

**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS QUITOSANO-PEG
SOBRE LA ALEACIÓN Ti6Al4V**

**SANDRA MILENA GUERRERO BARAJAS
DAVID RAFAEL HERNANDEZ SALAS**

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

2015

**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS QUITOSANO-PEG
SOBRE LA ALEACIÓN Ti6Al4V**

**SANDRA MILENA GUERRERO BARAJAS
DAVID RAFAEL HERNANDEZ SALAS**

**Tesis de grado para optar al título de
Ingeniero Metalúrgico**

**Directores:
DARÍO YESID PEÑA BALLESTEROS
Ingeniero Metalúrgico, Ph.D**

**ANDERSON ANDRÉS SANDOVAL AMADOR
Físico, Candidato a Magister en Ciencia de los Materiales**

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

2015

DEDICATORIA

Gracias a Dios por la sabiduría y fortaleza que me ha brindado para llegar a este punto de mi vida.

A mi madre por enseñarme a ser fuerte y por todo ese amor incondicional que nunca me ha faltado.

A mi padre por el apoyo brindado y por la confianza que han depositado en mí.

A Mercedes por abrirme las puertas de su casa y su corazón.

A mis hermanas y hermano por brindarme su cariño y hacer de mi vida algo maravilloso.

A mis amigos por todos los ratos de alegría y momentos compartidos.

A todas aquellas personas que de algún modo hacen parte de este logro para mi vida profesional.

Sandra Milena Guerrero Barajas.

DEDICATORIA

Ante todo a Dios por darme la oportunidad de vivir esta linda experiencia en mi preparación como profesional, siendo artífice de todo lo que he podido lograr, toda la gloria y agradecimientos sea para Él.

A mi Madre por brindarme ese apoyo y amor incondicional en todo momento, en formarme como persona y llenarme de valor para seguir luchando por mis sueños, a ella siempre todo agradecimiento cariño y mucho amor.

A mi Padre por darme energía, apoyo y fuerza en los momentos que más lo necesite, que siempre estuvo allí desde el principio dando ánimos, amor y entrega de su parte para que este objetivo fuese cumplido.

Al resto de mi familia, por todo lo que siempre me ofrecieron, ese apoyo incondicional en los momentos que más los necesite, esto es un logro para todos ellos también.

A mis amigos, especialmente a Andrés Martínez, Javier Rojas, Carlos Hinojosa, Carlos Caicedo, Beatriz Mayorca, Andrés Sánchez, Juana R, por tantos momentos compartidos dentro y fuera de la universidad y apoyo, durante todo este tiempo y a mi compañera de tesis Sami, por todo el trabajo, sacrificio y empeño que pusimos en lograr este objetivo.

A todas las personas que he conocido, en todo este tiempo, por el aprendizaje, conocimiento y experiencia que me han generado un efecto positivo en mí.

DAVID RAFAEL HERNANDEZ SALAS.

AGRADECIMIENTOS

En forma de agradecimiento frente al trabajo realizado en este proyecto, queremos dedicar nuestra gratitud a las siguientes personas y entidades:

A nuestro Director de proyecto. Ph.D Darío Yesid Peña Ballesteros, por su apoyo y disposición absoluta, enseñándonos dentro y fuera de clase acerca de los procesos de corrosión.

A nuestro Codirector de proyecto. Físico Anderson Sandoval, por la oportunidad brindada, la dedicación y el conocimiento ofrecido para el desarrollo de esta investigación.

A los Todos los docentes de Ingeniería Metalúrgica, por el aporte brindado en las diferentes consultas realizadas en el transcurso de este proyecto.

Al Laboratorio GIMBA, por el servicio prestado en el análisis de absorción atómica y por el préstamo de equipos para la realización de los ensayos de dip-coating.

Los Laboratorios de Microscopia por los servicios prestados en las diferentes pruebas de caracterización para el desarrollo de este proyecto.

A la sede de Guatigará, en especial los miembros del Grupo de investigación de corrosión (GIC) por capacitarnos y darnos la posibilidad de emplear los equipos y materiales necesarios para el desarrollo de este proyecto.

A la Universidad Industrial de Santander (UIS) y a la Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales por brindarnos la posibilidad de formarnos como profesionales con alta calidad humana y académica.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	16
1.OBJETIVOS.....	18
1.1 OBJETIVO GENERAL	18
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	19
2.1 BIOMATERIALES:	19
2.1.1 Biomateriales metálicos:	19
2.1.2. Biomateriales poliméricos:	20
2.1.2.1 Quitosano:.....	20
2.1.2.2 Polietilenglicol (PEG):	21
2.2 DIP COATING:.....	22
3.ESTADO DEL ARTE.....	22
4.METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	26
5.RESULTADOS Y ANÁLISIS	32
5.1 CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LA ALEACIÓN TI6AL4V	32
5.2 TRATAMIENTO SUPERFICIAL ALCALINO Y TRATAMIENTO TÉRMICO.....	33
5.3 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR ÁNGULO DE CONTACTO.....	34

5.4 DETERMINACIÓN DE FORMACIÓN DE APATITAS DESPUÉS DE INMERSIÓN EN HANK'S POR ABSORCIÓN ATÓMICA.....	36
5.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO ANTES DE INMERSIÓN.	37
5.6 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DESPUÉS DE INMERSIÓN.....	42
5.7 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (IR).....	45
5.9 ANÁLISIS POR CIRCUITOS EQUIVALENTES	52
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	55
7. CONCLUSIONES	57
8. RECOMENDACIONES	58
BIBLIOGRAFIA	¡Error! Marcador no definido.
ANEXO	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura molecular del quitosano [12].....	21
Figura 2. Estructura molecular del polietilenglicol [14].	21
Figura 3. Metodología experimental realizada para el presente trabajo.....	26
Figura 4. Análisis MEB – EDX de la aleación Ti6Al4V. a) Análisis EDX b) Micrografía electrónica de barrido tomada a 5000X por medio de la técnica de electrones secundarios.	32
Figura 5. Micrografía aleación Ti6Al4V atacada con reactivo Kroll.	33
Figura 6. Ángulo de contacto.	35
Figura 7. Concentración de calcio presente en el fluido para las diferentes relaciones poliméricas.	36
Figura 8. Sustrato con 5 capas, relación 50/50 de Quitosano/PEG tomada a 40000X Preinmersión.	38
Figura 9. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 5000X y 40000X, 5 capas relación 30/70 (a), 50/50 (b), 70/30 (c) y análisis EDX. (Antes de inmersión)	38
Figura 10. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 5000X; relación 50/50, 3 capas (a), 5 capas (b), 7 capas (c); (Antes de inmersión).	40
Figura 11. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 40000X; relación 50/50, 3 capas (a), 5 capas (b), 7 capas (c); y análisis EDX.	41
Figura 12. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 5000X; 5 capas relación 30/70 (a), 50/50 (b), y 70/30 (c). (después de inmersión).....	42
Figura 13. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 5000X y 40000X, relación 50/50, 3 capas (a), 5 capas (b), 7 capas (c) y análisis EDX.(después de inmersión).	44
Figura 14. Espectro de infrarrojo para la relación 30/70, 50/50, 70/30 de Quitosano:PEG, 5 capas.	46
Figura 15. Diagrama de bode (a) y diagrama de Nyquist (b) para las diferentes relaciones de Quitosano/PEG.....	48

Figura 16. Diagrama de bode (a) y diagrama de Nyquist (b) para los diferentes números de capas.	49
Figura 17. Curva de polarización obtenida para los recubrimientos a) relaciones Quitosano/PEG b) Número de capas.....	50
Figura 18. Circuito equivalente representativo de las interfaces para el sistema estudiado.	53
Figura 19. Diagrama de Pareto estandarizada para biocompatibilidad.	79
Figura 20. Análisis de varianza	80

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cantidades para la preparación de la solución Quitosano/PEG.	28
Tabla 2. Diseño de experimentos.	28
Tabla 3. Composición química de la solución salina de Hank's para pruebas de bioactividad in vitro [28].	30
Tabla 4. Calcio y fósforo presente en los recubrimientos después de inmersión para las diferentes condiciones.....	43
Tabla 5. Asignación de las bandas presentes en el espectro de infrarrojo para las relaciones poliméricas Quitosano:PEG.....	46
Tabla 6. Velocidades de degradación del recubrimiento según las relaciones poliméricas.....	51
Tabla 7. Velocidades de degradación del recubrimiento según el número de capas.	51
Tabla 8. Valores de los elementos del circuito equivalente.....	53
Tabla 9. Análisis de varianza para biocompatibilidad.....	80

RESUMEN

TITULO: OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS QUITOSANO-PEG SOBRE LA ALEACIÓN Ti6Al4V.

AUTORES: GUERRERO BARAJAS, SANDRA MILENA. HERNÁNDEZ SALAS, DAVID RAFAEL**.

PALABRAS CLAVES: Ti6Al4V, Quitosano, Polietilenglicol, dip coating, Hanks.

DESCRIPCIÓN:

En el presente trabajo de investigación se obtuvo recubrimientos de PEG/Quitosano por mezclas poliméricas y conformadas por la técnica de dip coating, sobre un sustrato de Ti6Al4V con el objetivo de analizar su comportamiento bioactivo en cuanto a la formación de apatitas y comportamiento electroquímico frente a un fluido fisiológico simulado (HANK'S), para esto se evalúa las propiedades de los recubrimientos mediante técnicas de impedancia electroquímica, absorción atómica, ángulo de contacto, SEM, FTIR y EDS entre otras y así identificar la degradación a la cual es sometido el biomaterial en ambientes simulados.

Los resultados mostraron la formación de fosfatos de calcio debido a la variación de los polímeros, donde se observó deposición de calcio sobre la superficie de la probeta luego de estar en contacto durante 7 días con el fluido corporal simulado (HANKS), Además se hizo un estudio con las técnicas electroquímicas que determinó la resistencia a la polarización en conjunto con la velocidad de corrosión del material. Con base a estos resultados es válido afirmar que la relación que presentó una mejor respuesta fue la de 50:50 Quitosano/ PEG, la cual generó una capa bioactiva sobre la aleación de Ti6Al4V permitiendo una mejor interacción con el medio para intercambiar iones, por otro lado se conservaron las propiedades resistivas del material base estimándolo como un material con alta compatibilidad frente a el fluido corporal.

*Proyecto de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería metalúrgica y Ciencia de materiales. Director: Ph.D DARIO YESID PEÑA BALLESTEROS. Codirector: Físico. ANDERSON ANDRES SANDOVAL AMADOR.

ABSTRACT

TITLE: OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN-PEG FILMS ON Ti6Al4V ALLOY*.

AUTHORS: GUERRERO BARAJAS, SANDRA MILENA. HERNÁNDEZ SALAS, DAVID RAFAEL**.

KEYWORDS: Ti6Al4V, Chitosan, Polyethylene glycol, Dip Coating, Hanks,

DESCRIPTION:

In the present research coatings PEG / chitosan was obtained by polymer blends and by the technique of dip coating on Ti6Al4V substrate, in order to analyze its bioactive behavior regarding the formation of apatite and electrochemical behavior in a simulated physiological fluid (Hank's). The properties of the coatings was evaluated by techniques of electrochemical impedance, atomic absorption, contact angle, SEM, FTIR and EDS among other and identify the degradation to which is subjected the biomaterial in simulated environments.

The results showed the formation of calcium phosphates because the variation of the polymers, where deposition of calcium on the surface of the specimen after being in contact for 7 days in simulated body fluid (HANKS) was observed, with a study was made with electrochemical techniques to determine the polarization resistance in conjunction with the corrosion rate of material. Based on these results, it is valid to say that the relationship presented a better response was 50:50 Chitosan / PEG, which generated a bioactive coating on Ti6Al4V alloy allowing for better interaction with the environment to exchange ions, on the other side the resistive properties of the base material as a material by estimating high compatibility with the body fluid against preserved.

*Proyecto de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería metalúrgica y Ciencia de materiales. Director: M. Sc. DARIO YESID PEÑA BALLESTEROS. Codirector: Físico. ANDERSON ANDRES SANDOVAL AMADOR.

INTRODUCCIÓN

Los biomateriales sirven como un componente integral de la ingeniería de tejidos. Están diseñados para proporcionar un marco arquitectónico de la matriz extracelular nativa con el fin de estimular el crecimiento celular y la eventual regeneración de tejidos [1]. Por lo tanto estos materiales son un campo de investigación emergente, donde cada día se busca mejorar la calidad de los materiales enfocándolo en la reparación de tejidos y donde ciertas enfermedades siguen estando en estudio; por esto requiere de la investigación y desarrollo de materiales, y el conocimiento de los procesos biológicos que se desarrollan cuando un material hace contacto con fluidos corporales, en este sentido resulta fundamental estudiar las condiciones que se dan en la superficie del material, ya que es allí donde se inicia el proceso de activación química [2,3].

Actualmente metales puros y aleaciones de Ti6Al4V son ampliamente utilizados para implantes metálicos de soporte de carga debido a su excepcionalmente buena resistencia a la corrosión y excelente biocompatibilidad con el fin de obtener un resultado más favorable en la implantación; se realizó un estudio de la interacción entre el metal y recubrimiento polimérico, el cual se obtuvo mediante la técnica de dip coating [4,5].

En el presente trabajo de investigación se obtuvieron recubrimientos de Quitosano/PEG por mezclas poliméricas variando a su vez el número de capas poliméricas conformadas por la técnica de dip coating, sobre un sustrato de Ti6Al4V para analizar su comportamiento bioactivo en cuanto a la formación de apatitas y comportamiento electroquímico en presencia de un fluido fisiológico simulado (solución Hank's), su comportamiento se estudió mediante las técnicas

de ángulo de contacto, absorción atómica, impedancia electroquímica, MEB, FTIR y EDX.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de formación de apatitas y la respuesta electroquímica de recubrimientos de Quitosano/PEG obtenidos sobre sustrato de Ti6Al4V mediante la técnica de Dip coating.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar la morfología, mojabilidad y la capacidad de formación de apatitas de las superficies Quitosano/PEG mediante ángulo de contacto, absorción atómica, FTIR y SEM-EDS.

Evaluar el comportamiento electroquímico de las superficies de Quitosano/PEG mediante la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica y curvas de polarización potenciodinámica en solución salina de Hank's.

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 BIOMATERIALES:

Son sustancias o productos, naturales o sintéticos, empleados en seres vivos para sustituir, mejorar o promover una función fisiológica en el organismo, ya sea en un órgano o una estructura tisular. Estos materiales deben caracterizarse por ser no tóxicos o cancerígenos, tener excelentes propiedades mecánicas y de fatiga, así como una buena relación densidad/peso [6].

2.1.1 Biomateriales metálicos: Los metales han sido muy utilizados como biomateriales para propósitos como la fabricación de prótesis para reemplazar una parte del cuerpo, implantes utilizados en la estabilización y ayuda al proceso de reparación de un tejido. Los metales más utilizados son los aceros inoxidable y aleaciones como Co-Cr, Co-Cr-Mo, Co-Cr-Ni y aleaciones a base de titanio, aluminio y vanadio. Por otra parte, estos implantes pueden experimentar un proceso de corrosión, por lo que es la resistencia a la corrosión una de sus características más importantes, ya que forman óxidos o películas sólidas de hidróxidos sobre su superficie [7].

El Ti6AL4V es una aleación que se emplea en la fabricación de articulaciones artificiales y raíces dentales entre otras, debido a su alta biocompatibilidad mecánica, ya que su módulo de Young es bajo (120 -136 GPa); El módulo de esta aleación es la más cercana a la del hueso humano (10 – 30 GPa). Este material desempeña el papel principal en la estimulación de la absorción ósea después de la implantación, lo cual es una ventaja importante para su aplicación como

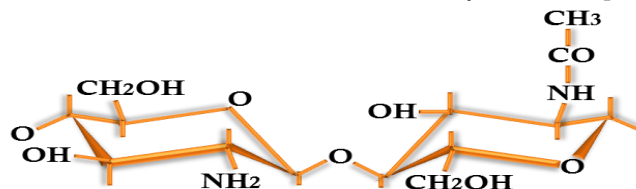
biomaterial y para la fabricación de implantes quirúrgicos que reemplaza a los tejidos duros [8], [9].

2.1.2. Biomateriales poliméricos: Los materiales poliméricos, ampliamente utilizados en clínica, deben su éxito a las enormes posibilidades que presentan, tanto por la variedad de compuestos, como por ofrecer la posibilidad de fabricarlos de muy distintas maneras, con características bien determinadas, y con la facilidad de conformarlos en fibras, tejidos, películas o bloques. Tanto en el área de implantes quirúrgicos, como en la de membranas protectoras o en la de sistemas de dosificación de fármacos existen aplicaciones de este tipo de materiales. Además, estos compuestos pueden ser naturales o sintéticos, orgánicos o inorgánicos, biodegradables o no, pero en todo caso han de ser compatibles con el tejido a regenerar [10].

2.1.2.1 Quitosano: El quitosano es un polisacárido catiónico natural compuesto distribuido al azar de N-acetil-D-glucosamina y b-(1,4) vinculado-D-glucosamina. El quitosano se puede sintetizar químicamente a través de la desacetilación alcalina de la quitina, que es el componente principal de las cutículas de protección de crustáceos.

El quitosano es biodegradable in vivo por enzimas tales como la lisozima, que es endógena y no tóxica. Además, la biodegradación de quitosano está altamente asociada con el grado de desacetilación. Estas propiedades hacen del quitosano un atractivo para la aplicación clínica y biológica como un material altamente biocompatible con baja toxicidad e inmunogenicidad [11].

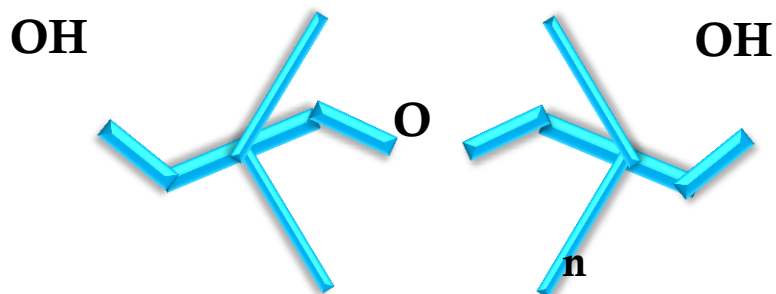
Figura 1. Estructura molecular del quitosano [12]



2.1.2.2 Polietilenglicol (PEG): El polietilenglicol es un polímero soluble en agua debido a que tiene una molécula de oxígeno como eje central, por eso cuando se copolimeriza puede contribuir significativamente a la hidrofiliidad del polímero sustituyente, puede ser unido covalentemente a ciertas moléculas. La adición de polietilenglicol no cambia la identidad, pureza, o actividades biológicas.[13].

El PEG es sintetizado por polimerización aniónico/catiónica, sin modificaciones el PEG no es degradable, sin embargo se puede unir a otros polímeros para permitir la degradación del material. Debido a su cadena lineal tiene una rápida difusión y baja estabilidad mecánica, muchas aplicaciones biomédicas incorporan el PEG, esto se debe a que se logra hacer una modificación fácil ya sea por reticulación de grupos para la formación de una nueva red o por la creación de grupos degradables [14].

Figura 2. Estructura molecular del polietilenglicol [14].



2.2 DIP COATING: Técnica para realizar un recubrimiento por inmersión, donde el sustrato se retira verticalmente del líquido y el sustrato en movimiento arrastra el líquido del fluido, posteriormente ya retirado se somete a más calor o un proceso de secado para solidificar el depósito. [10].

3. ESTADO DEL ARTE

Para identificar las variables que influyen en los biomateriales dentro del ser vivo es importante determinar la variación química que existe dentro del cuerpo a medida que el flujo sanguíneo acepta un cuerpo extraño, por lo tanto es de vital importancia comprender el funcionamiento de la superficie expuesta a este medio corporal ya que puede ser perjudicial la implementación en un medio no viable. Para intervenir estos temas, se han llevado a cabo diferentes estudios de biomateriales con diferentes recubrimientos poliméricos y no poliméricos apoyados en distintas técnicas de caracterización y análisis superficial.

Wei y colaboradores (2002), encontraron que el tratamiento óptimo para obtener inducción de apatitas en un fluido corporal simulado fue utilizar un baño de NaOH por 3 días al 5 molar. Para mejorar la capa de titanato de sodio se sometió a un tratamiento térmico a distintas temperaturas y se obtuvo una mejor consolidación del sustrato a 600°C. Todo esto dio lugar a una proliferación más veloz por parte de la apatita al tomar únicamente 3 días de inmersión en el SBF. La aceleración de la tasa de formación de la apatita fue significativa, ya que debe permitir un soporte de carga de la prótesis rápido, después de la implantación [15].

Zhang y colaboradores (2002), modificaron la biocompatibilidad del Quitosano por métodos físicos y biológicos para evaluar los niveles celular y proteínas

proporcionando una base teórica para la selección de los biomateriales. Estudiaron las propiedades de materiales fabricados mediante la mezcla de quitosano con diferentes tipos de polietilenglicol (PEG). La adición de PEG mejoró el crecimiento y proliferación de proteínas, pero una cantidad adicional redujo su efecto, a parte obtuvieron las propiedades mecánicas de la membrana de quitosano puede mejorar con la cantidad adecuada de PEG sin embargo los diferentes pesos moleculares no tuvieron mayor cambio en las propiedades mecánicas [16].

Darío Peña y colaboradores (2010), obtuvieron fosfato de calcio-quitosano sobre un sustrato de Ti6Al4V por electrodeposición catódica los cuales fueron caracterizados morfológicamente y químicamente, para determinar la estructura y asociaciones químicas entre los dos componentes. Los resultados mostraron recubrimientos con disminución en la cristalinidad cuando se aumentaba la cantidad de quitosano sin embargo, el DRX confirmó el efecto del polisacárido en la variación de cristalinidad. No obstante diferencias en los resultados electroquímicos con las muestras de mayor cantidad de quitosano pueden notarse debido a una mayor reactividad superficial [18].

A. Demczuk y colaboradores (2011), examinaron la resistencia a la corrosión de la aleación Ti6Al4V en soluciones de saliva artificial y fluido corporal simulado (SBF). Los resultados obtenidos muestran que las probetas con la superficie pulida tienen mejor resistencia a la corrosión que las de la superficie solamente desbastada para diferentes valores de pH y por lo tanto, se hace necesario que los materiales usados en aplicaciones biomédicas cuenten con una superficie pulida o con recubrimientos adicionales [19].

W.J Seeto y colaboradores (2013), examinaron un tipo de células formadoras de colonias células progenitoras endoteliales (EPC) basado en su capacidad para ser expandido en cultivo y diferenciarse en células endoteliales maduras además se determinó la capacidad relativa de algunos péptidos para reducir la velocidad de laminación de EPC. El uso de un sistema de cámara de flujo de placas paralelas ayudo el estudio del efecto de los péptidos en las células formadoras de colonias endoteliales (ECFC), sin embargo los hidrogeles PEGDA no apoyaron la evolución del ECFC ya que redujeron la velocidad de rotación a un grado insignificante [20].

Agata Przekora y Grażyna Ginalska (2013), evaluaron la biocompatibilidad de los dos tipos de nuevos compuestos a base de quitosano de krill, además realizaron pruebas de citotoxicidad, adhesión celular y la actividad de fosfatasa alcalina (ALP) de hueso para evaluar biocompatibilidad de los materiales compuestos. En los resultados se obtuvo un crecimiento de los osteoblastos, no tóxicos, favorables a la adhesión celular y el crecimiento, provocando una actividad al transcurrir el tiempo. Además este trabajo dio lugar a la fabricaciones de sustitutos óseos que poseen biocompatibilidad absoluta con propiedades estructurales y mecánicas similares al hueso trabecular [21].

Zhonggen Shi (2013), trabajaron en la liberación de fármacos preparando de forma conveniente quitosano, ácido desoxicólico, polietilenglicol y ácido fólico (CS-DCA-PEG-AF) para encapsular doxorubicina (DOX) un medicamento contra el cáncer, los ensayos in vitro se hicieron fibroblastos 3T3 y células HeLa utilizando el ensayo de placas de microtitulación (MTT), los resultados mostraron viabilidad celular, baja citotoxicidad y favorable compatibilidad celular de las nanopartículas por lo tanto se dejó claro el control de la eficiencia de liberación y significativo antitumoral actividad in vitro[22].

Andrés Quintero Jaime (2013). Evaluó la superficie de Policaprolactona-Quitosano patronadas por ablación láser. Preparó muestras de Ti6Al4V con un recubrimiento de PCL/Quitosano los cuales se modificaron topográficamente por ablación laser generando cráteres a ciertas distancias. Se obtuvo un aumento en la adsorción y precipitación de fosfatos de calcio debido a los sitios activos generados, que permitieron una interacción iónica entre el fluido fisiológico y la superficie biopolimérica [23].

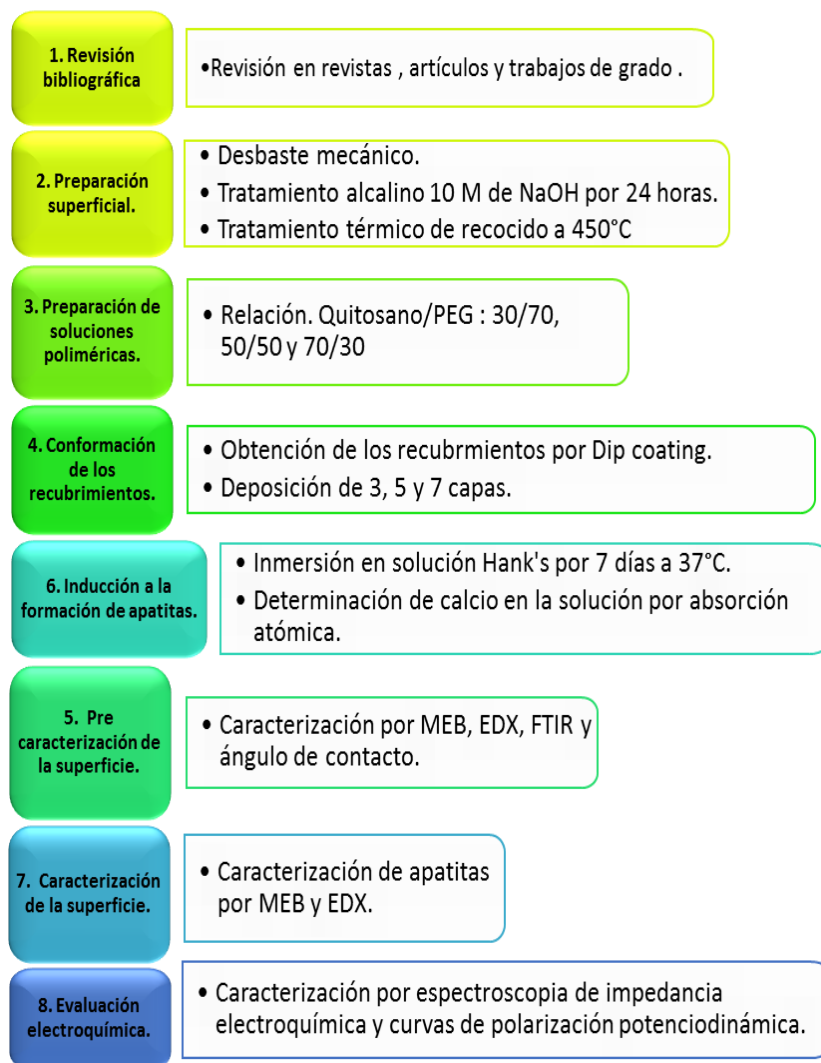
Elena Llorens y colaboradores (2014). realizaron andamios con mezclas de polilactida (PLA) y poli etilenglicol (PEG) por medio de la técnica de electrospinning, fueron puestas en agua y etanol, el mejor resultado se obtuvo en la primera donde se presentó una buena adhesión celular y proliferación , la proliferación fue más favorable donde había mayor presencia de PEG, además de que las fibras que se obtuvieron eran de diámetro más pequeño lo que facilita el crecimiento celular, se encontró también que el PEG no permite la adhesión bacterial debido a que estas no poseen las enzimas adecuadas para metabolizarlo[24].

Jing Chen y colaboradores (2015) fabricaron monolitos híbridos con quitosano añadiendo una fase de vidrio bioactivo fueron fabricados por polidimetisiloxano (PDMS) modificados por la técnica de sol-gel, donde encontraron que los soles de vidrio bioactivo pueden ser miscibles con la solución de quitosano, realizaron prueba de bioactividad en SBF durante 7 días; por resultados de EDX, FTIR y SEM mostraron que los monolitos híbridos presentan una gran bioactividad y capacidad de formación de apatitas con una superficie porosa uniforme, haciendo de estos monolitos un candidato potencial como implante de reparación ósea. [25]

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

A continuación se presenta el esquema general de la metodología que se seguirá durante el desarrollo de la investigación.

Figura 3. Metodología experimental realizada para el presente trabajo.



ETAPA 1: REVISION BIBLIOGRÁFICA

Se realizó permanentemente una revisión detallada de los conceptos relacionados con el comportamiento de superficies de quitosano-PEG. La información fue tomada de artículos científicos, tesis de grado y libros.

ETAPA 2: PREPARACIÓN SUPERFICIAL

Se emplearon muestras de Ti6Al4V con un diámetro de 14 mm y una altura de 3 mm. Inicialmente se llevó a cabo un desbaste mecánico con papel de carburo de silicio número 120 hasta 600, seguido de pulido de paños con alúmina de 3 micras y 0.05 micras. Luego las muestras se enjuagaron en un baño ultrasónico con etanol durante 10 minutos y finalmente fueron secadas y almacenadas en el desecador. Todo esto basado en la norma ASTM E3 - 11 [26]. Aleatoriamente una se atacó con reactivo Kroll según la norma ASTM E407 [27] para así revelar su microestructura.

Seguidamente se realizó un tratamiento alcalino con el fin de activar la superficie, que se llevó a inmersión en solución NaOH con una concentración de 10M por 24 horas a 60°C en un baño hidrotermal. Luego del tratamiento en solución alcalina, las muestras se lavaron y secaron. Posteriormente se realizó un tratamiento térmico de recocido a 450 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/min, con sostenimiento a 1 hora con el fin de formar la capa sólida de titanato de sodio.

ETAPA 3: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES POLIMÉRICAS

Las soluciones poliméricas de PEG/Quitosano fueron preparadas a partir de soluciones individuales de polietilenglicol y quitosano, disueltas en agua y ácido acético 0,5 M respectivamente, posteriormente se mezclaron para formar una única solución homogénea. Se obtuvieron tres soluciones con relaciones 30:70, 50:50 y 70:30 de Quitosano/PEG. En la tabla 1 se muestran las cantidades utilizadas de quitosano y PEG para la preparación de las relaciones poliméricas.

Tabla 1. Cantidades para la preparación de la solución Quitosano/PEG.

Quitosano [g]	Ácido acético [ml]	PEG [g]	Agua Destilada [ml]	Relación Quitosano/PEG
0,09	9	0,21	21	30:70
0,15	15	0,15	15	50:50:
0,21	21	0,09	9	70:30

Diseño de experimentos.

Diseño estadístico basado en ensayos preliminares y en la revisión bibliográfica. El diseño factorial fue 3^2 con dos variables de experimentación (variación en las relaciones Quitosano/PEG y el número de capas) y una variable de estudio : biocompatibilidad .

Tabla 2. Diseño de experimentos.

	Quitosano/PEG	Número de capas
Probeta 1 : C1	30/70	3
Probeta 2 : C2	50/50	3
Probeta 3 : C3	70/30	3
Probeta 4 : C4	30/70	5
Probeta 5 : C5	50/50	5
Probeta 6 : C6	70/30	5

Probeta 7 : C7	30/70	7
Probeta 8 : C8	50/50	7
Probeta 9 : C9	70/30	7

De esto se hizo una réplica por lo tanto fueron 18 probetas, y otras 2 probetas para hacer el análisis individual de la superficie metálica antes de realizar el recubrimiento. De la tabla 2 además de mostrar cómo se distribuyeron las probetas también muestra el nombre dado a cada una, que para efectos prácticos en alguna de las técnicas mostradas en este libro fueron utilizados, como en la tabla de circuitos equivalentes.

ETAPA 4: CONFORMACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS

Las soluciones poliméricas Quitosano/PEG se utilizaron para recubrir la aleación de titanio tratada alcalinamente, mediante la inmersión y extracción del sustrato, bajo la técnica conocida como “Dip Coating”, y posterior evaporación del solvente (Ácido acético y agua). El tiempo de inmersión de las probetas en la solución polimérica fue de 10 segundos, y posteriormente se realizó un secado en una estufa precalentada a 50°C durante 30 minutos. El número de capas realizado en las probetas fue de 3, 5 y 7 capas.

ETAPA 5: INDUCCIÓN DE LA FORMACIÓN DE APATITAS.

Las muestras recubiertas se sumergieron en recipientes de polipropileno con 30 ml de una solución salina de Hank's por 7 días para inducir la formación de apatitas, en un baño hidrotermal a 37 °C. Se tomaron alícuotas de la solución con el fin de observar la variación de calcio en la solución, mediante la técnica de absorción atómica. En la tabla 3 se muestra la composición de la solución salina Hank's.

Tabla 3. Composición química de la solución salina de Hank's para pruebas de bioactividad in vitro [28].

Elementos	NaCl	KCl	MgSO ₄ ·7H ₂ O	CaCl ₂ ·H ₂ O	Na ₂ HPO ₄	KH ₂ PO ₄	Glucosa	NaHCO ₃
Conc. [g/L]	8.0	0.4	0.2	0.185	0.046	0.06	1.0	0.35

ETAPA 6: PRECARACTERIZACIÓN DE LOS POLÍMEROS.

Se llevó a cabo un análisis de las superficies mediante MEB para observar su morfología, EDX para determinar su composición, y ángulo de contacto para evaluar su mojabilidad [29].

ETAPA 7: CARACTERIZACIÓN DE LAS SUPERFICIES

Transcurridos los 7 días las muestras se sacaron, posteriormente se realizó una caracterización mediante microscopía electrónica de barrido (*MEB*) y EDX para identificar la posible formación de apatitas o compuestos de fosfato de calcio.

ETAPA 8: EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA

Mediante la técnica de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica se evaluaron las muestras recubiertas por Quitosano/PEG, se estudiaron en condiciones fisiológicas en solución Hank's usando espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) la cual se utilizó para observar el comportamiento resistivo o capacitivo de las capas poliméricas y polarización potenciodinámica la cual permite ver las respectivas velocidades de corrosión.

Las pruebas electroquímicas se llevaron a cabo en el potenciostato-Galvanostato Gamry 600, ubicado en el GIC. Se empleó una celda plana, compuesta de tres electrodos: un electrodo de trabajo (aleación Ti6Al4V), un contraelectrodo de grafito y un electrodo de referencia de Ag/AgCl. El área de exposición de la muestra fue de 1,33 cm² y a una temperatura de 37°C. Las muestras fueron sumergidas previamente en la solución por 5 minutos para permitir la estabilización del sistema. Las mediciones de impedancia se realizaron haciendo un barrido de frecuencias que van desde 0.01 a 100 000 Hz. Las curvas de polarización potenciodinámicas se llevaron a cabo en un rango de potencial de -500 mV a 2500 mV con una velocidad de barrido de 1 mV/s . Algunas pruebas electroquímicas se llevaron a cabo dos veces para comprobar la reproducibilidad de los resultados.

ETAPA 9: ANÁLISIS Y RESULTADOS Y ELABORACIÓN DEL INFORME FINAL

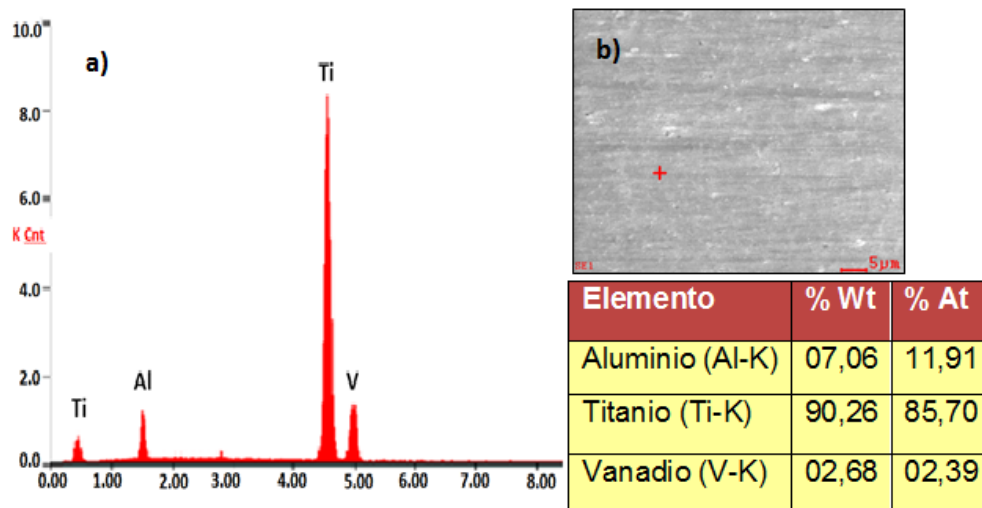
El informe final muestra los resultados de las diferentes pruebas realizadas y su respectivo análisis a partir de la información generada en todo el procedimiento y finalmente las conclusiones.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LA ALEACIÓN Ti6Al4V

La caracterización se enfocó en identificar dos aspectos: naturaleza química de la aleación y su microestructura, para la primera se realizó un análisis por la técnica de EDX (ver figura 4a) en la que se observa corresponde a una aleación de titanio, cuyos elementos aleantes son el aluminio que actúa como estabilizador de la fase α y el vanadio como estabilizador de la fase β [30], en proporciones cercanas a las de la aleación de Ti6Al4V según la norma ASTM F-136 [31].

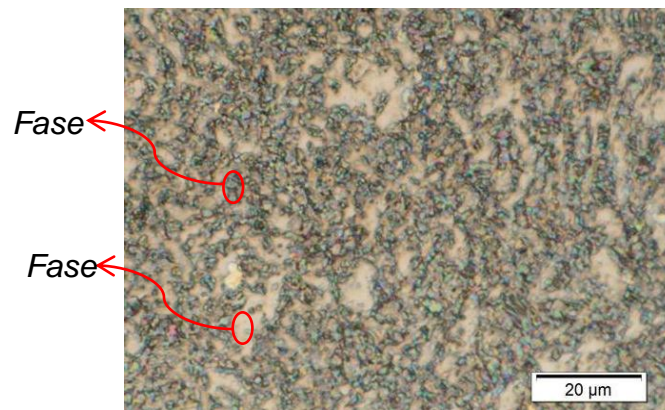
Figura 4. Análisis MEB – EDX de la aleación Ti6Al4V. a) Análisis EDX b) Micrografía electrónica de barrido tomada a 5000X por medio de la técnica de electrones secundarios.



Fuente: Microscopio electrónico de barrido Quanta FEG 650, Laboratorio de Microscopía, UIS – Sede Guatiguará.

Por otra parte, la caracterización de la microestructura, se muestra en la *figura 5* donde se observa la morfología típica de una aleación de Ti6Al4V, con la aparición de la fase alfa (color claro) rica en aluminio que consiste en una estructura cristalina hexagonal compacta (HCP) la cual contiene a la fase beta (color oscuro) rica en vanadio de fase cúbica centrada en el cuerpo (BCC) [32]. La fase α ofrece poca plasticidad y tiende a exhibir propiedades mecánicas y físicas anisotrópicas, mientras que la fase β presenta buena conformabilidad debido a su alta ductilidad [33].

Figura 5. Micrografía aleación Ti6Al4V atacada con reactivo Kroll.

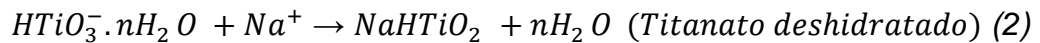
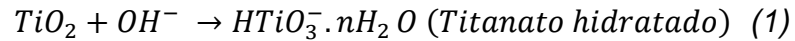


Fuente: Microscopio óptico OLYMPUS GX71, Laboratorio de Microscopía, UIS – Sede Guatiguará.

5.2 TRATAMIENTO SUPERFICIAL ALCALINO Y TRATAMIENTO TÉRMICO

Este tratamiento conducen a la más rápida formación de apatita y el tratamiento térmico a 450°C consolida la capa de hidrogel titanato de sodio y además mejora su adherencia al sustrato, esto se ha comprobado en estudios anteriores que muestran que sin el tratamiento térmico el recubrimiento puede perderse hasta 25% al ser sumergido en el fluido simulado [14] Los metales Ti6Al4V normalmente

cubren su superficie con una capa de óxido de titanio pasiva, cuando esta reacciona con la solución de NaOH, ocurre una disolución parcial de la capa de TiO_2 por acción de los grupos OH^- para dar formación a un titanato hidratado, de acuerdo a las siguientes reacciones:

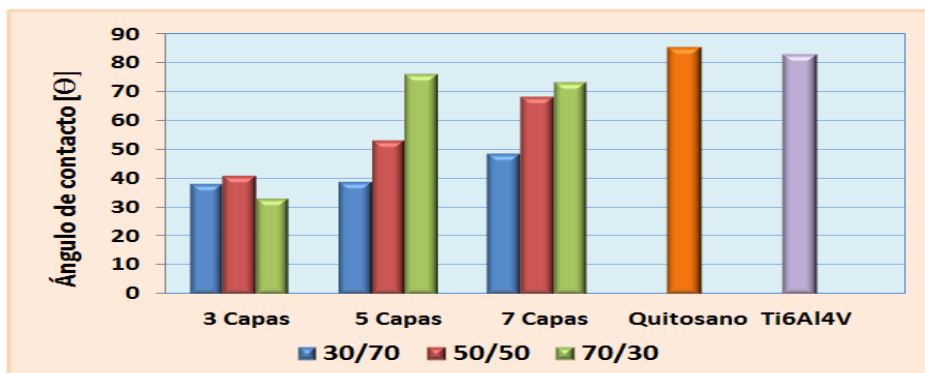


El $HTiO_3^-$ con carga negativa incorpora los iones Na^+ formando el titanato de sodio como se mostró en la reacción 1, durante la deshidratación de sodio como se consolida un sólido iónicamente estable y amorfo [34].

5.3 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR ÁNGULO DE CONTACTO.

Al terminar de conformar los recubrimientos poliméricos, se midió el ángulo de contacto a las 11 probetas para determinar la mojabilidad del recubrimiento, factor que es determinante para un biomaterial ya que garantiza la interacción con la solución salina Hank's. Se utilizó el equipo OCA 15EC – Dataphysics del laboratorio de electroquímica, UIS sede Guatiguará. A continuación se muestra en la *figura 6* los valores promedio de las mediciones de ángulo de contacto para las diferentes relaciones poliméricas Quitosano/PEG, para el sustrato Ti6Al4V, y otras dos las cuales solo contenían un recubrimiento de Quitosano y PEG respectivamente.

Figura 6. Ángulo de contacto.



En la figura 6 aparecen todas las medidas excepto para el PEG que presentó un ángulo de contacto de 0 grados, se observa además que todos los ángulos son inferiores a 90 grados lo cual indica el comportamiento hidrofílico de los materiales

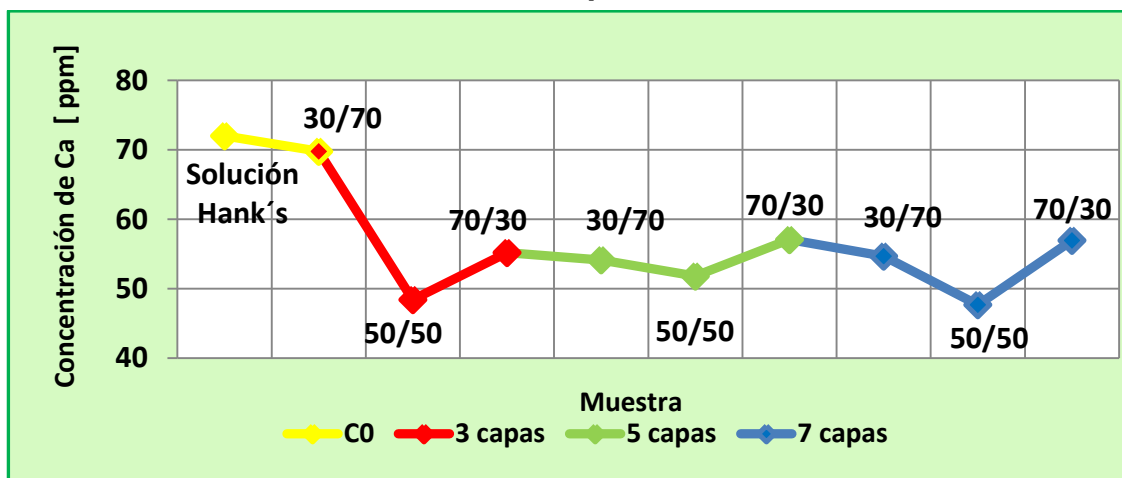
De menor a mayor hidrofiliidad se encuentran las relaciones 70:30, 50:50 y 30:70 de Quitosano/PEG, siendo proporcional la relación de mayor mojabilidad a mayor cantidad de PEG. Esto se debe a que su cadena polimérica se inmoviliza en la superficie de los materiales permitiendo que sus cadenas hidrófilicas fijen la solución al material permitiendo una mejor adsorción [17]. En la relación 70:30 se observó que el material tiende a ser menos hidrofílico ya que al tener una mayor cantidad de quitosano reduce la mojabilidad de la película.

Del análisis del número de capas es fácil notar que entre mayor número de capas tenga el sustrato el comportamiento hidrofílico disminuirá ya que existe más resistencia por parte de la superficie al contacto entre las moléculas poliméricas y la del fluido, debido a que aumenta la cantidad de quitosano siendo este un polímero menos hidrofílico que el PEG por lo tanto, es válido afirmar que entre mayor sea el número de capas en el sustrato, mayor será el ángulo de contacto.

5.4 DETERMINACIÓN DE FORMACIÓN DE APATITAS DESPUÉS DE INMERSIÓN EN HANK'S POR ABSORCIÓN ATÓMICA.

La concentración de calcio presente en la solución Hank's en la cual fueron sumergidas las probetas, se determinó por la técnica de espectroscopia de absorción atómica en el equipo Thermo Electron Corporation S4 AA System, del Grupo de investigaciones minerales, biohidrometalurgia y medio ambiente (GIMBA). Las probetas fueron sumergidas durante 7 días en solución Hank's posteriormente se tomaron alícuotas de 1 ml las cuales fueron llevadas a un volumen de 50 ml en un balón aforado, trabajándose así un factor de dilución de 50. La figura 7 muestra los valores de la concentración de Ca [ppm] en cada una de las probetas.

Figura 7. Concentración de calcio presente en el fluido para las diferentes relaciones poliméricas.



Como se puede observar en la figura 7, existe una variación en la concentración de calcio de las alícuotas con la solución Hank's, debido al fenómeno de adsorción del ion Ca^{+} por parte de las probetas, por lo que se disminuye su concentración en cada alícuota.

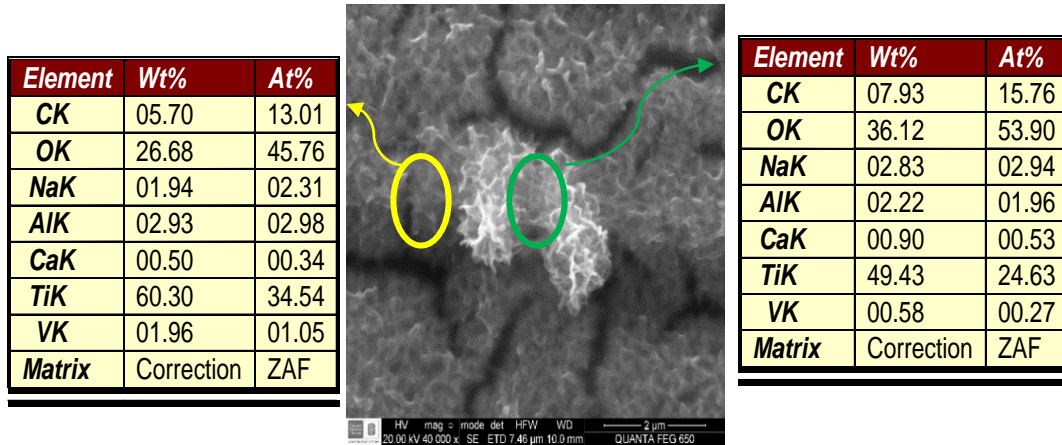
Cabe destacar que los recubrimientos que absorbieron más calcio fueron las relaciones 50/50 esto quiere decir, que reúne la mejor combinación de las relaciones poliméricas; por parte del quitosano el tener una matriz porosa lo hace más apto para que interactúe con el fluido debido a que aumenta su área superficial, favoreciendo así la nucleación y el crecimiento de los fosfatos [35]. Por su parte el PEG es un polímero soluble en agua, fácilmente este permite la activación de especies de oxígeno lo que le podría proporcionar una red de enlaces de electrones para adsorber Ca^{+} por interacción electrostática para así formar sitios de nucleación de apatitas [36]. Estas condiciones junto con la capa de titanato formada por el baño alcalino permiten que al interactuar con el fluido fisiológico se facilite la precipitación de fosfatos de calcio los cuales actúan como puntos de nucleación para la formación de apatitas, las cuales son formadas a medida que sobre la capa polimérica aumenta la concentración de calcio y fósforo [15].

5.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO ANTES DE INMERSIÓN.

Se observa en la *figura 8*, de manera general, que todas tienen unos precipitados blancos de quitosano (zona verde) y otra zona más oscura (zona amarilla) que hacen referencia a la matriz del quitosano la cual contiene partículas de PEG, las grietas formadas correspondientes a la matriz porosa del quitosano el cual, tiene

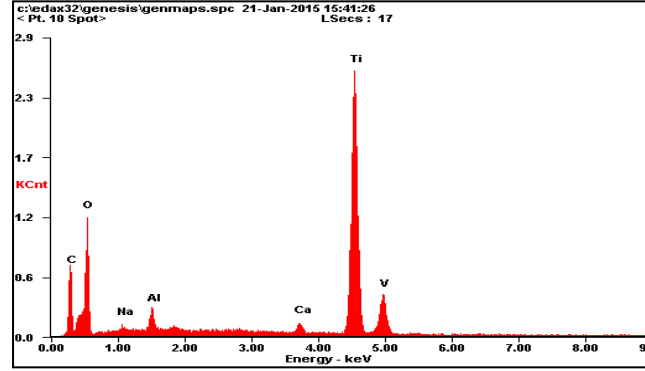
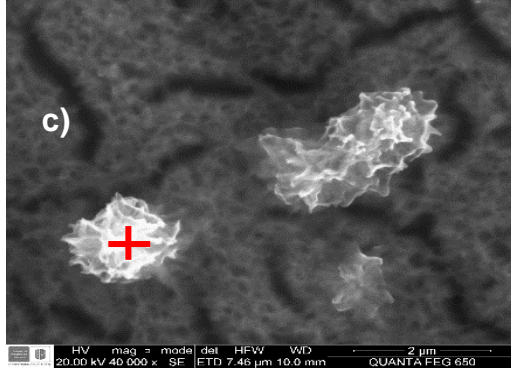
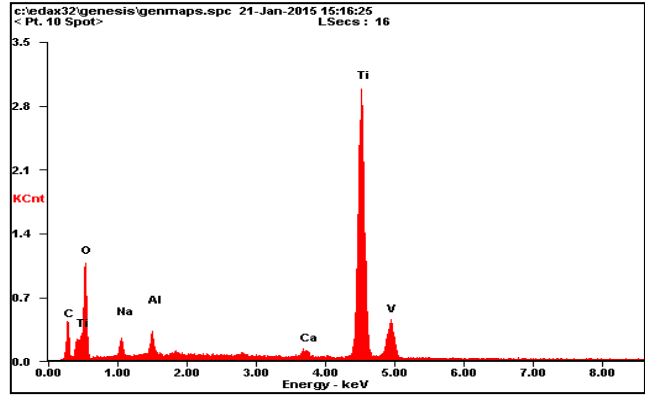
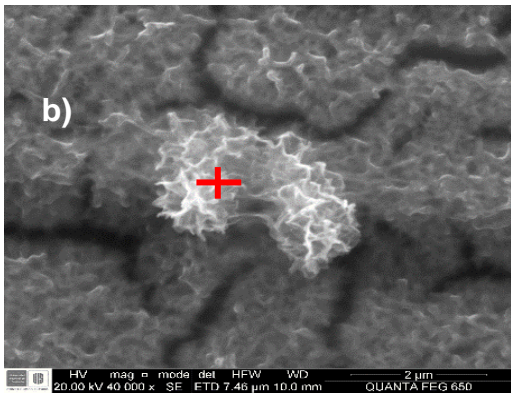
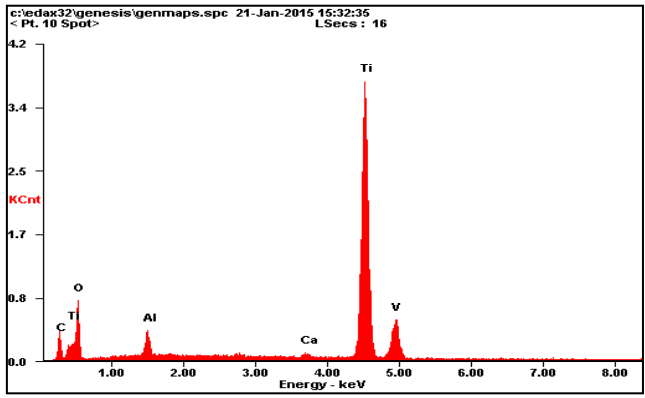
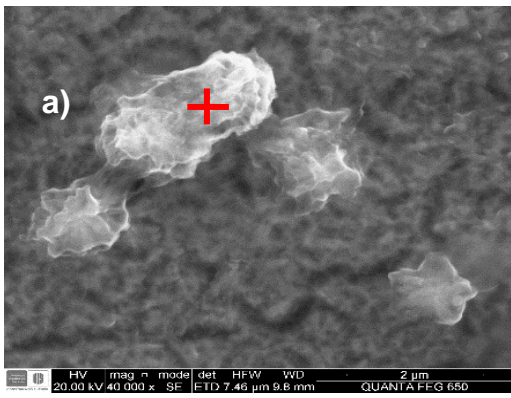
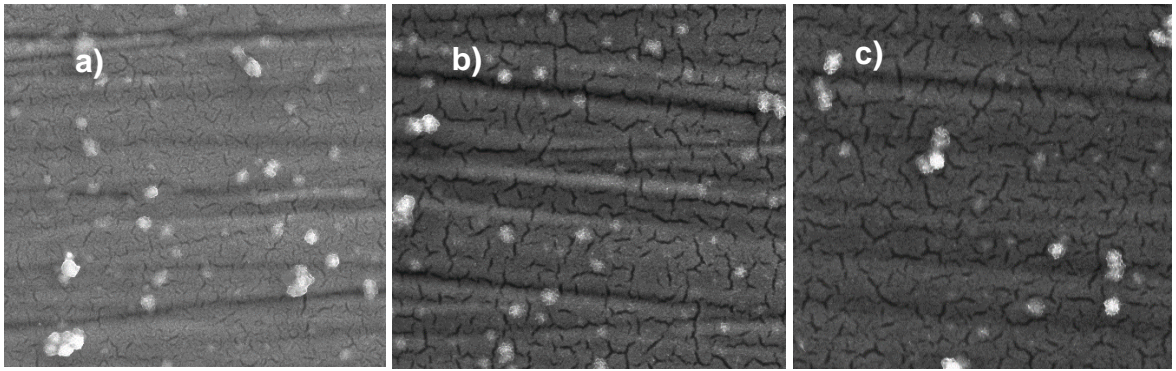
un fenómeno de degradación hidrolítica, a consecuencia del posterior proceso de secado en donde se eliminan solventes, precipitando así primero el quitosano [23].

Figura 8. Sustrato con 5 capas, relación 50/50 de Quitosano/PEG tomada a 40000X Preinmersión.



Las tablas que acompañan la figura 8 hacen referencia a las composiciones tanto de la matriz de quitosano (zona amarilla) como la de precipitados de quitosano (zona verde), en ellas como en los EDX de la *figura 9* se observa la presencia de calcio el cual no corresponden al PEG ni al quitosano, el sodio se encuentra allí debido a la capa de titanato de sodio formada anteriormente y el calcio debido a las impurezas que se adhirieron a la superficie durante el proceso de almacenamiento. A continuación están los MEB para la condición 5 capas con las relaciones poliméricas Quitosano/PEG 30/70, 50/50 y 70/30.

Figura 9. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 5000X y 40000X, 5 capas relación 30/70 (a), 50/50 (b), 70/30 (c) y análisis EDX. (Antes de inmersión)



La morfología de los recubrimientos en general presenta una estructura similar, en la cual hay precipitaciones de quitosano y peg, estando en mayor cantidad el quitosano, ya que si comparamos los EDX (ver figura 8) hay mayor cantidad de carbono en el precipitado de color blanco que en la zona más oscura, siendo el carbono parte de la estructura molecular del quitosano y no del PEG, por otra parte se observa una capa uniforme del recubrimiento y presencia de poros.

En la *figura 10* se muestran los MEB para la relación Quitosano/PEG 50:50 en 3, 5 y 7 capas; en ella se observa que al variar la cantidad de capas realizadas sobre el sustrato la cantidad de quitosano precipitado varia poco, sin embargo son las dos últimas quienes tienen un poco más de precipitados y con una morfología más definida (ver figura 11). En los análisis de EDX respectivos se tiene la presencia de elementos como Ca, Si, Fe y Sr. Estos elementos se cree provienen de los reactivos los cuales no tienen una pureza del 100% pese a que son reactivos de grado analítico.

Figura 10. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 5000X; relación 50/50, 3 capas (a), 5 capas (b), 7 capas (c); (Antes de inmersión).

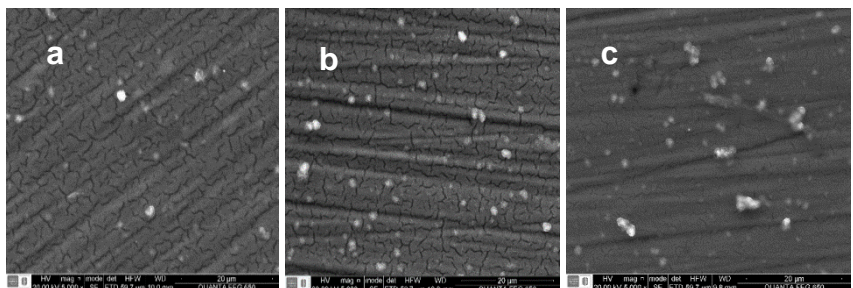
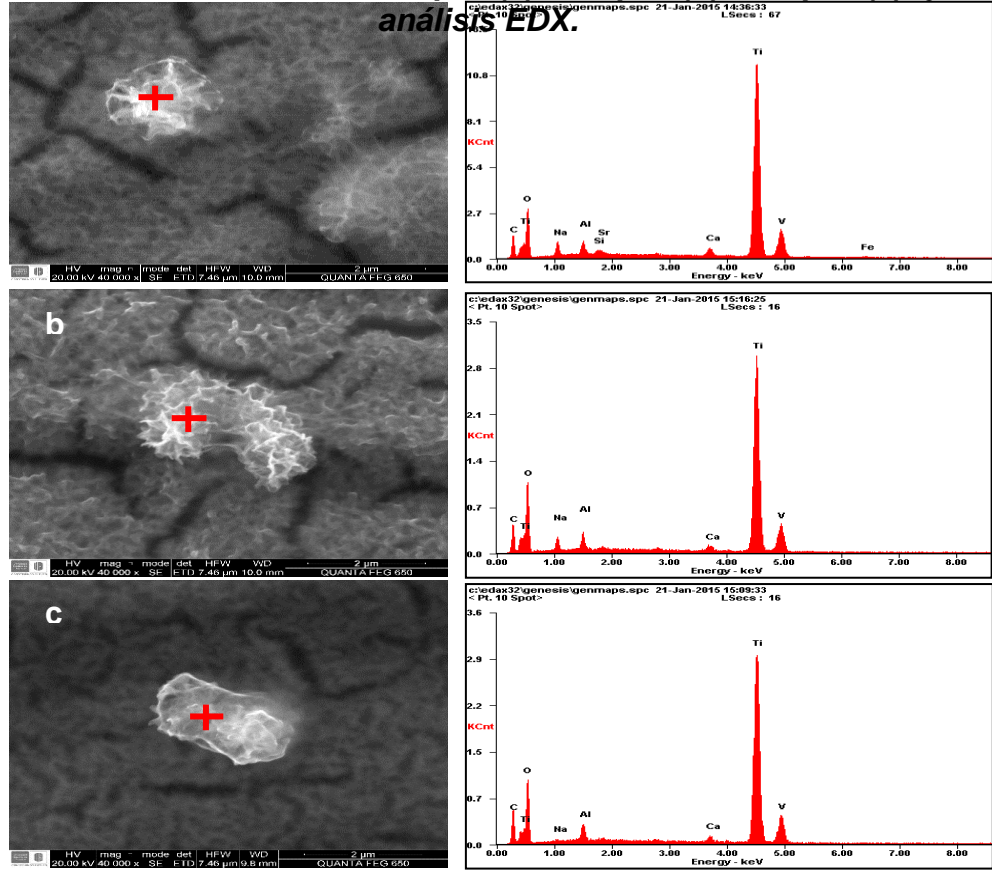


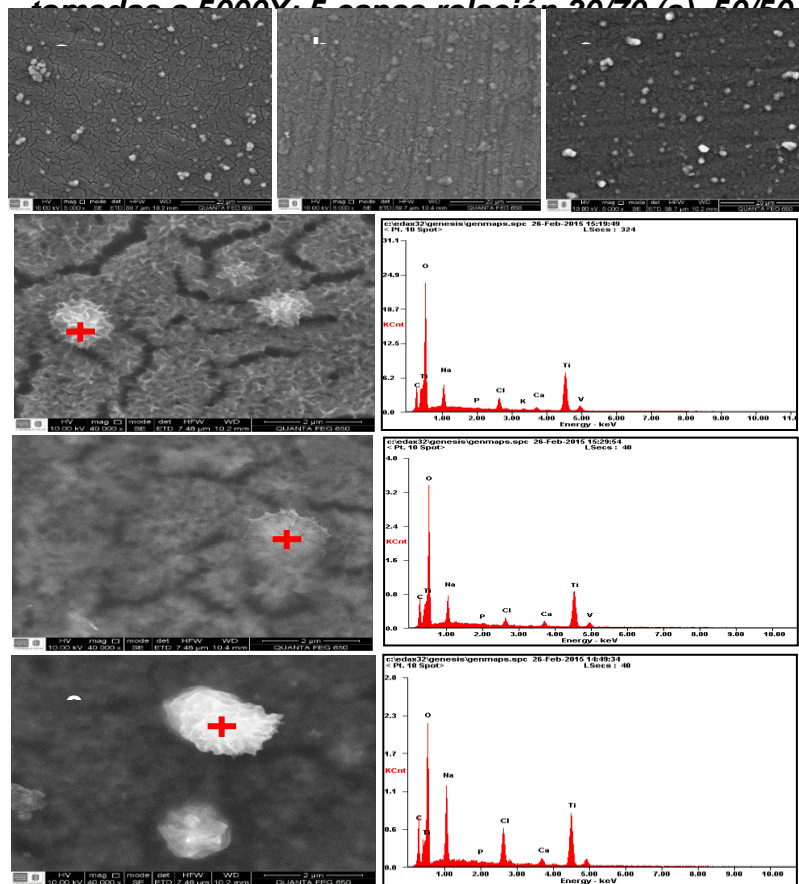
Figura 11. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 40000X; relación 50/50, 3 capas (a), 5 capas (b), 7 capas (c); y análisis EDX.



5.6 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DESPUÉS DE INMERSIÓN.

Se realizó MEB a las probetas que presentaron la mayor precipitación de calcio en absorción atómica, las cuales son la relación 50/50 en 3, 5 y 7 capas, y las diferentes relaciones 30/70, 50/50 y 70/30 de Quitosano/PEG en 5 capas. Las probetas fueron sumergidas durante 7 días con el fin de obtener precipitados de apatitas, sin embargo solo se observaron fosfatos de calcio, de igual manera según la literatura estos actúan como centros de formación de apatitas [37].

Figura 12. Micrografías electrónicas de barrido



Según la *figura 12*, la cantidad de copos en relación con las de pre inmersión aumento de manera notoria y se observa precipitados con morfología más definida, de igual manera son las relaciones 50/50 y 70/30 las que presentan mayor número de fosfatos de calcio, esto se debe a que el quitosano por su naturaleza catiónica le permite interactuar con iones negativos [12] como lo son los grupos fosfatos (PO_4^{3-}) presentes en la solución Hank's [38], [39] y de esta manera formar más fácilmente compuestos de fosfatos de calcio, se observa además en los análisis de EDS la aparición de elementos como cloro (Cl), fósforo (P) y potasio (K) que probablemente provienen de la solución Hank's [26].

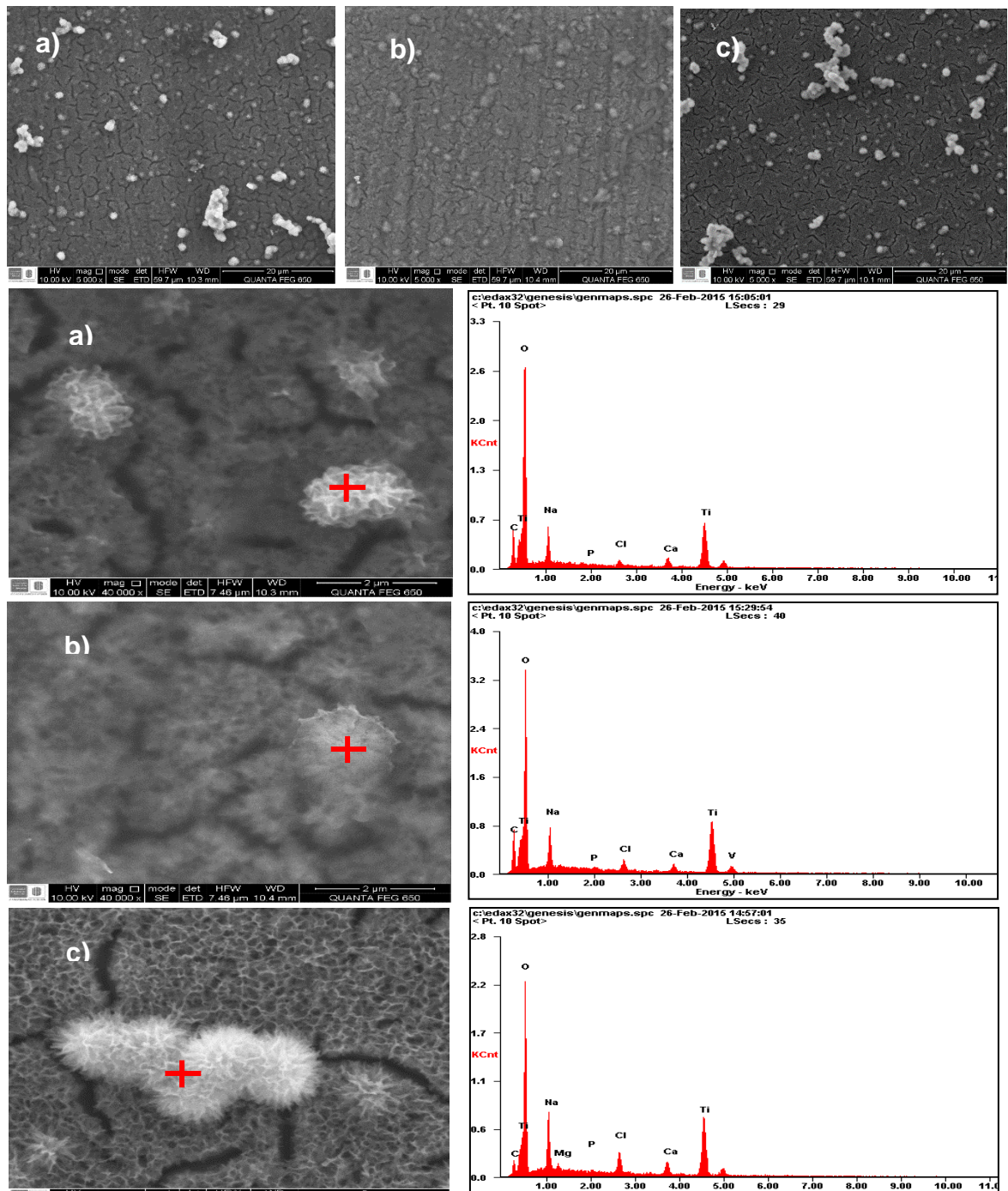
En la tabla 5 se muestra la cantidad de fósforo y calcio precipitado en la capa polimérica, tanto en la matriz polimérica como en los precipitados blancos que se apreciaban en las imágenes MEB.

Tabla 4. Calcio y fósforo presente en los recubrimientos después de inmersión para las diferentes condiciones.

	Precipitación de fosfatos de calcio		Matriz polimérica	
	% Peso Ca	% Peso P	% Peso Ca	% Peso P
50/50 3 Capas	4.08	0.2	2.74	0.25
30/70 5 Capas	1.7	0.12	0.95	0.08
50/50 5 Capas	3.15	0.32	1.91	0.21
70/30 5 Capas	2.85	0.2	1.39	0.22
50/50 7 Capas	4.85	0.29	3.04	0.11

Al igual que en absorción atómica se observó que las mayores cantidades de Ca están en la relación 50/50 3, 5 y 7 capas, siendo esta ultima la que más precipita Ca.

Figura 13. Micrografías electrónicas de barrido tomadas a 5000X y 40000X, relación 50/50, 3 capas (a), 5 capas (b), 7 capas (c) y análisis EDX.(después de inmersión)



La *figura 13* muestra los MEB de los diferentes número de capas con relación Quitosano/PEG 50:50; no se observa diferencias significativas en cuanto a la cantidad de fosfatos de calcio precipitados, pero si se observa una mejor morfología de los precipitados de fosfato de calcio en 7 capas, además por la composición con EDX se observa que la superficie con 7 capas presenta mayor cantidad de Calcio y Fosforo.

5.7 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER (IR).

Los espectros infrarrojos permiten identificar los enlaces presentes en los grupos funcionales del polímero a través de las vibraciones de átomos en las moléculas. Se realizó para el análisis para las relaciones poliméricas 30/70, 50/50 y 70/30 5 capas. El análisis se realizó en el laboratorio de análisis instrumental en el equipo Espectrómetro Infrarrojo Nicolet con celda platinum ATR.

Los espectros infrarrojos para los recubrimientos poliméricos permitieron identificar los enlaces presentes entre los grupos funcionales de la mezcla polimérica a través de las vibraciones de los átomos en las moléculas, dentro de las cuales se consideran: deformaciones, estiramientos, flexiones, tijeretas, entre otros.

Figura 14. Espectro de infrarrojo para la relación 30/70, 50/50, 70/30 de Quitosano:PEG, 5 capas.

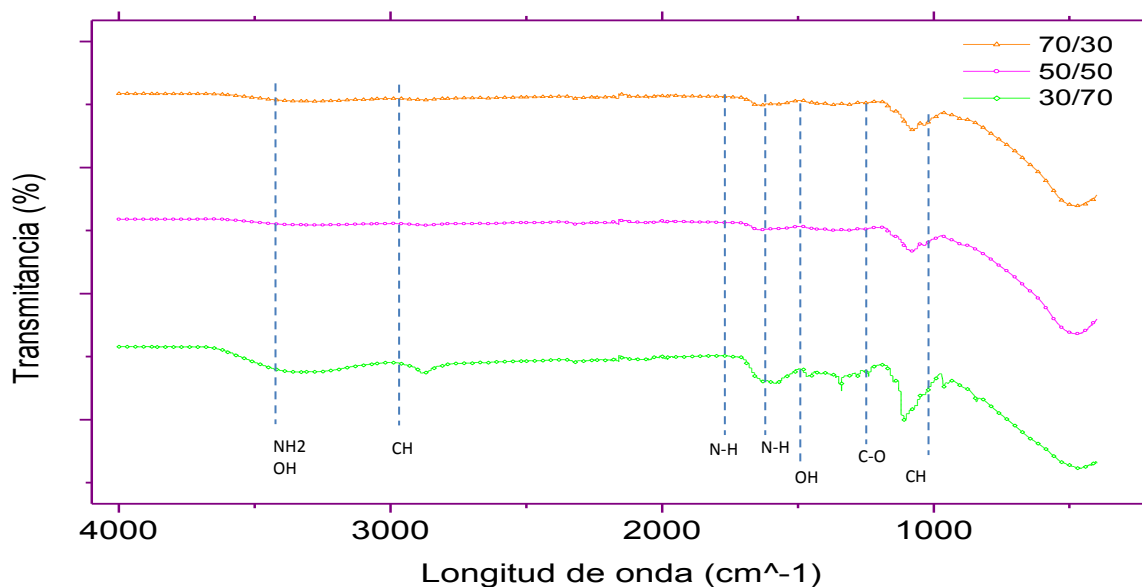


Tabla 5. Asignación de las bandas presentes en el espectro de infrarrojo para las relaciones poliméricas Quitosano:PEG.

Banda (cm ⁻¹)	Asignación
3346,01	Estiramiento N-H del quitosano
2861,83	Estiramiento C-H del quitosano
1617,98	Deformación del N-H de la amida primaria asociada del quitosano
1465,90	Vibración de la amida secundaria asociada del quitosano
1412,89	Vibración del O-H asociado al Quitosano
1359,11	Deformación del O-H del PEG
1241,43	Vibración C-O del PEG
841,93	Deformación C-H fuera del plano del quitosano

En la *tabla 5* se observan las asignaciones de las bandas que aparecen en los espectros, que son características de los polímeros; la asignación de las vibraciones se realizó teniendo en cuenta las tablas de interpretación de espectros infrarrojo y con base en autores como Quintero A. et al. [23]; Pawlak, A. et al. [40]; Valdes, G. et al. [41]; Rodríguez Hammamura, N. et al. [42]; Ganji, F. et al. [43]; Bhattarai, N. et al [44]. Los espectros infrarrojos presentaron similitudes en cada relación polimérica indicando así la presencia de los mismos materiales en cada probeta analizada. En los espectros se presentan, para los 3 biopolímeros, un

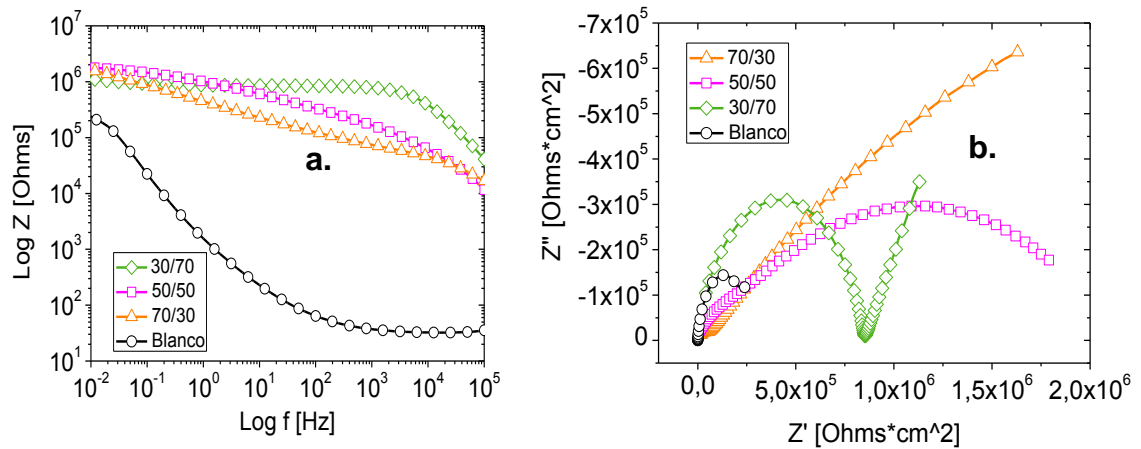
estiramiento asimétrico y la flexión en la banda de los 2860 a 3350 cm^{-1} , debido a los grupos hidroxilo y carboxilo presente en los anillos del quitosano, también se puede observar una deformación de N-H de la amida primaria asociada del quitosano entre 1617 y 1637 aproximadamente. La presencia de estos enlaces garantiza que exista una interacción entre los cationes de calcio, los iones fosfatos y la superficie de biomaterial, favoreciendo la nucleación y precipitación de fosfatos de calcio [42].

Con respecto a las tres relaciones se podría afirmar que en la relación 30/70 la intensidad de los picos es la mayor debido a que las reacciones finalizan más rápido debido a la alta presencia de PEG en el sustrato [45]. Cuando existe una mayor concentración de quitosano en la muestra se puede evidenciar unos picos menos elevados. [23].

5.8 CARACTERIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUÍMICA (EIS)

La caracterización electroquímica se realizó con el propósito de determinar los cambios en la superficie del recubrimiento, evaluando la estabilidad y bioactividad electroquímica en las interfases: aleación - recubrimiento y recubrimiento- Hank's; En las capas poliméricas en las diferentes concentraciones de Quitosano/PEG y en los diferentes números de capas.

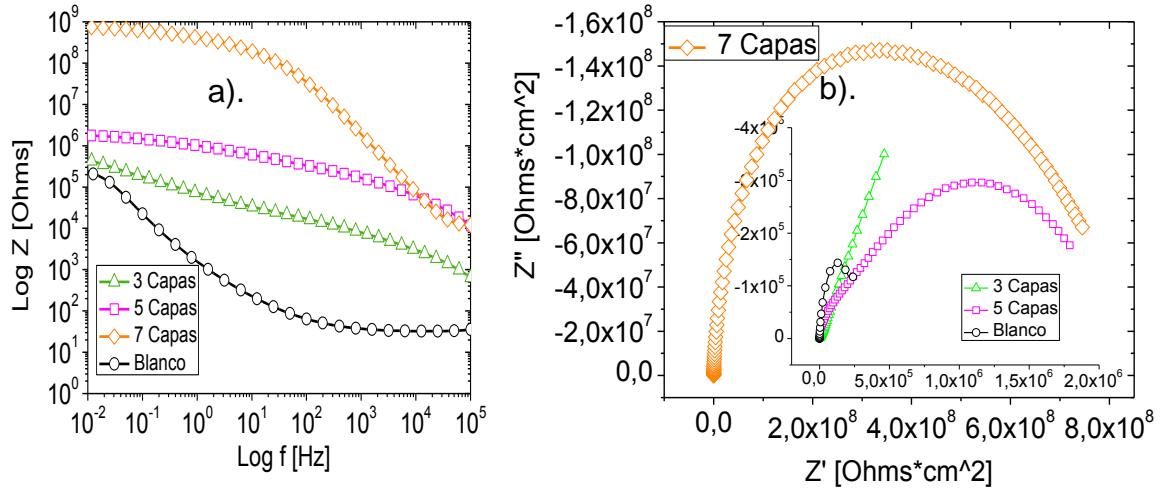
Figura 15. Diagrama de bode (a) y diagrama de Nyquist (b) para las diferentes relaciones de Quitosano/PEG.



En la *figura 15a* en altas frecuencias ($10^4 - 10^5$ Hz) se presenta la resistencia a la solución [45] con un comportamiento pseudocapacitivo correspondiente a un CPE-P de 0.54 y 0.96 para las relaciones 50/50 y 70/30 respectivamente; En muy bajas frecuencias (0.01 – 1 Hz) las relaciones 50/50 y 70/30 presentan la mayor impedancia electroquímica asociado a un comportamiento altamente resistivo con un CPE-P de 0.35 y 0.33 respectivamente, este comportamiento corresponde a la interface recubrimiento - material base Ti6Al4V; para la relación 30/70 se observa un comportamiento muy estable en bajas y medias frecuencias lo que indica la presencia de una capa pasiva, compacta y muy estable [46].

En los diagramas de Nyquist (*figura 15 b*) se observa como aumenta el diámetro del semicírculo al aumentar la cantidad de quitosano, aumentado de esta manera la impedancia que está relacionada con los valores de resistencia a la polarización [47], mayores valores de resistencia a la polarización sugiere un aumento en la resistencia a la degradación a media que aumenta la cantidad de quitosano en el recubrimiento [48].

Figura 16. Diagrama de bode (a) y diagrama de Nyquist (b) para los diferentes números de capas.

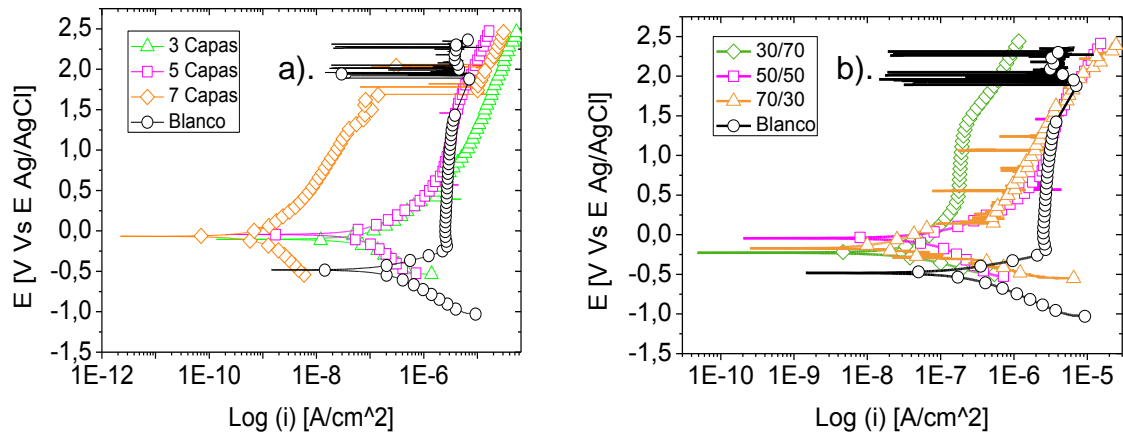


En la *figura 16a* se observa a altas frecuencias ($10^4 - 10^5$ Hz) el comportamiento de la solución, también un comportamiento resistivo para 3 capas y uno capacitivo para 5 y 7 capas con un CPE-P de 0.39, 0.54 y 0.98 respectivamente. Este comportamiento ocurre en la interface recubrimiento – solución fisiológica donde la resistividad para 3 capas hace referencia a una capa compacta, y el efecto capacitivo para 5 y 7 capas, se debe una mayor interacción de la capa polimérica con el Hank's debido a una mayor área de exposición por parte de la estructura porosa del quitosano para una relación 50/50.

A bajas frecuencias ($0.01 - 1$ Hz) se ve principalmente el comportamiento del material base con el recubrimiento donde la resistencia del recubrimiento aumenta a medida que incrementa el número de capas, donde la más alta es para 7 capas y la más baja para 3 capas. Se observa allí un comportamiento resistivo con un CPE-P entre 0.47 y 0.35 el cual corresponde a la interface entre el sustrato y la capa bioactiva.

En los diagramas de Nyquist (*figura 16 b*) se observa como aumenta el diámetro del semicírculo el cual indica un comportamiento controlado por transferencia de carga que incrementa al aumentar la cantidad de capas, aumentado de esta manera la resistencia a la polarización.

Figura 17. Curva de polarización obtenida para los recubrimientos a) relaciones Quitosano/PEG b) Número de capas.



En la *figura 17* muestra las curvas de polarización con el fin de evaluar la estabilidad de los recubrimientos obtenidos a diferentes relaciones de Quitosano/PEG y diferentes números de capas, en ella se observa como varían los potenciales y velocidades de degradación donde los recubrimientos poliméricos presentan potenciales de corrosión por encima de aleación base, lo que indica que la película polimérica con el quitosano tiene una tendencia a mover los potenciales hacia potenciales más nobles [48], lo que demuestra que a mayor cantidad de quitosano los recubrimientos se harían más resistentes a procesos electroquímicos.

Debido a que la cantidad de quitosano y el aumento de número de capas aumentaban la estabilidad electroquímica de la capa, lo cual se observa para los valores de E_{corr} , se hizo necesario determinar la velocidad de degradación del recubrimiento como otra variable de respuesta, mediante las pendientes de Tafel siguiendo la norma ASTM G 102 – 89 [49] mediante el método de polarización potenciodinámica.

En las tablas 7 y 8 se resumen los parámetros electroquímicos obtenidos a partir de las curvas de polarización de los recubrimientos Quitosano/PEG realizados a partir de las diferentes condiciones experimentales.

Tabla 6. Velocidades de degradación del recubrimiento según las relaciones poliméricas.

	i_{corr} [μ A]	E_{corr} [mV]	V_{corr} [mpy]
30/70	9,99E-09	-2,28E-01	3,11E-09
50/50	1,69E-08	-4,64E-02	5,26E-09
70/30	9,13E-08	-2,81E-01	2,94E-09
Ti6Al4V	6,05E-08	-4,84E-01	1,88E-08

Tabla 7. Velocidades de degradación del recubrimiento según el número de capas.

	i_{corr} [μ A]	E_{corr} [mV]	V_{corr} [mpy]
3 Capas	1,74E-08	-1,04E-01	2,93E-09
5 Capas	1,69E-08	-4,64E-02	5,26E-09
7 Capas	1,85E-10	-6.39E-02	5,73E-11
Ti6Al4V	6,05E-08	-4,84E-01	1,88E-08

De las tablas 7 y 8 cabe señalar que las velocidades de corrosión estuvieron por debajo de la aleación base, lo cual indica que los recubrimientos mejoran la resistencia a degradarse del biomaterial, en las relaciones poliméricas la de menor velocidad de corrosión fue la relación 70/30 esto probablemente a que esta proporción en los polímeros presenta una mejor compactabilidad de la capa polimérica haciéndola más resistente, esto debido a que tiene fases cristalinas lo cual le brinda una degradación más baja [50].

El desplazamiento de las curvas Tafel hacia potenciales positivos conforme se incrementa el número de capas aplicadas, puede ser debido que al aumentar el número de capas incrementa el efecto capacitivo del recubrimiento, ya que este actúa como un dieléctrico que separando las cargas del electrolito de aquellas que son inducidas por el sustrato dificultando así la migración de iones, retrasando así los procesos de interacción con la solución requiriendo que la energía requerida por los iones de la solución para que migren desde la solución hacia la interface recubrimiento/sustrato sea mayor a medida que aumente el número de capas, resultado que se refleja en la disminución de las velocidades de corrosión [51]. En conclusión el cambio más significativo se tiene en el número de capas, en la cual la probeta con 7 capas presentó una velocidad de corrosión $5,73E-11$ muy por debajo de la aleación Ti6Al4V.

5.9 ANÁLISIS POR CIRCUITOS EQUIVALENTES

Con base en los espectros de impedancia electroquímica se procedió a establecer el comportamiento electroquímico de los recubrimientos, para las condiciones que

mejor respuesta obtuvieron en la prueba de absorción atómica, con un circuito eléctrico análogo, que permite relacionar los fenómenos que ocurren en las interfaces, estos fueron construidos teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los diagramas de Nyquist y Bode; los datos se ajustaron en el programa Zview. En el circuito, R1 corresponde a la resistencia de la solución Hank's; CPE 1 corresponde a un elemento de fase constante el cual está asociado a los procesos electroquímicos entre la interface solución Hank's recubrimiento; R2 está asociada al valor de la resistencia a la transferencia de carga en la interface solución Hank's - recubrimiento; CPE 2 es un elemento de fase constante asociada a la interface recubrimiento – Aleación Ti6Al4V y R3 está asociado a la resistencia a la transferencia de carga en la interface recubrimiento – aleación Ti6Al4V, un circuito desarrollado como el que se presenta a continuación ha sido reportado por diferentes autores, para recubrimientos poliméricos similares en [50] y [19]. La *figura 18* muestra el circuito equivalente que se ajusta a los resultados obtenidos con la técnica de espectroscopia de impedancia.

Figura 18. Circuito equivalente representativo de las interfaces para el sistema estudiado.

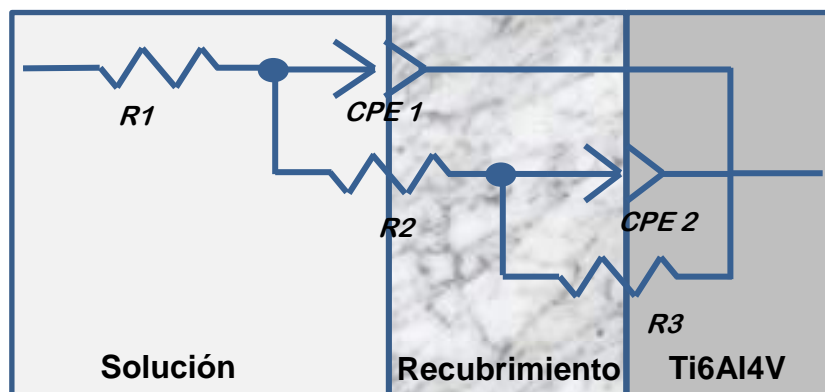


Tabla 8. Valores de los elementos del circuito equivalente.

C2	C4	C5	C6	C8
----	----	----	----	----

R1 [Ω]	1054	10000	11800	10000	100000
CPE1-T	2.50E-06	1.98E-10	2.06E-08	1.43E-10	1.44E-11
CPE1-P	0.39198	0.79573	0.54035	0.96446	0.98422
[F/cm²]					
R2 [Ω]	3.99E+04	859810.00	2.22E+05	2.41E+04	-1.88E+07
CPE2-T	3.17E-06	1.10E-05	3.31E-07	1.09E-06	5.71E-10
CPE2-P	0.47792	0.57546	0.35313	0.33424	0.35976
[F/cm²]					
R3 [Ω]	1.41E+07	6.61E+13	1.93E+06	5.93E+06	8.92E+08
CHI-cuadrado	2.63E-04	2.64E-03	3.28E-03	3.64E-03	9.92E-03

Los valores más altos de R1 que corresponden a la resistencia a la solución aumentan a medida que aumentan el número de capas, estos valores contribuyen a la incorporación de iones a partir de la solución Hank's [50], y concuerda con los valores de velocidad de corrosión, donde a mayores resistencias menores velocidades de corrosión (ver tabla 8).

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

El análisis de ángulo de contacto realizado con la solución Hank's mostró el alto grado de mojabilidad del PEG con un ángulo de 0° y mientras el quitosano era menos hidrofílico con un ángulo aproximadamente de 85° , estos resultados se reflejaron en la mojabilidad de todas las capas poliméricas y como aumento el grado de mojabilidad proporcional al contenido de quitosano y número de capas, esto garantiza la interacción del recubrimiento con el fluido simulado.

Con la absorción atómica se determinó que las relaciones 50/50 en 3, 5 y 7 capas fueron las que más cantidad de calcio absorbieron, por lo tanto representan la mejor relación polimérica para que exista sitios de formación de apatitas [32]. Las imágenes mostradas por SEM antes de inmersión muestran los precipitados de quitosano, y las imágenes después de 7 días de inmersión en el fluido fisiológico, en SEM no se apreciaron las apatitas, sin embargo, los EDS muestran mayor cantidad de calcio precipitado y la presencia de fosforo, estos datos concuerdan con los resultados de absorción atómica cuando muestran que son las relaciones 50/50 las que precipitan una mayor cantidad de calcio [38].

En las pruebas electroquímicas los recubrimiento mejoraron la impedancia electroquímica del sustrato siendo la relación Quitosano/PEG 70/30 la que presenta una mayor impedancia electroquímica y una menor degradabilidad resultado que concuerda con la prueba de ángulo de contacto al ser la relación menos hidrofílica; en cuanto al número de capas, la mejor condición fue 7 capas 50/50 Quitosano/PEG. Estos resultados se corroboran con las pruebas potenciodinámicas donde se obtuvieron una menor velocidad de degradación y altos valores de impedancia, indicando así una capa más estable con un correspondiente comportamiento capacitivo. En las pruebas de bioactividad como

absorción atómica y MEB presentaron de igual manera las mejores condiciones en cuanto a la precipitación de calcio y fosforo además de presentar la mejor morfología la cual se observa en las imágenes sem (figura 13).

De manera general los recubrimientos Quitosano/PEG no lograron la precipitación de apatitas, ésto puede deberse a diferentes factores como poco tiempo de inmersión [52], o la poca concentración de calcio en el Hank's (1,7 mM) en relación a la concentración manejada por el SBF (2,5 mM) [53]. Otros factores como la posible saturación de la solución en algún compuesto, lo cual puede llevar a la precipitación del mismo, además cambios locales de sobresaturación puede favorecer o no la formación de apatitas para que se produzcan precipitaciones de iones calcio y/o fosfatos [54], así como también variaciones en las cantidades de compuestos importantes para la precipitación de Ca^+ como lo es el bicarbonato (HCO_3^-) el cual las diferencias en cantidades varían de un tipo de SBF a otro, las cuales en algunos se llega a ser importante controlar los cambios de pH. [55].

7. CONCLUSIONES

- Los recubrimientos poliméricos son bioactivos en solución Hank's con formación de depósitos de fosfatos de calcio, los cuales actúan como núcleos para la formación de apatitas compuesto que es base para los un proceso de osteointegración.
- La mezcla polimérica Quitosano/PEG genera bioactividad, sin embargo 7 días de inmersión no son suficientes para permitir la formación de una capa de apatitas.
- La técnica de EIS demostró que las capas poliméricas y su aumento en número incrementan el efecto capacitivo del recubrimiento, ya que separan los iones de las cargas que son inducidas por el sustrato, retrasando así el proceso de degradación.
- Las mejores condiciones son 7 capas relación 50:50 y 5 capas relación 70:30 al presentar las menores velocidades de degradación y mayor adsorción de Ca.

8. RECOMENDACIONES

Realizar pruebas de inmersión a mayores tiempos para así favorecer la posible formación de una capa de apatitas.

CITAS

[1] LEE, Esther. MIKOS, Antonios. Biomaterials for Tissue Engineering. *Annals of Biomedical Engineering*. 2013. Vol. 42, No. 2, p. 323–337.

[2] CHU, Paul K. Surface engineering and modification of biomaterials. *Thin Solid Films*. 2013; Vol. 528, p. 93 - 105.

[3] ZUWEI, MA., et al. Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2007; Vol. 60, p.137-157.

[4] SHENG Zhang, QINGSONG Wei, LINGUY Cheng, SOU Li, Yusheng Shi. Effects of scan line spacing on pore characteristics and mechanical properties of porous Ti6Al4V implants fabricated by selective laser melting. *Materials & Design* 2014. Vol. 63, p. 185 - 193.

[5] AMIT Bandyopadhyay and et al. Influence of porosity on mechanical properties and in vivo response of Ti6Al4V implants. *Acta Biomaterialia*. April 2010. Vol. 6, p. 1640 - 1648.

[6] RODIL, Sandra E. “Modificación superficial de biomateriales metálicos”. Caracas. Venezuela. 2009. *Revista latinoamericana de metalurgia y materiales* Vol. 29, p. 65-76

[7] HADUCH, Zygmunt. Biomateriales: Características y aplicaciones. Diciembre del 2007 [Citado: 20 junio 2014]. Disponible en: <http://franciscoalavez.wordpress.com/2007/12/19biomaterialescaracteristicas-y-aplicaciones/>

[8] CVIJOVIC Alagic I, CVIJOVIC Z, BAJAT J, RAKIN M. Composition and processing effects on the electrochemical characteristics of biomedical titanium alloys. Corrosion Science. June 2014, Vol 83, p. 245 -254.

[9] CHIAA Wei Lin, CHEIN Ping Ju, JIIN Huey Chern Lin. A comparison of the fatigue behavior of cast Ti7.5Mo with c.p. titanium, Ti6Al4V and Ti13Nb13Zr alloys. Biomaterials. 2005. Vol. 26, p. 2899 – 2907

[10] MALAKAUSKAITE Milda. Sol–gel synthesis of calcium hydroxyapatite thin films on quartz substrate using dip-coating and spin-coating techniques. Springer Mayo 2014 [online] disponible en:<http://ezproxy.uis.edu.co:2097/article/10.1007/s-109-710143394-5/fulltext.html>. [Consultada: 13 de enero del 2015]

[11] ABARRATEGUI LOPEZ, Ander. Estudio del quitosano como biomaterial portador de rhBMP-2: Desarrollo, caracterización y aplicabilidad en regeneración de tejido óseo. Madrid, 2008. Trabajo de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Biológicas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.

[12] MÁRMOL, Zulay y otros. Quitina y quitosano polímeros amigables, una revisión de sus aplicaciones. Revista Tecnocientífica URU. 2011; Disponible en: <http://uru.edu/fondoeditorial/revista/pdf/rtu/TCUn1/Quitina%20y%20quitosano.pdf>>

[13] JAN W.Gooch. Encyclopedic Dictionary of Polymers (2011) http://ezproxy.uis.edu.co:2428/static/pdf/266/prt%253A978-3-540389187%252F-16.pdf?auth66=1404143279_6695f209d72fa67d0107427c42adf621&ext=.pdf.

[14] NARAYAN, Roger. Biomedical Materials USA, Springer Science. 2009. pp. 573.

[15] M. Wei, H.-M Kim, T. Kokubo, J.H. Evans. Optimising the bioactivity of alkaline treated titanium alloy. Material Science and Engineering. Kyoto, Japan. 2002. Vol, 20 p. 125 – 134.

[16] M. Zhang, X.H. Li, Y.D. Gong, N.M. Zhao, X.F. Zhang. Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. Biomaterials Beijing, China. July 2002. Vol. 23, p. 2641 – 2648.

[17]. NUTTELMAN, Charles R. The effect of athylene glycol methacrylate phosphate in PEG hydrogels on mineralizarin and viability for encapsulated hMSCs Biomaterials. September 2005.

[18]. D. PEÑA BALLESTEROS, H. ESTUPIÑAN DURAN, E CORDOBA TUTTA. Recubrimientos de quitosano/fosfato de calcio obtenidos por electrodeposición sobre una aleación de titanio [online]. Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia. Medellin, Colombia. Julio 2013. no. 54.

[19]. A. DEMCZUK, B. SWIECZKO-ZUREK, A. OSSOWSKA. Corrosion resistance examinations of Ti6Al4V alloy with the use of potentiodynamic method in Ringer's and artificial saliva solutions. En: Advances in Materials Science, Vol. 11, No. 4, Diciembre de 2011. p. 35-42.

[20]. SEETO, W.J, Y. TIAN , E.A. LIPKE . Peptide-grafted poly(ethylene glycol) hydrogels support dynamic adhesion of endothelial progenitor cells. Acta Biomaterialia Journal. 13 June 2013.

[21]. PRZEKORA, Agata. GINALSKA, Grażyna . Biological properties of novel chitosan-based composites for medical application as bone substitute. Central European Journal of Biology. 02 December 2013. p 634 - 641

[22] ZHONGGEN, Shi. Nanoparticles of deoxycholic acid, polyethylene glycol and folic acid -modified chitosan for targeted delivery of doxorubicin. Mater Med 2014 . Vol. 25, p. 723 – 731

[23] QUINTERO JAIME, Andrés Felipe. Obtención y evaluación de superficies de Policaprolactona-quitosano patronadas por ablación laser. Bucaramanga, 2013. Trabajo de grado (Ingeniero Metalúrgico). Universidad Industrial de Santander.

Facultad de Ingeniería Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales.

[24] LLORENS, Elena. Scaffolds with tuneable hydrophilicity from electrospun microfibers of polylactide and poly (ethylene glycol) mixtures: morphology, drug release behavior, and biocompatibility. J Polym Res. 2014 Vol. 31, p. 360

[25] CHEN, Jing et al. Fabrication of biomimetic polysiloxane - bioactive glass chitosan Hybrid monoliths with apatite forming bioactivity. Ceramics International. 2015.<http://ezproxy.uis.edu.co:2084/science/article/pii/S027288421500677X>

[26] American Society for Testing and Materials E3 – 11. Preparation of metallographic specimens.

[27] American Society for Testing and Materials E407. