

**“EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE APATITA SOBRE UNA SUPERFICIE
BIOCERÁMICA OBTENIDA POR ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA Y
PATRONADA POR LITOGRAFÍA LÁSER”**



Autores

SUSANA ANDREA FORERO SOTOMONTE

LIZETH JOHANA SÁNCHEZ CAMACHO

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS

ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES

BUCARAMANGA

2013

**“EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE APATITA SOBRE UNA SUPERFICIE
BIOCERÁMICA OBTENIDA POR ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA Y
PATRONADA POR LITOGRAFÍA LÁSER”**

SUSANA ANDREA FORERO SOTOMONTE

LIZETH JOHANA SÁNCHEZ CAMACHO

Trabajo presentado como requisito para optar al título de
Ingeniero Metalúrgico

Director

DARÍO YESID PEÑA BALLESTEROS

Ingeniero Metalúrgico PhD.

Co-Director

HUGO ARMANDO ESTUPIÑÁN

Ingeniero Metalúrgico PhD.

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

2013

A Dios por darme siempre la salud, la vida, la fortaleza y
sabiduría cada momento

A mi familia, Mis padres y mi hermana por ser un apoyo
fundamental en todas las etapas de mi vida, porque son mi
guía y motivación

A mis amigos incondicionales por sus consejos, su ayuda y
su buena energía

A mi compañera y amiga Susana por su perseverancia y
dedicación

A todas las personas que me acompañaron, en este proceso
y que hicieron posible que este sueño se convirtiera en
realidad

..Lizeth Sánchez...

A Dios y a mi abuelita Leo, mis protectores celestiales,
Quienes me proporcionaron la fortaleza y tenacidad necesaria para seguir luchando por mi
sueño sin desfallecer ante los problemas y tropiezos que se me presentaron en el camino,
gracias por escuchar mis oraciones y permitirme alcanzar este logro tan anhelado.

A mi madre y hermanos,
Por estar siempre a mi lado siendo mi soporte incondicional para sobrellevar y superar las
dificultades presentadas en esta y en todas las etapas de mi vida, por motivarme
incansablemente a luchar por todo lo que me propongo, sin permitir que mi cansancio, mis
inseguridades, y mis dudas me hicieran desistir.

A mis tías Sonia Lucía y Martha Susana Forero,
Quienes desde pequeños nos acogieron como sus hijos, educándonos con amor,
paciencia y firmeza, a ellas les debo haberme formado como la persona que soy.

A toda mi familia,
Dios me bendijo desde el momento en que seleccionó a todos los miembros de mi familia,
poniendo a mi lado personas tan maravillosas que me han acompañado, ayudado, apoyado
y amado durante toda mi vida, motivándome a ser una persona responsable y luchadora
para nunca decepcionarlos y poder agradecerles así todas las atenciones que han tenido
conmigo.

A mi amiga y compañera de lucha Lizeth,
Con quien afirme mi amistad al trabajar arduamente por nuestro sueño, gracias por la
paciencia, perseverancia, constancia y fe que tuviste en todo momento.

A mis amigos "Asoñome" y compañeros,
Con quienes viví alegrías y tristezas en esta etapa de mi vida, gracias por su amistad y por
hacer que esta sea inolvidable. Doy gracias a Dios por haber encontrado personas tan
especiales, esto no hubiera sido posible sin ustedes.

Susana Forero.

AGRADECIMIENTOS

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

Darío Yesid Peña, Ingeniero metalúrgico PhD, director de esta investigación, por su incondicional apoyo y confianza depositada durante el desarrollo de este trabajo.

Hugo Armando Estupiñán, Ingeniero metalúrgico PhD, Co-director de esta investigación, por sus valiosas orientaciones las cuales fueron indispensables para iniciar, avanzar y culminar este estudio.

Custodio Vásquez, miembro directivo del grupo de investigación en corrosión GIC-Guatiguará, por su constante colaboración y orientación desinteresada en la presente investigación.

Ambrosio Carrillo, Juan Domingo, técnicos de los laboratorios de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales, por su ayuda desinteresada al facilitar sus instalaciones y equipos para desarrollar la presente investigación.

Enrique Mejía, docente del laboratorio de espectroscopia atómica y molecular de la Escuela de Química de la Universidad Industrial de Santander, por su colaboración en la presente investigación.

Carolina Mendoza, Ingeniera química del laboratorio de Espectroscopia de la sede de Guatiguará, por su ayuda y apoyo desinteresado en esta investigación.

A todos nuestros compañeros y amigos por su apoyo incondicional.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	20
1. OBJETIVOS	21
1.1 OBJETIVO GENERAL.	21
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	21
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	22
2.1 BIOMATERIALES.	22
2.2 CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMATERIALES.	22
2.2.1 BIOMATERIALES METÁLICOS.	22
2.2.2 BIOMATERIALES CERÁMICOS (BIOCERÁMICA).	23
2.2.2.1 Fosfatos de calcio.	23
2.3 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS DE HA.	23
2.3.1 ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA.	24
2.3.1.1 Variables del proceso de electrodeposición catódica.	24
2.3.1.2 Etapas del proceso de electrodeposición.	25
2.4 TRATAMIENTOS DE CRISTALIZACIÓN DE LOS BIOCERÁMICOS.	26
2.5 PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER.	26
2.6 PROCESO DE ADSORCIÓN DE IONES.	27
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	28
3.1 OBTENCIÓN DEL RECUBRIMIENTO BIOCERÁMICO DE FOSFATO DE CALCIO SOBRE EL SUSTRATO, POR ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA.	29
3.1.1 Preparación Superficial de las Muestras.	29
3.1.1.1 Desbaste y pulido.	29
3.1.1.2 Decapado químico y limpieza del sustrato.	29
3.1.2 Condiciones iniciales de trabajo.	30

3.1.3 Deposición electrolítica de fosfatos.	30
3.2 TRATAMIENTO TÉRMICO DEL RECUBRIMIENTO BIOCERÁMICO DE FOSFATOS DE CALCIO PARA LA OBTENCIÓN DE APATITA CRISTALINA.	31
3.3 CARACTERIZACIÓN DEL RECUBRIMIENTO BIOCERÁMICO.	32
3.3.1 Caracterización química y morfológica de los compuestos presentes en los recubrimientos obtenidos por electrodeposición catódica.	32
3.4 PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER DE LA SUPERFICIE DE APATITA OBTENIDA.	33
3.4.1 Análisis morfológico por microscopia electrónica de barrido (SEM).	34
3.5 ADSORCIÓN DE IONES CALCIO A PARTIR DE SBF Y ESTABILIDAD HIDROLÍTICA DEL BIOCERÁMICO PATRONADO.	34
3.5.1 Análisis por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).	34
3.5.2 Biomineralización y caracterización de las muestras en inmersión.	35
3.5.3 Análisis Estadístico.	35
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS	36
4.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO.	36
4.2 OBTENCIÓN DEL RECUBRIMIENTO DE FOSFATO DE CALCIO POR ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA.	37
4.2.1 Caracterización química y morfológica de los compuestos presentes en los recubrimientos obtenidos por electrodeposición catódica.	37
4.2.1.1 Microscopia óptica.	37
4.2.1.2 Análisis por espectroscopia de energía dispersa (EDS).	37
4.2.1.3 Análisis FT-IR.	39
4.2.1.4 Análisis por Difracción de Rayos X (DRX).	40
4.2.1.5 Caracterización Morfológica por microscopia electrónica de barrido (SEM).	42
4.3 PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER DE LA SUPERFICIE	

DE HIDROXIAPATITA OBTENIDA Y CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA.	43
4.3.1 Análisis morfológico por microscopia electrónica de barrido (SEM).	43
4.4 ADSORCIÓN DE IONES CALCIO A PARTIR DE SBF Y ESTABILIDAD HIDROLÍTICA DEL BIOCERÁMICO PATRONADO.	44
4.4.1 Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS).	44
4.4.1.1 Diagrama de Bode: Ángulo de fase ($\emptyset$) y módulo de impedancia ($ Z $) y Diagramas de Nyquist: Impedancia imaginaria (Z'') Vs real (Z').	44
4.4.1.2 Circuito equivalente del proceso de adsorción.	50
4.4.2 Biomineralización en inmersión con un fluido fisiológico simulado SBF.	54
4.4.2.1 Caracterización morfológica por microscopia electrónica de barrido (SEM) de las superficies patronadas, luego de la inmersión en SBF.	54
4.4.2.2 Análisis por espectroscopia de energía dispersa (EDS).	56
4.4.2.3 Análisis FT-IR de las superficies patronadas, después de inmersión en SBF.	59
4.4.2.4 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS).	60
4.5 Análisis Estadístico.	63
5. CONCLUSIONES	66
6. RECOMENDACIONES	68
BIBLIOGRAFÍA	69
ANEXOS	74

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología del proyecto de grado.	28
Figura 2. Dimensiones de las probetas Ti6Al4V usadas en el presente trabajo	29
Figura 3. Esquema del montaje de la celda electrolítica.	31
Figura 4. (a) Horno HERAEUS empleado en el tratamiento térmico, (b) Probeta electrodepositada luego del enfriamiento.	32
Figura 5. a) Montaje para patronamiento por litografía láser y b) Soportes con lente óptico del láser, rejilla y probeta.	33
Figura 6. Montaje de la celda para realizar la prueba electroquímica EIS.	35
Figura 7. Micrografía del sustrato Ti6Al4V.	36
Figura 8. Espectro EDS del sustrato de Ti6Al4V.	36
Figura 9. Fotomicrografías del recubrimiento depositado sobre la aleación Ti6Al4V, (a) 50X (b) 100X.	37
Figura 10. Espectros EDS de los recubrimientos tratados térmicamente (a) T=550°C, (b) T=650° y (c) T=750°C.	38
Figura 11. Espectros de FT-IR de los recubrimientos tratados a 550, 650 y 750°C.	39
Figura 12. Superposición de los perfiles de difracción de los recubrimientos tratados a 550, 650 y 750°C.	41
Figura 13. Micrografías SEM a 25.000X, de los recubrimientos tratados térmicamente (a) T=550°C, (b) T= 650°C y (c) T= 750°C.	42
Figura 14. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados, tratados a 550°C, (a) 10.000X, (b) 40.000X, (c) 80.000X y (d) 35.676X.	44
Figura 15. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados, tratados a 650°C, (a) 20.000X y (b) 80.000X.	44

Figura 16. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados, tratados a 750°C, (a) 20.000X y (b) 30.000X.	45
Figura 17. Diagramas de Bode obtenidos a diferente [Ca] de SBF, recubrimientos tratados térmicamente (a) y (b) T=550°C, (c) y (d) T=650°C, (e) y (f) T=750°C.	47
Figura 18. Diagramas de Nyquist de las muestras a diferente [Ca] de SBF (2.5, 4.5 y 6.5 mmol/L), tratadas térmicamente (a) 550°C (b) 750°C y (c) 650°C.	48
Figura 19. Circuito equivalente (a) Obtenido por Zview, (b) simulado para el proceso de adsorción de apatita.	51
Figura 20. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados y tratados a 550°C, (a) 20.000X y (b) 40.000X, luego de la inmersión en SBF por 7 días.	54
Figura 21. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados y tratados a 650°C, (a) 20.000X y (b) 40.000X, luego de la inmersión en SBF por 7 días.	55
Figura 22. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados y tratados a 750°C, (a) 10.000X (b) 20.000X y (c) 40.000X, luego de la inmersión en SBF 7 días.	55
Figura 23. Espectros EDS de los recubrimientos tratados térmicamente (a) T=550°C, (b) T=650° y (c) T=750°C después de inmersión.	56
Figura 24. Superposición de los espectros FT-IR de los recubrimientos tratados térmicamente a 550, 650 y 750°C, luego de la inmersión en SBF por 7 días.	59
Figura 25. Diagramas de Bode a SBF [Ca] =2.5 mmol/L, de las muestras patronadas y tratadas térmicamente (a) y (b)T=550°C, (c) y (d) T=650°C, (e) y (f) T=750°C, luego de la inmersión.	61
Figura 26. Diagramas de Nyquist, para las muestras patronadas luego de la inmersión, en solución SBF 2.5 mmol/L y tratadas térmicamente (a) 550°C, (b) 650°C y (c) 750°C.	62

Figura 27. Diagramas estadísticos para la concentración de Calcio superficial Γ [$\text{mol}\cdot\text{cm}^{-2}$] (a) Gráfico de Pareto estandarizado (b) Gráfico de efectos principales.	64
Figura 28. Montaje de la celda electrolítica para electrodeposición de Fosfatos de calcio sobre Ti6Al4V ASTM F136 y probeta electrodepositada.	74
Figura 29. Compuestos cristalinos encontrados a temperatura ambiente corporal y rango de estabilidad de pH en el sistema $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$.	75
Figura 30. Ejemplo de la simulación realizada de los diagramas de impedancia por medio del programa Zview.	77
Figura 31. Ajuste de datos experimentales a la isoterma de Langmuir, para los recubrimientos cristalizados (a) 550°C (b) 650°C y (c)750°C.	65

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Condiciones de operación para la electrodeposición.	30
Tabla 2. Datos Termodinámicos del proceso de adsorción.	53
Tabla 3. Relaciones atómicas de los principales elementos, de los recubrimientos patronados y tratados a diferentes temperaturas, antes y después de la inmersión.	56
Tabla 4. Concentración de Ca^{2+} en SBF después de 168 horas de inmersión volumen.	58
Tabla 5. Descripción y especificaciones de los reactivos para preparar el SBF	74
Tabla 6. Concentraciones iónicas del plasma sanguíneo humano y del SBF a diferentes concentraciones de calcio.	75
Tabla 7. Resultados por DRX de las fases cristalinas de los recubrimientos obtenidos a 550 °C.	76
Tabla 8. Resultados por DRX de las fases cristalinas de los recubrimientos obtenidos a 650 °C.	76
Tabla 9. Resultados por DRX de las fases cristalinas de los recubrimientos obtenidos a 750 °C.	76
Tabla 10. Valores de los circuitos equivalentes para cada temperatura de tratamiento térmico y concentración de Ca en SBF.	78

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Reactivos utilizados en la preparación del SBF	74
ANEXO B. Fotografía del montaje para la electrodeposición.	74
ANEXO C. Concentraciones iónicas del SBF.	75
ANEXO D. Clasificación fosfatos de calcio según la relación Ca/P.	75
ANEXO E. Difracción de rayos x de los recubrimientos obtenidos.	76
ANEXO F. Simulación de circuitos en EIS por medio del programa ZVIEW.	77
ANEXO G. Valores de los parámetros eléctricos de los circuitos equivalentes.	78
ANEXO H. Datos termodinámicos de adsorción.	79

RESUMEN

TÍTULO: EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE APATITA SOBRE UNA SUPERFICIE BIOCERÁMICA OBTENIDA POR ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA Y PATRONADA POR LITOGRAFÍA LÁSER *

AUTORES: Susana Andrea Forero **
Lizeth Johana Sánchez **

PALABRAS CLAVES: Biomateriales, Nanotecnología, patronamiento, aleaciones Ti6Al4V, recubrimientos biocerámicos, litografía laser.

DESCRIPCIÓN:

En esta investigación se obtuvieron recubrimientos de fosfatos de calcio sobre el sustrato de la aleación Ti6Al4V ASTM F-136, el cual fue previamente preparado superficialmente por desbaste, decapado químico y baño ultrasónico, buscando aumentar la rugosidad y así asegurar una mejor adherencia de los depósitos. Estos recubrimientos se obtuvieron por electrodeposición catódica a unas condiciones establecidas de voltaje a 12 V, temperatura de 60 °C, agitación de 700 rpm. Posteriormente se les realizó un tratamiento térmico a diferentes temperaturas (550, 650 y 750 °C), con el fin de cristalizar la apatita para mejorar su bioactividad. Estos depósitos fueron caracterizados química y morfológicamente por SEM-EDS, FT-IR y DRX, encontrando que correspondían a hidroxiapatita. Para generar sitios activos sobre la superficie, esta fue patronada por medio de la técnica de litografía láser, evaluando la morfología de estos patrones por SEM. Adicionalmente se realizaron pruebas de Biomineralización, dejando las probetas en inmersión durante 7 días en SBF, buscando obtener una mayor formación de apatita en la superficie. Finalmente se realizaron pruebas de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) a temperatura ambiente, empleando una solución corporal simulada (SBF) con diferentes concentraciones de Ca, ajustando los resultados a la isoterma de Langmuir, con el fin de evaluar la capacidad de adsorción de Ca del recubrimiento biocerámico patronado, la cual indica una reactividad favorable de la superficie para su aplicación como biomaterial.

* PROYECTO DE GRADO

** Facultad de Ingenierías Físico Químicas. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. Director: PhD Darío Yesid Peña Ballesteros Codirector: PhD Hugo Armando Estupiñán.

ABSTRACT

TITLE: EVALUATION OF THE FORMATION ON A SURFACE APATITE BIOCERAMIC OBTAINED BY CATHODIC ELECTRODEPOSITION AND PATTERNED BY LASER LITHOGRAPHY *

AUTHORS: Susana Andrea Forero **
Lizeth Johana Sánchez **

KEYWORDS: Biomaterials, Nanotechnology, patterned, alloys Ti6Al4V, bioceramics coatings, Laser Lithography.

DESCRIPTION:

In this research were obtained calcium phosphate coating on Ti6Al4V alloy substrate ASTM F-136, which was previously prepared by roughing the surface, chemical etching and an ultrasonic shower, looking for a way to increase the roughness and ensure a better adherence of deposits. These coatings were obtained by cathodic electrodeposition to established conditions at voltage 12V, temperature 60°C and agitation of 700rpm. They were then thermally treated at different temperatures (550, 650 and 750 ° C) to crystallize the apatite to improve its bioactivity. These deposits were characterized chemically and morphologically by SEM-EDS, FTIR and XRD, finding that clearly corresponded to hydroxyapatite. To generate active sites on the surface, this was through laser lithography technique, testing the morphology of these patterns by SEM. Biomineralization tests were performed, leaving the samples for 7 days immersion in SBF, to achieve a great apatite formation on the surface. Finally, tests were performed electrochemical impedance spectroscopy (EIS) at room temperature, using a simulated body solution (SBF) with different concentrations of Ca, fitting the results to the Langmuir isotherm, to evaluate the capacity of Ca adsorption of patterned bioceramic coating, which indicates a positive reactivity to the surface for his application as biomaterial.

* DEGREE PROJECT

** Phisycal Chemical Engineerings Faculty. School of Metallurgical Engineering. Director: PhD Darío Yesid Peña Codirector: PhD Hugo Armando Estupiñán.

INTRODUCCIÓN

En la sociedad actual, debido al desarrollo de nuevas enfermedades patológicas, crece progresivamente la necesidad de mejorar las propiedades biomédicas de los implantes. Por esta razón, es de gran importancia estudiar los biomateriales y su funcionamiento biológico, evaluando y controlando, por medio de diferentes técnicas cada vez más avanzadas, las propiedades fisicoquímicas que puede ofrecer el implante al sistema biológico ^[1]. Después de que el biomaterial ha sido implantado en el cuerpo humano, es inevitable que se produzca una interacción entre la superficie de este y el medio biológico, por lo tanto la modificación superficial del implante se ha convertido en un importante tema de investigación.

En el presente trabajo de investigación, se obtuvo sobre la aleación de Ti6Al4V, un recubrimiento biocerámico de fosfatos de calcio, principalmente de hidroxiapatita, generando adecuadas propiedades fisicoquímicas y biocompatibles al sustrato. Se sometieron las muestras a un tratamiento térmico a diferente temperatura, generando la cristalización de las fases presentes. Posteriormente se modificó la superficie de la película, por medio del patronamiento, utilizando la técnica de litografía láser, produciendo sitios activos que promueven la nucleación y crecimiento de apatita; logrando con esto, aumentar su bioactividad y promover su interacción con los fluidos corporales. Con el desarrollo de estos recubrimientos patronados, se buscaba principalmente, optimizar la respuesta de la interfase superficie-medio biológico de los biomateriales, para que al estar el implante en contacto con los fluidos fisiológicos del cuerpo humano, la interacción de la superficie con el medio biológico aumentara, favoreciendo la formación de hidroxiapatita, la cual es una estructura estable que facilita la oseointegración del implante con el tejido óseo. Cabe resaltar que este proyecto hace parte del macro proyecto “Desarrollo y evaluación del patronamiento de nanoestructuras para regeneración ósea sobre materiales oseointegrables como producto de innovación tecnológica de la empresa quirúrgicos especializados S.A” patrocinado por el departamento administrativo Colciencias.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la formación de apatita sobre una superficie biocerámica obtenida por electrodeposición catódica y patronada por litografía láser sobre un sustrato de Ti6Al4V.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Caracterizar la morfología, composición química y cristalinidad de los recubrimientos de fosfatos de calcio desarrollados, por medio de las técnicas SEM-EDS, FT-IR y DRX.
- ❖ Desarrollar estructuras biofuncionalizadas, por medio del patronamiento de la superficie del biocerámico empleando la técnica de litografía láser.
- ❖ Evaluar la adsorción de Ca y la estabilidad, de la superficie patronada en SBF por medio de la técnica de Espectroscopía de Impedancia electroquímica.
- ❖ Estudiar la biomineralización *in vitro* de los recubrimientos, en una solución fisiológica simulada (SBF).

