

**OBTENCIÓN DE SUPERFICIES BIOACTIVAS SOBRE EL SUSTRATO Ti6Al4V  
MEDIANTE PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER**

**MARLY XIMENA BLANCO VERA  
JHOANNA CARVAJAL REY**

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

**2013**

**OBTENCIÓN DE SUPERFICIES BIOACTIVAS SOBRE EL SUSTRATO Ti6Al4V  
MEDIANTE PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER**

**MARLY XIMENA BLANCO VERA  
JHOANNA CARVAJAL REY**

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

**Director:**

**M. Sc. CUSTODIO VASQUEZ QUINTERO**

**Codirector:**

**Ph.D HUGO ARMANDO ESTUPIÑÁN DURÁN**

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

**2013**

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por ser mi fortaleza y llenarme de inmensas bendiciones, por darme la paz interior que necesité para vencer tantos obstáculos.

A mi abuelo GERMAN, que es mi ángel y fuerza en cada logro obtenido, por su constante enseñanza moral e intelectual y su confianza depositada en mí.

A mis padres Sara Vera Dulcey y German Blanco Márquez, que creyeron siempre en mí, y me apoyaron en este largo camino, sin ellos, esto no habría sido real, por su incondicional amor.

A mis hermanos German y Natha, que han sido el motor y la razón de todo mi esfuerzo, por los cuales vale la pena cada paso que doy.

A mi Chuchito, mi gran tesoro, por brindarme siempre su apoyo en cada momento difícil, por siempre hacerme feliz y compensarme con una sonrisa o un gran abrazo, por ser parte fundamental en cada triunfo obtenido.

A mi familia, que han creído en mí y han puesto su granito de arena para que esta meta pudiera ser cumplida, por siempre tenerme en sus oraciones.

A mis amigos, que han estado en estos años, compartiendo momentos muy felices, por su apoyo incondicional, mi Ficti, Jenny Mariela, Andreita, Dianita, Nelsiton, Angelito, mi Bobis, mi Pola, Dayis, Gaby, Lore, Mafe, Jacke, Kusysito, Jhoa, Harrison, Gómez, Susy, Lizeth, y todas esas personas maravillosas que han llegado a mi vida a lo largo de todos estos años, mil gracias.

Al Doctor Orlando Aguirre, a Alcírta y al ingeniero Buitrago, por enseñarme a sonreír en momentos adversos, y por ser muy bondadosos conmigo.

Marly Ximena Blanco Vera.

Dedico este trabajo a mi madre, quien con su esfuerzo y dedicación, fue un pilar fundamental en el desarrollo y culminación de mis estudios profesionales.

A mi tía Omaira, gracias por su apoyo y por ser mi guía durante los momentos difíciles.

Jhoanna Carvajal Rey.

## **AGRADECIMIENTOS**

Las autoras de este proyecto expresan sus más sinceros agradecimientos a:

La Universidad Industrial de Santander por brindarnos la oportunidad de culminar nuestros estudios profesionales.

Custodio Vásquez Quintero, Ingeniero metalúrgico M.Sc, Director de esta investigación y Hugo Armando Estupiñán Durán, Ingeniero metalúrgico Ph.D, Co-director de esta investigación, quienes gracias a su dedicación, entrega de conocimiento, experiencia, paciencia y motivación constante, forjaron las ideas que paso a paso construyeron esta investigación.

Ambrosio Carrillo, Javier Gaitán, Domingo Carreño, y Mario Navarrete, técnicos y profesores que durante el desarrollo de este proyecto y el transcurso de la formación académica profesional nos brindaron las herramientas necesarias para alcanzar los objetivos planteados como profesionales.

Enrique Mejía, profesor de la Escuela de Química de la Universidad Industrial de Santander, quién nos brindó su colaboración para el desarrollo de la presente investigación.

A nuestros compañeros y amigos más cercanos, por estar cerca en los momentos difíciles, brindarnos una sonrisa y compartir sus conocimientos adquiridos.

## TABLA DE CONTENIDO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>INTRODUCCIÓN</b>   | <b>19</b> |
| <b>OBJETIVOS</b>  | <b>21</b> |
| OBJETIVO GENERAL  | 21        |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS   | 21        |
| <b>1.    MARCO TEÓRICO</b>  | <b>22</b> |
| 1.1    Sustrato - Ti6Al4V   | 22        |
| 1.2    Formación de la película de óxido de titanio   | 23        |
| 1.3    Tratamiento alcalino del sustrato  | 24        |
| 1.4    Litografía láser   | 25        |
| 1.5    Evaluación de las propiedades bioactivas de materiales en fluidos fisiológicos simulados (SBF) | 25        |
| <b>2    METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b>  | <b>26</b> |
| 2.1    Preparación superficial  | 27        |
| 2.1.1    Pulido mecánico  | 27        |
| 2.1.2    Pulido químico   | 27        |
| 2.2    Obtención de superficies nanopatronada   | 28        |
| 2.2.1    Oxidación de la superficie del sustrato mediante anodizado                                   | 28        |
| 2.2.2    Inmersión en solución alcalina de NaOH con un posterior tratamiento térmico                  | 29        |
| 2.2.3    Patronamiento de las superficies mediante la técnica de Litografía Láser                     | 29        |
| 2.3    Evaluación de bioactividad en un fluido fisiológico  | 30        |
| Inmersión en una solución rica en iones fosfatados ( <i>SBF</i> )                                     | 30        |
| 2.4    Caracterización electroquímica   | 31        |
| Espectroscopía de Impedancia Electroquímica. EIE  | 31        |
| 2.5    Pruebas de caracterización   | 32        |
| 2.6    Diseño de Experimentos   | 32        |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| <b>3</b>  | <b>RESULTADOS Y ANÁLISIS</b>  | <b>34</b> |
| 3.1       | Preparación superficial   | 34        |
| 3.2       | Obtención de superficies nanopatronadas                                     | 35        |
| 3.2.1     | Oxidación de la superficie del sustrato mediante anodizado.                 | 35        |
| 3.2.2     | Inmersión en solución alcalina de NaOH con un posterior tratamiento térmico | 37        |
| 3.2.3     | Patronamiento de las superficies mediante la técnica de Litografía Láser.   | 40        |
| 3.3       | Evaluación de bioactividad en un fluido fisiológico simulado                | 42        |
| 3.4       | Caracterización electroquímica  | 52        |
| 3.4.1     | Espectroscopía de Impedancia Electroquímica <i>EIE</i>                      | 52        |
| 3.5       | Análisis Estadístico  | 61        |
| <b>4.</b> | <b>CONCLUSIONES</b>   | <b>66</b> |
| <b>5.</b> | <b>RECOMENDACIONES</b>  | <b>68</b> |
|           | <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>   | <b>69</b> |
|           | <b>ANEXOS</b>   | <b>74</b> |

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Representación del cambio estructural en la superficie tratada con oxidación alcalina mediante inmersión en NaOH. 24
- Figura 2. Metodología usada para el desarrollo del presente trabajo. 26
- Figura 3. Montaje Ensayo de Anodizado- Laboratorio de Corrosión UIS. 29
- Figura 4. Montaje empleado para usar la técnica de Litografía Láser en el Ti6Al4V 30
- Figura 5 Micrografía de la aleación Ti6Al4V a 2000X atacada con solución Kroll. 34
- Figura 6. Densidad de Corriente vs Tiempo para un electrolito 1M de  $H_3PO_4$  empleando un voltaje de 30V. 35
- Figura 7. Micrografías de SEM a 30.000X de películas anódicas de Ti6Al4V anodizadas con  $H_3PO_4$  a 30V por 60 segundos. 36
- Figura 8. Análisis EDS de películas anódicas de Ti6Al4V con  $H_3PO_4$  a 30V por 60 segundos. 37
- Figura 9. Muestras de Ti6Al4V a) Anodizado con  $H_3PO_4$  por 60 segundos, b) con tratamiento alcalino de NaOH, y c) Posterior tratamiento térmico a 450°C por 1 hora. 38
- Figura 10. Análisis EDS de la capa de óxido de titanio con tratamiento alcalino a) sin T.T. y b) con T.T. a 450 °C 39
- Figura 11. Micrografías de SEM de los puntos nanométricos hechos por Litografía Láser después del anodizado sobre Ti6Al4V por a) 90 minutos, b) 120 minutos y c) 150 minutos. 41
- Figura 12. Micrografía de SEM de la nucleación de apatitas por inmersión en solución *SBF* durante 7 días con concentración Ca/P 2.5 a) Superficie oxidada-con NaOH-sin T.T., b) superficie oxidada-con NaOH-sin T.T. patronado, c) superficie oxidada-con NaOH-con T.T., d) superficie oxidada-con NaOH-con T.T. patronado. 43
- Figura 13. Análisis EDS de inmersión en solución *SBF* durante 7 días con concentración Ca/P 2.5 a) superficie oxidada-con NaOH, b) superficie oxidada-con NaOH patronada, c) superficie oxidada-con NaOH y con T.T., d) superficie oxidada-con NaOH y con T.T. patronado. 45

|  |    |
|--|----|
| Figura 14. Micrografía de SEM de la nucleación de apatitas sobre los sustratos con tratamiento alcalino con inmersión en <i>SBF</i> durante 7 días con concentración Ca/P 3.08 a) superficie oxidada-con NaOH, b) superficie oxidada-con NaOHpatronada, c) superficie oxidada-con NaOH y con T.T., d) superficie oxidada-con NaOH y con T.T. patronado | 47 |
| Figura 15. Análisis EDS de inmersión en solución <i>SBF</i> durante 7 días con concentración Ca/P 3.08 a) Superficie oxidada-con NaOH, b) Superficie oxidada-con NaOHpatronada, c) Superficie oxidada-con NaOH y con T.T., d) Superficie oxidada-con NaOH y con T.T. patronado   | 48 |
| Figura 16. Espectro DRX de los sustratos con tratamiento alcalino con NaOH con y sin patronamiento y posterior inmersión en <i>SBF</i> con relación Ca/P 3.08 durante 7 días.  | 51 |
| Figura 17. Módulo para los espectros de Bode, a) Ca/P: 2.5mMol/L con una hora de inmersión b) Ca/P: 3.08mMol/L con una hora de inmersión, c) Ca/P: 2.5mMol/L con siete días de inmersión b) Ca/P: 3.08mMol/L con siete días de inmersión   | 52 |
| Figura 18. Ángulo de fase para los espectros de Bode, a) Ca/P: 2.5 mMol/L con una hora de inmersión b) Ca/P: 3.08 mMol/L con una hora de inmersión, c) Ca/P: 2.5 mMol/L con siete días de inmersión b) Ca/P: 3.08 mMol/L con siete días de inmersión   | 54 |
| Figura 19. Diagrama de Nyquist a) Ca/P: 2.5 mMol/L con una hora de inmersión b) Ca/P: 3.08 mMol/L con una hora de inmersión, c) Ca/P: 2.5 mMol/L con siete días de inmersión b) Ca/P: 3.08 mMol/L con siete días de inmersión  | 56 |
| Figura 20. Circuito equivalente empleado para la simulación de los espectros experimentales electroquímicos para los recubrimientos en inmersión.  | 58 |
| Figura 21. Diagrama de Pareto  | 61 |
| Figura 22. Diagrama de efectos principales para la resistencia a la transferencia de carga (Rads)  | 63 |
| Figura 23. Diagrama de efectos de interacción  | 63 |
| Figura 24. Concentración de iones $Ca^{+2}$ vs Rads*C de la muestra con posterior tratamiento térmico a 450°C con litografía antes de inmersión.   | 79 |
| Figura 25. Superficie oxidada con NaOH a) Relación Ca/P 2.5 a 33.363X y b) Relación Ca/P 3.08 a 50.000X  | 80 |
| Figura 26. Superficie oxidada con NaOH y Litografía a) Relación Ca/P de 2.5 a 500.000X y b) Relación Ca/P de 3.08 a 12.000X  | 80 |

Figura 27. Superficie oxidada con NaOH y posterior tratamiento térmico a) Relación Ca/P de 2.5 a 50.000X y b) Relación Ca/P de 3.08 a 26.000X 81

Figura 28. Superficie oxidada con NaOH y posterior Tratamiento térmico y litografía a) Relación Ca/P de 2.5 a 50.000X y b) Relación Ca/P de 3.08 a 50.000X 81

## LISTA DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Reactivos para la preparación de 1 litro de <i>SBF</i> (pH=7.25 - 7.40)  | 31 |
| Tabla 2. Especificación de sustratos a los cuales se les realizó medidas de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica.        | 32 |
| Tabla 3 Variables utilizadas  | 33 |
| Tabla 4. Diseño de experimentos   | 33 |
| Tabla 5. Dureza Vickers medida sobre la superficie anodizada y la superficie contratamiento alcalino sobre el sustrato Ti6Al4V. | 40 |
| Tabla 6. Relación Ca/P para los sustrato con 7 días de inmersión en solución <i>SBF</i> con relación Ca/P 2.5 y 3.08.           | 49 |
| Tabla 7. Datos termodinámicos del fenómeno de adsorción en una hora y 7 días de inmersión en fluido fisiológico                 | 59 |
| Tabla 8. Análisis de varianza para la Resistencia a la transferencia de carga (Rads).   | 62 |
| Tabla 9. Coeficiente de regresión para la Resistencia a la transferencia de carga (Rads).                                       | 65 |

## LISTA DE ANEXOS

|          |  |    |
|----------|--|----|
| ANEXO A. | Simulación de circuitos de espectroscopía de impedancia electroquímica   | 75 |
| ANEXO B. | Simulación de circuitos de espectroscopía de impedancia electroquímica   | 76 |
| ANEXO C. | Valores del circuito equivalente del proceso de adsorción  | 77 |
| ANEXO D. | Datos termodinámicos de adsorción  | 79 |
| ANEXO E. | Micrografía de SEM de la nucleación de apatitas sobre los sustratos con tratamiento alcalino con inmersión en SBF durante 7 días con concentración Ca/P 3.08 | 80 |

## RESUMEN

**TITULO:** OBTENCIÓN DE SUPERFICIES BIOACTIVAS SOBRE EL SUSTRATO Ti6Al4V MEDIANTE PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER\*.

**AUTORES:** BLANCO VERA Marly Ximena; CARVAJAL REY Jhoanna\*\*

**PALABRAS CLAVES:** Ti6Al4V, litografía láser, *SBF*, titanato de sodio, apatita

### DESCRIPCIÓN

El objetivo de este proyecto fue generar superficies con mayor reacción biológica sobre el sustrato Ti6Al4V con el fin de controlar las propiedades fisicoquímicas de los implantes, desarrollando una modificación superficial mediante Litografía Láser. La oxidación de la superficie se obtuvo a través de un proceso de anodizado en una solución 1M de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> con un voltaje constante de 30 V y una densidad de corriente variable durante 60 segundos, donde se evidenció su influencia sobre la morfología.

Mediante la inmersión en una solución de NaOH por 24 horas a 60°C, y un tratamiento térmico a 450°C durante una hora, se formó una capa estable de titanato de sodio deshidratado y densificado, el cual presentó un bajo grado de cristalinidad en los análisis DRX. Se realizó un patronamiento mediante la incidencia de un láser de baja intensidad correspondiente a 1μJ con variaciones de tiempo de 90, 120 y 150 minutos, caracterizando el tamaño de los patrones; de los cuales el de 90 minutos presentó la mejor morfología y diámetro nanométrico. Se estudió la resistencia de las películas; así como la capacidad de adsorción de iones calcio por medio de la técnica de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (*EIS*).

El carácter bioactivo se evaluó mediante la inmersión en un fluido fisiológico simulado a 37°C por 7 días, generando los grupos Ti-OH<sup>-</sup> formados por el intercambio de iones Na<sup>+</sup> y H<sub>3</sub>O<sup>-</sup>, que se combinan con los iones Ca<sup>+2</sup> de la solución *SBF*, formando titanato de calcio amorfo e interactuando con los iones fosfatos. Una superficie tratada térmicamente y patronada mostró una disminución en la resistencia a la transferencia de carga, permitiendo mayor precipitación y adsorción en la superficie de los iones calcio, promoviendo el crecimiento de colonias de apatitas, mostrando su bioactividad frente al fluido fisiológico.

---

\*Proyecto de Grado

\*\*Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. Director: M. Sc. CUSTODIO VÁSQUEZ QUINTERO. Codirector: Ph.D HUGO ARMANDO ESTUPIÑÁN DURÁN

## ABSTRACT

**TITLE:** OBTAINING OF BIOACTIVE SURFACES ON THE Ti6Al4V SUBSTRATE BY LASER LITHOGRAPHY PATTERNING.

**AUTHORS:** BLANCO VERA Marly Ximena; CARVAJAL REY Jhoanna\*\*

**KEYWORDS:** Ti6Al4V, laser lithography, *SBF*, sodium titanate, apatite

### DESCRIPTION

The aim of this Project was to generate surfaces with more biological reaction on the substrate Ti6Al4V in order to control the physicochemical properties of implants, developing a surface modification by means of laser lithography. The surface oxidation was obtained through an anodizing process in a solution of 1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> with a 30V constant voltage and a variable current density for 60 seconds, which evidenced its influence on the morphology.

With the immersion in the NaOH solution for 24 hours at 60°C, and a heat treatment at 450 °C for an hour, a dehydrated and densified sodium titanate stable layer was formed. This showed a low degree of crystallinity in the DRX analysis. Patterning was performed by incidence of a low intensity laser (1μJ), varying the exposure time in 90, 120 and 150 minutes, characterizing the pattern size; and the 90 minutes patterning showed the best morphology and nanometer diameter. The resistance of the particles was studied as well as the calcium ion adsorptivity through the electrochemical impedance spectroscopy technique (EIE).

The bioactive character was evaluated by the simulated body fluid immersion at 37°C for 7 days, generating the Ti-OH<sup>-</sup> groups formed by the ions Na<sup>+</sup> and H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> exchange, which combined with the Ca<sup>+2</sup> ions in the *SBF* solution, forms amorphous calcium titanate which interacts with the phosphate ions. A thermally-treated patterned surface shows a decrease in the charge transfer resistance, allowing more precipitation and adsorption of the calcium ions on the surface, promoting growth of apatite colonies, showing their bioactivity in front of the simulated body fluid.

---

\*Thesis Project

\*\*Faculty Physical Chemistry of Engineering. School of metallurgical engineering and materials science. Director: M. Sc. CUSTODIO VÁSQUEZ QUINTERO. Codirector: Ph.D HUGO ARMANDO ESTUPIÑÁN DURÁN.

## INTRODUCCIÓN

Las ciencias modernas aplicadas están en constante desarrollo, las cuales tienen una tendencia común en la utilización de procesos y fenómenos que llegan a escalas extremadamente pequeñas. El campo de los biomateriales no es una excepción en esta tendencia, ya que las propiedades en las superficies de los biomateriales a escala micro y nanométrica, desempeñan un papel importante en su rendimiento e interacción con los medios biológicos.

