

**REFORZAMIENTO DE ESPUMAS DE CARBÓN VÍTREO UTILIZANDO
RECUBRIMIENTOS DE BIOVIDRIO FABRICADOS POR EL MÉTODO SOL-GEL**

DIEGO MANUEL NIÑO RODRÍGUEZ

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍA FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2017

**REFORZAMIENTO DE ESPUMAS DE CARBÓN VÍTREO UTILIZANDO
RECUBRIMIENTOS DE BIOVIDRIO FABRICADOS POR EL MÉTODO SOL-GEL**

DIEGO MANUEL NIÑO RODRÍGUEZ

**Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero
Químico**

Directora:

Elcy María Córdoba Tuta

Ph.D. En Ciencia y Tecnología de Materiales

Universidad industrial de Santander

Codirectora:

Viviana Raquel Güiza Argüello

Ph.D. En Ingeniería Química

Universidad Industrial de Santander

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍA FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2017

AGRADECIMIENTOS

Dra. Viviana Raquel Güiza Argüello, por su apoyo incondicional, paciencia, guía y valiosas enseñanzas que me han ayudado a crecer como persona.

Dra. Elcy María Córdoba Tuta, por su acompañamiento y entrega en la realización del presente trabajo de grado.

Ing. Natalia Teran, por su gran aporte y conocimiento brindado en el desarrollo de las pruebas experimentales.

Ing. Jhon Harrison Sierra Uribe, por la ayuda incondicional y amistad brindada.

Ing. Guillermo Acero Medina, por su valiosa ayuda y disposición en el desarrollo del estudio de viscosidad.

Técnicos de planta de aceros, Mario, Ambrosio y Oscar por su colaboración.

Se agradece al **Proyecto 1824: EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN SISTEMA POLÍMERO-CERÁMICO PARA LA FABRICACIÓN DE SOPORTES PARA EL TRATAMIENTO DE DEFECTOS ÓSEOS PEQUEÑOS** a través del cual se financió la presente investigación.

Al Laboratorio de Microscopía de la Universidad Industrial de Santander, por los servicios brindados.

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

A mi madre por ser mi mayor apoyo, mi confidente y el motor de mi vida.

A mi padre por ser la persona que más me ha enseñado en esta vida.

*A mis hermanos, por tantas experiencias brindadas
que me han forjado como persona.*

*A los profesores de la escuela de Ingeniería Química
Que con su conocimiento, enseñanzas y apoyo me han guiado en este camino
que escogí y me hace feliz.*

*A mis compañeros, por estar siempre presentes en los momentos difíciles
y compartir momentos de alegría y risas.*

Diego Niño

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	16
1. DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA.....	19
1.1. PRUEBAS PRELIMINARES.....	19
1.1.1. Desarrollo de una metodología para preparar soles precursores de biovidrio por el método sol-gel.....	19
1.1.2. Síntesis de polvos de biovidrio.....	20
1.1.3. Caracterización química por Fluorescencia de Rayos X.....	20
1.2. ANÁLISIS DE LA VISCOSIDAD.....	20
1.2.1. Desarrollo de la metodología para recubrir las espumas CVR.....	20
1.2.2. Obtención de la curva de gelificación.....	21
1.2.3. Síntesis de recubrimientos de biovidrio.....	21
1.2.4. Pruebas para escoger las viscosidades de los soles precursores.....	22
1.3. OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS DE BIOVIDRIO.....	22
1.3.1. Pretratamiento de las espumas CVR.....	22
1.3.2. Evaluación de la resistencia a la compresión.....	23
1.4. CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE APATITAS.....	23
1.4.1. Pruebas de reactividad in vitro en solución PBS.....	23
2. RESULTADOS.....	24
2.1. ANÁLISIS ELEMENTAL DE LOS POLVOS DE BIOVIDRIO.....	24
2.2. DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA RECUBRIR ESPUMAS DE CARBÓN VÍTREO UTILIZANDO SOLES DE BIOVIDRIO.....	24

2.2.1. Curvas de gelificación de los soles.....	25
2.2.2. PRETRATAMIENTO DE LA ESPUMA CVR.....	26
2.3. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS Y MORFOLÓGICAS DE LAS ESPUMAS DE CARBÓN RECUBIERTAS CON BIOVIDRIO.....	27
2.3.1. Micrografías.....	27
2.3.2. Test mecánico.....	30
2.4. PRUEBAS IN VITRO.....	31
2.4.1. Ensayos de resistencia a la compresión.....	32
2.4.2. Microscopia electrónica de barrido.....	33
2.4.3. Espectroscopia de dispersión de energía de rayos X.....	38
3. CONCLUSIONES.....	41
4. RECOMENDACIONES.....	42
REFERENCIAS.....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXOS.....	52

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Análisis FRX de los polvos de biovidrio de 45 % SiO ₂ y 65% SiO ₂	24

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Tiempos de añejamiento para las viscosidades de 5 y 10 cP.	26

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Espuma de Carbón Vítreo Reticulado (CVR).....	11
Figura 2. Tubo de polipropileno utilizado para remover el exceso de sol precursor de biovidrio. (a) vista superior, (b) vista frontal	21
Figura 3. Curvas de viscosidad vs tiempo de calentamiento a 60 °C. (a) Sol de 65% SiO ₂ (b) Sol de 45% SiO ₂	25
Figura 4. Micrografías de los conjuntos Biovidrio 45% SiO ₂ /CVR con diferentes pretratamientos. (a) Pretratamiento etanol/agua, (50x. (b) Pretratamiento etanol/agua (100x). (c) Sin pretratamiento, 50x. (d) Sin pretratamiento (100x).	27
Figura 5. Efecto de la calcinación en la densidad del biovidrio sinterizado.	28
Figura 6. Micrografías de espumas de CVR. (a) 50X; (b) 100X.....	29
Figura 7. Resistencia a la compresión de espumas CVR recubiertas.....	31
Figura 8. Resistencia a la compresión de espumas CVR recubiertas, después de varios días de inmersión en PBS.	33
Figura 9. Micrografías SEM de los recubrimientos de biovidrio antes de inmersión en PBS. (a) 45% SiO ₂ (b) 65% SiO ₂ (c) Grosor de la capa de 45% SiO ₂ (d) Grosor de la capa de 65% SiO ₂	34
Figura 10. Estructura de biovidrios. (a) 65% SiO ₂ (b) 35% SiO ₂ . Los recuadros en la parte superior muestran la red de silicato, mientras que átomos de calcio (celeste) y fósforo (amarillo) se muestran en los recuadros de la parte inferior.	35
Figura 11. Micrografías a 800 aumentos de recubrimientos de biovidrio a diferentes tiempos de inmersión de PBS: (a) 45% SiO ₂ , 7 días. (b) 65% SiO ₂ , 7 días. (c) 45% SiO ₂ , 14 días. (d) 65% SiO ₂ , 14 días. Micrografías con 100 aumentos: (e) 45% SiO ₂ , 7 días. (f) 65% SiO ₂ , 7 días.	36
Figura 12. Recubrimiento de biovidrio pasados 21 días en PBS.	37

Figura 13. Espectros EDS de los recubrimientos de biovidrio. (a) 45% SiO₂, 0 días. (b) 65% SiO₂, 0 días. (c) 45% SiO₂, 7 días. (d) 65% SiO₂, 7 días. (e) 45% SiO₂, 14 días. (f) 65% SiO₂, 14 días.....38

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Etapas de la investigación.....	52
Anexo B. Reactivos utilizados.....	53
Anexo C. Metodología para preparar soles de biovidrio por el método sol-gel.	54
Anexo D. Metodología para recubrir las espumas de carbón vítreo reticulado.	55
Anexo E. Diseños experimentales de los estudios de la influencia de la viscosidad y el número de capas depositadas sobre la morfología de los recubrimientos de biovidrio.	55
Anexo F. Metodología para recubrir las espumas de carbón vítreo reticulado con varias capas.....	56
Anexo G. Diseño experimental para el estudio del efecto del recubrimiento de las espumas CVR con biovidrio en las propiedades mecánicas del sistema CVR/biovidrio.....	57
Anexo H. Diseño experimental para el estudio del efecto del pretratamiento utilizado en la morfología de los recubrimientos de biovidrio	57
Anexo I. Pretratamiento de etanol/agua para las espumas de CVR.	58
Anexo J. Diseño experimental de la prueba in vitro en solución PBS.....	58
Anexo K. Micrografías de los recubrimientos con 1, 2 y 3 capas de sol depositadas.	59
Anexo L. Histogramas de los datos de resistencia a la compresión	60
Anexo M. Resultados de las pruebas estadísticas de Kruskal-Wallis	66

RESUMEN

TÍTULO: REFORZAMIENTO DE ESPUMAS DE CARBÓN VÍTREO UTILIZANDO RECUBRIMIENTOS DE BIOVIDRIO FABRICADOS POR EL MÉTODO SOL-GEL¹

AUTORES: Diego Manuel Niño Rodríguez²

PALABRAS CLAVE: Carbón vítreo Reticulado, biovidrio, método sol-gel, recubrimiento.

DESCRIPCIÓN:

Espumas de carbón vítreo reticulado han sido estudiadas recientemente para su uso en aplicaciones biomédicas. En la presente investigación se desarrolló una metodología para recubrir las espumas CVR con biovidrio con composiciones de 65% SiO₂, 5% P₂O₅ y 30% CaO y 45% SiO₂, 5% P₂O₅, y 50% CaO. Dichos recubrimientos de biovidrio fueron caracterizados y estudiados en sus propiedades morfológicas por medio de Microscopía óptica confocal y Microscopía electrónica de barrido (SEM). Los conjuntos CVR/biovidrio fueron evaluados en su resistencia a la compresión y en la capacidad de formación de apatitas mediante ensayos *in vitro* a diferentes tiempos de inmersión y posteriormente un análisis de Espectroscopia de Dispersión de Energía Rayos X (EDS) se realizó a fin de evaluar la capacidad de formación de apatitas de dichos recubrimientos. Los resultados evidencian la deposición exitosa del biovidrio sobre la superficie de las espumas, por su parte, el estudio de la morfología del recubrimiento mostró una relación entre la composición del biovidrio y la morfología final del recubrimiento. Los resultados de las pruebas mecánicas indicaron que no hubo diferencias significativas en términos de resistencia a la compresión, y que, por lo tanto, los recubrimientos de biovidrio no tuvieron un efecto reforzador en las espumas CVR. Por otra parte, los ensayos *in vitro* mostraron que la reactividad de los recubrimientos de biovidrio en medios acuosos está estrechamente relacionada con la composición de los mismos. En dichos ensayos *in vitro* no se observó la formación de apatitas, sin embargo, esto no es evidencia de la bioinactividad de los recubrimientos sintetizados en la presente investigación.

¹ Trabajo de grado

² Facultad de ingenierías fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directores: Ph.D. Elcy María Córdoba Tuta, Ph.D. Viviana Raquel Güiza Argüello.

ABSTRACT

TITLE: REINFORCEMENT OF VITREOUS CARBON FOAMS USING SOL-GEL DERIVED BIOGLASS AS A COATING³

AUTORS: Diego Manuel Niño Rodríguez⁴

KEYWORDS: Reticulated vitreous carbon, bioglass, sol-gel method, coating.

DESCRIPTION:

Reticulated vitreous carbon foams (RVC) have been recently studied for biomedical applications. In this work, a process to coat RVC foams with bioglass (compositions: 65% SiO₂, 5% P₂O₅ and 30% CaO; 45% SiO₂, 5% P₂O₅, and 50% CaO) was developed. The structure of the coating was analyzed through confocal microscopy and scanning electron microscopy (SEM). The mechanical properties and morphology of the RVC/bioglass composites were evaluated. The ability to form an apatite layer on the surface of the coatings was also tested through energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS), after immersion in phosphate buffered saline (PBS). The results showed that bioglass coatings were successfully deposited on the surface of the foams. Moreover, a relationship between bioglass composition and the morphology of the coated RVC was observed. In term of compressive strength, mechanical tests indicated that there were no significant differences, relative to the uncoated RVC foams. Therefore, the bioglass coating did not have a reinforcing effect on the RVC foams. On the other hand, in vitro tests showed that the reactivity of the bioglass coatings in aqueous media was closely related to their individual composition. Although there was no evidence of apatite formation, further studies concerning the use of different physiological solutions are needed in order to fully assess the bioactivity of the synthesized coatings.

³ Undergraduate thesis

⁴ Physical-Chemical Engineering Faculty. Chemical Engineering Department. Advisors: Ph.D. Elcy María Córdoba Tuta, Ph.D. Viviana Raquel Güiza Argüello

INTRODUCCIÓN

La ingeniería de tejidos es un área de la biomedicina que se enfoca principalmente en la creación de órganos y regeneración de tejido celular a fin de remediar defectos causados por enfermedades degenerativas, cáncer o lesiones. Con el propósito de crear ambientes que promuevan la regeneración celular, uno de los campos fundamentales en la ingeniería de tejidos es el desarrollo de materiales que sirvan de soporte para la creación de nuevo tejido con propiedades similares a las del tejido natural.

En este sentido, se han estudiado diferentes biomateriales para la regeneración de tejidos como hueso, cartílago, piel y vasos sanguíneos [1-3]. Específicamente, investigaciones en ingeniería de tejido óseo han reportado el desarrollo de matrices porosas tridimensionales con base en materiales cerámicos [4] y poliméricos [5], principalmente. Actualmente, la investigación en este campo apunta a la búsqueda de nuevos materiales que mejoren no sólo las propiedades mecánicas sino también biológicas de dichas matrices.

En este contexto, las espumas de carbón vítreo reticulado (CVR) han emergido como una interesante alternativa, ya que recientes estudios como el de Czarnecki y colaboradores [6], han demostrado que las espumas CVR proporcionan un soporte poroso, interconectado y apto para el crecimiento celular. Adicionalmente, los estudios *in vivo* que Evora y colaboradores [7] realizaron en conejos, indicaron que las espumas CVR pueden ser implantadas generando mínima respuesta inmunológica en el tejido huésped. Con base en esto, y en el hecho de que las espumas CVR han sido tradicionalmente fabricadas para aplicaciones industriales no relacionadas con la medicina (aplicaciones aeroespaciales y electroquímicas, principalmente), vale la pena explorar diferentes rutas que puedan mejorar sus propiedades biomateriales. Por ejemplo, un aspecto que requiere mejora son las propiedades mecánicas de las espumas CVR, ya que éstas son muy inferiores a las del hueso natural. Esto podría solucionarse con la infiltración de la espuma con una

fase biodegradable que le provea mayor estabilidad estructural mientras se regenera el defecto. Por otra parte, se encuentra la capacidad de dichas espumas de interactuar biológicamente con el tejido alrededor del implante, así que el uso de recubrimientos bioactivos como el biovidrio podría ayudar a fortalecer la capacidad de las espumas CVR para promover la regeneración de tejido óseo.

Desde su descubrimiento en 1969 por Hench y colaboradores, el biovidrio se ha estudiado extensivamente gracias a su capacidad de interactuar con el tejido vivo y se ha establecido como un material altamente bioactivo y biocompatible lo cual ha permitido su uso comercial de manera satisfactoria en implantes dentales y ortopédicos, principalmente para recubrir vástagos femorales. Por otra parte, Marghussian y colaboradores [8] estudiaron el efecto del cambio en la composición de silicio en las propiedades mecánicas de discos de biovidrio, concluyendo que la resistencia a la compresión aumentaba al incrementar el contenido de SiO₂ en el biovidrio. Por lo tanto, el uso de recubrimientos de biovidrio sobre espumas CVR podría mejorar las propiedades mecánicas de éstas, además de facilitar la osteoconducción y posterior osteointegración de espumas CVR implantadas.

Por otro lado, un vidrio que se considere bioactivo debe crear un ambiente compatible para la osteogénesis, por medio de su interface mineral desarrollando una unión natural entre el tejido vivo y el material. Este proceso es conocido como enlace bioactivo, el cual está integrado por una serie de reacciones que se llevan a cabo en la superficie del material. La primera fase de dicho proceso es la formación de una capa de hidroxiapatita carbonatada (HCA, por sus siglas en inglés), la cual no depende de la presencia de tejido, es decir, de una prueba *in vivo* [9]. A menudo los estudios *in vivo* son difíciles de interpretar debido a la complejidad de las respuestas biológicas que se observan. Por esto, los estudios *in vitro* proveen acercamiento inicial al comportamiento del material y ayudan a predecir el desempeño de éstos en estudios *in vivo*. En conclusión, para que un material sea bioactivo en ensayos *in vivo*, éste debe tener la habilidad de inducir la formación de apatitas en su superficie en ensayos *in vitro* [10].

En ese sentido, la presente propuesta apunta a evaluar el efecto de la composición y viscosidad del sol precursor en las propiedades mecánicas y morfológicas de espumas de carbón vítreo reforzadas con recubrimientos de biovidrio fabricados por sol-gel. Los objetivos específicos de esta investigación son:

- Desarrollar una metodología para recubrir espumas de carbón vítreo utilizando soles de biovidrio de viscosidad variable.
- Determinar las propiedades mecánicas y morfológicas de las espumas de carbón reforzadas con los recubrimientos de biovidrio.
- Evaluar la capacidad de formación de apatitas de los diferentes recubrimientos después de 7, 14 y 21 días de inmersión en solución fisiológica simulada.

1. DESCRIPCIÓN METODOLÓGICA

El presente trabajo de investigación se desarrolló en 4 etapas, las cuales se resumen en el Anexo A, mientras que los reactivos utilizados se muestran en el Anexo B. Cada una de las etapas experimentales se describe detalladamente a continuación.

1.1. PRUEBAS PRELIMINARES

Para esta investigación se eligió trabajar con dos composiciones de biovidrio de porcentaje molar: 65% SiO₂, 5% P₂O₅ y 30% CaO (identificada como 65% SiO₂), y 45% SiO₂, 5% P₂O₅, y 50% CaO (identificada como 45% SiO₂). Las espumas CVR se obtuvieron de ERG Aerospace (Duocel®, USA), y fueron discos de 10 mm de diámetro, 5 mm de altura y 20 poros por pulgada (20 PPI, por sus siglas en inglés, ver Figura 1).

Figura 1. Espuma de Carbón Vítreo Reticulado (CVR).