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2. 1 BIOMATERIALES

En general un biomaterial, es todo aquel material biológicamente inerte que puede ser incorporado o implantado en un sistema vivo, con el fin de reemplazar, aumentar o restaurar un tejido u órgano, permaneciendo en contacto permanente o intermitente con fluidos corporales de los sistemas biológicos del organismo ^[1].

Todos los biomateriales producen algún tipo de respuesta al estar en contacto directo con los tejidos orgánicos o medios fisiológicos, de acuerdo a esto, existe un tipo de biomateriales denominados bioactivos, los cuales estimulan la unión del implante al tejido circundante. Estos materiales, se caracterizan por presentar una reactividad química controlada que cambia con el tiempo, produciéndose reacciones químicas en la superficie que favorecen algún proceso biológico ^[1]. Se han realizado múltiples investigaciones sobre la bioactividad de los materiales, encontrándose que esta se debe a su capacidad para inducir la formación de hidroxiapatita (HA) en el entorno fisiológico, ya sea en un fluido corporal simulado (SBF) o en un modelo animal ^[2].

2. 2 CLASIFICACIÓN DE LOS BIOMATERIALES

De acuerdo a la naturaleza del material artificial con el que se fabrica un implante, se puede establecer una clasificación en materiales *cerámicos*, *metálicos*, *poliméricos* o *materiales compuestos*.

2.2.1 BIOMATERIALES METÁLICOS

Los metales fueron los materiales pioneros para reemplazar huesos humanos debido a sus excelentes propiedades mecánicas. Hoy en día, es un material imprescindible, para aquellas aplicaciones clínicas que requieran soportar carga. Dentro de este grupo se encuentra el titanio y sus aleaciones (Ti6Al4V), los cuales son ampliamente utilizados en el campo de los biomateriales debido a la excelente relación entre sus propiedades mecánicas, su resistencia a la corrosión y

excelente biocompatibilidad. Sin embargo, al ser implantados, estos materiales interactúan con el medio biológico y se forma un tejido fibroso que los cubre, lo que produce una débil adhesión entre el implante y el hueso ^[3].

2.2.2 BIOMATERIALES CERÁMICOS (BIOCERÁMICA)

Los materiales biocerámicos tienen la propiedad de favorecer o promover el crecimiento del hueso en la estructura y a su vez, desarrollar una fuerte unión, con una elevada integridad estructural entre las partes tejido-implante ^[4].

2.2.2.1 Fosfatos de calcio

Los fosfatos de calcio han sido ampliamente investigados, puesto que presentan un excelente comportamiento biológico y biocompatible, atribuido principalmente a su estrecha similitud química y cristalina, con el mineral óseo, que le permite tener propiedades osteoconductoras, promoviendo el crecimiento óseo hacia su superficie. Razón por la cual, los fosfatos de calcio, especialmente la hidroxiapatita (HA), son compatibles con la fijación, la diferenciación y la proliferación de las células ^[2]. La HA es un tipo de fosfato de calcio, que es actualmente utilizado como reemplazo de partes pequeñas de hueso, relleno de cavidades en odontología, recubrimiento en superficies metálicas para implantes, entre otros ^[5]. Sin embargo, ésta presenta una desventaja, debido a la biodegradación lenta de sus fases cristalinas y la resistencia mecánica débil, de sus estados amorfos, lo que limita su aplicación en prótesis de tejido óseo especialmente en sitios donde se debe soportar carga ^[6].

2.3 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS DE HA

Existen diversas técnicas para la deposición de hidroxiapatita sobre sustratos metálicos, dependiendo del método utilizado, se pueden obtener recubrimientos con diferente morfología, estequiometría y nivel de cristalinidad. Entre estas técnicas se encuentra la deposición por sputtering de haz de electrones, los métodos sol-gel, la deposición electroforética, deposición electrolítica, los

recubrimientos biomiméticos, el prensado isostáticos en caliente (HIP) y la proyección térmica, entre otros [7].

2.3.1 ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA

Esta técnica es muy utilizada para cubrir superficialmente el sustrato metálico con fosfato de calcio, buscando combinar las propiedades mecánicas del material (Ti6Al4V) con la aptitud de unirse al hueso de las cerámicas bioactivas (como la hidroxiapatita) [7]. La electrodeposición catódica, es un proceso de inmersión basado en el desplazamiento de partículas cargadas dentro de un campo eléctrico, donde las que presentan cargas eléctricas opuestas se atraen por la acción de la corriente eléctrica; para esto, se ioniza la solución creando un campo eléctrico y una diferencia de potencial entre los electrodos, los iones positivos y negativos del electrolito se mueven de tal forma que las partículas del electrolito son atraídas hacia la pieza metálica y de esta manera quedan depositadas formando una capa uniforme sobre toda la superficie del sustrato [8].

2.3.1.1 Variables del proceso de electrodeposición catódica

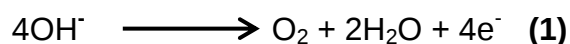
- **Concentración del electrolito precursor:** Esta es de gran importancia porque un incremento en la concentración, proporciona un aumento en la conductividad del electrolito, permitiendo tener un suministro de iones calcio y fosfato en la solución, a medida que transcurre el proceso. Por otro parte, el *pH de la solución*, determina el tipo de fosfato que finalmente se depositará sobre el sustrato [9].
- **Voltaje:** Este permite el transporte iónico tanto del calcio como del fosfato, con el fin de que estos lleguen apropiadamente a la superficie de la aleación, para que se lleven a cabo las reacciones tanto electroquímicas, químicas y de precipitación para la formación del fosfato [9].
- **Temperatura:** Influye en la solubilidad de los reactivos y determina la presencia de mayor o menor cantidad de iones en solución. Un aumento en la temperatura genera una mayor movilidad de iones en la solución, pero esta

debe controlarse para que no exista evaporación de moléculas antes de que lleguen al recubrimiento ^[9].

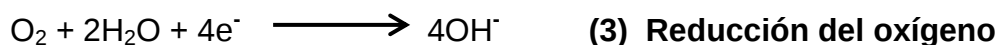
- **Agitación de la solución:** La agitación produce un suministro continuo y uniforme de iones de calcio y fosfato al cátodo, reduciendo el espesor de la película catódica y facilitando así, la llegada a la superficie de los iones necesarios para que se dé la formación de los depósitos de fosfatos de Ca ^[9].

2. 3.1.2 Etapas del proceso de electrodeposición

Básicamente el proceso de electrodeposición se lleva a cabo en tres etapas ^[10], la primera etapa corresponde a la nucleación (formación de los primeros cristales), en la cual en el ánodo se presenta la oxidación del hidroxilo:

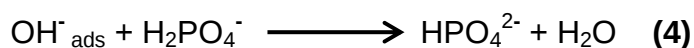


Y sobre el cátodo de Ti6Al4V, ocurren las siguientes reacciones:

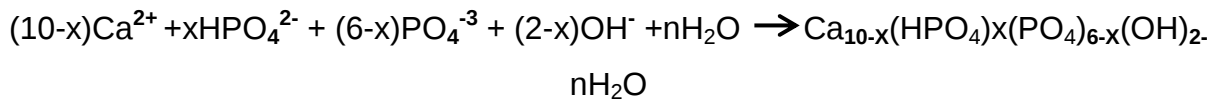


Debido al campo eléctrico los primeros iones que se ubican en la superficie son los Ca^{2+} , seguidos por los iones monovalentes de sodio, siendo importante controlar el pH para que no se precipiten hidróxidos de calcio.

En la segunda etapa, se genera un aumento local del pH producto de la saturación de iones OH^- en el cátodo, que junto con unas condiciones termodinámicas y cinéticas adecuadas, induciría las siguientes reacciones ácido-base; en las que los fosfatos ácidos formados reaccionan con los iones hidróxilo produciendo el ion fosfato, el cual es indispensable para que se produzca la precipitación de la hidroxiapatita:



En la tercera etapa, se producen las reacciones de precipitación de los diferentes tipos de fosfatos electrodepositados sobre la superficie del cátodo, allí los iones fosfatados reaccionan con los iones Ca^{2+} , OH^- y HPO_4^{2-} produciendo los fosfatos de calcio.



2.4 TRATAMIENTOS DE CRISTALIZACIÓN DE LOS BIOCERÁMICOS

En diversas investigaciones, se ha estudiado la influencia de la cristalinidad en la bioactividad de los recubrimientos de fosfato de calcio destinados para la regeneración de tejidos duros. Los resultados de estas, indican que la cristalinidad influye tanto en la resistencia a la polarización como en la bioactividad de los recubrimientos cerámicos, de tal forma que la biodegradabilidad decrece al incrementar la cristalinidad, por lo tanto un exceso de fase amorfa en el recubrimiento del implante puede conducir a una excesiva disolución. Este tratamiento consiste en realizar un calentamiento lento de la muestra en una atmósfera oxidante, hasta llegar a una temperatura preestablecida, se mantiene constante durante un tiempo, para luego proceder a un enfriamiento lento dentro del horno [11,15,33].

2.5 PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER

La producción de superficies estructuradas aumentan las aplicaciones clínicas de los biomateriales, puesto que la respuesta biológica de los materiales está principalmente controlada por la estructura y la química superficial [1]. Por lo tanto, desarrollando en la superficie del implante una “estructura patronada”, se logra una mejor interacción con el tejido circundante y una buena adaptación biológica. Actualmente se han investigado una gran cantidad de técnicas y metodologías de modificación superficial, una de estas es la litografía láser.

La litografía laser se define como un método de modificación de la topografía a pequeñas escalas, patronamiento top down, capaz de estructurar un material a

una escala muy fina, hasta del orden de micrómetros y/o nanómetros. Este es uno de los procesos prometedores, debido a su simplicidad, bajo costo y alta fidelidad de replicación ^[1]. Esta técnica, utiliza un láser altamente energético para inducir cambios específicos en la superficie de los materiales, basándose en que la radiación electromagnética de un haz de láser se absorbe dentro de las primeras capas atómicas para materiales opacos, tales como metales ^[12]. De hecho, la energía aplicada puede ser focalizada sobre la superficie, obteniéndose una penetración térmica controlada y por lo tanto una región afectada térmicamente definida ^[13]. De acuerdo a Kasemo y Gold ^[1], con las modificaciones superficiales que se pueden desarrollar sobre un implante, tales como tamaño y distribución de poros, rugosidad, etc; se logra principalmente controlar la topografía de la superficie, ya que esta tiene efectos relevantes en el comportamiento celular.

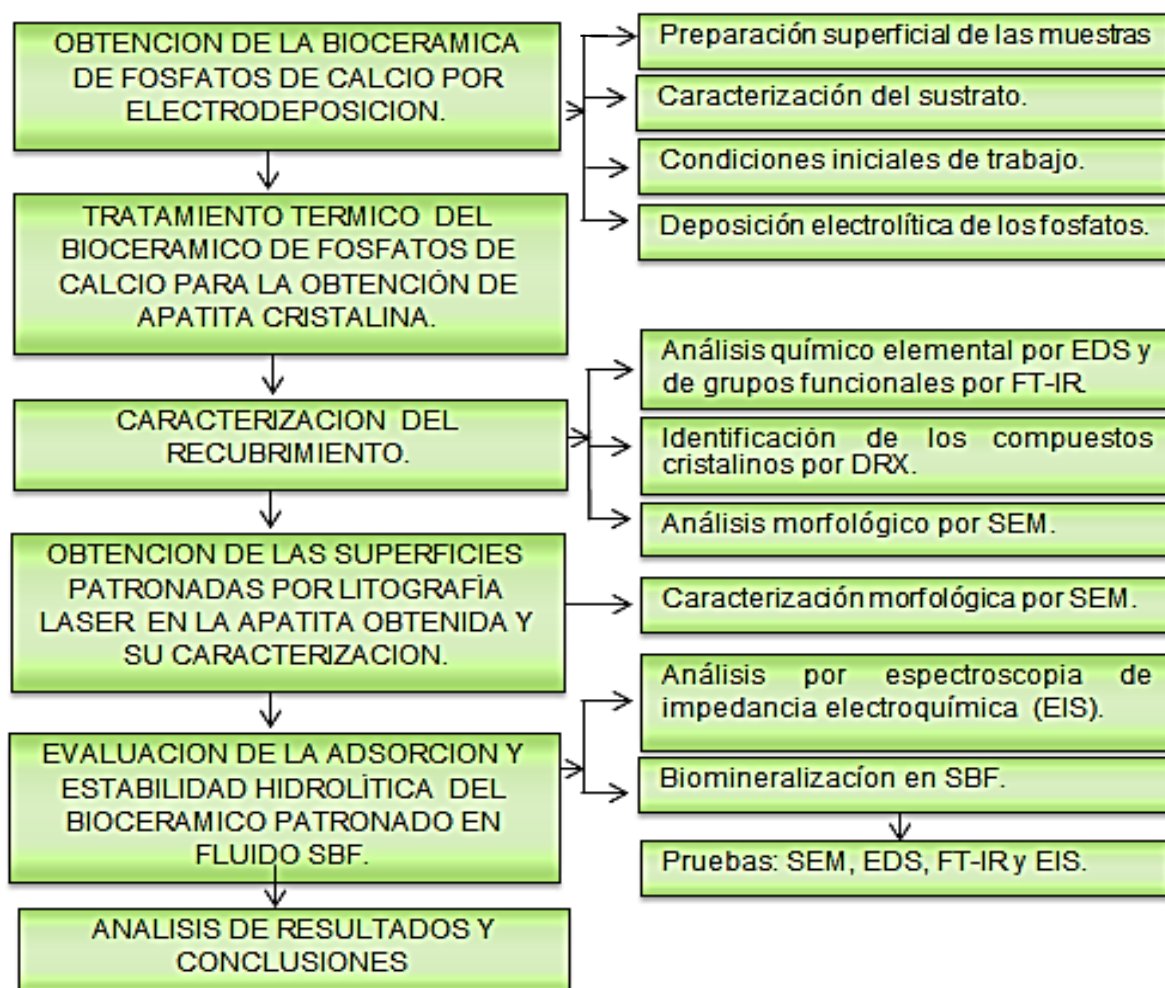
2.6. PROCESO DE ADSORCIÓN DE IONES

La adsorción es un proceso de separación y concentración de uno o más componentes de un sistema sobre otra fase (generalmente sólida), razón por la cual se considera como un fenómeno sub-superficial. Como en otros procesos de este tipo, los componentes se distribuyen selectivamente entre ambas fases; la sustancia que se concentra en la superficie o se adsorbe, se denomina "adsorbato" y la fase sobre la cual se adhiere el adsorbato, se llama "adsorbente". La adsorción desde una disolución a un sólido, puede ser por consecuencia del carácter liofóbico (no afinidad) del soluto respecto al disolvente particular, o debido a una afinidad elevada del soluto por el sólido, o en algunos casos por una acción combinada de estas dos fuerzas. El grado de solubilidad de una sustancia disuelta, es el factor más importante para determinar la intensidad de la primera de las fuerzas impulsoras, puesto que cuanta mayor atracción tiene una sustancia por el disolvente menor posibilidad tiene de trasladarse a la interfase para ser adsorbida ^[14].

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

A continuación se describe la metodología experimental seguida para llevar a cabo el presente trabajo, con el fin de cumplir con los objetivos propuestos (figura 1). Las muestras de la aleación Ti6Al4V utilizadas en esta investigación, fueron suministradas por la empresa Quirúrgicos Especializados S.A, se seleccionaron como variables de estudio la temperatura del tratamiento térmico (550, 650 y 750°C) y la concentración de calcio en el fluido SBF (2.5, 4.5 y 6.5 mmol/L) con un diseño factorial 3^2 , es decir tres niveles de experimentación y dos variables de estudio. A continuación se presenta una descripción de las etapas desarrolladas.

Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología del proyecto de grado.



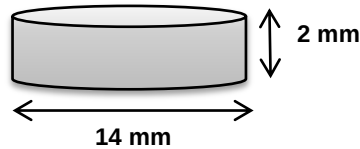
Fuente: Los Autores

3.1 OBTENCIÓN DEL RECUBRIMIENTO DE FOSFATO DE CALCIO POR ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA.

3.1.1 Preparación Superficial de las Muestras.

Debido a que las muestras de la aleación Ti6Al4V fueron recibidas del distribuidor con rayas de mecanizado, fue necesario realizar una adecuada limpieza y preparación superficial, para asegurar una mayor adherencia del recubrimiento.

Figura 2. Dimensiones de las probetas Ti6Al4V usadas en el presente trabajo.



Fuente: Los Autores

3.1.1.1 Desbaste y pulido: En el laboratorio de metalografía de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica de la UIS, se realizó el desbaste manual de las probetas siguiendo la norma ASTM E3-01, utilizando papel lija de carburo de calcio N° 240-600. Posteriormente, por medio de la pulidora universal de 300 Rev/min, se llevó a cabo el pulido empleando paños finos y gruesos junto con pasta abrasiva de alúmina.

3.1.1.2 Decapado Químico y limpieza del sustrato: Las probetas se sumergieron durante 2 minutos aproximadamente, en una solución de ácido nítrico HNO_3 65% (MERCK), al 20% p/p, ácido fluorhídrico HF 37% PANREAC al 2% p/p, en 100 ml de agua destilada. Esto con el fin de remover los óxidos e incrementar la rugosidad de la superficie, favoreciendo la nucleación y precipitación de los depósitos de fosfato de calcio. Buscando verificar que el sustrato correspondía a una aleación Ti6Al4V y que las muestras presentaban las condiciones superficiales apropiadas para la electrodeposición se procedió a realizar la caracterización metalográfica, ataque con solución Kroll (5% HNO_3 y 10% HF, el resto de agua destilada por 15 segundos. Por último se procedió a realizar el desengrase y la limpieza superficial las muestras en el baño ultrasónico

ELMA LC30H, con acetona al 99%(MERCK) durante 15 minutos, según lo establecido en la norma ASTM G1 -01.

3.1.2 Condiciones iniciales de trabajo.

En la tabla 3 se presentan las condiciones de operación utilizadas para realizar la electrodeposición de los fosfatos de calcio. El pH inicial del electrolito se fijó en 10, debido a que este valor de pH está dentro del rango de basicidad donde el PO_4^{-3} es la especie más estable, la cual es necesaria para que se lleve a cabo el proceso de electrodeposición de los fosfatos de calcio.

Tabla 1. Condiciones de operación para la electrodeposición.

CONDICIONES DE OPERACIÓN		
Distancia entre electrodos		1.5 cm
Voltaje		-12 V
pH		10
Agitación		700 rpm
Tiempo		70 minutos
Temperatura		60°C
Concentración del electrolito	NH ₄ H ₂ PO ₄ al 99%(BDH laboratory reagents)	0.025 M
	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O al 98% (MERCK)	0.042 M
Volumen del electrolito		300 ml
Reactivo para ajustar el pH		NaOH 99 % (MERCK)

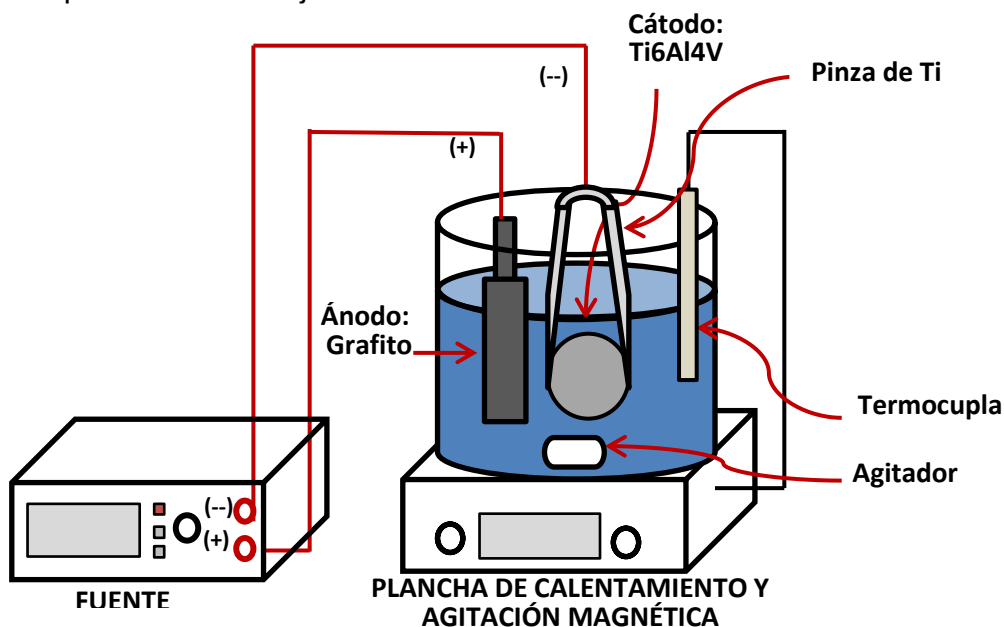
Fuente: Los Autores

3.1.3 Deposición electrolítica de fosfatos.

En el montaje de la celda electroquímica, se utilizó como cátodo, la aleación Ti6Al4V ASTM F136 y como ánodo, se empleó un electrodo de grafito electrolítico de alta pureza en forma de placa, buscando con ello obtener una mejor distribución del campo eléctrico. En la figura 3, se presenta un esquema representativo del montaje final utilizado para realizar la electrodeposición catódica de fosfatos de calcio y en el **Anexo B**, se muestra una fotografía del proceso. Los equipos utilizados fueron: la fuente de energía eléctrica

potenciostática/galvanostática, PROTEK P6-100, la plancha de calentamiento y agitación magnética SCHOTT Instruments D55122, la termocupla W5791NH-HT y el pH-metro modelo HI2221 Hanna Instruments.

