

**COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO Y BIOACTIVO DE LA ALEACIÓN
Ti6Al4V RECUBIERTA CON QUITOSANO/BIOVIDRIO EN UN AMBIENTE DE
FLUIDO CORPORAL SIMULADO**

ELVIS MORELO HERRERA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES
BUCARAMANGA**

2015

**COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO Y BIOACTIVO DE LA ALEACION
Ti6Al4V RECUBIERTA CON QUITOSANO/BIOVIDRIO EN UN AMBIENTE DE
FLUIDO CORPORAL SIMULADO**

ELVIS MORELO HERRERA

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

Director

MSc. CUSTODIO VÁSQUEZ QUINTERO

Codirector

Ing. JHON HARRISON SIERRA URIBE

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES
BUCARAMANGA**

2015

DEDICATORIA

A Dios. Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para luchar incansablemente por mis objetivos, además de su infinita bondad y amor haciendo de mí un mejor hombre para la humanidad.

Para mi madre por su apoyo, consejos, comprensión, amor y por ayudarme con los recursos necesarios para cumplir esta meta. Me ha dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos y ha estado ahí incansablemente en todas las alegrías y dificultades.

A mis hermanos por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar como un ser humano ético, moral, académico y a mi madrina por acompañarme en esta meta.

A mi amigos que me acompañaron en los buenos y malos momentos, enseñándome que una amistad perdurada a través del tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros y humildes agradecimientos:

A mi profesor y director Custodio Vásquez Quintero, por brindarme siempre su apoyo incondicional y experiencia en este trabajo de investigación.

A mi Co-director y amigo Jhon Harrison Sierra Uribe por brindarme su apoyo, atención, preparación, asesorías y conocimientos en el desarrollo de este trabajo investigación.

A los grupos de investigación GIC y GIMBA, por las instalaciones, equipos y materiales prestados para desarrollar el presente trabajo y sus integrantes por la ayuda prestada.

A los técnicos de la carrera Ingeniería Metalúrgica por el tiempo brindado y la atención en las consultas realizadas.

A Carolina Luna, Carlos Chacón y Jose Luis Pinto, encargados de los laboratorios SEM Y DRX respectivamente, por toda su colaboración y conocimientos brindados.

A los docente de la carrera Ingeniería Metalurgia por su formación profesional y humana durante el pregrado.

A la Universidad Industrial de Santander por permitirme la formación profesional con alta calidad humana y académica.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	15
2. ANTECEDENTES	22
3. OBJETIVOS	27
4. METODOLOGÍA	28
4.1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	28
4.2 SÍNTESIS DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO TRATADOS TÉRMICAMENTE A DIFERENTES TEMPERATURAS	29
4.3 COMPOSICIÓN Y PREPARACIÓN DEL SBF	30
4.4 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD EN <i>SBF</i> DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO MEDIANTE EL USO DE LAS TÉCNICAS SEM-EDS	30
4.5 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD EN <i>SBF</i> DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO MEDIANTE EL USO DE LA TÉCNICA DRX	31
4.6 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO EN <i>SBF</i> DE LA ALEACIÓN Ti6Al4V RECUBIERTA CON QUITOSANO/BIOVIDRIO	31
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5.1 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO TRATADOS TÉRMICAMENTE A 60°C	33
5.1.1 Caracterización de la bioactividad usando mediciones de microscopia electrónica de barrido	33
5.1.2 Caracterización de la bioactividad usando mediciones de espectroscopia de energía dispersa (EDS)	34
5.2 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO TRATADOS TÉRMICAMENTE A DIFERENTES TEMPERATURAS	36
5.2.1 Caracterización de la bioactividad usando mediciones de microscopia electrónica de barrido	36

5.2.2 Caracterización de la bioactividad usando mediciones de espectroscopia de energía dispersa (EDS)	39
5.3 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO USANDO MEDICIONES DRX	42
5.4 EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO TRATADOS TÉRMICAMENTE A DIFERENTES TEMPERATURAS	44
5.4.1 Evaluación del comportamiento electroquímico mediante el uso de la técnica resistencia a la polarización lineal (RPL)	44
5.4.2 Evaluación del comportamiento electroquímico mediante el uso de la técnica polarización potenciodinámica	46
6. CONCLUSIONES	50
7. RECOMENDACIONES	51
BIBLIOGRAFÍA	52

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composición química y cantidad para la preparación del SBF.	30
Tabla 2. Valores de resistencia a la polarización (R_p) para sustrato de Ti6Al4V sin recubrimiento y con recubrimientos de quitosano/biovidrio tratado térmicamente a diferentes temperaturas después de inmersión en <i>SBF</i> durante 7 días.	45
Tabla 3. Parámetros electroquímicos para sustrato de Ti6Al4V sin recubrimiento y con recubrimientos de quitosano/biovidrio tratado térmicamente a diferentes temperaturas después de inmersión en <i>SBF</i> durante 7 días.	48

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Diagrama de flujo del procedimiento experimental usado para el desarrollo del trabajo de investigación.	28
Figura 2. Fotomicrografías para a) recubrimiento quitosano/biovidrio sin inmersión en <i>SBF</i> y para recubrimientos quitosano/biovidrio expuestos a <i>SBF</i> durante b) 7 días, c) 10 días y d) 20 días.	33
Figura 3. Espectros EDS para a) recubrimiento quitosano/biovidrio sin inmersión en <i>SBF</i> y para recubrimientos quitosano/biovidrio expuestos a <i>SBF</i> durante b) 7 días, c) 10 días y d) 20 días.	35
Figura 4. Fotomicrografías de recubrimientos quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas antes y después de inmersión: a) y b) 150°C, c) y d) 400°C, y d) y e) 700°C.	38
Figura 5. Espectros EDS de recubrimientos quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas antes y después de inmersión: a) y b) 150°C, c) y d) 400°C, y d) y e) 700°C.	40
Figura 6. Difractogramas de recubrimientos quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas antes y después de inmersión: a) y b) 150°C, c) y d) 400°C, y d) y e) 700°C.	42
Figura 7. Resistencia a la polarización lineal de a) sustrato Ti6Al4V sin recubrimiento y de recubrimientos de quitosano/biovidrio tratados térmicamente b) 150°C, c) 400°C y d) 700° después de inmersión en <i>SBF</i> durante 7 días.	44
Figura 8. Comparación del comportamiento electroquímico a la polarización lineal de la aleación Ti6Al4V y de los diferentes recubrimientos quitosano/biovidrio después de su inmersión en <i>SBF</i> durante 7 días.	46
Figura 9. Comparación del comportamiento electroquímico a la polarización potenciodinámica frente al <i>SBF</i> de la aleación Ti6Al4V y de los diferentes recubrimientos quitosano/biovidrio.	47

RESUMEN

TITULO: COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO Y BIOACTIVO DE LA ALEACIÓN Ti6Al4V RECUBIERTA CON QUITOSANO/BIOVIDRIO EN UN AMBIENTE DE FLUIDO CORPORAL SIMULADO*

AUTOR: HERRERA, Elvis Morelo**

PALABRAS CLAVE: Biovidrio, quitosano, bioactividad, comportamiento electroquímico.

DESCRIPCIÓN

Se investigó la formación de hidroxiapatita sobre la aleación Ti6Al4V recubierta con quitosano/biovidrio en un ambiente de fluido corporal simulado, con el propósito de conocer su comportamiento electroquímico y bioactivo. Se desarrollaron recubrimientos quitosano/biovidrio por la técnica Dip-Coating sobre Ti6Al4V consistentes en tres capas de quitosano, culminando con un depósito de biovidrio sintetizado por el método sol-gel sobre la superficie de quitosano, los diferentes recubrimientos fueron tratados a las temperaturas de 60 °C, 150 °C, 400 °C y 700 °C. El comportamiento bioactivo fue caracterizado mediante las técnicas de difracción de rayos X y análisis EDS acoplado a FESEM. Mientras que el comportamiento electroquímico fue caracterizado mediante los métodos electroquímicos polarización potenciodinámica y resistencia a la polarización lineal. Del análisis de la bioactividad para los diferentes recubrimientos se estableció que el tratamiento térmico a 60 °C no presentó comportamiento bioactivo debido al desprendimiento del recubrimiento, mientras que las muestras tratadas a 150 °C fueron las que mayor fase hidroxiapatita formaron y a medida que se incrementa la temperatura de calcinación se disminuye esta propiedad en los recubrimientos. De las pruebas electroquímicas se estableció que a mayor formación del fosfato de calcio hubo mayor protección de la aleación Ti6Al4V frente a la corrosión y se disminuye esta condición con el incremento de la temperatura de tratamiento. Finalmente se correlaciono el comportamiento electroquímico y bioactivo, encontrándose que recubrimientos tratados térmicamente a 150 °C presentan la mayor formación del cerámico hidroxiapatita y mayor protección de la aleación Ti6Al4V frente a la corrosión.

* Proyecto de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. Director: MSc. Ing. Metalúrgico. VÁSQUEZ QUINTERO, Custodio; Codirector: Ing. Metalúrgico. SIERRA URIBE, Jhon Harrison.

ABSTRACT

TITLE: BIOACTIVE AND ELECTRICHEMICAL BEHAVIOR OF Ti6Al4V ALLOY COVERED IN CHITOSAN/BIOGLASS IN A BODY FLUID SIMULATED ENVIRONMENT*

AUTHOR: HERRERA, Elvis Morelo**

KEY WORDS: Bioglass, Chitosan, Bioactivity, Electrochemical Behavior

DESCRIPTION

Hydroxyapatite formation on Ti6Al4V alloy covered in chitosan/bioglass was observed in a body fluid simulated environment, in order to gain understanding in his electrochemical and bioactive behavior. By means of the Dip-Coating technique, coverings of chitosan/bioglass were developed, which consisted in three chitosan layers and a bioglass deposit synthesized above the chitosan surface by the sol-gel technique. The different coverings were treated at different temperatures (60 °C, 150 °C, 400 °C y 700 °C). The bioactive behavior was characterized by X-ray diffraction techniques and EDS analysis coupled to FESEM, while the electrochemical behavior was characterized by potentiodynamic polarization and lineal polarization resistance. From the bioactivity analysis for the several coverings studied it can be determined that the treatment at 60°C did not exhibit bioactive behavior due to the covering release, while the 150°C treated samples formed the most hydroxyapatite phase. In addition, it can be concluded that an increase in calcination temperature means an impairment in this property on the coverings. From the electrochemical tests was determined that greater calcium phosphate formation, a greater corrosion protection for the Ti6Al4V alloy was exhibited, and also this property is weakened while the treatment temperature increases. Finally, the bioactive and electrochemical behavior was correlated, concluding that the coverings thermally treated at 150°C exhibited the greatest hydroxyapatite ceramic behavior and also the greatest corrosion protection of the Ti6Al4V.

* Graduation Project

** Faculty of Physical and Chemical Engineering. School of Metallurgical Engineering and Materials Science. Director: MSc. Ing. Metallurgy. VÁSQUEZ QUINTERO, Custodian; Co: Metallurgical Engineer.. SIERRA URIBE, John Harrison.

INTRODUCCIÓN

La corrosión es una reacción química indeseable, la cual resulta en la degradación de la aleación Ti6Al4V a óxido, hidróxido u otros compuestos. La mayoría de biomateriales tienen una tendencia a perder electrones en solución, y como resultado, ellos muestran un alto potencial a corroerse en el ambiente biológico, lo cual usualmente causa degradación de los componentes físicos y químicos del biomaterial, lo que puede causar una respuesta inflamatoria local, llevando a cese de crecimiento de hueso, sinovitis, inflamación y posteriormente aflojamiento del implante.¹

De acuerdo con lo anterior cuando un biomaterial como el Ti6Al4V es implantado en el cuerpo, es alta la interacción reflejada mediante las reacciones electroquímicas en la interfase aleación/fluido corporal, en donde su grado de ocurrencia se debe a las características químicas del material y la topografía superficial. Por lo tanto para la ingeniería de tejidos el control de la velocidad de degradación de las componentes metálicas es uno de los problemas que necesitan ser solucionados.²

Para contrarrestar la degradación de la aleación Ti6Al4V frente al fluido corporal se han desarrollado diferentes recubrimientos entre los que se encuentran películas de quitosano,³ películas de biovidrio⁴ y películas mixtas quitosano/biovidrio.⁵ Sin

¹ WANG, Guocheng, ZREIQAT, Hala. Functional Coatings or Films for Hard-Tissue Applications. *Materials* 2010, 3, 3994-4050 manuscripts; doi: 10.3390/ma3073994.