1.1.1. Desarrollo de una metodología para preparar soles precursores de biovidrio por el método sol-gel. En el anexo C se especifica detalladamente las dos metodologías utilizadas para preparar soles precursores de biovidrio de 45% SiO₂ y 65% SiO₂. Dicha metodología se basó en el procedimiento de un trabajo de grado anterior [11].

1.1.2. Síntesis de polvos de biovidrio El xerogel obtenido después del calentamiento en baño María, fue sometido a un proceso de molienda en un mortero y luego fue sinterizado en una mufla marca Vulcan modelo 3-550 con un sistema de control integrado a 700 °C con una rampa de calentamiento de 3 °C/min y 60 min de sostenimiento.

1.1.3. Caracterización química por Fluorescencia de Rayos X. Luego de obtener los polvos de biovidrio por molienda con mortero, éstos fueron caracterizados por medio de la técnica de Fluorescencia de Rayos X en un espectrómetro secuencial Fluorescencia de Rayos X de longitud de onda dispersiva de 4 kW marca Bruker modelo S8 TIGER, mediante el método QUANT-EXPRESS en el rango de sodio (Na) Uranio (U).

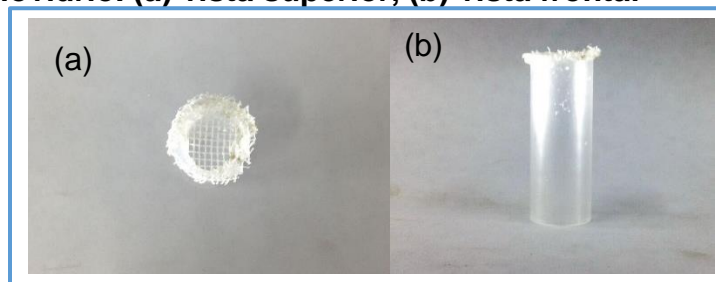
1.2. ANÁLISIS DE LA VISCOSIDAD

En esta etapa de la experimentación se fijaron las variables de viscosidad y número de capas depositadas en la muestra para cada composición (65% SiO₂ y 45% SiO₂). Esto se realizó por medio de una curva de gelificación que muestra el comportamiento de la viscosidad de los soles en función del tiempo de calentamiento a 60°C en baño María.

1.2.1. Desarrollo de la metodología para recubrir las espumas CVR. La metodología utilizada para recubrir las espumas CVR se desarrolló con base en el procedimiento realizado por Boccaccini [12]. Para retirar el exceso de sol dentro de la estructura porosa de la espuma, se utilizó un soplador de aire y un tubo de polipropileno con una malla (Ver Figura 2) en el extremo para asegurar que la espuma CVR se mantuviera estática. La metodología para recubrir las espumas CVR se especifica detalladamente en el Anexo D.

1.2.2. Obtención de la curva de gelificación. La curva de gelificación se obtuvo midiendo la viscosidad de los soles a diferentes tiempos de calentamiento. La determinación de la viscosidad de las soluciones añejadas se realizó utilizando un viscosímetro marca Brookfield modelo DV III. Tomando tres medidas de viscosidad y calculando el promedio entre dichas mediciones. Esto se hizo con el fin de obtener información del punto de gelificación de cada espécimen y tener una base para escoger las viscosidades para recubrir las espumas CVR.

Figura 2. Tubo de polipropileno utilizado para remover el exceso de sol precursor de biovidrio. (a) vista superior, (b) vista frontal



1.2.3. Síntesis de recubrimientos de biovidrio. Para obtener los recubrimientos de biovidrio, las muestras recubiertas con sol añejado fueron calcinadas a 700 °C, a una velocidad de calentamiento de 3 °C/min y 1 hora de sostenimiento. Se utilizó un horno tubular marca Dietert Dittroit para hacer la calcinación bajo atmosfera de nitrógeno a 0.15 mL/min evitando la descomposición de las espumas de carbón en presencia de oxígeno.

1.2.4. Pruebas para escoger las viscosidades de los soles precursores. Se realizaron pruebas de recubrimiento con soles de viscosidades de 3, 5 y 10 cP, y se evaluó la morfología de la capa de biovidrio depositada. Se escogieron las dos viscosidades que más favorecieron la homogeneidad del recubrimiento resultante. Adicionalmente, se realizaron recubrimientos de 2 y 3 capas con soles de 5 cP con el objetivo de estudiar el efecto de la deposición de varias capas en la morfología del recubrimiento de biovidrio. En los Anexos E y F se presentan el diseño experimental de dichas pruebas y la metodología usada para recubrir espumas CVR con más de una capa, respectivamente.

1.3. OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS DE BIOVIDRIO

En esta etapa experimental se recubrieron espumas CVR con soles de biovidrio de diferentes composiciones (65% SiO₂ y 45% SiO₂) y viscosidades (5 y 10 cP). En el Anexo G se presenta el diseño experimental de esta prueba. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado para cada combinación de variables independientes. A partir de esta etapa todos los recubrimientos mencionados se realizaron con 1 capa depositada de sol precursor de biovidrio.

1.3.1. Pretratamiento de las espumas CVR. El pretratamiento con etanol de las espumas CVR, según Boccaccini [12], favorece su hidrofiliidad y promueve la infiltración del sol dentro de la espuma, lo cual se refleja en la homogeneidad del recubrimiento. Por consiguiente, en esta primera etapa de preparación de recubrimientos se evaluó cualitativamente el efecto del pretratamiento de las espumas con agua y etanol en la calidad de los recubrimientos de composición 45% SiO₂ a 5 cP depositados. En el Anexo H se presenta el diseño experimental de esta prueba, cada combinación de variables independientes se realizó por cuadruplicado. En el Anexo I se presenta detalladamente la metodología del pretratamiento con mezclas agua/etanol.

1.3.2. Evaluación de la resistencia a la compresión. Los ensayos de resistencia a la compresión de las espumas CVR recubiertas con biovidrio se llevaron a cabo en una máquina universal de ensayos (Tinius Olsen). Dichas pruebas se realizaron a una velocidad de deformación de 0.05 mm/s, y 3 mm de distancia total recorrida, utilizando las muestras fabricadas en la etapa 3 de esta investigación. Estas pruebas mecánicas también fueron realizadas para las muestras sometidas a las pruebas *in vitro*. La muestra control consistió en espumas CVR sometidas a sinterización a 700 °C, pero sin recubrimiento de biovidrio. Cada prueba de evaluación de resistencia a la compresión se realizó por cuadruplicado.

1.4. CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE APATITAS

En esta etapa de la investigación se evaluó la capacidad de formación de apatitas de las espumas CVR recubiertas. Con este fin, se fijó la viscosidad de los soles precursores a 5 cP, ya que esta viscosidad mostró mejor morfología y homogeneidad en los recubrimientos respecto a los recubrimientos preparados con soles de viscosidad 10 cP.

1.4.1. Pruebas de reactividad *in vitro* en solución PBS. Para las pruebas *in vitro* las muestras fueron colocadas en platos de 12 pozos y sumergidas en 3 mL de solución salina tamponada de fosfato salino (PBS, por sus siglas en inglés) durante 7, 14 y 21 días a 37°C en el horno marca Binder con sistema de control de temperatura, con cambios de PBS cada 2 días, con el fin de simular los procesos de intercambio y circulación de fluidos que ocurren naturalmente en el cuerpo. En el Anexo J se presenta el diseño experimental de esta prueba. Para evaluar la presencia de apatitas en las muestras expuestas a solución PBS, se empleó Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y la técnica auxiliar de Espectroscopia de Dispersión de Energía Rayos X (EDS).

2. RESULTADOS

2.1. ANÁLISIS ELEMENTAL DE LOS POLVOS DE BIOVIDRIO

Los resultados del análisis FRX para los dos tipos de biovidrio se muestran en la Tabla 1. Tal como se puede observar, las composiciones reales de los biovidrios fueron cercanas a las composiciones teóricas esperadas de SiO₂ y CaO, aunque las composiciones de P₂O₅ estuvieron altamente desviadas. Como posibles fuentes de error en estos resultados, podrían considerarse: ligeras imprecisiones a la hora de añadir los reactivos (por ejemplo, exactitud de las pipetas usadas para medir los reactivos, y el error asociado con el operario que realiza dicha medición), así como también potenciales interferencias con el equipo de FRX, especialmente para la medición de P₂O₅.

Tabla 1. Análisis FRX de los polvos de biovidrio de 45 % SiO₂ y 65% SiO₂.

Tipo de Biovidrio	Composición teórica		Composición real		% Error
45 %SiO ₂	45%	SiO ₂	42,75%	SiO ₂	5,0 %
	50%	CaO	50,12%	CaO	0,24%
	5%	P ₂ O ₅	6,97%	P ₂ O ₅	39,4 %
65 %SiO ₂	65 %	SiO ₂	62,44%	SiO ₂	3,94 %
	30%	CaO	29,71%	CaO	0,97 %
	5%	P ₂ O ₅	7,67%	P ₂ O ₅	53,4 %

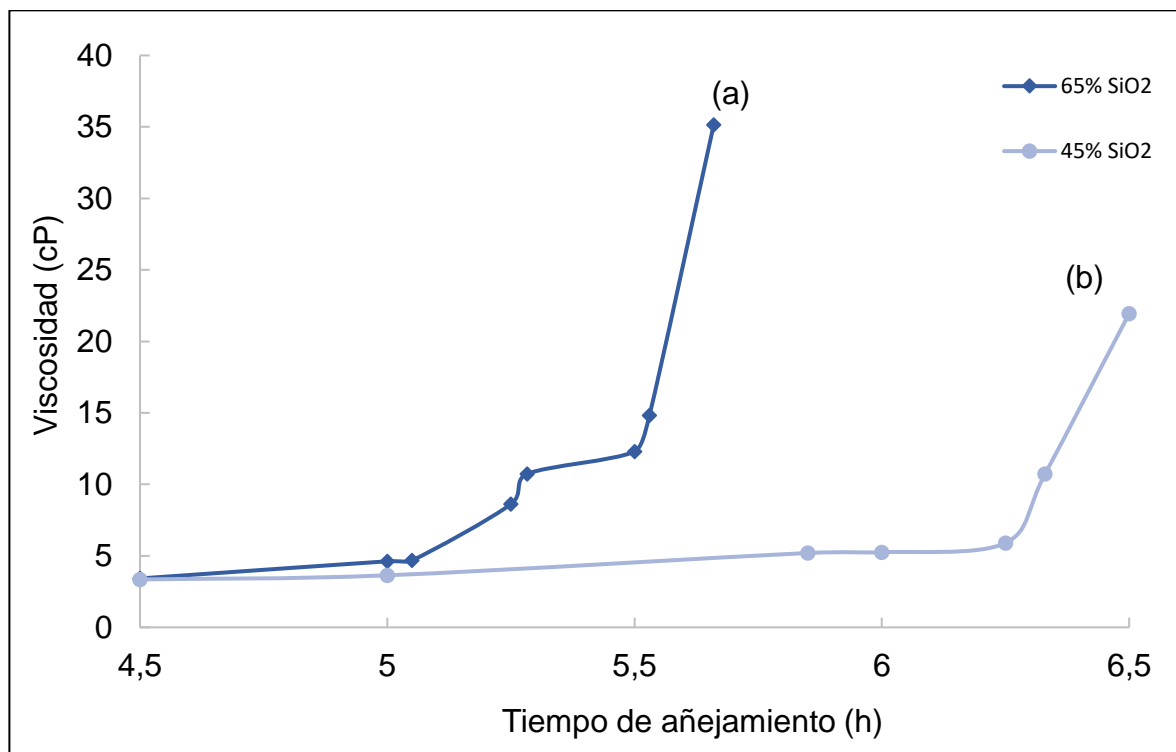
2.2. DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA RECUBRIR ESPUMAS DE CARBÓN VÍTREO UTILIZANDO SOLES DE BIOVIDRIO.

Dado que las espumas CVR carecían de un lugar de agarre resistente que permitiera sumergir y extraer la espuma en los soles a velocidad y posición controladas, la técnica *dip-coating* no pudo ser empleada. En cambio, se utilizó una metodología basada en el procedimiento propuesto por Boccaccini (Anexo D) [12].

Para tal fin se establecieron en primer lugar curvas de gelificación de los soles de biovidrio para determinar viscosidades adecuadas para recubrir las espumas.

2.2.1. Curvas de gelificación de los soles. Como se puede observar en la Figura 3, el sol de 65 % SiO₂ alcanzó el punto de gel al cabo de 5 h y 30 min de envejecimiento al baño María, tiempo en donde termina el proceso de policondensación, pasando el sol de un estado líquido a un estado semisólido. Por su parte, el sol de 45 % SiO₂ alcanzó el punto de gel aproximadamente después de 6 h y 15 min de calentamiento, mostrando una menor velocidad de gelificación que la de los soles de 65 % SiO₂. Esto indicó que los procesos de hidrólisis ocurrieron a una menor tasa en el sol de 45 % SiO₂, lo cual fue posiblemente causado por una baja concentración del precursor de sílice que actúa como agente reticulante [13].

Figura 3. Curvas de viscosidad vs tiempo de calentamiento a 60 °C. (a) Sol de 65% SiO₂ (b) Sol de 45% SiO₂.



Se eligieron entonces dos viscosidades de trabajo: 5 y 10 cP (ver Cuadro 1). A su vez, se fijó el número de capas a sólo una por recubrimiento, debido a que la deposición de más de una capa de sol en la muestra ocasionaba defectos morfológicos en el recubrimiento (mayor propagación de grietas y menor adhesión del recubrimiento, ver Anexo K).

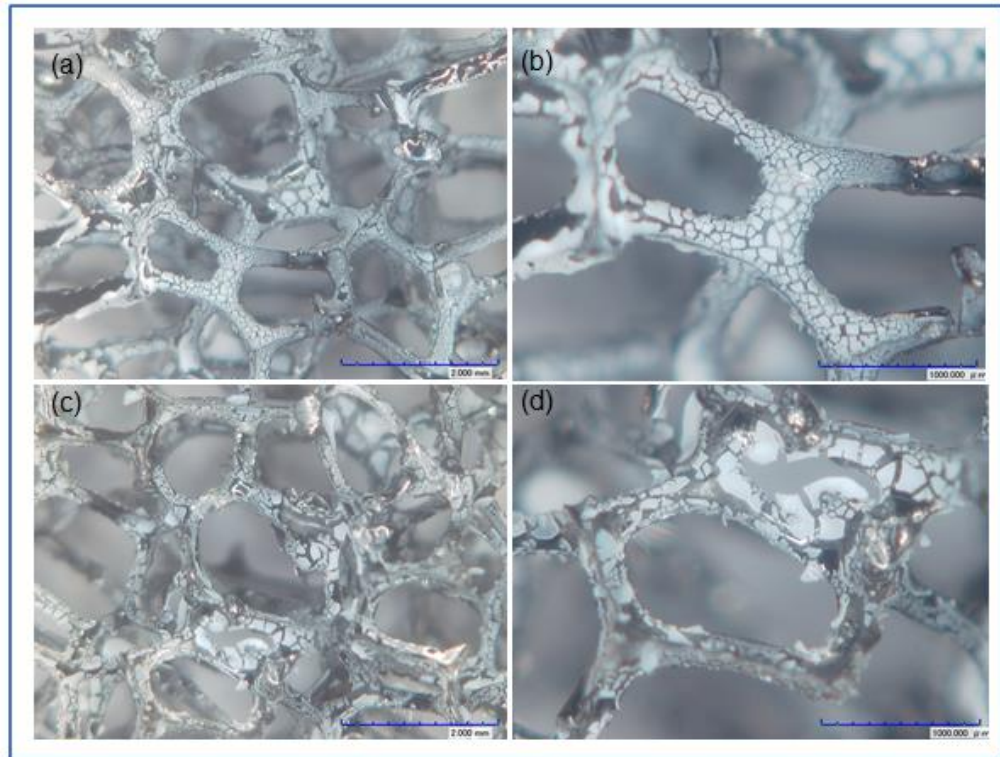
Cuadro 1. Tiempos de añejamiento para las viscosidades de 5 y 10 cP.

Viscosidad Composición	5 cP	10 cP
45% SiO ₂ , 5% P ₂ O ₅ y 50% CaO	5 h y 51 min	6 h y 20 min
65% SiO ₂ , 5% P ₂ O ₅ y 30% CaO	5 h y 3 min	5 h y 17 min

2.2.2. PRETRATAMIENTO DE LA ESPUMA CVR

En la Figura 4 se observa que, los defectos y grietas aparecen en los recubrimientos independientemente del pretratamiento implementado. Los recubrimientos de biovidrio de las muestras que no fueron previamente tratadas con etanol, en cierta medida, resultaron con más defectos (Figura 4 (c) y (d)) comparadas con los recubrimientos de las espumas sometidas a pretratamiento de etanol/agua (Figura 4 (a) y (b)). Se concluye que, el pretratamiento de las espumas de CVR con etanol o etanol/agua, tiene un efecto en la morfología final del recubrimiento, mejorando la calidad de la capa depositada y disminuyendo la cantidad del biovidrio que no se adhiere a los retículos de la espuma.

Figura 4. Micrografías de los conjuntos Biovidrio 45% SiO₂/CVR con diferentes pretratamientos. (a) Pretratamiento etanol/agua, (50x). (b) Pretratamiento etanol/agua (100x). (c) Sin pretratamiento, 50x. (d) Sin pretratamiento (100x).



2.3. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS Y MORFOLÓGICAS DE LAS ESPUMAS DE CARBÓN RECUBIERTAS CON BIOVIDRIO.