El desarrollo de estructuras nanométricas permite fijar de forma más precisa biomateriales en superficies de sustratos metálicos, donde una matriz nanométrica, brinda sitios activos para el crecimiento y desarrollo de proteínas y/o células. El uso de modificaciones superficiales nanométricas para generar materiales bioactivos, brinda mayor funcionalidad al biomaterial, permitiendo obtener una estructura que provee al hueso condiciones óptimas para su desempeño; aumentando el tiempo de vida a los implantes.

Una superficie con características bioactivas con el fluido fisiológico y nanoestructurada promueve la nucleación y el crecimiento de los fosfatos de calcio (apatita). La apatita, tiene la misma composición mineralógica del hueso, que se comporta como una estructura osteoconductiva, permitiendo el crecimiento de tejido, proveniente del hueso circundante para posteriormente osificarse.<sup>[1]</sup>

Basados en la necesidad de generar superficies con mayor reacción biológica, se fusiona la aleación Ti6Al4V, con un cerámico bioactivo (Titanato de sodio); realizando sobre el sustrato una modificación superficial por medio de la técnica de litografía láser; con el fin de aumentar el área superficial, incrementando la interacción con el medio fisiológico, mediante la generación de sitios activos para el proceso de precipitación de los fosfatos de calcio.

Este proyecto titulado “OBTENCIÓN DE SUPERFICIES BIOACTIVAS SOBRE EL SUSTRATO Ti6Al4V MEDIANTE PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER”, hace parte de una investigación en desarrollo en conjunto con el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación Colciencias, “Desarrollo y evaluación del patronamiento de nanoestructuras para regeneración ósea sobre materiales oseointegrables como producto de innovación tecnológica de la empresa Quirúrgicos Especializados SA”, bajo la dirección del Doctor Darío Yesid Peña Ballesteros.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Obtener superficies bioactivas sobre el sustrato Ti6Al4V mediante patronamiento por litografía láser.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener superficies con sitios bioactivos patronados sobre Ti6Al4V mediante litografía láser e inmersión en *SBF*.
- Caracterizar la morfología y la cristalinidad de una película bioactiva, mediante Microscopía Electrónica de Barrido y Difracción de Rayos X.
- Evaluar la estabilidad de la superficie obtenida, mediante Espectroscopía de Impedancia Electroquímica.

## 1. MARCO TEÓRICO

Los biomateriales pueden ser considerados como productos aptos para ser utilizados en los seres humanos con fines de tratamiento o alivio de una enfermedad o lesión, o bien para la sustitución o modificación de su anatomía o de un proceso fisiológico; por ello, se incluye cualquier producto natural, sintético o natural modificado que pueda ser utilizado como un dispositivo médico o parte de él. Dichos materiales son de tipo metálico, cerámico, polimérico y las combinaciones de ellos llamadas *composites*.

Para que un material sea aceptado en su aplicación como biomaterial debe cumplir con ciertas propiedades, como el carácter no tóxico, no carcinogénico, biocompatible y no generador de efectos adversos en el organismo. Cada biomaterial presenta diferentes propiedades, según su estructura y características, de allí nace la necesidad de fusionar algunos de ellos para su complemento.

### 1.1 Sustrato - Ti6Al4V

Los materiales metálicos empleados como biomateriales son imprescindibles hoy en día para aquellas aplicaciones clínicas que requieran la sustitución de tejidos duros, por dos razones básicas, sus propiedades mecánicas y su resistencia a la corrosión en el organismo humano; además pueden ser conformados por medio de una gran variedad de técnicas.

Uno de los biomateriales más empleados para la sustitución ósea, es la aleación Ti6Al4V, según la composición de la norma ASTM F-136 <sup>[2]</sup>. Si bien las aplicaciones de los biomateriales metálicos son múltiples, el número de familias de aleaciones metálicas que pueden soportar las condiciones del medio biológico es muy reducido; esto es debido a que en éstos se pueden producir fallas tales como desgaste, corrosión, liberación de especies iónicas en el organismo, unión con los

tejidos óseos y transmisión de esfuerzos a los tejidos circundantes, en los que se debe mejorar.

## **1.2 Formación de la película de óxido de titanio**

La oxidación anódica implica tratamientos químicos con ácidos y corrientes eléctricas, que generan reacciones químicas en la interfase entre el sustrato y la solución, realizando una modificación superficial de los biomateriales metálicos. Las aleaciones de titanio generalmente se pasivan por una capa natural, que consta de una película de óxido típicamente compuesta de tres capas diferentes, TiO (capa en contacto con el metal), Ti<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (capa intermedia) y TiO<sub>2</sub> (capa externa).

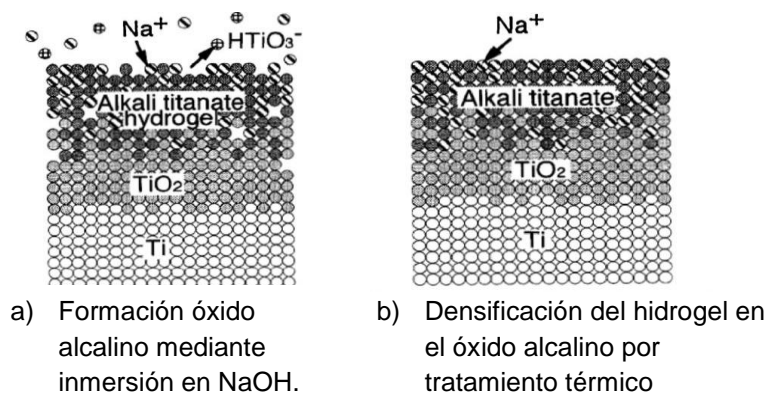
Cuando el titanio es sumergido en una solución oxidante, una cadena de reacciones se produce sobre los subóxidos TiO y Ti<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para finalmente generarse una película pasiva compuesta por TiO<sub>2</sub>. El espesor de la capa de óxido seguirá aumentando conforme el electrolito penetra por las porosidades del mismo y se modifiquen los potenciales electroquímicos para su formación.

El anodizado de titanio, es un tratamiento superficial, que consolida y densifica las capas pasivas finas existentes, dando como resultado un espectro de los colores superficiales que se extienden del color dorado, pasando por toda la gama del arco iris, hasta llegar al color negro mate. Se realiza en una variedad de electrolitos, dónde los ácidos sulfúrico y fosfórico diluidos son utilizados ampliamente. El espesor de la capa anodizada depende del tiempo de electrólisis o la densidad de corriente. <sup>[3, 4]</sup>

### 1.3 Tratamiento alcalino del sustrato

Cuando la aleación de Ti6Al4V es sometida a un tratamiento alcalino y tratada térmicamente, la superficie se modifica en varias etapas como se muestra en la Figura 1.

Figura 1. Representación del cambio estructural en la superficie tratada con oxidación alcalina mediante inmersión en NaOH.



Fuente: XUANYONG Liu, PAUL K. Chu, CHUANXIAN Ding Surface nano-functionalization of biomaterials China. 2010. Pág. 279

Durante el tratamiento alcalino, la película protectora de óxido  $\text{TiO}_2$  de la capa anodizada se disuelve parcialmente en la solución alcalina debido al ataque por grupos hidroxilo, mientras que la hidratación del titanio metálico aporta ganancias de electrones al mismo tiempo, generando los hidratos cargados negativamente tales como  $\text{HTiO}_3^- \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , producidos sobre la superficie anodizada. Durante el secado los hidratos cargados negativamente, se combinan con iones alcalinos ( $\text{Na}^+$ ); a partir de la solución acuosa para formar una capa de titanato de sodio amorfa.

Un posterior tratamiento térmico, deshidrata la capa de titanato de sodio densificándola para formar un material amorfo o semicristalino estable. Las características físico-químicas superficiales y topográficas obtenidas en este tratamiento pueden ser cuidadosamente controladas para favorecer el crecimiento de la apatita. [5, 6]

#### **1.4 Litografía láser**

Es un tipo de emisión de espectroscopia atómica que utiliza un láser altamente energético de impulsos como fuente de excitación. El láser se enfoca para formar un plasma, que atomiza y excita la superficie incidida. [7] La litografía láser (Espectroscopia de disociación inducida por láser, *LIBS*) es una técnica que comienza con la incidencia de un láser a una rejilla, imitando la forma del patrón que posteriormente incide sobre la muestra. [8] Al impactar el láser, genera puntos nanométricos sobre la superficie, sin ocasionar la destrucción del material. [9]

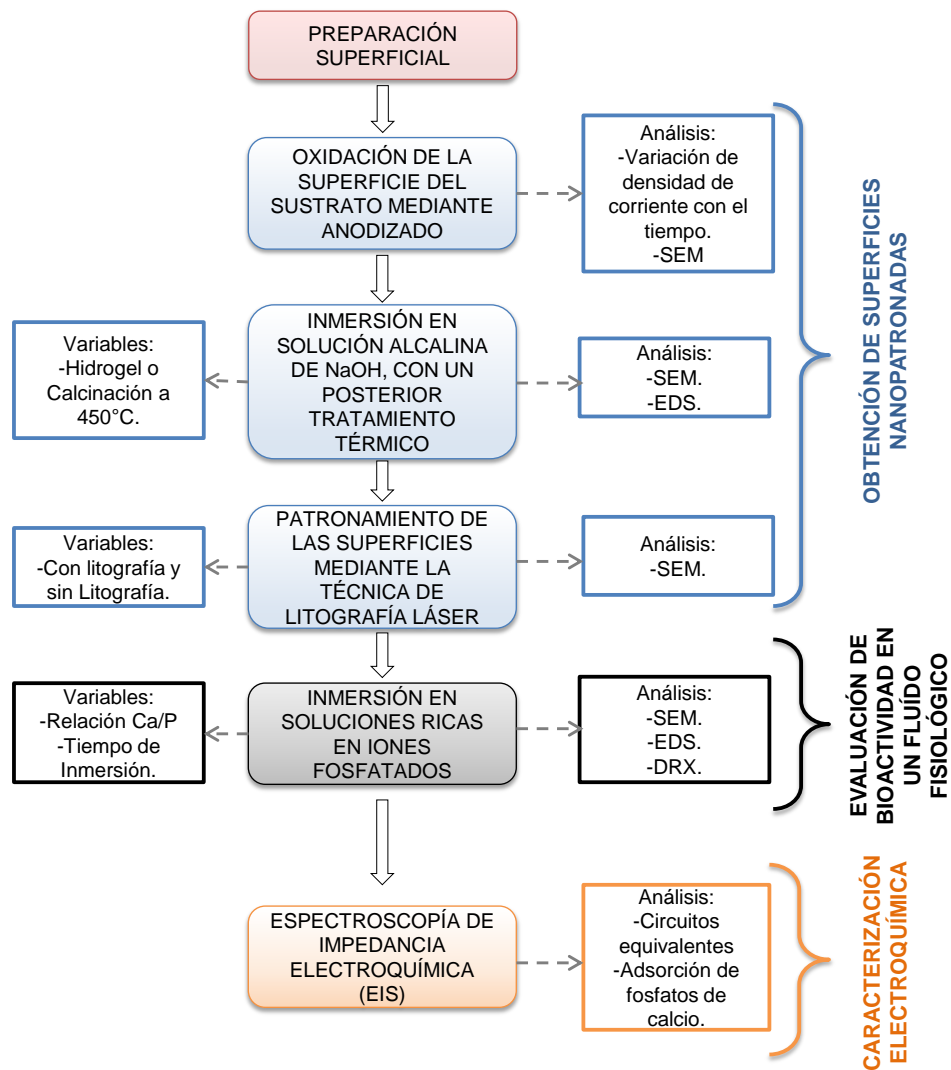
#### **1.5 Evaluación de las propiedades bioactivas de materiales en fluidos fisiológicos simulados (SBF)**

Los biomateriales, tanto naturales como sintéticos, poseen características químicas, que definen su biocompatibilidad y bioestabilidad, las cuales deben conocerse para predecir su comportamiento clínico, durante su uso. Es por ello que, para evaluar las propiedades bioactivas, se utiliza una estrategia biomimética, que consiste en preparar un fluido fisiológico semejante al plasma sanguíneo del cuerpo humano. A esta solución salina se le denomina Fluido Fisiológico Simulado, la cual se mantiene en condiciones semejantes a las del cuerpo humano, es decir, a una temperatura de 37°C y un pH que puede variar entre 7.25 y 7.42. [10]

## 2 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

A continuación se describe la metodología experimental seguida para llevar a cabo el presente trabajo (Figura 2). La aleación empleada fue la aleación Ti6Al4V, suministrada por la empresa Quirúrgicos Especializados S.A.

Figura 2. Metodología usada para el desarrollo del presente trabajo.



Fuente: Autores

## **2.1 Preparación superficial**

### **2.1.1 Pulido mecánico**

Las probetas de la aleación Ti6Al4V con un diámetro de 14 mm y un espesor de 2 mm, se obtuvieron de una barra en forma cilíndrica. Estas probetas fueron preparadas superficialmente mediante un pulido mecánico, bajo indicaciones de la norma *ASTM E 3 – 01*.<sup>[11]</sup>

Una vez la superficie de las muestras se encontraba sin rayas o planos, se llevó a cabo un análisis microestructural de la aleación, mediante ataque con solución Kroll, cuya composición fue 5% v/v de HNO<sub>3</sub>, 10% v/v de HF y agua destilada, durante 15 segundos<sup>[12]</sup>. Se observó la microestructura mediante el Microscopio Óptico Olympus BX41 a un aumento de 2000X.

### **2.1.2 Pulido químico**

Para obtener una apariencia espejo en la superficie a evaluar las muestras se sometieron a un pulido químico mediante una solución decapante con 20% v/v de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>, 65% v/v), 3 % v/v de ácido fluorhídrico (HF, 40% v/v) y agua destilada, guardando una relación de 1,4 y 5 respectivamente,<sup>[13]</sup> realizando una inmersión durante 180 segundos a temperatura ambiente. Posteriormente se realizó una inmersión en una solución de carbonato de calcio para neutralizar la acción oxidante del flúor. Se lavaron las muestras en agua destilada y etanol.

## **2.2 Obtención de superficies nanopatronada**

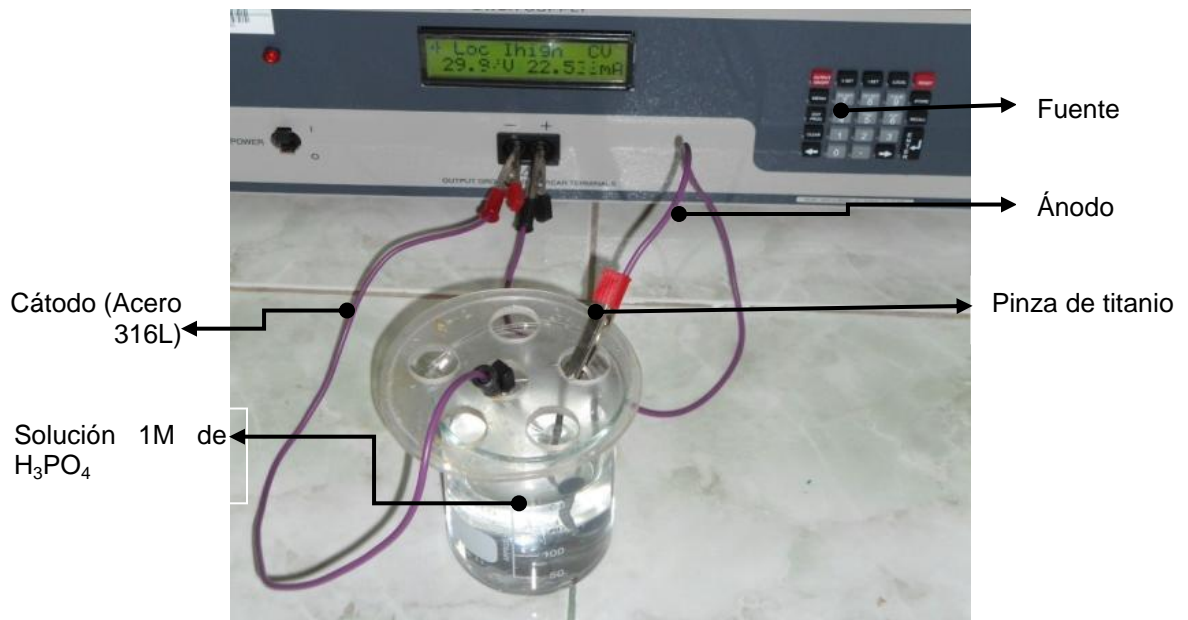
### **2.2.1 Oxidación de la superficie del sustrato mediante anodizado**

Antes de realizar el anodizado a las muestras de Ti6Al4V se llevó a cabo una limpieza ultrasónica con etanol durante 8 minutos, con el fin de eliminar rastros de abrasivo, trazas o grasa en la superficie.

El anodizado se llevó a cabo en una solución de ácido fosfórico (85% v/v) a una concentración de 1 M, durante 60 segundos a 25°C. Se utilizó una celda con dos electrodos, uno que actúa como cátodo (lámina de acero inoxidable 316L) y el ánodo que fue la muestra de Ti6Al4V. <sup>[14]</sup>

Las muestras fueron removidas de la solución inmediatamente terminó el tiempo de ensayo y se sumergieron en agua destilada, posteriormente en alcohol con el fin de neutralizar el efecto ácido. El anodizado se llevó a cabo en todas las muestras como primera etapa de oxidación en la superficie, con el fin de aumentar el espesor de la capa de óxido formada naturalmente. Se utilizó corriente continua, proporcionada por una fuente de potencia marca Kepco, modelo No BHK 500 – 04 MG mostrada en la Figura 3.

Figura 3. Montaje Ensayo de Anodizado- Laboratorio de Corrosión UIS.



Fuente: Autores

### 2.2.2 Inmersión en solución alcalina de NaOH con un posterior tratamiento térmico

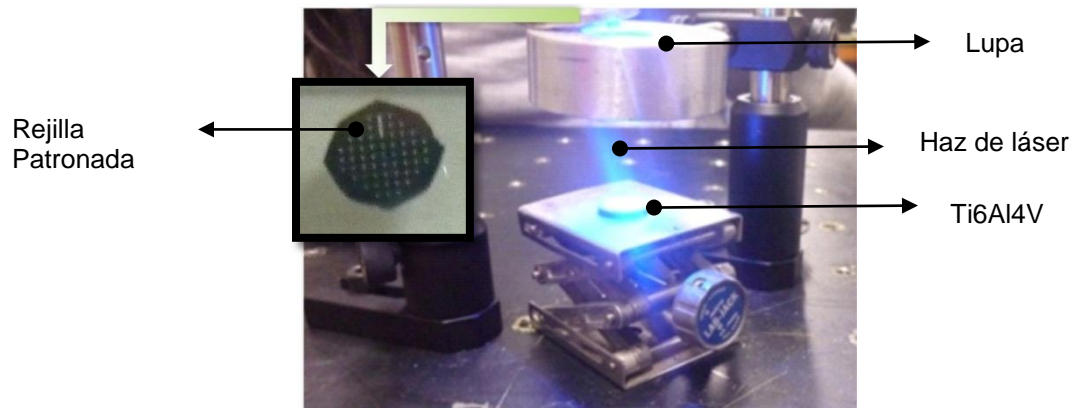
Se realizó una inmersión en una solución acuosa de NaOH, a una concentración de 10 M y una temperatura de 60 °C, durante 24 horas. Posteriormente, las muestras fueron secadas durante 24 horas, para proceder a tratar térmicamente en un horno con una rampa de calentamiento de 5°C/min hasta 450 °C, temperatura a la cual se mantuvo el tratamiento durante una hora, con el fin de densificar la capa de hidrogel alcalino formada.