² YLÄNEN, Heimo. Bioactive glasses *Materials, properties and applications*. Woodhead Publishing Limited, 2011. ISBN 978-0-85709-331-8.

³ TUZLAKOGLU, K., REIS, R. L. Formation of bone-like apatite layer on chitosan fiber mesh scaffolds by a biomimetic spraying process. *J Mater Sci: Mater Med* (2007) 18:1279–1286.

⁴ VOGEL, Martin, VOIGT, Christian, GROSS, Ulrich M. In vivo comparison of bioactive glass particles in rabbits. *Biomaterials* 22 (2001) 357-362.

⁵ OUDADESSE, Hassane, VUONG, Xuan, LE GAL, Yann. Chitosan Effects on Bioactive Glass for Application as Biocomposite Biomaterial. *International journal of biology and biomedical engineering*, Issue 2, Volume 5, 2011.

embargo, estas últimas en la actualidad están siendo ampliamente estudiadas debido a que presentan mejores propiedades en comparación a las observadas para cada material por separado.⁶

Aun cuando la aleación Ti6Al4V recubierta con quitosano/biovidrio ha sido anteriormente estudiada, en pocos trabajos se ha correlacionado sus características bioactivas con las propiedades electroquímicas, además es poca la información del efecto del tratamiento térmico de los recubrimientos quitosano/biovidrio sobre las propiedades anteriores.

Por lo tanto en el presente trabajo de investigación se desarrollaron recubrimientos de quitosano/biovidrio depositados sobre la aleación Ti6Al4V, los cuales fueron tratados térmicamente a diferentes temperaturas con la finalidad de estudiar sus características bioactivas y electroquímicas al ser expuestos a un fluido corporal simulado (*SBF*) durante 7 días.

⁶ CHEN, Q., ROETHER, J. A., BOCCACCINI, A. R. opics in Tissue Engineering, Vol. 4.Eds. N Ashammakhi, R Reis, & F Chiellini © 2008.

1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Desde una visión general los biomateriales son definidos por el instituto nacional Americano de la salud como “cualquier sustancia o combinación de sustancias, distintas de fármacos, sintéticas o de origen natural, que se pueden utilizar para cualquier periodo de tiempo, lo que aumenta o sustituye parcial o totalmente cualquier tejido, órgano o función del cuerpo, con el fin de mantener o mejorar la calidad de vida del individuo”.⁷ Por otro lado, los biomateriales no solo deben proveer una función específica, sino que la interface creada por la introducción del material provocará una respuesta biológica. De acuerdo con lo anterior es interesante continuar con el estudio de los biomateriales para contribuir al mejoramiento de la salud de las persona a nivel mundial.

Los biomateriales se pueden clasificar según sus propiedades, respuesta biológica y condiciones de servicio en biometales, biopolímeros y biocerámicos.^{8,9} Los biometales usados en implantes biomédicos son esperados a ser biocompatibles, bioactivos, no tóxicos y deberían no causar alguna inflamación o reacción alérgica en los tejidos.¹⁰ En esta categoría se incluyen a metales de grado quirúrgico tales como acero inoxidable 316L, aleaciones de Co-Cr, al Ti y sus aleaciones.¹¹

Los aceros inoxidables no son adecuados para implantes permanentes dado que presentan baja resistencia a la fatiga y deformación plástica, además de baja resistencia a la corrosión para largos periodos de implantación. Mientras que las

⁷ BERGMANN, Carlos, Verlag Berlin Heidelberg 2013. ISBN 978-3-642-38223-9. STUMPF, Aisha. Dental ceramics: Microstructure, properties and degradation. Springer.

⁸ PARK, Joon, BRONZINO, Joseph. Biomaterials principles and applications. CRC PRESS, ISBN 0-8493-1491-7.

⁹ RATNER, Buddy, HOFFMAN, Allan, SCHOEN, Frederic et al. Biomaterial Science: An introduction to materials in medicine. Academic Press, 0-12-582460.

¹⁰ WANG, Guocheng, ZREIQAT, Hala, Op. Cit.

¹¹ SIMON, J.P., FABRY, G. An overview of implant materials. Acta orthopedic Belgica, Vol. 57-1-1991.

aleaciones Co-Cr liberan iones cancerígenos de Cr, Ni y Co, afectando la compatibilidad con el tejido circundante.¹²

Debido a la exposición que se presente en condiciones biológicas, los materiales metálicos son preferidos debido a sus propiedades mecánicas. La biocompatibilidad de estos metales es limitada por su reactividad y degradación en ambientes biológicos. El titanio y sus aleaciones, tal como la aleación Ti6Al4V, presenta excelentes propiedades tales como biocompatibilidad, resistencia a la corrosión, baja densidad, resistencia mecánica, y relativo bajo costo.^{13,14} Entre estas la resistencia a la corrosión es de mayor importancia, no solo porque determina el tiempo de servicio del dispositivo, sino que también debido al carácter nocivo en el organismo de los productos de corrosión.^{15,16}

El comportamiento frente a la corrosión se debe a la pasivación del Ti6Al4V, la pasividad se debe a una muy estable y tenaz película de óxido adherente formada espontáneamente sobre la superficie, la cual se forma rápidamente cuando es removida o dañada mecánicamente. Esta película no es reactiva, aunque se ha observado su rompimiento microscópico por la presencia de iones cloro (Cl⁻) presentes en el fluido corporal.¹⁷ Este rompimiento genera porosidad superficial y vuelve friable al óxido de titanio, lo que sumado a la abrasión de la película pasiva puede conducir a la liberación de iones de vanadio el cual es conocido por ser tóxico e iones de aluminio el cual es considerado de provocar Alzheimer. Además, en este

¹² *Ibíd.*

¹³ CHEN, Q., MCEWEN, G.D., ZAVERI N et al. Emerging Nanotechnologies in Dentistry, chapter 9: Corrosion Resistance of Ti6Al4V with Nanostructured TiO₂ Coatings. DOI: 10.1016/B978-1-4557-7862-1.00009-2.

¹⁴ JURCZYK, M.U., JURCZYK, K., MIKLASZEWSKI, A., JURCZYK, M. Nanostructured titanium-45S5 Bioglass scaffold composites for medical applications. *Materials and Design* 32 (2011) 4882–4889.

¹⁵ CHEN, Q., MCEWEN, G.D., ZAVERI N et al., *Op. cit.*

¹⁶ GEETHA, M., SINGH, A.K., ASOKAMANI, R., GOGIA, A.K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Progress in Materials Science* 54 (2009) 397–425.

¹⁷ BALAMURUGANA, A., BALOSSIERB, G., MICHEL, J., FERREIRA, J.M.F. Electrochemical and structural evaluation of functionally graded bioglass-apatite composites electrophoretically deposited onto Ti6Al4V alloy. *Electrochimica Acta* 54 (2009) 1192–1198.

sentido la corrosión es una reacción electroquímica indeseable, la cual resulta en la degradación del óxido, hidróxido u otros compuestos, causando una respuesta inflamatoria local, llevando a un cese del crecimiento del hueso, sinovitis¹⁸ y los productos de corrosión pueden conducir al aflojamiento del implante.¹⁹

La aleación Ti6Al4V es bionerte debido a su débil interacción con los tejidos vivos. El movimiento interfacial bajo cargas externas conduce a la pérdida y deterioro de las características mecánicas, eventualmente conduciendo a falla clínica del implante. Una de las soluciones es recubrir los sustratos de Ti6Al4V “bionertes” con materiales bioactivos, los cuales pueden modificar la bioactividad superficial y mantener las propiedades mecánicas de los implantes metálicos al mismo tiempo.²⁰ Además, mejoran la biocompatibilidad de la aleación (aceptación de un implante artificial por los tejidos y por el cuerpo humano como un todo) al formar enlaces con el tejido óseo²¹ y ayudan a la protección del implante frente a la corrosión, limitando la liberación de iones metálicos nocivos en el cuerpo.²²

Un enfoque interesante es la modificación de la aleación Ti6Al4V mediante el desarrollo de recubrimientos bioactivos de biovidrio sobre su superficie, los cuales forman una capa de hidroxiapatita (HA) que sirve de enlace entre el implante y el hueso.^{23,24}

El biovidrio fue desarrollado por primera vez en 1969 por Hench y colaboradores²⁵ y consiste en un subconjunto de materiales bioactivos inorgánicos, los cuales son capaces de reaccionar con el fluido corporal para formar un enlace tenaz a través

¹⁸ WANG, Guocheng, ZREIQAT, Hala, Op. Cit.

¹⁹ SIMON, J.P., FABRY, G., Op. cit.

²⁰ YLÄNEN, Heimo, Op. cit.

²¹ BALAMURUGANA, A., BALOSSIERB, G., MICHELB, J., FERREIRA, J.M.F., Op. cit.

²² SAIZ, E., GOLDMANA, M., GOMEZ-VEGA, J.M., TOMSIA, A.P., MARSHALL, G.W. In vitro behavior of silicate glass coatings on Ti6Al4V. *Biomaterials* 23 (2002) 3749–3756.

²³ YLÄNEN, Heimo, Op. cit.

²⁴ BALAMURUGANA, A., BALOSSIERB, G., MICHELB, J., FERREIRA, J.M.F., Op. cit.

²⁵ YLÄNEN, Heimo, Op. cit.

de una película de hidroxiapatita, además producen una interacción biológica con el colágeno. Ha sido encontrado que las reacciones con el biovidrio conducen a la liberación de iones solubles tales como Si, Ca y P; los cuales inducen respuesta intracelular y extracelular, provocando una rápida formación de hueso nuevo.²⁶

Algunas de las técnicas empleadas para el desarrollo de recubrimientos de biovidrios incluyen pulverización térmica, pulverización por llama de suspensiones a alta velocidad, esmaltado, deposición electroforética, haz de iones, revestimiento laser, laser pulsado, sol-gel y fusión de sales inorgánicas. Pulverización térmica y sol-gel son las técnicas más usadas frecuentemente. Sin embargo la expansión térmica es uno de los problemas presentados al usar pulverización térmica debido a las diferencias en los coeficientes de expansión entre el sustrato metálico y el biovidrio, lo que ha llevado a un mayor empleo del proceso sol-gel.²⁷

El proceso sol-gel es definido como la síntesis química de materiales inorgánicos mediante la preparación de un sol, gelación del sol (gel) y remoción del solvente. El proceso sol-gel involucra la transición de un sistema desde un líquido "sol" a un sólido "gel". La química involucrada en el proceso se basa en reacciones de polimerización inorgánica de un alcoxido metálico.²⁸ Por otro lado, el proceso sol-gel presenta ventajas tales como baja temperatura de síntesis,²⁹ control de la microestructura, espesor y composición del recubrimiento, asegurando altos niveles de pureza y homogeneidad.³⁰

El sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ es uno de los más extensamente estudiados en campo de los biovidrios por sol-gel.³¹ Esta composición deriva de los biovidrios procesados

²⁶ CHEN, Q., ROETHER, J. A., BOCCACCINI, A. R., Op. cit.

²⁷ WANG, Guocheng, ZREIQAT, Hala, Op. cit.

²⁸ CHEN, Q., ROETHER, J. A., BOCCACCINI, A. R., Op. cit.

²⁹ YLÄNEN, Heimo, Op. cit.

³⁰ CHEN, Q., MCEWEN, G.D., ZAVERI N et al, Op. cit.