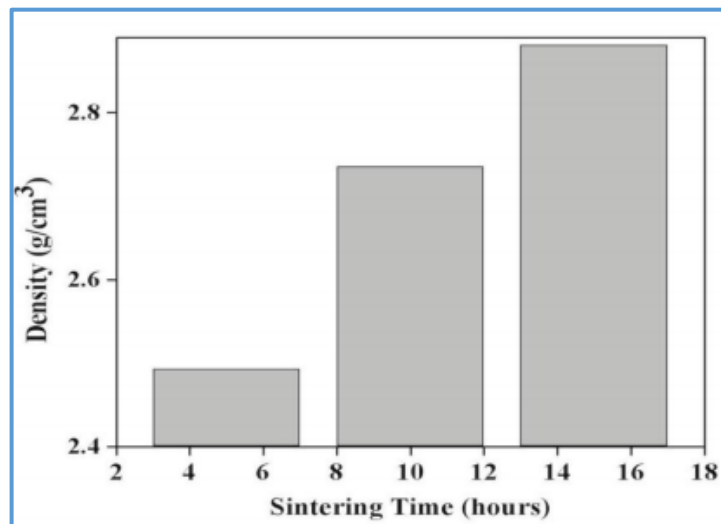
2.3.1. Micrografías. Las Figura 6 muestra micrografías de las espumas recubiertas con los soles de biovidrio de diferente composición y viscosidad. Todas las muestras fueron calcinadas a 700 °C. En aquellas que recibieron recubrimiento, se puede apreciar la presencia de una capa fina de biovidrio que recubre la mayor parte de los retículos de cada espuma.

Al comparar las imágenes, se observa una diferencia en el color de los recubrimientos. Esto se debe principalmente a la variación en la composición de

CaO de los dos biovidrios estudiados, ya que el recubrimiento de 45 % SiO₂ posee un 20 % más de CaO que el recubrimiento de 65 % SiO₂, y, por lo tanto, el primero tomó un color blanco, y el segundo apareció más translúcido.

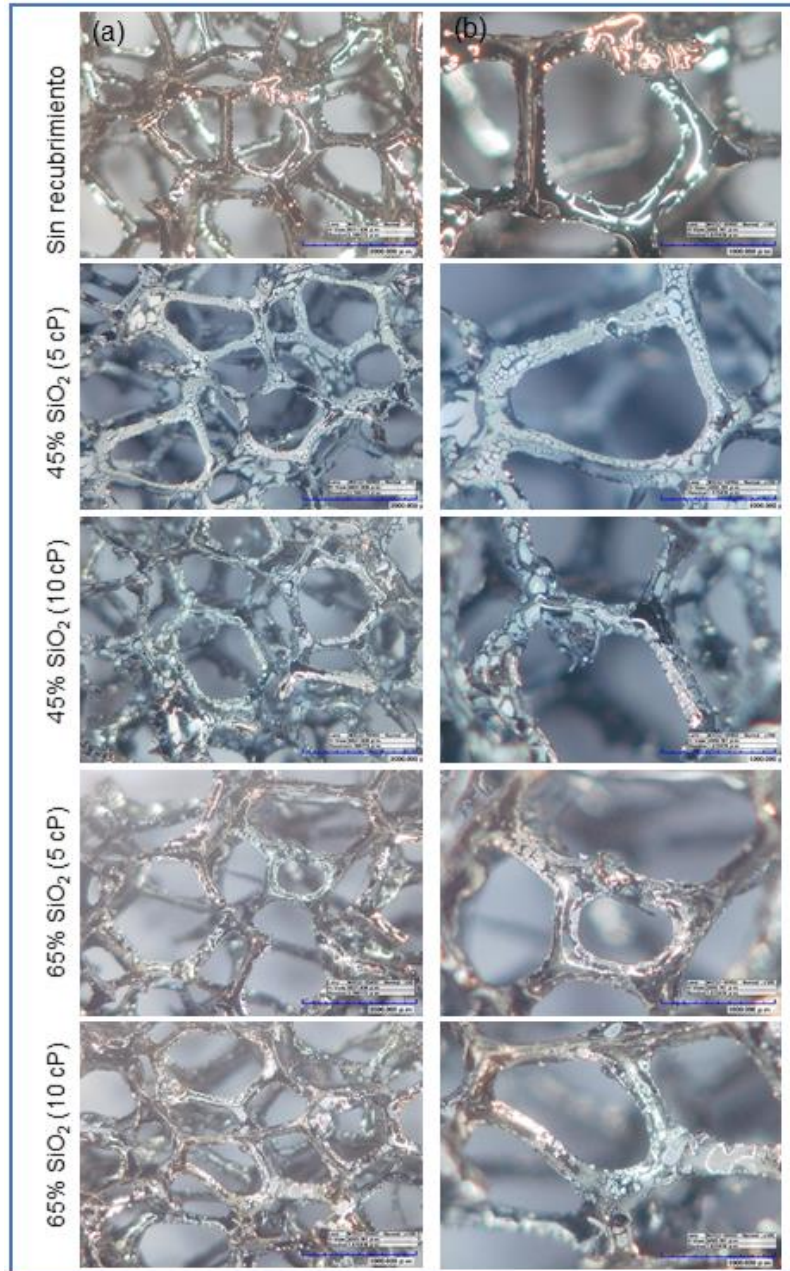
Por otra parte, morfológicamente, la estructura de todos los recubrimientos se presenta como capas discontinuas, resultado del agrietamiento ocurrido durante el proceso de calcinación. El sol depositado sobre la superficie de las espumas pasa a ser un xerogel una vez secado, y el tratamiento térmico de éste a 700 °C permite la densificación del recubrimiento. Durante esta sinterización, el gel poroso pasa a tener una estructura densa de vidrio a medida que los poros son eliminados [14]. Los estudios realizados por Hashmi comprueban este fenómeno. En dichos experimentos, se analizó la densificación de polvos de biovidrio al ser sometidos a una temperatura de 700 °C. Como resultado, se observó un notable encogimiento en el tamaño de las muestras calcinadas y un aumento de la densidad de éstas (ver Figura 5) [15].

Figura 5. Efecto de la calcinación en la densidad del biovidrio sinterizado.



Fuente: HASHMI, Muhammad Usman, et al. Effect of sintering time on crystallization, densification and in-vitro characteristics of bioactive glass ceramics. En International Journal of Engineering Science and Innovative Technology. 2014, Vol. 3, p. 368-377.

Figura 6. Micrográficas de espumas de CVR. (a) 50X; (b) 100X.



En este mismo sentido, los estudios realizados por Kokuza [16,17] sugieren que el agrietamiento en la capa de biovidrio depende del espesor de dicha capa y de la rampa de calcinación. Tales estudios declararon que el agrietamiento iniciaba a temperaturas altas cuando las capas se calcinaban con una alta rampa de

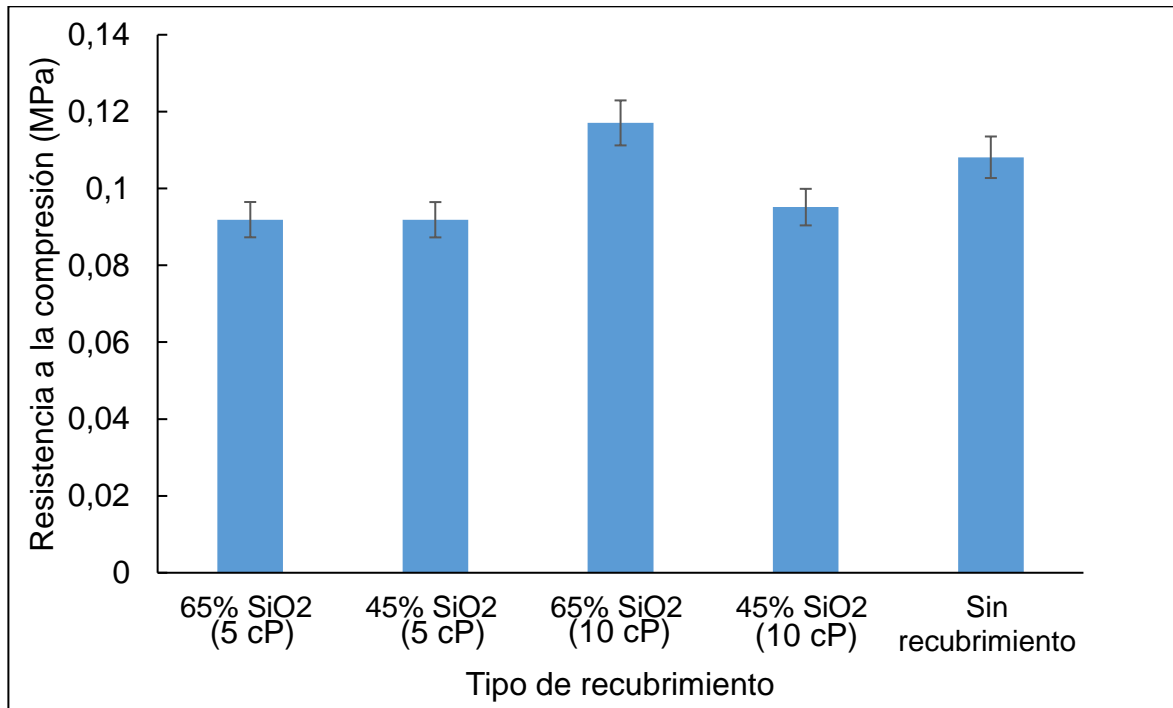
calcinación. Dicho estudio también reveló que al disminuir la rampa de calcinación las capas más gruesas se agrietaban a temperaturas bajas.

Con base en esta información, se deduce que la homogeneidad en los recubrimientos de biovidrio obtenidos en la presente investigación pudo haber sido afectada por la rampa de calcinación usada, al igual que por la posible liberación brusca de solventes y volatilización de material durante la calcinación. Finalmente, al comparar los recubrimientos obtenidos a partir de soles con viscosidad de 5 cP, se observa que éstos presentaron una estructura más uniforme que aquellos obtenidos de soles con viscosidad de 10 cP.

2.3.2. Test mecánico. En la Figura 7 se muestran los resultados de los ensayos de compresión. Dichos resultados se analizaron por el método de Weibull y posteriormente se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para comprobar si hubo o no diferencias significativas en resistencia a la compresión de las diferentes muestras.

Se realizaron cuatro mediciones de resistencia a la compresión para cada espécimen (ver Anexo L); la media de cada espécimen fue calculada utilizando una distribución de Weibull, ya que, el comportamiento mecánico de espumas frágiles como las espumas CVR puede estar estrechamente relacionado con factores experimentales como el área superficial o el volumen de los puntales, las condiciones de frontera de la muestra y la distribución aleatoria de defectos dentro de la estructura de la espuma. Por esta razón, estadísticamente, las mediciones de estos materiales no toman una distribución normal en donde los datos están centrados en un valor promedio [18,19].

Figura 7. Resistencia a la compresión de espumas CVR recubiertas.



La prueba de Kruskal-Wallis es un método no paramétrico, es decir, no asume normalidad en los datos. Dicha prueba se utiliza para probar la existencia de diferencias significativas entre las diferentes muestras [20]. Al llevar a cabo la prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de 0.05, se comprobó que no hubo diferencias significativas en términos de resistencia a la compresión, y que, por lo tanto, los recubrimientos de biovidrio no tuvieron un efecto reforzador en las espumas CVR, los resultados de dicha prueba se presentan en el anexo M.

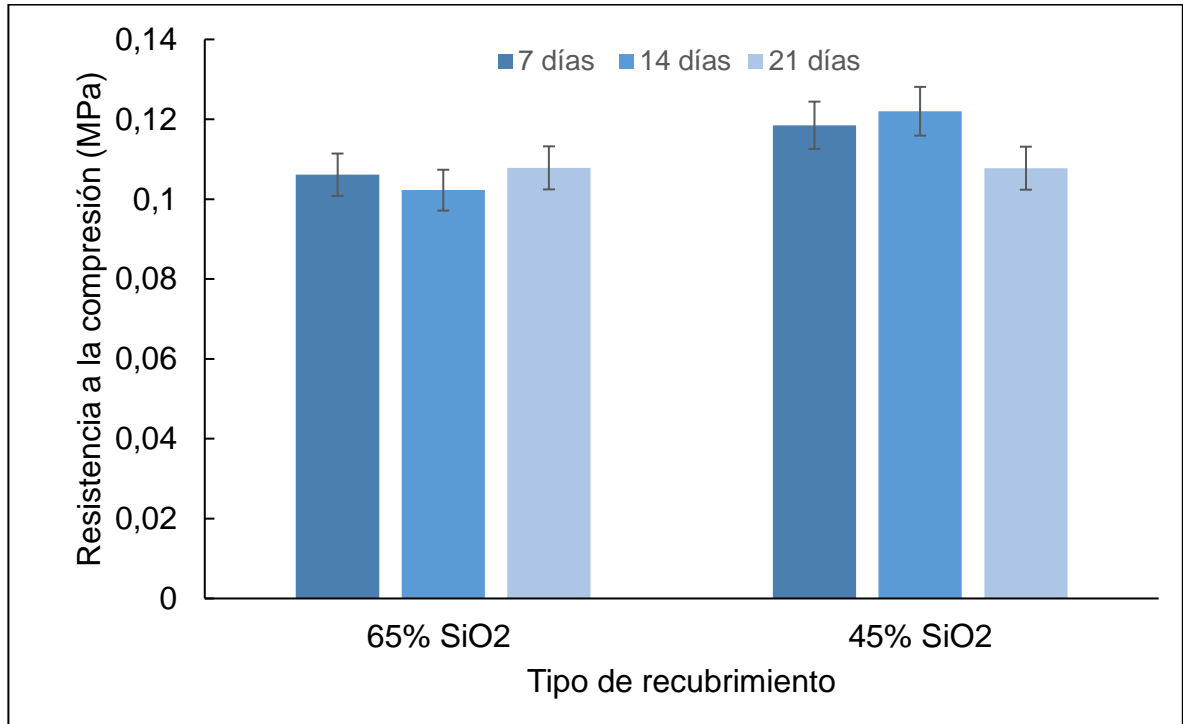
2.4. PRUEBAS *IN VITRO*

Para los ensayos de capacidad de formación de apatitas, espumas CVR recubiertas con soles de viscosidad de 5 cP fueron inmersas en PBS a 37 °C por 7, 14 y 21 días. Una vez concluidos los ensayos, las muestras fueron analizadas utilizando SEM, EDS y ensayos de resistencia a la compresión.

2.4.1. Ensayos de resistencia a la compresión. En la Figura 8 se presentan los resultados de resistencia a la compresión de las espumas CVR recubiertas y sometidas a inmersión en solución PBS. Se utilizó la distribución de Weibull para determinar las medias de los valores y con una prueba de la prueba Kruskal-Wallis se determinó que los recubrimientos de biovidrio no tuvieron un efecto significativo en las propiedades mecánicas de las espumas CVR. Sin embargo, dicho efecto reforzador fue reportado por Boccaccini y colaboradores [21] en estudios realizados utilizando suturas poliméricas biodegradables. Dichos autores encontraron que la presencia de recubrimiento de biovidrio resultó en un aumento en la resistencia a la tensión de las suturas, estos recubrimientos fueron depositados uniformemente a lo largo de la muestra aplicando presión sobre las suturas y una capa de polvo de biovidrio. Así, obteniendo recubrimientos uniformes y homogéneos sobre la sutura. En ese sentido, es probable que el efecto reforzador de las capas de biovidrio no se observó en la actual investigación debido a la estructura agrietada y poco uniforme de los recubrimientos.

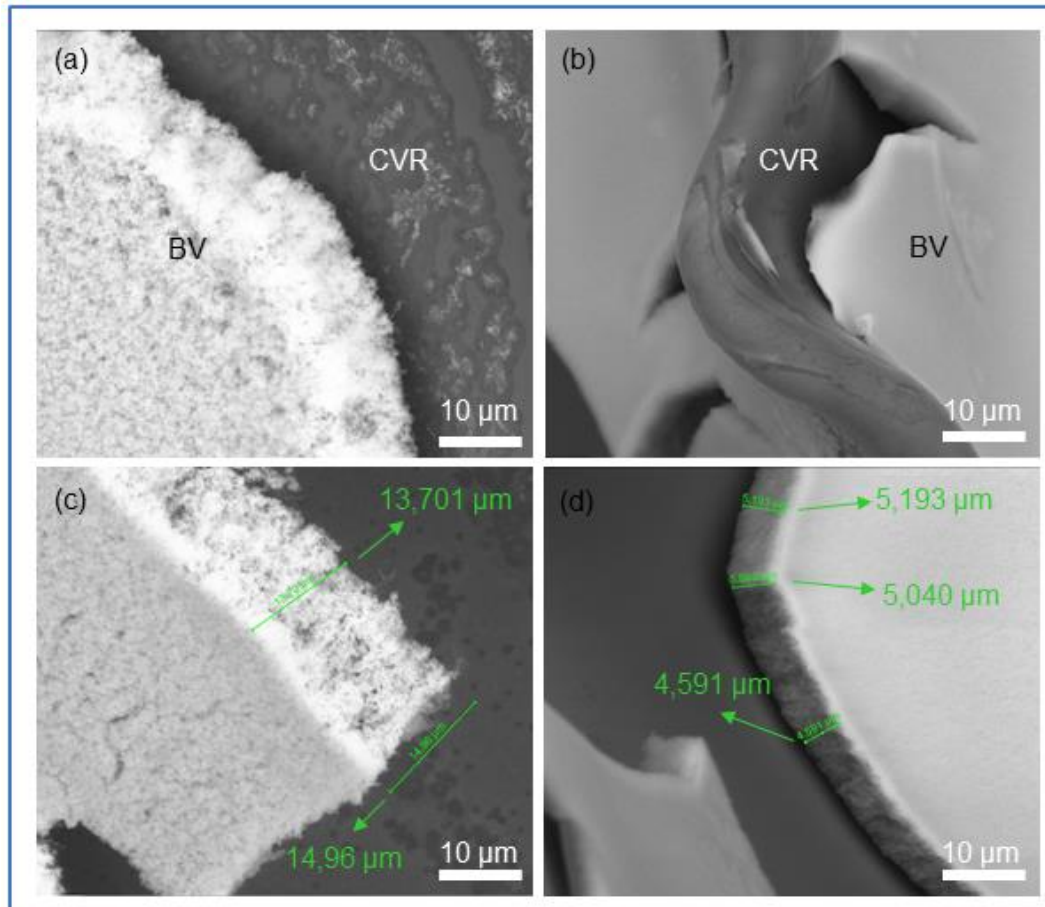
Por otro lado, las imágenes obtenidas por microscopia óptica confocal (ver figura 6), soportan los resultados obtenidos en las pruebas mecánicas. La estructura agrietada de los recubrimientos les impide a éstos ofrecer una resistencia significativa a la carga. Tal efecto de aumento en la resistencia a la compresión se evidenció en el estudio de Zreiqat y colaboradores, en el cual se sintetizaron recubrimientos homogéneos de biovidrio sobre andamios de fosfato tricálcico [22]. La homogeneidad de los recubrimientos en dicho estudio se puede atribuir a la buena afinidad del conjunto fosfato tricálcico/biovidrio en términos de adherencia del recubrimiento.