Figura 3. Esquema del montaje de la celda electrolítica.



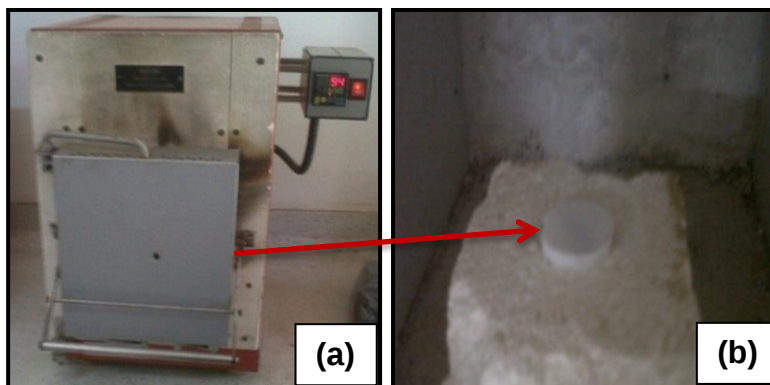
Fuente: Los Autores

3.2 TRATAMIENTO TÉRMICO DEL RECUBRIMIENTO BIOCERÁMICO DE FOSFATOS DE CALCIO PARA LA OBTENCIÓN DE APATITA CRISTALINA.

El tratamiento térmico se realizó con el objetivo de obtener una mayor cristalinidad de los recubrimientos biocerámicos y de esta manera lograr una mayor protección del sistema cuando sea expuesto en SBF. En esta etapa se realizó, un calentamiento lento de las muestras en el horno HERAUS TYP K1700/1 Ubicado en edificio de planta de aceros UIS. T_{máx} 1600 °C, con una velocidad de 0.55°C/seg en una atmósfera oxidante (figura 4.a). Al llegar a la temperatura establecida para el tratamiento (tabla 2), se mantuvo constante durante aproximadamente una hora, tiempo necesario para producir algunos cambios de fase. Finalmente, se

dejaron enfriar las muestras lentamente dentro del horno hasta alcanzar la temperatura ambiente (figura 4.b)

Figura 4. (a) Horno HERAEUS empleado en el tratamiento térmico, **(b)** Probeta electrodepositada luego del enfriamiento.



Fuente: Los Autores

3.3 CARACTERIZACIÓN DEL RECUBRIMIENTO BIOCERÁMICO

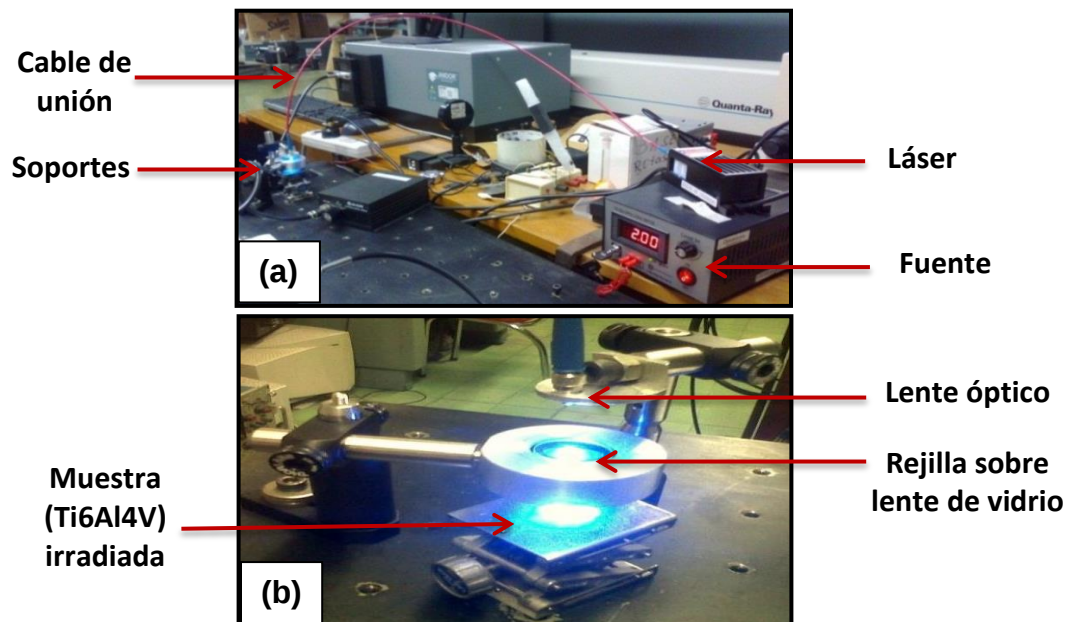
3.3.1 Caracterización química y morfológica de los compuestos presentes en los recubrimientos obtenidos por electrodeposición catódica.

Para establecer el tipo de fosfato obtenido en el recubrimiento biocerámico, se identificaron los elementos presentes, mediante la técnica de espectroscopia de energía dispersa (EDS), adicionalmente para realizar la caracterización morfológica del biocerámico obtenido, y poder observar la forma de los cristales a grandes aumentos se utilizó la técnica de microscopía electrónica de barrido SEM, realizada en el microscopio electrónico QUANTA FEG 650 ubicado en el laboratorio de microscopía de la sede de Guatiguará. Se determinó la cristalinidad de las fases por medio de un análisis de difracción de Rayos X (DRX) en el Difractómetro BRUKER modelo D8 ADVANCE y se llevó a cabo un análisis cualitativo de los tipos de enlace formados entre los compuestos, por medio de la técnica Transformada de Fourier Infrarrojo (FT-IR) con el espectrofotómetro FTIR 8400S, SHIMADZU ubicado en la escuela de Ingeniería Química de la UIS.

3.4 PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER DE LA SUPERFICIE DE APATITA OBTENIDA.

El patronamiento del biocerámico se realizó por la técnica de litografía láser; para lo cual inicialmente se desarrolló el montaje del láser (figura 5.a), utilizando una fuente de poder DPSS LASER de 85-265 V AC, modelo N° LSR PS, un cable de unión láser-montaje, de fibra óptica Thorlabs, los soportes, el óptico del láser y la rejilla. Posteriormente, se estableció el tiempo de exposición por medio de ensayos preliminares; manteniendo constante la corriente de la fuente en 2 A (potencia de $1\mu\text{J}$), y la distancia de separación probeta-óptico en 5 cm. Esta técnica consistió en irradiar toda la superficie de la probeta con un láser azul de una longitud de onda de 473nm – 100MV , el cual se focalizó sobre la muestra en dirección normal y atravesando una rejilla de nitruro de silicio nanobásico $50\mu\text{m}$ – 15nm , SPI SUPPLIES. (Figura 5.b). Esta rejilla permitió que la fuerza del láser no pasara directamente sobre la muestra en un punto fijo, sino que al dividir el haz se obtuvieran patrones aleatorios en ésta.

Figura 5. a) Montaje para patronamiento por litografía láser y **b)** Soportes con lente óptico del láser, rejilla y probeta.



Fuente: Los Autores

3.4.1 Análisis morfológico por microscopia electrónica de barrido SEM.

Al finalizar el patronamiento de las probetas, se realizó la caracterización de la morfología del biocerámico, por medio de la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (*SEM*), con el fin de evaluar la distribución y el tamaño de los huecos obtenidos por litografía laser.

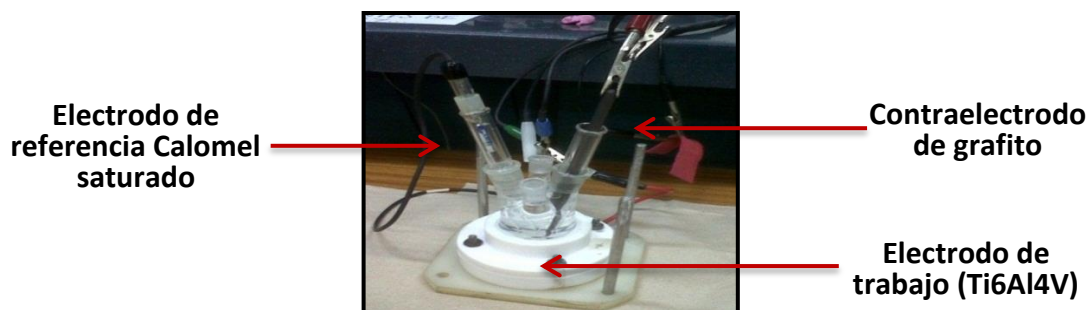
3.5 ADSORCIÓN DE IONES CALCIO A PARTIR DE SBF Y ESTABILIDAD HIDROLÍTICA DEL BIOCERÁMICO PATRONADO.

Para la evaluación electroquímica in vitro de la adsorción de Ca, se utilizó como electrolito de trabajo una solución simulada del fluido corporal (SBF), que consiste en un fluido acelular simulado inorgánico con concentraciones iónicas similares a las existentes en el cuerpo humano (**ANEXO C**). El SBF propuesto por Kokubo se preparó disolviendo a 37°C cantidades apropiadas de los reactivos indicados en el **ANEXO A** en agua desionizada, ajustando el pH a 7.25 usando HCl y tris (hydroxyl–methyl) aminomethane ^[29]. Se realizaron diferentes soluciones SBF variando la concentración inicial de calcio: 2.5, 4.5 y 6.5 mmol/L. Para realizar las pruebas de bioactividad, se realizó la inmersión de las muestras seleccionadas en 40 ml de SBF propuesto por kokubo (2,5mmol/L) por un periodo de 7 días a 37°C, renovando el volumen de la solución cada 2 días.

3.5.1 Análisis por espectroscopia de impedancia electroquímica EIS.

Se utilizó la técnica de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS) para evaluar la adsorción de iones calcio, teniendo como base la norma ASTM G3-99. Los ensayos se realizaron en el potenciostato - galvanostato GAMRY 600, empleando una celda plana de tres electrodos con un volumen de 45ml de SBF, como electrodo de referencia se utilizó un electrodo de calomel saturado y pre calibrado, como contra electrodo se empleó una barra de grafito de ultra-alta pureza y el electrodo de trabajo fue la probeta de Ti6Al4V (figura 6). El electrodo de referencia y el auxiliar, se introdujeron en los capilares Luggin ajustados en su extremo inferior con dos puntas vycor.

Figura 6. Montaje de la celda para realizar la prueba electroquímica EIS.



Fuente: Los autores

En esta etapa se evaluaron las probetas con patronamiento obtenidas a cada temperatura de tratamiento térmico, en las diferentes soluciones de SBF. Las pruebas se ejecutaron en un potenciostato/galvanostato GAMRY 600, trabajando con un rango de frecuencia entre 50.000 a 0.01 Hz, con 10 puntos por década, y 10 mV de corriente alterna, dando un tiempo de 5600 seg en cada prueba, para la estabilización del sistema hasta llegar a un potencial de circuito abierto constante.

3.5.2 Biomineralización y caracterización de las muestras en inmersión

Al finalizar los 7 días de inmersión, se realizó la prueba electroquímica EIS en SBF estándar (2.5 mmol/L) a las muestras sin patronamiento y con patronamiento luego de la inmersión. Posteriormente, se caracterizaron las muestras de inmersión, con las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopia de Energía Dispersa (EDS) y Transformada de Fourier Infrarrojo (FT-IR), con el fin de evaluar el cambio superficial de los recubrimientos por la disolución o precipitación de apatita. Adicionalmente se evaluó la variación de Ca en el SBF luego de 168 horas de inmersión, por medio de la técnica de Espectroscopia de Absorción Atómica (AA), realizada en el espectrofotómetro Buck-Scientific 210 VGP del grupo GIMBA sede guatiguará UIS.

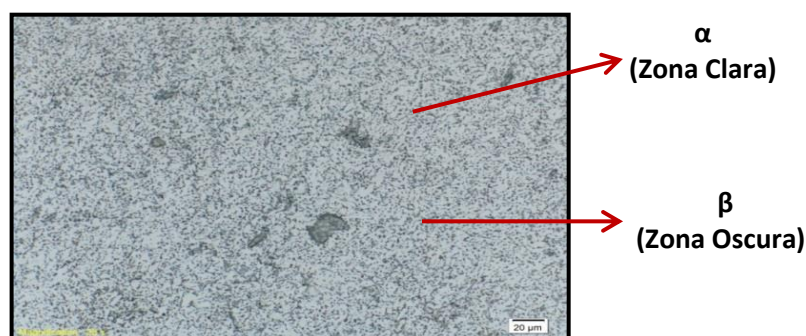
3.5.3 Análisis Estadístico Se utilizó un paquete estadístico de Software especializado, para analizar los resultados obtenidos utilizando como variable respuesta la concentración superficial de Ca en el recubrimiento al estar en contacto con el fluido SBF.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO

Después de la preparación superficial de las probetas (Desbaste, limpieza y decapado químico), se procedió a realizar la caracterización metalográfica (Figura 7) y química del sustrato (figura 8), encontrando una microestructura propia de las aleaciones de titanio ($\alpha + \beta$) [18] y a su vez una superficie rugosa conveniente para la posterior etapa de electrodeposición.

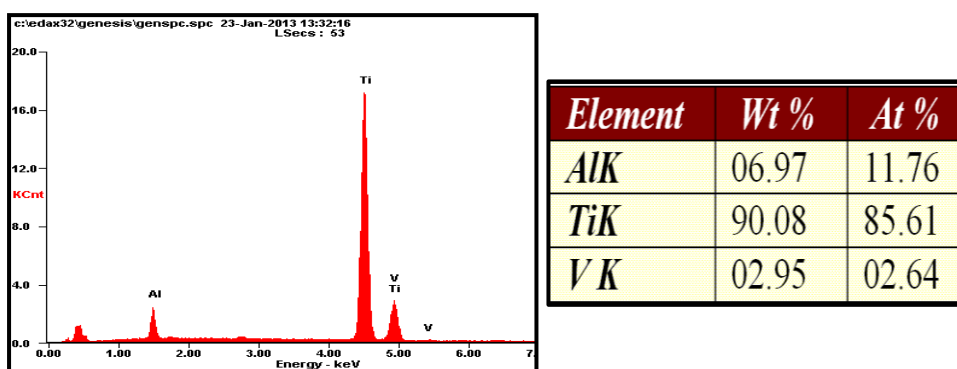
Figura 7. Micrografía a 500X del sustrato Ti6Al4V.



Fuente: Microscopio óptico Olympus BX51.

Adicionalmente se efectuó un análisis de Espectroscopia de Energía Dispersa (EDS), confirmando con el espectro y el porcentaje atómico de cada elemento, que según la norma ASTM F136, el sustrato correspondía a una aleación de Ti6Al4V ELI.

Figura 8. Espectro EDS del sustrato de Ti6Al4V.



Fuente: Espectroscopio de energía dispersa.

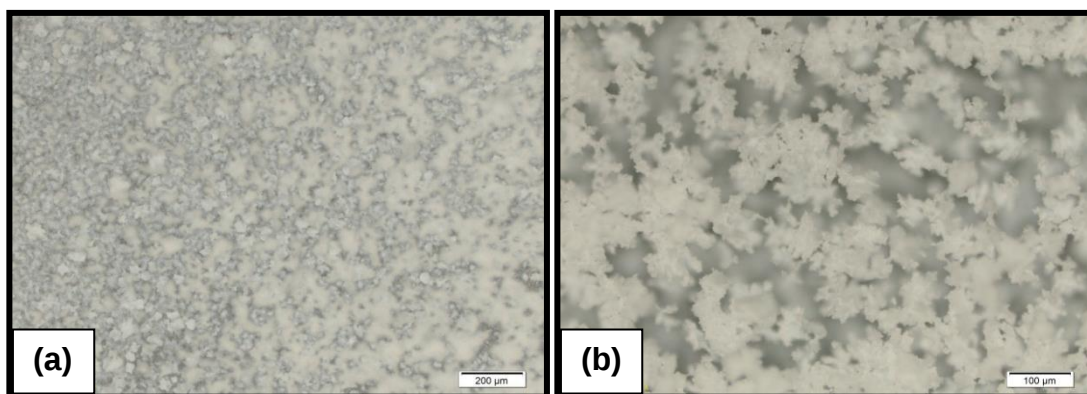
4.2 OBTENCIÓN DEL RECUBRIMIENTO DE FOSFATO DE CALCIO POR ELECTRODEPOSICIÓN CATÓDICA.

4.2.1 Caracterización química y morfológica de los compuestos presentes en los recubrimientos obtenidos por electrodeposición catódica.

Después de obtener los recubrimientos por electrodeposición catódica, y de haber realizado el tratamiento térmico a cada una de las temperaturas establecidas en el diseño experimental, se evaluó la morfología y la composición química de los recubrimientos. Los resultados obtenidos se muestran a continuación.

4.2.1.1 Microscopía Óptica: En la figura 9 se presentan las micrografías a 50 y 100 aumentos, de los recubrimientos depositados sobre la aleación de Ti6Al4V, donde se observaron cristales uniformemente distribuidos sobre la superficie de la aleación, que según resultados obtenidos por otros estudios ^[15], corresponden a fosfatos de calcio.

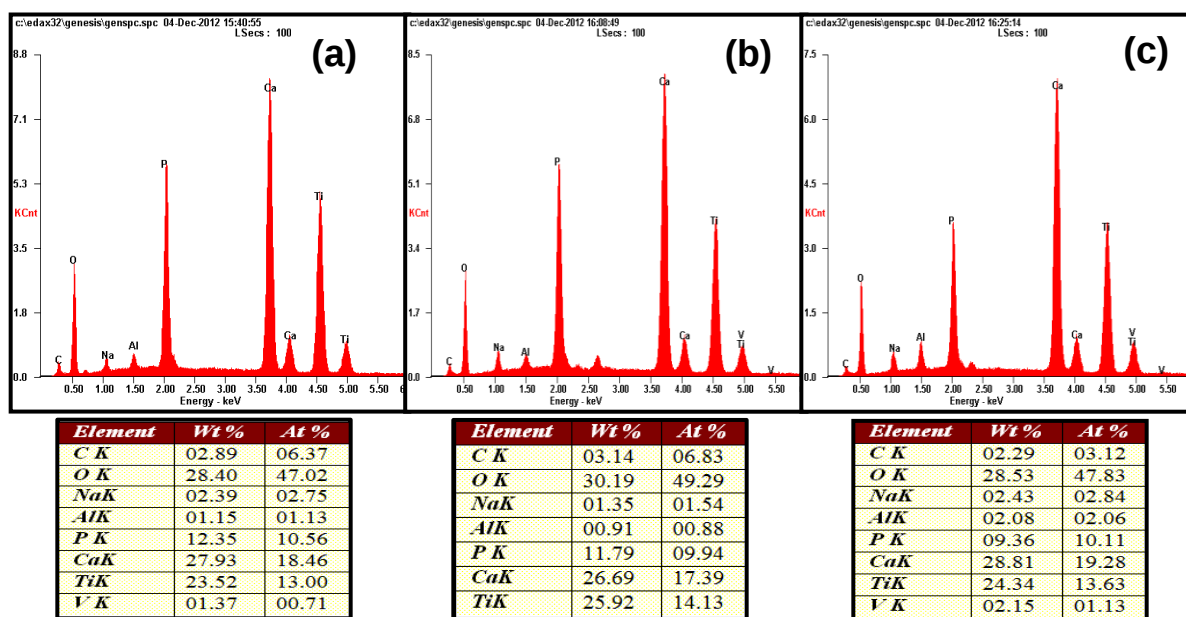
Figura 9. Micrografías ópticas del recubrimiento depositado sobre la aleación Ti6Al4V, **(a)** 50X **(b)** 100X.



Fuente: Microscopio óptico Olympus

4.2.1.2 Análisis por espectroscopia de energía dispersa (EDS): En la figura 10 se enseñan los espectros EDS obtenidos por los recubrimientos electrodepositados sobre Ti6Al4V y tratados a diferentes temperaturas.

Figura 10. Espectros EDS de los recubrimientos tratados térmicamente (a) T=550°C, (b) T=650°C y (c) T=750°C.



Fuente: Espectroscopio de energía dispersa.