³¹ LUZ, Gisela M., MANO, Joao F. Preparation and characterization of bioactive glass nanoparticles prepared by sol-gel for biomedical applications. *Nanotechnology* 22 (2011) 494014 (11pp).

por fusión desarrollados por Hench.³² Sin embargo, los biovidrios por sol-gel tienen ventajas sobre los biovidrios por fusión, debido a su alta pureza, homogeneidad, alta velocidad de formación de hidroxiapatita, lo que resulta en una rápida formación de hueso nuevo. Adicionalmente el rango de bioactividad para el sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ es mayor por el proceso sol-gel.^{33,34}

La red vítrea de los biovidrios puede ser parcialmente disuelta por el fluido corporal, liberando iones Ca^{2+} y P^{5+} , además forma una gran cantidad de grupos Si-OH. Los grupos Si-OH sobre el recubrimiento superficial son benéficos para la nucleación y crecimiento de apatitas en el fluido corporal simulado, el cual es super-saturado respecto a calcio y fósforo. Entonces conduce a la formación de una película superficial con afinidad química y estructural con el tejido óseo.³⁵

Las etapas de bioactividad de los biovidrios consisten en el intercambio de álcalis desde el recubrimiento con iones H^+ o H_3O^+ en solución. Rompimiento de los enlaces silosano Si-O-Si conduciendo a menor solubilidad del SiO_2 en la forma $\text{Si}(\text{OH})_4$ a la solución; la pérdida de SiO_2 es directamente proporcional al tiempo. Condensación y repolimerización de la película rica en SiO_2 sobre la superficie incrementando el espesor de la capa. Posteriormente hay la migración de iones Ca^{2+} y PO_4^{2-} a través de la película de SiO_2 formando una película amorfa de fosfato de calcio (Ca-P) sobre ésta. La película Ca-P crece por incorporación de iones Ca^{2+} y PO_4^{2-} desde la solución. Finalmente hay la cristalización de la película amorfa de Ca-P por incorporación de OH^- y CO_3^{2-} desde el fluido corporal.^{36,37}

³² HENCH, Larry L. The story of Bioglass. *J Mater Sci: Mater Med* (2006) 17:967–978.

³³ WANG, Guocheng, ZREIQAT, Hala, Op. cit.

³⁴ LUZ, Gisela M., MANO, Joao F., Op. cit.

³⁵ WANG, Guocheng, ZREIQAT, Hala, Op. cit.

³⁶ BRAVO, Oscar, SIERRA, Jhon, Efecto de la alúmina en las propiedades físicas, químicas, electroquímicas y bioactivas de recubrimientos de biovidrio compuesto por 64% SiO_2 -31% CaO -5% P_2O_5 soportados sobre acero AISI 316L, Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2013.

³⁷ YLÄNEN, Heimo, Op. cit.

Aun cuando se han alcanzado resultados comprometedores, el estudio de recubrimientos de cerámicas bioactivas es aun complejo.³⁸ Debido a problemas relacionados con la adhesión, agrietamiento y falta de bioactividad. Desde la revisión de la composición, los biovidrios con contenidos superiores a 60% de SiO₂ presentan coeficientes de expansión térmica similar a la aleación de Ti6Al4V, además de buenas propiedades mecánicas, tenacidad y adherencia. Sin embargo, se caracterizan por tener baja bioactividad. Por otro lado, biovidrios con contenidos inferiores a 60% de SiO₂ presentan buena bioactividad, pero bajas propiedades mecánicas, tenacidad y adherencia.^{39,40}

De acuerdo con lo anterior y desde una perspectiva biológica tiene sentido combinar al biovidrio (material cerámico) con un material polimérico, para fabricar recubrimientos en el área de la ingeniería de tejidos, debido a que el hueso nativo es la combinación de una forma de polímero natural y apatita biológica.

Desde el punto de vista de ciencia de los materiales, un material sencillo no provee las propiedades mecánicas y químicas requeridas, por lo tanto las propiedades de dos o más materiales pueden ser combinados en un material compuesto.

Materiales poliméricos y cerámicos que tienen la habilidad de degradarse *in vivo* son candidatos ideales para biomateriales de tratamiento de tejidos duros. Mientras una degradación ácida promovida por el polímero puede causar reacciones inflamatorias, la degradación básica del biovidrio puede mantener la solución a un pH estable, evitando un ambiente desfavorable para las células.⁴¹

³⁸ CHEN, Q., MCEWEN, G.D., ZAVERI N et al, Op. cit.

³⁹ YLÄNEN, Heimo, Op. cit.

⁴⁰ BALAMURUGANA, A., BALOSSIERB, G., MICHEL B, J., FERREIRA, J.M.F., Op. cit.

⁴¹ CHEN, Q., MCEWEN, G.D., ZAVERI N et al, Op. cit.

Dado lo anterior es interesante estudiar el comportamiento de materiales compuestos, en donde se combine la resistencia mecánica de un cerámico bioactivo tal como el biovidrio y la ductilidad de un polímero tal como el quitosano.

El quitosano es obtenido desde el quitín, el cual es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza. Es semicristalino por naturaleza y presenta propiedades mecánicas limitadas. Es biodegradable y se rompe enzimáticamente en presencia de monosacáridos no tóxicos tales como el D-glucosamina. Es conocido por su excelente biocompatibilidad, la cual es atribuida al quitín. Presenta una carga positiva que le permite enlazarse a la superficie aniónica de las células. En resumen el quitosano tiene las mejores propiedades mecánicas entre todos los polímeros naturales existentes, con propiedades fisicoquímicas y de degradación variables dependiendo del método de síntesis. Sus propiedades de biocompatibilidad y bioregulación, lo que sumado con su naturaleza antibacteriana lo hacen un excelente candidato para la ingeniería de tejidos.⁴²

⁴² SARASAM, Aparna. Chitosan- polycaprolactone mixtures as biomaterials - influence of surface morphology on cellular activity. Tesis de Doctorado. Jawaharlal Nehru Technological University. Hyderabad, India, 2001.

2. ANTECEDENTES

Respecto al desarrollo del biovidrio como biomaterial para el tratamiento de tejidos duros se puede encontrar que Vogel y colaboradores⁴³ emplearon partículas de biovidrio con contenidos de SiO₂ de 45%, 52% y 55%, las cuales se implantaron en la epífisis femoral distal de conejos. Encontrando que todos los materiales son degradables y se enlazan al hueso, sin embargo, el biovidrio 45s5 (45% SiO₂ y 5% P₂O₅ y el balance en CaO) presentó en mayor velocidad de enlace.

Mami y colaboradores⁴⁴ desarrollaron el biovidrio 47s por fusión convencional, a partir de las mediciones de DRX, FTIR, SEM y EDS para muestras luego de su evaluación *in vitro*, se estableció que luego de 30 días de inmersión en el fluido corporal simulado (*SBF*), se presentó la formación de una película de hidroxiapatita cristalina, siendo similar en composición y cristalinidad a la apatita biológica.

Victoria F.⁴⁵ sintetizó los biovidrios 45s5, 52s5, 55s5 por fusión convencional y 77s5 mediante el proceso sol-gel. Luego de los ensayos en la solución amortiguada con Tris (*TBS*) y en la solución *SBF*, se estableció que hay el crecimiento de cristales de hidroxiapatita y su orientación es preferencial para el plano (001).

Bizan y colaboradores⁴⁶ desarrollaron el biovidrio 64s usando el proceso sol-gel, al cual se le evaluó su actividad celular en una solución fosfato alcalina y su comportamiento bioactivo en la solución *SBF*, para diferentes intervalos de tiempo.

⁴³ VOGEL, Martin, VOIGT, Christian, GROSS, Ulrich M., Op. cit.

⁴⁴ MAMI, Mohamed, OUDADESSE, Hassane, DORBEZ-SRIDI, Rachida, CAPIAUX, Hervé. Synthesis and in vitro characterization of melt derived 47s cao-p2o5-sio2-na2o bioactive glass. *Ceramics – Silikáty* 52 (3) 121-129 (2008).

⁴⁵ FITZGERALD, Victoria. STructural characterisation of bioactive glasses. Tesis de Doctorado. Universidad de Kent. Julio, 2007.

⁴⁶ BIZARI, D., RABIEE, M., MOZTARZADEH, F., M. Synthesis, characterization and biological evaluation of sol-gel derived nanomaterial in the ternary system 64 % SiO₂ - 31 % CaO - 5 % P₂O₅ as a bioactive glass: in vitro study. *Ceramics – Silikáty* 57 (3) 201-209 (2013).

Determinando que el material sintetizado permite el crecimiento de osteoblasto, además presenta un comportamiento no tóxico y compatible con tejido de cabra.

Letaief y colaboradores⁴⁷ estudiaron el efecto de surfactantes tales como $C_{10}H_{20}BrN$, $C_{19}H_{42}BrN$ y $C_{22}H_{48}BrN$ sobre la estructura, porosidad y bioactividad del biovidrio 92s6 producido mediante sol-gel. Encontrando que los factores de la bioactividad fueron mejorados con surfactantes de cadena corta. Además, establecieron que los materiales procesados presentaron la formación de la fase hidroxiapatita.

Respecto al uso de quitosano algunas investigaciones desarrolladas tales como la de Lee y colaboradores⁴⁸ quienes sintetizaron membranas híbridas de quitosano-silice mediante sol-gel. Encontraron que se presenta adhesión celular y crecimiento de osteoblastos sobre la superficie de las membranas. Mientras que el estudio *in vivo* en ratas mostró que hay un mejoramiento significativo en la regeneración de hueso usando las membranas en comparación al uso del quitosano solo.

Otra investigación fue desarrollada por Muzzarelli y colaboradores,⁴⁹ quienes desarrollaron recubrimientos de quitosano sobre capas de biovidrio con partículas de hidroxiapatita sintética. Los autores concluyen que los recubrimientos promueven la colonización de células, la osteogénesis y la osteointegración.

⁴⁷ LETAIEF, N., LUCAS-GIROT, A., OUDADESSE, H. New 92S6 mesoporous glass: Influence of surfactant carbon chain length on the structure, pore morphology and bioactivity. *Materials Research Bulletin* 60(2014)882–889.

⁴⁸ LEE, Eun-Jung, SHIN, Du-Sik, Kim, Hyoun-Ee. Membrane of hybrid chitosan–silica xerogel for guided bone regeneration. *Biomaterials* 30 (2009) 743–750.

⁴⁹ MUZZARELLI, R.A.A., BIAGINI, G., DEBENEDITTIS, A. Chitosan-oxychitin coatings for prosthetic materials. *Carbohydrate Polymers* 45 (2001) 35-41.

Por otro lado Seo y colaboradores⁵⁰ hicieron crecer osteoblastos de rata sobre esponjas de quitosano fabricadas por liofilización. Los autores determinaron que es posible la formación de hueso nuevo sobre esta clase de materiales.

Mientras que Tuzlakoglu y colaboradores,⁵¹ desarrollaron fibras de quitosano por hilado en húmedo, las cuales recubrieron con biovidrio usando la técnica de pulverización. De los ensayos en *SBF* encontraron la formación de apatitas sobre la superficie. Además luego de su evaluación en cultivos celulares encontraron el mejoramiento de la proliferación de osteoblastos.

Ahora algunos trabajos relacionados con la combinación de las propiedades del biovidrio y el quitosano para el desarrollo de materiales compuestos con potencial uso en el tratamiento de tejidos duros, la literatura describe que Oudadesse y colaboradores,⁵² desarrollaron compositos de biovidrio/quitosano mediante liofilización. Encontrando que hay la formación de una película de hidroxiapatita biológicamente activa luego de su exposición en *SBF*. Este fenómeno particularmente ocurre luego de la incorporación del quitosano, en donde este polímero actúa como un agente de protección, al evitar la liberación de silicio (Si) desde el composito hacia el solución sintética.

En otro trabajo de Oudadesse y colaboradores⁵³ emplearon al biovidrio 46s6 junto con quitosano para desarrollar compositos. Luego de las pruebas *in vitro* e *in vivo*, se pudo establecer que el pH juega un rol importante en la estabilidad de precipitación del fosfato de calcio. Además, de los ensayos *in vivo* se encontró que

⁵⁰ SEOL, Yang-Jo, LEE, Jue-Yeon, PARK, Yoon-Jeong. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation. *Biotechnology Letters* 26: 1037–1041, 2004.

⁵¹ TUZLAKOGLU, K., REIS, R. L., Op. cit.

⁵² OUDADESSE, Hassane, VUONG, Xuan, LE GAL, Yann, Op. cit.

⁵³ JEBABI, Samira, OUDADESSE, Hassane, WERS, Eric. Effect of pH and Ionic Exchange on the Reactivity of Bioglass/Chitosan Composites Used as a Bone Graft Substitute. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* 7(5) 2013.

es posible incrementar la concentración de Ca y P, lo que induce a la formación satisfactoria de hidroxiapatita.

Por otro lado Mehdipour y colaboradores⁵⁴ desarrollaron mediante deposición electroforética recubrimientos de biovidrio/quitosano sobre acero inoxidable 316L. Estableciendo que el quitosano fue absorbido por las partículas de biovidrio mediante enlaces hidroxil y amida. Adicionalmente fue posible establecer que los recubrimientos del composito biovidrio/quitosano brindan protección del acero inoxidable 316L frente a la corrosión en el fluido saliva simulada.