### 2.2.3 Patronamiento de las superficies mediante la técnica de Litografía Láser

Se procedió a realizar el patronamiento mediante litografía láser sobre la superficie de las muestras a evaluar. Para ello se expusieron a irradiación láser de baja

energía correspondiente a 1 micro Julio, mediante una fibra óptica, y por medio de una fuente *OPTRONICSVD- 111ADPSS LÁSER DRIVER*, durante 90, 120 y 150 minutos, tiempo en el que se obtuvo los mejores resultados del ensayo, en las pruebas de estandarización. El láser atraviesa una rejilla de nitruro de silicio SiN patronada con puntos ordenados de 15 nm, donde el haz fue interferido por una lupa que incidió sobre la superficie de la muestra (Figura 5).

Figura 4. Montaje empleado para usar la técnica de Litografía Láser en el Ti6Al4V



Fuente: Autores

### 2.3 Evaluación de bioactividad en un fluido fisiológico

#### Inmersión en una solución rica en iones fosfatados (*SBF*)

Para comprobar la bioactividad de las superficies patronadas se realizó una inmersión en solución *SBF* (*Simulated Body Fluid*) cuya composición se especifica en la tabla 1, <sup>[16]</sup> sobre las superficies patronadas y sin patronar; con el fin de promover el crecimiento de apatitas. La inmersión se realizó modificando la relación Ca/P de la preparación estándar del *SBF*, con concentración, 2.5 mMol/L y 3.08mMol/L. Las muestras fueron mantenidas inmersas en estas soluciones durante 168 horas a temperatura de 37 °C.

Tabla 1. Reactivos para la preparación de 1 litro de *SBF* (pH=7.25 - 7.40)

| Orden | Reactivo   | Relación Ca/P |                                    |
|-------|--|---------------|------------------------------------|
|       |  | 2.5           | 3.08                               |
| 1     | NaCl   | 8.035 g       | 8.035 g                            |
| 2     | NaHCO <sub>3</sub>                                 | 0.355 g       | 0.355 g                            |
| 3     | KCl  | 0.225 g       | 0.225 g                            |
| 4     | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O | 0.231 g       | 0.39 g                             |
| 5     | MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O               | 0.311 g       | 0.311 g                            |
| 6     | 1.0MHCl  | 39 ml         | 39 ml                              |
| 7     | CaCl <sub>2</sub>                                  | 0.292 g       | 0.584 g                            |
| 8     | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                    | 0.072 g       | 0.072 g                            |
| 9     | (CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub> | 6.118 g       | 6.118 g                            |
| 10    | 1.0MHCl  | 0- 5 ml       | Cantidad necesaria para ajustar pH |

Fuente: KOKUBO Tadashi. TAKADAMA Hiroaki. How useful is *SBF* in predicting in vivo bone bioactivity. *Biomaterials* 27 (2006) 2907-2915. <sup>[16]</sup>

## 2.4 Caracterización electroquímica

### Espectroscopía de Impedancia Electroquímica. EIE

Se realizó una evaluación electroquímica, mediante Espectroscopía de Impedancia Electroquímica según norma ASTM G 106,<sup>[17]</sup> para obtener información acerca de los procesos farádicos y no farádicos que ocurren en la interfase sustrato-depósito-electrolito en las superficies modificadas con tratamiento alcalino, con o sin litografía láser.

Las pruebas se realizaron utilizando una celda de tres electrodos, con un electrodo auxiliar de grafito, un electrodo de referencia de Calomel Saturado y como electrodo de trabajo, el sustrato a evaluar. Éste con un área superficial de exposición de 1 cm<sup>2</sup>, la temperatura fue de 25°C aproximadamente. Se obtuvieron

los diagramas de Bode y Nyquist por medio de un potenciostato/galvanostato GAMRY 600, Se trabajó con una amplitud de voltaje de 10mV, y un intervalo de frecuencia de 0.01 hasta 10000 Hz. La evaluación se realizó a 1 hora y 7 días de inmersión. Las condiciones de cada sustrato se especifican en la tabla 2.

Tabla 2. Especificación de sustratos a los cuales se les realizó medidas de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica.

| Condiciones de sustratos                                 | Relación Ca/P 2.5 | Relación Ca/P 3.08 |
|--|-------------------|--------------------|
| Oxidadas con NaOH sin litografía                         | ✓                 | ✓                  |
| Oxidadas con NaOH con tratamiento térmico sin litografía | ✓                 | ✓                  |
| Oxidadas con NaOH con litografía                         | ✓                 | ✓                  |
| Oxidadas con NaOH con tratamiento térmico y litografía   | ✓                 | ✓                  |

Fuente: Autores

Usando los valores de los elementos resistivos de los análisis electroquímicos, se calcularon datos termodinámicos que describen el proceso de adsorción de fosfatos de calcio, para las dos concentraciones empleadas.

## 2.5 Pruebas de caracterización

La morfología y la cristalinidad de las muestras tratadas, fueron evaluadas mediante Microscopía Electrónica de Barrido (*SEM*), y Difracción de Rayos X (*DRX*).

## 2.6 Diseño de Experimentos

Las variables a evaluar fueron: Patronamiento, Relación Ca/P, y Tratamiento térmico cómo se puede observar en la Tabla 3.

Tabla 3 Variables utilizadas

| Variable            | Niveles                |                       |
|---------------------|------------------------|-----------------------|
|                     | Sin patronamiento (-1) | Con patronamiento (1) |
| Patronamiento       |                        |                       |
| Relación Ca/P       | 2.5                    | 3.08                  |
| Tratamiento térmico | 60°C                   | 450°C                 |

Fuente: Autores

Por medio de un paquete estadístico, se estableció un modelo de  $2^n$  donde:

2: Es el número de niveles      n: Es el número de variables

Se obtuvo un modelo de  $2^3$  que da como resultado 8 pruebas, donde el análisis estadístico estableció (-1.0), como punto mínimo para la litografía sin patronamiento, y (1.0) como punto máximo con patronamiento. Las pruebas se realizaron de forma aleatoria, y el diseño de experimentos se puede observar en la tabla 4.

Tabla 4. Diseño de experimentos

|   | BLOQUE | Tratamiento térmico | Patronamiento | Concentración | Rads: Resistencia a la Transferencia de Carga- R2 |
|---|--------|---------------------|---------------|---------------|---|
| 1 | 1      | 450                 | -1            | 2.5           | 2471  |
| 2 | 1      | 450                 | -1            | 3.08          | 959.6   |
| 3 | 1      | 60                  | -1            | 2.5           | 3613  |
| 4 | 1      | 60                  | 1             | 3.08          | 360.8   |
| 5 | 1      | 450                 | 1             | 2.5           | 524   |
| 6 | 1      | 60                  | 1             | 2.5           | 308.1   |
| 7 | 1      | 450                 | 1             | 3.08          | 2108  |
| 8 | 1      | 60                  | -1            | 3.08          | 97.27   |

Fuente: Autores

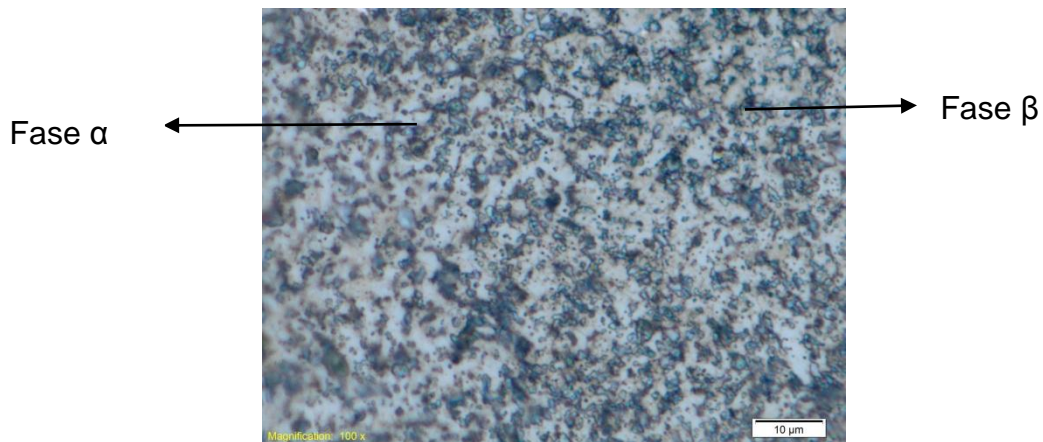
### 3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

#### 3.1 Preparación superficial

##### Microestructura de la aleación Ti6Al4V

La micrografía mostrada en la Figura 6 confirma las características microestructurales bifásicas de la aleación Ti6Al4V antes de realizar alguna modificación superficial. En ella se observa la matriz de fase  $\alpha$  (parte clara) blanda y rica en Al y  $\beta$  (parte oscura), dura y rica en V según la teoría [18]. La fase  $\beta$  se distribuye en los bordes de grano como se observa en la micrografía, donde la estructura bifásica proporciona propiedades mecánicas adecuadas para ser utilizada como biomaterial.

Figura 5 Micrografía de la aleación Ti6Al4V a 2000X atacada con solución Kroll.



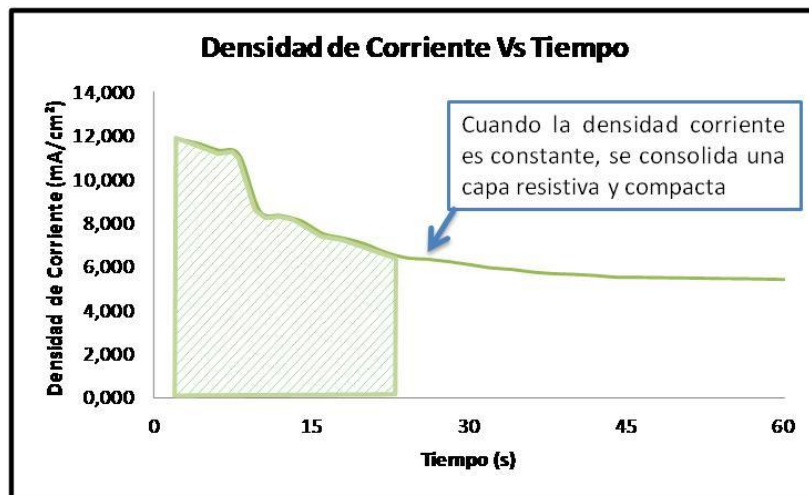
Fuente: Autores

## 3.2 Obtención de superficies nanopatronadas

### 3.2.1 Oxidación de la superficie del sustrato mediante anodizado.

Se realizó un monitoreo de la variación de la corriente (densidad de corriente) con el tiempo (Figura 7). El efecto de los parámetros electroquímicos que ejerce sobre las propiedades de la película de óxido, crecidas vía anódica y la migración de iones a través de la película de óxido se representa mediante la ley de Faraday. [19]

Figura 6. Densidad de Corriente vs Tiempo para un electrolito 1M de  $H_3PO_4$  empleando un voltaje de 30V.



Fuente: Autores

Se observa que en los primeros segundos, después de obtener el voltaje de anodizado, la corriente alcanza un pico máximo (caída óhmica) y a partir de allí desciende. Esta caída se debe a la formación de una película compacta, la cual incrementa su resistencia a medida que disminuye la densidad de corriente.

La resistencia del electrolito estimada fue de  $839,64\Omega$ , alcanzando un voltaje constante de 30 V, obteniendo una corriente mínima de 35,72 mA, por lo tanto se

aumentó la corriente a 100 mA para acelerar la descarga de los 30 V y que el proceso de anodizado sea efectivo.

### **Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Energía Dispersa (EDS) para la película de óxido del Ti6Al4V.**

Las películas anodizadas con  $H_3PO_4$  a 30V por 60 segundos, se observaron mediante microscopía electrónica de barrido para obtener un mejor detalle de la morfología de dicha capa (Figura 8).

Figura 7. Micrografías de SEM a 30.000X de películas anódicas de Ti6Al4V anodizadas con  $H_3PO_4$  a 30V por 60 segundos.

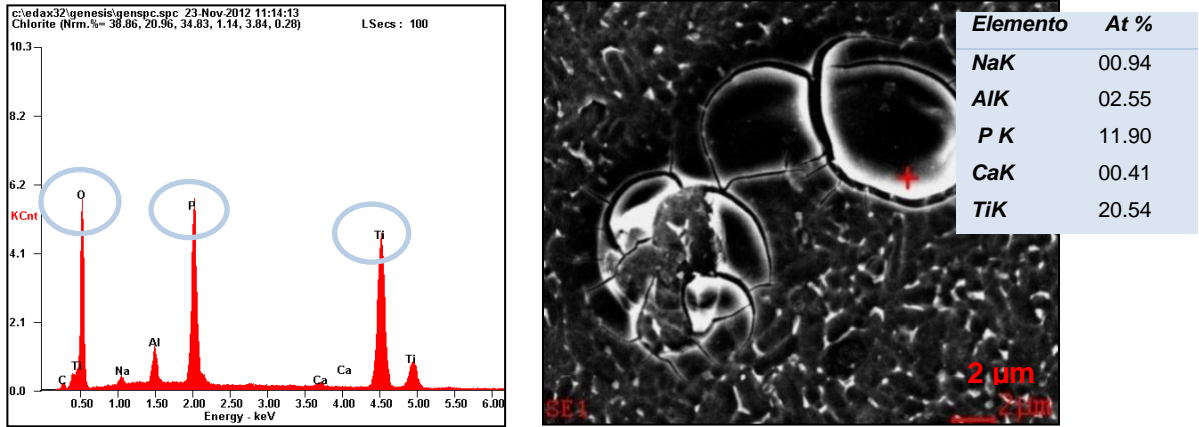


Fuente: Microscopio electrónico de barrido - QUANTA FEG 650

En la Figura 8 se observa una morfología homogénea, donde hay un desprendimiento de capa, debido a procesos catódicos por el hidrógeno y el oxígeno. Sin embargo, esta discontinuidad no influye significativamente en la microestructura cerámica del óxido. <sup>[20]</sup>

Los análisis de Energía Dispersa de las películas anódica de Ti6Al4V con  $H_3PO_4$  a 30V por 60 segundos se observan en la Figura 9.

Figura 8. Análisis EDS de películas anódicas de Ti6Al4V con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 30V por 60 segundos.



Fuente: Espectroscopía de energía dispersa.

En el EDS (Figura 9) se observa un alto contenido de oxígeno y fósforo. La presencia de oxígeno, puede sugerir la formación de un óxido de titanio y el fósforo puede ser atribuido a la transferencia iónica de fosfatos procedentes del electrolito usado para el anodizado. La presencia del fósforo sirve como precursor para mejorar la interacción entre el calcio y el ión fosfato para promover la formación de apatita.

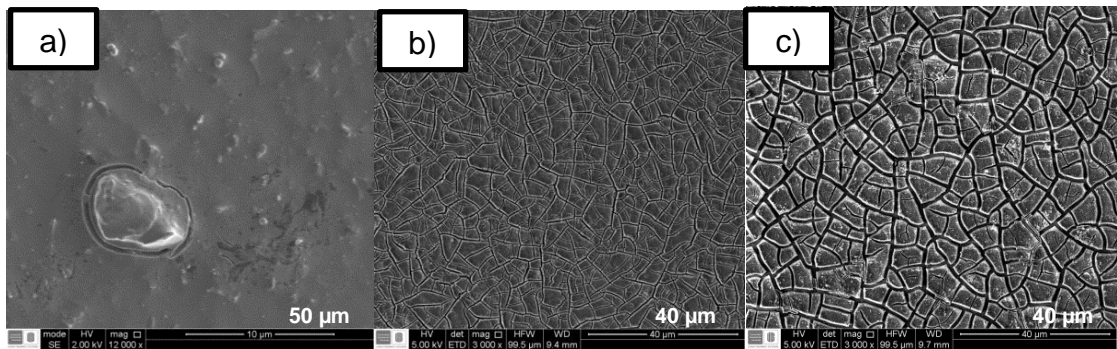
### 3.2.2 Inmersión en solución alcalina de NaOH con un posterior tratamiento térmico

Mediante la inmersión en solución alcalina se buscó activar la superficie y formar un compuesto activo de titanato de sodio, el cual en contacto con un medio acuoso forma un gel sobre la superficie de la muestra. Sin embargo, un tratamiento térmico posterior se hace necesario para densificar y mejorar propiedades microestructurales. [21]

## Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Energía Dispersa (EDS) para la capa de titanato con y sin tratamiento térmico a 450°C.

Las muestras con la película de óxido de titanio y tratamiento alcalino con NaOH, fueron tratadas térmicamente a 450 °C por una hora. La morfología de la película con esta modificación se muestra en las micrografías de SEM en la Figura 10.

Figura 9. Muestras de Ti6Al4V a) Anodizado con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> por 60 segundos, b) con tratamiento alcalino de NaOH, y c) Posterior tratamiento térmico a 450°C por 1 hora.



Fuente: Microscopio Electrónico de Barrido QUANTA FEG 650

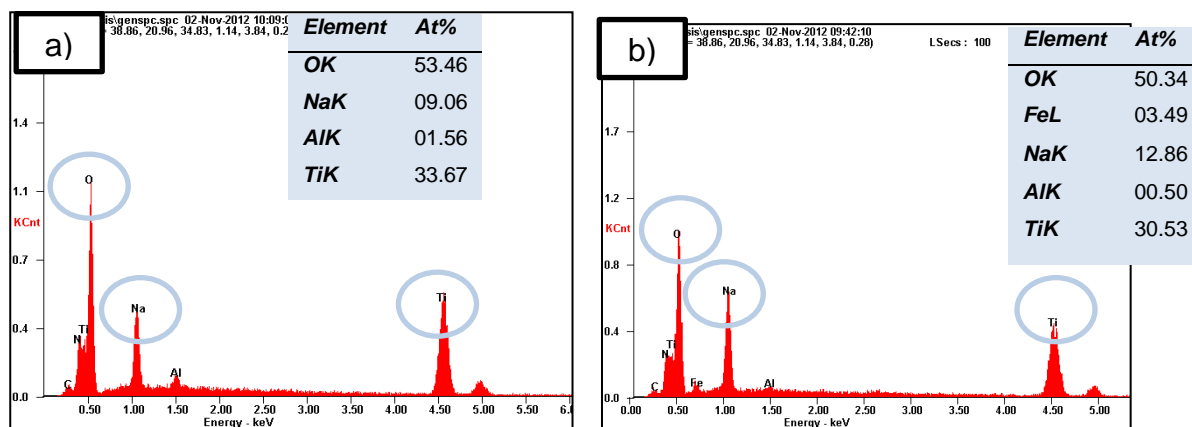
Se observó una variación considerable en la morfología de la superficie de la aleación con respecto a la estructura inicial. En la Figura 10 a) se puede observar que la superficie del sustrato, antes del tratamiento alcalino, presenta una capa homogénea, no porosa y uniforme; compuesta principalmente por oxígeno y titanio, anteriormente mostrado en el EDS.

En la Figura 10 b) presenta una superficie cerámica granular, con un tamaño de grano fino y amorfa, correspondiente a la película de óxido de titanio atacada parcialmente por el NaOH, que forma grupos hidroxilos con el titanio metálico

hidratado,<sup>[22]</sup> los cuales se producen en la superficie del sustrato como producto de la combinación de iones alcalinos en una solución acuosa para formar posiblemente el titanato alcalino en forma de hidrogel, y en la Figura 10 c), se presenta un aumento en el número de granos, aumentando su tamaño, debido a la densificación de la capa causada durante el proceso de sinterización, y así forma un material parcialmente cristalino estable, evidenciándose eliminación de poros a temperaturas mayores a los 400°C. <sup>[23]</sup>

En la Figura 11 se muestra la evaluación por EDS realizada en las probetas con óxido de titanio y tratamiento alcalino, con y sin tratamiento térmico T.T.

Figura 10. Análisis EDS de la capa de óxido de titanio con tratamiento alcalino a) sin T.T. y b) con T.T. a 450 °C



Fuente: Espectroscopio de energía dispersa

Los picos de sodio observados en estos espectros son posiblemente producidos por la precipitación cristalina de titanato de sodio formado a partir de la reacción entre el NaOH con el óxido de titanio.

En la muestra con tratamiento térmico se observa un mayor porcentaje atómico de sodio, debido probablemente a fenómenos de movilidad atómica de este

elemento. La intensidad de los picos de titanio es menor en un 3% aproximadamente en los sustratos con T.T., debido a que la descomposición del titanio depende de la temperatura y las condiciones atmosféricas en las que se presente las diferentes formas de óxidos de titanio ( $Ti_yO_z$ ) y la reacción ocurrida con los grupos hidroxilos. [24]

La variación del oxígeno y el sodio sugiere la reacción de intercambio entre el óxido de titanio ( $TiO_2$ ) y el hidróxido de sodio ( $NaOH$ ) para formar una estructura cerámica de titanato de sodio ( $Na_2Ti_5O_{11}$ ). La concentración de sodio en el titanato obtenido del tratamiento alcalino, posee un porcentaje atómico de 9.06%, cercano al valor teórico presente en el titanato de sodio, el cual es del 10%.

### 3.2.3 Patronamiento de las superficies mediante la técnica de Litografía Láser.

Preliminarmente se fijaron las condiciones del proceso con el haz de láser, sobre la película de óxido sin tratamiento alcalino. La validación y justificación de las pruebas, realizadas en la película de óxido de titanio, se basa en que el anodizado y el titanato de sodio son óxidos cerámicos que tienden a tener la misma dureza; y su comportamiento frente a la energía del láser es muy similar, lo cual se muestra en la tabla 5.

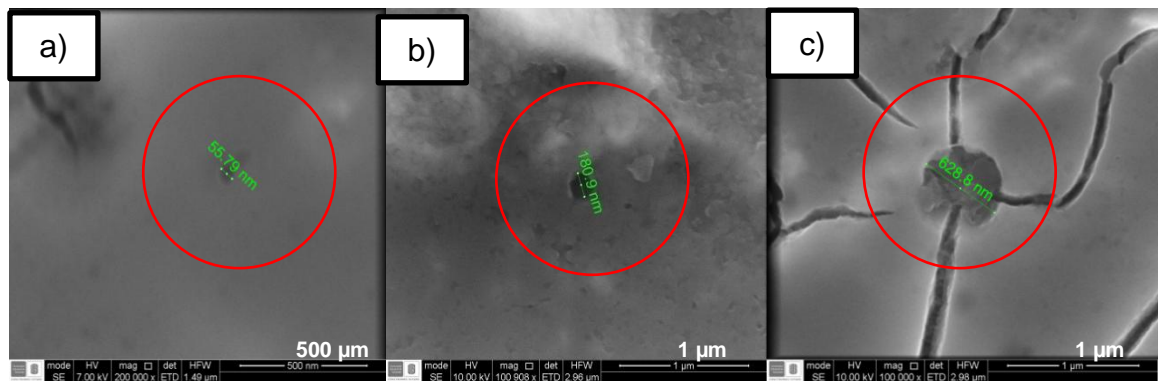
Tabla 5. Dureza Vickers medida sobre la superficie anodizada y la superficie contratamiento alcalino sobre el sustrato Ti6Al4V.

| Dureza Vickers de Anodizado |               | Dureza Vickers de Oxidación Alcalina con NaOH |
|-----------------------------|---------------|---|
| Prueba 1                    | 296           | 304   |
| Prueba 2                    | 304           | 321   |
| Prueba 3                    | 304           | 321   |
| Dureza real                 | <b>301.33</b> | <b>315.33</b>                                 |

Fuente: Autores

El patronamiento se realizo sobre las muestra con oxido de titanio, durante un periodo de 90, 120, y 150 minutos, para determinar el tiempo de exposición y obtener un patronamiento, cercano a los 50 nm de diámetro. En la Figura 12 se presentan las imágenes de SEM de las muestras con patronamiento láser a los diferentes tiempos de exposición propuestos.

Figura 11. Micrografías de SEM de los puntos nanométricos hechos por Litografía Láser después del anodizado sobre Ti6Al4V por a) 90 minutos, b) 120 minutos y c) 150 minutos.



Fuente: Microscopio Electrónico de Barrido QUANTA FEG 650

De acuerdo a lo observado en las micrografías de la Figura 12, se encontró que el tiempo apropiado para obtener un tamaño aproximado de 50 nm (tamaño indicado por algunos autores para generar la transición entre el titanato y la apatita mediante el intercambio iónico entre el sodio y el calcio), [26] fue de 90 minutos de exposición. En la Figura 12 a), se observa una morfología libre de líneas de ruptura del cerámico, como se observa en las Figuras 12 b), y c). Cabe mencionar que el patrón no fue homogéneo, debido a la dispersión causada por el láser cuando pasa entre la rejilla y la lupa usada en la dispersión del haz.

### **3.3 Evaluación de bioactividad en un fluido fisiológico simulado**

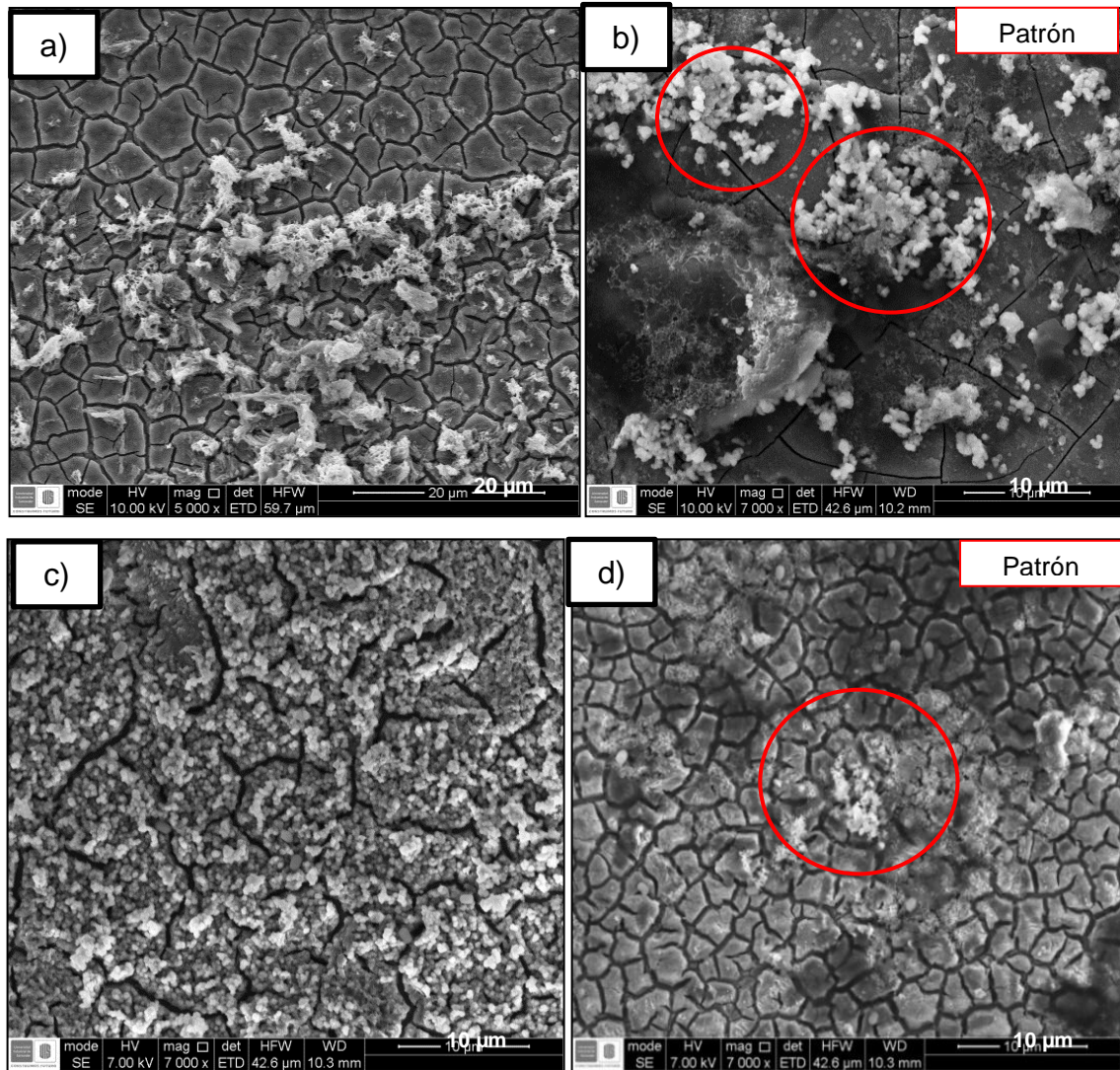
Los ensayos de bioactividad se basaron principalmente, en la adsorción de iones de calcio y fósforo para la formación de un compuesto de apatita a partir de un fluido fisiológico simulado *SBF*. Las muestras fueron sumergidas en la solución, durante siete días.

#### **Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Energía Dispersa (EDS) para la capa de óxido de titanio tratada con NaOH sin y con T.T a 7 días de inmersión en solución SBF con concentración Ca/P 2.5.**

Las muestras observadas en la Figura 13, presentan en su superficie la formación de una nueva capa que se adhiere entre sí, en forma de núcleos formando ramificaciones que cubren la estructura del titanato de sodio. Aparentemente la morfología de dicha capa coincide con la teoría consultada, mostrando núcleos de posibles apatitas <sup>[26]</sup>. Las muestras 13 b) y d), fueron modificadas mediante patronamiento, observándose que la nucleación de las posibles apatitas, se encuentra de forma focalizada en los puntos que fueron activados mediante la técnica de litografía láser, por lo cual se mostró que estos puntos son de preferencia para la nucleación y crecimiento de fosfatos de calcio.

En las muestras sin patronamiento, 13 a) y c), se observa que el área superficial cubierta por precipitados no sigue un patrón definido. <sup>[27]</sup>

Figura 12. Micrografía de SEM de la nucleación de apatitas por inmersión en solución *SBF* durante 7 días con concentración Ca/P 2.5 a) Superficie oxidada-con NaOH-sin T.T., b) superficie oxidada-con NaOH-sin T.T. patronado, c) superficie oxidada-con NaOH-con T.T., d) superficie oxidada-con NaOH-con T.T. patronado.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido- QUANTA FEG 650

En la Figura 14 se muestran los resultados obtenidos por EDS, después de 7 días de inmersión para una concentración de calcio 2,5 mMol/L.

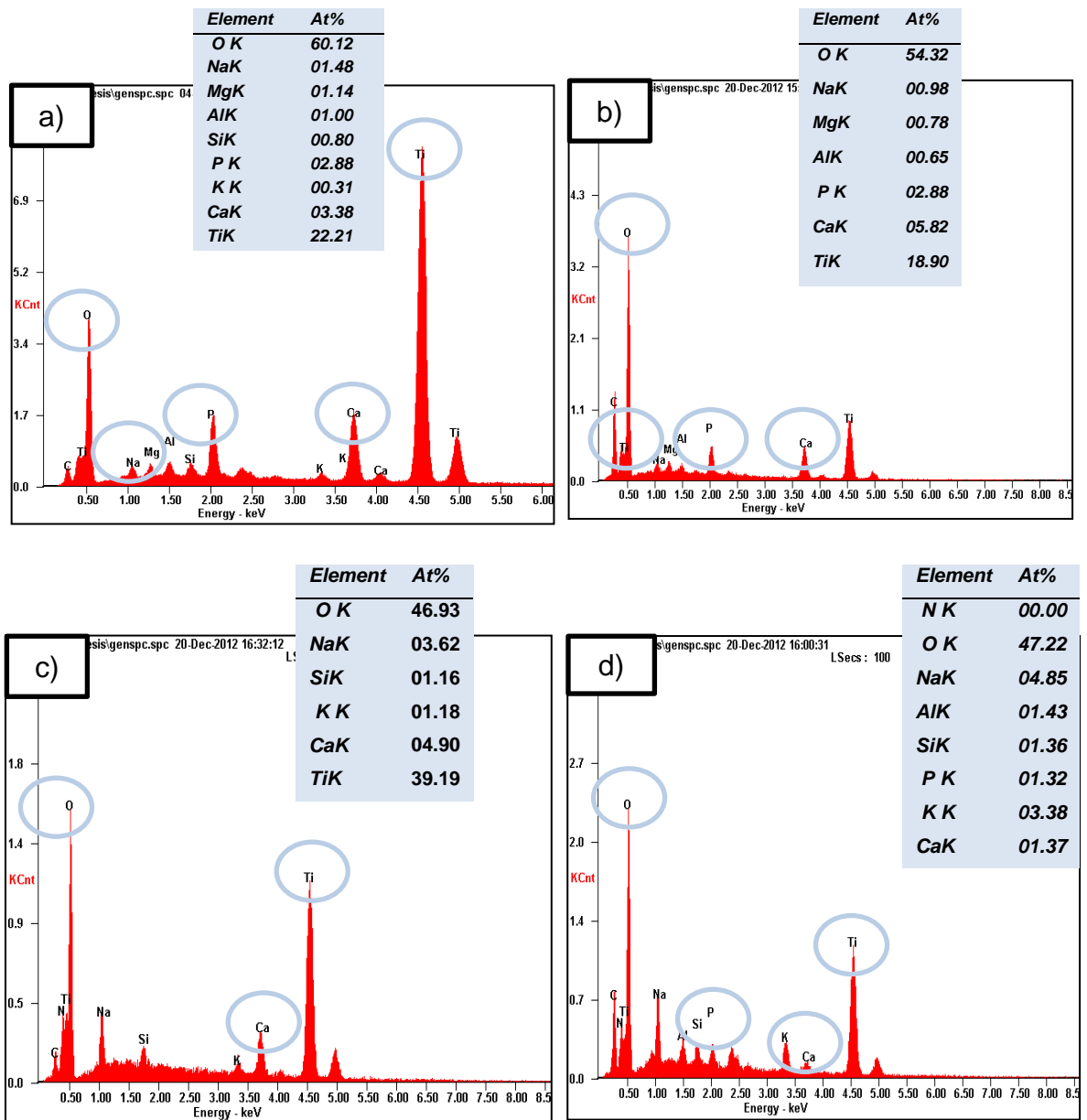
Los espectros de la Figura 14 muestran, que la nueva capa está constituida principalmente por calcio y fósforo, los cuales no se evidenciaron en los espectros de los sustratos sin inmersión. También se puede observar en dichos espectros una disminución en la concentración de sodio presente en la superficie, por el intercambio iónico que se generó entre el sodio y el calcio <sup>[27]</sup>, donde el sodio es liberado en la solución, y el calcio se une y precipita posteriormente como fosfatos de calcio.

La variación de esta nueva capa de fosfatos de calcio para los átomos de sodio se puede atribuir a la velocidad de disolución de los iones la cual puede variar en cada tratamiento, según las condiciones a las que sea expuesto.

En el espectro de la muestra 14 c), no se observa la presencia de fósforo; esto indica que los precipitados vistos en la micrografía SEM son producto de una saturación de calcio, lo que restaría las propiedades de biomaterial a este tipo de modificación superficial, y debido a esta saturación, se puede observar un mayor cubrimiento de toda la superficie, de forma homogénea, en comparación a las otras muestras observadas.

Se confirma con los espectros de las muestras patronadas, 14 b) y d); que la baja intensidad de los picos de calcio y fósforo, respecto a las muestras sin patronamiento, se debe al crecimiento focalizado de los posibles fosfatos de calcio, como se observó en las micrografías SEM de la Figura 13.

Figura 13. Análisis EDS de inmersión en solución *SBF* durante 7 días con concentración Ca/P 2.5 a) superficie oxidada-con NaOH, b) superficie oxidada-con NaOH patronada, c) superficie oxidada-con NaOH y con T.T., d) superficie oxidada-con NaOH y con T.T. patronado.