Figura 8. Resistencia a la compresión de espumas CVR recubiertas, después de varios días de inmersión en PBS.



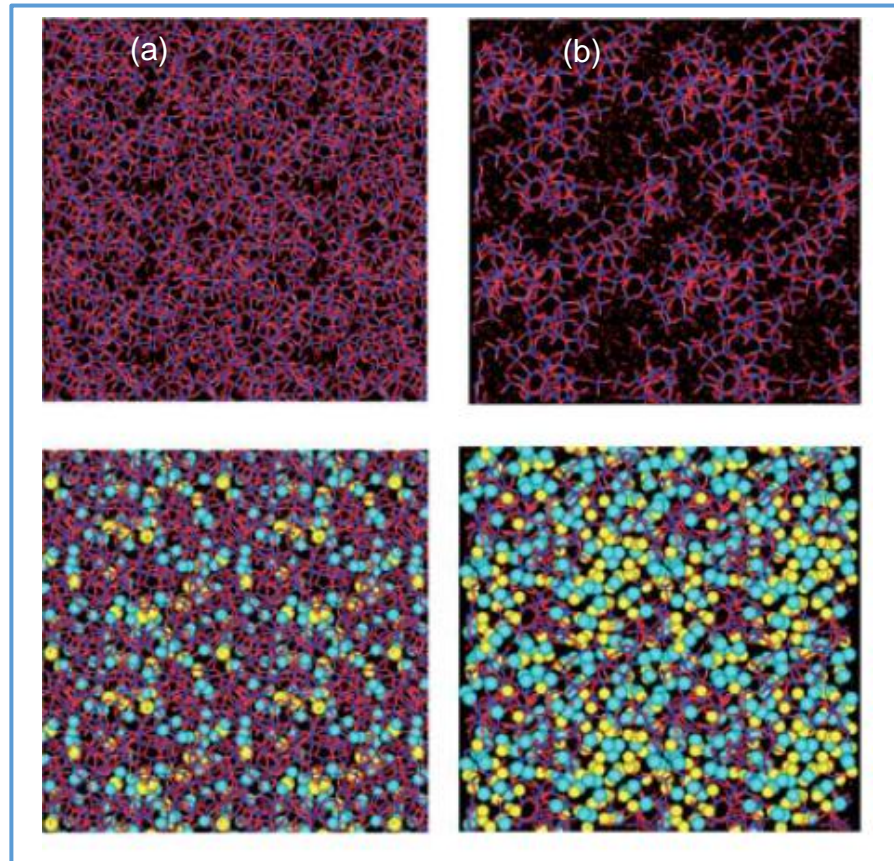
2.4.2. Microscopia electrónica de barrido. En las Figura 9 se presentan imágenes SEM de espumas CVR recubiertas antes de inmersión en PBS. Se puede apreciar que la capa de biovidrio de 45 % SiO₂ (Figura 9 (a)) presenta una estructura más porosa que la de la capa de biovidrio de 65 % SiO₂ (Figura 9 (b)). También, se puede observar que el grosor de la capa de biovidrio de 65% SiO₂ (Figura 9 (c)) estuvo alrededor de los 5 μm, mientras que la capa de 45% SiO₂ (Figura 9 (d)) tuvo aproximadamente 14 μm de espesor. Es evidente la relación que existe entre la composición del biovidrio sinterizado y la morfología final del recubrimiento.

Figura 9. Micrografías SEM de los recubrimientos de biovidrio antes de inmersión en PBS. (a) 45% SiO₂ (b) 65% SiO₂ (c) Grosor de la capa de 45% SiO₂ (d) Grosor de la capa de 65% SiO₂.



Estos resultados son coherentes con el estudio de Elgayar [23], el cual indicó que un incremento en la concentración de silicio en vidrios bioactivos causa un incremento en la conectividad de la red y la reducción de oxígenos no enlazantes, obteniendo así un biovidrio más denso. Así mismo, Tilocca [24] utilizó una simulación de dinámica molecular para demostrar que, al aumentar la cantidad de silicio en los biovidrios la conectividad de la red del cerámico aumenta y, por lo tanto, bajos contenidos de silicio resultan en una mayor cantidad de modificadores de red causando poca conectividad entre los átomos de silicio (Figura 10).

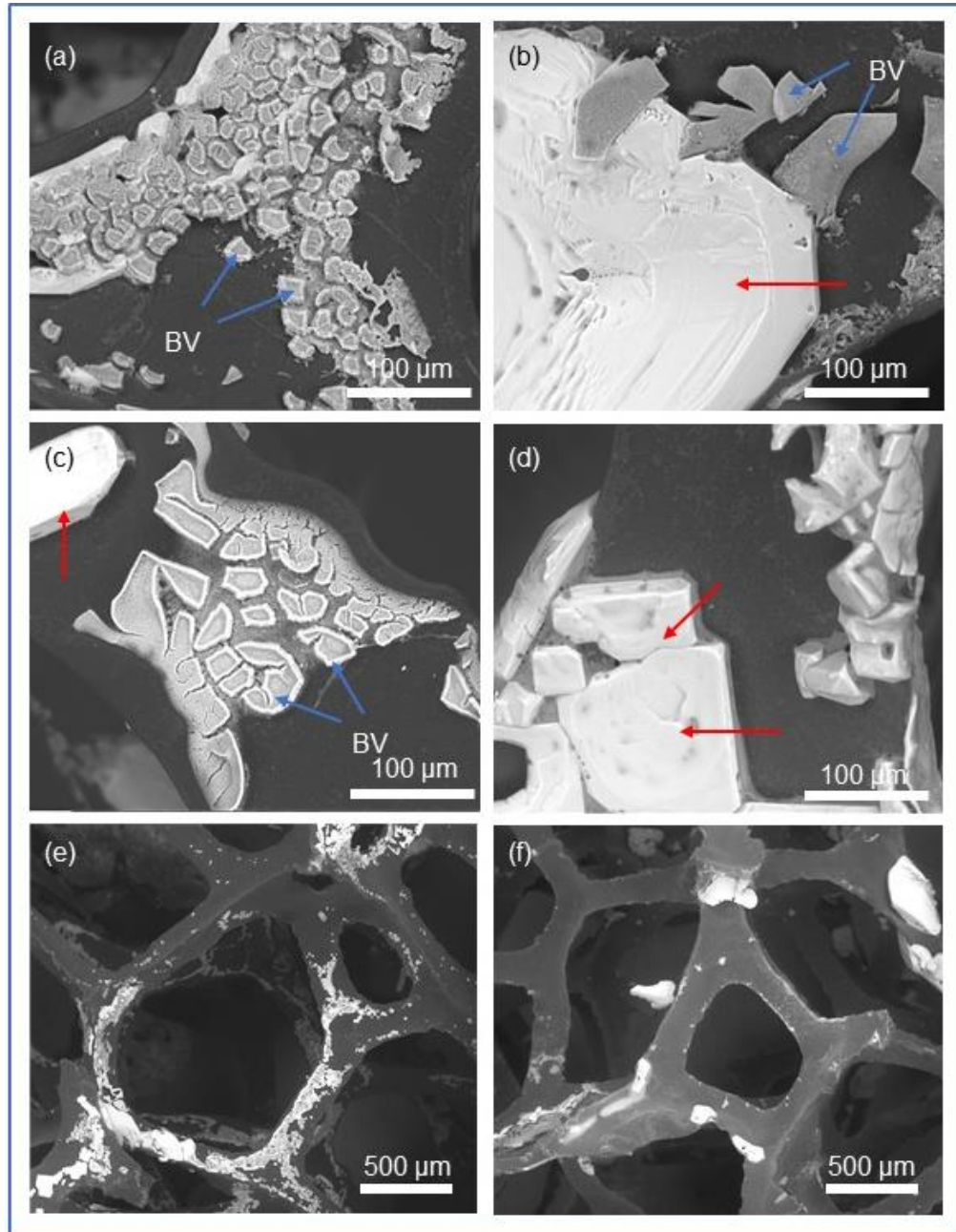
Figura 10. Estructura de biovidrios. (a) 65% SiO₂ (b) 35% SiO₂. Los recuadros en la parte superior muestran la red de silicato, mientras que átomos de calcio (celeste) y fósforo (amarillo) se muestran en los recuadros de la parte inferior.



Fuente: TILOCCA, Antonio. Models of structure, dynamics and reactivity of bioglasses: a review. En: Journal of Material Chemistry. 2010, Vol. 20, p. 6853.

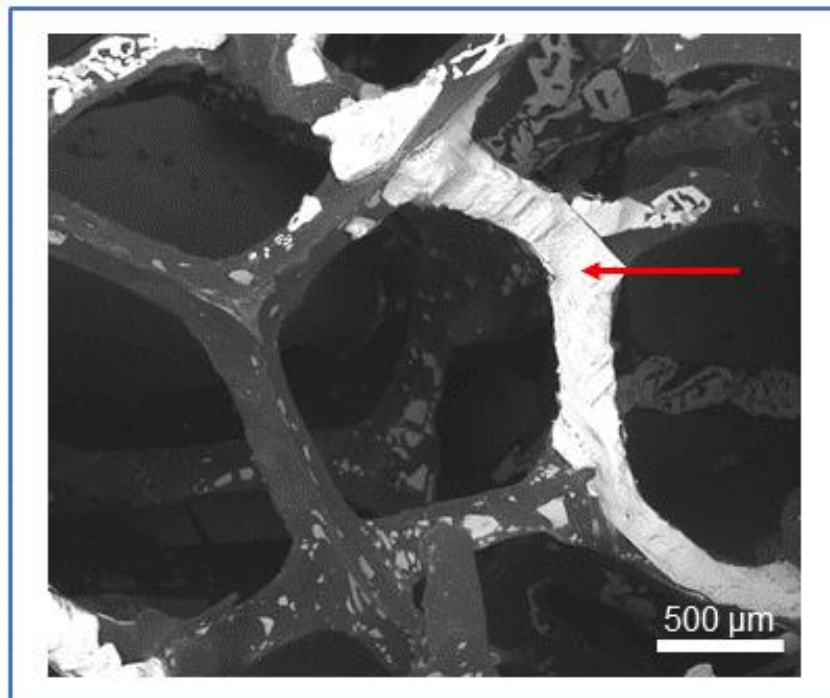
La Figura 11 muestra imágenes SEM de espumas CVR recubiertas obtenidas luego de su inmersión en el fluido fisiológico simulado. Se puede observar que después de 7 días de inmersión, el recubrimiento de 45% SiO₂ (Figura 11(a)) se disolvió parcialmente en la solución salina tamponada con fosfato. Por su parte, el recubrimiento de 65% SiO₂ (Figura 11 (b)) presentó una mayor disolución, lo cual fue evidenciado por el menor número de fragmentos de biovidrio encontrados (ver Figura 12). Análogamente, se encontraron depósitos de cristales de sal (indicadas con una flecha roja) en la superficie de la muestra.

Figura 11. Micrografías a 800 aumentos de recubrimientos de biovidrio a diferentes tiempos de inmersión de PBS: (a) 45% SiO₂, 7 días. (b) 65% SiO₂, 7 días. (c) 45% SiO₂, 14 días. (d) 65% SiO₂, 14 días. Micrografías con 100 aumentos: (e) 45% SiO₂, 7 días. (f) 65% SiO₂, 7 días.



Por otra parte, en los ensayos de 14 días, se observa una disminución en la cantidad del biovidrio de 45% SiO₂ (Figura 11 (c)) debido a la disolución de éste. También, se observa el aumento de la presencia de los cristales de sal en la muestra recubierta con biovidrio 65% SiO₂ (Figura 11 (d)). En la Figura 12 se presenta la micrografía para el ensayo de 21 días, en éste, no se pudo identificar recubrimientos de biovidrio, sin embargo, se observa una cantidad considerable de sal depositada en toda la superficie de la espuma. En la presente prueba de microscopía, se pudo observar que los recubrimientos no presentaron formación de apatitas.

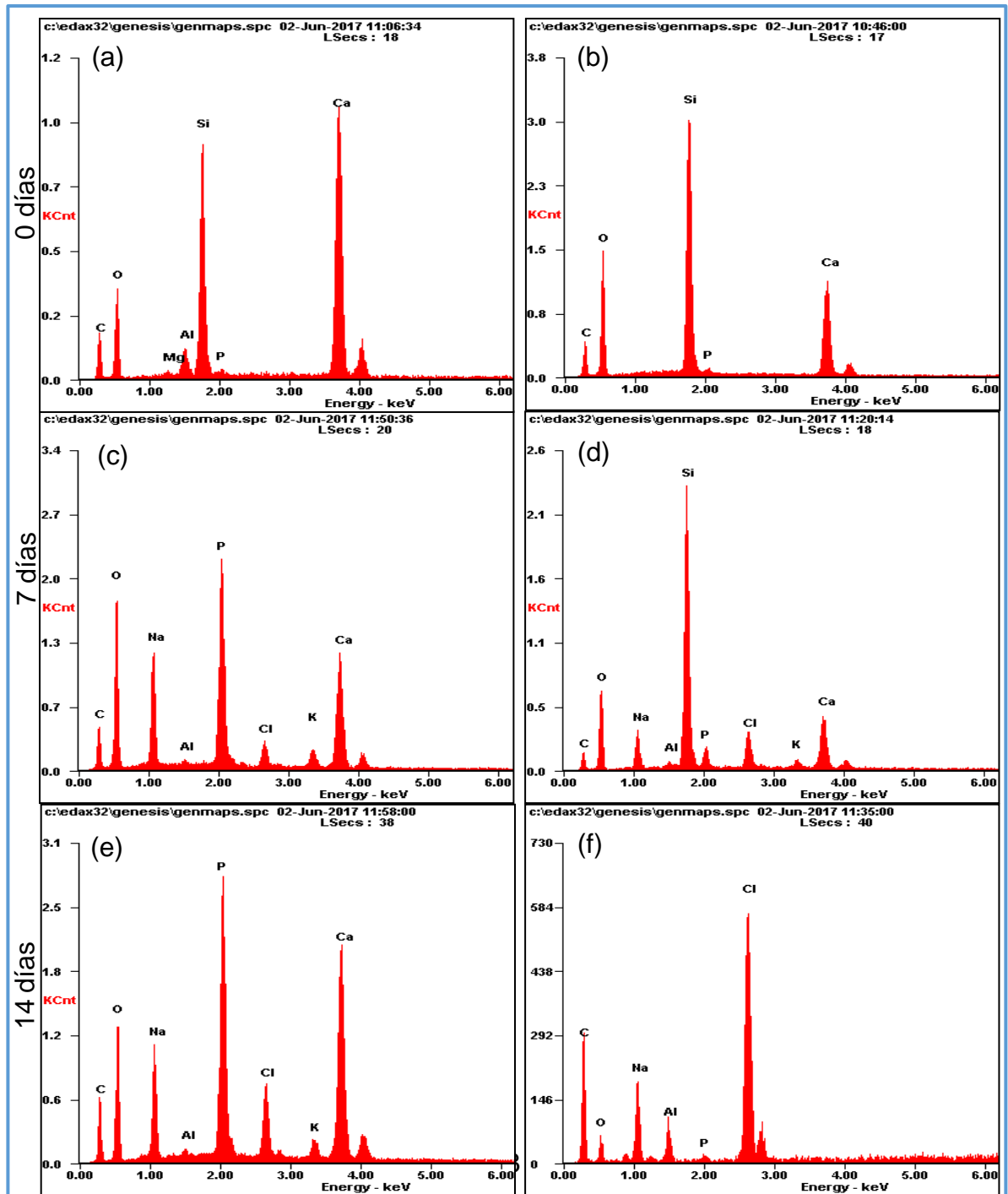
Figura 1612. Recubrimiento de biovidrio pasados 21 días en PBS.



Fuente: Universidad Industrial de Santander, Laboratorio de Microscopía. Equipo microscopio electrónico de barrido.

2.4.3. Espectroscopia de dispersión de energía de rayos X. En la Figura 13 se presentan los resultados EDS obtenidos para los recubrimientos inmersos en PBS por 7 y 14 días, comparados con los análisis del recubrimiento original (0 días de inmersión).

Figura 2093. Espectros EDS de los recubrimientos de biovidrio. (a) 45% SiO₂, 0 días. (b) 65% SiO₂, 0 días. (c) 45% SiO₂, 7 días. (d) 65% SiO₂, 7 días. (e) 45% SiO₂, 14 días. (f) 65% SiO₂, 14 días.



El comportamiento de disolución y precipitación de los elementos presentes en los recubrimientos puede explicarse haciendo referencia a la conectividad de la red de silicato (Figura 10). Un valor bajo en la conectividad de la red de silicato denota una estructura fragmentada, en otras palabras, la poca conectividad en la red de silicato genera una mayor liberación de iones de silicio a la solución. En este caso, debido a que se deben romper los enlaces Si-O-Si, la disolución del silicato conlleva un menor costo energético, comparado con una estructura con mayor conectividad de la red, en donde la red de silicato está estrechamente enlazada entre sí, formando anillos de diferentes tamaños [13,24].

Con lo anterior, se entiende que la disolución del silicio presente en el recubrimiento de 45% SiO₂ (Figura 13 (c)) se debe a la baja conectividad de la red de silicato y a la alta presencia de modificadores de red, comparado con el de 65% SiO₂ (Figura 13 (d)) que no presenta cambio en la cantidad de silicio después de 7 días inmerso en PBS. Por otra parte, la formación de una capa rica en fósforo y calcio en la muestra de 45% SiO₂ refleja la precipitación de iones de fósforo de la solución. Dicho proceso de adsorción de iones es una fase previa a la formación de la capa de apatitas que se considera como una correlación de la bioactividad del material en soluciones fisiológicas [25].

En los ensayos de 14 días, parece que el recubrimiento de 65% SiO₂ se disolvió completamente (Figura 13 (f)), y se observó la formación de cristales de cloruro de sodio en la superficie. Para el recubrimiento de 45% SiO₂ (Figura 13 (e)) se observa un aumento en la cantidad de calcio en la superficie, evidencia del proceso de remineralización después de los 7 días.