Mientras que Peña y colaboradores,⁵⁵ desarrollaron polvos y películas del composito apatita/quitosano usando los métodos de co-precipitación y transformación alcalina a temperatura ambiente. Las películas fueron depositadas sobre la aleación Ti6Al4V, obteniéndose espesores de aproximadamente 1 μm . Luego de los ensayos in vivo fue posible determinar que el composito sintetizado presenta carácter bioactivo.

Seuss y colaboradores,⁵⁶ quienes recubrieron la aleación Ti6Al4V con el biocomposito biovidrio/quitosano mediante deposición electroforética. Se estableció que es posible la formación de una película de hidroxiapatita sobre la superficie del composito, adicional al carácter antibacterial de las mismas.

Finalmente respecto a las investigaciones desarrolladas para materiales compuestos por Couto y colaboradores⁵⁷ realizaron recubrimientos multicapa de

⁵⁴ MEHDIPOUR, Mehrad, AFSHAR, Abdollah. A study of the electrophoretic deposition of bioactive glass–chitosan compositecoating. *Ceramics International* 38(2012)471–476.

⁵⁵ PEÑA, J., IZQUIERDO-BARBA, I., GARCÍA, M.A. Room temperature synthesis of chitosan/apatite powders and coatings. *Journal of the European Ceramic Society* 26 (2006) 3631–3638.

⁵⁶ SEUSS, Sigrid, LEHMANN, Maja, BOCCACCINI, Aldo R. Alternating Current Electrophoretic Deposition ofAntibacterial Bioactive Glass-Chitosan Composite Coatings. *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15, 12231-12242; doi:10.3390/ijms150712231.

⁵⁷ COUTO D. S., ALVES N. M., MANO J. F. Nanostructured multilayer coatings combining chitosan with bioactive glass nanoparticles. *J Nanosci Nanotechno* 2009; 9:1741–1748.

quitosano/biovidrio por la técnica capa por capa sobre un sustrato de vidrio. Estableciendo que la componente orgánica quitosano provee las propiedades viscoelásticas al recubrimiento final y el biovidrio induce la bioactividad necesaria para generar el enlace al hueso, mediante la formación de una película de hidroxiapatita. Luego de los ensayos en el fluido *SBF* fue posible establecer la formación del fosfato de calcio, confirmando el carácter bioactivo de los recubrimientos.

Aun cuando se han desarrollado recubrimientos individuales de quitosano⁵⁸ y biovidrio,⁵⁹ respecto al compuesto quitosano/biovidrio, son escasas las investigaciones dirigidas al estudio del comportamiento electroquímico de la aleación Ti6Al4V recubierta con esta clase de material. Además se hace interesante correlacionar el comportamiento electroquímico del sistema con su respuesta para el comportamiento bioactivo.

⁵⁸ QUINTERO, Andrés, Obtención y evaluación de superficies de policaprolactona-quitosano patronadas por ablación láser, Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2013.

⁵⁹ BRAVO, Oscar, SIERRA, Jhon, Efecto de la alúmina en las propiedades físicas, químicas, electroquímicas y bioactivas de recubrimientos de biovidrio compuesto por 64%SiO₂-31%CaO-5P₂O₅ soportados sobre acero AISI 316L, Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2013.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el comportamiento electroquímico y bioactivo de la aleación Ti6Al4V recubierta con quitosano/biovidrio en un ambiente de fluido corporal simulado (*SBF*).

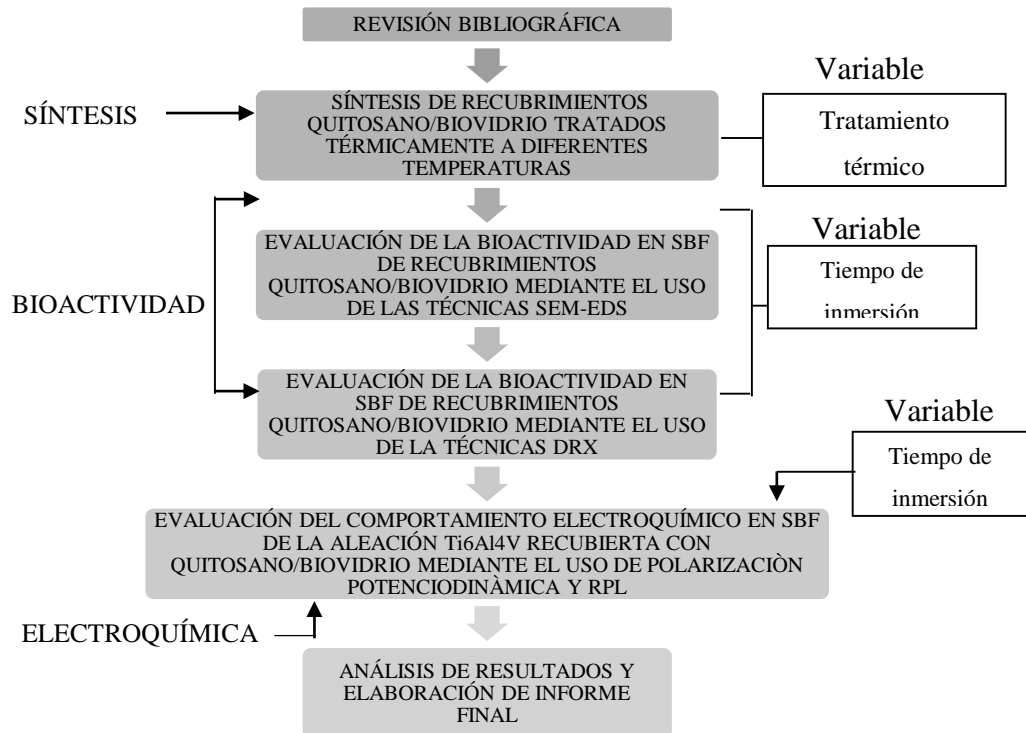
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Obtener recubrimientos del compuesto quitosano/biovidrio sobre sustratos de Ti6Al4V empleando el proceso sol-gel y la técnica dip-coating.
- ✓ Evaluar el comportamiento bioactivo de películas de quitosano/biovidrio, cuando son expuestas a un fluido corporal simulado (*SBF*) mediante la técnica de microscopia electrónica de barrido (SEM) y difracción de rayos x (DRX).
- ✓ Evaluar el comportamiento electroquímico de la aleación Ti6Al4V recubierta con películas de quitosano/biovidrio en (*SBF*) mediante las técnicas de resistencia a la polarización lineal (RPL) y polarización potenciodinámica.

4. METODOLOGÍA

El procedimiento experimental se desarrolló con base en la figura 1, donde se muestran las etapas de desarrollo del trabajo de investigación.

Figura 1. Diagrama de flujo del procedimiento experimental usado para el desarrollo del trabajo de investigación.



4.1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Consistió en la búsqueda y el análisis de literatura especializada en artículos de investigación, trabajos de grado, tesis de grado, libros, base de datos e información de internet referente al tema de estudio.

4.2 SÍNTESIS DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO TRATADOS TÉRMICAMENTE A DIFERENTES TEMPERATURAS

Recubrimientos de quitosano/biovidrio fueron obtenidos depositando capas independientes de quitosano y biovidrio. Para la deposición de las películas de quitosano se siguió el procedimiento propuesto por Sarasam,⁶⁰ en donde se partió de una solución de 19.45 mL de agua desionizada y 0.57 mL de ácido acético a la cual se le adicionó 0.2g quitosano, se dejó en agitación durante 30 minutos a 1100 rpm. Luego de su mezclado se depositó una capa del polímero mediante la técnica dip-coating, la cual posteriormente fue tratada térmicamente a 60°C durante 30 minutos. Después de la calcinación se repitieron deposiciones de quitosano para formar tres capas. Las películas de biovidrio depositadas sobre quitosano fueron obtenidas mediante el proceso sol-gel siguiendo una modificación del procedimiento propuesto por Faure y colaboradores y por Chen y colaboradores,^{61,62} se inició el procedimiento adicionando 10 mL de TEOS en una mezcla de 10 mL agua desionizada y 0.8 mL de ácido nítrico, luego de agitar por 45 minutos se adiciono 0.78 mL de trietil fosfito (TEP), dejándose bajo agitación otros 45 minutos, luego de este tiempo se agregó finalmente 11.81g de nitrato de calcio tetra hidratado, obteniéndose un biovidrio con composición de 45%SiO₂-50%CaO-5%CaO. Al finalizar la deposición del biovidrio los recubrimientos fueron tratados térmicamente a las temperaturas de 60°C y 150°C.

Para el desarrollo de películas quitosano/biovidrio tratadas térmicamente a 400°C y 700°C, se desarrollaron tres capas de quitosano siguiendo la descripción para formar las películas de quitosano, mientras que el biovidrio fue tratado térmicamente a las temperaturas nombradas con anterioridad, usándose un sostenimiento a cada

⁶⁰ SARASAM, Aparna, Op. cit.

⁶¹ PEÑA, J., IZQUIERDO-BARBA, I., GARCÍA, M.A., Op. cit.

⁶² COUTO D. S., ALVES N. M., MANO J. F., Op. cit.

temperatura de 30 minutos. Al finalizar el tratamiento se depositaron polvos de biovidrio sobre las capas de quitosano.

4.3 COMPOSICIÓN Y PREPARACIÓN DEL SBF

El SBF usado para las pruebas de bioactividad y comportamiento electroquímico se desarrolló siguiendo el procedimiento propuesto por Kokubo,⁶³ los compuestos químicos y su cantidad son presentados en la tabla 1.

Tabla 1. Composición química y cantidad para la preparación del SBF.

Compuesto químico	Cantidad
NaCl	8.035 g
NaHCO₃	0.355 g
KCl	0.225 g
K₂HPO₄·H₂O	0.231 g
MgCl₂·H₂O	0.311 g
1.0_M-HCl	39 mL
CaCl₂	0.299 g
Na₂SO₄	0.072 g
TRIS	8.118 g
1.0_M-HCl	0-5 mL

4.4 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD EN SBF DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO MEDIANTE EL USO DE LAS TÉCNICAS SEM-EDS

El comportamiento bioactivo de los diferentes recubrimientos quitosano/biovidrio se evaluó mediante inmersión de las diferentes muestras en el fluido corporal simulado

⁶³ QUINTERO, Andrés, Op. Cit.

propuesto por Kokubo.⁶⁴ En donde se expuso a cada material por un periodo de 7 días para observar el cambio morfológico y composicional que tienen lugar sobre la superficie de cada uno. Los cambios en morfología se evaluaron mediante la implementación de la técnica microscopía electrónica de barrido (SEM de sus siglas en inglés), mientras que los cambios en composición fueron evaluados mediante el uso de la técnica de espectroscopia de energía dispersa (EDS de sus siglas en inglés). Estos cambios fueron detectados comparando muestras sin y con inmersión en *SBF*.

4.5 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD EN *SBF* DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO MEDIANTE EL USO DE LA TÉCNICA DRX

La presencia de fases cristalinas en los recubrimientos depositados y de las fases formadas durante su exposición en el fluido corporal, fueron evaluadas mediante el empleo de la técnica difracción de rayos X (DRX). Cabe resaltar que para el tiempo de exposición no es posible evidenciar que la fase hidroxiapatita sea completamente cristalina, sin embargo, se realizó seguimiento de los picos presentados en cada difractograma comparando las muestras sin y con inmersión en *SBF*.

4.6 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO EN *SBF* DE LA ALEACIÓN Ti6Al4V RECUBIERTA CON QUITOSANO/BIOVIDRIO

Las mediciones electroquímicas fueron llevadas a cabo con ayuda de un potencióstato Gamry referencia 600, en una celda plana de tres electrodos, usando un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) y una barra de grafito como contraelectrodo. El área de caracterización del electrodo de trabajo fue 1 cm² del sustrato sin y con recubrimiento. Como electrolito se utilizó la solución *SBF*, la cual se mantuvo a una temperatura constante de 37 °C, sin agitación y aireada.

⁶⁴ KOKUBO, Tadashi, TAKADAMA, Hiroaki, How useful is *SBF* in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials* 27 (2006) 2907–2915.

Para las pruebas RPL se realizó un barrido de potencial de $\pm 20\text{mV}$ desde el potencial de circuito abierto (PCA), a una velocidad de barrido de $0,2\text{ mV/s}$. Por su parte, para los ensayos de polarización potenciodinámica se trabajó en el rango de potencial entre $-0,5\text{ V}$ y $1,2\text{ V}$ vs. Ag/AgCl a una velocidad de barrido de $0,35\text{ mV/s}$, iniciando igualmente en PCA.^{65,66}

⁶⁵ QUINTERO, Andrés, Op. Cit.

