un alto grado de bioactividad (debida a la HA) junto con una buena resistencia mecánica (proporcionada por el TiO₂). La titania, además, es capaz de mejorar la adhesión de los osteoblastos (células responsables de la formación de los huesos) e inducir el crecimiento celular ^[5].

Por ello, el presente proyecto se basó en el desarrollo de películas de TiO₂/HA sobre un sustrato de acero inoxidable 316L por el método sol-gel dip-coating, en su caracterización física y química y en el estudio de su bioactividad *in vitro* en una solución fisiológica simulada (SBF).

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un recubrimiento compuesto de Hidroxiapatita/TiO₂ por el método de sol-gel sobre un acero inoxidable quirúrgico 316L con fines de aplicación biomédica.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Llevar a cabo un estudio sobre la obtención de recubrimientos compuestos Hidroxiapatita/TiO₂ sobre acero quirúrgico 316L usando la técnica "Dip-coating".
- Evaluar las características físicas, químicas y electroquímicas de los recubrimientos.
- Realizar un estudio de bioactividad in vitro de las películas cerámicas en solución fisiológica simulada.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. BIOMATERIALES

Las prótesis usadas como reemplazo temporal o definitivo de un tejido son fabricadas a partir de un grupo de materiales conocidos como “biomateriales”, es decir, materiales que están destinados a ser usados en seres vivos ^[31]. Los principales requerimientos de los biomateriales son: ser biocompatibles resistentes a la corrosión, tener propiedades mecánicas adecuadas para la aplicación específica para la que son destinados y ser resistentes a la fatiga por aplicaciones de cargas cíclicas ^[32]. Dependiendo de la naturaleza del material con el que se fabrica un implante, los biomateriales se pueden clasificar en poliméricos, cerámicos, metálicos o biomateriales compuestos.

Los biomateriales metálicos se caracterizan por ser resistentes a la corrosión. Algunos lo logran formando una capa de óxido en la superficie que pasiva al material, protegiendo el interior del metal al evitar que avance la corrosión. Entre los biomateriales metálicos sobresalen el acero 316L, las aleaciones de titanio y cobalto-cromo. La primera tiene como ventaja que es la aleación más económica, no obstante su resistencia a la corrosión disminuye a largo plazo, por lo que es mayormente usada como implante temporal ^[33].

Se ha encontrado que una forma eficiente de reducir la toxicidad del implante de este acero es con el uso de recubrimientos biocerámicos, los cuales deben ser biocompatibles, resistentes a los mismos esfuerzos que la aleación y ser bioactivos, es decir promover la fijación natural a los tejidos duros y blandos.

Sin lugar a dudas el biocerámico de mayor interés para el recubrimiento de implantes metálicos es la hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), por ser el compuesto más parecido al componente mineral de los huesos. A pesar de que la

hidroxiapatita presenta buenas propiedades como biomaterial, tales como biocompatibilidad (aceptabilidad biológica y el estudio de la interacción de los biomateriales con los tejidos del organismo), bioactividad (capacidad que tiene el material de interactuar químicamente con los tejidos blandos y duros del organismo), oseointegración (unión directa al hueso, la cual se produce a través de una capa de hidroxicarbonato-apatita formada en la superficie cuando entra en contacto con los fluidos biológicos); sus propiedades mecánicas no son lo suficientemente buenas, dada su gran fragilidad ^[5].

Una posible manera de abordar este problema es combinar la hidroxiapatita con otro cerámico que le mejore sus propiedades mecánicas ^[34], pero que no afecte el carácter bioactivo de la primera. La titania (TiO_2) podría ser la respuesta a tal inquietud, dado que se ha visto que los recubrimientos de TiO_2 son resistentes, tienen buena adherencia a diferentes sustratos (metálicos y vidrios), además tienen la capacidad de mejorar la adhesión de los osteoblastos e inducir el crecimiento celular ^[5].

Por tanto, resulta de interés evaluar el comportamiento mecánico y de bioactividad de los recubrimientos compuestos HA/ TiO_2 .

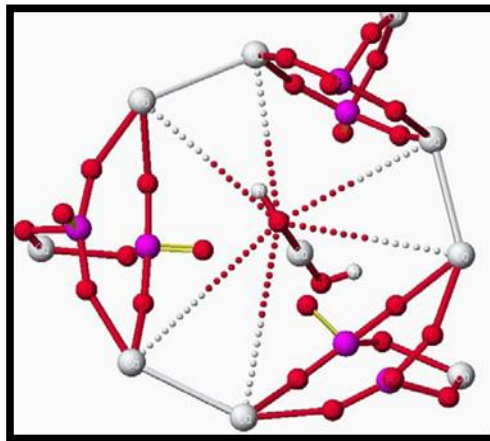
Las películas de HA/ TiO_2 sobre acero 316L pueden ser obtenidas por diferentes métodos, tales como deposición química en fase de vapor, spray pirólisis, electrodeposición, etc. ^[35]. La principal desventaja de estos procesos es su alto costo y heterogeneidad de los recubrimientos obtenidos. En este sentido, la obtención de las películas compuestas a través del proceso sol-gel y la técnica dip-coating es de mayor conveniencia, dado que partiendo de un sol con composición controlada y características fisicoquímicas adecuadas, es posible obtener económicamente películas homogéneas.

A continuación se resumen algunas de las principales características de las dos biocerámicas empleadas en el presente proyecto para el desarrollo de recubrimientos: Hidroxiapatita y Titania, así como del material metálico empleado como sustrato (acero inoxidable 316L).

2.1.1. Hidroxiapatita (HA)

La Hidroxiapatita es un fosfato de calcio cuya fórmula química responde a: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; presenta carácter iónico, y su estructura cristalina (Ver Figura 1) puede describirse como un empaquetamiento hexagonal compacto de átomos de oxígeno con los metales ocupando los huecos tetraédricos y octaédricos de la red periódica formada. Las propiedades mecánicas son similares a los de los componentes más resistentes del hueso.

Figura1. Cristal de hidroxiapatita. Las tres moléculas de fosfato de calcio se encuentran unidas por fuerzas intermoleculares con la molécula de hidróxido de calcio.



La Hidroxiapatita es el principal componente inorgánico del hueso de los vertebrados. Este fosfato de calcio, que se puede obtener de forma sintética, presenta características de biocompatibilidad y bioactividad; tales propiedades hacen al material muy práctico para usos médicos. La HA se puede usar como reemplazo de partes pequeñas de hueso, relleno de cavidades en odontología,

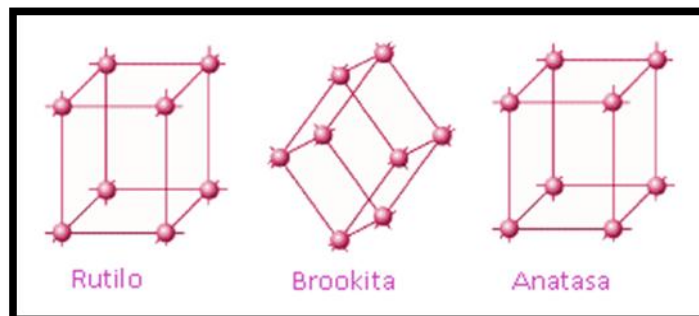
recubrimiento de superficies de metales para implantes y refuerzo en materiales compuestos, entre otros ^[8].

Sin embargo, debido a la alta fragilidad de la HA, el alcance de las aplicaciones en implantes ortopédicos y dentales es limitado ^[5]. Con el fin de superar estas limitaciones mecánicas, se ha propuesto crear un material compuesto con TiO_2 para recubrir implantes metálicos. La titania y la HA representan una buena combinación para el desarrollo de recubrimientos dada la buena resistencia mecánica de la primera y la alta bioactividad de la segunda.

2.1.2. Titania (TiO_2)

El óxido de titanio, TiO_2 , se presenta en la naturaleza en varias formas: rutilo (estructura tetragonal), anatasa (estructura tetragonal), y brookita (estructura ortorrómbica), (Ver Figura 2). El rutilo y la anatasa, cristalizan a 750° y 350°C respectivamente, se producen industrialmente en grandes cantidades y se utilizan como pigmentos, catalizadores, en la producción de materiales cerámicos y en los procesos de oxidación avanzada fotocatalizada; además del uso del rutilo y la anatasa como recubrimientos para aplicación biomédica; el primero porque confiere resistencia mecánica como recubrimiento y la segunda por bioactiva.

Figura2. Cristales de Titania



El TiO₂ se caracteriza por tener una buena resistencia mecánica cuando se usa como recubrimiento de sustratos; es por esta razón que se ha escogido para reforzar la HA (muy frágil) y conferirle un mejor comportamiento mecánico a la película.

2.1.3. Acero quirúrgico 316L

Su resistencia a la corrosión, sus propiedades higiénicas y sus propiedades estéticas hacen del acero inoxidable un material muy atractivo para satisfacer diversos tipos de demandas, como lo es la industria médica.

Existe una diversidad de composiciones químicas para el acero inoxidable, las cuales le otorgan cualidades particulares y deseadas; desde el grado de implante médico, hasta la manufactura de instrumentos quirúrgicos. Entre los aceros empleados en la industria médica se encuentran comúnmente los siguientes: 17-4, 304, AISI 316, AISI 316L, 455, 589.

El acero inoxidable 316L es un acero austenítico con 13 % Ni y 18 % Cr, con adición de 2 % Mo, y posee una excelente resistencia a la corrosión. El acero inoxidable AISI 316 L tiene la misma composición que el acero inoxidable AISI 316, pero su tenor de carbono está limitado a 0,03 %, lo cual inhibe la precipitación intergranular de carburos y, por lo tanto, la corrosión intergranular. En la *Tabla 1* se observa el porcentaje composicional de dicho acero.

Tabla 1. Composición del acero inoxidable 316L

Acero	%C máx.	%Si máx.	%Mn máx.	%P máx.	%S máx.	%Cr	%Ni	%Mo
316L	0.03	1.00	2.00	0.045	0.030	16.00-18.00	10.00-14.00	2.00-3.00

2.2. PROCESO SOL-GEL

Este proceso se basa en la polimerización química de especies en estado líquido (sol) a baja temperatura, dándose principalmente reacciones de policondensación e hidrólisis que originan especies polinucleares, oligómeros, que ocasionan un aumento en el valor de la viscosidad del sol hasta alcanzar un estado gelatinoso (gel) ^[15], obteniéndose finalmente un material cerámico, después de un tratamiento térmico adecuado.

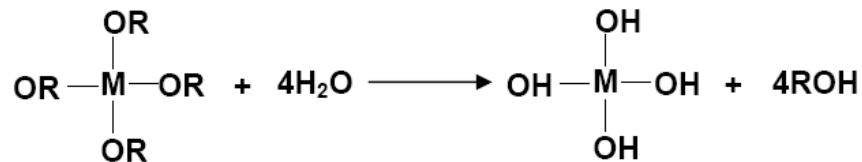
Los alcóxidos metálicos son los precursores más comunes para la preparación de soles, los cuales tienen la siguiente fórmula general.



Donde M es el metal, R es el grupo alquil, y x es el estado de valencia del metal. Durante el proceso sol-gel se dan varias reacciones, las cuales ocasionan que el sistema evolucione de un estado sol a un estado gel.

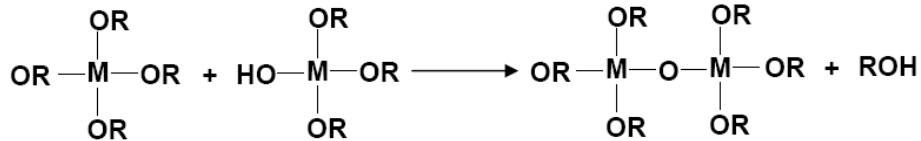
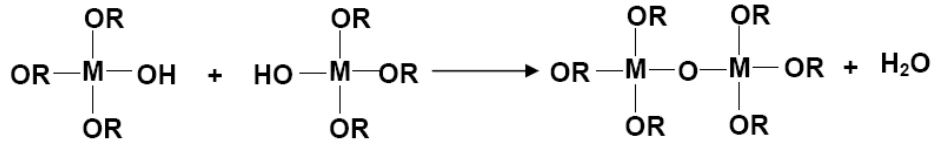
Dependiendo de la cantidad de agua, la hidrólisis puede ser completa cuando los grupos OR son reemplazados por grupos OH.

1) *Hidrólisis*



A la vez, dos moléculas parcialmente hidrolizadas pueden enlazarse entre sí, en una reacción de condensación, como se muestra a continuación:

2) Condensación



En la reacción de condensación se libera una molécula que puede ser de agua o de alcohol. Este tipo de reacciones pueden continuar hasta formar grandes cadenas de moléculas por el proceso de polimerización y dar lugar a partículas con formas específicas de acuerdo a la velocidad de hidrólisis y /o condensación que se lleve a cabo.

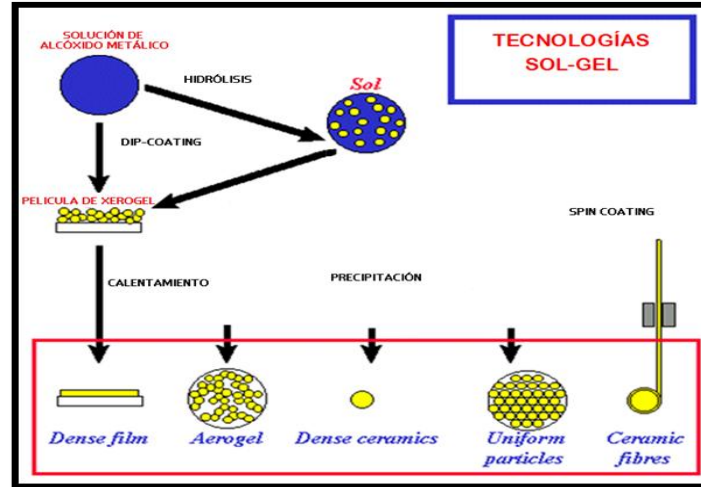
Son muchas las variables que intervienen en la formación de la red polimérica y que modifican las propiedades del material sinterizado, entre ellas cabe mencionar: pH, concentración del solvente, cantidad de agua, temperatura, presión, etc.

En otras palabras, el sol-gel es una reacción química, donde un líquido se va condensando hasta formar un sólido. El proceso de secado sirve para remover la fase líquida del gel, formando de este modo un material poroso y amorfo; entonces se sinteriza, para favorecer la cristalización de fases y aumentar las propiedades mecánicas.

De acuerdo con la *Figura 3*, para obtener películas densas, se parte de una solución de alcóxido metálico que posteriormente se hidroliza para formar el sol; luego de esto se hace la deposición de la película mediante la técnica dip-coating para obtener una película de xerogel (película con agua y solvente remanente, es

decir, sin secado y sin sinterización), la cual se densificará mediante un proceso de sinterización.

Figura 3. Tecnologías sol-gel¹



Se observa además que por el método sol-gel se pueden obtener películas densas, aerogeles, cerámicos densos, partículas uniformes, y fibras cerámicas. Finalmente, la obtención de películas densas a través de soles permite obtener recubrimientos homogéneos, ésta es una ventaja frente a otros métodos de obtención como el de precipitación química, por ejemplo.

El procedimiento de deposición sol-gel requiere una temperatura relativamente baja y menos equipos comparados con otros métodos de deposición. La ventaja más importante del método sol-gel que no está disponible en los métodos convencionales de recubrimiento, es la posibilidad de controlar la microestructura de las películas ^[2].

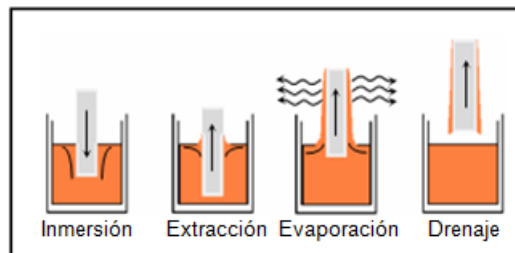
Técnica dip-coating

Una de las más importantes ventajas del método sol-gel es la posibilidad de obtener recubrimientos cerámicos mediante operaciones sencillas, tal como la técnica de inmersión-extracción denominada comúnmente dip-coating.

¹ BRINKER, Jeffrey; SCHERER, George. Sol-Gel Science.

El proceso consiste en sumergir y extraer el sustrato en la suspensión (sol) obtenida por sol-gel, a velocidad controlada y condiciones atmosféricas ^[15], formándose una capa de líquido sobre la superficie del sustrato, que cuando emerge de la superficie del baño, se separa en dos corrientes: una que sigue al sustrato y otra que vuelve al baño (Ver Figura 4).

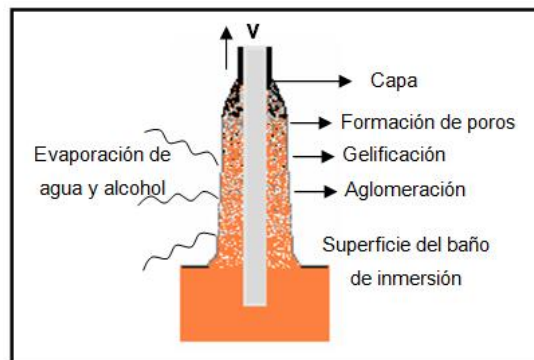
Figura 4. Etapas del proceso de Dip-coating ^[17].