En estudios anteriores, se ha comprobado la capacidad de formación de apatitas de los vidrios sintetizados en la presente investigación [26-27]. Sin embargo, dichos estudios utilizaron solución fisiológica simulada (SBF, por sus siglas en inglés), cuyo

contenido iónico es similar al del plasma sanguíneo [28]. Por su parte, el PBS es una solución fisiológica simulado altamente estable, la cual es utilizada ampliamente en cultivo celular *in vitro* dada su naturaleza isotónica, además de proveer una eficiente regulación del pH en ensayos biológicos. La investigación de Fagerlund compara el comportamiento del SBF y el PBS en ensayos *in vitro* con biovidrio, concluyendo que cada tipo de solución tiene un efecto diferente en variables experimentales como el pH y la concentración de iones en la solución, los cuales a su vez afectan las cinéticas de reacción [29]. Por tal razón, se recomienda para futuros experimentos, estudiar la capacidad de formación de apatitas de los materiales estudiados bajo inmersión en SBF.

Para concluir, la ausencia de una capa de apatitas en las espumas CVR recubiertas no demuestra la bioinactividad de los recubrimientos de biovidrio sintetizados. Por otra parte, se observó la precipitación de una capa de calcio-fosfato para el recubrimiento de 45% SiO₂ culminados 14 días de ensayo *in vitro*, evidencia de una interacción con la solución, la cual podría considerarse como la fase inicial en el proceso de formación de apatitas, a partir de lo reportado por Wanpeng y colaboradores [9].

3. CONCLUSIONES

En la presente investigación se evaluó el efecto de la composición y viscosidad del sol precursor en las propiedades mecánicas y morfológicas de espumas de carbón vítreo reforzadas con recubrimientos de biovidrio fabricados por sol-gel.

Se comprobó mediante microscopía que la metodología desarrollada para recubrir espumas CVR permitió la deposición de capas de biovidrio por el método sol-gel.

En términos de morfología, los recubrimientos sintetizados presentaron defectos causados por el proceso de densificación del xerogel depositado. Además, se determinó que la viscosidad de 5 cP del sol precursor resultó en recubrimientos de biovidrio más homogéneos. Además, los análisis SEM indicaron que el recubrimiento de 65% SiO₂ predominó una estructura compacta de red de silicatos altamente interconectados, mientras que las capas de 45% SiO₂ presentaron una estructura porosa y menos densa debido a la alta presencia de modificadores de red (iones de calcio).

En términos de propiedades estructurales, no hubo un cambio significativo en los valores de resistencia a la compresión de las diferentes muestras. Por tal razón, se concluye que los recubrimientos sintetizados no aportan un soporte ideal a la estructura reticulada de la espuma, debido a la naturaleza agrietada de dichos recubrimientos.

Los estudios *in vitro* de habilidad de formación de apatitas determinaron la ausencia de éstas, resultado atribuible al efecto de la solución salina tamponada de fosfato utilizada. Sin embargo, se determinó la reactividad de los recubrimientos en solución acuosa, propiedad fundamental de un material bioactivo.

4. RECOMENDACIONES

- Se recomienda estudiar la capacidad de formación de apatitas de dichos recubrimientos con otro tipo de solución fisiológica simulada.
- Se recomienda mejorar la metodología para recubrir espumas de carbón a fin de obtener recubrimientos morfológicamente homogéneos.

REFERENCIAS

- [1] LASCHKE, Matthias, et al. Angiogenesis in Tissue Engineering: Breathing Life into Constructed Tissue Substitutes. En: Tissue Engineering. 2006, Vol. 12, No. 8, p. 2094-2100.
- [2] DAVIS, Michael, et al. Custom Design of the Cardiac Microenvironment with Biomaterials. En: Circulation Research. 2005, Vol. 97, p. 8-15.
- [3] MATIN, Maryam, et al. Review paper: Critical Issues in Tissue Engineering: Biomaterials, Cell Sources, Angiogenesis, and Drug Delivery Systems. En: Journal of Biomaterial Applications. 2011, Vol. 26, p. 383-416.
- [4] CZERNUZKA, J.T; SACHLOS, E. Making tissue engineering scaffolds work. review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. En: European Cells and Materials. 2003, Vol. 5, p. 29-40.
- [5] HUTMACHER, Dietmar. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. En: Biomaterials. 2000, Vol. 21, p. 2529-2543.
- [6] CZARNECKI, Jan, et al. Bone growth on reticulated vitreous carbon foam scaffolds and implementation of cellular automata modeling as a predictive tool. En: Carbon. 2014. Vol. 79, p.135–48.
- [7] EVORA, Carmen, et al. RETICULATED VITREOUS CARBON: A USEFUL MATERIAL FOR CELL ADHESION AND TISSUE INVASION. En: European Cells and Materials. 2010. Vol. 20, p.282-294.

- [8] MARGHUSSIAN, Vahak, et al. Effects of composition on crystallization behaviour and mechanical properties of bioactive glass-ceramics in the MgO-CaO-SiO₂-P₂O₅ system. En: Ceramics International. 2000. Vol. 26, p.415-420.
- [9] WANPENG, Cao; HENCH, Larry. Bioactive Materials. En: Ceramics international. 1996. Vol. 22, p 493 – 507.
- [10] HUANG, J., et al. Evaluation of in vitro bioactivity and biocompatibility of Bioglass-reinforced polyethylene composite. En Journal of materials science: materials in medicine. 1997, Vol. 8, p. 809-813.
- [11] SIERRA, Jhon Harrison y BRAVO, Oscar Mauricio. Efecto de la alumina en las propiedades físicas, químicas, electroquímicas y bioactivas de recubrimientos de biovidrio compuestos por 64% SiO₂-31%CaO-5% P₂O₅ soportados sobre acero AISI 316L. Bucaramanga: Tesis de Grado para optar por el título de Ingeniero Metalúrgico. Universidad Industrial de Santander, 2013.
- [12] BOCCACCINI, Aldo, et al. Bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams filled with and coated with bioglass particles for tissue engineering applications. En: J Mat Sci: materials in medicine. 2003. Vol. 14, p.443-450.
- [13] TILOCCA, Antonio. Models of structure, dynamics and reactivity of bioglasses: a review. En: Journal of Material Chemistry. 2010, Vol. 20, p. 6853.
- [14] KOZUKA, Mirumitsu, On Ceramic Thin Film Formation from Gels: Evolution of Stress, Cracks and Radiative Striations. En; Journal of the Ceramic Society of Japan. 2003, Vol. 111, p. 624-632.

- [15] HASHMI, Muhammad Usman, et al. Effect of sintering time on crystallization, densification and in-vitro characteristics of bioactive glass ceramics. En International Journal of Engineering Science and Innovative Technology. 2014, Vol. 3, p. 368-377.
- [16] KOZUKA, Mirumitsu, et al. Stress and Cracks in Gel-Derived Ceramic Coatings and Thick Film Formation. En: Journal of Sol-Gel Science and Technology. 2003, Vol. 26, p. 681-686.
- [17] KOZUKA, Mirumitsu, On Ceramic Thin Film Formation from Gels: Evolution of Stress, Cracks and Radiative Striations. En; Journal of the Ceramic Society of Japan. 2003, Vol. 111, p. 628.
- [18] BREZNY, R.; GREEN, D. J. The behavior of cell size on the mechanical behavior of cellular materials. En: Acta Metall. Mater. 1990, Vol. 38, No. 12, p. 2517-2526.
- [19] CHOLLON, Georges, et al. Chemical vapour infiltration and mechanical properties of carbon open-cell foams. En: Carbon. 2014, Vol. 66, p. 18-30.
- [20] KRUSKAL, William; WALLIS, Allen. Use of ranks in one-criterion variance analysis. En: Journal of the American Statistic Association. 1952, Vol. 47, p. 583-621.
- [21] BOCCACCINI, Aldo, et al. Mechanical properties of biodegradable polymer sutures coated with bioactive glass. En: Journal of material science: Materials in medicine. 2002, Vol. 13, p. 843- 848.

- [22] ZREIQAT, H., et al. Effects of bioactive glass nanoparticles on the mechanical and biological behavior of composite coated scaffolds. En: Acta Biomaterialia. 2011, Vol. 7, p. 1307-1318.
- [23] ELGAYAR, I, et al. Structural analysis of bioactive glasses. En: Journal of non-crystalline solids. 2005, Vol. 351, p. 193.
- [24] ARCOS, D, et al. A new quantitative method to evaluate the in vitro bioactivity of melt and sol-gel-derived silicate glasses. En; Journal of Biomedical Materials. 2003, Vol. 65A, p. 344.
- [25] HUPA, Leena; FAGERLUND, Susanne. Handbook of oral biomaterials. Turku: Pan Stanford Publishing, 2014. ISBN 978-981-4463-12-6.
- [26] HUANG, et al. Evaluation of in vitro bioactivity and biocompatibility of Bioglass-reinforced polyethylene composite. En: Journal of material science: materials in medicine. 1997, Vol. 8, p. 809-813.
- [27] BOCCACCINI, et al. 45S5 Bioglass®-derived glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering. En: Biomaterials. 2005, Vol. 27, p. 2414-2425.
- [28] SWAIN, Jason, et al. Biological pH buffers in IVF: help or hindrance to success. En: J Assist Reprod Genet. 2011, Vol. 28, p. 711-724.
- [29] FAGERLUND, Susanne, et al. Comparison of reaction of bioactive glasses in different aqueous solutions. En: Advances in Bioceramics and Biotechnologies: Ceramic Transactions. 2012, Vol. 218, p. 102-112.

BIBLIOGRAFÍA

ARCOS, D., et al. A new quantitative method to evaluate the in vitro bioactivity of melt and sol-gel-derived silicate glasses. En and Journal of Biomedical Materials. 2003, Vol. 65A, p. 344.

BABALUO, A., et al. A modified model for alumina membranes formed by sol-gel-casting followed by dip-coating. En: Journal of the European Ceramic Society, 2004, Vol. 24, p. 3779-3787.

BOCCACCINI, Aldo Roberto, et al. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. En: Biomaterials. 2006, Vol. 27, p. 3413-3431.

BOCCACCINI, Aldo, et al. Bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams filled with and coated by bioglass particles for tissue engineering applications. En: Journal of material science. 2003. Vol. 14, p.443-450.

BOCCACCINI, Aldo, et al. Mechanical properties of biodegradable polymer sutures coated with bioactive glass. En: Journal of material science: Materials in medicine. 2002, Vol. 13, p. 843- 848.

BOCCACCINI, Aldo, et al. Porous poly(α -hidroxyacid)/bioglass composite scaffold for bone tissue engineering. I: preparation and in vitro characterization. En: Biomaterials. 2004. Vol. 25, p.4185-4194.

BOCCACCINI, et al. 45S5 Bioglass®-derived glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering. En: Biomaterials. 2005, Vol. 27, p. 2414-2425.

BREZNY, R. and GREEN, D. J. The behavior of cell size on the mechanical behavior of cellular materials. En: Acta Metall. Mater. 1990, Vol. 38, No. 12, p. 2517-2526.

BRINKER, Jeffrey and SCHERER, George. Sol-gel science, The Physics and Chemistry of sol-gel Processing. United Kingdom. Academic Press. London. 1990.

CAI, S, et al. Fabrication and biological characteristics of b-tricalcium phosphate porous ceramic scaffolds reinforced with calcium phosphate glass. En: J Mater Sci: Mater Med. 2009. Vol. 20, P.351-358.

CHOLLON, Georges, et al. Chemical vapour infiltration and mechanical properties of carbon open-cell foams. En: Carbon. 2014, Vol. 66, p. 18-30.

CLAVIJO, Dianney, et al. Hacia una nueva generación de biomateriales. Departamento de morfología, Facultad de medicina, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 2010.

CZERNUZKA, J.T and SACHLOS, E. Making tissue engineering scaffolds work. review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. En: European Cells and Materials. 2003, Vol. 5, p. 29-40.

DAVIS, Michael, et al. Custom Design of the Cardiac Microenvironment with Biomaterials. En: Circulation Research. 2005, Vol. 97, p. 8-15.

ELGAYAR, I, et al. Structural analysis of bioactive glasses. En: Journal of non-crystalline solids. 2005, Vol. 351, p. 193.

EVORA, Carmen, et al. RETICULATED VITREOUS CARBON: A USEFUL MATERIAL FOR CELL ADHESION AND TISSUE INVASION. En: European cells and materials. 2010. Vol. 20, p.282-294.

FAGERLUND, Susanne, et al. Comparison of reaction of bioactive glasses in different aqueous solutions. En: Advances in Bioceramics and Biotechnologies: Ceramic Transactions. 2012, Vol. 218, p. 102-112.

HASHMI, Muhammad Usman, et al. Effect of sintering time on crystallization, densification and in-vitro characteristics of bioactive glass ceramics. En International Journal of Engineering Science and Innovative Technology. 2014, Vol. 3, p. 368-377.

HENCH, Larry and WEST, Jon. The Sol-Gel Process. En: Chem. Rev, 1990, Vol. 90, p. 36.

HENCH, Larry. The story of bioglass. En: J Mater Sci: Mater Med. 2006. Vol. 17, p.967-978.

HERNANDEZ, Diego Fernando. Estudio fisicoquímico del biosistema compuesto por Ti6Al4V-Biovidrio/TiO₂ - solución SBF. Bucaramanga: Trabajo de investigación para optar por el título de Máster en Ingeniería de Materiales. *Universidad Industrial de Santander*. 2014.

HUANG, et al. Evaluation of in vitro bioactivity and biocompatibility of Bioglass-reinforced polyethylene composite. En: Journal of material science: materials in medicine. 1997, Vol. 8, p. 809-813.

HUBBEL, Jeffrey. Biomaterials in tissue engineering. En: Nature publishing group. 1995. Vol. 13, p. 565-575.

HUPA, Leena and FAGERLUND, Susanne. Handbook of oral biomaterials. Turku: Pan Stanford Publishing, 2014. ISBN 978-981-4463-12-6.

HUTMACHER, Dietmar. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. En: Biomaterials. 2000, Vol. 21, p. 2529-2543.

JENKINS, G., KAWAMURA, K. and Structure of glassy carbon. En: Nature, 1971, Vol. 231, p. 175-176.

JÉRÔME, R., et al. Porous poly(α -hydroxyacid)/Bioglass composite scaffolds for bone tissue engineering. I: preparation and in vitro characterization. En: Biomaterials. 2004, Vol. 25, p. 4185-4194.

KENT, Bradley, MUTHARASAN, R. Cultivation of animal cells in a reticulated vitreous carbon foam. En: J Biotechnol. 1992. Vol. 22, p.311-328.

KOKUBO, Tadashi, et al. Novel bioactive materials with different mechanical properties. En: Biomaterials. 2003. Vol. 24, p.2161-2175.

KRUSKAL, William and WALLIS, Allen. Use of ranks in one-criterion variance analysis. En: Journal of the American Statistic Association. 1952, Vol. 47, p. 583-621.

LASCHKE, Matthias, et al. Angiogenesis in Tissue Engineering: Breathing Life into Constructed Tissue Substitutes. En: Tissue Engineering. 2006, Vol. 12, No. 8, p. 2094-2100.

MARTÍN, A. I. Bioactividad y biocompatibilidad de materiales sol-gel con contenido constante en CaO. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia. Madrid. 2005.

MATIN, Maryam, et al. Review paper: Critical Issues in Tissue Engineering: Biomaterials, Cell Sources, Angiogenesis, and Drug Delivery Systems. En: Journal of Biomaterial Applications. 2011, Vol. 26, p. 383-416.

MCFARLAND, Clive, et al, Engineering thick issues - The vascularisation problem. En: European cells and materials. 2007. Vol. 14, p.1-19.

NAZHAT, S. N., et al. Mechanical properties of highly porous PDLLA/Bioglass composite foams as scaffolds for bone tissue engineering. En: Acta Biomaterialia. 2005, Vol. 1, p, 643-652.

NODA, Tokiti and INAGAKI, Michio. The structure of glassy carbon. En: Sixth Biennial Conference of Carbon. 1963, Vol. 37, no. 10., p. 1534-1538.

PONCE-DE-LEÓN, C., et al. Reticulated vitreous as an electrode material. En: Journal of electroanalytical chemistry, 2004, Vol. 561, p. 203-2017.

RAMÍREZ, María Teresa and HUIRACHE, Rafael. Estado del arte del proceso sol-gel en México. Redalyc. Ciencia Ergo Sum, Vol. 17, no.2, 2010, p. 193-188.

SIERRA, Jhon Harrison and BRAVO, Oscar Mauricio. Efecto de la alumina en las propiedades físicas, químicas, electroquímicas y bioactivas de recubrimientos de biovidrio compuestos por 64% SiO₂-31%CaO-5% P₂O₅ soportados sobre acero

AISI 316L. *Bucaramanga: Tesis de Grado para optar por el título de Ingeniero Metalúrgico. Universidad Industrial de Santander, 2013.*

SZELUGA, Urzula, et al. Influence of unique structure of glassy carbon on morphology and properties of its epoxy-based binary composites and hybrid composites with carbon nanotubes. En: *Composites Science and Technology*, 2016, Vol. 134, p. 72-80.

TILOCCA, Antonio. Models of structure, dynamics and reactivity of bioglasses: a review. En: *Journal of Material Chemistry*. 2010, Vol. 20, p. 6853.

UNGER, Ronald, et al. Tissue-like self-assembly in cocultures of endothelial cells and osteoblast and the formation of micropillary-like structures on three-dimensional porous biomaterial. En: *Biomaterials*. 2007. Vol. 28, p.3965-3976.

VALLET-REGI, M, et al. Glasses with medical applications. En: *Eur. J. Inorg. Chem.* 2003. p. 1029-1042.

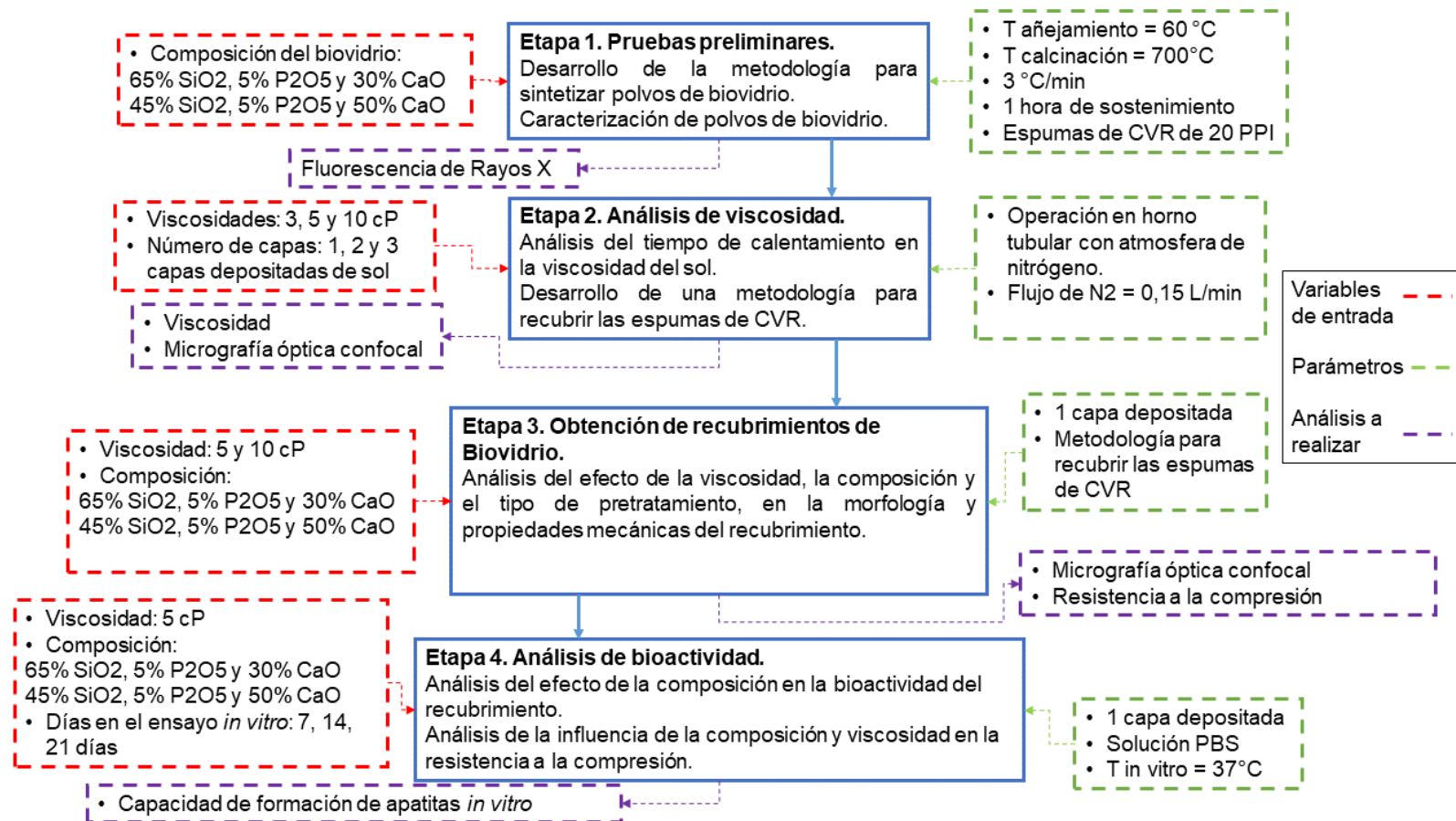
VOLZONE, Cristina, et al. Biocerámicos utilizados en aplicaciones médicas y odontológicas, Resumen exposición Jornada Técnica Argentina de Cerámica. Facultad de ingeniería UNLP. 2008.

WANG, Joseph. Reticulated vitreous carbon-a new versatile electrode material. En: *Electrochemical Acta*. 1981. Vol. 26, p. 1721-1726.

ZREIQAT, H., et al. Effects of bioactive glass nanoparticles on the mechanical and biological behavior of composite coated scaffolds. En: *Acta Biomaterialia*. 2011, Vol. 7, p. 1307-1318.

ANEXOS

Anexo A. Etapas de la investigación.

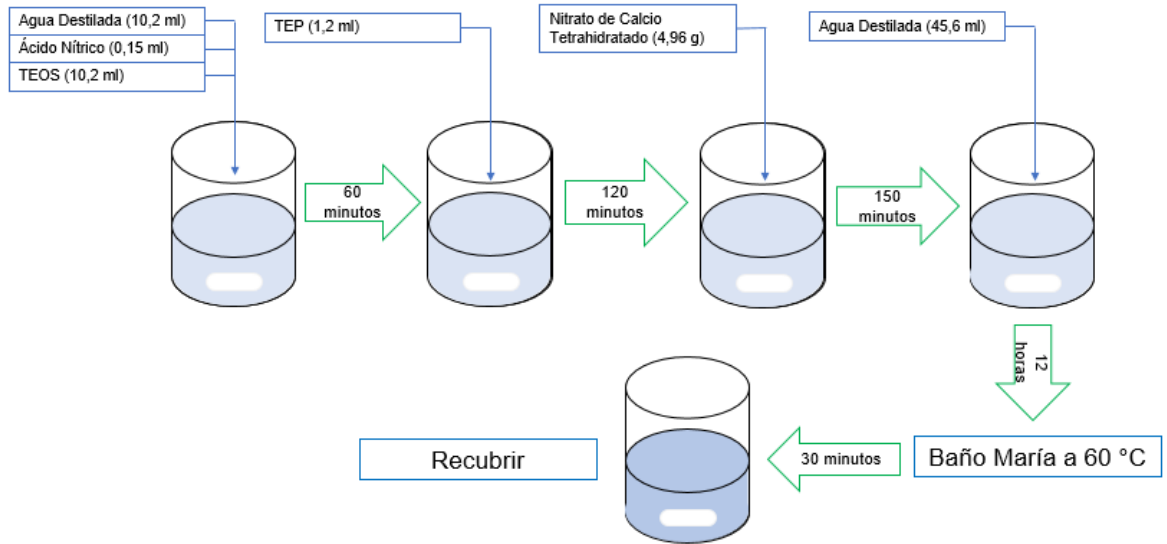


Anexo B. Reactivos utilizados.

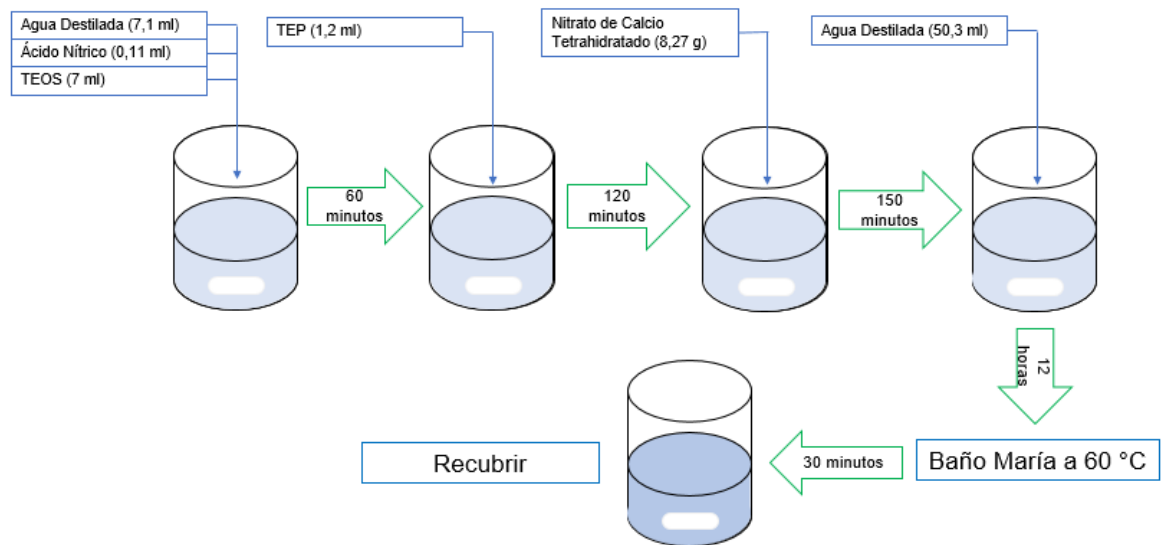
REACTIVO	FORMULA QUÍMICA	ESPECIFICACIÓN
Tetraetil Ortosilicato	$\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$	98% (Aldrich)
Trietil Fosfato	$(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_3\text{P}(\text{O})-$	98% (Alfa Aesar)
Nitrato de Calcio Tetrahidratado	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	99% (Panreac)
Agua Destilada	H_2O	Parque Guatiguará
Etanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	99% (Merck)
Ácido Nítrico	HNO_3	65% (Merck)
Tabletas Salinas Tamponadas de fosfato.	Cloruro de Potasio, Tampon de Fosfato y Cloruro de Sodio.	(Sigma)
Antibiótico y Antimicótico	Penicilina y Estreptomina	(Gibco)

Anexo C. Metodología para preparar soles de biovidrio por el método sol-gel.

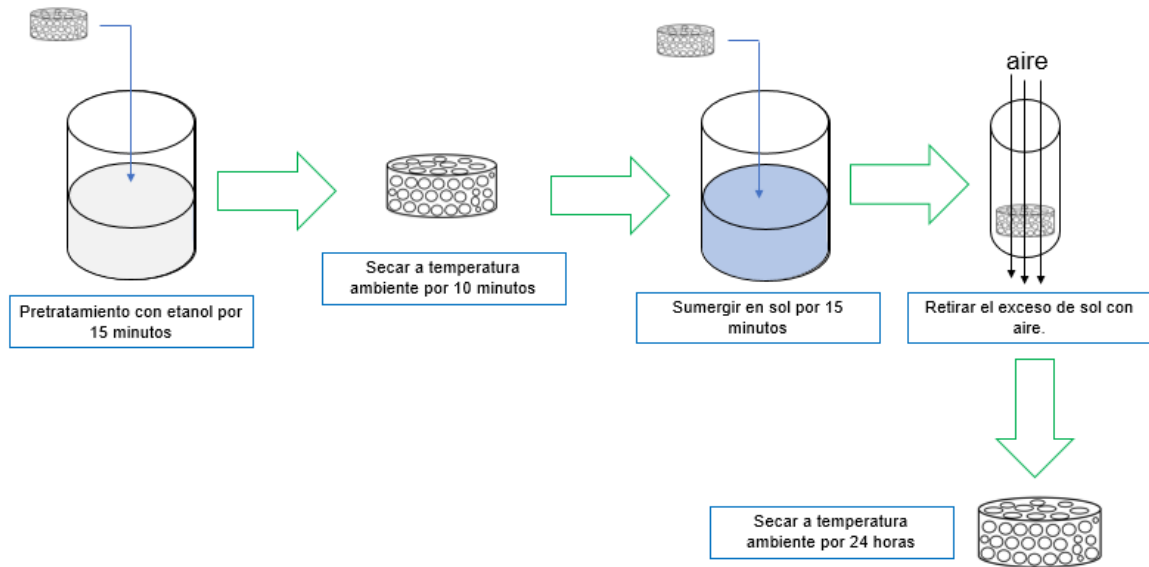
- Sol precursor de biovidrio 65% SiO₂, 5% P₂O₅ y 30% CaO:



- Sol precursor de biovidrio 45% SiO₂, 5% P₂O₅ y 50% CaO:



Anexo D. Metodología para recubrir las espumas de carbón vítreo reticulado.



Anexo E. Diseños experimentales de los estudios de la influencia de la viscosidad y el número de capas depositadas sobre la morfología de los recubrimientos de biovidrio.

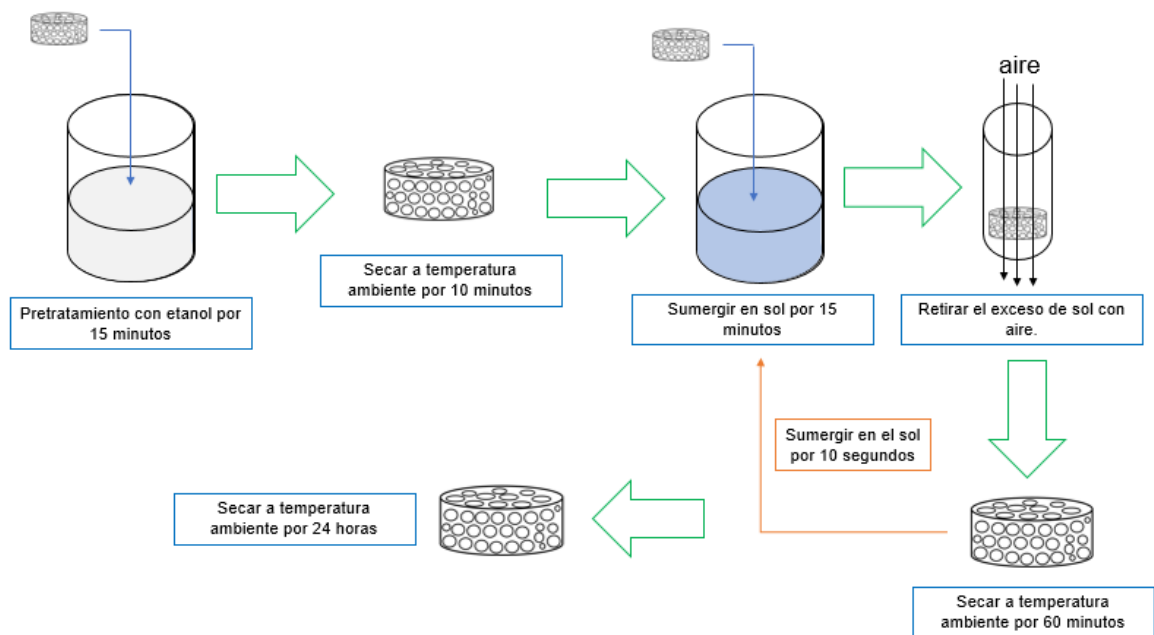
- Diseño experimental del estudio de la influencia de la viscosidad sobre la morfología de los recubrimientos de biovidrio de 1 capa.

Variable independiente	Niveles de estudio			Variable respuesta
Composición del Biovidrio	65% SiO ₂ , 5% CaO y 30% P ₂ O ₅	45% SiO ₂ , 5% CaO y 50% P ₂ O ₅		<ul style="list-style-type: none"> • Calidad morfológica del recubrimiento. • Homogeneidad del recubrimiento. • Cantidad de defectos en recubrimiento.
Viscosidad del sol precursor de Biovidrio	3 cP	5 cP	10 cP	
Capas de sol depositadas	1 capa			

- Diseño experimental del estudio de la influencia de la deposición de varias capas de sol en la morfología de los recubrimientos de biovidrio.

Variable independiente	Niveles de estudio		Variable respuesta
Composición del Biovidrio	65% SiO ₂ , 5% CaO y 30% P ₂ O ₅	45% SiO ₂ , 5% CaO y 50% P ₂ O ₅	<ul style="list-style-type: none"> • Calidad morfológica del recubrimiento. • Homogeneidad del recubrimiento. • Cantidad de defectos del recubrimiento.
Número de capas depositadas	2 capas	3 capas	
Viscosidad del sol precursor de Biovidrio	5 cP		

Anexo F. Metodología para recubrir las espumas de carbón vítreo reticulado con varias capas.



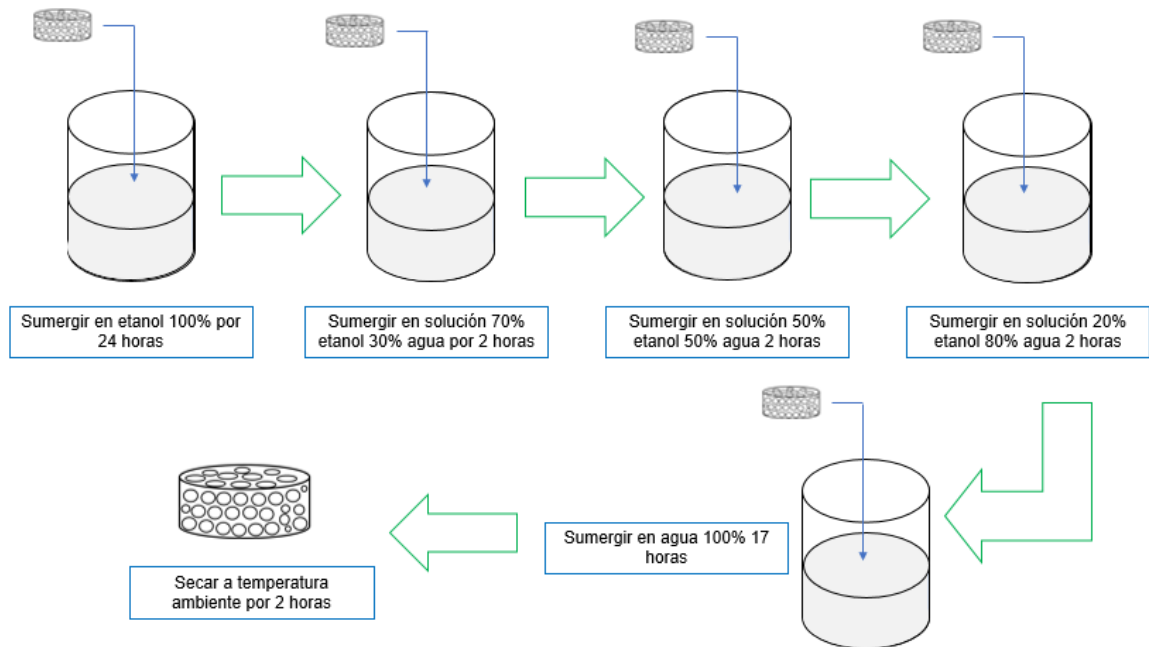
Anexo G. Diseño experimental para el estudio del efecto del recubrimiento de las espumas CVR con biovidrio en las propiedades mecánicas del sistema CVR/biovidrio.

Variables independientes	Niveles de estudio		Variables respuesta
Composición del biovidrio.	65% SiO ₂ , 5% P ₂ O ₅ y 30% CaO	45% SiO ₂ , 5% P ₂ O ₅ y 50% CaO	<ul style="list-style-type: none"> Resistencia a la compresión.
Viscosidad del sol precursor de biovidrio	5 cP	10 cP	

Anexo H. Diseño experimental para el estudio del efecto del pretratamiento utilizado en la morfología de los recubrimientos de biovidrio

Variables independientes	Niveles de estudio		Variables respuesta
Composición de biovidrio	45% SiO ₂ , 5% P ₂ O ₅ y 50% CaO		<ul style="list-style-type: none"> Calidad morfológica del recubrimiento. Homogeneidad del recubrimiento. Cantidad de defectos del recubrimiento.
Pretratamiento realizado a la espuma de CVR	Agua/Etanol	Sin pretratamiento	

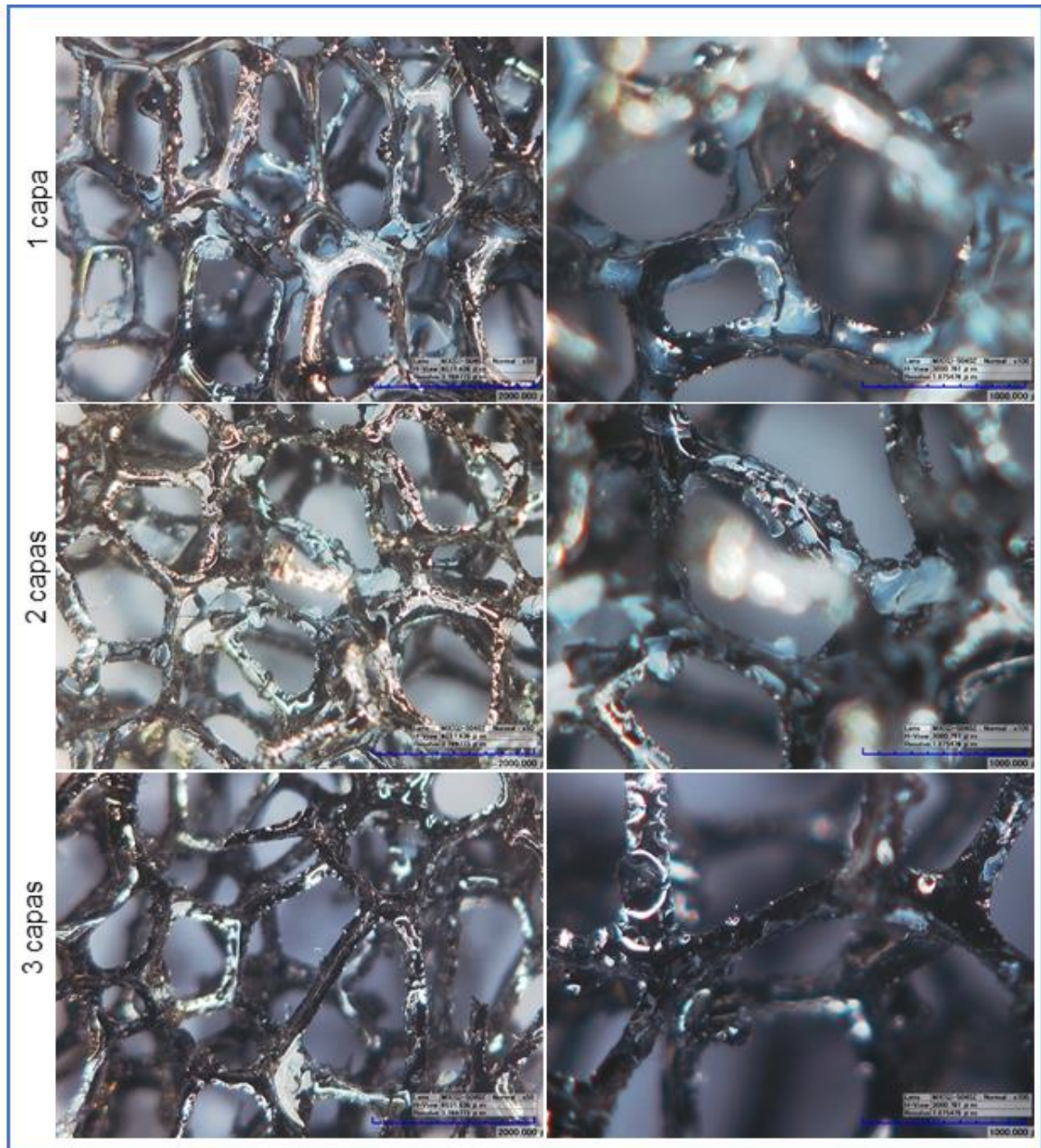
Anexo I. Pretratamiento de etanol/agua para las espumas de CVR.



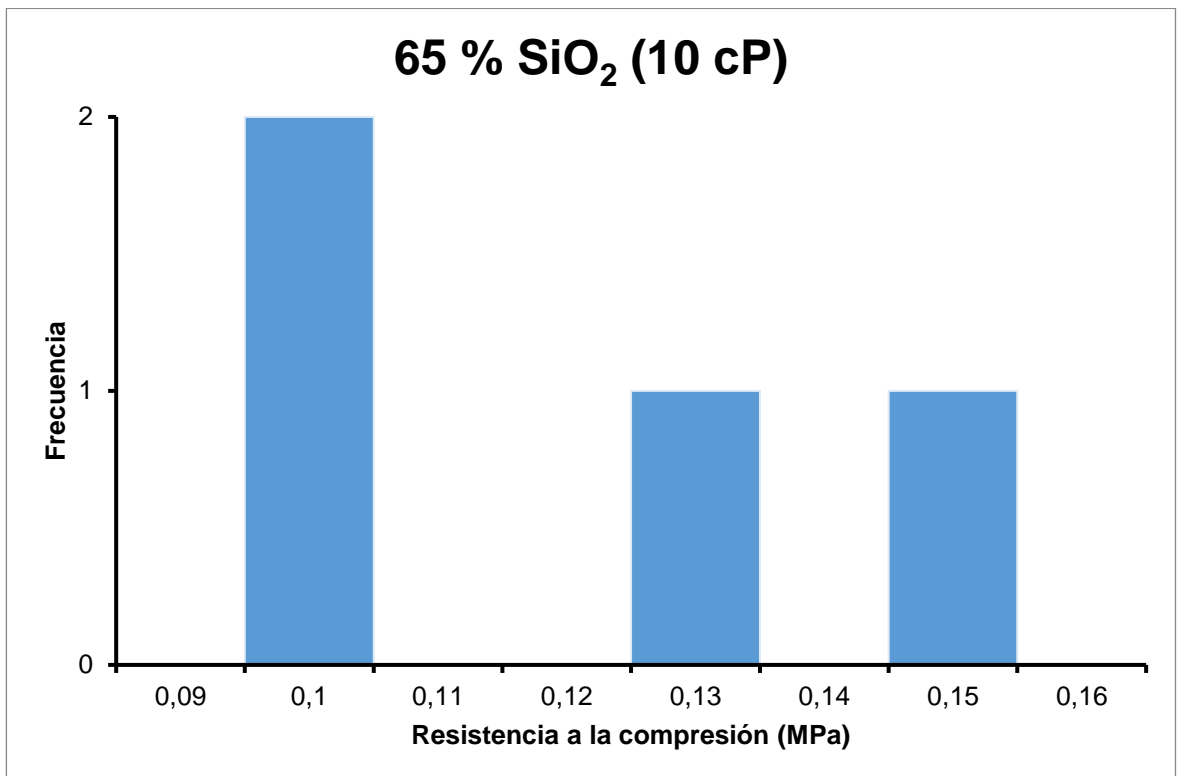
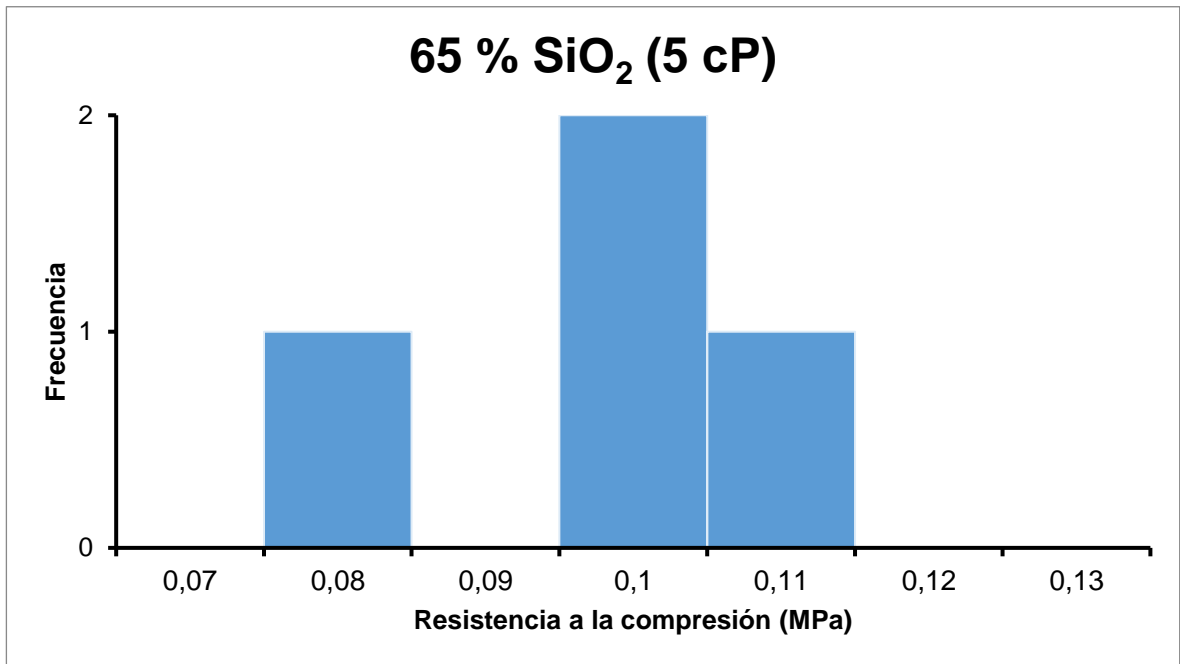
Anexo J. Diseño experimental de la prueba in vitro en solución PBS.

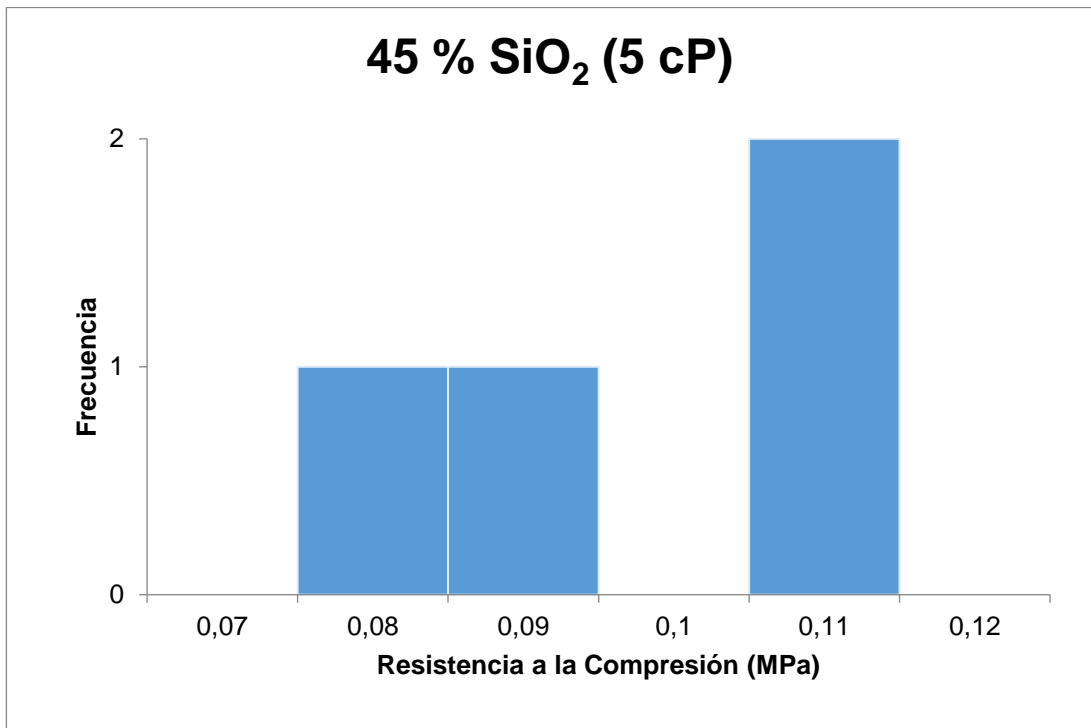
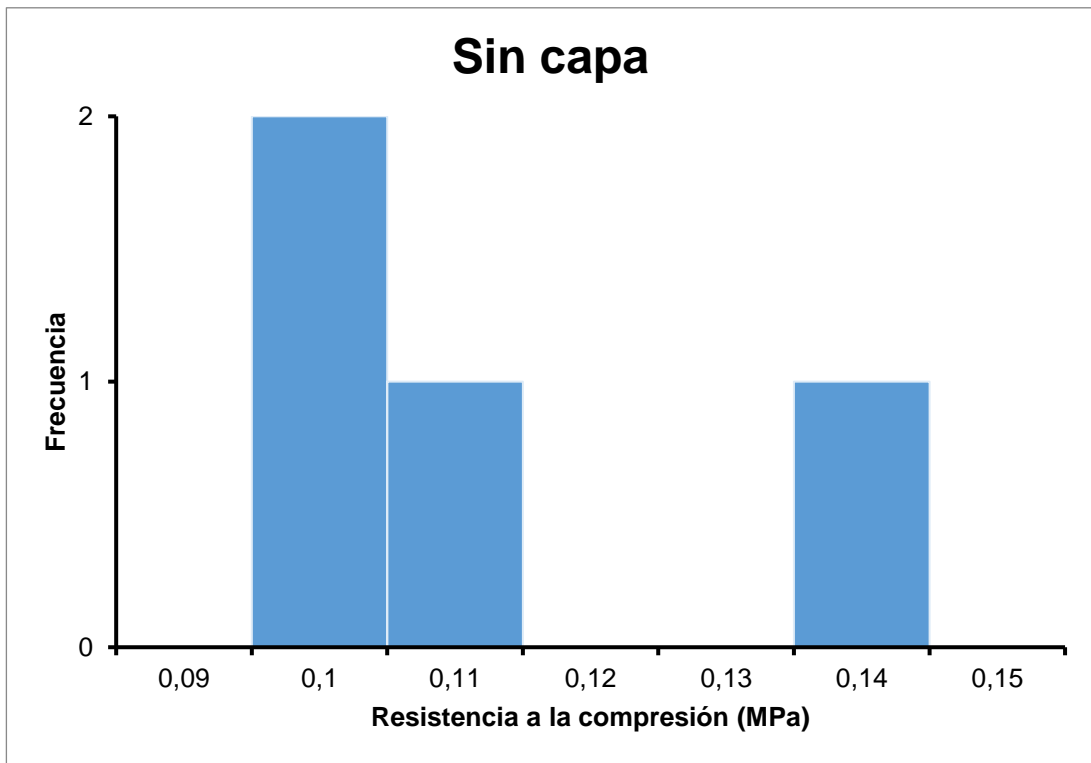
Variables independientes	Niveles de estudio			Variables respuesta
Número de días en solución PBS	7 días	14 días	21 días	<ul style="list-style-type: none"> Composición elemental de los recubrimientos. Resistencia a la compresión. Capacidad de formación de apatitas.
Composición del Biovidrio	65% SiO ₂ , 5% P ₂ O ₅ y 30% CaO	45% SiO ₂ , 5% P ₂ O ₅ y 50% CaO		
Viscosidad del sol precursor	5 cP			

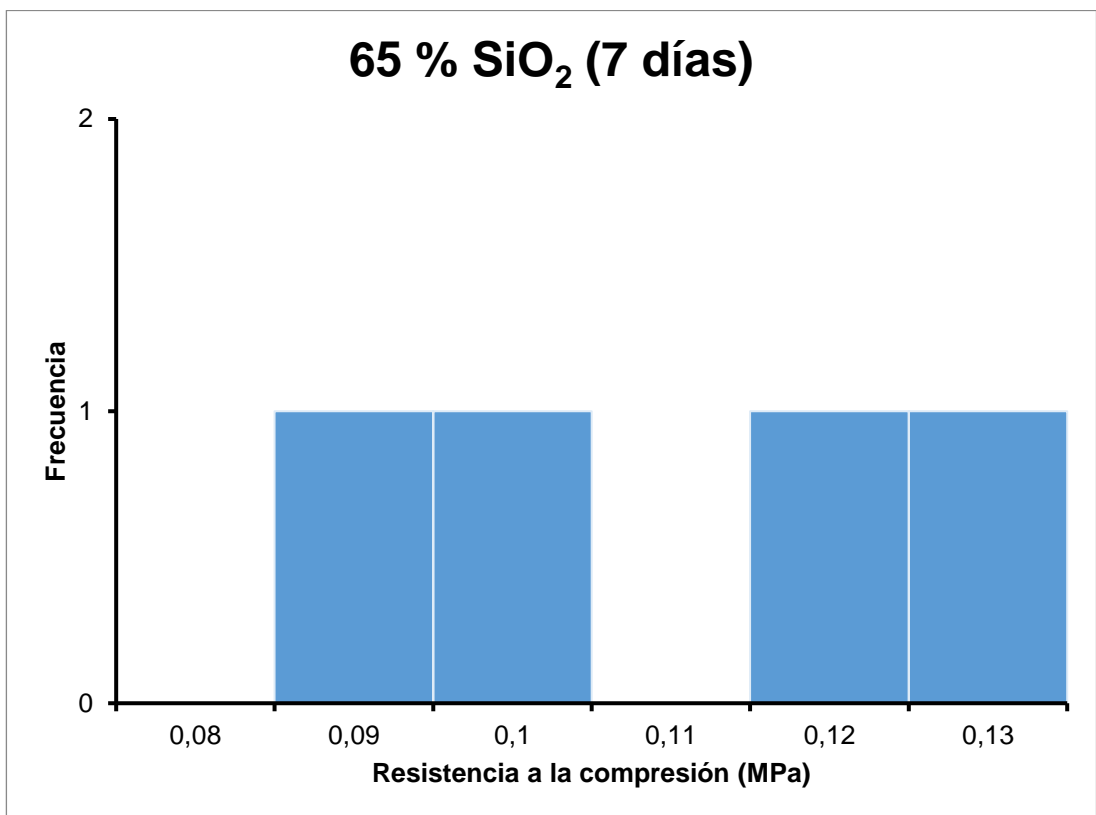
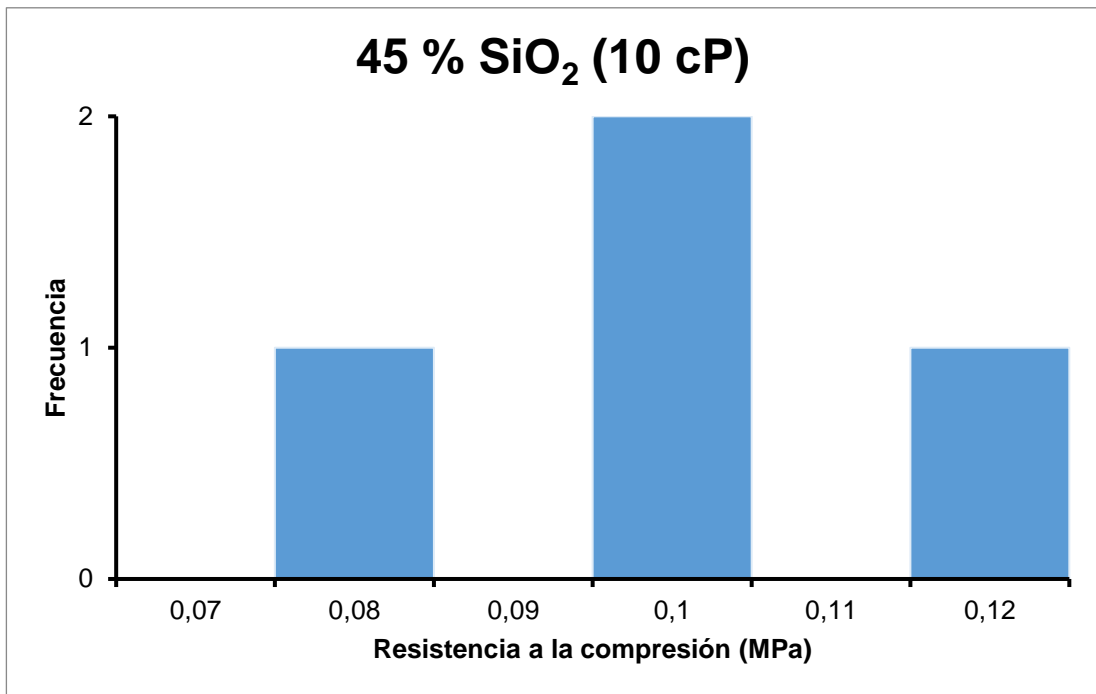
Anexo K. Micrografías de los recubrimientos con 1, 2 y 3 capas de sol depositadas.

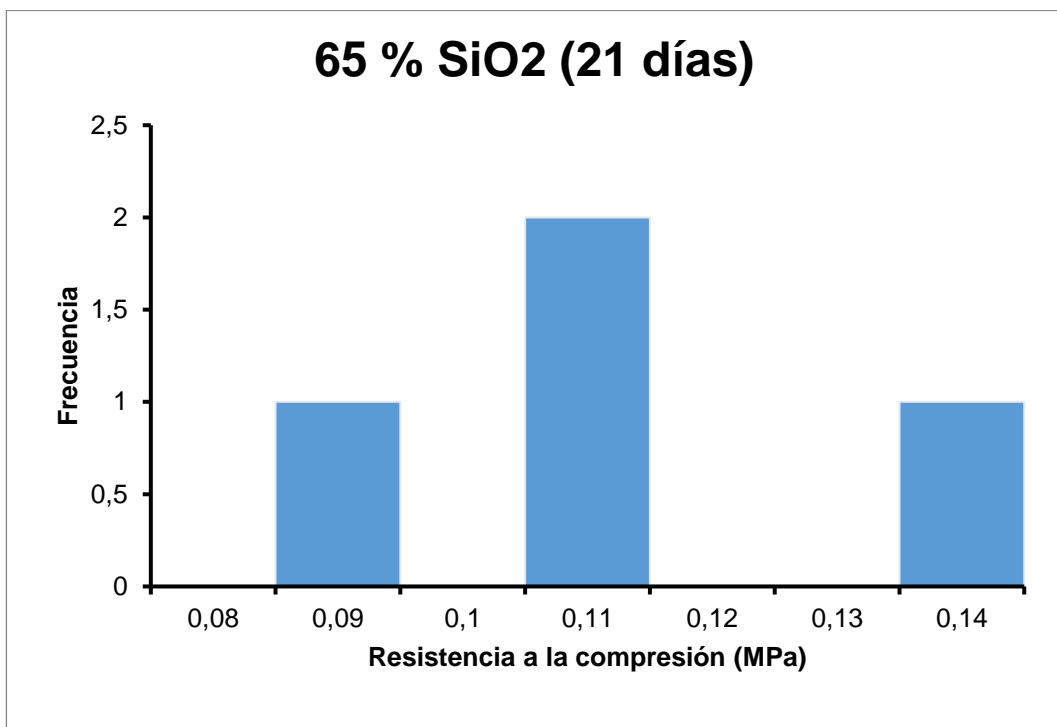
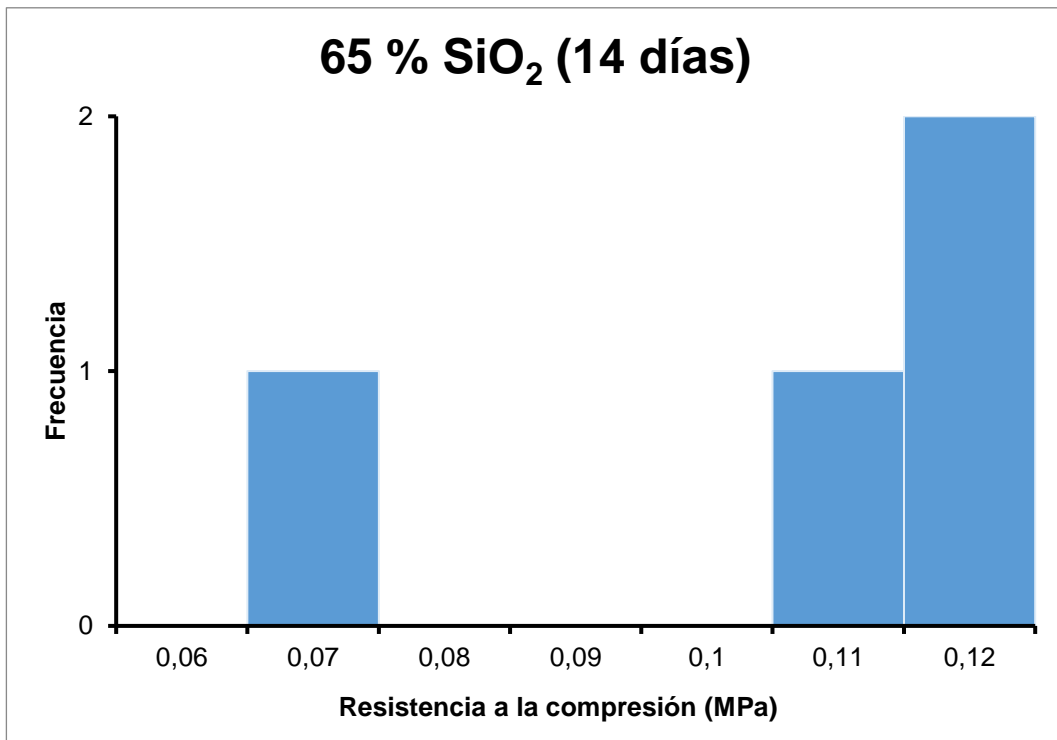


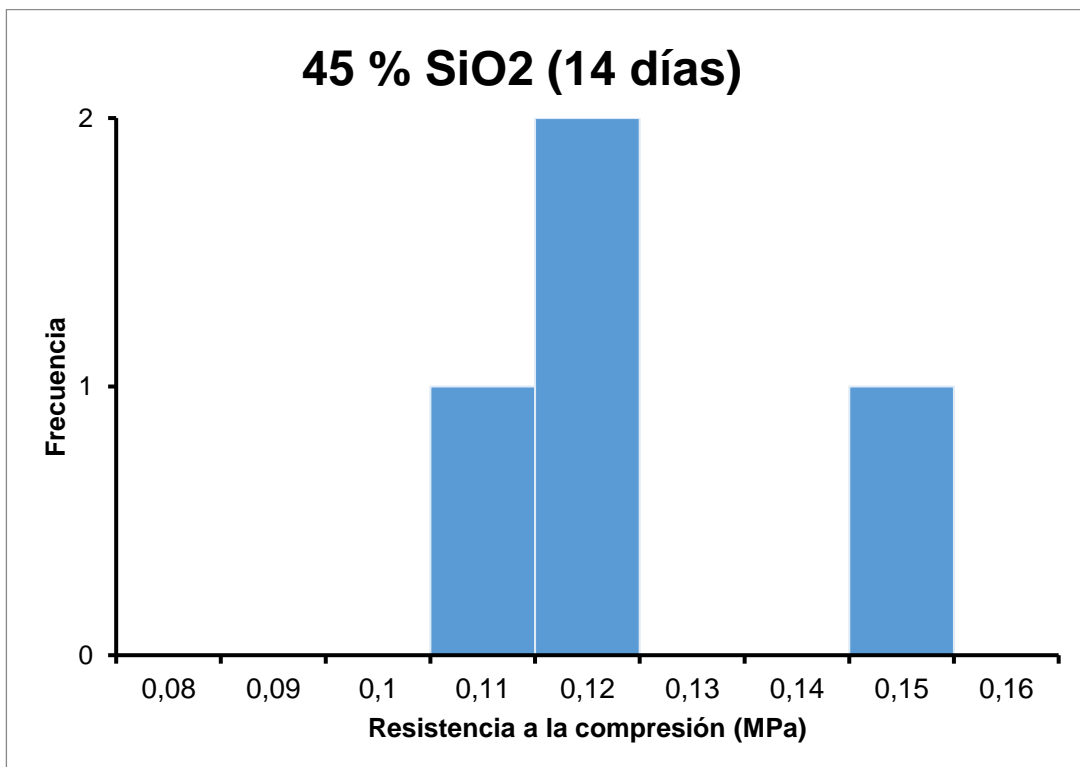
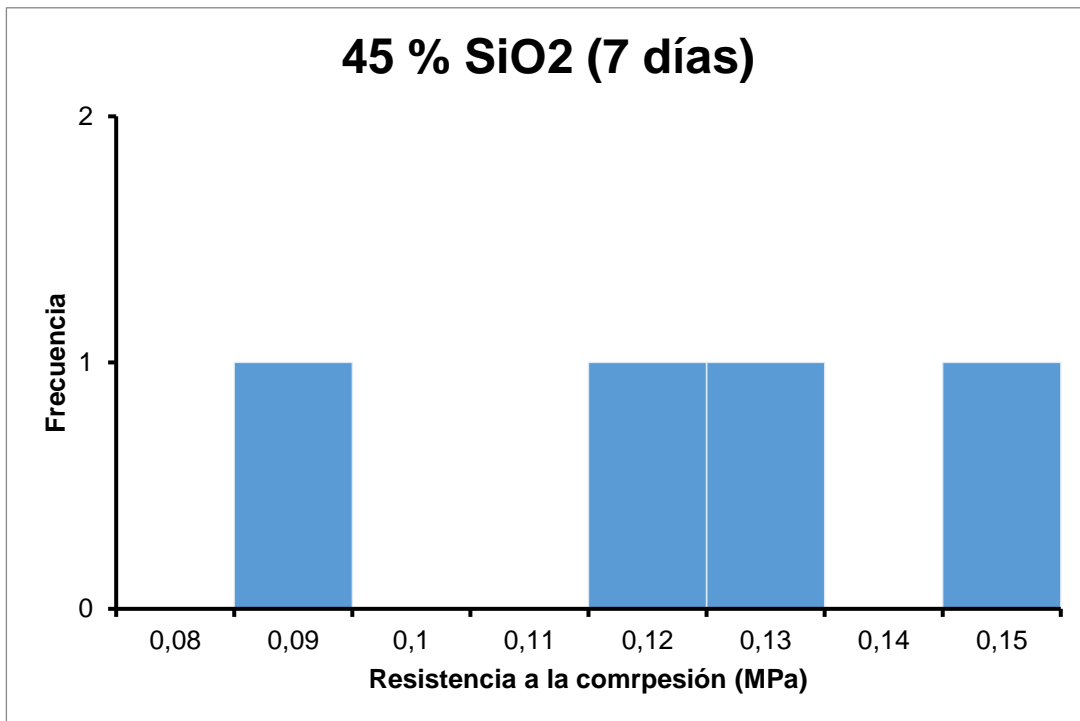
Anexo L. Histogramas de los datos de resistencia a la compresión

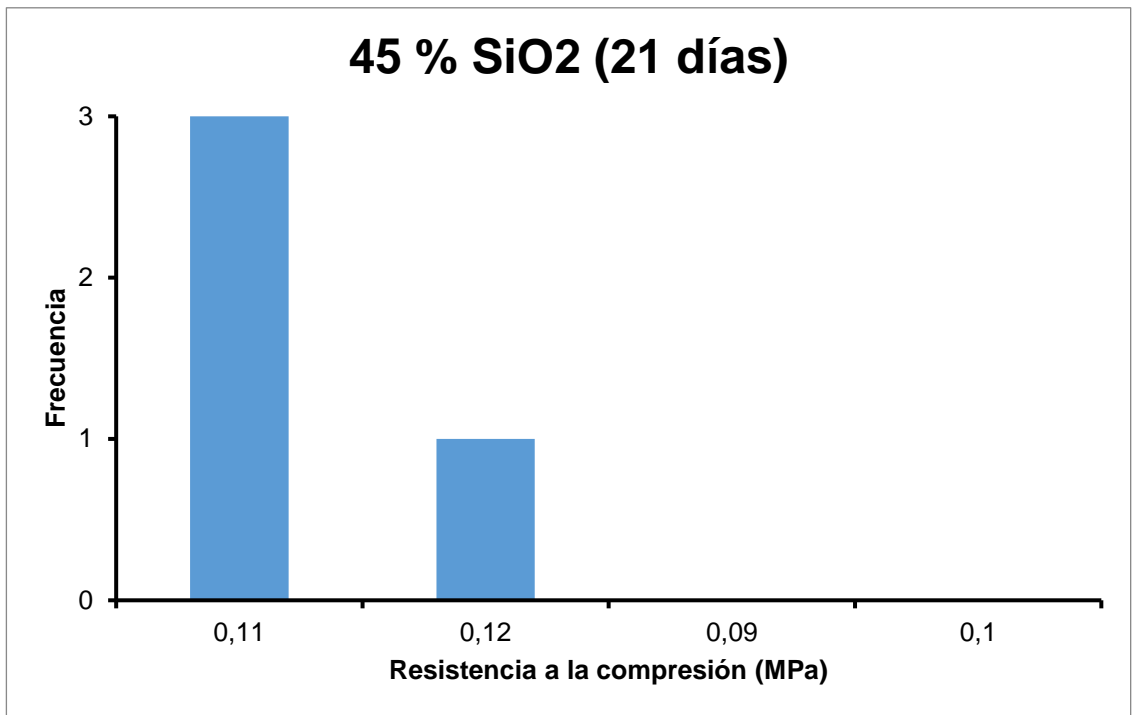












Anexo M. Resultados de las pruebas estadísticas de Kruskal-Wallis

- Muestras CVR recubiertas con biovidrio a diferente composición y viscosidad del sol

Kruskal-Wallis ANOVA (07/24/2017 15:11:51)

Notes

X-Function	Kruskal-Wallis ANOVA
User Name	DIEGO
Time	07/24/2017 15:11:51
Data Filter	No

Input Data

Descriptive Statistics

	N	Min	Q1	Median	Q3	Max
"65% 5 cp"	4	0,0732	0,07878	0,0955	0,10262	0,105
"65% 10 cp"	4	0,0955	0,0955	0,1114	0,14403	0,1496
"SR"	4	0,0955	0,0955	0,10025	0,12892	0,1369
"45% 5 cp"	4	0,0732	0,07637	0,09545	0,105	0,105
"45% 10 cp"	4	0,0732	0,07878	0,0955	0,11222	0,1178

Ranks

	N	Mean Rank	Sum Rank
"65% 5 cp"	4	8,375	33,5
"65% 10 cp"	4	13,75	55
"SR"	4	12,625	50,5
"45% 5 cp"	4	8,75	35
"45% 10 cp"	4	9	36

Test Statistics

	Chi-Square	DF	Prob>Chi-Square
	3,07285	4	0,54571

Null Hypothesis: The samples come from the same population.
 Alternative Hypothesis: The samples come from different populations.
 : At the 0.1 level, the populations are NOT significantly different.

- Muestras CVR recubiertas con biovidrio sometidas a ensayos *in vitro*

Kruskal-Wallis ANOVA (07/24/2017 17:20:59)

Notes

X-Function	Kruskal-Wallis ANOVA
User Name	DIEGO
Time	07/24/2017 17:20:59
Data Filter	No

Input Data

Descriptive Statistics

	N	Min	Q1	Median	Q3	Max
"65% SiO 7d"	4	0,0859	0,0883	0,10665	0,12493	0,1273
"65% SiO 14d"	4	0,0637	0,07403	0,1114	0,1178	0,1178
"65% SiO 21d"	4	0,0859	0,09068	0,105	0,12892	0,1369
"45% SiO 7d"	4	0,0849	0,09313	0,12255	0,14055	0,14496
"45% SiO 14d"	4	0,105	0,1082	0,1178	0,14165	0,1496
"45% SiO 21d"	4	0,105	0,105	0,105	0,1146	0,1178

Ranks

	N	Mean Rank	Sum Rank
"65% SiO 7d"	4	11,25	45
"65% SiO 14d"	4	10,5	42
"65% SiO 21d"	4	10,875	43,5
"45% SiO 7d"	4	15,375	61,5
"45% SiO 14d"	4	16,25	65
"45% SiO 21d"	4	10,75	43

Test Statistics

Chi-Square	DF	Prob>Chi-Square
2,82765	5	0,72654

Null Hypothesis: The samples come from the same population.
 Alternative Hypothesis: The samples come from different populations.
 : At the 0.05 level, the populations are NOT significantly different.