Fuente: Espectroscopio de energía dispersa

**Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopía de Energía Dispersa (EDS) para la capa de titanato con 7 días de inmersión en solución SBF con concentración Ca/P 3.08.**

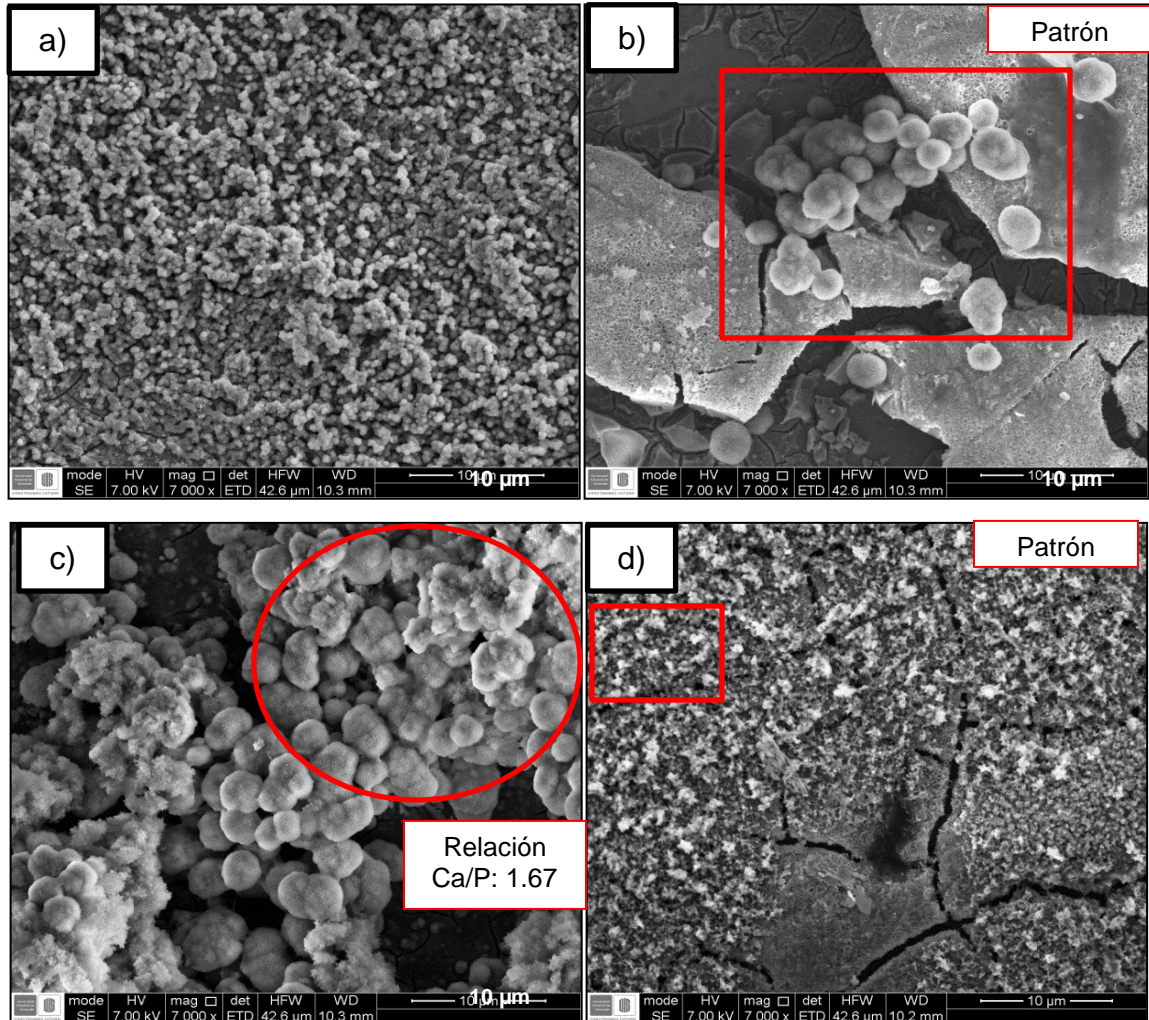
En la Figura 15 b), se observa que la nucleación de los fosfatos de calcio surge a partir de los sitios patronados hacia la superficie del óxido con tratamiento alcalino, promoviendo la activación de los sitios profundos; focalizando el crecimiento de apatitas según lo esperado en el patrón demarcado durante la litografía láser.

Para la Figura 15 d), se observa que la nucleación no fue completa y las áreas cubiertas se encuentran en menor proporción, lo cual es atribuido a que el tratamiento térmico inhibe el intercambio iónico, debido a que al densificar la estructura del titanato los átomos de sodio están más compactos en la estructura cristalina, lo que dificulta el intercambio iónico y la proliferación de fosfatos de calcio.

En las muestras sin patronamiento, (Figura 15 a) y c)), se observa precipitación homogénea en la formación de la nueva capa, sin demarcar un patrón establecido, como se observó con la inmersión en solución *SBF*, con concentración 2.5 mMol/L, de igual forma en la Figura 15 c), presenta una nucleación más uniforme y de mayor tamaño, en el mismo tiempo de inmersión al que fueron expuestas todas las muestras.

La inmersión de las muestras en el fluido fisiológico con concentración saturada de calcio de 3.08 mMol/L, presentó mejores condiciones de precipitación de fosfatos de calcio, en comparación a la concentración estándar de *SBF* (2.5 mMol/L), siendo notoria la nucleación en mayor proporción y su crecimiento.

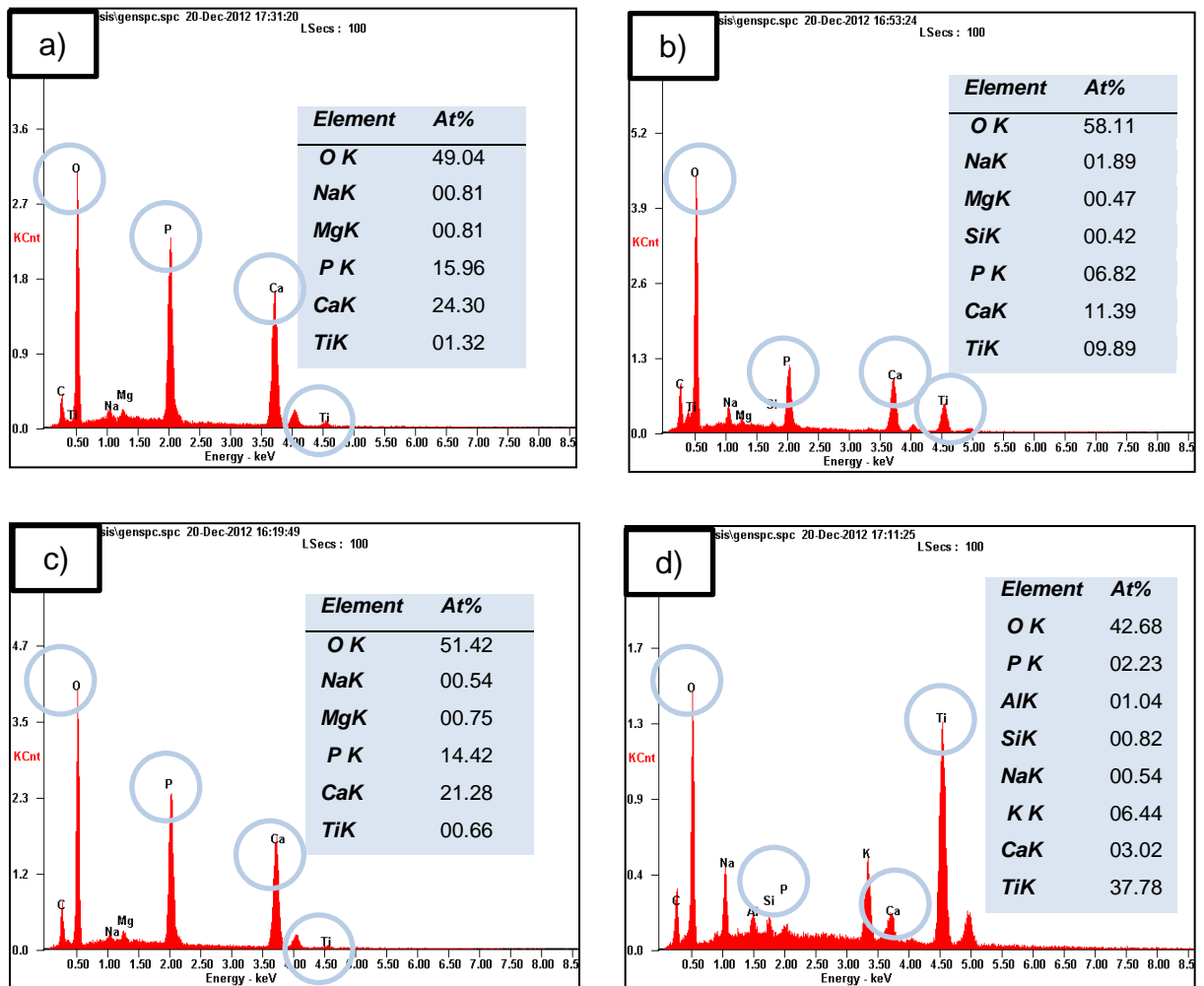
Figura 14. Micrografía de SEM de la nucleación de apatitas sobre los sustratos con tratamiento alcalino con inmersión en *SBF* durante 7 días con concentración Ca/P 3.08 a) superficie oxidada-con NaOH, b) superficie oxidada-con NaOH patronada, c) superficie oxidada-con NaOH y con T.T., d) superficie oxidada-con NaOH y con T.T. patronado



Fuente: Microscopio electrónico de barrido- QUANTA FEG 650

La Figura 16 muestra los EDS, resultado de la inmersión durante 7 días en solución *SBF* con concentración Ca/P 3.08 mMol/L para los sustratos con tratamiento alcalino y patronamiento.

Figura 15. Análisis EDS de inmersión en solución *SBF* durante 7 días con concentración Ca/P 3.08 a) Superficie oxidada-con NaOH, b) Superficie oxidada-con NaOH patronada, c) Superficie oxidada-con NaOH y con T.T., d) Superficie oxidada-con NaOH y con T.T. patronado



Fuente: Espectroscopio de energía dispersa

El tratamiento con solución *SBF* rica en iones de calcio de 3.08 mMol/L, permitió una mejor adsorción de los mismos en todas las superficies evaluadas, en comparación a la solución *SBF* estándar, de 2.5 mMol/L. En las Figuras 16 a) y 16c), al igual que en la solución estándar se observa que la superficie cubierta por la nueva capa es mayor, debido a que no se empleó la técnica de patronamiento, evitando puntualizar sobre la superficie, la nucleación y crecimiento de fosfatos de calcio. Para todas las muestras en general el enriquecimiento aceleró en los sustratos la formación de fosfatos de calcio, debido a la alta capacidad de intercambio iónico de la estructura cerámica granular del tratamiento alcalino anteriormente formado.

Las relaciones Ca/P, producto de los picos observados en los espectros de los análisis EDS para las dos concentraciones evaluadas se muestran en la tabla 8.

Tabla 6. Relación Ca/P para los sustrato con 7 días de inmersión en solución *SBF* con relación Ca/P 2.5 y 3.08.

| Condiciones de sustratos  | Relación Ca/P, <i>SBF</i> 2.5 | Relación Ca/P, <i>SBF</i> 3.08 |
|---|-------------------------------|--------------------------------|
| Tratamiento alcalino  | 1.17                          | 1.52                           |
| Tratamiento alcalino con posterior tratamiento térmico.             | —                             | 1.67                           |
| Tratamiento alcalino con litografía                                 | 2.02                          | 1.47                           |
| Tratamiento alcalino con posterior tratamiento térmico y litografía | 1.03                          | 1.35                           |

Fuente: Autores

Los sustratos con inmersión en solución *SBF* de concentración 2,5 mMol/L presentaron relaciones Ca/P alejadas del valor teórico consultado de hidroxiapatita, igual a 1.67 <sup>[28]</sup>, dando como resultado la formación de precipitados de fosfatos de calcio.

En el caso del sustrato oxidado con tratamiento alcalino sin litografía, se observa que la adsorción de calcio superó el valor teórico, presentando saturación. Dicha relación corresponde a la formación de un fosfato tetracálcico el cual es utilizado como sustituto de tejido óseo, debido a que puede conducir la formación de hidroxiapatita, por medio de fraguado, en el sitio del implante. [29]

En la muestra con tratamiento alcalino y posterior tratamiento térmico, la saturación de calcio fue aún mayor, sin precipitación de fósforo; evitando así el cálculo de la relación, alejando este precipitado del rango establecido de fosfatos de calcio.

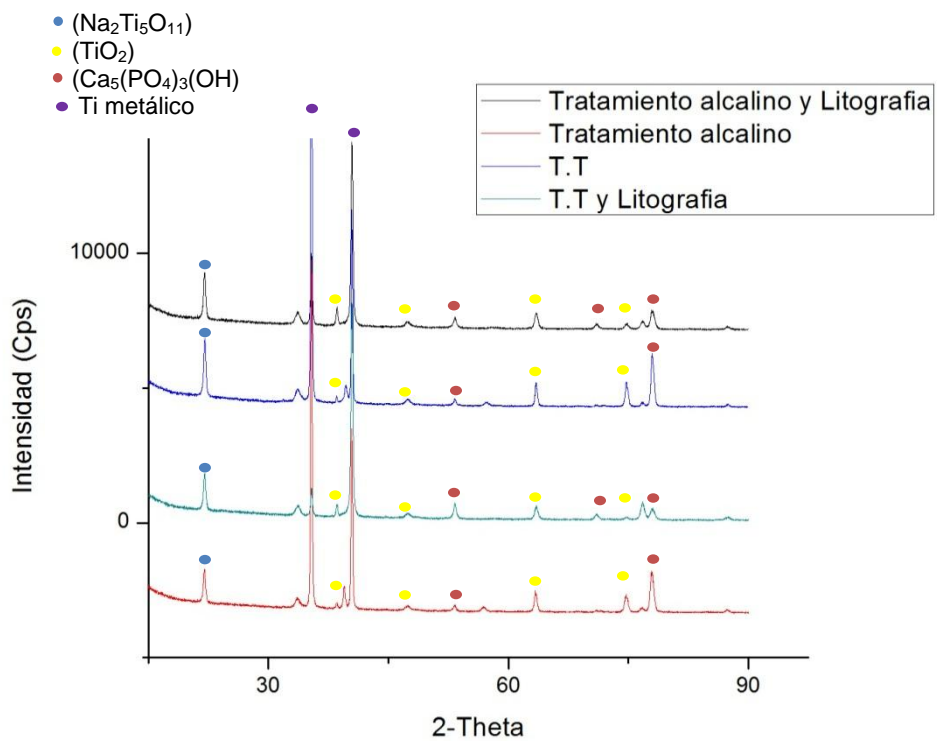
Se puede observar que las relaciones Ca/P obtenidas mediante inmersión en solución *SBF* de concentración 3,08 mMol/L, presentaron valores que se acercan en gran medida al valor teórico correspondiente a la hidroxiapatita, que se pueden relacionar con el aumento de concentración de calcio y fósforo observados en los espectros de la Figura 16. La superficie oxidada con tratamiento alcalino y posterior tratamiento térmico y sin litografía, coincidió con el valor teórico de relación Ca/P, dando el resultado esperado durante el procedimiento de modificación superficial.

#### **Difracción de Rayos X (DRX) para la identificación de Hidroxiapatita formada con 7 días de inmersión en solución SBF con relación Ca/P 3.08**

Se puede observar en el espectro de la Figura 17, que en los sustratos con tratamiento alcalino con NaOH y posterior tratamiento térmico formaron titanato de sodio ( $\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$ ) parcialmente cristalizado, el cual se caracteriza en los patrones de ángulo  $2\theta$  en la fase 20- 30°, lo que concuerda con los valores teóricos consultados, [30] al ser las intensidades de dichos picos bajas pero de forma aguda en la fase observada de 20°, se deduce un compuesto de baja cristalinidad.

Así mismo, los espectros muestran picos representativos para la formación de hidroxiapatita sobre la superficie alcalina después de siete días de inmersión en *SBF* con concentración Ca/P 3.08 mMol/L. Los picos de alta intensidad reflejan una estructura cristalina para la apatita formada y con mayor intensidad en la muestra con oxidación con NaOH. Pese a tener sólo siete días de inmersión, la apatita debe ser amorfa, sin embargo el contenido de fósforo (fosfato) en la capa anodizada, puede acelerar la cristalización.

Figura 16. Espectro DRX de los sustratos con tratamiento alcalino con NaOH con y sin patronamiento y posterior inmersión en *SBF* con relación Ca/P 3.08 durante 7 días.



Fuente: Difractómetro de Rayos X- BRUKER D8 ADVANCE

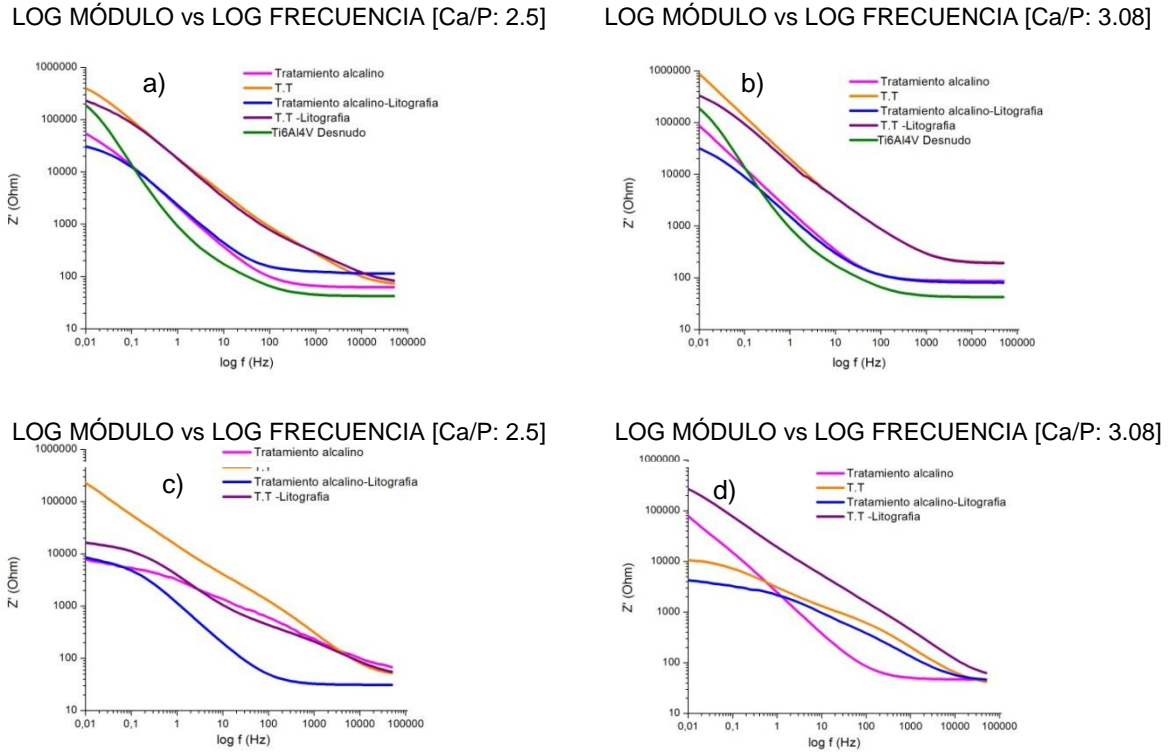
### 3.4 Caracterización electroquímica

#### 3.4.1 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica *EIE*

##### Determinación de la adsorción en las muestras a una hora y siete días de inmersión en Fluido Fisiológico mediante *EIE*

Con la ayuda de la técnica de *EIE* se identificó y caracterizó el proceso de adsorción [31, 32]. Las Figuras 18, 19 y 20 muestran los diagramas de Bode y Nyquist de los sustratos empleados en el estudio, los cuáles fueron sumergidas en *SBF* a 25°C con concentraciones Ca/P de 2,5 y 3.08mMol/L.