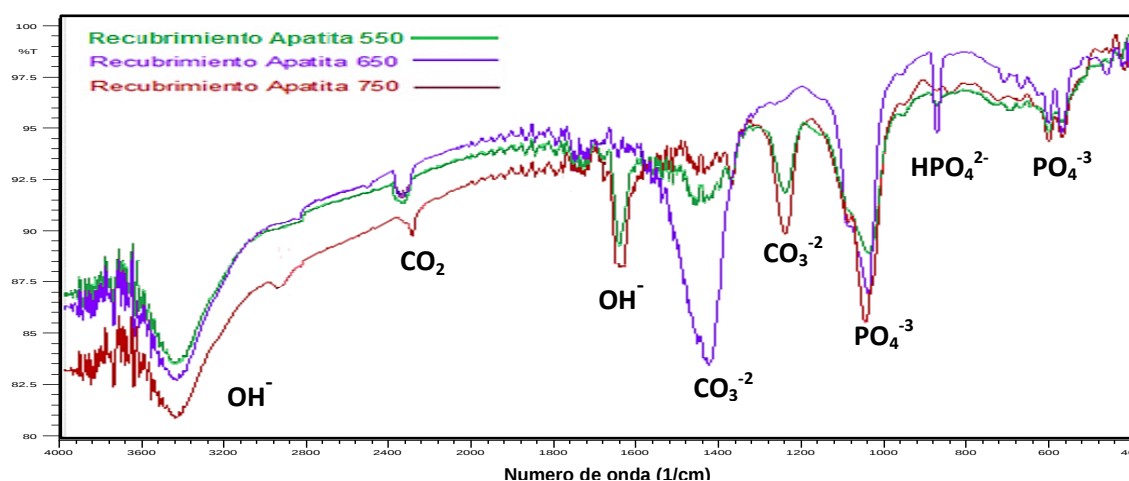
En los espectros EDS obtenidos por las muestras a las tres temperaturas establecidas, se encontró la presencia de Ti, Al y V, elementos que concuerdan con la composición química del sustrato metálico. También se presentaron pequeños picos de Na, los cuales se pueden asociar al producto formado por el hidróxido de sodio adicionado al electrolito para ajustar el pH a un valor básico. Adicionalmente se evidenciaron picos significativos de Ca, P y O, los cuales pueden estar formando un compuesto de fosfato de calcio.

A partir de los porcentajes atómicos obtenidos en el análisis elemental del EDS, se calculó la relación Ca/P de los recubrimientos, encontrando una relación aprox. de 1,75 para las de 550 y 650°C, y de 1,95 para la de 750°C. Estas relaciones son muy cercanas a la que presenta la hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) de 1,67; la cual, según la revisión bibliográfica ^[19], puede precipitar y obtenerse al pH utilizado en la electrodeposición (**Anexo D**). Sin embargo, las técnicas FT-IR y

DRX permitieron comprobar la formación de compuestos de fosfatos de calcio en los recubrimientos.

4.2.1.3 Análisis FT-IR: La técnica FT-IR se llevó a cabo con el fin de determinar cualitativamente los grupos funcionales presentes en el recubrimiento y así poder verificar que el calcio y el fósforo obtenidos por el análisis EDS forman enlaces tipo Fosfato. En la figura 11 se presenta la superposición de los espectros de FT-IR de los recubrimientos obtenidos a diferente temperatura de tratamiento térmico 550, 650 y 750°C.

Figura 11. Espectros de FT-IR de los recubrimientos tratados a 550, 650 y 750°C.



Fuente: Espectrofotómetro FT-IR 8400S SHIMADZU

Los espectros obtenidos se compararon con las bandas de los grupos funcionales que se presentan en un espectro FT-IR de una hidroxiapatita típica [5]. En las tres muestras tratadas a diferentes temperaturas, se encontraron bandas características de absorción del estiramiento P-O ($1150\text{--}950\text{cm}^{-1}$ y $610\text{--}560\text{cm}^{-1}$) que corresponden a la estructura del grupo PO_4^{-3} . La primera banda corresponde a las vibraciones del estiramiento de los enlaces P-O, similar a la encontrada en la estructura de la HA y la segunda a la deformación de las vibraciones de estos enlaces [20]. Dado que la intensidad de estos picos fue ligeramente mayor en la muestra obtenida a 750°C, se puede decir que a esta temperatura fue mayor la

presencia del grupo fosfato en el recubrimiento comprobándose lo obtenido en el EDS. Un pequeño pico a 870 cm^{-1} se atribuyó a la presencia del grupo HPO_4^{2-} en la red cristalina, asociándose a la disociación parcial del precursor $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ utilizado durante el proceso de electrodeposición.

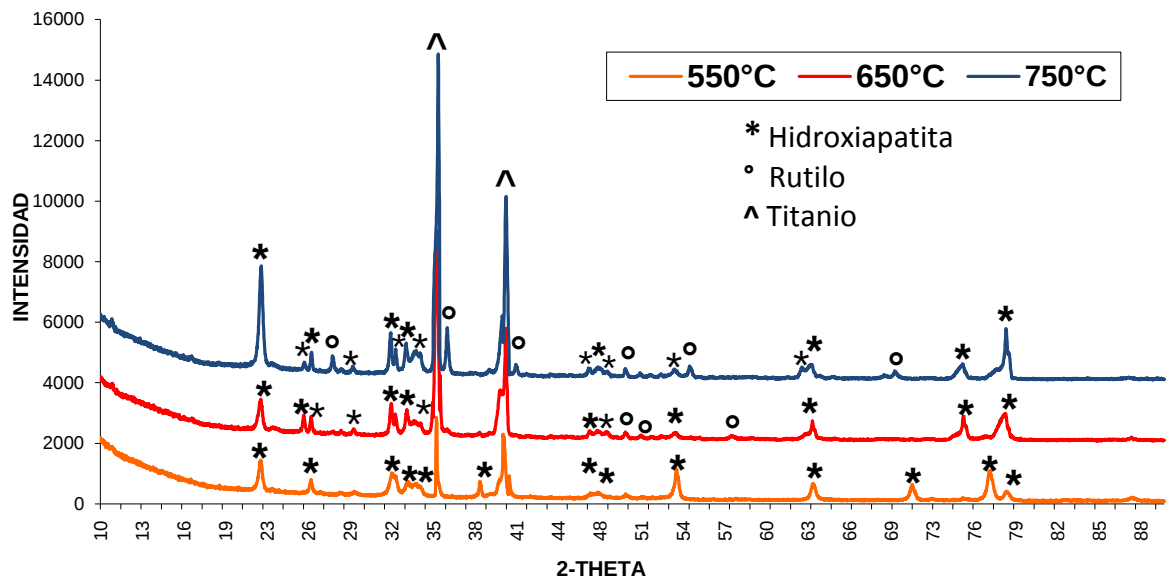
Adicionalmente se observaron bandas de absorción de los grupos carbonatos CO_3^{2-} a $1400 - 1570\text{ cm}^{-1}$ y un pico adicional a 1250 cm^{-1} para las probetas de 550 y 750°C ; la presencia de estos representa una posible carbonatación de la fase de apatita debido a la reacción de los iones OH^- con el CO_2 del aire [5]. Se encontró además, un pico a 2350 cm^{-1} asociado a la absorción de CO_2 atmosférico.

Finalmente, en el espectro se identificaron picos alrededor de 3500 cm^{-1} y 1650 cm^{-1} que corresponden al estiramiento O-H de la estructura de la HA [21], estos fueron más pronunciados en los recubrimientos tratados a 750°C . A partir del análisis realizado, se puede confirmar la deposición y formación de compuestos cristalinos de fosfatos de calcio sobre los sustratos de Ti6Al4V.

4.2.1.4 Análisis por Difracción de Rayos X (DRX): Con esta técnica se determinó el tipo de compuesto cristalino presente en los recubrimientos y la influencia del tratamiento térmico en la cristalinidad de los mismos. Se realizó un análisis cualitativo de las fases cristalinas en los depósitos, comparando el perfil obtenido con las difracciones reportadas en la base de datos PDF-2 del Internacional Center for Diffraction Data. En el **Anexo E** se muestran las fases identificadas en los recubrimientos a cada temperatura de tratamiento y en la figura 12, se presentan los perfiles de difracción correspondientes.

En los espectros DRX, se observaron picos representativos de hidroxiapatita, confirmando que los depósitos obtenidos sobre los sustratos de Ti6Al4V corresponden a fosfatos de calcio de características cristalinas. En este orden de ideas se corrobora que las relaciones Ca/P obtenidas por la técnica EDS, pertenecen al rango de la hidroxiapatita caracterizada por DRX.

Figura 12. Superposición de los perfiles de difracción de los recubrimientos tratados a 550, 650 y 750°C.



Fuente: Difractómetro de Rayos X BRUKER D8 ADVANCE

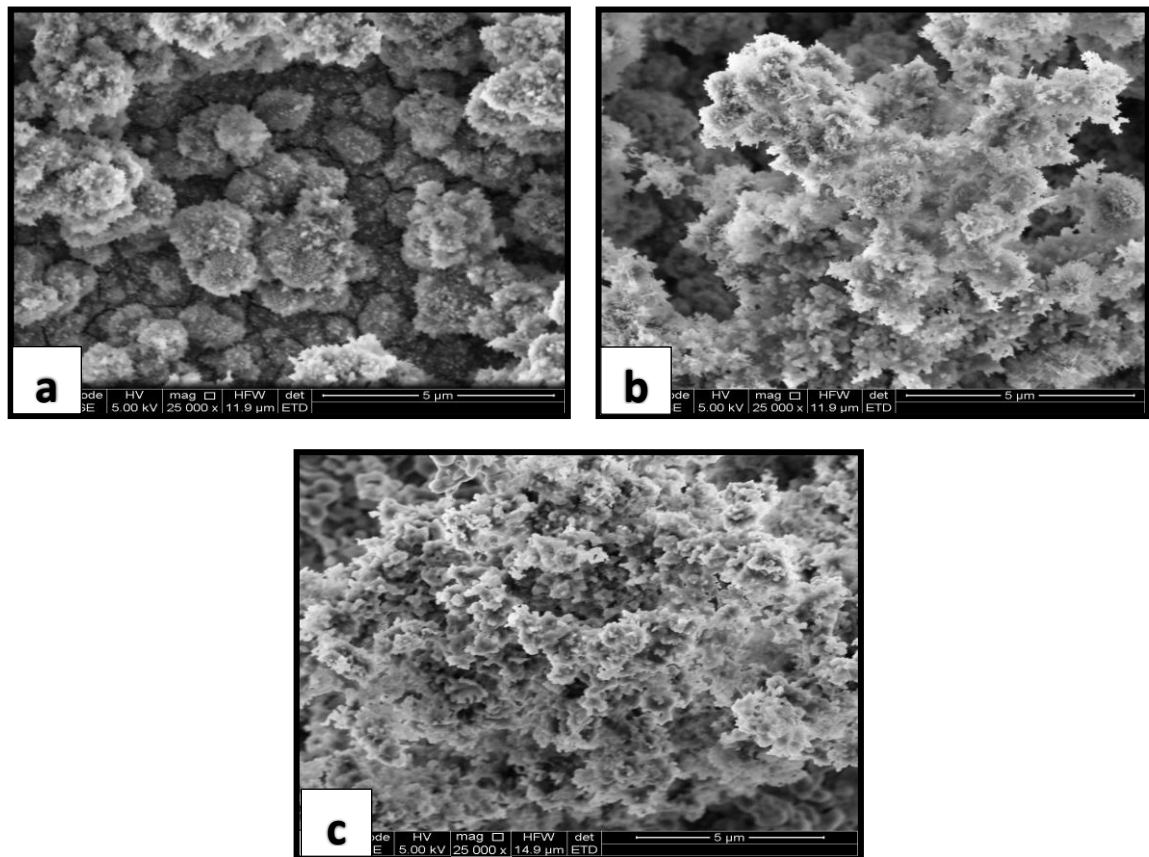
Por otra parte, en las probetas tratadas a 650 y 750°C, se encontraron señales que corresponden a un tipo de óxido de titanio (rutilo). Al aumentar la temperatura del tratamiento térmico, aparecieron nuevos picos característicos de esta fase, lo cual indica que a mayor temperatura el sustrato presentó una mayor oxidación, y se favoreció la cristalización del óxido formado TiO_2 . La presencia de esta fase es favorable, debido a que permite mejorar las propiedades anticorrosivas de la superficie del implante, favorece la adherencia de los recubrimientos y además es biocompatible [3].

El grado de cristalinidad de los recubrimientos se comparó, utilizando el criterio del ancho del pico a la altura media de la curva de difracción, en el cual, a menor ancho mayor es la cristalinidad de la fase [5]. De acuerdo a esto, analizando el ancho y la altura de los picos en los perfiles de difracción, se puede observar la evolución de la cristalinidad de la hidroxiapatita y del rutilo con el tratamiento térmico, encontrando que al aumentar la temperatura del tratamiento térmico, se produjo una mayor cristalización de las fases (HA y TiO_2), lo cual se evidencio en

que el ancho de los picos de hidroxiapatita que presentaron la mayor intensidad ($2\theta = 22, 320$ y 22°) disminuyeron con la temperatura de cristalización 550, 650 y 750°C , encontrando a 750°C los picos más agudos y menos amplios que indican que a esta temperatura en el recubrimiento se obtuvo la hidroxiapatita mas cristalina.

4.2.1.5 Caracterización morfológica por microscopia electrónica de barrido (SEM): La morfología de los recubrimientos biocerámicos electrodepositados se analizó por microscopia electrónica de barrido. En la figura 13 se presentan las micrografías de SEM obtenidas a 25.000 aumentos.

Figura 13. Micrografías SEM de los recubrimientos tratados térmicamente (a) $T=550^\circ\text{C}$, (b) $T= 650^\circ\text{C}$ y (c) $T= 750^\circ\text{C}$ a 25.000X.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650.

Al observar las micrografías de los recubrimientos de fosfatos de calcio obtenidos por electrodeposición catódica, y tratados a 550, 650 y 750°C, se encontró una estructura de aglomerados con morfología similar a la de la hidroxiapatita, según lo reportado en otros estudios ^[22]. La precipitación de los cristales de HA se dio sobre toda la superficie del sustrato metálico, sugiriendo esto, que las condiciones de operación utilizadas para la electrodeposición fueron las adecuadas.

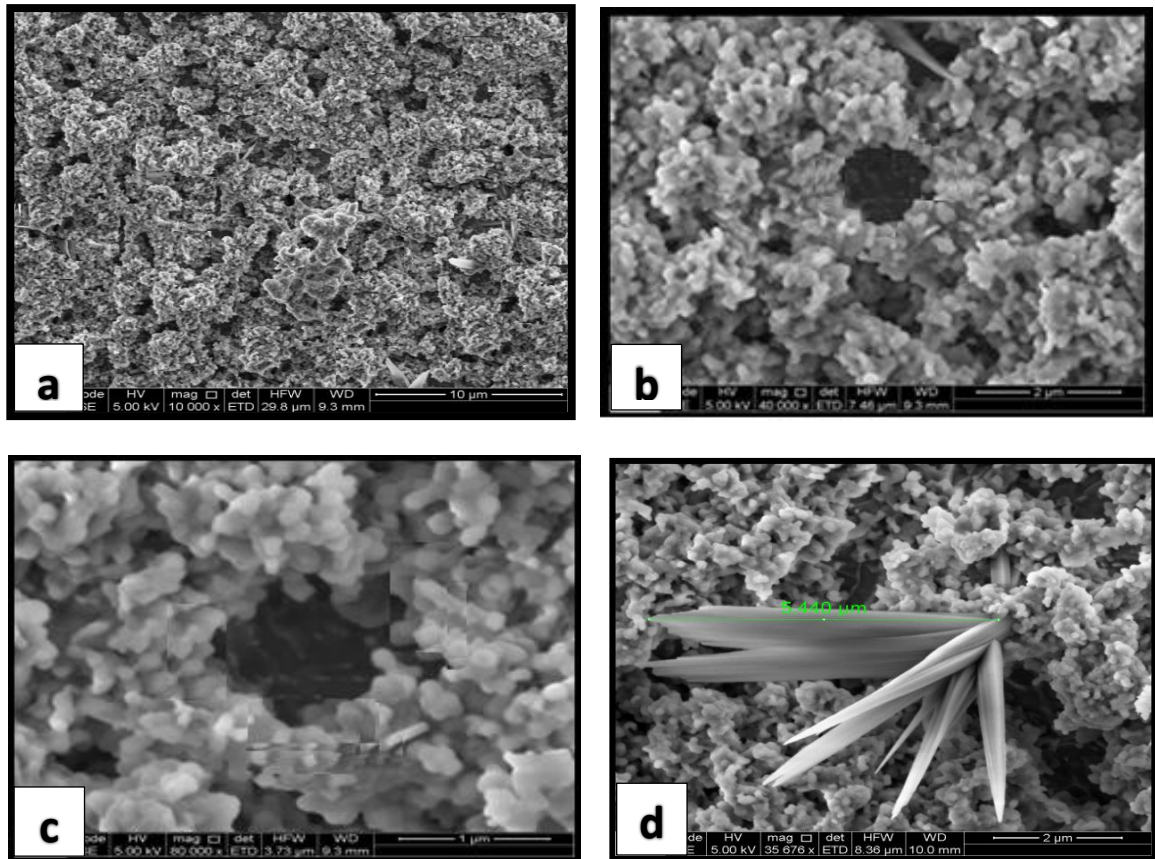
Al variar la temperatura de cristalización de los recubrimientos, se observó que los aglomerados de apatita cambiaron en cuanto a forma, tamaño y compacidad: a 550°C (figura 14.a), se presentaron agregados globulares de forma más definida, con diámetros promedios entre 1 y 3 μm . A 650°C (figura 13.b), se formaron aglomerados irregulares de un tamaño aproximado de 7 μm . A 750°C (figura 14.b), se obtuvo una estructura que se asemeja a una esponja con un tamaño promedio entre 9 y 11 μm . Este cambio en la morfología de los recubrimientos, indica que al aumentar la temperatura del tratamiento térmico, los gránulos de apatita crecen formando una estructura más compacta debido al proceso de cristalización que presenta la hidroxiapatita, lo cual corrobora lo encontrado en el análisis por DRX.

4.3 PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LÁSER DE LA SUPERFICIE DE HIDROXIAPATITA OBTENIDA Y CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA.

4.3.1 Análisis morfológico por microscopia electrónica de barrido (SEM):

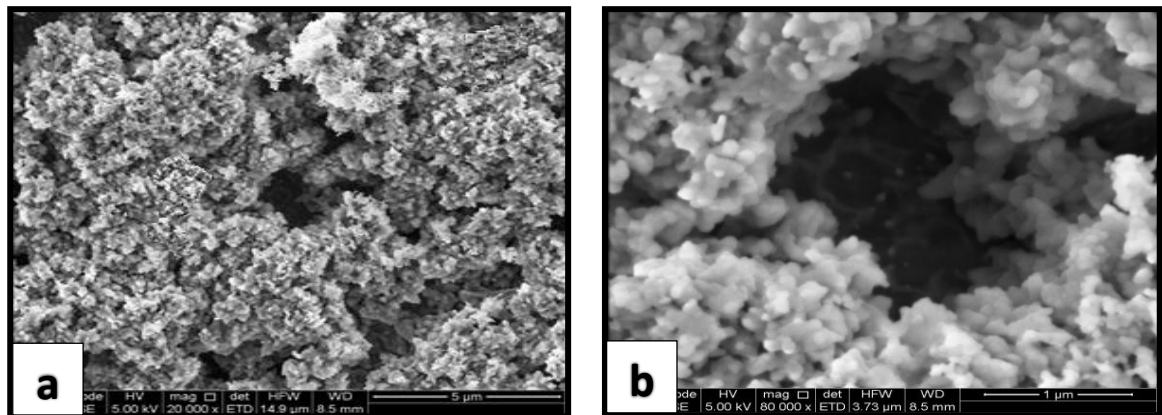
Luego de realizar el patronamiento de los recubrimientos, se evaluó la morfología de la superficie y la distribución de los patrones obtenidos por la técnica de litografía láser. En la figura 14, 15 y 16 se observan las micrografías de los recubrimientos patronados, tratados a 550, 650 y 750°C, respectivamente.

Figura 14. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados tratados a 550°C, **(a)** 10.000 X, **(b)** 40.000 X, **(c)** 80.000 X y **(d)** cristal a 35.676 X.