La etapa de extracción del sustrato (Figura 5) es una de las más importantes dentro del proceso. El sustrato se extrae verticalmente de la solución, estableciéndose un régimen en estado estacionario donde interviene la suspensión, el sustrato en movimiento y la atmósfera.

El espesor de la película depende de la altura a la cual se dividen las dos corrientes; esta altura depende a su vez del balance de por lo menos tres fuerzas: la viscosidad de arrastre, la de gravedad y la debida a la tensión superficial en el menisco cóncavo ^[14].

Figura 5. Etapa de extracción controlada ^[17].



Finalmente la película cerámica adquiere sus propiedades con la sinterización; en esta etapa, las partículas se adhieren formando una estructura coherente y predominantemente sólida.

Durante el proceso de sinterización, los cambios que se presentan son: eliminación de agua, evaporación de solventes, eliminación de residuos orgánicos, reacciones de deshidroxilación, y cambios estructurales hasta que la fase de interés es obtenida y la adherencia al soporte sea la deseada ^[15].

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. REACTIVOS Y EQUIPOS

3.1.1. Reactivos

Tabla 2. Reactivos químicos empleados

Reactivo	Formula	Especificaciones
Tetraisopropóxido de titanio	$Ti[OCH(CH_3)_2]_4$	97% (Aldrich)
Isopropanol	$CH_3CHOHCH_3$	99,5% (Merck)
Acetilacetona	$CH_3COCH_2COCH_3$	99% (Aldrich)
Agua destilada	H_2O	Ninguna
Etilendiamine	$C_2H_8N_2$	Merck
Nitrato de Calcio	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	Analítico (Merk)
Di amonio Hidrógeno Fosfato	$(NH_4)_2HPO_4$	Analítico (Merk)
Hidróxido de amonio	NH_4OH	Merck
Aceros 316L (sustrato)	Fe, C, Ni, Cr, Mo, Mn, Si, P, S.	Imporinox S.A
Cloruro de sodio	$NaCl$	Analítico (Merk)
Bicarbonato de sodio	$NaHCO_3$	99,7% (Merck)
Cloruro de potasio	KCl	99,5% (Merck)
Di potasio Hidrógeno Fosfato	$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	98% (Carlo Erba)
Cloruro de magnesio	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	99% (Carlo Erba)
Ácido clorhídrico	HCl	Analítico (Merk)
Cloruro de calcio	$CaCl_2$	98% (Merck)
Sulfato de sodio	Na_2SO_4	99% (Merck)
TRIS hidroximetil aminometano	$NH_2C(CH_2OH)_3$	Analítico (Merk)

3.1.2. Equipos

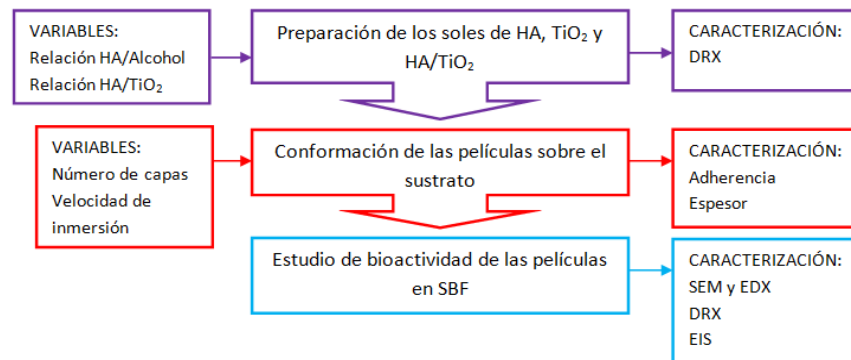
Tabla 3. Equipos empleados

Equipo	Aplicación
Agitador magnético FM-008	Agitación del sol
pH-metro Termo Scientific (Orión 3 Star)	Determinación del pH
Viscosímetro Brookfield DV-III "Brookfield engineering"	Determinación de Viscosidad
Baño ultrasónico. Elma E30H "Elmasonic"	Limpieza de los sustratos (316L SS)
Equipo de inmersión-extracción "dip-coating" Versión 3.0	Elaboración de los recubrimientos de TiO ₂
Horno. Modelo 0.8, serie 2094	Calcinación de películas
Baño termostataado de agua recirculante (MLW).	Control de la Temperatura de la inmersión de sustratos recubiertos en SBF
Difractómetro de rayos x (PHILIPS X Pert-pro) operado a 40 kV y 40 mA, usando radiación Cu K α	Determinación de fases cristalinas
Microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-6490LV)	Estudio de la morfología de las películas
Microscopio óptico HIROX	Determinación del espesor y microfotografías de las películas
Potenciostato/Galvanostato 2RA GAMRY Reference 600	Pruebas electroquímicas

3.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En el marco de la investigación se incluyó el desarrollo de tres etapas experimentales, tal como se observa en el siguiente esquema experimental.

Figura 6. Esquema Experimental



A continuación se describen cada una de dichas etapas:

3.2.1. Preparación De Los Soles

A continuación se presentan los procedimientos utilizados para la obtención de los soles de TiO_2 , HA y HA/ TiO_2 .

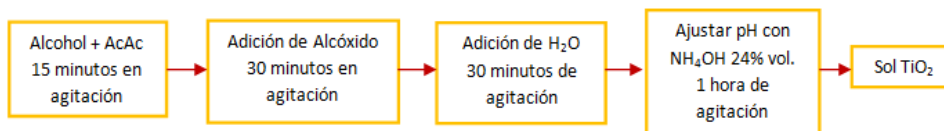
3.2.1.1. Preparación Del Sol De TiO_2

Para la preparación del sol de TiO_2 , se siguió el procedimiento sugerido por ALVARADO y VESGA ^[17]. Pero, teniendo en cuenta que se requería un pH altamente básico para la posterior mezcla con el sol de HA, se modificó el sol omitiendo la adición de ácido acético usado en dicha referencia; y se usó NH_4OH 24% vol. para ajustar el pH a un valor de 10.

Se usó como precursor el Tetraisopropóxido de Titanio IV; Acetilacetona como estabilizador y dispersante; Isopropanol como solvente, agua destilada para promover los procesos de hidrólisis que se requieren en el método sol-gel y NH_4OH 24% volumen para ajustar el pH del sol.

El sol se prepara a un pH de 10 para ser mezclado con el sol de HA posteriormente. Y obedece al siguiente proceso:

Figura 7. Proceso para obtener el sol de TiO_2



Luego de tener preparado el sol de TiO_2 , éste se añejó doce horas para pasar a recubrir el sustrato metálico y se sinterizó a 900°C .

3.2.1.2. Preparación Del Sol De Hidroxiapatita

Una vez obtenidas las soluciones estables de nitrato de calcio y de fosfato de amonio, se procedió a mezclarlas en las cantidades correspondientes de tal forma que la razón molar calcio/fósforo correspondiera a la de la hidroxiapatita, es decir, Ca/P=1,67.

De la anterior mezcla de soluciones se obtuvo un precipitado, el cual se sinterizó a 900°C para obtener los polvos de HA cristalina (Ver Figura 8).

La formación de hidroxiapatita ocurre de acuerdo con la siguiente reacción [26]:

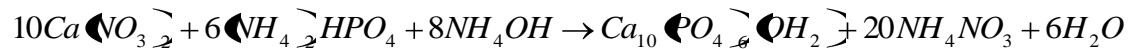
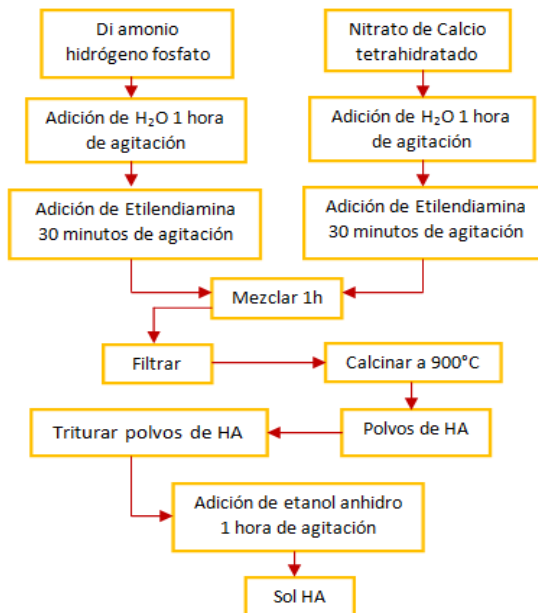


Figura 8. Proceso para obtener el sol de HA



Finalmente, dichos polvos se suspendieron en etanol para obtener el sol de hidroxiapatita. Debido a la alta heterogeneidad de las capas de hidroxiapatita inicialmente obtenidas, hubo necesidad de realizar una variación en la relación

etanol: polvos de HA como se aprecia en la *Tabla 4*, con miras a evaluar su efecto sobre la estabilidad del sol y la homogeneidad de las películas.

Tabla 4. Variables evaluadas en el sol de HA

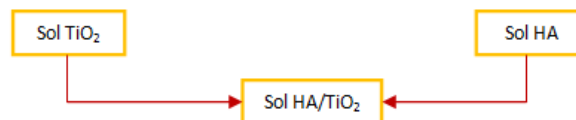
VARIABLE	NIVEL EVALUADO
Polvos de HA: Etanol	1:1
	1:2

Luego de tener preparado el sol de HA, éste se añejó doce horas para pasar a recubrir el sustrato metálico y se sinterizó a 900°C.

3.2.1.3. Preparación Del Sol De HA/TiO₂

La preparación de este sol obedece al siguiente proceso (para el proceso completo *ver Anexo A*):

Figura 9. Proceso para obtener el sol de HA/TiO₂



Una vez escogido el sol de HA, se procedió a variar la relación HA/TiO₂ con el fin de evaluar la estabilidad del sol y la homogeneidad de las películas depositadas (*Tabla 5*)^[24].

Tabla 5. Variables evaluadas en el sol HA/TiO₂

VARIABLE	NIVEL EVALUADO	NOMBRE DE LA PROBETA
HA: TiO ₂	2:1	2HA-1T
	1:1	1HA-1T
	1:2	1HA-2T

Luego de tener preparado el sol de HA/TiO₂, éste se añejó doce horas antes de proceder con los recubrimientos.

3.2.2. Conformación De Las Películas Sobre El Sustrato Metálico

La limpieza del sustrato a recubrir es de vital importancia, ya que influye de forma directa sobre la buena o mala adherencia de la película a depositar.

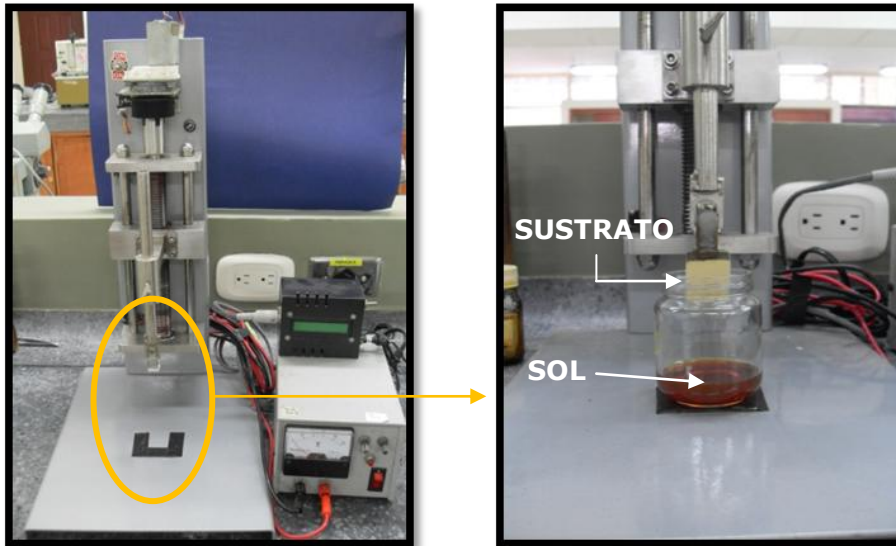
Las probetas metálicas (316L SS) con tamaño de 25*15*3 mm fueron pulidas con papel abrasivo número 80, 120, 150, 240, 320,400 y 600. Posteriormente se limpiaron con etanol en el baño de ultrasonido durante media hora y finalmente se secaron con flujo de aire a temperatura ambiente.

Una vez preparados los sustratos y los soles, se procedió a desarrollar los recubrimientos de HA, TiO₂ y HA/TiO₂ (Ver anexo B), mediante la técnica dip-coating usando un equipo inmersor con velocidad variable (Ver Figura 10). En esta etapa del proyecto las variables estudiadas fueron velocidad de inmersión-extracción y número de capas. En la *Tabla 6* se resumen las condiciones de obtención de las nueve películas. Posteriormente las películas se secaron al ambiente durante una hora, para luego pasar al proceso de sinterización a 900°C.

Tabla 6. Diseño experimental en la etapa de conformación de recubrimientos.

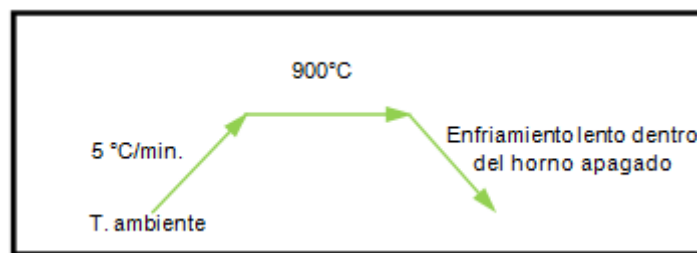
RECUBRIMIENTOS PROPUESTOS			
N. capas	1	3	5
$V_{inmersión}$ (cm/min)			
6	P1	P2	P3
9	P4	P5	P6
12	P7	P8	P9

Figura 10. Equipo Inmersor



De acuerdo a lo recomendado en la literatura ^[7], el tiempo de permanencia a la respectiva temperatura de sinterización (900°C) fue de 2 horas. Pasado este tiempo se cortó el suministro de energía al horno, y las muestras se dejaron enfriar naturalmente dentro del mismo. En la *Figura 11* se presenta el ciclo de calentamiento-enfriamiento antes descrito.

Figura 11. Ciclo de calentamiento-enfriamiento



Caracterización química, morfológica y físico-mecánica de los recubrimientos.

Las películas así obtenidas se caracterizaron químicamente por DRX y EDX; y morfológicamente por microscopía óptica y SEM.

La adherencia de las películas al sustrato metálico fue determinada según la norma ASTM D 4541-02^[23] con ayuda de un medidor de adherencia hidráulico HATE (Ver Figura 12).

Se empleó una resina epoxi para unir el sustrato recubierto al pin de ensayo. Esta prueba según la norma ASTM D 4541-02 requiere un área de contacto mínima de un centímetro cuadrado.

El análisis de las superficies ensayadas permite establecer si la ruptura fue adhesiva; es decir, a través de la interfase sustrato-recubrimiento; ó cohesiva (si la ruptura fue en medio del recubrimiento). También puede suceder que la ruptura fuera por la resina de unión, lo cual indicaría que la adherencia recubrimiento-sustrato es muy alta (mayor a 90 MPa).

Una ruptura adhesiva indicará una correcta aplicación de la técnica de medición, puesto que el valor medido corresponde a la adherencia entre el sustrato y el recubrimiento.

Luego de los ensayos, las superficies de falla fueron analizadas en el Microscopio Óptico Hirox con miras a determinar el porcentaje de falla adhesiva y cohesiva.

Figura 12. Medidor de adherencia Hidráulico



3.2.3. Estudio De Bioactividad De Las Películas En Solución Fisiológica Simulada (SBF)

Es importante aclarar que un estudio *in vitro*, es aquel que se hace en un medio simulando el fluido corporal. La solución SBF, designada así por sus siglas en inglés (Simulated Body Fluid) es una de las más aceptadas para simular el plasma sanguíneo humano ^[10].

El estudio de bioactividad en SBF de las películas elaboradas se realizó con el fin de determinar el crecimiento o no de apatitas sobre el recubrimiento compuesto HA/TiO₂, cuando este se encuentra inmerso en el fluido corporal simulado. La solución SBF (*Tabla 7*) utilizada para los ensayos de bioactividad es la propuesta por KOKUBO ^[2]; que corresponde a la siguiente composición:

Tabla 7. Concentración del SBF ^[11]

SBF	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂ *6H ₂ O	NaHCO ₃	K ₂ HPO ₄	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂
[g/l]	8.053	0.224	0.278	0.305	0.353	0.174	6.057

Este tipo de solución fisiológica simulada, tiene una composición muy similar a la del plasma humano ^[13]. Esto se observa en la *Tabla 8*, en la cual se observan las semejanzas en la composición iónica de ambos.

Tabla 8. Composición Iónica del SBF y el Plasma Humano [mmol] ^[11]

SOLUCIÓN	Na ⁺	K ⁺	Mg ⁺²	Ca ⁺²	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ⁻²
SBF	142	5,0	1,5	2,5	147,8	1,0	0,5
PLASMA HUMANO	142	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0

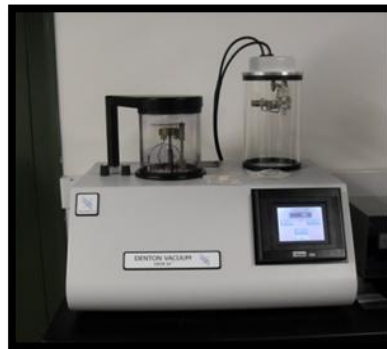
Las probetas de acero 316L recubiertas con HA, TiO₂ ó HA/TiO₂ se sumergieron en 100 ml de solución SBF, dentro de recipientes plásticos. Manteniéndose a 37°C

en un baño termostataado de agua recirculante, por un período de 1 ó 2 semanas. Pasados dichos tiempos, las muestras se secaron, se lavaron con agua destilada y finalmente se secaron con una corriente de aire a temperatura ambiente.

Los cambios químicos y morfológicos de las películas fueron evaluados con ayuda de las técnicas DRX, SEM y EDX.

Como las películas ensayadas son cerámicas se hizo necesaria una preparación previa de los sustratos para que pudieran ser conductoras antes de introducirse al microscopio electrónico de barrido. Esta preparación consistió en metalizarlos con oro, creando vacío en el equipo que se muestra a continuación (*Figura 13*) por un tiempo de 150 segundos para obtener una mejor resolución y luego de esto se procedió a la observación en el Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM – 6490LV.

Figura 13. Equipo para metalizar con oro las probetas.

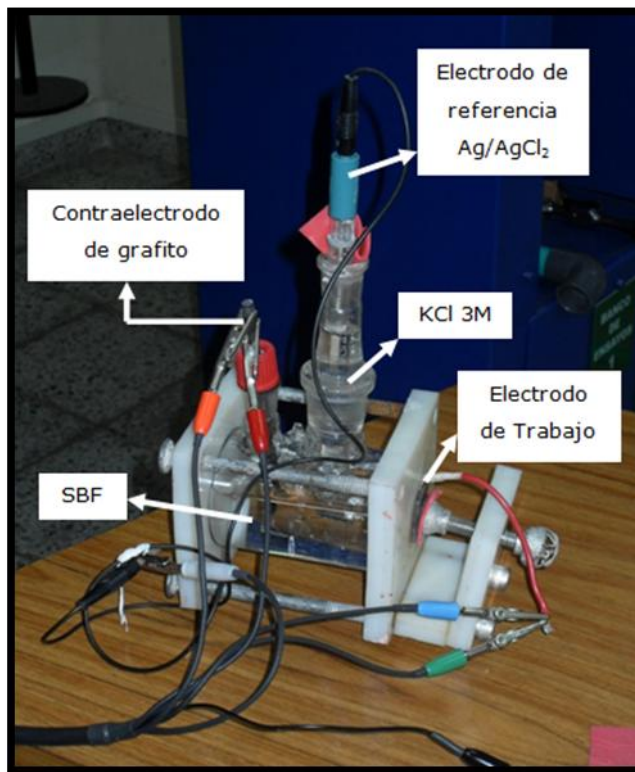


Las probetas también fueron caracterizadas electroquímicamente por la técnica de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS), resistencia a la polarización lineal (RPL) y curvas de polarización potencia dinámicas (Curvas Tafel). El fin de tal estudio fue el de determinar el efecto que tiene la degradación de los recubrimientos biocerámicos desarrollados, inmersos en fluido biológico simulado. Las pruebas electroquímicas se llevaron a cabo en una celda como la que se ilustra en la *Figura 14*; usando un electrodo de plata/cloruro de plata como electrodo de referencia, un electrodo de grafito como contra electrodo, KCl

concentrado y SBF (pH=7,25) como electrolito. El electrodo de trabajo es la probeta recubierta con el material biocerámico que se desea ensayar. Dicha celda se encuentra conectada a un Potenciostato/Galvanostato GAMRY 600.

Los ensayos electroquímicos realizados fueron hechos a temperatura ambiente, de ellos se obtuvieron Curvas de Resistencia a la Polarización, Diagramas de Nyquist y Curvas Tafel, en las que se calculó la resistencia a la polarización (R_p), la velocidad de corrosión V_{corr} (mpy), y la I_{corr} (μA).

Figura 14. Celda para ensayos electroquímicos

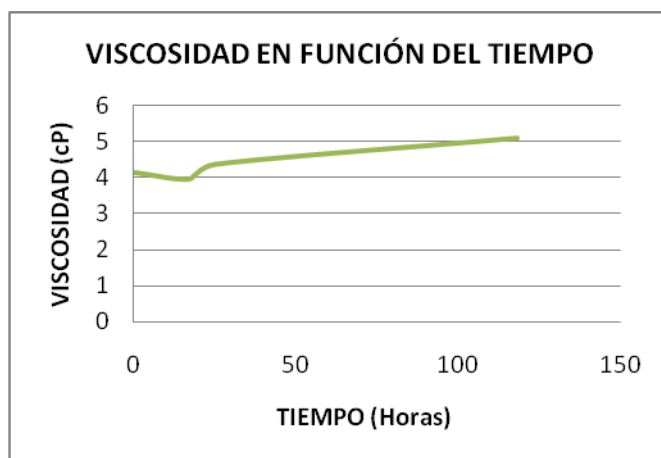


4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1. PREPARACIÓN DE SOLES DE TiO_2 , HA Y HA/ TiO_2 .

La estabilidad del sol de TiO_2 se determinó cualitativamente (Ver Figura 15), mediante la verificación visual de la presencia o no de precipitados durante un período de 4 meses. El tiempo de añejamiento del sol más adecuado para la preparación de las películas, se determinó mediante la medida de la viscosidad del mismo durante cinco días.

Figura 15. Viscosidad del sol de TiO_2



Después de variar la relación de polvos de HA/etanol, se encontró que ambos soles (1:1 y 1:2) resultaron ser estables, entonces se procedió a depositar las películas de los soles correspondientes (a una velocidad de inmersión-extracción de 9 cm/min) y el resultado es el mostrado en las Figuras 16 y 17.

Figura 16. Fotografías de las películas de HA

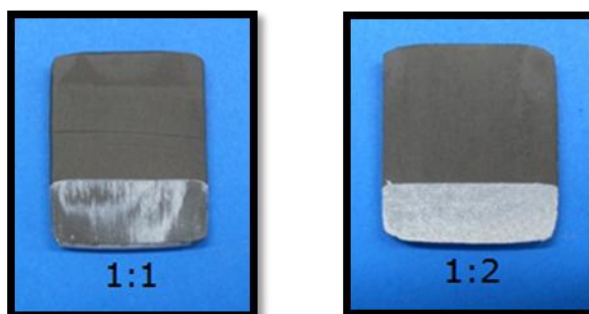
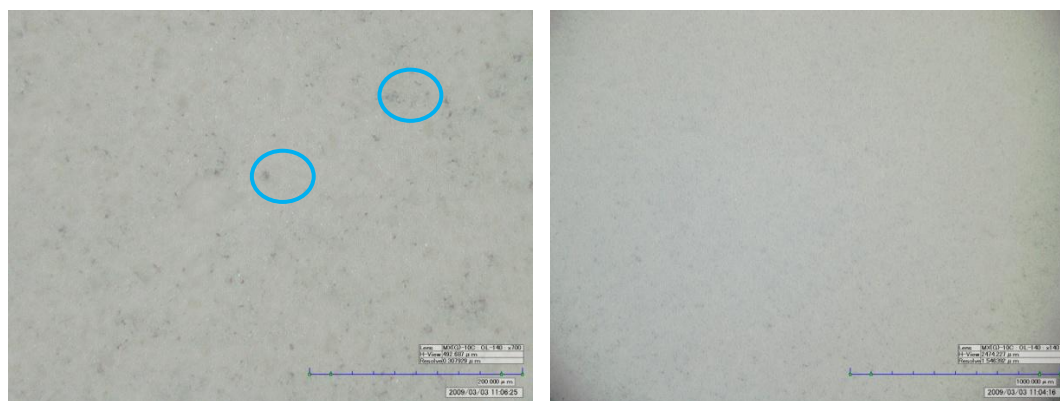


Figura 17. Microfotografías de las películas tomadas en el microscopio Hirox



a) 1:1

b) 1:2

Como se observa en las fotografías, la película con relación de polvos de HA/etanol de 1:1, tiene una apariencia heterogénea, la cual puede deberse a falta de solvente para mantener las partículas de HA en suspensión, por esta razón existen marcas donde se concentra el depósito de HA, y regiones en donde el sustrato queda descubierto (macroporos). Y la película en la que la relación es de 1:2, resultó completamente homogénea, por esta razón se escogió ésta última como la relación más adecuada para hacer los recubrimientos. Finalmente, se repitieron los ensayos y usando una relación de polvos de HA/etanol de 1:2, se obtuvo la siguiente película en verde (*Figura 18*), es decir, sin proceso de sinterización.

Figura 18. Apariencia del recubrimiento de HA en verde.



Después de tener el sol de HA y el de TiO_2 estables y corroborar que se obtenían películas homogéneas, se procedió a realizar el sol compuesto (HA/TiO_2) y sus respectivas variaciones citadas en la *Tabla 5*.

En la *Figura 19* se presentan las fotografías de dos de los soles propuestos ya que el sol de HA:TiO_2 2:1 precipitaba inmediatamente se mezclaban las soluciones de fosfato y nitrato respectivamente, por lo que no tenía sentido evaluar la estabilidad en este sol. Se observa que a las 24 horas de haber hecho el sol compuesto de HA:TiO_2 1:1 y 1:2 aún se encuentran estables, pero después de 48 horas de realizados, en el sol 1:2 se observa precipitación de partículas. Ello hace que se decida usar el sol HA:TiO_2 1:1 para la continuación del proyecto. A continuación se muestra la apariencia de las películas (*Figura 20*) después de conformarlas sobre el sustrato de 316LSS y después de sinterizarlas a 900°C .

Figura 19. Registro fotográfico a).Estabilidad de los soles a las 24 horas de realizados. b). Estabilidad de los soles a las 48 horas de realizados.

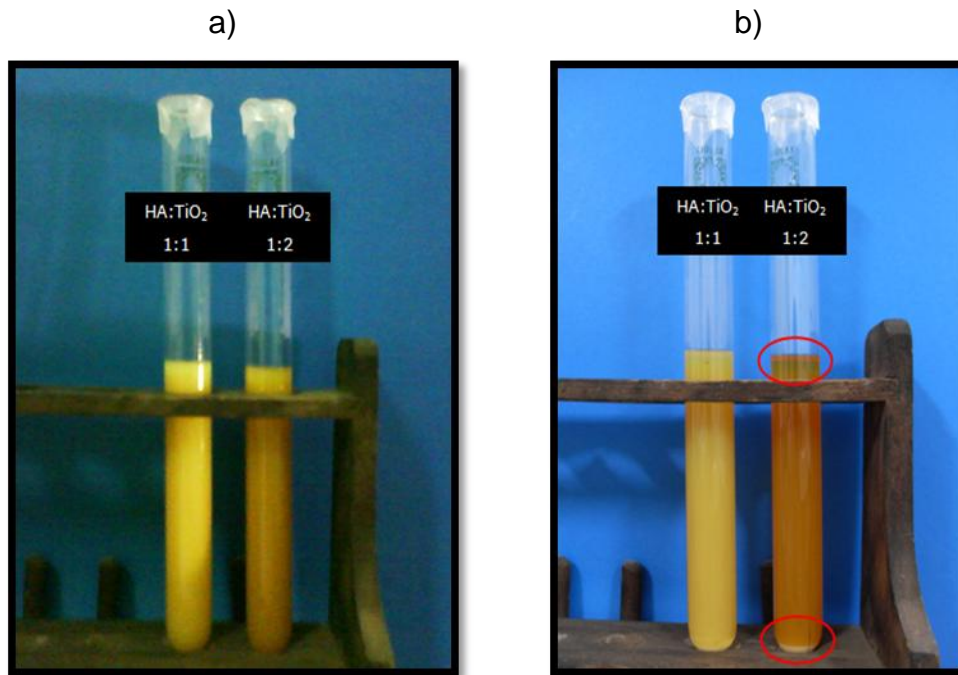
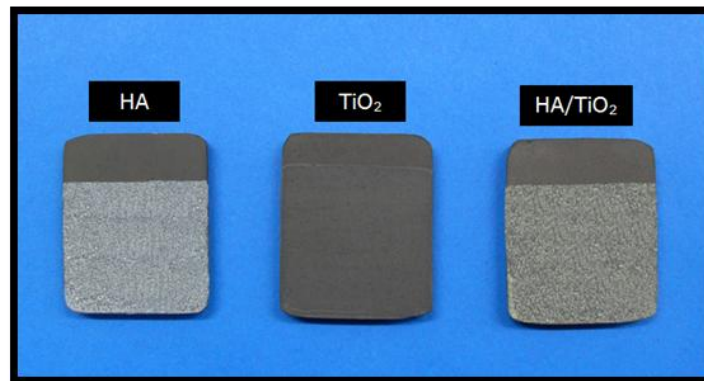


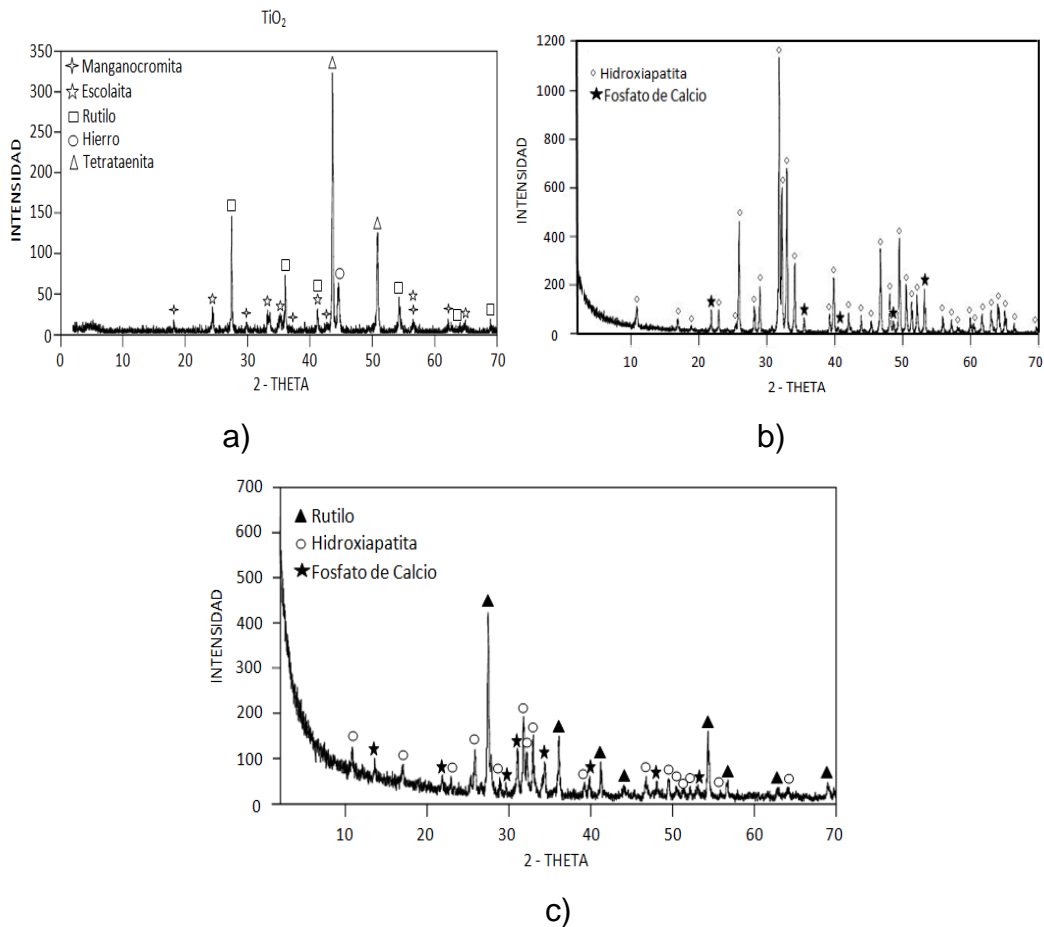
Figura 20. Apariencia de los recubrimientos después de sinterizar.



Con el propósito de determinar las fases existentes en las películas de HA/TiO₂, se analizaron por difracción de rayos X. En la *Figura 21* se muestran los difractogramas obtenidos, en los cuales aparece la fase cristalina de rutilo para el recubrimiento de TiO₂ e Hidroxiapatita cristalina y algo de fosfato de calcio en el recubrimiento de HA.

Para el caso del recubrimiento compuesto de HA/TiO₂ se obtienen las tres fases anteriores (HA, rutilo y fosfato de calcio).

Figura 21. Difractogramas de la películas * a) TiO₂, b) HA, c) HA/TiO₂



*Las fórmulas químicas de los compuestos son presentadas en el Anexo C

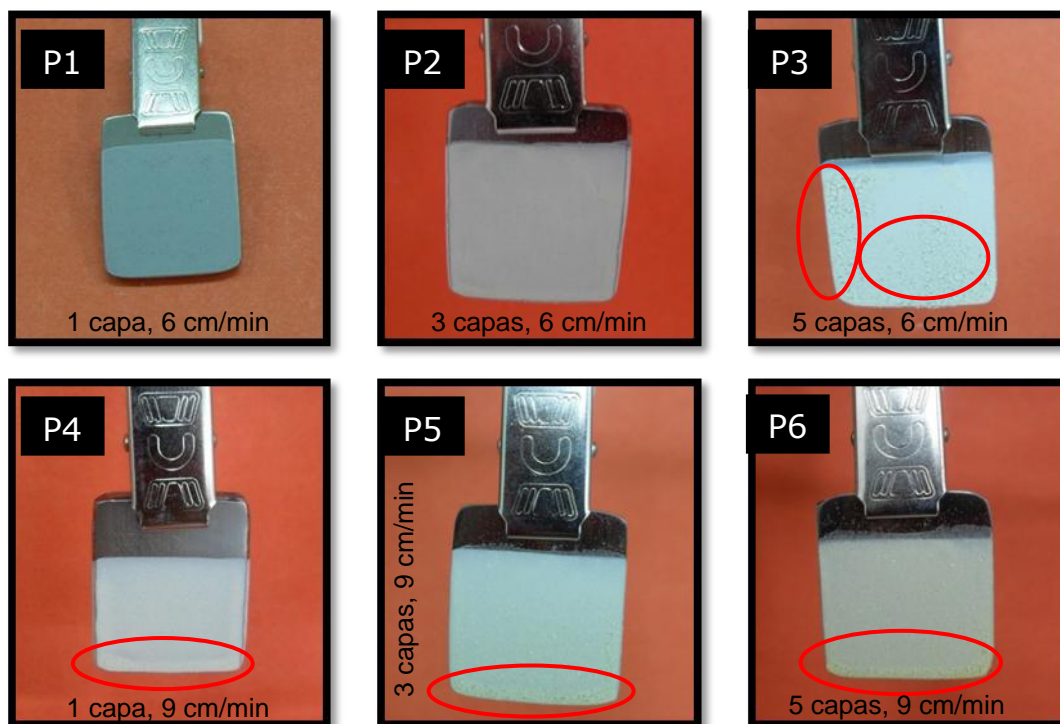
BALAMURUGAN y colaboradores [5] en su investigación obtuvieron HA, TiO₂, y adicional a esto, TCP (Tri Calcium Phosphate) como una descomposición parcial de la Hidroxiapatita.

4.2. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS HA/TiO₂ DESARROLLADAS BAJO DIFERENTES CONDICIONES

En la *Figura 22* se presentan las fotografías de los sustratos recubiertos con el sol de HA/TiO₂ bajo diferentes condiciones (*Ver Tabla 6*) y secados al ambiente. En ellas se destacan algunos defectos que denotan delaminación o desprendimiento película-sustrato, grietas y marcas de playa (efectos de borde típicos en el proceso sol-gel).

Las fotos muestran que las películas con mejor apariencia son las que tienen una sola capa depositada, ya que son más homogéneas; y la única película con tres capas que no presenta defectos es la P2; además en todos los casos en los que se recubrió el sustrato con 5 capas, se presentaron grietas y delaminación de la película.

Figura 22. Películas HA/TiO₂ en verde (antes de sinterización) obtenidas bajo diferentes condiciones experimentales.





En la tabla 9 se presentan los resultados de medición de la adherencia de los nueve tipos de películas desarrolladas.

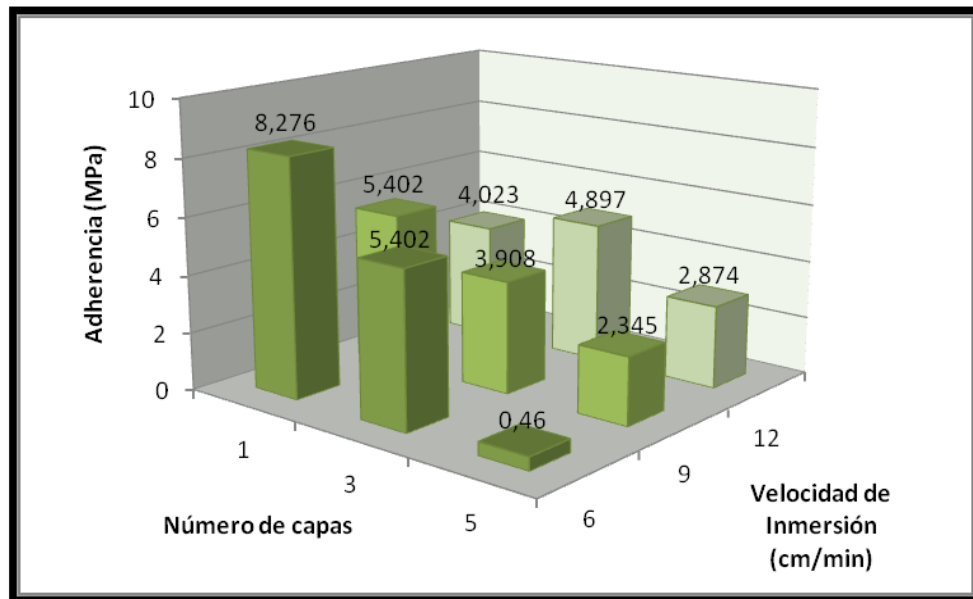
Tabla 9. Mediciones de adherencia.

RECUBRIMIENTO	MEDIDA 1 (MPa)	MEDIDA 2 (MPa)	MEDIDA 3 (MPa)	PROMEDIO (MPa)	DE*
P1	8,414	8,138	8,276	8,276	0,113
P2	4,138	5,517	6,552	5,402	0,989
P3	0	0	1,379	0,460	0,650
P4	6,069	4,483	5,655	5,402	0,672
P5	4,69	3,448	3,586	3,908	0,556
P6	2,345	2,759	1,931	2,345	0,338
P7	5,862	2,759	3,448	4,023	1,330
P8	6,069	5,862	2,759	4,897	1,514
P9	2,069	2,759	3,793	2,874	0,708

*Desviación estándar calculada en Excel.

Los valores promedios de adherencia de las películas se presentan graficados en la *Figura 23*. De aquí se puede inferir que el aumento del número de capas conlleva a una notable disminución de adherencia de las películas.

Figura 23. Variación de la adherencia dependiendo de la velocidad de inmersión y número de capas.



El recubrimiento de mayor adherencia fue el P1 obtenido con una sola capa y con la menor velocidad de inmersión-extracción (6 cm/min). Los niveles bajos de estas dos variables implican la formación de una película delgada.

Estos resultados se justifican con la influencia que tuvo la velocidad de inmersión-extracción sobre el espesor de la película. De acuerdo a la ecuación propuesta por Landau y Levich ^[36]:

$$h = 0,94(\eta U)\gamma^{-1/6}(\rho g)^{1/2}$$

Donde:

h: espesor

γ : Tensión superficial

η : Viscosidad del líquido

ρ : Densidad del líquido

U: Velocidad de inmersión-extracción

g: Fuerza de gravedad

El espesor de una película obtenida por la técnica dip-coating es directamente proporcional a la velocidad con la que se retira el sustrato; a mayor velocidad de inmersión-extracción, mayor cantidad de masa depositada ^[37], lo cual se

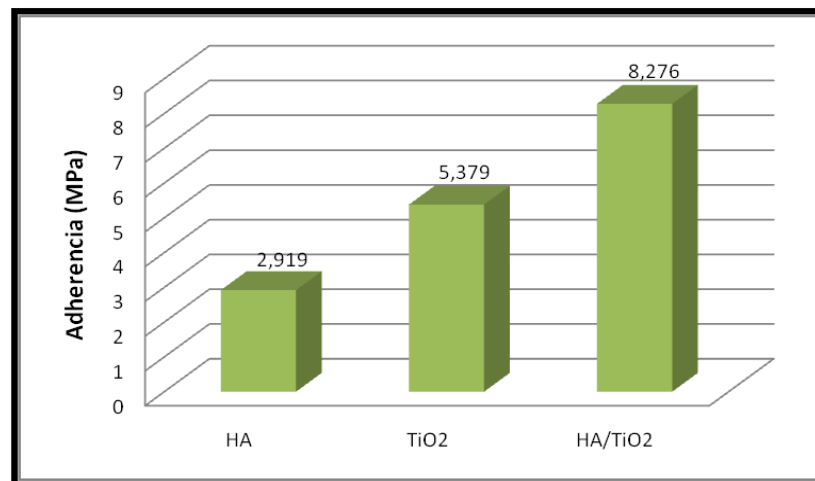
demuestra con los resultados de espesor, en donde se ve que al aumentar la velocidad de inmersión-extracción se incrementa el espesor.

Para poder establecer un patrón de comparación con las películas de HA y TiO₂ por separado, se obtuvieron tales recubrimientos (a partir de sus soles correspondientes) bajo las mismas condiciones de preparación de la película HA/TiO₂ (1 capa y V_{inmersión} de 6 cm/min). Las medidas de adherencia de tales recubrimientos se presentan en la *Tabla 10* y *Figura 24*.

Tabla10. Mediciones de adherencia de HA y TiO₂

RECUBRIMIENTO	MEDIDA 1 (MPa)	MEDIDA 2 (MPa)	MEDIDA 3 (MPa)	PROMEDIO (MPa)	DE
TiO ₂	5,586	5,172	5,379	5,379	0,207
HA	2,689	2,965	3,103	2,919	0,211

Figura 24. Comparación de la adherencia de las películas.



La determinación del espesor de las películas se realizó en el microscopio Hirox mediante medidas de rugosidad media (Ra) a 280 aumentos, para lo cual se tomaron cuatro medidas; y posteriormente se calculó el promedio de las

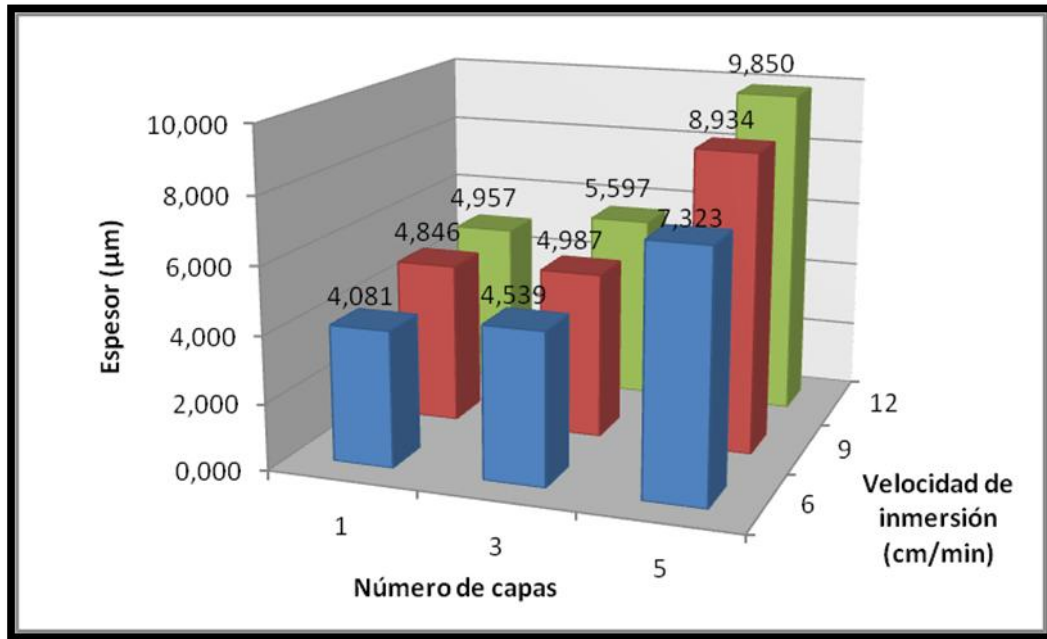
mediciones y la desviación estándar de cada tipo de recubrimiento. Dichos resultados se observan en la *Tabla 11* y la *Figura 25*.

Tabla 11. Espesor de las películas

PROBETA	MEDIDA 1 (μm)	MEDIDA 2 (μm)	MEDIDA 3 (μm)	MEDIDA 4 (μm)	PROMEDIO (μm)	DE
P1	4,429	4,267	4,526	3,100	4,081	0,662
P2	4,352	4,229	5,367	4,209	4,539	0,555
P3	7,271	6,003	8,385	7,633	7,323	0,995
P4	4,443	5,838	4,505	4,596	4,846	0,665
P5	4,161	4,469	5,673	5,645	4,987	0,786
P6	8,658	9,310	7,932	9,834	8,934	0,823
P7	4,231	5,189	4,932	5,474	4,957	0,532
P8	5,599	4,765	5,156	6,867	5,597	0,913
P9	9,962	9,807	9,859	9,770	9,850	0,083
TiO ₂	1,576	1,896	2,034	1,645	1,787	0,214
HA	8,856	7,239	8,329	9,231	8,413	0,866

Se observa que entre mayor sea el número de capas depositadas sobre el sustrato y la velocidad de inmersión usada para ello, se obtienen capas con un mayor espesor, tal como se había asumido anteriormente.

Figura 25. Cambio de espesor dependiendo del número de capas depositadas y de la velocidad de inmersión utilizada.



Cabe resaltar que si se aumenta el número de capas y la velocidad de inmersión, no sólo aumenta el espesor del recubrimiento; también aumenta la posibilidad de la existencia de grietas, poros, delaminación de la película y marcas de playa, tal como se vio en las fotografías de la *Figura 22*.

Teniendo en cuenta los anteriores resultados, se escogió la película “P1”, de 1 capa y velocidad de inmersión-extracción de 6 cm/min, como la más adecuada para continuar el estudio. Este recubrimiento presenta el mayor valor de adherencia (8,3 MPa) y menor espesor (4,081 µm), así como una superficie bastante homogénea.

Al comparar los valores de adherencia de las películas simples de HA y TiO₂ con el del recubrimiento mixto HA/TiO₂, queda en evidencia la baja adherencia de la película de HA (2,9 MPa). El recubrimiento de TiO₂ casi duplica dicho valor (5,4 MPa), por su parte al reforzar el recubrimiento de HA con TiO₂ casi se triplica su

adherencia (8,3 MPa). Por tanto, queda comprobado de esta forma la hipótesis planteada por BALAMURUGAN y colaboradores ^[5], es decir, que el TiO₂ actúa de manera efectiva como refuerzo de la hidroxiapatita.

Con el fin de analizar el efecto combinado de las dos variables (número de capas y velocidad de inmersión-extracción) sobre las variables respuesta (Adherencia y espesor) de las películas; y sabiendo que se tiene un diseño experimental 2² con repetición al centro, se usó el software Statgraphics Centurion. Con ayuda de este software se hizo un análisis de regresión multifactor para obtener una ecuación que relacione las variables y su efecto sobre la resistencia y el espesor. Para ello, se hicieron las regresiones por separado para el espesor y la adherencia, siendo éstas las variables dependientes; y las variables independientes: el número de capas y la velocidad de inmersión.

Las respuestas de las regresiones lineales múltiples, describen la relación entre el espesor y la adherencia (por separado) y las dos variables independientes, obteniendo las siguientes ecuaciones para describir los modelos con un 95% de confianza en ambos casos:

$$\begin{aligned} \text{ESPESOR} &= 0,394119 + 1,05815*\text{CAPAS} + 0,30158*\text{VELOCIDAD} \\ \text{ADHERENCIA} &= 8,64933 - 1,12063*\text{CAPAS} - 0,15325*\text{VELOCIDAD} \end{aligned}$$

Posteriormente se hizo el análisis del diseño experimental bajo los parámetros del software Statgraphics Centurion, obteniendo las Cartas de Pareto y el significado de los efectos estimados y las interacciones entre variables.

Primero se hizo el análisis de la adherencia (*Ver Figura 26*), en la que se observa un efecto negativo del número de capas y la velocidad de inmersión por separado, y un efecto positivo de dichas variables combinadas.

En el gráfico del significado del efecto de la adherencia (Ver Figura 27), se aprecia que al aumentar el número de capas y la velocidad de inmersión hay una notoria disminución en la magnitud de la adherencia del recubrimiento.

Figura 26. Carta de Pareto para la adherencia.

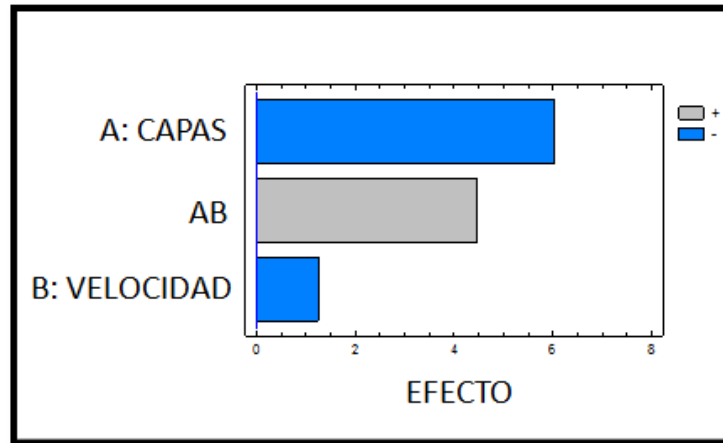
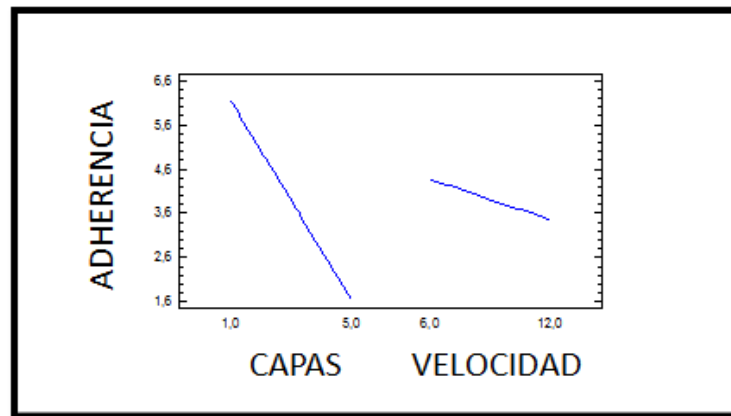


Figura 27. Diagrama del efecto de la adherencia.