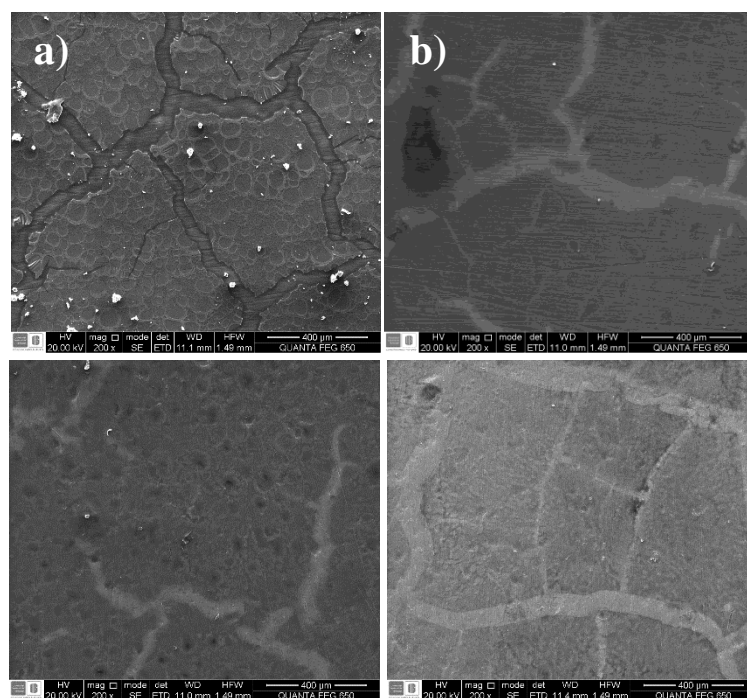
⁶⁶ BRAVO, Oscar, SIERRA, Jhon, Op. Cit.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO TRATADOS TÉRMICAMENTE A 60°C

5.1.1 Caracterización de la bioactividad usando mediciones de microscopia electrónica de barrido. Recubrimientos de quitosano/biovidrio tratados térmicamente a 60°C sin inmersión en *SBF* presentaron agrietamiento y falta de homogeneidad superficial, en donde luego de su exposición al fluido corporal hay el desprendimiento de la capa de biovidrio depositada sobre el quitosano.

Figura 2. Fotomicrográficas para a) recubrimiento quitosano/biovidrio sin inmersión en *SBF* y para recubrimientos quitosano/biovidrio expuestos a *SBF* durante b) 7 días, c) 10 días y d) 20 días.



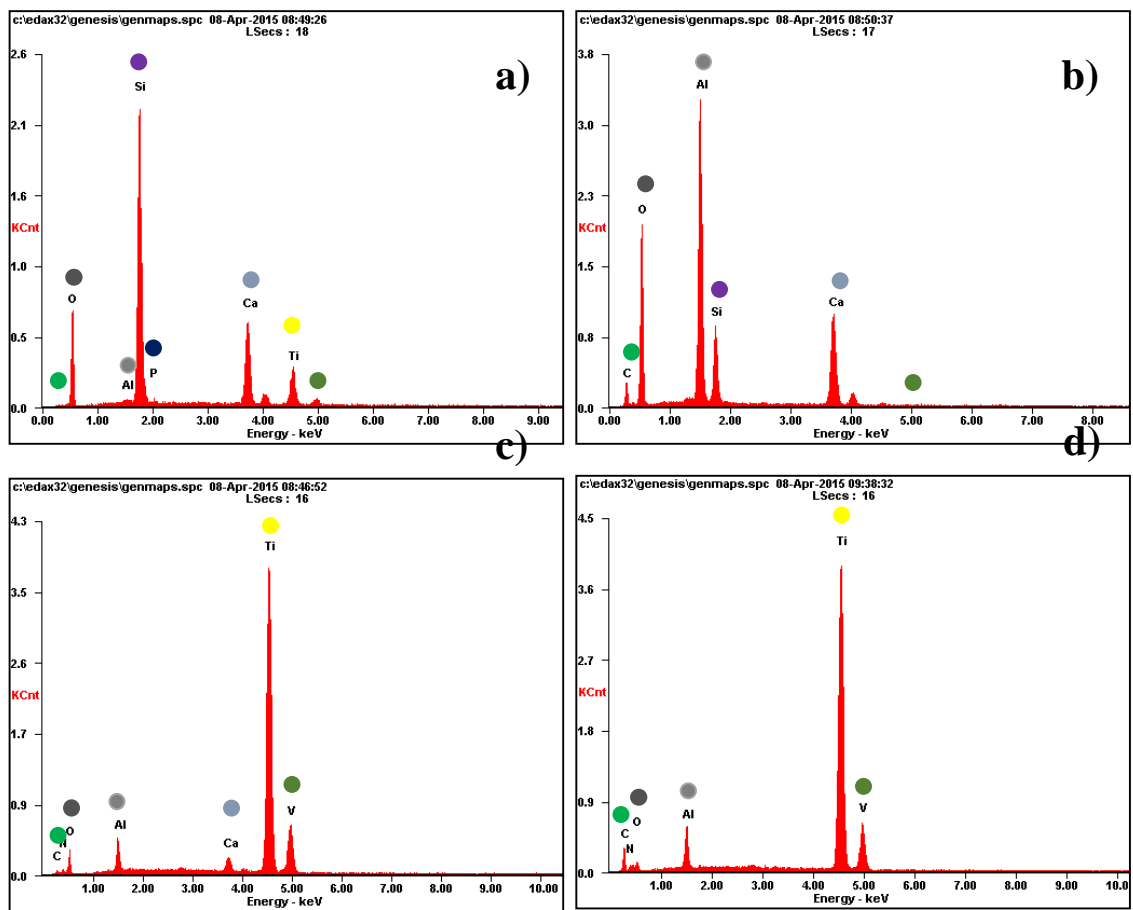
Los recubrimientos quitosano/biovidrio fueron evaluados en *SBF* para diferentes tiempos de exposición, las variaciones ocasionadas en cada uno fueron comparadas con un recubrimiento original sin inmersión en *SBF* (figura 2 a). Luego de 7, 10 y 20 días de exposición al fluido corporal (figuras 2 b, c y d), las muestras no presentaron cambios significativos relacionados con la presencia del compuesto fosfato de calcio “hidroxiapatita”, que permitieran correlacionarlos con una respuesta bioactiva, indicando su formación, por lo tanto se considera que las muestras tratadas térmicamente no presentaron comportamiento bioactivo alguno.

5.1.2 Caracterización de la bioactividad usando mediciones de espectroscopia de energía dispersa (EDS). Para conocer características relacionadas con el comportamiento de los recubrimientos quitosano/biovidrio frente al fluido corporal, se realizó una valoración de los posibles cambios relacionados con la composición química, al igual que se realizó una valoración de los cambios físicos y/o morfológicos mediante SEM. Por ello a partir de las mediciones semi-cuantativas de la composición usando los espectros EDS, fue posible establecer que el recubrimiento sin inmersión en *SBF* (figura 3 a) presentó picos de los elementos composicionales del biovidrio, tales como Si, Ca y P, los cuales van decreciendo significativamente a medida que se incrementa el tiempo de exposición al fluido corporal (figuras 3 b, c y d) hasta desaparecer, observar que para 20 días de exposición solo hay la presencia de los picos del sustrato Ti6Al4V (figura 3 d). Lo anterior permite establecer que los recubrimientos de biovidrio presentaron un comportamiento reactivo frente al medio, disolviéndose, más no un comportamiento bioactivo, al no observarse incremento para los picos correspondientes a los elementos Ca y P, los cuales son comúnmente usados para describir la formación de la fase hidroxiapatita y su comportamiento bioactivo.

De los espectros EDS también es característico observar que en el blanco no hay la presencia del pico correspondiente al carbono, mientras que a medida que se aumenta el tiempo de exposición frente al *SBF* empieza a incrementar en

intensidad, reflejando la exposición del recubrimiento de quitosano frente al fluido. Lo anterior corrobora la hipótesis inicial de la disolución del biovidrio en el fluido corporal. Razón por la cual no se obtuvo bioactividad en estas muestras, debido a la inestabilidad del biovidrio frente al medio.

Figura 3. Espectros EDS para a) recubrimiento quitosano/biovidrio sin inmersión en *SBF* y para recubrimientos quitosano/biovidrio expuestos a *SBF* durante b) 7 días, c) 10 días y d) 20 días.



● Ti ● Al ● V ● Si ● Ca ● P ● O ● C

5.2 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO TRATADOS TÉRMICAMENTE A DIFERENTES TEMPERATURAS

5.2.1 Caracterización de la bioactividad usando mediciones de microscopia electrónica de barrido. Recubrimientos quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas fueron obtenidos mediante métodos diferentes, debido a la naturaleza del quitosano, el cual presenta degradación de su estructura para temperaturas superiores a 300 °C.⁶⁷

En la figura 4 se presentan las características morfológicas y superficiales de los recubrimientos quitosano/biovidrio calcinados a 150°C, 400°C y 700°C respectivamente. Los recubrimientos tratados térmicamente a 150°C fueron obtenidos por deposición de quitosano mediante dip-coating, mientras que los recubrimientos de biovidrio obtenidos por sol-gel fueron depositados sobre el quitosano mediante la misma técnica. Para la muestra sin inmersión en *SBF* (figura 4 a) se puede observar que presenta una estructura entrelazada, con la formación de grietas y desprendimiento del recubrimiento, producto de la evaporación del solvente empleado para la síntesis del sol lo que fractura al recubrimiento. Luego de su inmersión en *SBF* durante 7 días (figura 4 b) se observa la presencia de aglomerados globulares, cuya morfología característica es similar a la que ya ha sido reportada con anterioridad.^{68,69} El crecimiento de la fase hidroxiapatita es considerable en la muestra, lo que evidencia un comportamiento bioactivo de los recubrimientos quitosano/biovidrio tratados a 150°C.

⁶⁷ SARASAM, Aparna, Op. cit.

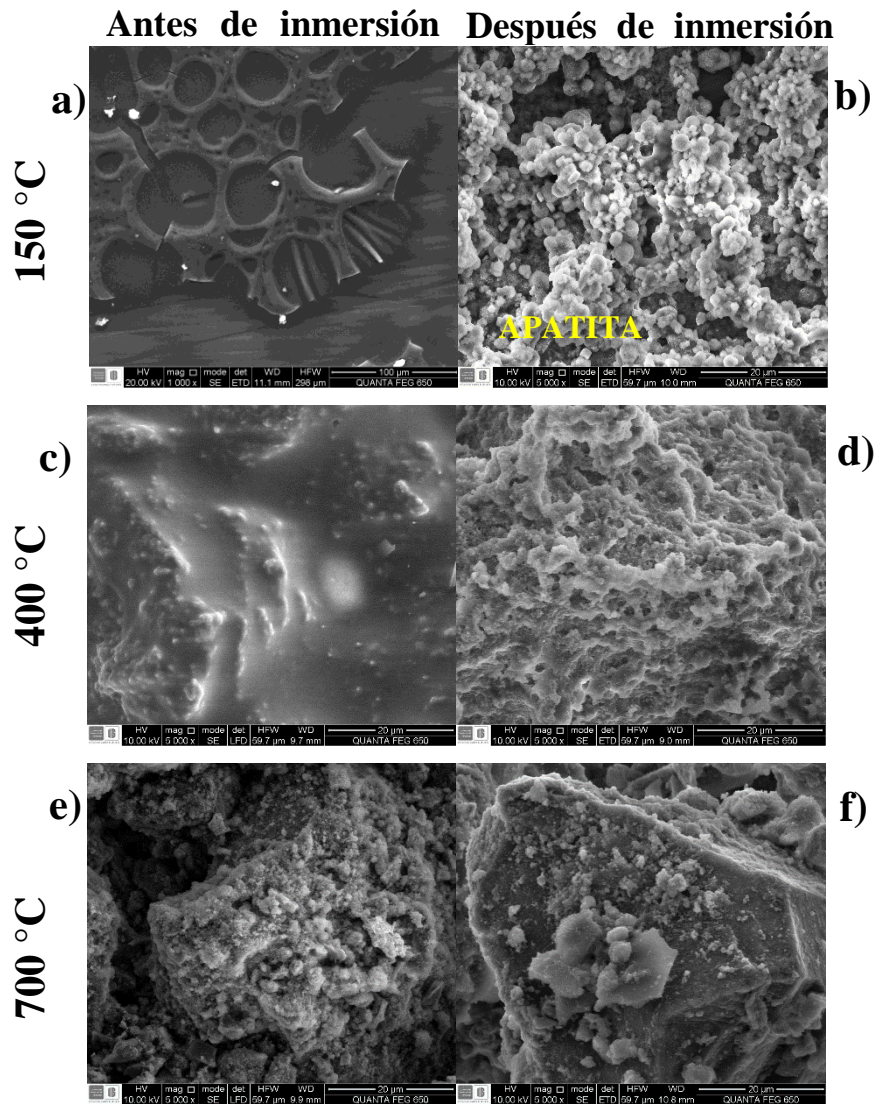
⁶⁸ JONES, Julian, Review of bioactive glass: From Hench to hybrids, *Acta Biomaterialia* 9 (2013) 4457–4486.