Figura 17. Módulo para los espectros de Bode, a) Ca/P: 2.5mMol/L con una hora de inmersión b) Ca/P: 3.08mMol/L con una hora de inmersión, c) Ca/P: 2.5mMol/L con siete días de inmersión b) Ca/P: 3.08mMol/L con siete días de inmersión



Fuente: Autores

En la Figura 18 se presentan los diagramas de Bode impedancia real Vs frecuencia, para sustratos con una hora ((a) y (b)) y siete días de inmersión ((c) y (d)).

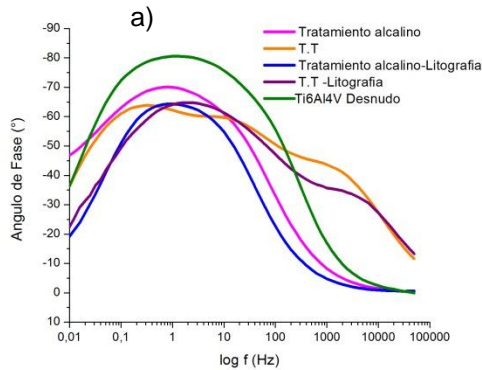
En el intervalo de frecuencias de (0.01-0.1Hz) las muestras con tratamiento alcalino con una hora de inmersión en *SBF* (Figura 18 (a) y (b)), se ubican por debajo de la curva correspondiente al metal desnudo, mostrando que la resistencia a la transferencia de carga es menor; este comportamiento se atribuye a las estructuras en forma de hidrogel, las cuales facilitan el proceso de disolución de los iones  $\text{Na}^+$  de la superficie, en comparación a una película densificada por tratamiento térmico. Por el contrario para frecuencias entre 0.1-10000 Hz, las impedancias aumentaron con respecto al metal desnudo, debido a la adsorción de iones de calcio y fósforo en forma de apatita, las cuales se comportan como material aislante o capa pasiva, disminuyendo la degradación del metal.

Los sustratos con tratamiento térmico con una hora de inmersión, presentaron valores más altos de impedancias en comparación al metal desnudo en todo el rango de frecuencias, mostrando así, que la densificación tiene un efecto sobre la estructura final obtenida, presentando un mayor carácter protector.

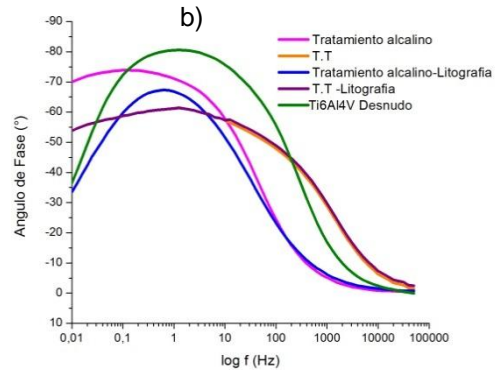
En la Figura 18 (c) y (d), se observan las muestras con patronamiento después de siete días de inmersión, las cuales presentaron valores de impedancia menores en comparación con las muestras de una hora de inmersión, por lo tanto la resistencia a la transferencia de carga se ve afectada, debido a la precipitación de apatitas generada en aquellos sitios donde se alteró la superficie con el patronamiento. Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos en el ensayo de bioactividad (Figura 15(b)).

Figura 18. Ángulo de fase para los espectros de Bode, a) Ca/P: 2.5 mMol/L con una hora de inmersión b) Ca/P: 3.08 mMol/L con una hora de inmersión, c) Ca/P: 2.5 mMol/L con siete días de inmersión b) Ca/P: 3.08 mMol/L con siete días de inmersión

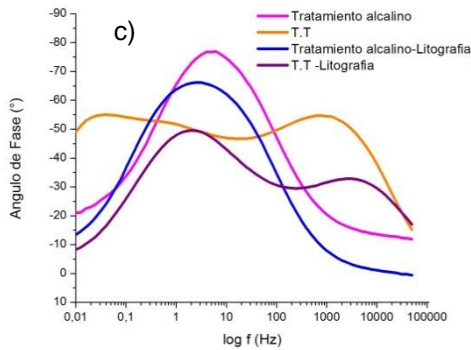
THETA vs LOG FRECUENCIA [Ca/P: 2.5]



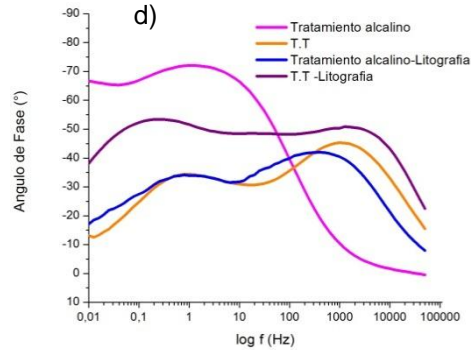
THETA vs LOG FRECUENCIA [Ca/P: 3.08]



THETA vs LOG FRECUENCIA [Ca/P: 2.5]



THETA vs LOG FRECUENCIA [Ca/P: 3.08]



Fuente: Autores

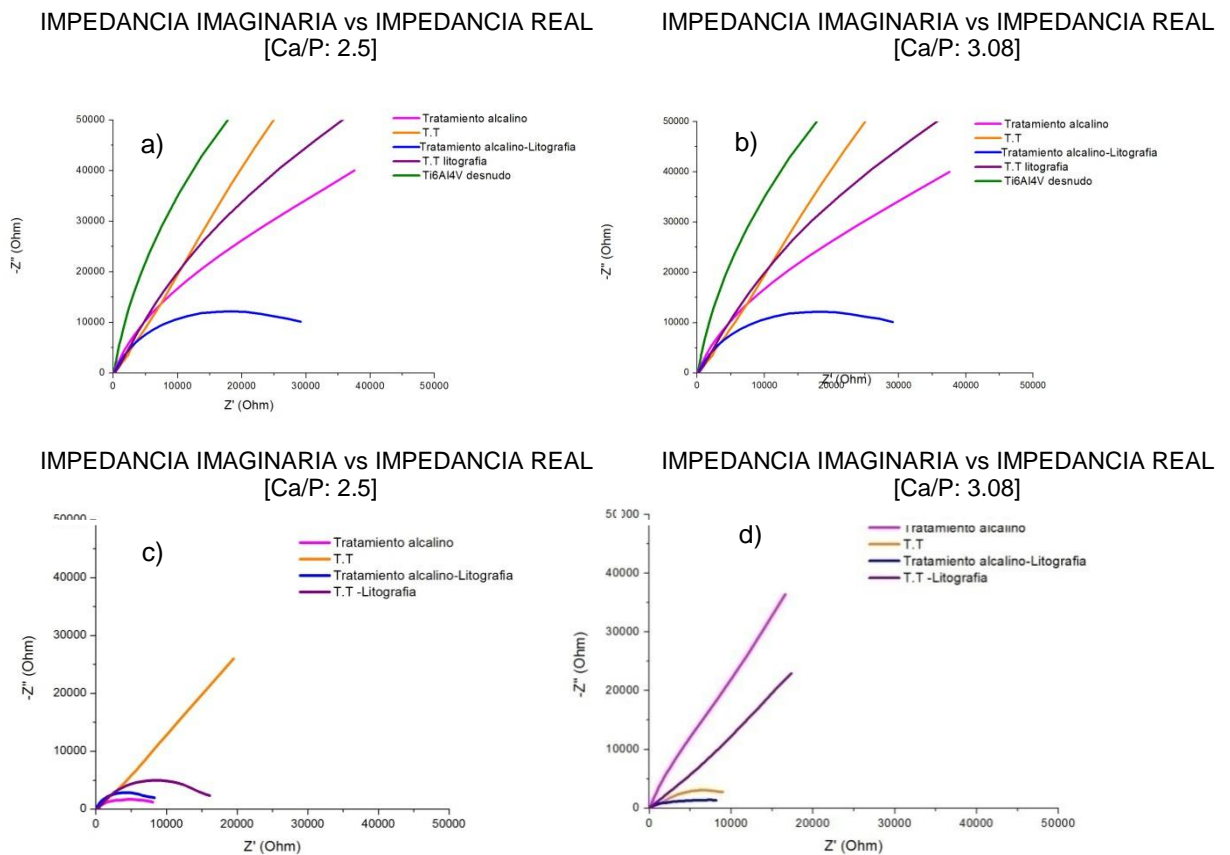
Las muestras con tratamiento alcalino (Figura 19(a)), presentaron solo una constante de tiempo a bajas frecuencias, en donde los ángulos de fase obtenidos, muestran que durante el tiempo de exposición en *SBF* hubo protección del metal, al ser baja la transferencia de carga por parte de éste.

Después de siete días de inmersión (Figura 19(c)), la muestra con tratamiento alcalino sin patronamiento presentó un aumento en los ángulos de fase, indicando que la transferencia de carga es más pequeña, debido a la barrera que proporciona la fase apatita depositada al ataque de especies electro-activas. Por el contrario la muestra patronada no presentó cambios significativos, ya que no mostró grandes variaciones en los ángulos de fase. Para las muestras con tratamiento alcalino en *SBF* con concentración de 3.08 mMol/L (Figura 19(b)), se encontró que después de siete días de inmersión (Figura 19(d)), se ha aumentado la degradación del metal, al ser mayor la transferencia de carga, observándose esto con la disminución en los ángulos de fase. Las muestras con tratamiento térmico (Figura 19(a)), presentaron dos constantes de tiempo. Una constante a baja frecuencia, en la cual los ángulos de fase cercanos a  $-60^\circ$  indican que el material presenta un carácter protector y que la corrosión del metal es baja. La siguiente constante aparece a altas frecuencias, en donde se observa que los ángulos de fase obtenidos son altos, evidenciándose que la porosidad de la película sobre la superficie es baja.

Después de siete días de inmersión (Figura 19 (c)), se encontró que en la constante a bajas frecuencias, los ángulos de fase disminuyen, aumentándose la transferencia de carga y la degradación del metal. Para la constante a altas frecuencias, la muestra con tratamiento térmico sin patronamiento presentó densificación de la película, al aumentar los ángulos de fase. Lo anterior es también empleado para explicar que ocurrió el fenómeno de bioactividad, en donde la precipitación de las apatitas ocasiona disminución en la cantidad de poros sobre la superficie, conduciéndola a su densificación. Por el contrario la muestra con patronamiento no mostro cambios significativos, al no presentarse una variación considerable en los ángulos de fase a altas frecuencias. Para la constante a bajas frecuencias de las muestras con tratamiento térmico inmersas en *SBF* con concentración de 3.08 mMol/L (Figura 19 (b)), se encontró que la protección contra la corrosión fue alta, sin embargo después de siete días de

inmersión ésta disminuyó. La constante de tiempo a altas frecuencias solo se observó a los siete días, en donde se hace característica la densificación de la película sobre la superficie, al presentarse la deposición de la fase apatita. El diagrama de Nyquist para las muestras con una hora de inmersión a diferentes concentraciones de *SBF*, se presentan en la Figura 20 (a) y (b), se puede evidenciar altos valores de impedancia para el metal desnudo, indica que tiene mayor resistencia a la transferencia de carga, sustentando el carácter protector durante este corto tiempo de exposición.

Figura 19. Diagrama de Nyquist a) Ca/P: 2.5 mMol/L con una hora de inmersión b) Ca/P: 3.08 mMol/L con una hora de inmersión, c) Ca/P: 2.5 mMol/L con siete días de inmersión b) Ca/P: 3.08 mMol/L con siete días de inmersión



Fuente: Autores

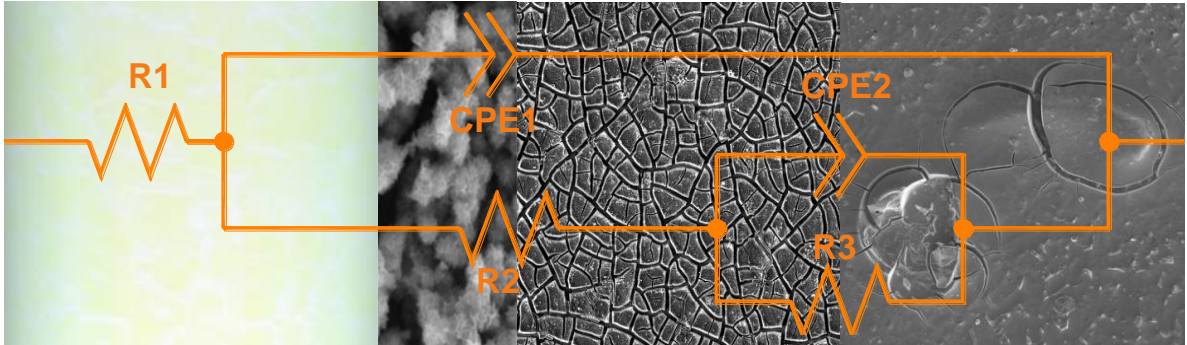
Las muestras con tratamiento térmico con una hora de inmersión a diferente concentración de *SBF*, presentaron como comportamiento característico una mayor resistencia a la transferencia de carga en comparación a las muestras con tratamiento alcalino, indicando que el comportamiento resistivo de estas muestras es superior y menor la degradación del metal.

Luego de siete días de inmersión todas las muestras presentaron disminución en los valores de impedancia y de resistencia a la transferencia de carga (Figura 20 (c) y (d)), indicando que se ha aumentado la interacción entre el recubrimiento y electrolito. Durante este periodo de exposición las muestras con tratamiento térmico, presentaron mayor comportamiento resistivo en comparación a las muestras con tratamiento alcalino. Sin embargo la muestra con tratamiento alcalino expuesta a *SBF* de 3.08 mMol/L (Figura 20(d)), mostró mayor resistencia a la transferencia de carga en comparación con las muestras tratadas térmicamente. Lo anterior se produjo debido a la formación de una capa densa de apatitas, la cual ocasiona que se aumenten los valores de impedancia durante su evaluación electroquímica.

### **Circuito Equivalente para muestras a una hora y 7 días de inmersión en Fluido Fisiológico.**

Se propone un circuito equivalente, (Figura 24), que describe el proceso de adsorción de calcio para cada una de las muestras de Ti6Al4V con tratamiento alcalino, con T.T y sin T.T, así como con litografía y sin litografía.

Figura 20. Circuito equivalente empleado para la simulación de los espectros experimentales electroquímicos para los recubrimientos en inmersión.



Fuente: Autores

Dónde:

- R1: Resistencia a la solución
- CPE1 y R2: Asociado a la capacitancia y resistencia de los procesos electroquímicos que suceden entre el recubrimiento y la solución.
- CPE2 y R3: Capacitancia y resistencia de la doble capa electroquímica del sustrato.

Los valores obtenidos para cada uno de los elementos del circuito propuesto, se calcularon a partir de los datos experimentales obtenidos y simulados por medio del software ZVIEW 3,1C. De acuerdo con lo observado en los ensayos, se puede describir los elementos constituyentes del circuito equivalente en paralelo, sus elementos resistivos y capacitivos constituyen el comportamiento electroquímico de los sustratos.

Se puede apreciar en la Figura 24, que para las estructuras del titanato y solución, le corresponde una resistencia (R2), y un elemento de fase constante (CPE1); debido a que la capa de apatita es muy porosa y delgada, por lo que se traslapa

en la interfase (titanato- solución). Los valores de los elementos resistivos obtenidos en la simulación, se adaptaron a los datos termodinámicos que describen el proceso de adsorción; cabe resaltar que se emplearon dos fluidos fisiológicos (*SBF*) con diferentes concentraciones de Ca/P 2,5 y 3.08 mMol/L respectivamente.

Por medio de la Isoterma de Langmuir, usando los valores de los elementos resistivos de la prueba de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica, se obtuvieron los datos termodinámicos que se observan en la tabla 9, los cuales describen el proceso de adsorción, teniendo en cuenta la influencia que ejerce la concentración Ca/P.

Tabla 7. Datos termodinámicos del fenómeno de adsorción en una hora y 7 días de inmersión en fluido fisiológico

| Sustrato                                     | T(°C) | Relación Ca/P | Γ máx      |            | Bads (L/mol) |            | ΔG (KJ/mol) |           |
|--|-------|---------------|------------|------------|--------------|------------|-------------|-----------|
|  |       |               | 0 días     | 7 días     | 0 días       | 7 días     | 0 días      | 7 días    |
| Superficie oxidada con NaOH, TT y Litografía | 450°  | 2.5           | 8,25E-05   | 1,12E-04   | 418,775013   | 424,918011 | -24,91022   | -24,946   |
|  |       | 3.08          |            |            |              |            |             |           |
| Superficie oxidada con NaOH y T.T            | 450°  | 2.5           | 0,00030852 | 0,00011129 | 538,488419   | 447,824241 | -25,53319   | -25,07639 |
|  |       | 3.08          |            |            |              |            |             |           |
| Superficie oxidada con NaOH y Litografía     | 60°   | 2.5           | 0,00094155 | 0,00170081 | 408,916988   | 840,370636 | -24,851     | -26,6359  |
|  |       | 3.08          |            |            |              |            |             |           |
| Superficie oxidada con NaOH                  | 60°   | 2.5           | 0,00085637 | 6,64E-05   | 615,951835   | 322,59131  | -25,8662    | -24,2636  |
|  |       | 3.08          |            |            |              |            |             |           |

Fuente: Autores

Utilizando los valores de los elementos resistivos del análisis electroquímico, se pudo obtener los datos termodinámicos que describen el proceso de adsorción.

El modelo de adsorción de Langmuir es válido para la adsorción de capa simple, que está limitada por la suposición de una distribución uniforme de energías de adsorción sobre la superficie. Los valores de  $Bads$  y  $C$  de los sustratos se ajustaron a la isoterma de Langmuir.

$$\frac{c}{\Gamma} = \frac{1}{Bads\Gamma_{m\acute{a}x}} + \frac{c}{\Gamma_{m\acute{a}x}}$$

Dónde:

$\Gamma_{m\acute{a}x}$ : Cantidad de calcio adsorbido en la superficie.

$Bads$ : Interacción iónica de la superficie con el electrolito.

A partir de los resultados obtenidos de la tabla 9, se observa que el proceso de patronamiento por litografía láser, genera un aumento en la interacción iónica de la superficie con el electrolito, lo que sugiere que aumenta la reactividad de la superficie, promoviendo la precipitación de fosfatos de calcio. El aumento de dicha reactividad, se puede relacionar con el aumento del área superficial, así como del proceso rendija que se genera por este patronamiento, en comparación con las muestras no patronadas, que presentan una disminución en la interacción iónica con el electrolito. .

Así mismo, se observa un aumento en la cantidad de iones calcio adsorbidos en la superficie, en las muestras patronadas, debido a que la litografía, genera puntos activos que promueven la adsorción de estos iones calcio.