Luego se hizo el análisis del espesor (Ver Figura 28), en la que se observa un efecto positivo del número de capas y de la velocidad de inmersión por separado, e igualmente un efecto positivo de dichas variables combinadas.

En el gráfico del significado del efecto del espesor (Ver Figura 29), se aprecia que al aumentar el número de capas y la velocidad de inmersión hay un incremento en la magnitud del espesor del recubrimiento.

Figura 28. Carta de Pareto para el espesor.

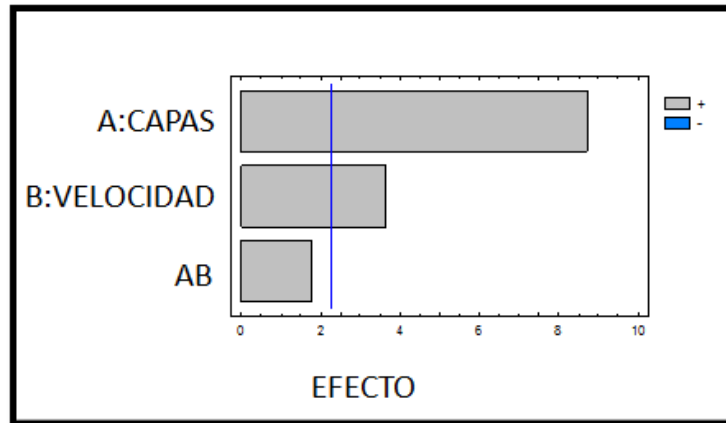
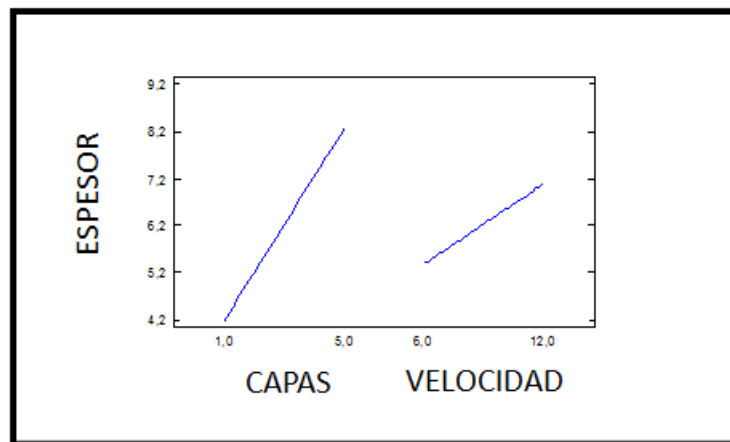


Figura 29. Diagrama del efecto del espesor.



De acuerdo con las Cartas de Pareto y los diagramas de efectos se concluye que:

- Las dos variables evaluadas: número de capas y velocidad de inmersión-extracción tienen un efecto importante sobre el espesor y la adherencia mecánica de las películas. Dicho efecto es positivo para el espesor; es decir, al aumentar el número de capas o la velocidad de inmersión extracción aumenta el grosor de las películas. El efecto contrario se tiene para la adherencia.

- En ambos casos (espesor y adherencia) es mucho mayor el efecto de la variable número de capas que el de la velocidad de inmersión-extracción.
- Por su parte, la combinación de las variables (velocidad y número de capas) tiene efecto positivo para las dos variables respuesta (espesor y adherencia). Es decir, que con el aumento simultáneo del número de capas y de la velocidad, la adherencia y el espesor son mayores que si se aumentara solamente el número de capas y de la velocidad; siendo más importante este efecto para la adherencia.

Con ayuda del analizador de imágenes del microscopio óptico Hirox se determinó la naturaleza de la falla en cada recubrimiento. En las *Figuras 30 a 39* se presentan las microfotografías de la superficie de las probetas luego del ensayo de adhesión; en ellas las zonas delimitadas por una línea roja significan falla adhesiva. Basados en las imágenes y en el porcentaje de falla adhesiva calculado para cada una, se determinó también el porcentaje de falla cohesiva. Los resultados de este estudio se resumen en la *Tabla 12* que se aprecia a continuación.

Tabla 12. Naturaleza de la falla en los ensayos de adherencia.

RECUBRIMIENTO	ADHERENCIA PROMEDIO (MPa)	%ROTURA ADHESIVA	%ROTURA COHESIVA
P1	8,276	11,7	88,3
P2	5,402	16,6	83,4
P3	0,460	2,6	97,4
P4	5,402	49,4	50,6
P5	3,908	10,5	89,5
P6	2,345	46,4	53,6
P7	4,023	52,7	47,3
P8	4,897	33,2	66,8
P9	2,874	-	100
HA	2,919	100	-
TiO ₂	5,379	-	100

Para el recubrimiento P1 se presentó un 11,7% de rotura adhesiva, que se resalta en la *Figura 30*. En el caso del recubrimiento P2, la falla adhesiva aumentó a un 16,6%, esto se observa en la *Figura 31*, ya que se aprecian zonas oscuras en las que la delaminación de la película fue total dejando al descubierto el sustrato. En el caso del recubrimiento P3 la falla adhesiva es muy pequeña (2,6%), *Figura 32*. Para el recubrimiento P4 se presentó un considerable aumento en el porcentaje de rotura adhesiva hasta un 49,4%. La zona en la que ocurrió este tipo de falla es la que se encuentra entre los círculos resaltados en rojo (*Figura 33*), en donde se aprecia una delaminación de la capa después de realizar el ensayo de adherencia. Para los recubrimientos P5 y P6 se obtuvo un 10,5% y 46,4% de falla adhesiva (*Figura 34 y 35*). Y en el caso de los recubrimientos P7 y P8 se presentó 52,7% y 33,2% de rotura adhesiva (*Figura 36 y 37*). Las regiones en las que se presentó falla adhesiva se ven resaltadas en rojo. Por su parte, el recubrimiento P9 (*Figura 38*) sólo presentó falla cohesiva como se observa en la *Tabla 12*.

El alto valor de rotura cohesiva en todos los recubrimientos está relacionado con los defectos presentes en ellos, la falta de unión entre las capas del recubrimiento y, en general, con la heterogeneidad en el interior del recubrimiento [27].

Figura 30. Superficie de la probeta P1 a 20x, luego del ensayo de adherencia.

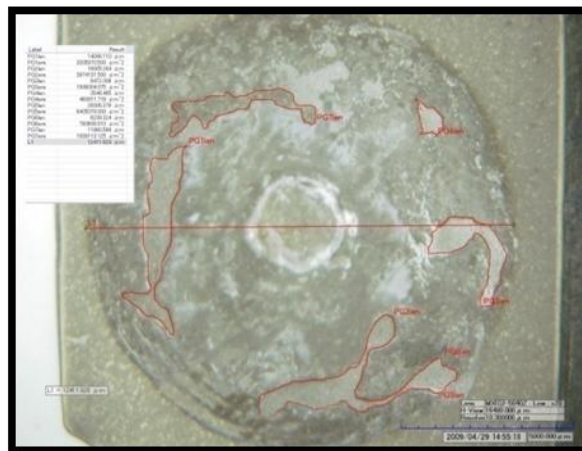


Figura 31. Superficie de la probeta P2 a 20x, luego del ensayo de adherencia

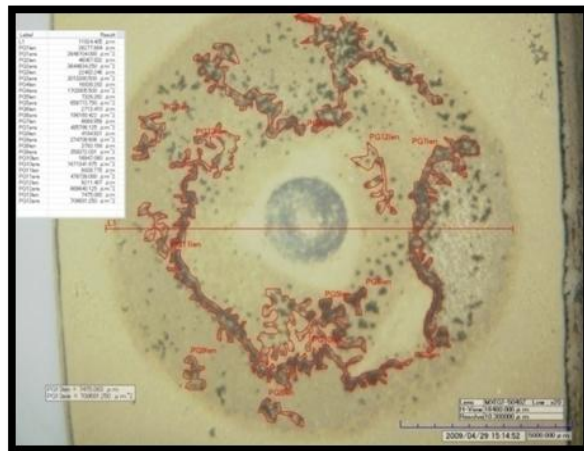


Figura 32. Superficie de la probeta P3 a 20x, luego del ensayo de adherencia.



Figura 33. Superficie de la probeta P4 a 20x, luego del ensayo de adherencia.

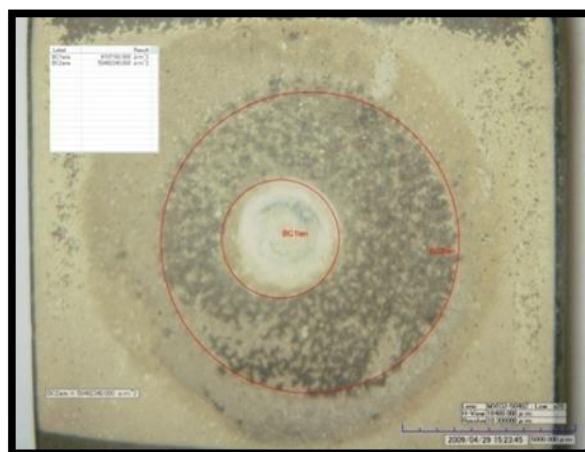


Figura 34. Superficie de la probeta P5 a 20x, luego del ensayo de adherencia.

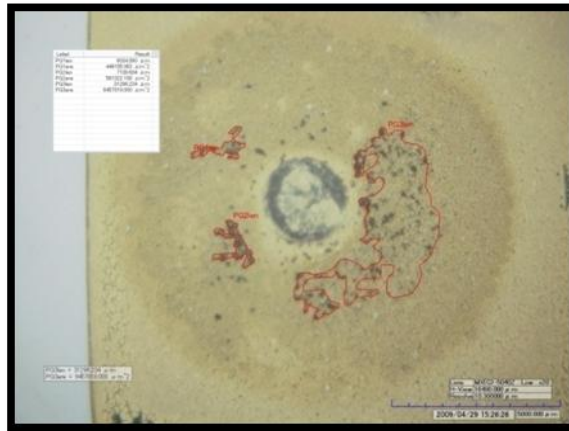


Figura 35. Superficie de la probeta P6 a 20x, luego del ensayo de adherencia.

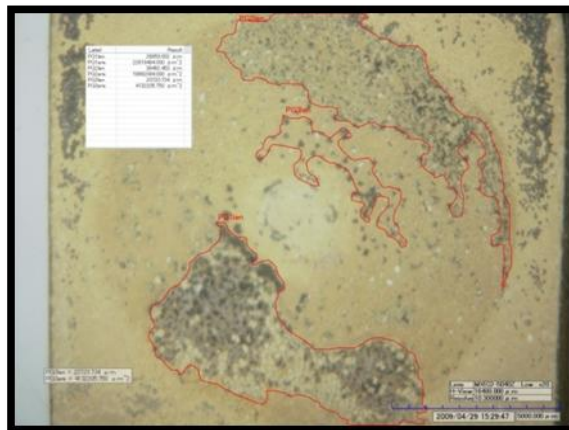


Figura 36. Superficie de la probeta P7 a 20x, luego del ensayo de adherencia.

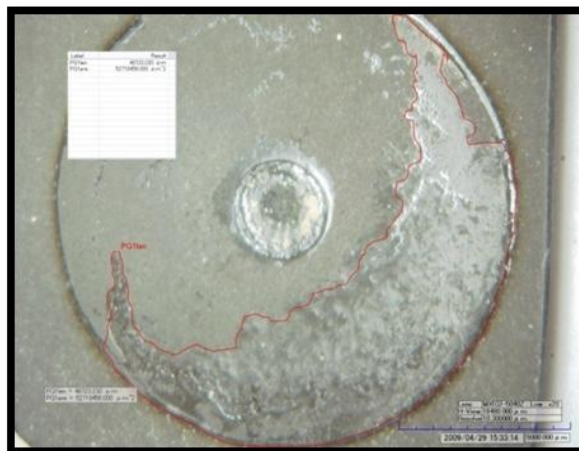


Figura 37. Superficie de la probeta P8 a 20x, luego del ensayo de adherencia.

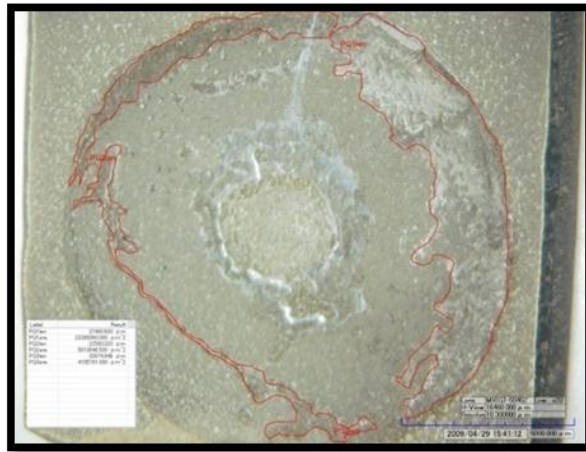
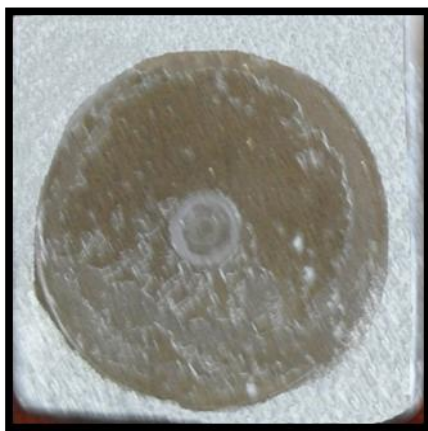


Figura 38. Superficie de la probeta P9 a 20x, luego del ensayo de adherencia.



Figura 39. Superficies de las probetas de HA (a) y TiO₂ (b) a 20x, luego del ensayo de adherencia.

a)



b)



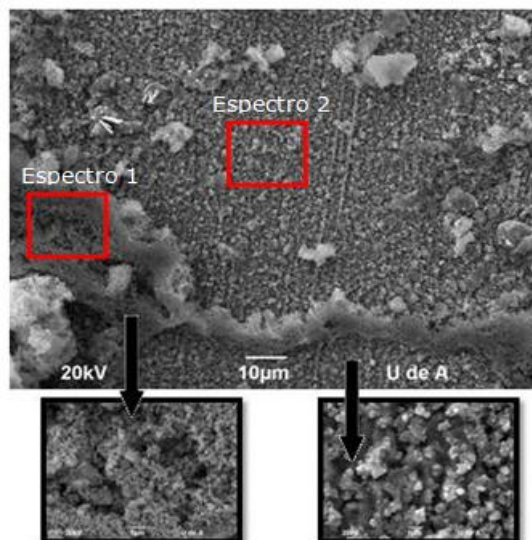
4.3. DETERMINACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE LOS RECUBRIMIENTOS

Como se mencionó en la metodología, con el estudio de bioactividad se pretendía determinar el carácter bioactivo o no del recubrimiento de HA reforzado con TiO_2 . Para tal fin las probetas recubiertas con HA, TiO_2 y HA/ TiO_2 , antes y después de los ensayos de bioactividad, se analizaron morfológica y químicamente con las técnicas SEM y EDX; esto para identificar el posible crecimiento de apatitas. A continuación se describen tales resultados.

✓ SEMANA 0 (Antes de los ensayos de bioactividad)

En la *Figura 40* se muestra una micrografía de una probeta recubierta con HA. Se observa una película homogénea en su matriz (compuesta de gránulos de hidroxiapatita), acompañada de afloraciones en algunas zonas, las cuales presentan una textura mas porosa. Esta morfología de los cristales de hidroxiapatita ha sido encontrada por otros autores ^[5,13], siendo denominada por WANG y colaboradores ^[28] como de “coliflor”.

Figura 40. Micrografía de electrones secundarios de la muestra HA (S0H)



En la *Figura 41* se presentan los espectros EDX de las dos zonas antes mencionadas. Se identifica mayor cantidad de fosfatos sobre las afloraciones que sobre la matriz de la película. Las relaciones atómicas Ca/P se alejan un poco del valor teórico de la HA (1,67); siendo 1,53 para la matriz de la película (*Tabla 13*) y 1,44 para las afloraciones (*Ver Tabla 14*).

Los valores de Ca/P relativamente bajos se justifican por la presencia de fosfato de calcio (*Figura 21 b*), además de la fase cristalina de hidroxiapatita en la película, dado que dicho compuesto tiene una relación Ca/P de 1. Este tipo de resultados es comúnmente encontrado para este tipo de películas [5,13, 28].

Figura 41. Espectro EDX de la muestra HA (S0H)

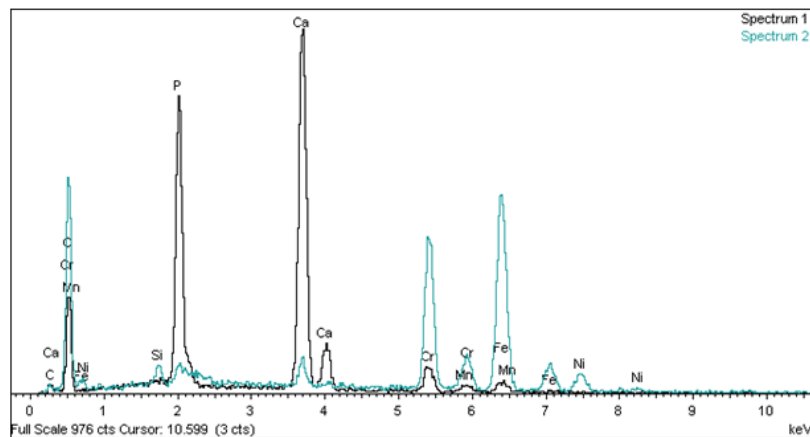


Tabla 13. Espectro 2 HA (S0H). Matriz de la película

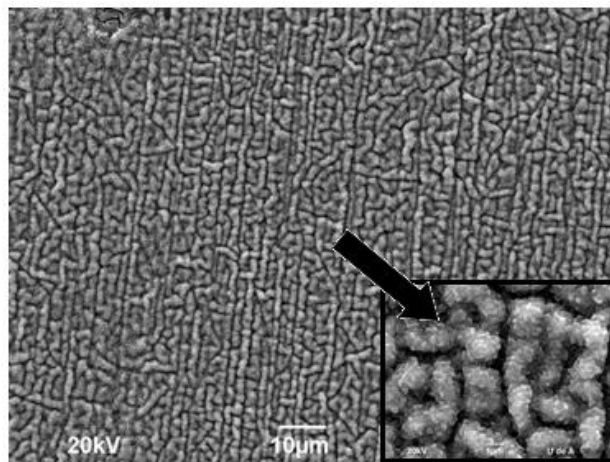
Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	1.72	0.4705	2.68	7.21
O K	44.99	1.3870	23.78	47.99
Si K	1.17	0.6888	1.25	1.43
P K	1.34	1.0956	0.89	0.93
Ca K	2.68	1.1166	1.76	1.42
Cr K	29.00	1.0089	21.07	13.08
Mn K	2.96	0.9195	2.36	1.39
Fe K	50.04	0.9027	40.62	23.48
Ni K	6.60	0.8662	5.59	3.07
Totals			100.00	

Tabla 14. Espectro 1 HA (S0H). Afloración sobre la película.

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	1.77	0.3872	3.66	7.10
O K	21.11	0.4200	40.13	58.44
P K	28.25	1.3332	16.92	12.73
Ca K	40.18	1.0144	31.63	18.39
Cr K	4.62	0.8053	4.58	2.05
Mn K	0.76	0.8002	0.76	0.32
Fe K	2.38	0.8171	2.33	0.97
Totals			100.00	

La película de TiO_2 (Figura 42) es bastante homogénea, compuesta de aglomerados en forma de “fríjoles” ubicados de tal manera que permiten ver la dirección (vertical) de escurrimiento del sol. Morfologías similares a éstas han sido reportadas por otros autores [5, 13].

Figura 42. Micrografía de electrones secundarios de la muestra TiO_2 (S0T)



Por su parte, la micrografía del recubrimiento mixto HA/ TiO_2 (Figura 43) evidencia una morfología compuesta por una matriz principalmente de TiO_2 , acompañada de menor cantidad de partículas de hidroxiapatita; tal matriz parece ser menos porosa que la del recubrimiento de TiO_2 (Figura 42), es decir, aquí hay un mejor empaquetamiento de los gránulos de TiO_2 por la presencia de HA. Al igual que en los recubrimientos de Hidroxiapatita, se observa presencia de afloramientos de

ésta sobre la superficie. El espectro EDX de la matriz de la película (*Figura 44 y Tabla 15*) señalan que la fase mayoritaria en ésta es TiO_2 , mientras que la concentración de HA es tan baja que no se alcanza a cuantificar las concentraciones de Ca y P en ella.

En este sentido, habría que decir que la película compuesta desarrollada es realmente de TiO_2 reforzada con HA y no lo contrario.

Mientras tanto, los afloramientos sobre la superficie están enriquecidos en Ca y P (*Tabla 16*); se encuentra que las relaciones P/Ti y Ca/Ti son de 2,84 y 3,80. Nuevamente, la relación Ca/P es menor (1,34) a la de la HA (1,67), lo cual concuerda con el difractograma correspondiente a esta película (*Figura 21 c*), es decir, no sólo hay formación de HA, si no también de fosfato de calcio, el cual tiene una relación atómica Ca/P=1.

Figura 43. Micrografía de electrones secundarios de la muestra HA/TiO₂ (S0HT)

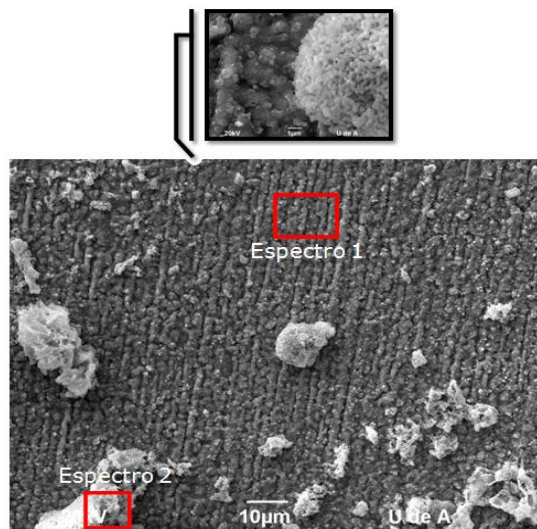


Figura 44. Espectro EDX de la muestra HA/TiO₂ (S0HT)

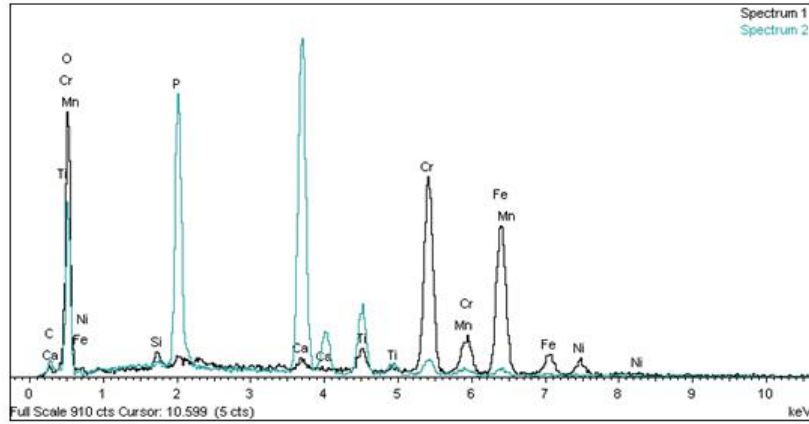


Tabla 15. ESPECTRO 1 HA/TiO₂ (S0HT)

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	1.84	0.5156	2.70	6.79
O K	52.88	1.3870	28.86	54.42
Si K	0.85	0.7040	0.91	0.98
Ti K	2.94	0.9993	2.22	1.40
Cr K	34.49	0.9763	26.74	15.52
Mn K	2.64	0.9093	2.19	1.20
Fe K	36.84	0.8822	31.60	17.07
Ni K	4.65	0.8628	4.08	2.09
Totals			100.00	

Tabla 16. ESPECTRO 2 HA/TiO₂ (S0HT)

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	2.03	0.4391	2.98	5.40
O K	35.60	0.4583	50.13	68.22
P K	26.68	1.3143	13.11	9.21
Ca K	35.89	1.0227	22.65	12.30
Ti K	8.71	0.7886	7.13	3.24
Cr K	2.72	0.8006	2.20	0.92
Mn K	0.79	0.7958	0.64	0.25
Fe K	1.48	0.8153	1.17	0.46
Totals			100.00	

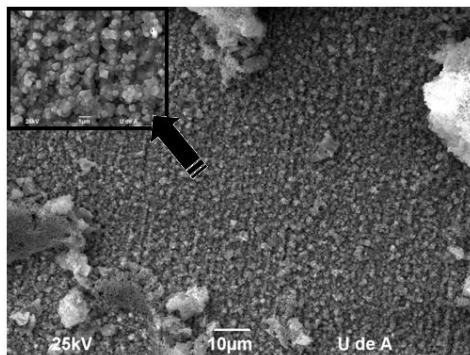
✓ SEMANA 1 (Probetas luego de una semana de inmersión en SBF)

Las micrografías para los tres recubrimientos (HA, TiO_2 y HA/TiO_2) (Ver Figura 45) no evidencian cambios relevantes con relación a la morfología de los mismos antes de su inmersión en SBF. No obstante, los microanálisis EDX llevados a cabo en la probeta con recubrimiento de HA/TiO_2 señalan la formación de algún tipo de apatita sobre éste.

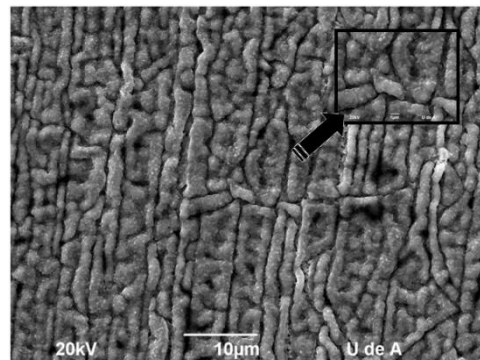
En este sentido, las relaciones P/Ti y Ca/Ti en la matriz de la película pasan de aproximadamente cero (Ver Tabla 14) a 0,63 y 0,75 respectivamente, con una relación Ca/P aproximadamente de 1,2 (Figura 46 y Tabla 17). De forma semejante, los afloramientos sobre la superficie también se han enriquecido en Ca y P, pasando de relaciones de P/Ti y Ca/Ti de 2,84 y 3,8 en el tiempo cero (Tabla 16), a 3,05 y 3,9 (Tabla 18) luego de una semana de inmersión en SBF, en esta zona la relación Ca/P disminuye de 1,34 (Tabla 16) a 1,20 (Tabla 17), lo cual refleja la precipitación de fosfato de calcio más que de HA.

Figura 45. Micrografía de electrones secundarios de las muestras S1H, S1T y S1HT

HA (S1H)



TiO₂ (S1T)



HA/TiO₂ (S1HT)

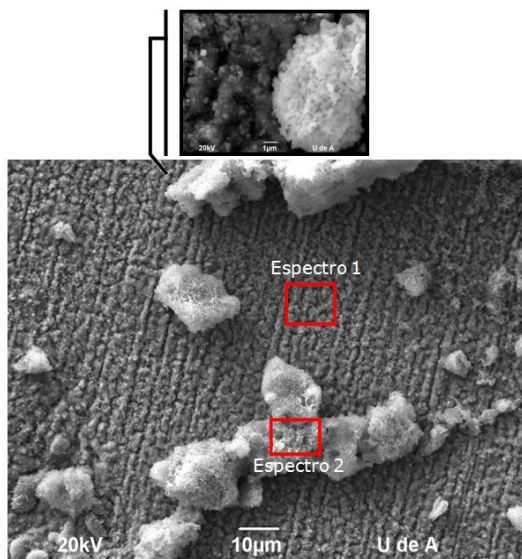


Figura 46. Espectro EDX de la muestra HA/TiO₂ (S1HT)

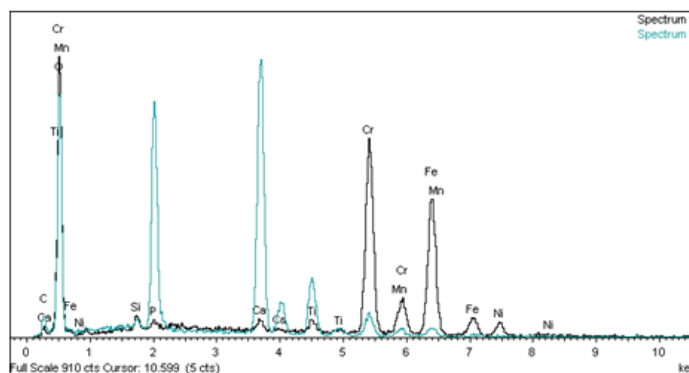


Tabla 17. ESPECTRO 1 HA/TiO₂ (S1HT)

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	1.83	0.5098	2.53	6.24
O K	62.82	1.4660	30.24	56.08
Si K	0.91	0.7076	0.91	0.96
P K	0.77	1.1205	0.49	0.46
Ca K	1.19	1.1196	0.75	0.55
Ti K	1.66	0.9986	1.17	0.73
Cr K	38.12	0.9735	27.62	15.76
Mn K	3.05	0.9080	2.37	1.28
Fe K	37.48	0.8790	30.08	15.98
Ni K	4.70	0.8615	3.85	1.95
Totals			100.00	

Tabla 18. ESPECTRO 2 HA/TiO₂ (S1HT)

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	4.27	0.4777	4.78	8.10
O K	57.98	0.5506	56.30	71.63
P K	25.99	1.2957	10.73	7.05
Ca K	33.78	1.0179	17.75	9.01
Ti K	8.09	0.7973	5.43	2.31
Cr K	4.21	0.8051	2.80	1.10
Mn K	1.17	0.7967	0.78	0.29
Fe K	2.19	0.8129	1.44	0.52
Totals			100.00	

✓ SEMANA 2 (Probetas luego de dos semanas de inmersión en SBF)

Al igual que en la semana 1; después de dos semanas de inmersión en SBF, las películas de HA y TiO₂ puras no revelan cambios importantes en su morfología y composición. En el primer caso porque las apatitas o fosfatos tienen composición y morfología semejante a la de la matriz de la película (Ver Figura 47, 49 b y Tabla 19).

Por su parte, la película de TiO₂ (Figura 48 y 49 a y Tabla 20) permanece inalterada a pesar de la inmersión en SBF, con lo cual se corrobora lo expuesto por algunos autores ^[3,38], en el sentido de que la fase rutilo no es bioactiva.

Figura 47. Micrografía de electrones secundarios y Espectro EDX de la muestra HA (S2H)

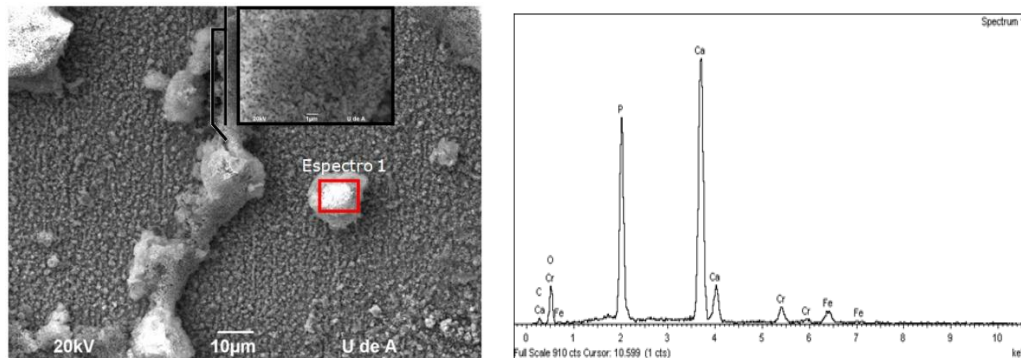
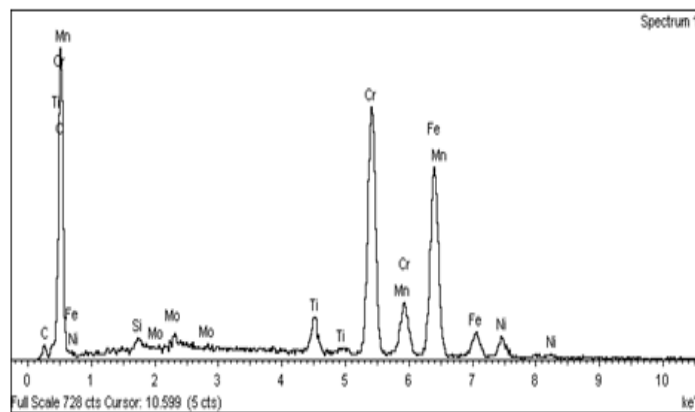
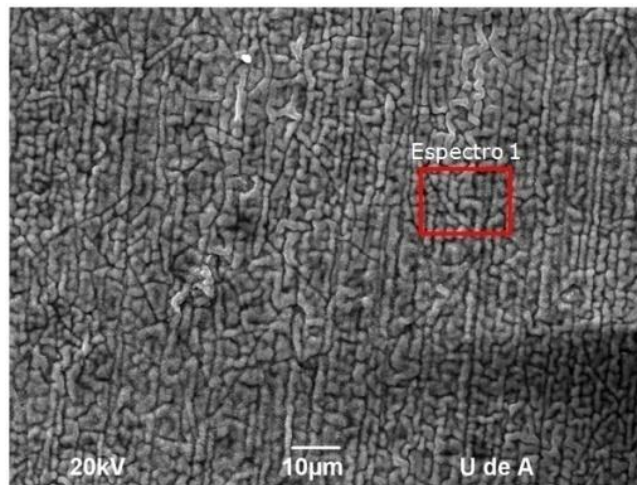


Tabla 19. ESPECTRO 1 HA (S2H)

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	1.17	0.3602	3.78	8.09
O K	8.83	0.3550	29.05	46.65
P K	22.61	1.3499	19.55	16.22
Ca K	33.71	1.0206	38.54	24.71
Cr K	3.03	0.8063	4.39	2.17
Fe K	3.30	0.8218	4.69	2.16
Totals			100.00	

Figura 48. Micrografía de electrones secundarios y Espectro EDX de la muestra TiO₂(S2T)



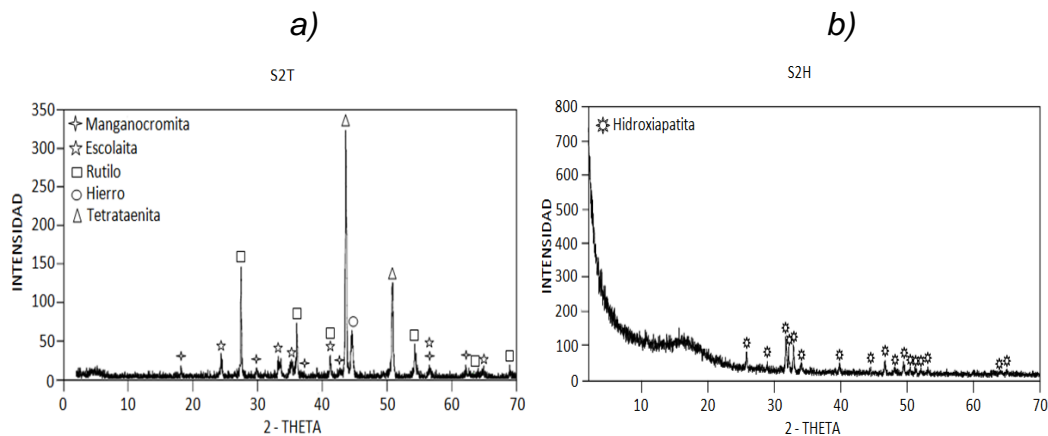
Caso diferente ocurre con la película compuesta HA/TiO₂, al comparar la morfología y composición química por EDX de la muestra (*Figuras 50 y 51 y Tablas 21 y 22*) con las de la película antes de su inmersión en SBF (*Figuras 43 y*

44 y Tablas 15 y 16), es evidente la formación de apatitas sobre la película mixta. La textura del recubrimiento es altamente porosa (tal como se aprecia en la zona aumentada de la *Figura 50*), lo cual es típico de las apatitas crecidas durante los ensayos in vitro en SBF [5]. De acuerdo con el espectro EDX de la película, las relaciones P/Ti y Ca/Ti pasan de cero (antes de la inmersión en SBF) a 1,92 y 2,54 respectivamente, luego de dos semanas de inmersión; lo cual no deja lugar a dudas del crecimiento de apatitas.

Tabla 20. ESPECTRO 1 TiO₂ (S2T)

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	2.84	0.5120	3.84	9.52
O K	54.94	1.3299	28.53	53.19
Si K	0.47	0.7088	0.46	0.48
Ti K	3.63	0.9983	2.51	1.57
Cr K	37.89	0.9721	26.92	15.44
Mn K	3.35	0.9089	2.55	1.38
Fe K	38.08	0.8817	29.84	15.93
Ni K	5.16	0.8643	4.12	2.09
Mo L	1.37	0.7684	1.23	0.38
Totals			100.00	

Figura 49. Difractogramas después de Bioactividad de S2T, S2H y S2HT.



c)

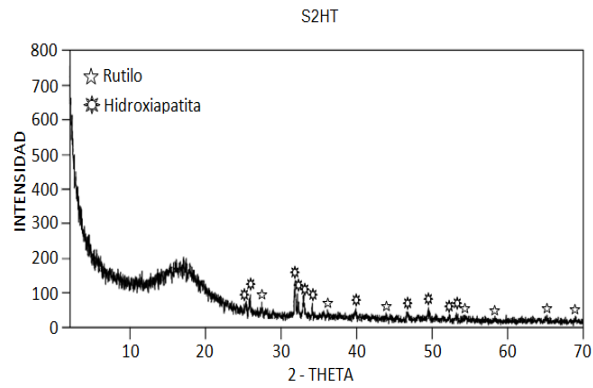


Figura 50. Micrografía de electrones secundarios de la muestra HA/TiO₂ (S2HT)

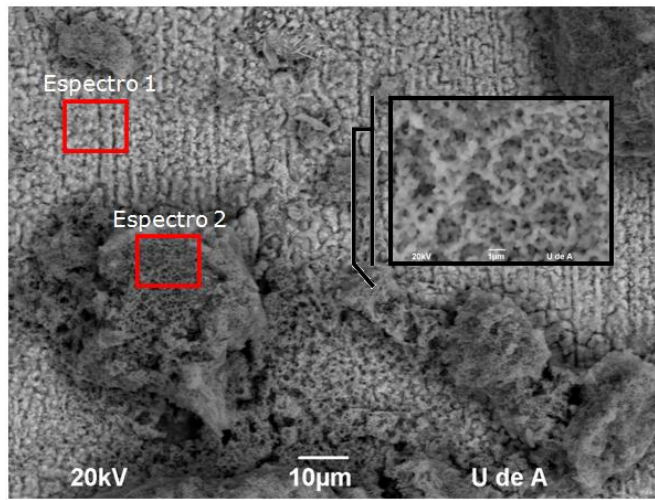
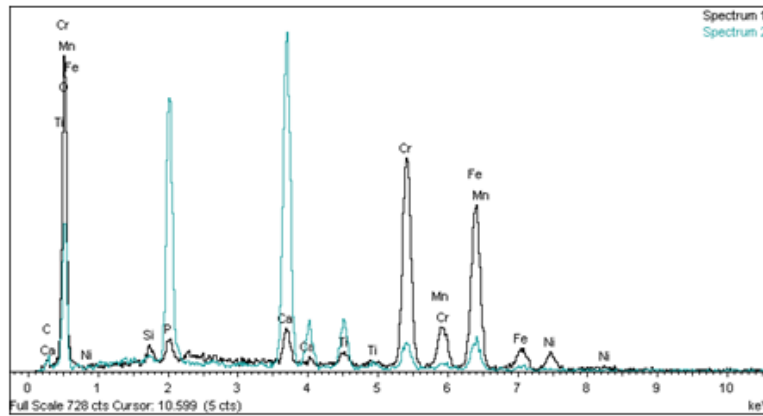


Figura 51. Espectro EDX de la muestra HA/TiO₂ (S2HT)



De acuerdo con el Difractograma de esta muestra (*Figura 49 c*), la composición del compuesto formado sería hidroxiapatita.

Tabla 21. ESPECTRO 1 HA/TiO₂ (S2HT)

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	1.32	0.4985	2.13	5.23
O K	52.35	1.3681	30.70	56.76
Si K	0.76	0.7112	0.85	0.90
P K	1.77	1.1250	1.26	1.21
Ca K	3.01	1.1133	2.17	1.60
Ti K	1.24	0.9830	1.01	0.63
Cr K	30.52	0.9681	25.29	14.39
Mn K	3.32	0.9042	2.95	1.59
Fe K	32.42	0.8799	29.56	15.65
Ni K	4.37	0.8613	4.07	2.05
Totals			100.00	

Tabla 22. ESPECTRO 2 HA/TiO₂ (S2HT)

Element	App	Intensity	Weight%	Atomic%
C K	1.39	0.4156	2.79	5.31
O K	25.64	0.4750	45.13	64.55
P K	21.73	1.3022	13.95	10.31
Ca K	28.49	1.0262	23.21	13.25
Ti K	4.86	0.7963	5.10	2.44
Cr K	3.77	0.8170	3.86	1.70
Fe K	5.87	0.8227	5.97	2.45
Totals			100.00	

En todos los espectros EDX presentados anteriormente los elementos Fe, C, Cr, Mn, Ni, Si y Mo corresponden al sustrato de acero inoxidable 316L.

Los anteriores resultados vendrían a comprobar la hipótesis de MONTENERO y FATHI ^[17 y 4], en el sentido de que la fase rutilo en principio no bioactiva, se comporta como un material bioactivo al estar combinada con HA.

4.4. CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS RECUBRIMIENTOS

Para la caracterización electroquímica se llevaron a cabo las pruebas de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS), curvas de polarización anódica (Tafel) y Resistencia a la polarización lineal (RPL) a las probetas recubiertas con HA, TiO₂ e HA/TiO₂ antes y después de la inmersión en SBF en una celda electroquímica conectada a un Potenciostato/Galvanostato GAMRY 600. De acuerdo a los resultados mostrados en la *Tabla 23*, se debe hablar de velocidad de degradación ó deterioro del recubrimiento; ya que como ninguna de las I_{corr} halladas supera 1 ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$) no podría tratarse en términos de corrosión.

Tabla 23. Resultados de los ensayos electroquímicos por medio de curvas de polarización y RPL

MUESTRA	I_{corr} (μA)	V_{corr} (mpy)	Rp (Ohm-cm)
S0H	1,05E-07	1,23426E-03	137900
S0T	4,01E-07	4,71372E-03	51010
S0HT	2,02E-07	2,37449E-03	101200
S2H	3,17E-07	3,7263E-03	54950
S2T	4,05E-07	4,76074E-03	43530
S2HT	4,62E-07	5,43076E-03	46050

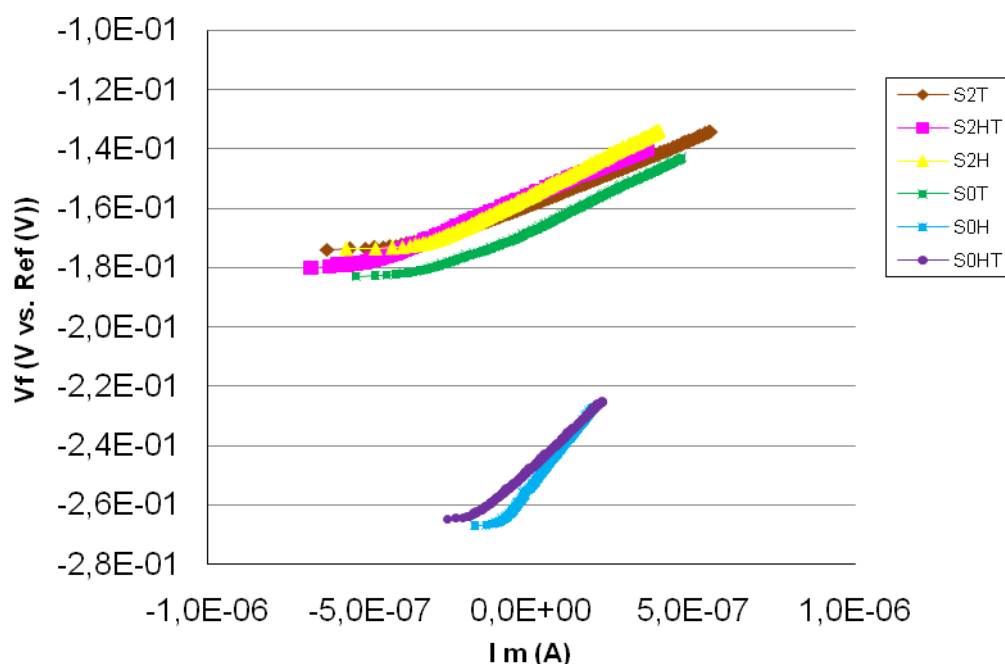
En la *Figura 52* que se muestra a continuación, se hace una descripción cuantitativa del aumento de la resistencia a la polarización del recubrimiento en función de la resistencia óhmica ofrecida por el medio (SBF). En ella se observa con mayor claridad que las probetas S0H y S0HT están más protegidas, ya que tienen un potencial más negativo; y que las probetas S0T, S2H, S2T y S2HT; son más activas, esto no quiere decir que se corroan más fácilmente, si no que tienen un mayor grado de bioactividad frente a las primeras. Lo anterior se explica, recordando que los valores de resistencia a la polarización lineal son inversamente proporcionales a las velocidades de corrosión.

Se puede decir que el recubrimiento obtenido con Hidroxiapatita sin permanencia en SBF presentó mayor resistencia a la polarización, esta fue comparable al adicionar TiO₂ a la Hidroxiapatita. Sin embargo, disminuyó a menos de la mitad

con dos semanas de tiempo de permanencia en solución de SBF, debido posiblemente a reacciones de disolución del recubrimiento.

Los recubrimientos obtenidos con TiO_2 presentaron valores de resistencia a la polarización más bajos que los anteriores; sin embargo, a las 2 semanas de permanencia en SBF la disolución fue más baja comparada con los recubrimientos de HA.

Figura 52. Curvas de Resistencia a la polarización

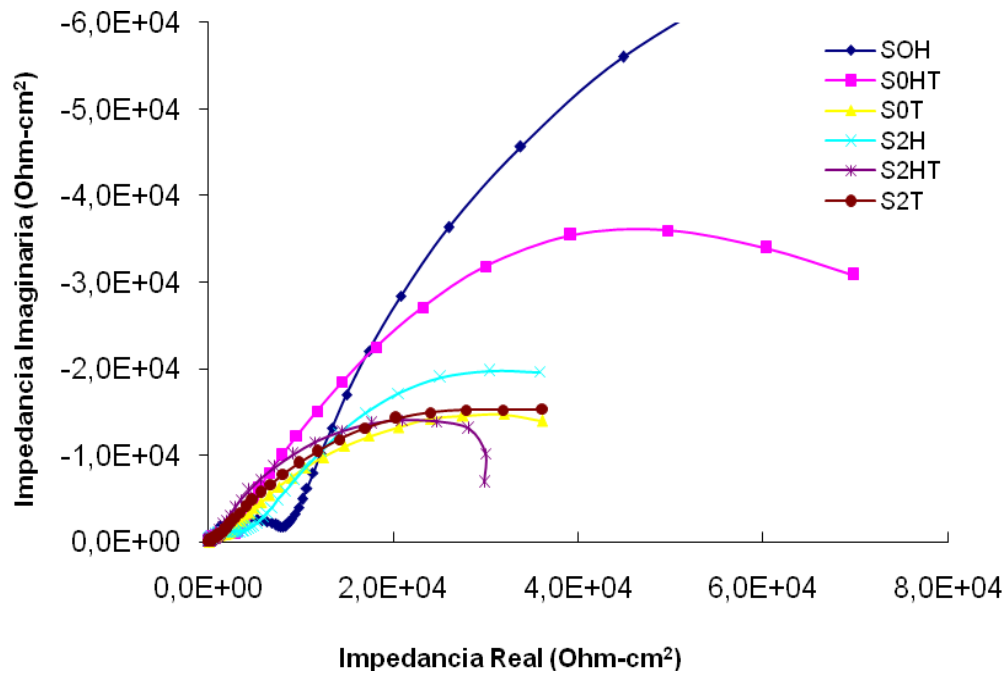


De los ensayos de espectroscopía de Impedancia electroquímica (EIS), se registraron los Diagramas de Nyquist que se muestran a continuación en la *Figura 53*, en las que se observa claramente la presencia de dos constantes de tiempo, representados con dos semicírculos.

Los semicírculos pequeños (a altas frecuencias) ofrecen información sobre los procesos que se llevan a cabo en la doble capa electroquímica entre el electrolito y el recubrimiento, y los semicírculos grandes (a bajas frecuencias) lo referente a los procesos en la doble capa electroquímica entre el recubrimiento y el metal. De

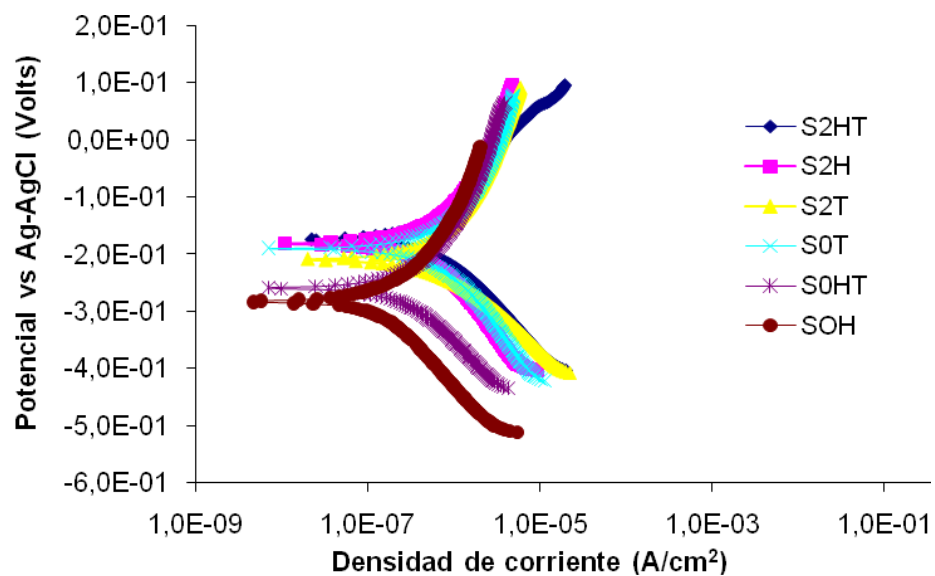
aquí se puede inferir que las probetas con resistencia a la polarización lineal mayores presentarán un menor deterioro que las otras; es decir, que en el caso de las probetas sin permanencia en SBF excepto S0T, se degradarán más lentamente que las que permanecieron por dos semanas en plasma simulado.

Figura 53. Diagramas de Nyquist



De las curvas de polarización anódicas o Curvas Tafel que se muestran en la *Figura 54 y Tabla 23*, se observa que por efectos de bioactividad, los potenciales de corrosión se vuelven más positivos ó más nobles y que antes de su inmersión en SBF tienen menores velocidades de degradación que las que se mantuvieron sumergidas en suero fisiológico por un período de dos semanas, sin presentar valores alejados tal como se registró en los resultados presentados. Todas presentan corrientes de corrosión muy bajas lo cual es un buen indicio de su alta resistencia a la corrosión.

Figura 54. Curvas de Tafel



Las reacciones de la Hidroxiapatita con el suero fisiológico simulado (SBF) corresponden a un intercambio entre los iones hidroxilados de calcio con los iones de fosfato del SBF, presentando por este motivo una mayor disolución tal como se observó en los resultados de resistencia a la polarización.

5. CONCLUSIONES

- ❖ La precipitación acelerada de partículas de HA no hizo posible obtener soluciones coloidales (translúcidas) de hidroxiapatita a partir del precursor de fósforo usado ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), ya que el tamaño de las partículas no les permite mantenerse en suspensión.
- ❖ La mejor adherencia la exhibe el recubrimiento de HA/TiO₂ (8,276 MPa) realizado a 6 cm/min y con una sola capa. A las mismas condiciones la HA y el TiO₂ presentan una adherencia de 2,919 y 5,379 MPa respectivamente, por lo cual se concluye que en efecto, la HA mejora su adherencia notablemente cuando conforma un material compuesto junto con el TiO₂.
- ❖ Si se aumenta el número de capas y la velocidad de inmersión, no sólo aumenta el espesor del recubrimiento; también aumenta la posibilidad de la existencia de grietas, poros, delaminación de la película y marcas de playa.
- ❖ A pesar de que en esta investigación la fase rutilo no es bioactiva, al formar un material compuesto con la HA, toma un carácter bioactivo, creciendo sobre ella apatitas al estar inmersa en SBF.
- ❖ El comportamiento electroquímico de la capa reforzada evidencia una mayor resistencia a la corrosión en SBF que las capas de HA y TiO₂ por separado. Presenta una velocidad de degradación bastante baja, aunque su resistencia a la polarización disminuye después de su permanencia en SBF. Sin embargo, estos biomateriales son promisorias alternativas para la aplicación en implantes ortopédicos y dentales.
- ❖ Por medio del análisis de Difracción de Rayos X se confirmó que las fases existentes en las películas correspondían a las esperadas, estas son TiO₂, HA, HA/TiO₂ y pequeñas cantidades de fosfato de calcio.
- ❖ En casi todas las películas se presenta un mayor porcentaje de rotura cohesiva que adhesiva, esto debido a la alta heterogeneidad al interior del recubrimiento.

6. RECOMENDACIONES

- ✓ Llevar a cabo un estudio similar al realizado, pero utilizando otro precursor de fósforo que permita obtener una solución coloidal de hidroxiapatita tal como trietil fosfato.
- ✓ Realizar un estudio sobre el efecto de las fases de TiO_2 en el recubrimiento HA/ TiO_2 , para determinar qué relación de éstas (brookita, anatasa y rutilo) le concede al material mayor bioactividad y resistencia mecánica.
- ✓ Evaluar el efecto de la relación HA/ TiO_2 sobre las propiedades del material compuesto.
- ✓ Hacer ensayos electroquímicos con el acero 316L descubierto, y con el material compuesto depositado sobre él, para establecer un patrón de comparación en la mejoría o no de la resistencia a la corrosión con el recubrimiento reforzado HA/ TiO_2 .

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. SATRE, Roberto; SAN ROMÁN, Julio; DE AZA, Salvador. Biomateriales. Cytel. Capítulo 3.
- [2]. BRINKER, Jeffrey; SCHERER, George. Sol-Gel Science. Capítulo 13.
- [3]. BALAMURUGAN, A; KANNAN, S; RAJESWARI, S. Evaluation of TiO₂ coatings obtained using the sol-gel technique on surgical grade type 316L stainless steel in simulated body fluid. Materials letters 59 (2005) 3138-3143.
- [4]. FATHI, M; MOHAMMADI, A. Preparation and characterization of sol-gel bioactive glass coating for improvement of biocompatibility of human body implant. Materials Science and Engineering A 474 (2008) 128-133.
- [5]. BALAMURUGAN, A; BALOSSIER, G; KANNAN, S; MICHEL, J; RAJESWARI, S. In vitro biological, chemical and electrochemical evaluation of Titania reinforced Hidroxiapatita sol-gel coatings on surgical grade 316L SS. Material Science and Engineering C 27 (2007) 162-171.
- [6]. BALLARRE, Josefina; LÓPEZ, Damián A; SCHREINER, Wido; DURÁN, Alicia; CERÉ, Silvia. Protective hybrid sol-gel coatings containing bioactive particles on surgical grade stainless steel: Surface characterization. Applied Surface Science 253 (2007) 7260-7264.
- [7]. FATHI, M; ANIFI A. Evaluation and characterization of nanostructure hydroxyapatite powder prepared by simple sol-gel method. Materials Letters 61 (2007) 3978-3983.
- [8]. LÓPEZ, D; DURÁN, A; CERÉ, S. Caracterización superficial de acero inoxidable AISI 316L en contacto con solución fisiológica simulada. Congreso Conamet/SAM (2004).
- [9]. LONDOÑO, Marta; ECHAVARRÍA, Alejandro; DE LA CALLE, Francenith. Características cristaloquímicas de la Hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas.

- [10]. VANDIVER, Jennifer; PATEL, Nelesh; BONFIELD, William; ORTIZ, Christine. Nanoscale morphology of apatite precipitated onto synthetic hydroxyapatite from simulated body fluid.
- [11]. HELEBRANT, A; JONASOVA, L; SANDA, L. The influence of simulated body fluid composition on carbonated Hydroxyapatite formation. Institute of chemical Technology (2001).
- [12]. LOPEZ D.A; ROSERO N.C; BALLARRE J; DURÁN A; APARICIO M; CERÉ S. Multilayer Silica-methacrylate hybrid coatings prepared by sol-gel on stainless steel 316L: Electrochemical evaluation. *Surface & Coatings Technology* 202 (2008) 2194-2201.
- [13]. XU W; HU W.Y; LI M.H; MA Q.Q; P.D Hodgson; WEN C.E. Sol-gel derived Ha/TiO₂ double coatings on Ti scaffolds for orthopedic applications. *Transactions on Nonferrous Metals Society of China* 16 (2006) S 209-5216.
- [14]. LEGRAND-BUCEMA, C; MALIBERT, C; BACH, S. Elaboration and characterization of thin films of TiO₂ prepared by sol-gel process. *Thin solid films*. Vol. 418, No 2. pp. 79-84. (2002).
- [15]. MAZZOLI A., MORICONI G., FAVONI O., MONTENERO A., ALFIERI A. "Thin Films of Calcium Phosphate on Titanium Implants: Sol-Gel Route versus Pulsed Laser Deposition" 19th European Conference on Biomaterials (ESB 2005), Sorrento 11-15 Septiembre 2005.
- [16]. MELINI, Pedro. Síntesis de Hidroxiapatita para la fabricación de implantes de hueso. XXI Congreso Latinoamericano de estudiantes de Ingeniería Química COLAEIQ. Guatemala 16-20 de Julio de 2007.
- [17]. ALVARADO, Edna; VESGA, Bibiana. Síntesis de fotoánodos de tio₂ sobre vidrio conductor por el método de dip-coating y su evaluación en la remoción fotoelectroquímica de cobre en soluciones acuosas cianuradas. Tesis de Pregrado de la Universidad Industrial de Santander. (2008)
- [18]. VILLAMIZAR, Lorena; FUENTES, Andrea. Evaluación electroquímica del estado superficial de la aleación de Ti₆Al₄V y acero inoxidable 316L usadas como implantes temporales.

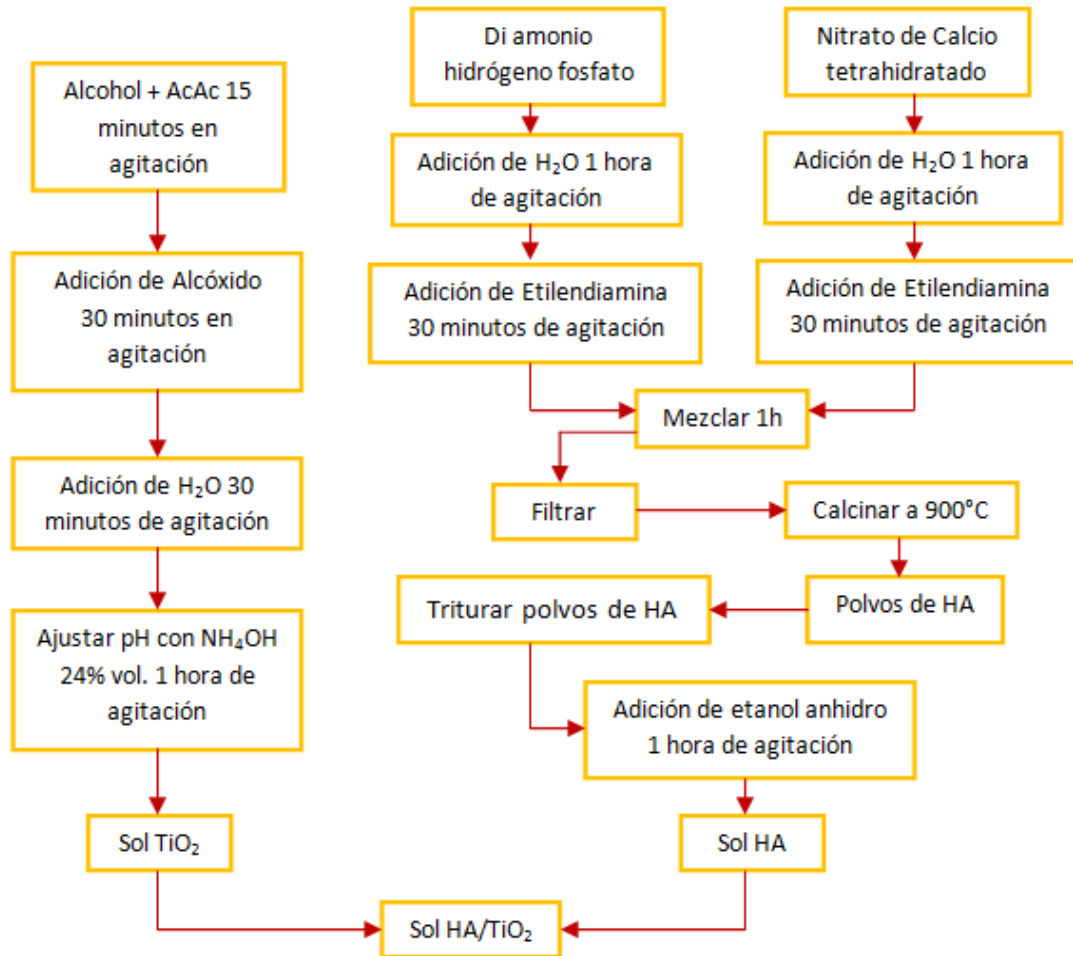
- [19]. DURÁN, Ana Lucía; RUEDA, Omar. Fabricación de películas delgadas por el método de sol-gel sobre acero inoxidable. Tesis de Pregrado de la Universidad Industrial de Santander.
- [20]. ZAMBRANO, Gerson; DELGADILLO, Juan. Evaluación de propiedades mecánicas y análisis de la biocompatibilidad de tubos de acero inoxidable 316L utilizados como dispositivos en cirugías cardiovasculares. Tesis de Pregrado de la Universidad Industrial de Santander.
- [21]. SUGIYAMA, Shigeru; FUKUTA, Kazuya; SOTOWA, Ken-Ichiro. Formation of Hydroxyapatite-layer on glass plate and its removal-regeneration properties for aqueous cadmium. *Journal of Colloid and Interface Science* (2006) 270-273.
- [22]. GUO, Linghong; LI, Hui. Fabrication and characterization of thin nano-hydroxyapatite coatings on titanium. *Surface and coatings technology* 185 (2004) 268-274.
- [23]. Standard test method for pull-off strength of coatings using portable adhesion testers. ASTM International D 4541-02.
- [24]. RAMIRES, A; CONSENTINO, F; MILELLA, E. In vitro response of primary rat osteoblasts to titania/hydroxyapatite coatings compared with transformed human osteoblasts like-cells. *Journal of materials science: Materials in medicine* 13 (2002) 797-801.
- [25]. MILELLA, E; CONSENTINO, F; LUCCIULLI, A. Preparation and characterization of titania/hydroxyapatite coatings obtained by sol-gel process. *Biomaterials* 22 (2001) 1425-1435.
- [26]. SU, Bing; ZHANG, G; WANG, C. Sol-Gel derived bioactive hydroxyapatite/titania composite films on Ti_6Al_4V . *Journal of university of science and technology Beijing*. 13-5 (2006) 469.
- [27]. OVIEDO, C. Desarrollo y caracterización de un recubrimiento con cerámica bioactiva para implantes dentales fabricados en Ti_6Al_4V . Tesis de Maestría. Universidad Industrial de Santander (Nov. 2008).

- [28]. WANG, Diangang; CHEN, Chuangzhong; HE, Ting; LEI, Tinguquan. Hydroxyapatite coating on Ti6Al4V alloy by a sol-gel method. *J Mater Sci: Mater Med* (2008) 19:2281-2286.
- [29]. ZHANG, Wenguang; WANG, Chengtao; LIU, Weimin. Characterization and tribological investigation of sol-gel ceramic films on Ti-6Al-4V. *Wear* 260 (2006) 379-386.
- [30]. MONTENERO, A; GNAPPI, G; FERRARI, F; CESARI, M. Sol-gel derived hydroxyapatite coatings on titanium substrate. *Journal of Materials Science* 35 (2000) 2791-2797.
- [31]. R. Satre; J. San Román; S. De Aza. *Biomateriales*. Faenza Editrice Iberica, Faenza, Italia. (2004) Capítulo 3.
- [32]. R.M. Martínez. Electrodeposición y evaluación electroquímica de recubrimientos compuestos de fosfatos de calcio/ chitosán sobre una aleación de Ti6Al4V - ASTM F 136, Tesis de Maestría, Universidad Industrial de Santander (2008).
- [33]. D.A. López; A. Durán; S. Ceré. Caracterización superficial de acero inoxidable AISI 316L en contacto con solución fisiológica simulada. *Memorias de CONGRESO CONAMET/SAM 2004, Mar del Plata* (2004).
- [34]. D.A. López; N.C. Rosero; J. Ballarre; A. Durán; M. Aparicio; S. Ceré. Multilayer Silica-methacrylate hybrid coatings prepared by sol-gel on stainless steel 316L: Electrochemical evaluation. *Surface & Coatings Technology* 202 (2008), 2194-2201.
- [35]. R. S. Sonawane, S. G. Hegde, M. K. Dongare. Preparation of titanium (IV) oxide thin film Photocatalyst by sol-gel dip coating, *Materials Chemistry and Physics*, 77 (2002) 744-750.
- [36]. CANDAL, Roberto; RODRÍGUEZ, Juan; COLÓN, Gerardo; GELOVER, Silvia; VIGIL, Elena; JIMENEZ, Antonio; BLESA, Miguel. Eliminación de contaminantes por fotocátalisis heterogénea. Usos de óxidos semiconductores y materiales relacionados para aplicaciones ambientales y ópticas. Cap. 7. Madrid: Editores M.A. Blesa; B. Sánchez. pp. 152. (2001).

- [37]. CANDAL, Roberto; ZELTNER, Walter; ANDERSON, Marc. Titanium-Supported Titania Photoelectrodes Made by Sol-Gel Processes. *Journal of Environmental Engineering*. Vol. 125, No 10. pp. 906-912. (1999).
- [38]. Bioceramics: applications of ceramic and glass materials in medicine. *Boletín de la sociedad Española de cerámica y vidrio* 46 N. 2 (2007).

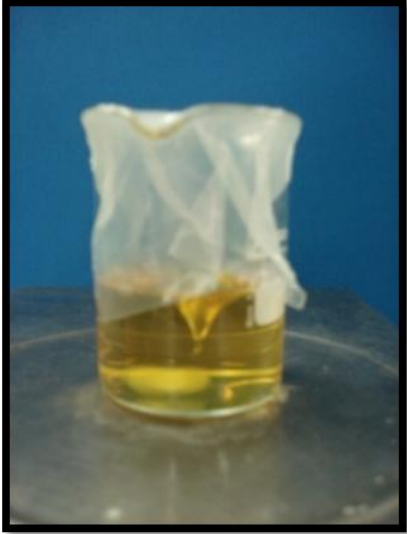
8. ANEXOS

ANEXO A. FABRICACIÓN DEL SOL COMPUESTO HA/TiO₂



ANEXO B. APARIENCIA DE LOS SOLES

Sol TiO₂



Sol HA



Sol HA/TiO₂



ANEXO C. MINERALES CORRESPONDIENTES AL DRX

MINERAL	COMPOSICIÓN QUÍMICA
Fosfato de calcio	$\text{Ca}_2 \text{P}_2 \text{O}_7$
Whitlockita	$\text{Ca}_3 (\text{PO}_4)_2$
Hidroxiapatita	$\text{Ca}_5 (\text{PO}_4)_3 (\text{OH})$
Tetrataenita	Fe Ni
Hierro	Fe
Manganocromita	$\text{Mn Cr}_2 \text{O}_4$
Eskolaita	$\text{Cr}_2 \text{O}_3$
Rutilo	Ti O_2
Hematita	$\text{Fe}_2 \text{O}_3$