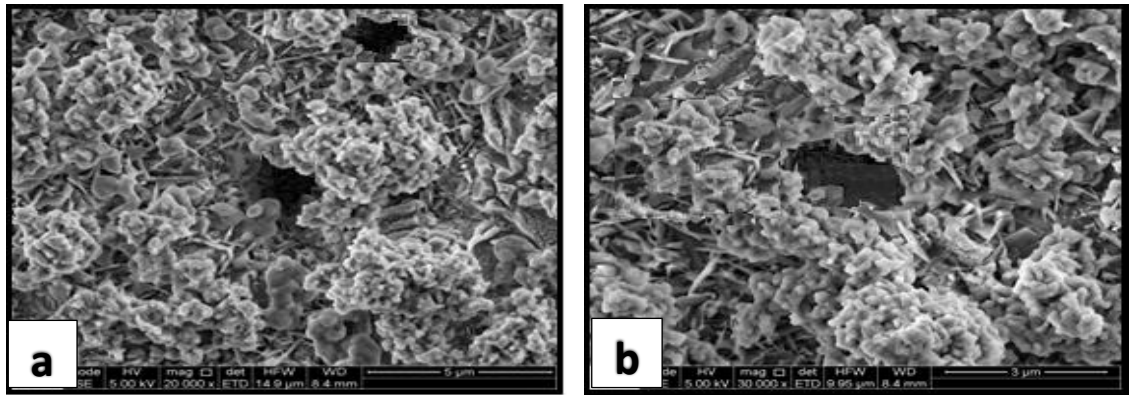
Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650

Figura 15. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados tratados a 650°C, **(a)** 20.000 X y **(b)** 80.000 X.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650

Figura 16. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados tratados a 750°C, (a) 20.000 X y (b) 30.000 X.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650

Al observar las micrografías de los recubrimientos patronados por litografía láser, se encontraron huecos irregulares distribuidos aleatoriamente sobre la superficie, de un tamaño promedio entre 1,073 y 2,364 µm. Debido a que los recubrimientos de apatita obtenidos fueron porosos, el contorno de los patrones no fue definido, sino por el contrario su forma fue irregular. Adicionalmente, el uso de la rejilla en el desarrollo del patronamiento por litografía láser, para dispersar el haz del láser y poder así irradiar toda la superficie de la muestra, no fue un método efectivo, puesto que no se produjo una distribución organizada de los huecos.

A menores aumentos se observó el efecto de la contracción térmica producida por la eliminación de agua y las transformaciones alotrópicas a lugar, lo cual definió formas acanaladas producidas por este agrietamiento térmico. A mayores aumentos, se encontró en los sitios localizados del patronamiento, un efecto del haz de láser dentro de los huecos producto de la fusión producida por las altas temperaturas de este proceso ^[13].

Por otra parte, al comparar las micrografías antes y después del patronamiento a cada temperatura de cristalización, se evidenciaron cambios morfológicos en los aglomerados de apatita, encontrando que a medida que aumentaba la temperatura del tratamiento térmico, después del patronamiento, la morfología de los aglomerados tendía a ser más acicular. A 550°C, aparecieron ciertos

agregados laminares de un tamaño promedio de 5,440 μm (figura 14.d), con una morfología similar a cristales de hidroxiapatita obtenidos en otros estudios por el uso del láser [23]. Esto pudo haber ocurrido, por el efecto de la focalización del haz del láser durante dos horas en puntos localizados de la superficie, lo cual generó una concentración de calor que produjo cambios microestructurales y morfológicos en el recubrimiento.

4.4 ADSORCIÓN DE IONES CALCIO A PARTIR DE SBF Y ESTABILIDAD HIDROLÍTICA DEL BIOCERÁMICO PATRONADO.

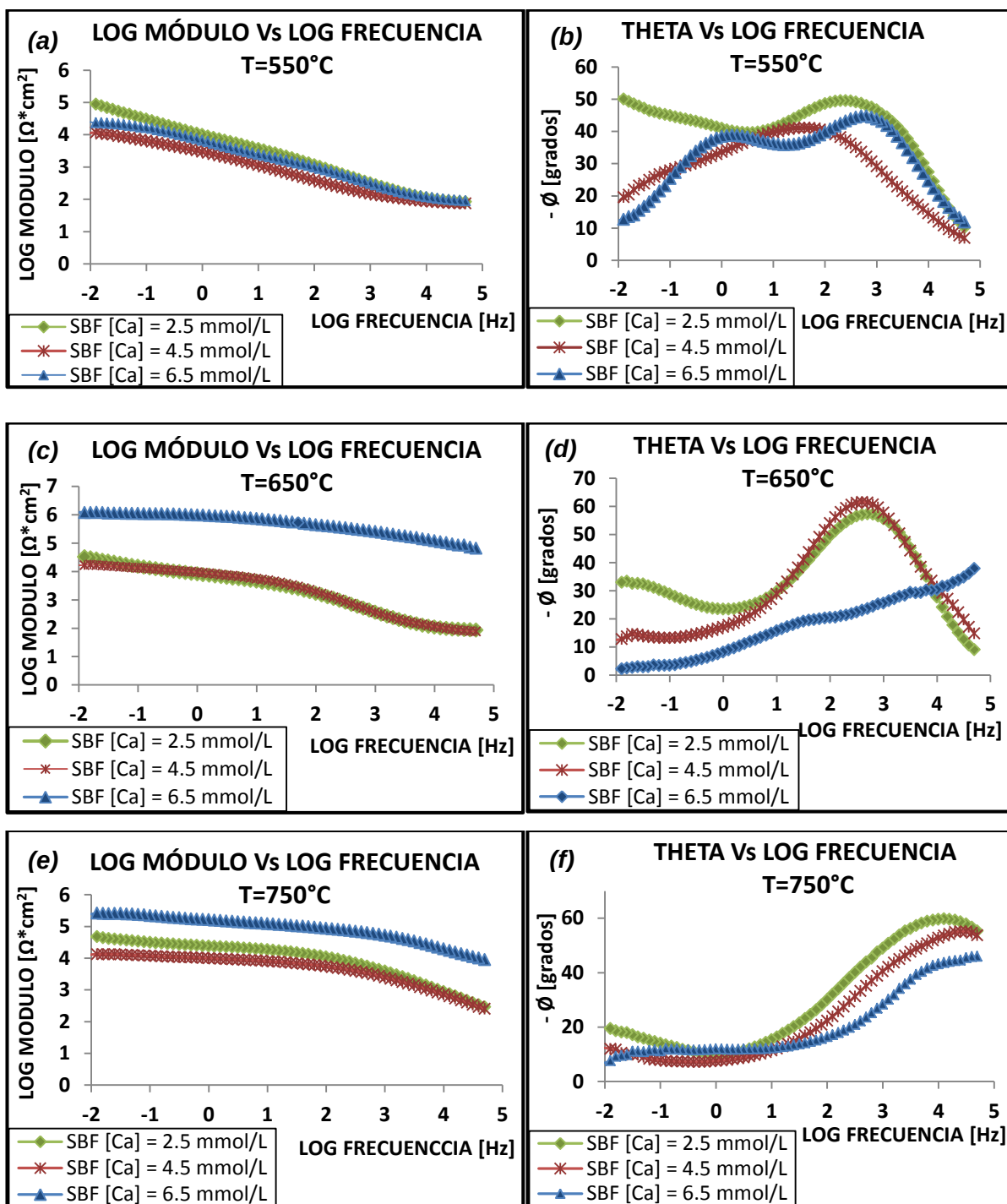
4.4.1 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS)

Con esta técnica electroquímica, se identificó y caracterizó el proceso de adsorción, analizando los fenómenos que ocurrieron en la doble capa electroquímica al estar las muestras sumergidas en solución SBF hasta un tiempo comprobable de estabilización.

4.4.1.1 Diagramas de Bode: Ángulo de fase ($\emptyset$) y módulo de impedancia ($|Z|$), y Diagramas de Nyquist: Impedancia imaginaria (Z'') Vs real (Z'). En la figura 17 y 18 se presentan los diagramas de Bode y los diagramas de Nyquist respectivamente, obtenidos por los recubrimientos tratados a 550, 650 y 750°C, con patronamiento láser, evaluados en SBF a diferentes concentraciones de Ca.

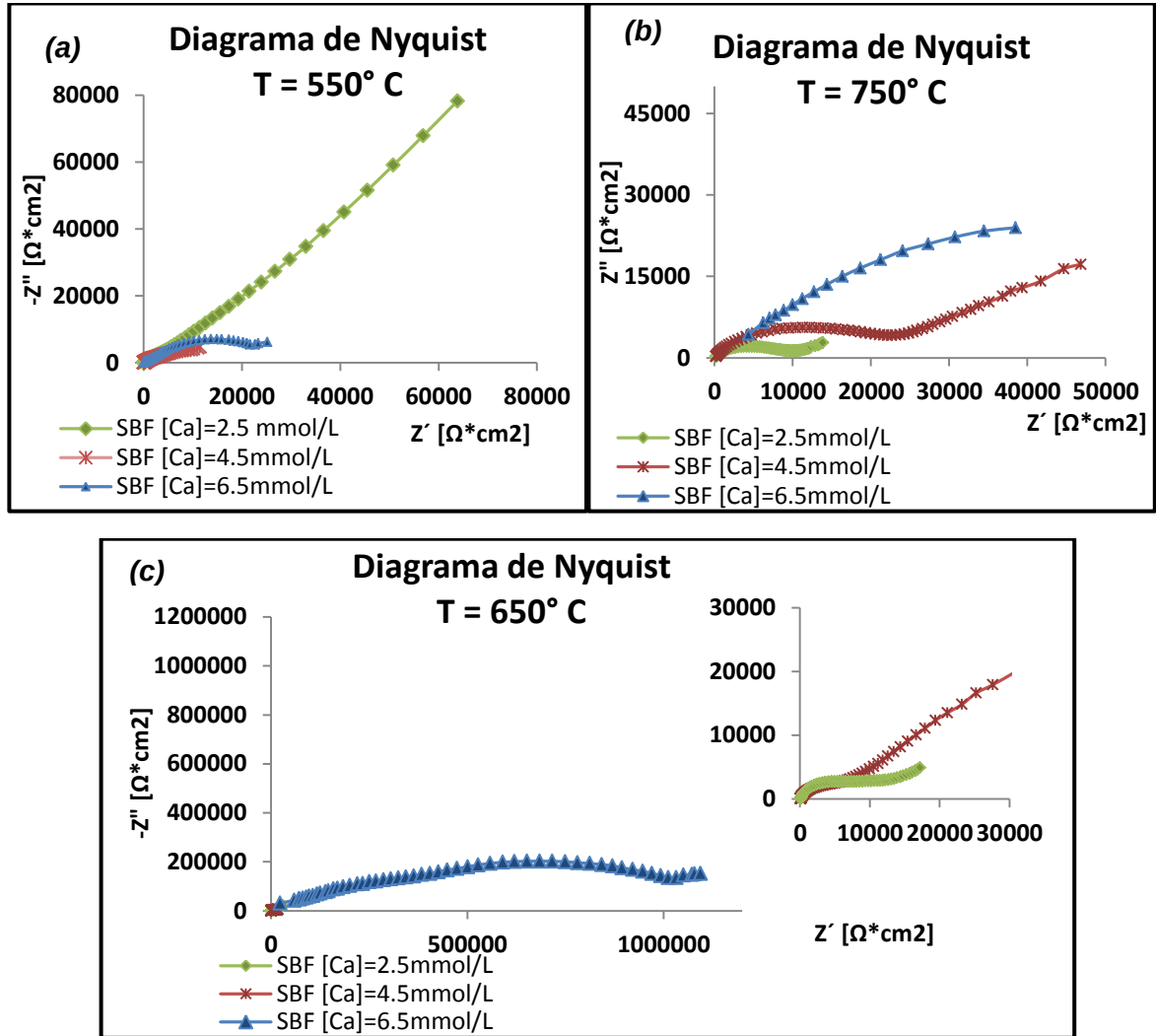
Para el análisis de los diagramas de bode (figura 17), se dividieron los espectros obtenidos por cada temperatura de cristalización, en dos regiones de frecuencias: altas [$10^5 - 10^2$], y bajas [$10^1 - 10^{-2}$], en donde se identificaron dos constantes de tiempo atribuidas a los cambios de pendiente observados en las figuras 17 (a, c, e). Cada constante de tiempo, está relacionada con los procesos que se producen en las interfases del sistema estudiado; en la región de altas a medias frecuencias, se encuentran los procesos que se llevan a cabo en la interfase biocerámico-electrolito, y en la de media a baja frecuencia se detectan los procesos de transferencia de carga y transferencia de masa que tienen lugar en la interfase sustrato-recubrimiento.

Figura 17. Diagrama de Bode obtenidos a diferente [Ca] de SBF, recubrimientos tratados térmicamente **(a)** y **(b)** T=550°C, **(c)** y **(d)** T=650°C, **(e)** y **(f)** T=750°C.



[Fuente: Potenciostato GAMRY 600]

Figura 18. Diagramas de Nyquist de las muestras a diferentes concentraciones de Ca en SBF (2.5, 4.5 y 6.5 mmol/L), tratadas térmicamente a, **(a)** 550°C **(b)** 750°C y **(c)** 650°C.



Fuente: Potenciostato GAMRY 600

En los diagramas de bode, los bajos ángulos de fase obtenidos (-60 a -40°) en el rango de altas frecuencias indican una superficie porosa, que se debe a que los recubrimientos de hidroxiapatita obtenidos por electrodeposición catódica, se caracterizan por presentar una gran cantidad de vacancias microestructurales [27]. De forma general, se encontró que a una temperatura de 550°C, se presentaron a medias frecuencias los menores ángulos de fase alrededor de 45° , los cuales se

asocian con la tendencia difusional del oxígeno a través de las irregularidades superficiales del recubrimiento. Por el contrario, en los recubrimientos tratados a 650 y 750°C los ángulos del diagrama de bode indican que ya no prevalecen los procesos de difusión, por el contrario se presenta un cambio de comportamiento resistivo-capacitivo atribuido a una estructura más compacta ^[24].

Las muestras tratadas a 650 y 750°C con una concentración de Ca de 6.5mmol/L en el SBF, presentaron la mayor resistencia del electrolito al ubicarse por encima de las otras concentraciones (2,5 y 4,5 mmol/L) en la gráfica de módulo de impedancia; la interacción entre el recubrimiento y el fluido fue menor a esta concentración, lo cual se ve reflejado en el diagrama de Nyquist. Esto ocurrió porque al aumentar la concentración de iones disueltos de calcio en el SBF, la transferencia de carga entre la solución y el biocerámico es menor debido a que el exceso de iones dificulta la conducción de la corriente y por lo tanto las interacciones electrostáticas ^[24].

En los diagramas de Nyquist (figura 18), para las concentraciones de calcio de 2.5 y 4.5mmol/L, se evidenció que a altas frecuencias el tamaño de los semicírculos disminuyó con el aumento de la temperatura del tratamiento térmico del recubrimiento. El mejor comportamiento se encontró en la muestra tratada a 750°C con una concentración de 2.5 mmol/L, la cual presentó la mayor interacción con el fluido y la mejor reactividad superficial. Esto demuestra que una mayor cristalinidad de la HA presente en el recubrimiento, mejora las propiedades de la superficie patronada favoreciendo la formación de apatita.

En el rango de alta y media frecuencia se observó un semicírculo capacitivo que corresponde a una de las dos constante de tiempo presentes en el sistema (circuito RC en paralelo) ^[25]. Luego de este comportamiento, a bajas frecuencias se presentó una tendencia lineal que indica un proceso difusional ^[26], este fue mucho más pronunciado para la muestra de 550°C a 2.5 mmol/L, donde se obtuvieron los mayores valores de la componente imaginaria de impedancia

($90000\Omega\cdot\text{cm}^2$). En general los procesos de difusión encontrados en los diagramas, se pueden asociar a dos fenómenos, la difusión de oxígeno a través de las irregularidades superficiales del recubrimiento, o un proceso difusional cerrado que se da por el intercambio iónico bidireccional dentro del recubrimiento [27].

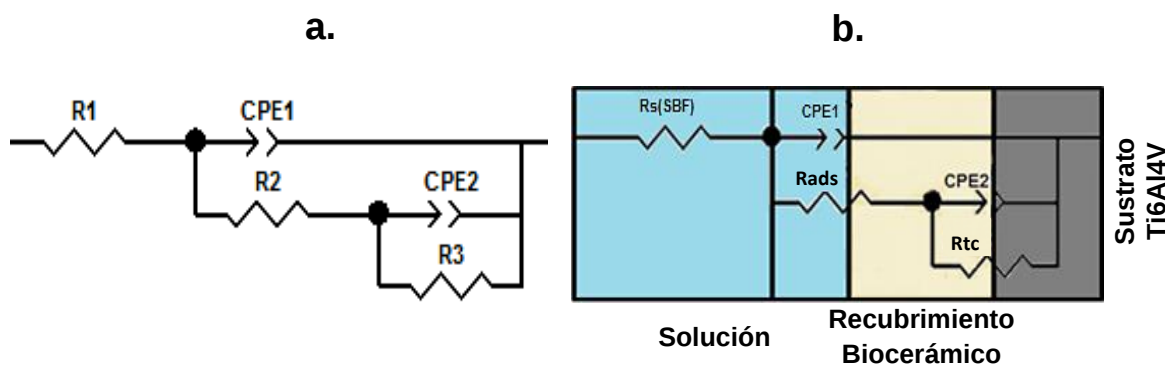
Dado que en los diagramas de Bode, se presentó un cambio en la pendiente de la gráfica $\text{Log}(|Z|)$ Vs $\log(f)$ y se encontró que los valores de ángulo de fase en el rango de medias frecuencias son significativamente inferiores a -90° ; se logró determinar que el sistema no se comportó como una combinación de elementos eléctricos puros por lo cual se debe utilizar dos subcircuitos eléctricos equivalentes con CPE. El uso de CPE es necesario debido a una distribución de los tiempos de relajación como consecuencia de las heterogeneidades presentes a nivel microscópico en la interfase [31]. Es posible representar, el fenómeno de adsorción mediante un modelo de circuito equivalente en paralelo como se muestra en la figura 19, donde los valores de los elementos resistivos y capacitivos que lo constituyen se presentan en el **Anexo G**.

4.4.1.2 Circuito equivalente del proceso de adsorción. De acuerdo a lo anteriormente dicho y a la bibliografía consultada, se propuso como modelo de circuito equivalente el que mejor se ajustó al sistema estudiado (figura 19), mostrando dos constantes de tiempo ($\tau = CR$). Este permite describir las propiedades eléctricas de las fases formadas entre el sustrato, recubrimiento patronado y electrolito, al estar en contacto con la solución SBF a diferentes concentraciones de Ca.

Los valores de cada uno de los parámetros eléctricos pertenecientes al circuito de adsorción, se calcularon a partir del ajuste de los datos experimentales con el software ZVIEW 3.1C Scribner Associates Inc. Los criterios utilizados en la estimación de la calidad de la simulación fueron evaluados en primer lugar con el menor valor de chi-cuadrado ($1\text{E}-04$), y en segundo lugar con los errores

porcentuales más bajos de cada componente. En el **Anexo F**, se muestra un ejemplo de la simulación realizada por el software.

Figura 19. Circuito equivalente **(a)** Obtenido por Zview, **(b)** simulado para el proceso de adsorción de apatita.



Fuente: Los autores

- ❖ **R1** es la resistencia del electrolito R_s (SBF) a diferentes concentraciones de Ca, que existe entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia, debido a que la migración de iones presenta un comportamiento óhmico.
- ❖ **CPE1** es la capacitancia representada como un elemento de fase constante a altas frecuencias, asociado a la interfase recubrimiento biocerámico-solución, correspondiente a la doble capa electroquímica (doble capa de Helmholtz), y **R2** representa la resistencia de poros asociada al recubrimiento (R_{ads}).
- ❖ **CPE2** es un elemento de fase constante a bajas frecuencias, asociado al intercambio de iones en la primera interfase sustrato-recubrimiento, y **R3** representa la resistencia a la transferencia de carga de los procesos farádicos; la cual en algunos casos donde los ángulos de fase son 45° se convierte en una impedancia de Warburg (difusión de oxígeno) ^[20].

Para estudiar la influencia de la temperatura del tratamiento térmico de los recubrimientos y la concentración de Ca de las soluciones SBF, en la capacidad de adsorción iónica de la superficie; se utilizaron los valores de los elementos del circuito obtenidos por las variaciones de transferencia de carga, para encontrar los datos termodinámicos que describen el proceso de adsorción.

La capacidad de adsorción de Ca de los recubrimientos se determinó a través del trazado de isothermas de adsorción; esto se realizó a partir de la proporcionalidad directa existente entre la concentración superficial saturada de apatita Γ [mol.cm⁻²] y 1/ Rtc (1/resistencia a la transferencia de carga) [1/Ω], la cual se utiliza como una medida de la velocidad de reacción y de la cantidad de iones adsorbidos en la superficie [28]. Los valores de la concentración de iones Ca (C) y Rtc obtenidos por el software ZVIEW, se ajustaron a la isoterma de Langmuir, la cual presenta una correlación acertada para representar la adsorción de una monocapa de fosfatos de calcio sobre superficies sólidas [24], en este caso sobre el recubrimiento. La isoterma de Langmuir está dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{C}{\Gamma} = \frac{C}{\Gamma_{max}} + \frac{1}{B_{ads} \Gamma_{max}} \quad (1)$$

Donde, **C** [mol/L] es la concentración de calcio en el equilibrio, **Γ** [mol/L] es la cantidad de Ca adsorbida en el equilibrio o concentración superficial de Ca, **Γ_{max}** [mol/L] es la capacidad máxima de adsorción de Ca, correspondiente a la formación de una monocapa de apatita que cubre los sitios activos de la superficie del recubrimiento, y **B_{ads}** [L /mol] es el coeficiente de adsorción que representa la afinidad de los iones de Ca hacia los sitios de adsorción de la superficie [27]. Estos valores se obtuvieron graficando $\frac{C}{\Gamma}$ vs C, que por medio de la relación de la isoterma de Langmuir con la ecuación de la recta, se determinó el intercepto $\frac{1}{B_{ads} \Gamma_{max}}$ y la pendiente $\frac{1}{\Gamma_{max}}$ para cada una de las temperaturas (**Anexo H**). Con estos valores se determinó la energía libre de adsorción, por medio de la ecuación (2), la cual está relacionada con el trabajo necesario para nuclear cierta cantidad de Ca sobre la superficie.

$$\Delta G = - RT \ln (55,5 B_{ads}) \quad (2)$$

Donde **T** [K] es la temperatura, **R** [J/mol*K] es la constante de los gases, **ΔG_{ads}** [J/mol] es la energía libre y la constante 55.5 [mol/dm³] es la concentración molar del agua, la cual es una aproximación válida para la solución fisiológica [29].