⁶⁹ XINA, Renlong, LENG, Yang, CHEN, Jiyong, ZHANG, Qiyi, A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo, *Biomaterials* 26 (2005) 6477–6486.

En la figura 4 c, se presenta un recubrimiento quitosano/biovidrio tratado térmicamente a 400°C sin exposición a *SBF*, las características superficiales de cohesión entre los granos se debe a la naturaleza de los polvos obtenidos sobre quitosano, debido a que no se obtiene una consistencia completa de material particulado, sino más bien queda la presencia de una fase tipo xerogel que se densifica sobre la superficie. Los recubrimientos son homogéneos, sin la presencia de porosidad o agrietamiento superficial. Luego de su inmersión en *SBF* durante 7 días (figura 4 d) se evidencia la formación de aglomerados de menor tamaño en comparación de las muestras calcinadas a 150°C, los cuales se empiezan a formarse como ramificaciones sobre la superficie, similar a una morfología reportada con anterioridad.⁷⁰

⁷⁰ GERHARDT, Lutz-Christian, BOCCACCINI, Aldo, Bioactive Glass and Glass-Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Engineering, *Materials* 2010, 3, 3867-3910; doi:10.3390/ma3073867.

Figura 4. Fotomicrográficas de recubrimientos quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas antes y después de inmersión: a) y b) 150°C, c) y d) 400°C, y d) y e) 700°C.



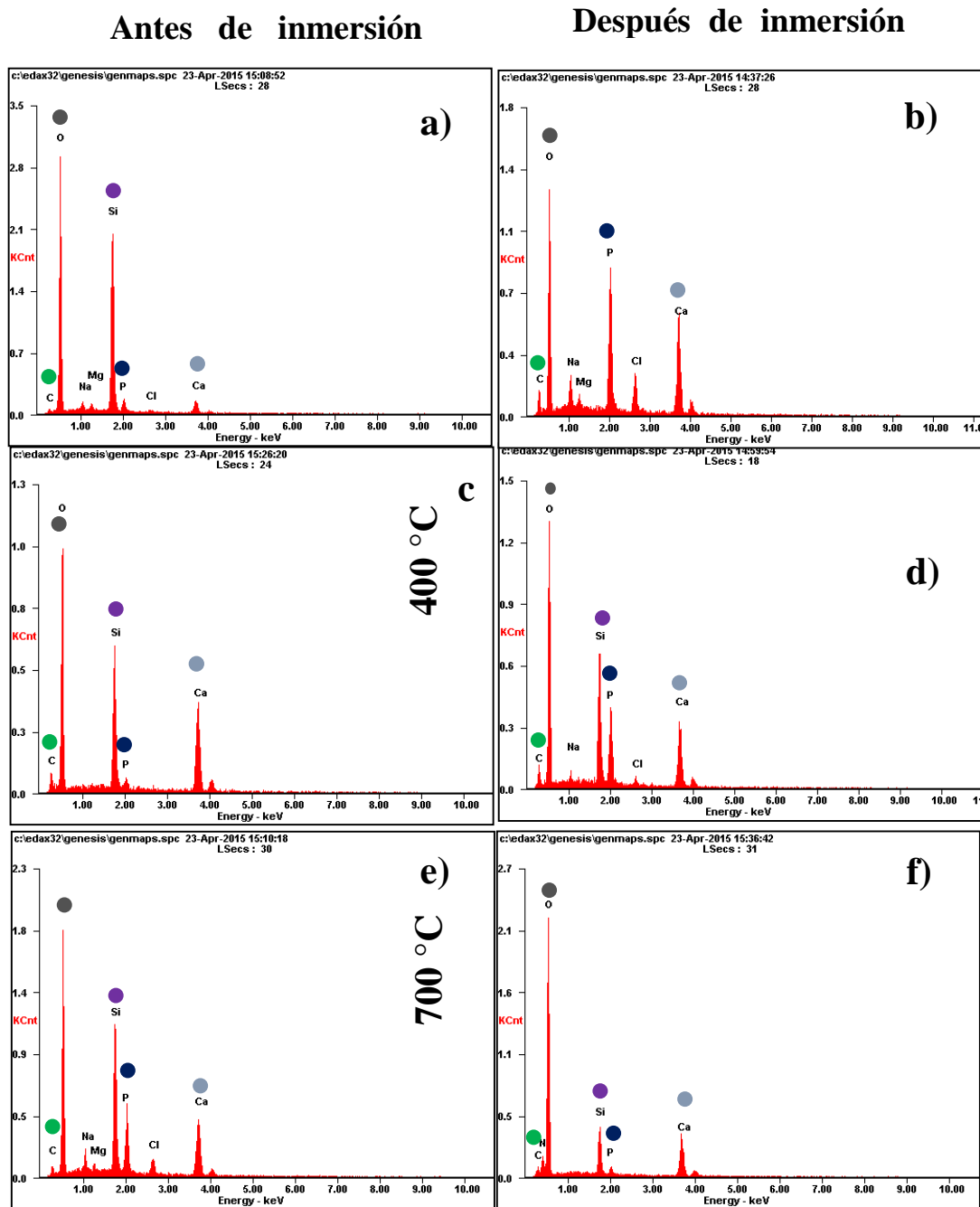
Los recubrimientos quitosano/biovidrio tratados térmicamente a 700 °C y sin inmersión en *SBF* son presentados en la figura 4 e, en donde es característico la presencia de partículas aglomeradas, debido a la compactación de los polvos depositados sobre el recubrimiento de quitosano. Luego de su inmersión en *SBF* durante 7 días (figura 4 f) los recubrimientos presentaron la deposición de

aglomerados superficiales con características morfológicas similares a la fase hidroxiapatita, sin embargo, estos son de menor tamaño y solo es posible observar los que están sobre la superficie de las partículas y no los que quedan debajo de ellas.

Del análisis anterior es posible establecer que para los diferentes recubrimientos sintetizados, las muestras calcinadas a 150°C, cuya metodología de obtención es distinta, se favorece una mayor formación de fase hidroxiapatita, indicando su mayor comportamiento bioactivo frente al fluido corporal simulado.

5.2.2 Caracterización de la bioactividad usando mediciones de espectroscopia de energía dispersa (EDS). En la figura 5 se presentan los espectros de energía dispersiva (EDS) para los diferentes recubrimientos de quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas. Comparando los espectros para antes y después de inmersión en *SBF* se estableció que los recubrimientos calcinados a 150°C fueron los que presentaron mayor variación de la concentración de Ca y de P y, a medida que se incrementa la temperatura hay disminución en la intensidad para estos picos. De lo anterior se puede observar las características de reacción de cada recubrimiento para la formación de hidroxiapatita. Es así que las mediciones semi-cuantitativas de la composición química fueron usadas para establecer que los recubrimientos quitosano/biovidrio calcinados a 150°C presentan mayor comportamiento bioactivo, mientras que los recubrimientos calcinados a 700°C presentan el menor comportamiento bioactivo y los recubrimientos calcinados a 400°C presentan un comportamiento intermedio.

Figura 5. Espectros EDS de recubrimientos quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas antes y después de inmersión: a) y b) 150°C, c) y d) 400°C, y d) y e) 700°C.



● Si ● Ca ● P ● O ● C

Los espectros EDS además permiten indicar que al efectuar un tratamiento térmico superior a 60°C que corresponde a las primeras muestras estudiadas (figura 2), se disminuye la cinética de degradación del recubrimiento, lo anterior con base a la no presencia de picos característicos para el sustrato metálico. Como también este comportamiento puede deberse a que al tener un comportamiento bioactivo los diferentes recubrimientos permiten la deposición del cerámico hidroxiapatita, el cual impide la degradación del recubrimiento, a tal punto que no se observan picos para a la aleación Ti6Al4V base.

Es notorio que hay la presencia de picos correspondientes al carbono en los espectros EDS, su origen se debe a la composición del quitosano (β - D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina) sin embargo, luego de la exposición al fluido *SBF*, estos picos pueden incrementar en intensidad debido a que durante la deposición de la hidroxiapatita el resultado es la precipitación del ion CO_3^{2-} presente en el *SBF*, dado que puede interactuar con la superficie enlazándose a los recubrimientos.⁷¹

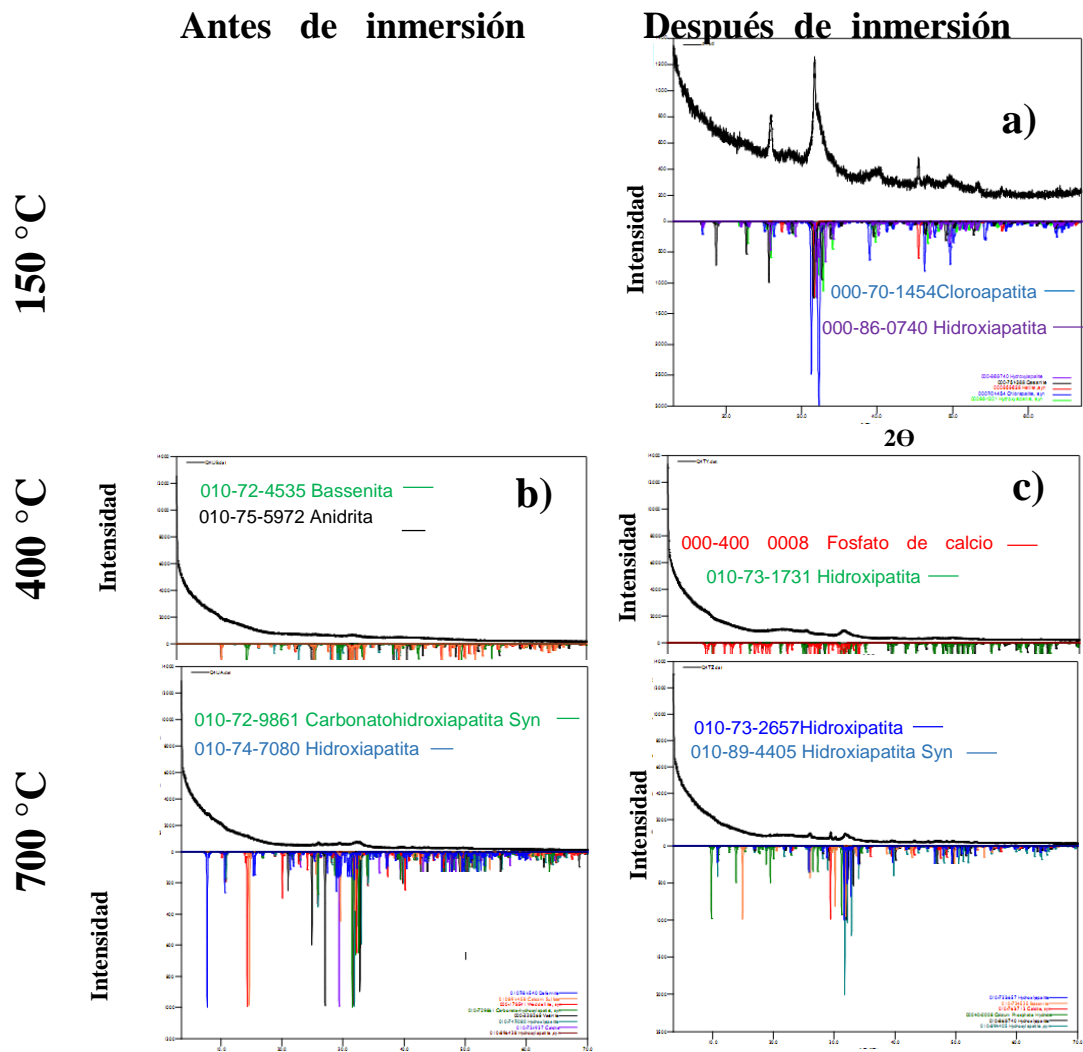
Lo establecido de los análisis de espectroscopia de energía dispersa respecto al carácter bioactivo de cada recubrimiento está en concordancia con lo propuesto para los análisis de microscopia electrónica de barrido. En donde el desarrollo de una película de biovidrio por sol-gel favoreció el crecimiento de la fase hidroxiapatita, mientras que polvos obtenidos por el mismo método presentan características físico-químicas diferentes que afectan la cinética de crecimiento de la fase de fosfato de calcio.

⁷¹ BRAVO, Oscar, SIERRA, Jhon, Op. Cit.

5.3 EVALUACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD DE RECUBRIMIENTOS QUITOSANO/BIOVIDRIO USANDO MEDICIONES DRX

En la figura 6 son presentados los difractogramas de los diferentes recubrimientos quitosano/biovidrio para antes y después de inmersión en *SBF*. Mediciones de difracción de rayos x no fueron posibles para recubrimientos calcinados a 150°C sin inmersión en *SBF*, debido a que fueron películas muy delgadas y los picos obtenidos son característicos del sustrato Ti6Al4V.

Figura 6. Difractogramas de recubrimientos quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas antes y después de inmersión: a) y b) 150°C, c) y d) 400°C, y d) y e) 700°C.



En general de los diferentes difractogramas es posible evidenciar las características amorfas de los recubrimientos depositados sobre la aleación Ti6Al4V. Sin embargo, para los recubrimientos calcinados a 150°C (figura 6 a) luego de su inmersión durante 7 días en *SBF*, es notable la intensidad de los picos para la fase hidroxiapatita en comparación de los demás recubrimientos, producto de su deposición al reaccionar el material con el medio. Las mayores intensidades para los picos de la fase hidroxiapatita fueron encontrados para los ángulos dos teta (2θ) 25.43°, 31.31° y 46.32°.

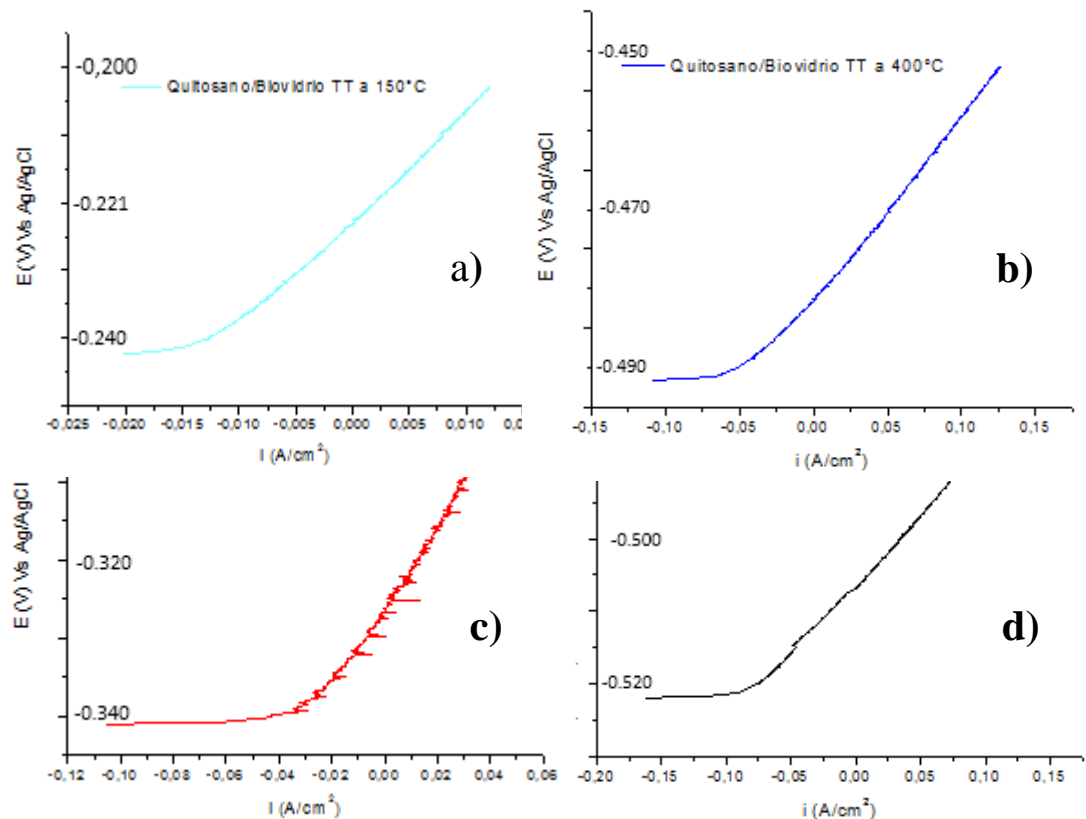
Comparando los difractogramas para los recubrimientos de quitosano/biovidrio calcinados a 400°C y 700°C antes y después de su inmersión en *SBF*, figuras 6 b, c, d y e respectivamente, se observa un incremento mínimo en la intensidad de los picos que corresponden para la fase hidroxiapatita. Hay que tener en cuenta que para el periodo de exposición de los materiales bioactivos en el medio fisiológico, no es posible que haya cristalización completa de la fase, por lo tanto es concordante con lo anterior observar bajas intensidad para los picos que la caracterizan.

De acuerdo a lo anterior es posible correlacionar los resultados y discusiones realizadas hasta ahora, en donde al igual que se observó mediante mediciones de SEM y EDS, los resultados de DRX permiten establecer que los recubrimientos quitosano/biovidrio obtenidos por dip-coating y tratados térmicamente a 150°C presentan un comportamiento bioactivo mayor a las demás muestras.

5.4 EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA DE RECUBRIMIENTOS QITOSANO/BIOVIDRIO TRATADOS TÉRMICAMENTE A DIFERENTES TEMPERATURAS

5.4.1 Evaluación del comportamiento electroquímico mediante el uso de la técnica resistencia a la polarización lineal (RPL). En la figura 7 se presenta el comportamiento electroquímico a la polarización lineal en *SBF* de la aleación Ti6Al4V recubierta con el biomaterial quitosano/biovidrio tratado térmicamente a diferentes temperaturas. Obteniéndose los valores de resistencia a la polarización lineal (R_p) de cada espécimen, los cuales son reportados en la tabla 2. Los valores de R_p se determinaron mediante el establecimiento de la pendiente en la sección recta de la curva RPL cuando la corriente es considerada nula.

Figura 7. Resistencia a la polarización lineal de a) sustrato Ti6Al4V sin recubrimiento y de recubrimientos de quitosano/biovidrio tratados térmicamente b) 150°C, c) 400°C y d) 700° después de inmersión en *SBF* durante 7 días.



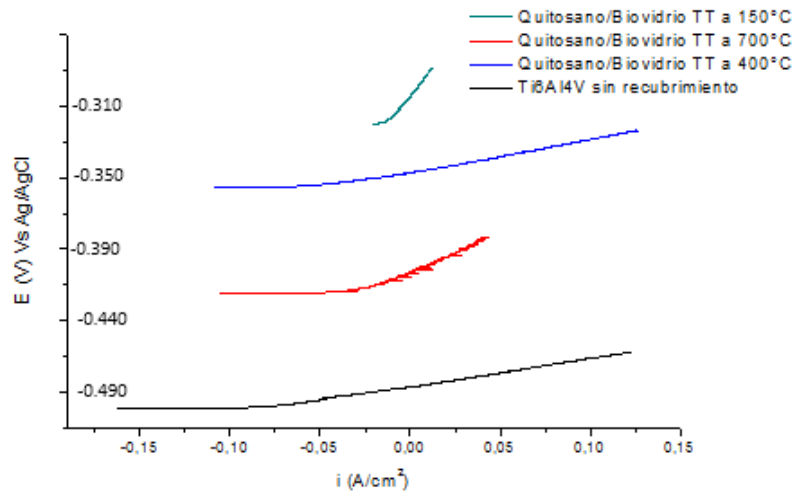
De los valores de R_p se establece que los recubrimientos de quitosano/biovidrio tratados térmicamente a 150°C son los que presenta mayor protección de la aleación Ti6Al4V frente a la degradación del fluido corporal simulado (*SBF*) luego de su exposición durante 7 días. A medida que se incrementa la temperatura de tratamiento térmico decaen los valores de R_p lo que se refleja en una disminución de la protección del aleación Ti6Al4V, al aumentar la transferencia de carga por la ocurrencia de la oxidación de la aleación, en donde esta condición puede deberse a zonas de la aleación que quedan libres de recubrimiento o por la presencia de poros interfaciales por donde penetra el electrolito.

Tabla 2. Valores de resistencia a la polarización (R_p) para sustrato de Ti6Al4V sin recubrimiento y con recubrimientos de quitosano/biovidrio tratado térmicamente a diferentes temperaturas después de inmersión en *SBF* durante 7 días.

Espécimen	$R_p \cdot 10^2$ ($\text{K}\Omega/\text{cm}^2$)
Recubrimiento quitosano/biovidrio con TT a 150°C	1.46
Recubrimiento quitosano/biovidrio con TT a 400°C	0.45
Recubrimiento quitosano/biovidrio con TT a 700°C	0.21
Ti6Al4V sin recubrimiento	0.18

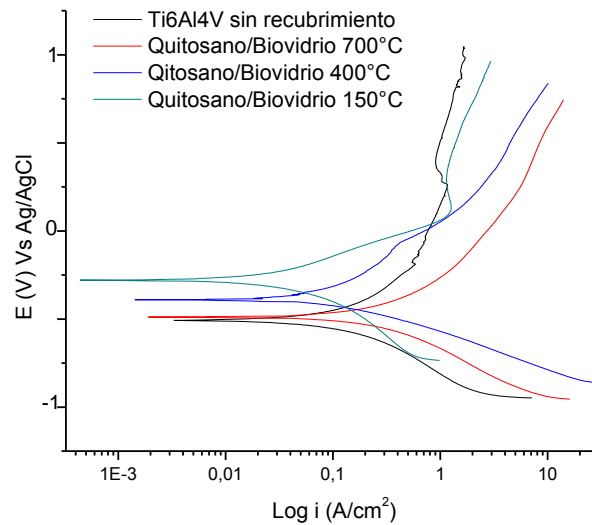
En la figura 8 se presenta la comparación del comportamiento a la polarización lineal de la aleación Ti6Al4V y de los diferentes recubrimientos. Se puede observar que hay un desplazamiento hacia potenciales anódicos para los recubrimientos en comparación con la aleación. Este desplazamiento hacia regiones de naturaleza noble indicaría que se está protegiendo a la aleación Ti6Al4V, en donde se evidencia que la menor temperatura de calcinación fue la que obtuvo un mayor desplazamiento anódico y mayor protección de la aleación Ti6Al4V, como se había establecido anteriormente.

Figura 8. Comparación del comportamiento electroquímico a la polarización lineal de la aleación Ti6Al4V y de los diferentes recubrimientos quitosano/biovidrio después de su inmersión en *SBF* durante 7 días.



5.4.2 Evaluación del comportamiento electroquímico mediante el uso de la técnica polarización potenciodinámica. En la figura 9 se presentan las curvas de polarización potenciodinámica en *SBF* para sustratos de Ti6Al4V sin y con recubrimientos de quitosano/biovidrio tratados térmicamente a diferentes temperaturas. El comportamiento presentado por la aleación no se encuentra alejado de lo reportado en la literatura [11]. Se evidencia que hay un desplazamiento hacia potenciales de comportamiento noble cuando la aleación es recubierta con el biomaterial. El recubrimiento de quitosano/biovidrio calcinado a 150°C fue el que mayor desplazamiento anódico presentó, condición que concuerda con lo establecido mediante la técnica de resistencia a la polarización lineal.

Figura 9. Comparación del comportamiento electroquímico a la polarización potenciodinámica frente al *SBF* de la aleación Ti6Al4V y de los diferentes recubrimientos quitosano/biovidrio.



En la tabla 3, son presentados los parámetros electroquímicos para la aleación Ti6Al4V sin recubrimiento y recubierta con el biomaterial quitosano/biovidrio, obtenidos de las curvas presentados en la figura 9. En donde se observa que los recubrimientos calcinados a 150°C presentaron mayor resistencia a la polarización (R_p), disminuyendo con esto la transferencia de carga para la ocurrencia de la reacción de oxidación, lo que se refleja en la menor velocidad de degradación de la aleación Ti6Al4V recubierta en contacto con *SBF*. Contrario a esto como ya había sido establecido al aumentar la temperatura de tratamiento térmico se disminuye la resistencia a la polarización y por lo tanto se obtienen mayores velocidades de degradación de la aleación Ti6Al4V recubierta. Sin embargo, cabe resaltar que el uso de los recubrimientos disminuye la degradación al compararlos directamente con la aleación.

Tabla 3. Parámetros electroquímicos para sustrato de Ti6Al4V sin recubrimiento y con recubrimientos de quitosano/biovidrio tratado térmicamente a diferentes temperaturas después de inmersión en *SBF* durante 7 días.

Espécimen	E_{corr} (mV)	β_a (mv/décad a)	β_c (mv/décad a)	i_{corr} (μ A)	$R_p \cdot 10^2$ ($K\Omega/cm^2$)	$V_{corr} \cdot 10^2$ (mpy)
Recubrimiento quitosano/biovidrio con TT a 150°C	- 2,87E+07	2,00E+06	5,00E+06	1,00E+0 3	6,20E+02	3,46
Recubrimiento quitosano/biovidrio con TT a 400°C	- 5,07E+07	3,00E+06	3,00E+06	2,15E+0 3	3,03E+02	7,44
Recubrimiento quitosano/biovidrio con TT a 700°C	- 3,91E+07	3,00E+06	2,00E+06	2,70E+0 3	1,93E+02	9,34
Ti6Al4V sin recubrimiento	- 4,89E+07	2,00E+06	2,00E+06	3,30E+0 3	1,32E+02	11,42

El mejoramiento de la resistencia a la degradación como se observa con la disminución de las corrientes de corrosión (i_{corr}) en la figura 9 y tabla 3 para los recubrimientos quitosano/biovidrio en comparación a la aleación Ti6Al4V sin recubrimiento, se debe posiblemente a la presencia del cerámico hidroxiapatita que se deposita sobre la superficie, funcionando como barrera a la transferencia de carga por parte del aleación Ti6Al4V o depositándose sobre las imperfecciones superficiales por donde posiblemente puede penetrar el electrolito que contiene especies electroactivas que presentan una tendencia de reaccionar en la interfase aleación/*SBF* pidiendo carga. De acuerdo con la anterior descripción el comportamiento presentado por los recubrimientos quitosano/biovidrio calcinados a 150°C puede correlacionarse con su comportamiento bioactivo analizado anteriormente mediante las técnicas SEM-EDS, en donde es apreciable que esta muestra presenta la mayor deposición de la fase hidroxiapatita, lo que se refleja en

la disminución de la degradación de la aleación Ti6Al4V al ser expuesta por un periodo de 7 días en *SBF*.

6. CONCLUSIONES

- Los recubrimientos de quitosano/biovidrio obtenidos presentaron condiciones superficiales distintas debido a cada método de síntesis empleado, es así que los depositados por dip-coating presentan agrietamiento y desprendimiento del recubrimiento, mientras que la deposición de polvos presentaron diferentes grados de aglomeración de las partículas.
- La temperatura de tratamiento térmico tiene efecto sobre el comportamiento bioactivo de los recubrimientos quitosano/biovidrio, en donde la calcinación a 150°C presentó el mejor comportamiento para la formación de apatitas y a medida que se incrementa la temperatura (400°C y 700°C) se disminuye las características bioactivas.
- Los diferentes recubrimientos quitosano/biovidrio presentaron naturaleza amorfa, sin embargo, fue posible observar mediante mediciones de difracción de rayos X (DRX) que hay pequeñas variaciones en los picos registrados para las muestras luego de su inmersión en *SBF*, los cuales corresponden a la fase hidroxiapatita.
- El comportamiento electroquímico de la aleación Ti6Al4V recubierta con el biomaterial quitosano/biovidrio presenta correlación con el comportamiento bioactivo, en donde la mayor formación de apatitas (recubrimiento a 150°) presenta la mayor protección del aleación Ti6Al4V (menor velocidad de degradación) y, a medida que se incrementa la temperatura de calcinación se disminuye el crecimiento de la fase apatita y protección de la aleación.

7. RECOMENDACIONES

- Evaluar el comportamiento bioactivo y electroquímico para periodos de exposición más extensos en el fluido corporal simulado (*SBF*) para sustratos de Ti6Al4V recubiertas con quitosano/biovidrio con diferentes tratamientos térmicos, verificando los cambios morfológicos, composicionales y de transferencia de carga.
- Evaluar el efecto del tamaño de partícula de los polvos de biovidrio tratados a diferentes temperaturas sobre el comportamiento bioactivo y electroquímico de recubrimientos de quitosano/biovidrio soportados sobre Ti6Al4V.
- Determinar las variaciones en las concentraciones de calcio y fósforo del fluido *SBF* las cuales sean empleadas para fundamentar la formación del compuesto hidroxiapatita.

BIBLIOGRAFÍA

BALAMURUGANA, A., BALOSSIERB, G., MICHELB, J., FERREIRA, J.M.F. Electrochemical and structural evaluation of functionally graded bioglass-apatite composites electrophoretically deposited onto Ti6Al4V alloy. *Electrochimica Acta* 54 (2009) 1192–1198.

BERGMANN, Carlos, Verlag Berlin Heidelberg 2013. ISBN 978-3-642-38223-9. STUMPF, Aisha. *Dental ceramics: Microstructure, properties and degradation*. Springer -

BIZARI, D., RABIEE, M., MOZTARZADEH, F., M. Synthesis, characterization and biological evaluation of sol–gel derived nanomaterial in the ternary system 64 % SiO₂ - 31 % CaO - 5 % P₂O₅ as a bioactive glass: in vitro study. *Ceramics – Silikáty* 57 (3) 201-209 (2013).

BRAVO, Oscar, SIERRA, Jhon. Efecto de la alúmina en las propiedades físicas, químicas, electroquímicas y bioactivas de recubrimientos de biovidrio compuesto por 64%SiO₂-31%CaO-5P₂O₅ soportados sobre acero AISI 316L, Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2013.

CHEN, Q., MCEWEN, G.D., ZAVERI N et al. Emerging Nanotechnologies in Dentistry, chapter 9: Corrosion Resistance of Ti6Al4V with Nanostructured TiO₂ Coatings. DOI: 10.1016/B978-1-4557-7862-1.00009-2.

CHEN, Q., ROETHER, J. A., BOCCACCINI, A. R. *Topics in Tissue Engineering*, Vol. 4. Eds. N Ashammakhi, R Reis, & F Chiellini © 2008.

COUTO D. S., ALVES N. M., MANO J. F. Nanostructured multilayer coatings combining chitosan with bioactive glass nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol* 2009; 9:1741–1748.

FITZGERALD, Victoria. Structural characterisation of bioactive glasses. Tesis de Doctorado. Universidad de Kent. Julio, 2007.

GEETHA, M., SINGH, A.K., ASOKAMANI, R., GOGIA, A.K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Progress in Materials Science* 54 (2009) 397–425.

GERHARDT, Lutz-Christian, BOCCACCINI, Aldo, Bioactive Glass and Glass-Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Engineering, *Materials* 2010, 3, 3867-3910; doi:10.3390/ma3073867.

HENCH, Larry L. The story of Bioglass. *J Mater Sci: Mater Med* (2006) 17:967–978.

JEBAHI, Samira, OUDADESSE, Hassane, WERS, Eric. Effect of pH and Ionic Exchange on the Reactivity of Bioglass/Chitosan Composites Used as a Bone Graft Substitute. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* 7(5) 2013.

JONES, Julian, Review of bioactive glass: From Hench to hybrids, *Acta Biomaterialia* 9 (2013) 4457–4486.

JURCZYK, M.U., JURCZYK, K., MIKLASZEWSKI, A., JURCZYK, M. Nanostructured titanium-45S5 Bioglass scaffold composites for medical applications. *Materials and Design* 32 (2011) 4882–4889.

KOKUBO, Tadashi, TAKADAMA, Hiroaki, How useful is *SBF* in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 27 (2006) 2907–2915.

LEE, Eun-Jung, SHIN, Du-Sik, Kim, Hyoun-Ee. Membrane of hybrid chitosan–silica xerogel for guided bone regeneration. *Biomaterials* 30 (2009) 743–750.

LETAIEF, N., LUCAS-GIROT, A., OUDADESSE, H. New 92S6 mesoporous glass: Influence of surfactant carbon chain length on the structure, pore morphology and bioactivity. *Materials Research Bulletin* 60 (2014) 882–889.

LUZ, Gisela M., MANO, Joao F. Preparation and characterization of bioactive glass nanoparticles prepared by sol–gel for biomedical applications. *Nanotechnology* 22 (2011) 494014 (11pp).

MAMI, Mohamed, OUDADESSE, Hassane, DORBEZ-SRIDJ, Rachida, CAPIAUX, Hervé. Synthesis and in vitro characterization of melt derived 47s cao–p2o5–sio2–na2o bioactive glass. *Ceramics – Silikáty* 52 (3) 121-129 (2008).

MEHDIPOUR, Mehrad, AFSHAR, Abdollah. A study of the electrophoretic deposition of bioactive glass–chitosan composite coating. *Ceramics International* 38(2012)471–476.

MUZZARELLI, R.A.A., BIAGINI, G., DEBENEDITTIS, A. Chitosan-oxychitin coatings for prosthetic materials. *Carbohydrate Polymers* 45 (2001) 35-41.

OUDADESSE, Hassane, VUONG, Xuan, LE GAL, Yann. Chitosan Effects on Bioactive Glass for Application as Biocomposite Biomaterial. *International journal of biology and biomedical engineering*, Issue 2, Volume 5, 2011.

PARK, Joon, BRONZINO, Joseph. *Biomaterials principles and applications*. CRC PRESS, ISBN 0-8493-1491-7.

PEÑA, J., IZQUIERDO-BARBA, I., GARCÍA, M.A. Room temperature synthesis of chitosan/apatite powders and coatings. *Journal of the European Ceramic Society* 26 (2006) 3631–3638.

QUINTERO, Andrés, Obtención y evaluación de superficies de policaprolactona-chitosano patronadas por ablación láser, Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2013.

RATNER, Buddy, HOFFMAN, Allan, SCHOEN, Frederic et al. *Biomaterial Science: An introduction to materials in medicine*. Academic Press, 0-12-582460.

SAIZ, E., GOLDMANA, M., GOMEZ-VEGA, J.M., TOMSIA, A.P., MARSHALL, G.W. In vitro behavior of silicate glass coatings on Ti6Al4V. *Biomaterials* 23 (2002) 3749–3756.

SARASAM, Aparna. Chitosan- polycaprolactone mixtures as biomaterials - influence of surface morphology on cellular activity. Tesis de Doctorado. Jawaharlal Nehru Technological University. Hyderabad, India, 2001.

SEOL, Yang-Jo, LEE, Jue-Yeon, PARK, Yoon-Jeong. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation. *Biotechnology Letters* 26: 1037–1041, 2004.

SEUSS, Sigrid, LEHMANN, Maja, BOCCACCINI, Aldo R. Alternating Current Electrophoretic Deposition of Antibacterial Bioactive Glass-Chitosan Composite Coatings. *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15, 12231-12242; doi:10. 3390/ijms150712231.

SIMON, J.P., FABRY, G. An overview of implant materials. *Acta orthopedic Belgica*, Vol. 57-1-1991.

TUZLAKOGLU, K., REIS, R. L. Formation of bone-like apatite layer on chitosan fiber mesh scaffolds by a biomimetic spraying process. *J Mater Sci: Mater Med* (2007) 18:1279–1286.

VOGEL, Martin, VOIGT, Christian, GROSS, Ulrich M. In vivo comparison of bioactive glass particles in rabbits. *Biomaterials* 22 (2001) 357–362

WANG, Guocheng, ZREIQAT, Hala. Functional Coatings or Films for Hard-Tissue Applications. *Materials* 2010, 3, 3994–4050 manuscripts; doi: 10.3390/ma3073994.

XINA, Renlong, LENG, Yang, CHEN, Jiyong, ZHANG, Qiyi, A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo, *Biomaterials* 26 (2005) 6477–6486.

YLÄNEN, Heimo. *Bioactive glasses Materials, properties and applications*. Woodhead Publishing Limited, 2011. ISBN 978-0-85709-331-8.