Teniendo el valor de la interacción iónica de la superficie con el electrolito ( $Bads$ ), se calcula la Energía Libre de Gibbs, para determinar la espontaneidad del proceso.

$$\Delta G = -RT \cdot \ln. (55,5 \text{ Bads})$$

Dónde:

$\Delta G$ : Energía libre de Gibbs [J/mol]

R: Constante del gas ideal= 8,314472 [J/mol.K]

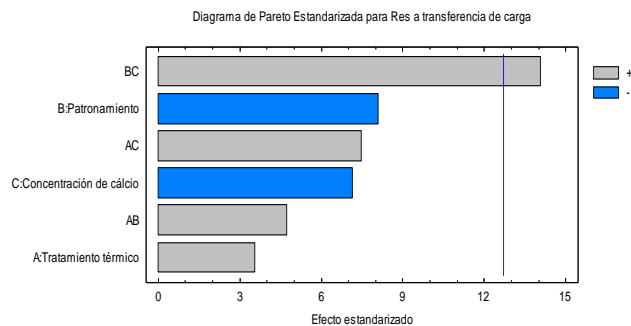
T: Temperatura= 298 [K°]

Al obtener un  $\Delta G$  menor a cero, indica que ocurre un proceso espontáneo e irreversible en la adsorción de iones de calcio sobre la superficie.

### 3.5 Análisis Estadístico

En el diagrama de Pareto (Figura 21), se observa la estimación de tres variables (A: Tratamiento térmico, B: Patronamiento, y C: Concentración de calcio), que fueron empleadas para la realización del proyecto, dónde la variable que tiene una influencia significativa en la resistencia a la transferencia de carga (Rads), es la interacción (BC: Patronamiento- Concentración Ca/P), la cual tiene una influencia positiva.

Figura 21. Diagrama de Pareto



Fuente: Autores

En la tabla 7, se presenta el análisis de varianza para la Resistencia a la Transferencia de Carga, donde se corrobora lo mostrado en el diagrama de Pareto. La mejor variable cuyo valor es menor a 0.05, es la interacción **BC** (Patronamiento-Concentración Ca/P); las otras variables (principales e interacciones) tienen influencia significativa en el rango utilizado para este estudio, con un nivel de confianza del 95%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 99,7547% de la variabilidad en Resistencia a transferencia de carga. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 98,2832%.

R-cuadrada = 99,7547 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 98,2832 por ciento

Error estándar de la Estancia = 167,241

La media absoluta de error = 59,1287

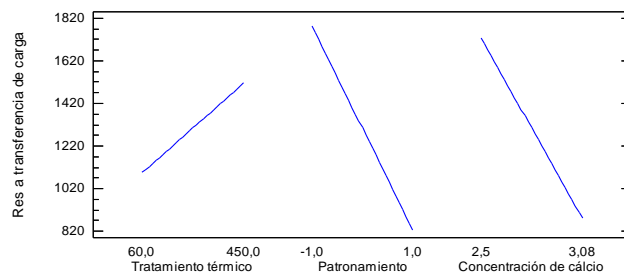
Tabla 8. Análisis de varianza para la Resistencia a la transferencia de carga (Rads).

| Fuente                 | Suma de Cuadrados | GI | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|------------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| A: Tratamiento térmico | 354242,           | 1  | 354242,        | 12,67   | 0,1744  |
| B: Patronamiento       | 1,84317E6         | 1  | 1,84317E6      | 65,90   | 0,0780  |
| C: Relación de calcio  | 1,43688E6         | 1  | 1,43688E6      | 51,37   | 0,0883  |
| AB                     | 628752,           | 1  | 628752,        | 22,48   | 0,1323  |
| AC                     | 1,56258E6         | 1  | 1,56258E6      | 55,87   | 0,0847  |
| BC                     | 5,55083E6         | 1  | 5,55083E6      | 198,46  | 0,0451  |
| Error total            | 27969,7           | 1  | 27969,7        |         |         |
| Total (corr.)          | 1,14044E7         | 7  |                |         |         |

Fuente: Autores

En la Figura 22, Diagrama de Efectos Principales, al realizar el tratamiento térmico a 450°C y disminuyendo la concentración Ca/P, aumenta la Resistencia a la Transferencia de Carga, disminuyendo el intercambio iónico de iones calcio y fosfatos, es decir, afectando la bioactividad; así mismo, al realizar el patronamiento, la resistencia a la transferencia de carga (Rads) disminuye, aumentando la bioactividad.

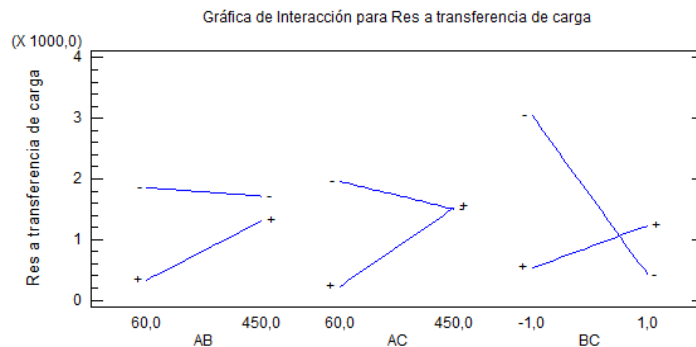
Figura 22. Diagrama de efectos principales para la resistencia a la transferencia de carga (Rads)



Fuente: Autores

En la figura 23, se presenta el diagrama de los efectos de interacción, en el cuál se observa el efecto de las interacciones BC (patronamiento- concentración Ca/P)

Figura 23. Diagrama de efectos de interacción



Fuente: Autores

El sustrato sin patronamiento, al aumentar la concentración Ca/P, presenta menor resistencia a la transferencia de carga (Rads), aumentando la bioactividad, y la adsorción de iones en la superficie.

El sustrato con patronamiento, al aumentar la concentración Ca/P aumenta la resistencia a la transferencia de carga, disminuyendo su intercambio iónico y su bioactividad.

Un aumento en la bioactividad, está relacionada con una mayor adsorción e interacción de iones en la superficie. En la tabla 8, se muestra los coeficientes usados en la ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos.

La ecuación del modelo ajustado es el siguiente:

Resistencia a la Transferencia de Carga

### **Res a transferencia de carga**

$10667,5 - 20,7255 * \text{Tratamiento térmico} - 8860,43 * \text{Patronamiento} - 3454,29 * \text{Concentración de calcio} + 1,43767 * \text{Tratamiento térmico} * \text{Patronamiento} + 7,81527 * \text{Tratamiento térmico} * \text{Concentración de calcio} + 2872,34 * \text{Patronamiento} * \text{Concentración de calcio}$ . Donde los valores de las variables se especifican en sus unidades originales.

Tabla 9. Coeficiente de regresión para la Resistencia a la transferencia de carga (Rads).

| <i>Coeficiente</i>         | <i>Estimado</i> |
|----------------------------|-----------------|
| constante                  | 10667,5         |
| A: Tratamiento térmico     | -20,7255        |
| B: Patronamiento           | -8860,43        |
| C: Concentración de calcio | -3454,29        |
| AB                         | 1,43767         |
| AC                         | 7,81527         |
| BC                         | 2872,34         |

Fuente: Autores

Este diseño de experimentos coincide con los análisis obtenidos en los análisis experimentales y resultados, con un comportamiento bioactivo de las superficies de Ti6Al4V, empleando la técnica de Litografía Láser.

#### 4. CONCLUSIONES

- El tratamiento superficial químico con NaOH sobre la aleación Ti6Al4V, permitió inducir grupos OH<sup>-</sup> sobre la superficie del sustrato, mediante la formación de un titanato de sodio que promovió la interacción entre el sustrato y el medio, para la formación de fosfatos de calcio y/o apatita.
- La caracterización morfológica de la nucleación de apatitas sobre la superficie con tratamiento alcalino y modificación superficial mediante patronamiento, muestra compuestos de fosfatos de calcio en concordancia con las fuentes bibliográficas consultadas. Se encontraron resultados satisfactorios para los sustratos inmersos en fluido fisiológico (*SBF*) con siete días de inmersión con las concentraciones Ca/P empleadas, que permitió establecer condiciones de saturación de iones de calcio y tiempo de inmersión para una superficie activa de titanato de sodio.
- Los sustratos con inmersión en fluido fisiológico de concentración Ca/P 3.08mMol/L, presentaron nucleación de apatitas más efectiva con morfología esférica de gran tamaño y focalización en sitios patronados. Así mismo en los espectros *EDS* se observaron picos de Ca y P con mayor intensidad, lo que permitió calcular una relación molar Ca/P para las apatitas formadas, cuyos resultados fueron valores cercanos al rango de hidroxiapatita.
- El comportamiento electroquímico de los sustratos con una hora de inmersión presentó menor resistencia a la transferencia de carga en las muestras con tratamiento alcalino, este comportamiento se atribuye a las estructuras en forma de hidrogel, las cuáles facilitan el proceso de disolución de los iones Na<sup>+</sup> de la superficie.

- El proceso de litografía láser sobre la superficie del titanato de sodio, permite focalizar la interacción iónica en la superficie, induciendo la adsorción de iones calcio en los sitios patronados; generando sitios activos para el proceso de intercambio iónico con el medio y la precipitación de la fase apatita.

## 5. RECOMENDACIONES

- Aumentar los tiempos de inmersión en *SBF*, con el fin de observar si se presenta mayor crecimiento de los núcleos de apatitas en las superficies patronadas y sin patronar, y así mirar si hay mayor cobertura de muestras patronadas
- Realizar la Litografía, empleando una técnica de pulsos láser, logrando un patrón más uniforme, y controlar la forma de los puntos y la distancia entre ellos, sin alterar las propiedades del recubrimiento, obteniendo una focalización de éstos en el crecimiento de la apatita.
- Se recomienda un análisis de seguimiento de calcio durante el tiempo de inmersión, con el objetivo de observar la cinética y evolución del calcio en la solución *SBF*.
- Estudiar más detalladamente el efecto del fósforo en la capa de óxido, en el proceso de precipitación de apatitas del biomaterial.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **RODIL, Sandra.** Modificación superficial de biomateriales metálicos. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales (México); 2009, vol. 29, N° 2, p. 67-83.
2. **F.J. GIL, M.P. GINEBRA, J.A. PLANELL.** Metales y aleaciones para la sustitución de tejidos Duros. Biomecánica, (Barcelona). 1999, VII, vol. 13 p. 73-78.
3. **PAREDES Ramírez, Juan Luis.** Revista El Uso de la Anodización en Materiales. 2010. P. 59.
4. **FELIU, S. Y ANDRADE, M.C.** Nuevas tendencias: Corrosión y Protección Metálica. 1991. Volumen 1. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid.
5. **Xuanyong Liua,b, Paul K. Chub, Chuanxian Dinga,** Surface nano-functionalization of biomaterials, 2010. p. 278-290).
6. REVISTA LATINOAMERICANA DE METALURGÍA Y MATERIALES. Rev. LatinAm. Metal. Mater. Universidad Simón Bolívar, (Caracas, Venezuela). 2009., Vol. 29 No. 2 p.65-155.
7. **Vadillo, José Laserna, J.Javier.** Laser-induced plasma spectrometry: truly a surface analytical tool».Spectrochimical Part B: Atomic Spectroscopy. 2004. p. 147-161.
8. **MENDES M. Pula, YEUNG L. Chun, PREECE A.** Jon. Bio – nanopatterning of surfaces. 2007.

9. **JAY GOU L.** Nanoimprint Lithography: Methods and material requirements, 2007. Adv. Mater. Res., 19, p. 495-500.
10. **T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi and T. Yamamuro,** "Solutions Able to Reproduce in Vivo Surface-structure Changes in Bioactive Glass-ceramic A-W", J. Biomed. Mater. Res., 24, 721-734. 1990.
11. Standard Practice for Preparation of Metallographic Specimens ASTM E3-01- 2010
12. **CÒRDOBA ROMÀN, L. C.** Relación entre la microestructura y resistencia a corrosión de la aleación biocompatible Ti6Al4V deformada en caliente. Tesis de maestría en ingeniería. (Colombia), 2000.
13. **CAMACHO GRISALES Viviana Marcela.** Efecto de la concentración del electrolito y la densidad de corriente en la formación de películas anódicas en la aleación Ti6Al4V
14. **ROMERO BOHORQUEZ Rafael, RODRÍGUEZ AGREDO Juan Manuel.** Evaluación del efecto de la temperatura de anodizado sobre la respuesta tribológica de recubrimientos anódicos sobre la aleación Ti6Al4V. P. 33- 35. Universidad Industrial de Santander. (Colombia), 2012
15. **ESPINOSA RATIVA Diana Marcela, JAIMES GARCIA Marta Liliana.** Anodizado de aleaciones de Titanio (Ti6Al4V), ELI, utilizados en la fabricación de implantes. P. 76 – 77 Universidad Industrial de Santander-Colombia, 2006

- 16. TADASHI KOKUBO, HIROAKITA KADAMA.** How useful is *SBF* in predicting in vivo bone bioactivity. Department of Biomedical Sciences. Accepted 13 de Enero- 2006.
- 17. ASTM INTERNATIONAL.** Standard practice for verification of algorithm and equipment for electrochemical impedance measurements. Norma ASTM G-106, 2009.
- 18. CAMERO Sonia, TALAVERA Iván, GONZÁLEZ Gema, RÉQUIZ Roberto, ROSALES Adalberto, SUÁREZ Maribel, LEÓN José, GONZÁLEZ.** Estudio de la corrosión de una aleación Ti6Al4V utilizada como biomaterial. Rev. Fac. Ing UCV vol.23 No.3.
- 19. SALAZAR ORTEGA Johanna, ESTUPIÑAN Hugo Armando, B. PEÑA Yesid Darío, VÁSQUEZ QUINTERO Custodio.** Correlación experimental entre la resistencia a la corrosión de Ti6Al4V en solución Ringer anodizada en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y los parámetros de tiempo y voltaje electrolítico. Universidad Tecnológica de Pereira. P. 227 – 232. (Pereira, Colombia). Vol. 8 No 36.
- 20. F. J. Gil, J. A. Planell, Shape memory alloys for medical applications, Dep. Enginyeria Metalúrgica, Escola.** Técnica Superior d'Enginyers de Barcelona, Universidad Politècnica de Catalunya, Barcelona Spain
- 21. BISCAIA DE SOUZA Gelson, LEPIENSKI Carlos Mauricio, Carlos Eugênio FOERSTER Carlos Eugênio, KUROMOTONEIDE Kazue, SOARES Paulo, de ARAÚJO PONTE Haroldo.** Nanochemical and nanotribological properties of bioactive titanium surfaces prepared by alkali treatment. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. Accepted 10 July 2010.

- 22. JONASOVA Lenka, MULLER Frank A. HELEBRANT Ales, STRNAD Jakub, GREIL Peter.** Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium. . 2013
- 23. HYUN-Min Kim, FUMIAKI Miyaji, TADASHI Kokubo, and TAKASHI Nakamura.** Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment. Department of Material Chemistry, Faculty of Engineering; and Department of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Yoshida, Sakyo-ku, Kyoto 606-01. 1998.
- 24. RAVELINGIEN Matthieu, MULLENS STEVEN, LUYTEN Jan, MEYNEN Vera, VINCK Evi, VERVAET Chris, REMON Jean Paul.** Thermal decomposition of bioactive sodium titanate surfaces. Applied Surface Science. p. (9540 – 9542), 2009
- 25. CONFORTO E, CAILLARD D. MULLER L. MULLER F.A.** The structure of titanate nanobelts used as seed for the nucleation of hydroxyapatite at the surface of titanium implants. Acta Biomaterial. 2008.
- 26. KWOK C.T., WONG P.K., CHENG F.T., MAN H.C.** Characterization and corrosion behavior of hydroxyapatite coatings on Ti6Al4V fabricated by electrophoretic deposition. Applied surface science. 2009
- 27. XIONG Jianyu, YUNCANG Li, XIAOJIAN Wang, HODGSON Peter, WEN Cui.** Mechanical properties and bioactive surface modification via alkali – heat treatment of a porous Ti- 18Nb- 4Sn alloy for biomedical applications. Acta Biomaterial. 2008.

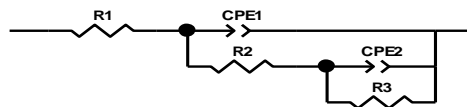
- 28. REVISTA LATINOAMERICANA DE METALURGÍA Y MATERIALES.** Rev. LatinAm. Metal. Mater. Vol. 33 No. 2 (5). Universidad Simón Bolívar, (Caracas, Venezuela). 2013.
- 29. ROMEO H.E., FANOVICH M.A.** Síntesis de fosfato tetracálcico a partir de reactivos activados químicamente. Instituto en Ciencia y Tecnología de Materiales. Universidad Nacional del Mar de Plata. Buenos Aires-Argentina. Septiembre 2007.
- 30. KIM H. M. MIYAJIT F. KOKUBO T. NAKAMURA T.** Effect of heat treatment on apatite – forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. Journal of Materials science: Materials in Medicine 8. p. 341 – 347. 1997.
- 31. VÁZQUEZ GUTIÉRRES José Luis,** Empleo de la técnica de Espectroscopia de Impedancias Electroquímicas para la caracterización de materiales. Universidad Politécnica de Valencia. (Diciembre) 2007.
- 32. RED DE REVISTAS CIENTÍFICAS DE AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE, ESPAÑA Y PORTUGAL.** Mater. Universidad Autónoma del Estado de México, Vol. No 36 p. 257 – 259. (Ciudad de México, México). 2007.

# **ANEXOS**

## ANEXO A. Simulación de circuitos de espectroscopía de impedancia electroquímica

EIE: Tratamiento alcalino con posterior tratamiento térmico con relación Ca/P de 3.08.