Tabla 2. Datos Termodinámicos del proceso de adsorción.

Temperatura de cristalización del recubrimiento (°C)	Γ máx [mol/L]	Bads [L/mol]	ΔG [KJ/mol]
550	7,96E-04	135,54	-22,16
650	1E-06	222,81	-23,35
750	5,75 E-06	315,79	-24,21

Fuente: Los autores

Los valores de ΔG negativos (tabla 4), indican que se dio una adsorción iónica espontánea sobre la superficie de los recubrimientos biocerámicos. Además, la disminución de la energía libre con el aumento de la temperatura del tratamiento térmico, sugiere que una mayor cristalinidad de las fases presentes en los recubrimientos (HA y TiO_2), favorece la irreversibilidad de la reacción disolución-precipitación de apatita; es decir que a 750°C la formación de apatita sobre la superficie fue más espontánea que la disolución del recubrimiento ^[30].

El Bads está relacionado con la afinidad de los iones de adsorberse en la superficie; esta afinidad depende de las características superficiales del material, tales como porosidad, energía libre, grupos funcionales, carga superficial, entre otros ^[31]. De acuerdo a esto y a los valores de Bads obtenidos (tabla 4), se encontró que a una temperatura de cristalización de 750°C, los iones presentaron la mayor tendencia de adsorberse en la superficie, debido a que la hidroxiapatita presentó, el mayor grado de cristalinidad, la morfología más compacta de los aglomerados de apatita, la formación de un compuesto entre HA y TiO_2 , y el menor valor de energía libre obtenido. Por otra parte, también puede atribuirse a que el recubrimiento tratado a 750°C presentó el mayor contenido de grupos OH^- , según lo encontrado en el espectro FT-IR (figura 11), los cuales tienden a atraer iones Ca^{+2} , que presentan una gran afinidad con los grupos fosfato, que generan la formación de centros de nucleación y crecimiento de apatita ^[32].

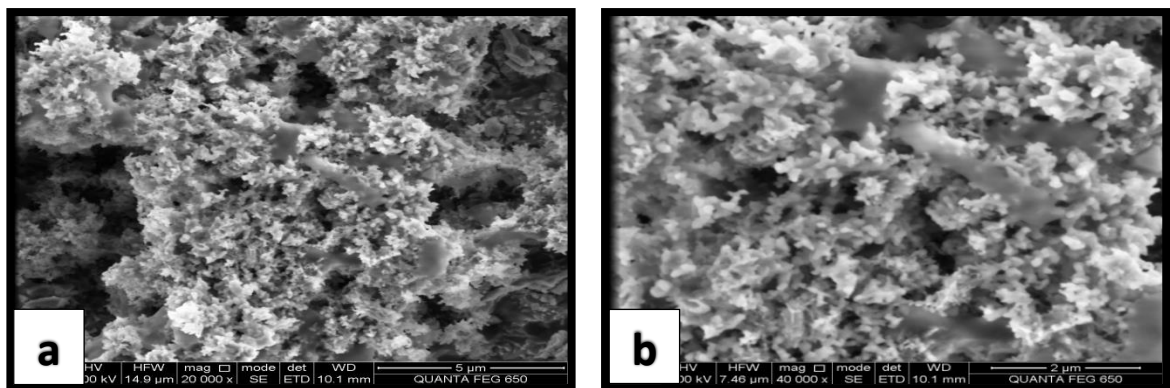
4.4.2 Biomineralización en inmersión con un fluido fisiológico simulado SBF.

La biomineralización es la capacidad que tiene el biocerámico electrodepositado, de formar una capa de fosfatos de calcio sobre la superficie o de incrementar con el tiempo los ya presentes ^[31]. Siendo este, el factor más importante para evaluar la bioactividad del implante, determinando su habilidad para enlazarse con los tejidos óseos y las capacidades mecánicas del hueso.

Las pruebas de bioactividad se realizaron para conocer la respuesta del recubrimiento patronado, a la formación superficial de apatita en presencia de fluidos y condiciones similares a las del cuerpo humano. Para esto, luego de la inmersión se realizó la caracterización de los recubrimientos empleando las técnicas SEM, EDS, FT-IR, EIS y se evaluó la variación de Ca de la solución SBF por la técnica de AA.

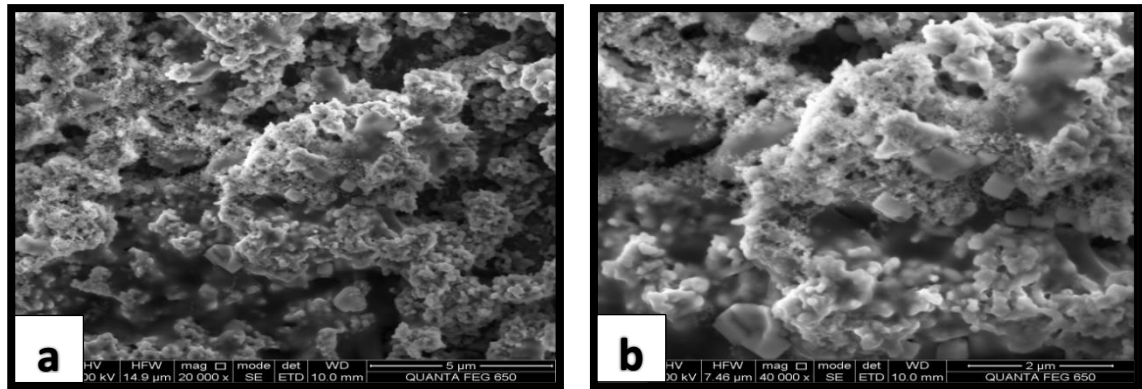
4.4.2.1 Caracterización Morfológica por microscopia electrónica de barrido (SEM) de las superficies patronadas, luego de la inmersión en SBF. Luego de realizar la inmersión de las muestras patronadas y tratadas a 550, 650 y 750°C, se llevó a cabo la caracterización morfológica (figura 20, 21 y 22), con el fin de comparar las micrografías de las muestras patronadas antes y después de la inmersión, y así poder evaluar la bioactividad de los recubrimientos patronados.

Figura 20. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados y tratados a 550°C, **(a)** 20.000X y **(b)** 40.000X, luego de la inmersión en SBF por 7 días.



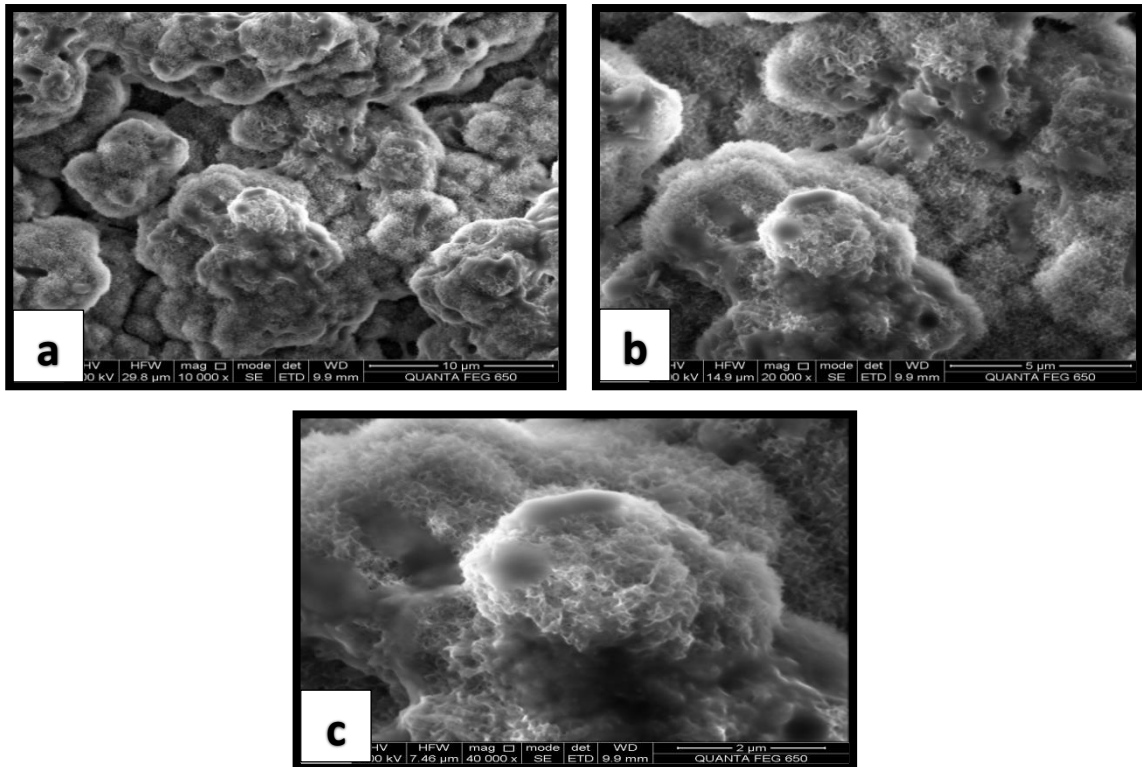
Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650

Figura 21. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados y tratados a 650°C, **(a)** 20.000X y **(b)** 40.000X, luego de la inmersión en SBF por 7 días.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650

Figura 22. Micrografías SEM de los recubrimientos patronados y tratados a 750°C, **(a)** 10.000X **(b)** 20.000X y **(c)** 40.000X, luego de la inmersión en SBF 7 días.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido QUANTA FEG 650

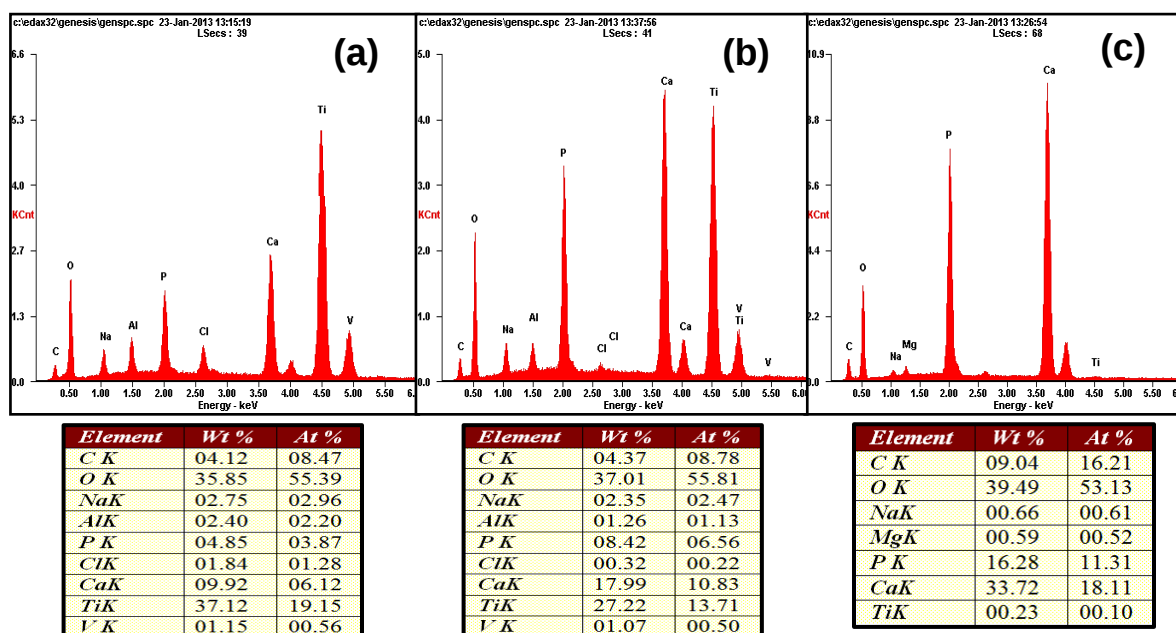
Después de 7 días de inmersión, los recubrimientos de hidroxiapatita patronados y tratados térmicamente a 550 y 650°C, no presentaron cambios significativos en su

morfología. Sin embargo, al comparar las micrografías obtenidas antes (figura 15) y después (figura 21) de la inmersión, se encontró un ligero aumento en el tamaño de los aglomerados de apatita en los recubrimientos cristalizados a 650°C.

Por otra parte, la muestra tratada térmicamente a 750°C presentó la mayor bioactividad, pues se observa en las micrografías, una gran cantidad de depósitos porosos con apariencia de esponja sobre la superficie del recubrimiento, la cual corresponde a una morfología típica de las apatitas crecidas en ensayos in vitro en SBF [32]. Esto indica, que al aumentar la temperatura del tratamiento térmico, se produjo una mayor cristalización de las fases (TiO_2 y HA), que favoreció la bioactividad del recubrimiento biocerámico.

4.4.2.2 Análisis por espectroscopia de energía dispersa (EDS): En la figura 23 se enseñan los espectros EDS obtenidos por los recubrimientos electrodepositados, patronados y tratados térmicamente a diferentes temperaturas, luego de la inmersión en SBF.

Figura 23. Espectros EDS de los recubrimientos tratados térmicamente (a) T=550°C, (b) T=650° y (c) T=750°C, después de inmersión.



Fuente: Espectroscopia de energía dispersa

Al comparar los espectros EDS obtenidos por las muestras patronadas antes (figura 10) y después de la inmersión (figura 23); se encontró que para las probetas tratadas a 550 y 650°C, los picos representativos de Ca y P disminuyeron. Esto indica que, a estas temperaturas se presentó una significativa disolución de la superficie del recubrimiento, debido a que las fases presentes no alcanzaron el suficiente grado de cristalización; lo cual concuerda con lo encontrado en otros estudios, donde afirman que los materiales de mayor carácter cristalino presentan un mejor ordenamiento atómico-estructural que se asocia a una energía libre superficial más baja, lo que implica una menor tendencia a degradarse del material [33].

Adicionalmente, dado que esta técnica analiza las capas superficiales, se confirma que en la muestra tratada a 750°C se presentó la precipitación de apatita, puesto que hay un aumento considerable de los picos de calcio y fósforo en el recubrimiento, con una simultanea disminución del pico de titanio, cambios que se atribuyen a la formación de una capa de apatita sobre la superficie.

Tabla 3. Relaciones atómicas de los principales elementos, de los recubrimientos patronados y tratados a diferentes temperaturas, antes y después de la inmersión.

Temperatura [°C]	Antes de inmersión (0 hr)			Después de inmersión (168 hr)		
	Ca/Ti	P/Ti	Ca/P	Ca/Ti	P/Ti	Ca/P
550	1,23	0,703	1,749	0,319	0,202	1,58
650	1,42	0,812	1,748	0,78	0,498	1,65
750	1,41	0,741	1,960	181,1	113,1	1,601

Fuente: Los autores

Lo anteriormente dicho se puede comprobar con las relaciones Ca/Ti, P/Ti y Ca/P obtenidas por el análisis elemental EDS, para los recubrimientos a cada temperatura de tratamiento, antes y después de la inmersión (tabla 5). Donde se evidenció que las relaciones Ca/Ti y P/Ti de los recubrimientos aumentaron con la temperatura del tratamiento, presentándose los cambios más significativos en la muestra tratada a 750°C, puesto que luego de la inmersión las relaciones pasaron de 1,41 a 181,1 y de 0,74 a 113,1 respectivamente; este gran aumento de Ca y P

con relación al Ti, después de 7 días de inmersión en SBF se debe a la formación de apatitas sobre el recubrimiento. Por otra parte, la disminución de la relación Ca/P a 1,60 puede deberse a que las apatitas formadas fueron enriquecidas en fósforo (fosfatos de calcio amorfos). Adicionalmente la disminución de la relación Ca/P en los recubrimientos tratados a 550 y 650°C, se asocia a la liberación de iones calcio como consecuencia de la disolución que presentaron los recubrimientos de hidroxiapatita al estar en contacto con el fluido fisiológico.

Con el fin de complementar el análisis de bioactividad y confirmar la adsorción de iones Ca en el recubrimiento a diferentes temperaturas de cristalización, se realizó la técnica de espectroscopia de absorción atómica, a las alícuotas tomadas de la solución SBF antes y después de 168 horas de inmersión, los resultados se presentan en la tabla 6.

Tabla 4. Concentración de Ca^{2+} en SBF después de 168 horas de inmersión.

Temperatura de cristalización [°C]	[Ca ⁺²] Promedio en SBF después de 168 horas de inmersión [ppm]	
	[Ca] inicial	99
550	70.4	
650	67.4	
750	62.93	

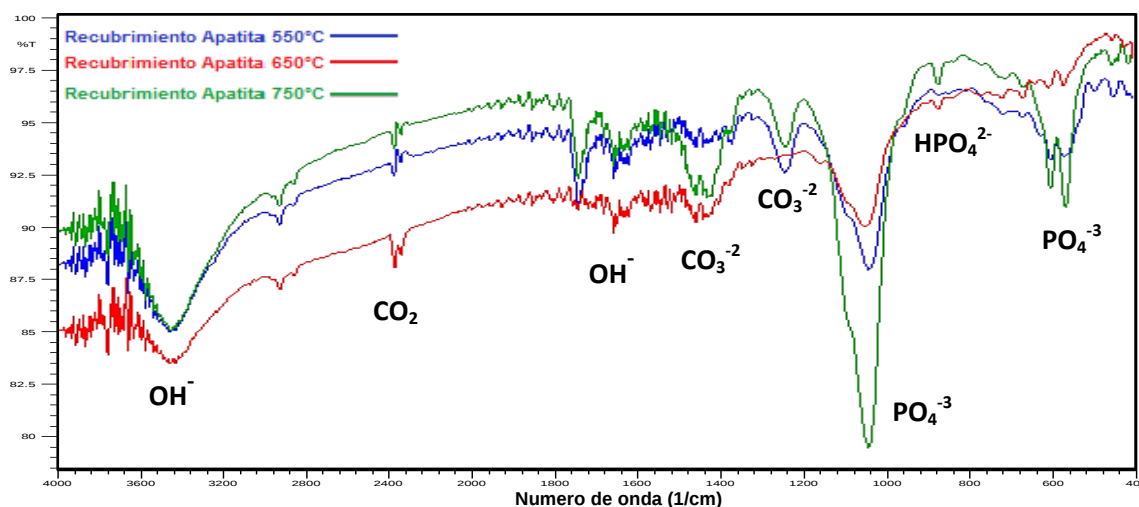
Fuente: Espectrofotómetro BUCK-SCIENTIFIC 210.

La concentración de Ca^{+2} en el SBF inicial fue de 99 ppm, por lo tanto la solución que presentó la mayor disminución de Ca fue la de la muestra tratada a 750°C, seguida por la muestra cristalizada a 650 y 550°C, respectivamente. De forma general, en todas las soluciones SBF se presentó una disminución en la concentración de Ca, lo cual indica que en los recubrimientos se produjo cierta adsorción de iones calcio en la superficie, siendo mayor en la muestra tratada a 750°C. Sin embargo, la disminución de Ca en la solución de las muestras tratadas a 550 y 650°C, se puede atribuir a las atracciones electrostáticas de la superficie pero no a la formación de una capa de apatita; puesto que según los resultados obtenidos por las micrografías de SEM y el análisis EDS, se presentó una gran

disolución del recubrimiento y por lo tanto la adsorción de iones calcio, no fue suficiente para producir el crecimiento de apatitas sobre la superficie.

4.4.2.3 Análisis FT-IR de las superficies patronadas, después de la inmersión en SBF. Por medio de la técnica FT-IR (figura 24), se determinaron los grupos funcionales presentes en los recubrimientos patronados, luego de la inmersión en SBF durante 7 días.

Figura 24. Superposición de los espectros FT-IR de los recubrimientos tratados térmicamente a 550, 650 y 750°C, luego de la inmersión en SBF por 7 días.



Fuente: Espectrofotómetro FT-IR 8400S SHIMADZU

Para evaluar los cambios químicos en la superficie de los recubrimientos patronados durante la inmersión, se compararon los espectros FT-IR de las muestras patronadas antes (figura 11) y después de la inmersión en SBF (figura 24). Luego de 7 días en inmersión, se observa que los picos que corresponden a los grupos PO_4^{3-} (1150cm^{-1} y $610\text{--}560\text{cm}^{-1}$) fueron más intensos para el recubrimiento cristalizado a 750°C, disminuyendo para las muestras tratadas a 650°C y 550°C, respectivamente. Este aumento de grupos fosfatos en el recubrimiento tratado a 750°C durante la inmersión, indica la formación de fosfatos de calcio y a su vez permite afirmar que las apatitas formadas efectivamente son enriquecidas en fósforo, según lo anteriormente encontrado en el EDS.

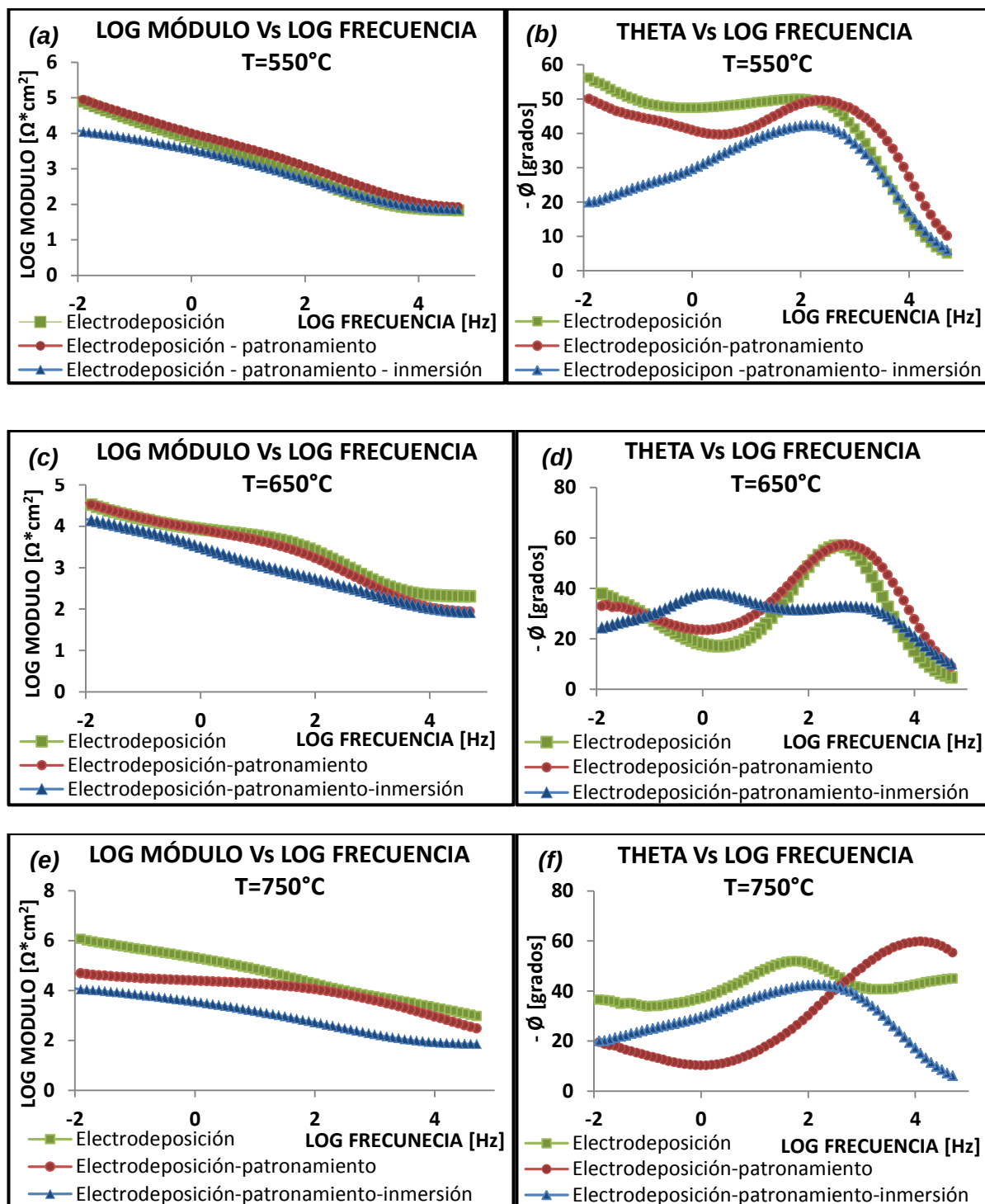
Se encontró para las tres temperaturas de tratamiento térmico, que después de la inmersión las bandas de absorción de los grupos OH^- (3500 y 1700cm^{-1}) y CO_3^{2-} ($1400\text{-}1500\text{cm}^{-1}$ y 1270cm^{-1}), disminuyeron significativamente. Esto se puede atribuir a la liberación de iones OH^- y Ca^{2+} de los recubrimientos, como consecuencia de la disolución de la capa superficial de HA al estar en contacto con el SBF; lo primero genera un aumento del pH local y lo segundo una sobresaturación en Ca de la solución, condiciones que favorecen la precipitación de apatitas sobre la superficie [32].

Sin embargo, para que se dé la formación de apatitas es necesario que en la superficie se presente una adsorción de iones OH^- , Ca^{2+} y PO_4^{3-} [27], por lo tanto la muestra tratada a 750°C presentó la mayor bioactividad, pues en esta se obtuvieron los picos más pronunciados correspondientes a estos grupos funcionales. Igualmente el espectro confirma el carácter poco bioactivo de las muestras tratadas a 550 y 650°C , demostrando que la disolución del recubrimiento de HA no asegura que se forme una capa de apatita durante la inmersión, sino que también influyen otros factores como la capacidad de adsorción de Ca de la superficie, el grado de cristalización de las fases, la morfología superficial, la presencia de sitios activos, entre otros.

4.4.2.4 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS).

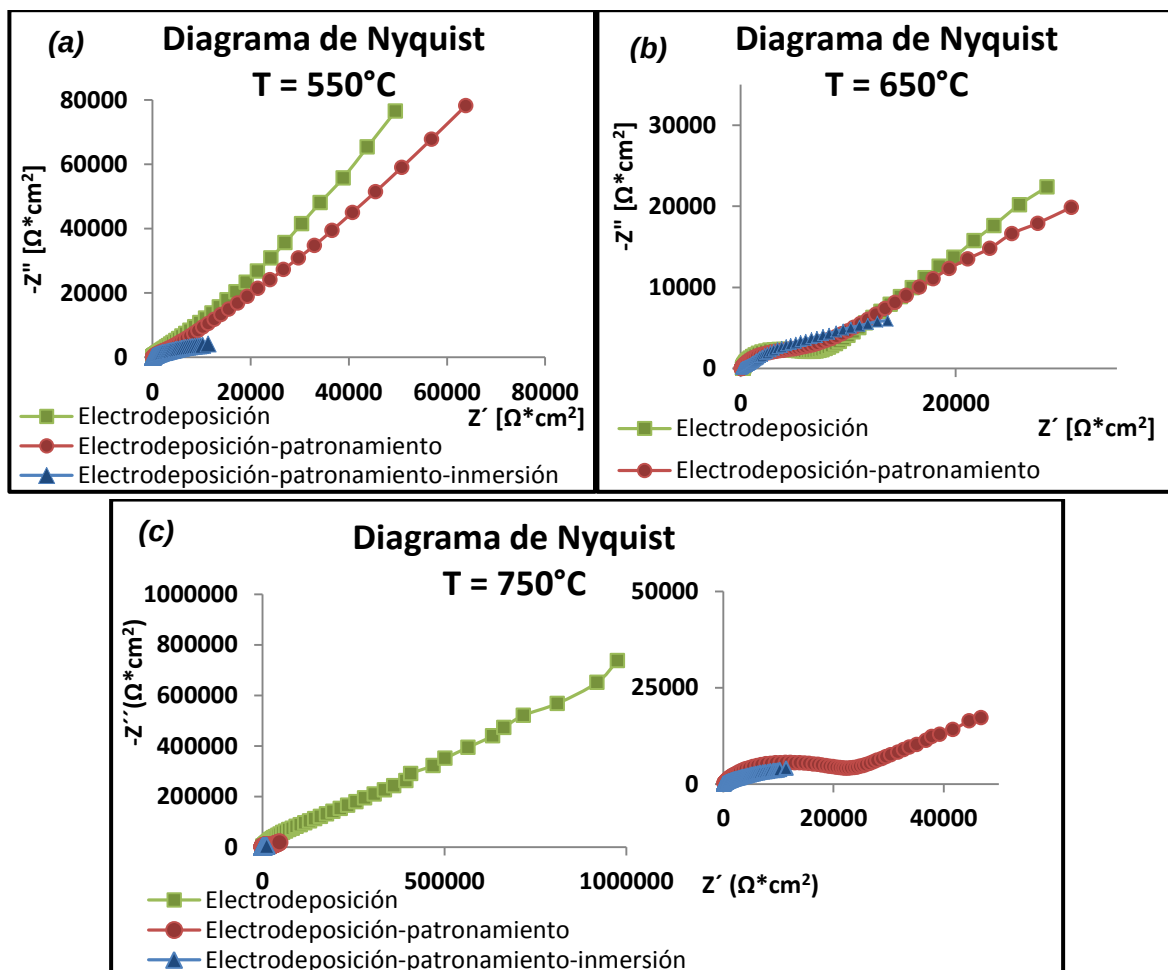
En la figura 25 y 26, se presentan los diagramas de Bode y Nyquist respectivamente, correspondientes a las muestras luego de la electrodeposición, patronamiento e inmersión, con el fin de comparar la respuesta de la superficie en las diferentes etapas experimentales realizadas en esta investigación. Por tal motivo, se llevó a cabo la prueba electroquímica a una concentración constante de Ca de SBF (2.5mmol/L), evaluando las muestras que habían sido sometidas a diferentes temperaturas de tratamiento térmico.

Figura 25. Diagramas de Bode a SBF [Ca] =2.5 mmol/L, recubrimientos tratados térmicamente (a) y (b) T=550°C, (c) y (d) T=650°C, (e) y (f) T=750°C.



Fuente: Potenciostato GAMRY 600

Figura 26. Diagramas de Nyquist, para las muestras patronadas luego de la inmersión, en solución SBF 2.5 mmol/L y tratadas térmicamente **(a)** 550°C, **(b)** 650°C y **(c)** 750°C.



Fuente: Potenciostato GAMRY 600

En general, en los diagramas de Bode obtenidos se encontró que a altas frecuencias, los recubrimientos patronados presentaron un comportamiento resistivo; demostrando esto que el patronamiento, efectivamente favoreció la interacción de la superficie con las especies iónicas, al generar sitios activos de mayor energía que promueven la nucleación de fosfatos de calcio ^[34]. Adicionalmente en los diagramas de Nyquist para las muestras patronadas, se presentó un achatamiento de los semicírculos con el aumento de la temperatura,

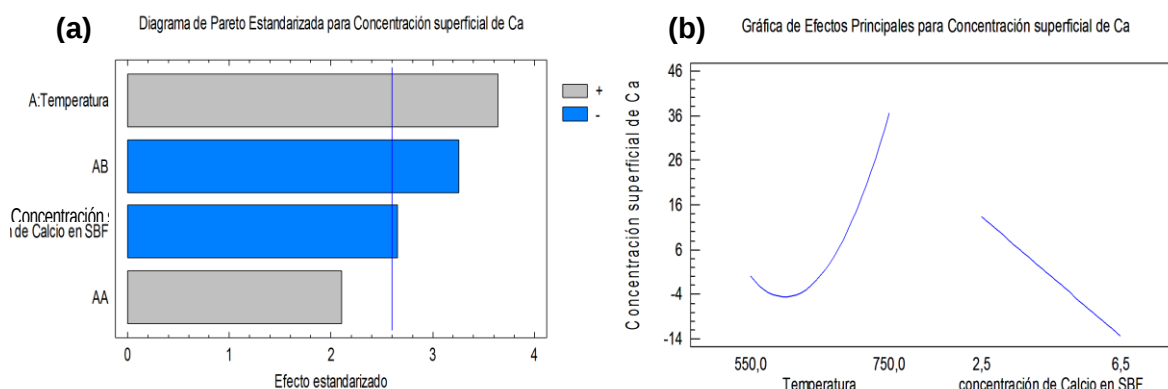
el cual indicó que la respuesta reactiva del patronamiento se favorece con los cambios microestructurales y morfológicos del recubrimiento generados por la cristalización de las fases. Por otra parte, para las muestras luego de 7 días en inmersión, se observó en los diagramas de Bode una disminución en el ángulo de fase a valores más positivos (-40°), lo cual se reflejó en los diagramas de Nyquist como una disminución en las impedancias involucradas; este comportamiento se atribuye a que estas muestras presentaron la mayor interacción entre el electrolito y la superficie, siendo más evidente en la probeta tratada a 750°C donde los procesos de disolución del recubrimiento y la adsorción de algunos iones del electrolito dieron lugar a la formación de una capa de apatita.

Adicionalmente en estos diagramas se pudo observar la presencia de fenómenos difusivos asociados con el intercambio iónico para la consecuente formación de productos de apatita sobre la superficie, esto se confirmó por la tendencia lineal presentada en los diagramas de Nyquist y por la ocurrencia de la mayoría de estos procesos a ángulos de fase cercanos a 45° . En este orden de ideas, se demuestra que es favorable el patronamiento superficial para inferir en la localización focalizada de los patrones que produzcan una ubicación preferencial de iones alrededor de estos, logrando así sitios activos que favorecen la formación de apatita, lo cual fue corroborado por los ensayos de SEM-EDS, EIS y DRX.

4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el análisis de los resultados por medio de un paquete estadístico de Software especializado, con el fin de analizar el efecto combinado que tienen las dos variables estudiadas, temperatura del tratamiento térmico [$^\circ\text{C}$] y concentración de Ca en SBF [mmol/L], sobre la variable respuesta, cantidad de iones Ca^{+2} adsorbidos en la superficie Γ ($\text{mol}\cdot\text{cm}^{-2}$). En la figura 27, se presentan los diagramas de las cartas Pareto y de los efectos principales, determinados de las interacciones entre las variables.

Figura 27. Diagramas estadísticos para la concentración de Calcio superficial Γ [$\text{mol}\cdot\text{cm}^{-2}$]
(a) Gráfico de Pareto estandarizado **(b)** Gráfico de efectos principales.



Fuente: Los autores

Las dos variables muestran que son estadísticamente influyentes en el nivel de significancia seleccionado de forma predeterminada en 5%. En el diagrama Pareto se observó un efecto negativo de la variable concentración de calcio en SBF junto con las dos variables combinadas y un efecto positivo de la variable temperatura. Este comportamiento también fue encontrado en el gráfico de efectos principales, donde se evalúa el cambio estimado en la respuesta cuando se mueve cada uno de los factores desde su nivel inferior hasta el superior.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 89,8252% de la variabilidad en concentración superficial de Ca; siendo este estadístico el más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes (79,6504%). En este análisis se encontró, que las dos variables evaluadas tienen un efecto importante en la adsorción de calcio de la superficie del biocerámico patronado. El efecto de la temperatura fue positivo, siendo el más influyente, es decir que a mayor temperatura se presentó una mayor adsorción o procesos controlados por difusión iónica que se pueden asociar a una superficie más reactiva, pero por el contrario para la concentración de Ca en SBF, el efecto fue negativo obteniéndose la mejor interacción de la superficie con el fluido a una concentración de 2,5 mmol/L. Además se encontró que la combinación de estas

dos variables tiene un efecto negativo más significativo que el que presentó la concentración de calcio en SBF.

Cabe aclarar que un incremento en la adsorción puede ser relativo al área superficial de la probeta modificada por el patronamiento. La medición de las áreas superficiales se puede considerar para futuros trabajos en el cual la concentración de poros sea una variable significativa que involucre el cálculo integral de la adsorción a partir de la resistencia electroquímica.

5. CONCLUSIONES

- ✿ El método de electrodeposición catódica es una técnica sencilla y económica, que permitió desarrollar recubrimientos de Hidroxiapatita sobre el sustrato de Ti6Al4V de manera exitosa, lo cual se comprobó con el análisis de las pruebas de FT-IR y DRX. Además se obtuvo en los recubrimientos, una estructura porosa caracterizada por SEM, que favoreció la interacción iónica entre el fluido y la superficie aumentando la biocompatibilidad del implante.
- ✿ La técnica electroquímica de impedancia, permitió comprobar que la modificación superficial del recubrimiento producida por el patronamiento con litografía láser, generó sitios activos de alta energía que promovieron la nucleación y fijación de fosfatos de calcio para la posterior formación de apatita, lo cual favorece la oseointegración del material.
- ✿ La temperatura del tratamiento térmico del recubrimiento influyó significativamente en el comportamiento bioactivo y en la adsorción iónica de la superficie; encontrando por medio de la técnica DRX que el aumento de la temperatura produce una mayor cristalinidad de las fases, que favorece la respuesta bioactiva del material, lo cual se vio reflejado en la formación de apatitas después de 168 horas de inmersión en SBF y en la mayor adsorción de iones calcio presentada en la superficie del recubrimiento.
- ✿ Los resultados termodinámicos obtenidos a partir de los datos proporcionados por las pruebas de impedancia electroquímica realizadas a los recubrimientos patronados, mostraron que los recubrimientos tratados a diferentes temperaturas presentaron una adsorción de iones calcio durante su exposición en fluido SBF, siendo más espontáneo para las muestras tratadas a 750°C.

- ✿ Por medio de la prueba electroquímica de impedancia, se puede predecir el carácter reactivo de la superficie biocerámica patronada al estar expuesta a un fluido fisiológico simulado de diferente concentración de calcio; donde una menor concentración (2.5mmol/L) produce una mayor adsorción de Ca en el recubrimiento, debido a que al aumentar la cantidad de iones calcio en el electrolito se disminuye la conductividad en la interfase, dificultando la interacción de la superficie con el fluido.
- ✿ En las pruebas de biomineralización, se observó que el recubrimiento tratado a 750°C presentó la formación de una capa estable de fosfatos de calcio, por el carácter cristalino de sus fases que a su vez favorece el efecto del patronamiento. Por otra parte, a una menor temperatura de cristalización, los recubrimientos de hidroxiapatita presentan un mayor grado de disolución al estar en contacto con la solución SBF, indicando un carácter poco bioactivo.

6. RECOMENDACIONES

- ✿ Realizar el patronamiento de los recubrimientos de hidroxiapatita obtenidos por electrodeposición catódica, por otra técnica diferente a la usada, puesto que la estructura obtenida en los depósitos es muy porosa y esto genera que al focalizar el láser sobre la superficie este se difracte entre los poros, presentándose una perforación con una morfología y penetración no definida.
- ✿ Determinar la variación de iones calcio en el SBF en las pruebas de bioactividad, durante todos los días de inmersión, para evaluar con esto si se produce una disolución y adsorción de iones en el recubrimiento, y así poder estudiar las diferentes etapas involucradas en el proceso de formación de apatitas.
- ✿ Debido a que la adsorción iónica es relativa al área superficial patronada en la probeta, se sugiere para posteriores investigaciones utilizar como variable del proceso la concentración de poros en la superficie y evaluar con esto su influencia en adsorción iónica.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] **RODIL, Sandra.** Modificación superficial de biomateriales metálicos. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. En: Rev. Latinoamericana de Metalurgia y Materiales. Diciembre, 2009. vol. 29, n° 2, p. 67-83.
- [2] **RENLONG, Xing; YANG, Leng; JIYONG, Chen y QIYI, Zhang.** A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo. UNIVERSIDAD DE HONG KONG DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA. En: Biomateriales. June, 2005. n° 26, p. 6477–6486.
- [3] **FLORENT, Quiquierez y GILL, Francesc Xavier.** Comportamiento mecánico y químico de biomateriales para sustitución ósea. Trabajo de grado Ingeniería de los materiales, Biomateriales. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CATALUÑA. Departamento de Ciencia de Materiales, 2005. 73 p.
- [4] **KALPAKJIAN, Serope y SCHMID, Steven.** Manufactura, ingeniería y tecnología. Rev. téc. FIGUEROA, Ulises. 4 ed. México: Pearson Educación, 2002. 1176 p.
- [5] **LONDOÑO, Marta Elena; ECHAVARRÍA, Alejandro y DE LA CALLE, Francenith.** Características cristal químicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas. Escuela de Ingeniería de Antioquia, Medellín. Rev.EIA, Junio 2006, n° 5, p. 109-118.
- [6] **CHEN, Qi-Zhi; BRETCANU, Oana y BOCCACCINI, Aldo.** Biomaterials Fabrication and Processing HANDBOOK. Part I - Tissue Engineering Scaffold Materials. Edited by Xuanyong Liu and Paul Chu. 2008, p. 42.
- [7] **PAZ, A; MARTÍN, Y; PAZOS L.M, et al.** Obtención de recubrimientos de hidroxiapatita sobre titanio mediante el método biomimético. En: Rev. de Metalurgia, Marzo-Abril, 2011, vol. 47, n° 2, p. 138-146.
- [8] **PARK, Ji-Ho; LEE, Doug-Youn; OH, Keun-Taek, et al.** Bioactivity of calcium phosphate coatings prepared by electrodeposition in a modified simulated body fluid. YONSEI UNIVERSITY COLLEGE OF DENTISTRY, South Korea. En: Materials Letters, February 2006. vol. 60, p. 2573–2577.

- [9] **JOYA CALDERON, Yamile; RAMÍREZ BAEZ, Sandra Milena; LA VERDE, Dionisio.** Caracterización y mejoramiento del proceso de electrodeposición de metales usado actualmente en la empresa fantaxías Ltda. Trabajo de grado Ingeniería Química. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER. Bucaramanga, 2005.
- [10] **XIONG, Lu; ZHANFEG, Zhao; y YANG, Leng.** Calcium phosphate crystal growth under controlled atmosphere in electrochemical deposition. Journal of Crystal Growth, November 2005. vol. 284, p. 506-516.
- [11] **WEI, Daqing; ZHOU, Yu; JIA, Dechang y WANG, Yaming.** Effect of heat treatment on the structure and in vitro bioactivity of microarc-oxidized (mao) titania coatings containing Ca and P ions. Rev. Surface and Coatings Technology, August 2007, vol. 201, p. 8723-8729.
- [12] **JIM, K.L; LEE, F.K; XIN, J.Z; LEUNG, C.W, et al.** Fabrication of nano-scaled patterns on ceramic thin films and silicon substrates by soft ultraviolet nanoimprint lithography. THE HONG KONG POLYTECHNIC UNIVERSITY. Microelectronic Engineering. Noviembre 2009, vol. 87, p. 959–962.
- [13] **HAO, Liang y LAWRENCE, Jonathan.** Laser Surface Treatment of Bio-Implant Materials. England: John Wiley & Sons Ltd, 2005, 224 p.
- [14] **LEÓN, Aura Yesney; MARTÍNEZ Liliveth y PEÑA, Darío.** Evaluación comparativa de la biomineralización del ácido poliláctico-biovidrio y ácido poliláctico-hidroxiapatita. Trabajo de grado Ingeniería Química. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER, Bucaramanga, 2008.
- [15] **GARCÍA PORTILLA, Yedis; ESTUPIÑÁN, Hugo y PEÑA, Darío.** Evaluación de la electrodeposición de fosfato de calcio sobre la aleación Ti6AL4V ELI ASTM F-136. Trabajo de grado Magíster en Ingeniería Metalúrgica. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER, Bucaramanga, 2008.
- [16] **CASTRO PATERNINA, Enelfo.** Deposición electrolítica de fosfatos de calcio sobre la aleación Ti6AL4V ASTM F-136. Trabajo de grado Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER, Bucaramanga, 2008.

[17] KOKUBO, Tadashi y TAKADAMA Hiroaki. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. In: Biomaterials. January, 2006, vol. 27, p. 2907–2915.

[18] CÓRDOBA, Laura Catalina. Relación entre microestructura y resistencia a corrosión de la aleación biocompatible Ti6Al4V deformada en caliente. Trabajo de grado para Magíster en Ingeniería - Materiales y Procesos. UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, Medellín, 2009.

[19] FERNÁNDEZ, Enrique Aguado; GIL, Francesc Xavier y FERDINAND, C. Obtención y Caracterización de nuevos cementos óseos de fosfatos de calcio en el sistema $\text{CaHPO}_4\text{-}\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Trabajo de grado Ingeniería Metalúrgica. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CATALUÑA (Barcelona). Noviembre, 1996.

[20] MANARA, S; PAOLUCCI, F; PALAZZO, B; MARCACCIO, M; et al. Electrochemically-assisted deposition of biomimetic hydroxyapatite–collagen coatings on titanium plate. Inorganica Chimica Acta. May 2008, vol. 361, n°6, p. 1634-1645.

[21] JANKOVIĆ, Ana; ERAKOVIĆ, Sanja; DINDUNE, Antonija; et al. Electrochemical impedance spectroscopy of a silver-doped hydroxyapatite coating in simulated body fluid used as a corrosive agent. Journal of the serbian Chemical Society, August 2012, vol. 77, n° 11, p. 1609–1623.

[22] DUMELIE, N; BENHAYOUNE, H; ROUSSE-BERTRAND, C; et al. Characterization of electrodeposited calcium phosphate coatings by complementary scanning electron microscopy and scanning-transmission electron microscopy associated to X-ray microanalysis. Thin Solid Films, August 2005, vol. 492, p. 131 – 139.

[23] KUSUNOKI, Masanobu; KAWAKAMI, Yoshiaki; MATSUDA, Taiyo; HONTSU, Shigeki; et al. Fabrication of a Large Hydroxyapatite Sheet. KINKI UNIVERSITY (Kinokawa, Japan), Faculty of Biology-Oriented Science and Technology. Applied Physics Express, October 2010, vol. 3, p. 107003.

[24] ESTUPIÑÁN, Hugo Armando; PEÑA, Darío Yesid; VÁSQUEZ, Custodio; LAVERDE, Dionisio; et al. Efecto de la adición de biovidrio e hidroxiapatita en ácido poli-L-láctico sobre la adsorción superficial de fosfatos. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER, Bucaramanga. AVANCES Investigación en Ingeniería, 2010, vol. 12.

[25] COTTIS, Robert y TURGOOSE, Stephen. Electrochemical Impedance and Noise. Nace Internacional Publication January 2000. Chapter 4, p. 149.

[26] GARCÍA, A; SALDAÑA, L; BARRANCO, V; et al. In situ cell culture monitoring on a Ti6Al4V surface by electrochemical techniques. Acta Biomaterials, May 2009, vol. 5, p. 1374–1384.

[27] ESTUPIÑÁN, Hugo Armando; PEÑA, Darío Yesid y LAVERDE, Dionisio. Estudio electroquímico de la electroactivación de osteoblastos inmovilizados en compuestos poliméricos semiconductores de PLA-PLG-Biocerámico. Trabajo de grado para Doctorado en Ingeniería Química. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER, 2011.

[28] GELVES, Leidy; MONTAÑEZ, Nerly; ANAYA, Yurley; ESTUPIÑÁN, Hugo; PEÑA, Darío y VÁSQUEZ, Custodio. Evaluación del direccionamiento electroquímico de proteínas sobre recubrimientos de ácido poliláctico. GRUPO DE INVESTIGACIONES EN CORROSIÓN (GIC), UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER, Bucaramanga (Colombia). En: Revista ION, Junio 2011, vol. 24, p. 7-14.

[29] MATTHEW, F; VADIM, F; SHUVO, R; FLEISCHMAN, A; et al. Electrochemical detection and characterization of proteins. In: Biosensors and Bioelectronics, December 2006, vol. 22, n° 5, p. 670–67.

[30] OMANOVIC, Sasha y ROSCOE, Sharon. Interfacial Behavior of β -Lactoglobulin at a Stainless Steel Surface: An Electrochemical Impedance Spectroscopy Study. ACADIA UNIVERSITY (Nova Scotia, Canada). Journal of Colloid and Interface Science, July 2000, vol. 227, n° 2, p.452–460.

[31] ESTUPIÑÁN, Hugo Armando; PEÑA, Darío Yesid; LAVERDE, Dionisio; et al. Estudio de la adsorción de proteínas sobre superficies de ácido poliláctico mediante técnicas gravimétricas y electroquímicas. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER. En: Dyna, Octubre 2001, n° 169, p. 167-175.

[32] VARELA CASELIS, Jenaro; REYES CERVANTES, Eric y RUBIO ROSAS, Efraín. Crecimiento en fluido fisiológico simulado de hidroxiapatita sobre películas de PMMA sílice-CaO. SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE SUPERFICIES Y MATERIALES. En: Superficies y Vacío, Septiembre 2011, vol. 24, n° 3, p. 92-95.

[33] PEÑA, Darío Yesid; ESTUPIÑÁN, Hugo Armando; CÓRDOBA, Elcy María; *et al.* Recubrimientos de quitosano/fosfato de calcio obtenidos por electrodeposición sobre una aleación de titanio. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER, Grupo de Investigaciones en Corrosión (GIC). EN: Rev. Facultad Ingeniería Universidad de Antioquia, Agosto 2010, n° 54, p. 15-23.

[34] DASGUPTA, Sudip. Nanostructured hydroxyapatite and tricalcium phosphate based ceramics for bovine serum albumin protein delivery and bone implants using microwave sintering. WASHINGTON STATE UNIVERSITY, Materials Science Program, August 2008.

ANEXOS

ANEXO A. REACTIVOS UTILIZADOS EN LA PREPARACIÓN DEL SBF

Tabla 5. Descripción y especificaciones de los reactivos para preparar el SBF

REACTIVO	FÓRMULA	ESPECIFICACIONES
Cloruro de sodio	NaCl	99,5% (MERCK)
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	99.7% (MERCK)
Cloruro de potasio	KCl	99.5% (MERCK)
Di potasio hidrógeno fosfato hidratado	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	98% (CARLO ERBA)
Cloruro de magnesio	MgCl.6H ₂ O	99% (CARLO ERBA)
Ácido clorhídrico	HCl	37% (MERCK)
Cloruro de Calcio	CaCl ₂	98% (MERCK)
Sulfato de sodio	Na ₂ SO ₄	99% (MERCK)
Tris hidroximetilaminometano	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	Analítico (MERCK)

Fuente: Los Autores

ANEXO B. FOTOGRAFÍA DEL MONTAJE PARA LA ELECTRODEPOSICIÓN.

Figura 28. Montaje de la celda electrolítica para electrodeposición de fosfatos de calcio sobre Ti6Al4V ASTM F136.



Fuente: Los Autores

ANEXO C. CONCENTRACIONES IÓNICAS DEL SBF.

Tabla 6. Concentraciones iónicas del plasma sanguíneo humano ^[33] y del SBF a diferentes concentraciones de calcio.

Iones	Concentración (mmol/L)			
	Plasma de sangre humana	Fluido corporal simulado (SBF)		
		Ca/P=2.5 (kokubo)	Ca/P=4.5	Ca/P=6.5
Na ⁺	142.0	142.0	142.0	142.0
K ⁺	5.0	5.0	5.0	5.0
Mg ²⁺	1.5	1.5	1.5	1.5
Ca ²⁺	2.5	2.5	4.5	6.5
Cl ⁻	103.0	147.8	147.8	147.8
HCO ³⁻	27.0	4.2	4.2	4.2
HPO ₄ ²⁻	1.0	1.0	1.0	1.0
SO ₄ ²⁻	0.5	0.5	0.5	0.5

Fuente: Referencia ^[33]

ANEXO D. CLASIFICACIÓN FOSFATOS DE CALCIO SEGÚN RELACIÓN Ca/P.

Figura 29. Compuestos cristalinos encontrados a temperatura ambiente corporal y rango de estabilidad de pH en el sistema Ca (OH)₂ - H₃PO₄ - H₂O.

Ca/P	Fórmula	Compuesto	pH
0.5	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	MCPM	0.0 - 2.0
1	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	DCPD	2.0 - 6.0
1.33	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₄ ·5H ₂ O	OCP	5.5 - 7.0
1.5	Ca ₉ (HPO ₄)(PO ₄) ₅ OH	CDHA	6.5 - 8.5
1.67	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	PHA	9.5 - 12

Fuente: Referencia ^[34]

ANEXO E. DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE LOS RECUBRIMIENTOS OBTENIDOS

Tabla 7. Resultados por DRX de las fases cristalinas de los recubrimientos obtenidos a 550 °C.

FASE		No. TARJETA PDF-2	NOMBRE
Cristalinos	$\text{Ca}_5 (\text{PO}_4)_3 (\text{OH})$	010-86-0740	Hidroxi apatita

Tabla 8. Resultados por DRX de las fases cristalinas de los recubrimientos obtenidos a 650 °C.

FASE		No. TARJETA PDF-2	NOMBRE
Cristalinos	TiO_2	030-65-1118	Rutilo
	$\text{Ca}_5 (\text{PO}_4)_3 (\text{OH})$	010-74-7080	Hidroxi apatita

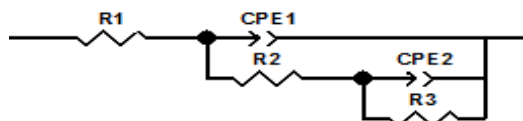
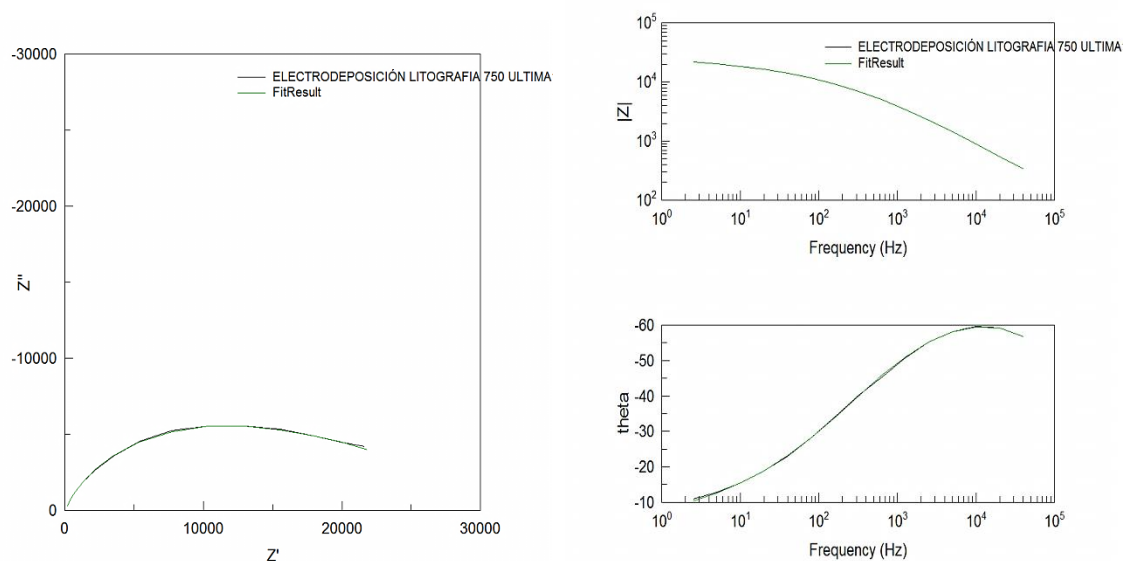
Tabla 9. Resultados por DRX de las fases cristalinas de los recubrimientos obtenidos a 750 °C.

FASE		No. TARJETA PDF-2	NOMBRE
Cristalinos	TiO_2	010-72-4815	Rutilo
	$\text{Ca}_{9.74} (\text{PO}_4)_6 (\text{OH})_{2.08}$	010-86-1199	Hidroxi apatita

Fuente: Difractómetro de Rayos X BRUKER D8 ADVANCE

ANEXO F. SIMULACIÓN DE CIRCUITOS EN EIS POR MEDIO DEL PROGRAMA ZVIEW.

Figura 30. Simulación de los datos en el circuito equivalente.



Element	Freedom	Value	Error	Error %
R1	Free(+)	64.89	2.7993	4.3139
CPE1-T	Free(+)	1,6897E-07	1,5798E-08	9,3496
CPE1-P	Free(+)	0.78757	0.0069732	0.88541
R2	Free(+)	0.0038847	436.8	1.1244
CPE2-T	Free(+)	6,336E-06	6,2648E-07	9,8876
CPE2-P	Free(±)	0.3044	0.01379	4,5302
R3	Free(+)	32317	851,52	2,6349

Chi-Squared: 4.8138E-05
 Weighted Sum of Squares: 0,0011072

Data File: K:\PROYECTO\resultados provec to\c urva
 e EIS\SBF NORMAL\ELECTRODEPOSIC
 RAFIA 750 ULTIMA1.DTA

Circuit Model File: K:\datos de zview\2.5 750 descarta.mdl
 Mode: Run Fitting / All Data Points (1 - 15)
 Maximum Iterations: 100
 Optimization Iterations: 0
 Type of Fitting: Complex
 Type of Weighting: Calc-Modulus

Fuente: Software Zview

ANEXO G. VALORES DE LOS PARAMETRÓS DE LOS CIRCUITOS EQUIVALENTES.

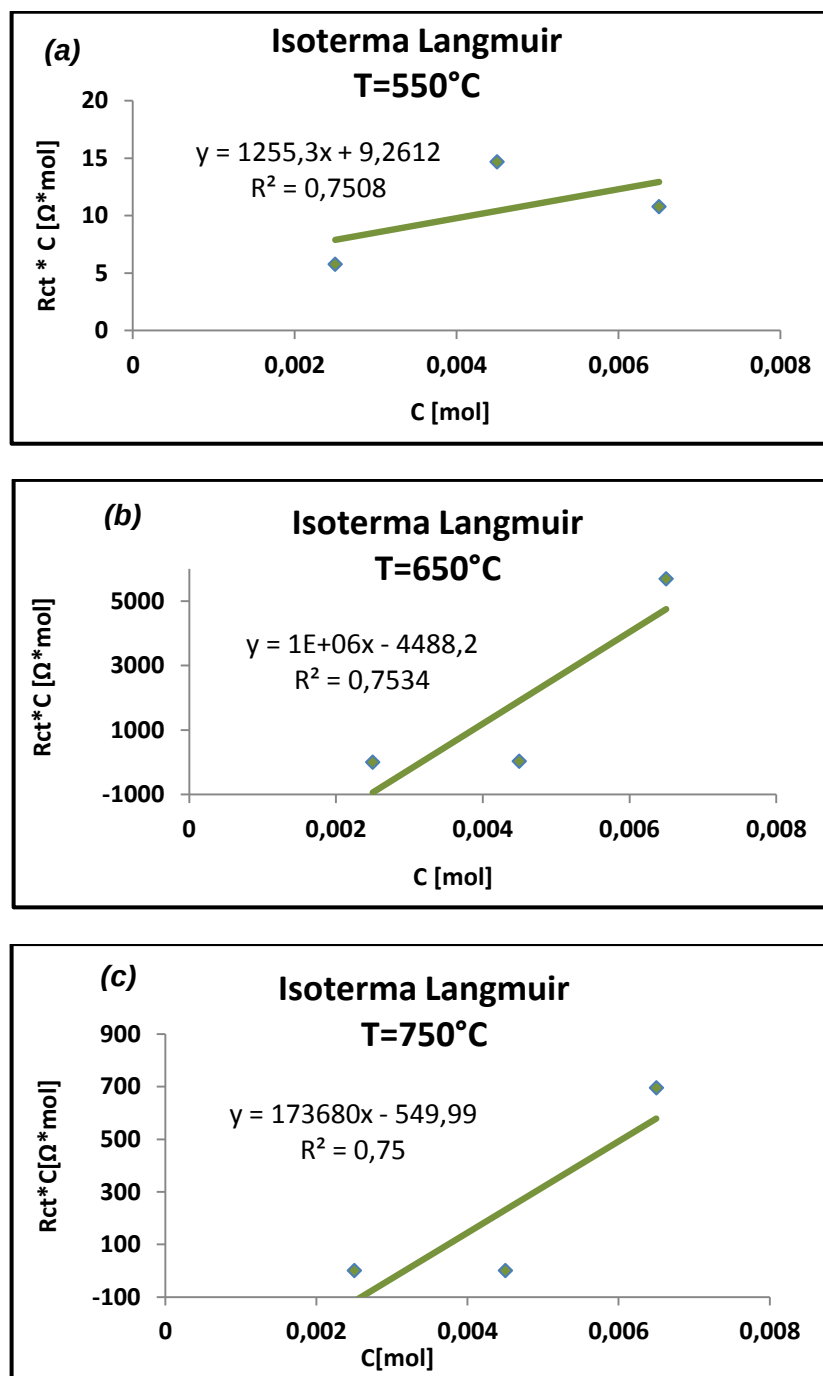
TABLA 10. Valores de los circuitos equivalentes para cada temperatura de tratamiento térmico.

Superficie	T °C	[Ca ⁺²]	R _{sln} (ohm)	R _{ct} (ohm)	n	CPE1	R(ads) (ohm)	n	CPE2
SIN PATRONAMIENTO	550	2.5	65,28	1,696E+11	0,78603	7,5938E-6	391	0,46695	5,03E-5
	650		198	1,232E+10	0,86114	1,2578E-6	4218	0,30352	0,00012201
	750		211,1	412680	0,87525	1,7711E-8	2490	0,61724	9,9408E-7
CON PATRONAMIENTO POR LITOGRAFÍA LASER	550	2.5	73,13	4,506E+13	0,69861	7,6178E-6	2305	0,39019	4,3507E-5
		4.5	66,43	4,496E+14	0,5499	8,1552E-5	6263	0,5104	0,00037075
		6.5	79,36	1,000E+20	0,69687	7,9421E-6	1659	0,50706	5,9767E-5
	650	2.5	80,53	2,568E+19	0,81093	2,4016E-6	2340	0,28561	9,0978E-5
		4.5	72,13	7,308E+19	0,77404	3,2144E-6	7097	0,54414	0,00010389
		6.5	-11571	368340	0,37828	1,0014E-7	876020	0,75482	6,9376E-8
	750	2.5	64,89	32317	0,78757	1,6897E-7	0,012483	0,3044	6,3358E-6
		4.5	19,84	14912	0,69083	6,1031E-7	0,00043233	0,19015	2,3884E-5
		6.5	595,8	86466	0,58004	7,4196E-8	106880	0,64289	1,9094E-6

Fuente: Los Autores

ANEXO H. DATOS TERMODINÁMICOS DE ADSORCIÓN

Figura 31. Ajuste de datos experimentales a la a isoterma de Langmuir, para los recubrimientos patronados y tratados **(a)** 550°C **(b)**650°C y **(c)**750°C.



Fuente: Los Autores