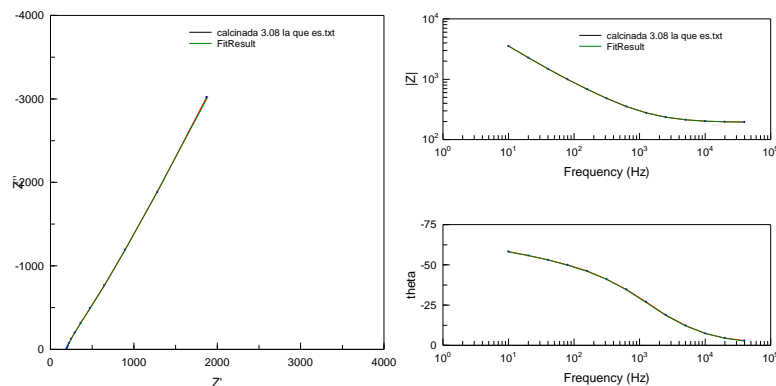
Figura B-1. Tratamiento alcalino con posterior tratamiento térmico a 450° sin litografía en inmersión por una hora en *SBF*, datos simulados con diagrama de Nyquist experimental y diagrama de bode experimental y simulado.



| Element | Freedom | Value      | Error      | Error %    |
|---------|---------|------------|------------|------------|
| R1      | Free(+) | 191.2      | 0.56237    | 0.29413    |
| CPE1-T  | Free(+) | 6.4716E-06 | 5.5001E-07 | 8.4988     |
| CPE1-P  | Free(+) | 0.77826    | 0.0088104  | 1.1321     |
| R2      | Free(+) | 1287       | 174.39     | 13.55      |
| CPE2-T  | Free(+) | 1.043E-05  | 8.0896E-07 | 7.7561     |
| CPE2-P  | Free(+) | 0.63588    | 0.0076476  | 1.2027     |
| R3      | Free(+) | 2.7526E19  | 1.8811E10  | 6.8339E-08 |

Chi-Squared: 4.8682E-05  
 Weighted Sum of Squares: 0.00092495

Data File: C:\Users\JHON\Desktop\calcinada 3.08 la que es.tx  
 Circuit Model File:  
 Mode: Run Fitting / Freq. Range (0.001 - 1000000)  
 Maximum Iterations: 100  
 Optimization Iterations: 0  
 Type of Fitting: Complex  
 Type of Weighting: Calc-Modulus

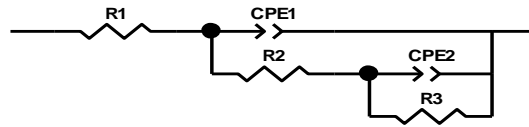


Fuente: Autores

## ANEXO B. Simulación de circuitos de espectroscopía de impedancia electroquímica

EIE: Tratamiento alcalino con posterior tratamiento térmico con relación Ca/P de 3.08.

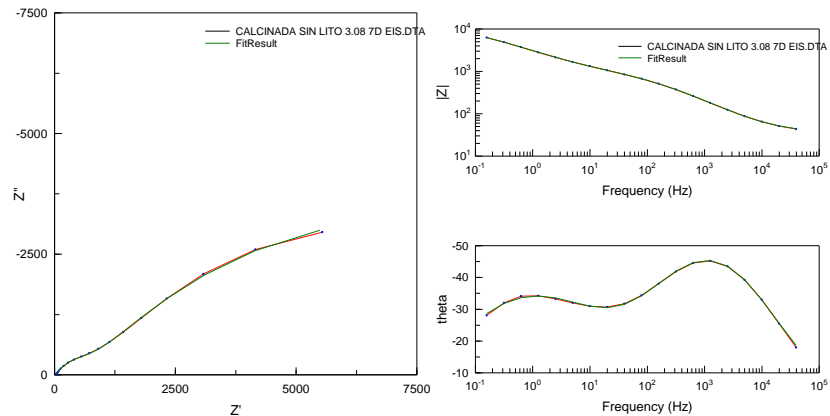
Figura B-2. Calcinación a 450° sin litografía en inmersión por siete días en *SBF*, datos simulados con diagrama de Nyquist experimental y diagrama de bode experimental y simulado.



| Element | Freedom | Value      | Error      | Error % |
|---------|---------|------------|------------|---------|
| R1      | Free(+) | 34         | 0.21399    | 0.62938 |
| CPE1-T  | Free(+) | 1.1934E-05 | 2.9407E-07 | 2.4641  |
| CPE1-P  | Free(+) | 0.68821    | 0.0025687  | 0.37324 |
| R2      | Free(+) | 959.6      | 17.186     | 1.791   |
| CPE2-T  | Free(+) | 0.00011493 | 1.3161E-06 | 1.1451  |
| CPE2-P  | Free(+) | 0.55615    | 0.0050762  | 0.91274 |
| R3      | Free(+) | 13278      | 341.88     | 2.5748  |

Chi-Squared: 4.6697E-05  
 Weighted Sum of Squares: 0.0014476

Data File: C:\Users\JHON\Desktop\CALCINADA SIN LITO 3.08  
 Circuit Model File:  
 Mode: Run Fitting / All Data Points (1 - 19)  
 Maximum Iterations: 100  
 Optimization Iterations: 0  
 Type of Fitting: Complex  
 Type of Weighting: Calc-Modulus



Fuente: Autores

### ANEXO C. Valores del circuito equivalente del proceso de adsorción

Figura C-1. Valores del Circuito Equivalente del proceso de Adsorción en una hora de inmersión en Fluido Fisiológico Simulado (SBF).

| [Ca+2] | T (°C) | Sustrato                                 | Rsln (ohm) | Rtc (ohm) | n       | EFC      | Rads (ohm) | n       | EFC      | Chi-2      |
|--------|--------|--|------------|-----------|---------|----------|------------|---------|----------|------------|
| 2,5    | 60°    | Superficie oxidada con NaOH              | 62,43      | 80033     | 0,81406 | 8,24E-05 | 409,4      | 0,79691 | 2,15E-05 | 0,00024529 |
|        |        | Superficie oxidada con NaOH y Litografía | 114,4      | 37202     | 0,79787 | 3,91E-05 | 23,16      | 0,7775  | 6,15E-05 | 0,00045532 |
| 3.08   | 60°    | Superficie oxidada con NaOH              | 86,88      | 5,38E+17  | 0,82595 | 9,25E-05 | 552,2      | 0,80736 | 1,95E-05 | 0,00015195 |
|        |        | Superficie oxidada con NaOH y Litografía | 81,35      | 45354     | 0,79582 | 9,95E-05 | 218,8      | 0,80897 | 5,17E-05 | 0,00048133 |
| 2,5    | 450°   | Superficie oxidada con T.T               | 64,45      | 6,31E+19  | 0,72114 | 6,48E-06 | 833,6      | 0,68896 | 8,36E-06 | 0,00026145 |
|        |        | Superficie oxidada con T.T y Litografía  | 72,61      | 2,90E+05  | 0,71335 | 5,64E-06 | 543,3      | 0,76617 | 8,37E-06 | 0,00064539 |
| 3.08   | 450°   | Superficie oxidada con T.T               | 191,2      | 2,75E+19  | 0,77826 | 6,47E-06 | 1287       | 0,63588 | 1,04E-05 | 4,87E-05   |
|        |        | Superficie oxidada con T.T y Litografía  | 186,5      | 8,07E+05  | 0,74887 | 8,77E-06 | 2723       | 0,71483 | 6,00E-06 | 0,00013012 |
| 0      | 25°    | Ti6Al4V                                  | 42,51      | 2,74E+05  | 0,90465 | 2,73E-05 | 728,9      | 0,9439  | 5,89E-06 | 0,00036441 |

Fuente: Autores

Figura C-2. Valores del Circuito Equivalente del proceso de Adsorción después de siete días de inmersión en Fluido Fisiológico Simulado (SBF).

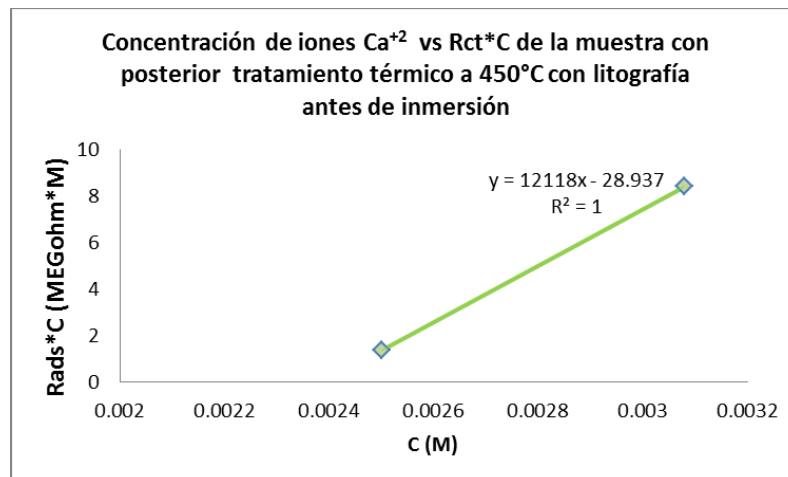
| [Ca+2] | T (°C) | Sustrato                                 | Rsln (ohm) | Rtc(ohm) | n       | EFC      | Rads (ohm) | n       | EFC      | Chi-2      |
|--------|--------|--|------------|----------|---------|----------|------------|---------|----------|------------|
| 2,5    | 60°    | Superficie oxidada con NaOH              | 53,71      | 3005     | 0,50322 | 6,54E-05 | 3613       | 0,99642 | 3,26E-07 | 0,0020723  |
|        |        | Superficie oxidada con NaOH y Litografía | 31,13      | 7277     | 0,82379 | 1,56E-04 | 308,1      | 0,78335 | 3,23E-05 | 2,63E-05   |
| 3.08   | 60°    | Superficie oxidada con NaOH              | 46,82      | 1,13E+05 | 0,87097 | 4,96E-05 | 97,27      | 0,76052 | 4,15E-05 | 8,25E-05   |
|        |        | Superficie oxidada con NaOH y Litografía | 42,43      | 3433     | 0,71852 | 1,51E-05 | 360,8      | 0,50704 | 1,04E-04 | 0.0014818  |
| 2,5    | 450°   | Superficie oxidada con T.T               | 43,17      | 5,48E+19 | 0,74882 | 4,67E-06 | 2471       | 0,57647 | 1,96E-05 | 0,0001307  |
|        |        | Superficie oxidada con T.T y Litografía  | 38,75      | 1,75E+04 | 0,5942  | 2,35E-05 | 524        | 0,71622 | 4,52E-05 | 0,00039467 |
| 3.08   | 450°   | Superficie oxidada con T.T               | 34         | 1,33E+04 | 0,68821 | 1,19E-05 | 959,6      | 0,55615 | 1,15E-04 | 4,67E-05   |
|        |        | Superficie oxidada con T.T y Litografía  | 44,29      | 4,99E+20 | 0,7085  | 4,27E-06 | 2108       | 0,5517  | 1,37E-05 | 0,00052089 |

Fuente: Autores

#### ANEXO D. Datos termodinámicos de adsorción

Se puede observar en la Figura 28, la concentración de iones  $\text{Ca}^{+2}$  (C), vs  $\text{Rads}^*C$  obteniéndose  $\Gamma$  por medio de la pendiente y el  $\text{Bads}$  por el punto de corte con el eje Y en la muestra con posterior tratamiento térmico a  $450^\circ\text{C}$  y litografía, después de inmersión en *SBF* por 7 días.

Figura 24. Concentración de iones  $\text{Ca}^{+2}$  vs  $\text{Rads}^*C$  de la muestra con posterior tratamiento térmico a  $450^\circ\text{C}$  con litografía antes de inmersión.

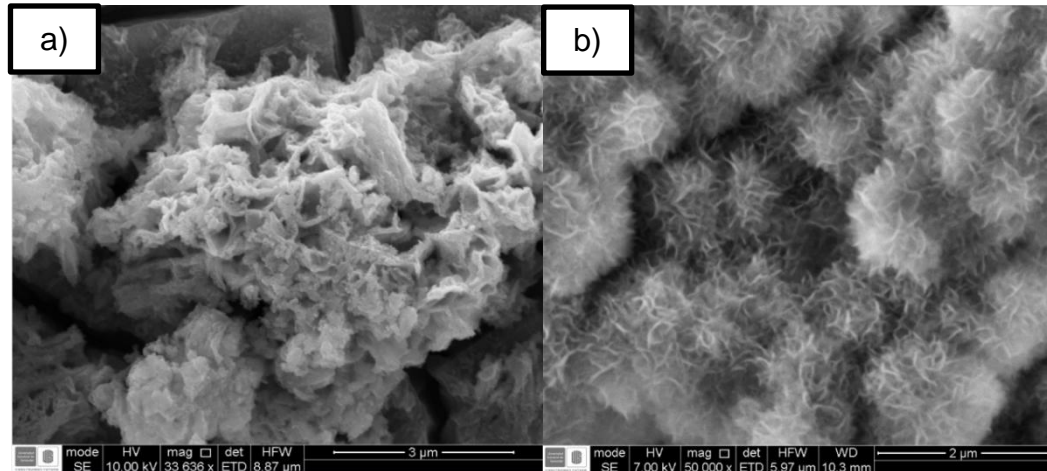


Fuente: Autores

El tratamiento de Langmuir se basa en las suposiciones de que la adsorción máxima corresponde a una monocapa saturada de moléculas de soluto sobre la superficie del adsorbente, que la energía de adsorción es constante y que no existe transmigración de adsorbato en el plano de superficie.

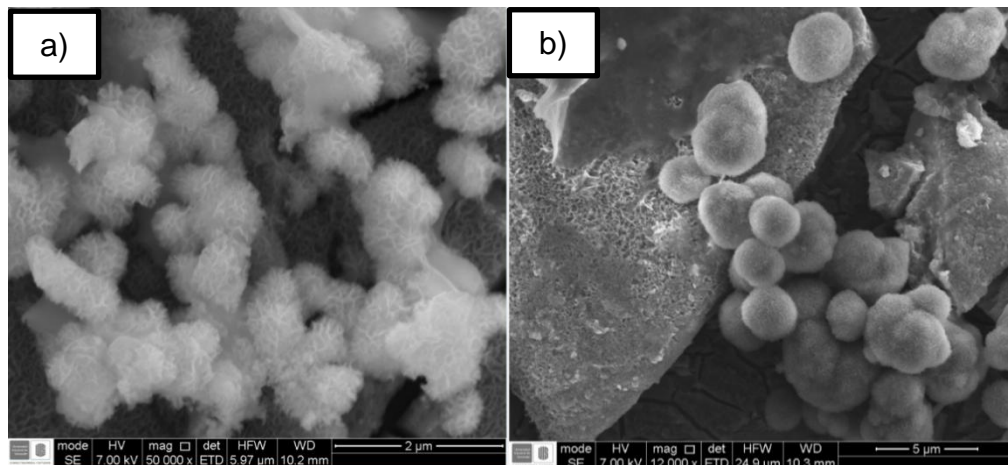
**ANEXO E. Micrografía de SEM de la nucleación de apatitas sobre los sustratos con tratamiento alcalino con inmersión en SBF durante 7 días con concentración Ca/P 3.08**

Figura 25. Superficie oxidada con NaOH a) Relación Ca/P 2.5 a 33.363X y b) Relación Ca/P 3.08 a 50.000X



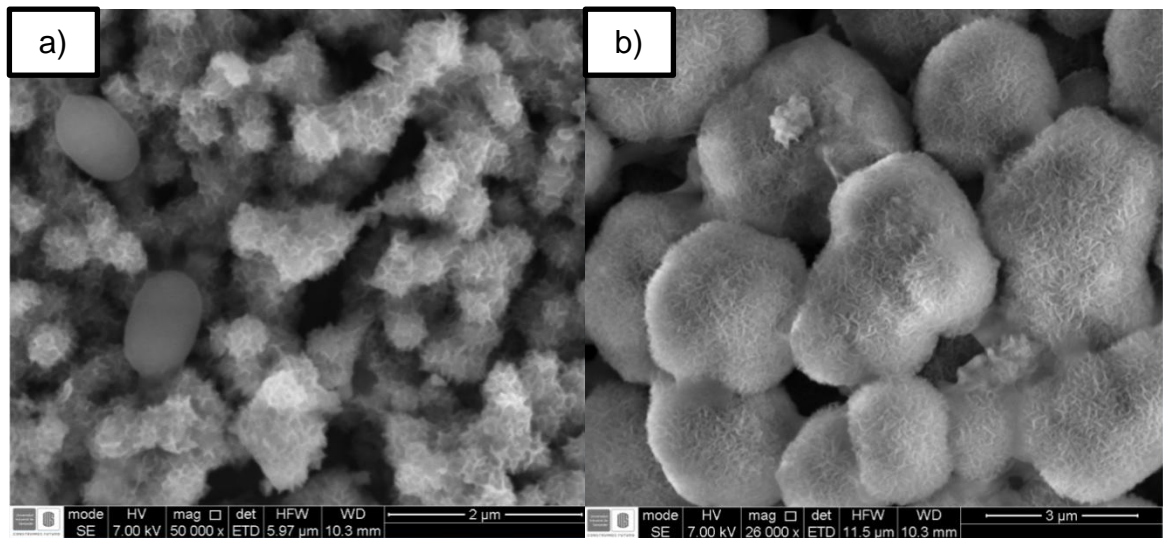
Fuente: Microscopio electrónico de barrido- QUANTA FEG 650

Figura 26. Superficie oxidada con NaOH y Litografía a) Relación Ca/P de 2.5 a 500.000X y b) Relación Ca/P de 3.08 a 12.000X



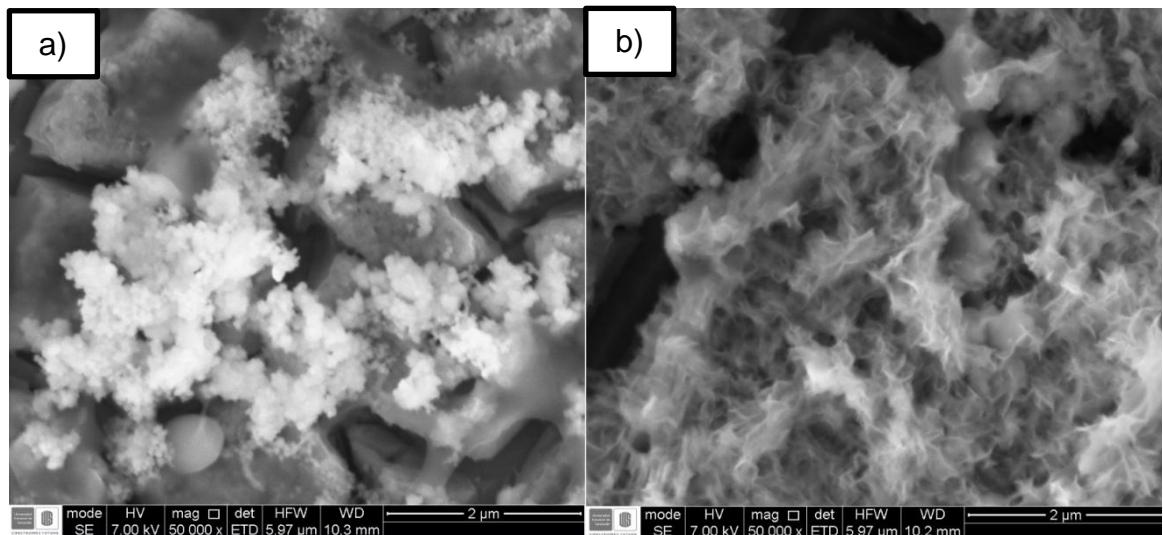
Fuente: Microscopio electrónico de barrido- QUANTA FEG 650

Figura 27. Superficie oxidada con NaOH y posterior tratamiento térmico a) Relación Ca/P de 2.5 a 50.000X y b) Relación Ca/P de 3.08 a 26.000X



Fuente: Microscopio electrónico de barrido- QUANTA FEG 650

Figura 28. Superficie oxidada con NaOH y posterior Tratamiento térmico y litografía a) Relación Ca/P de 2.5 a 50.000X y b) Relación Ca/P de 3.08 a 50.000X



Fuente: Microscopio electrónico de barrido- QUANTA FEG 650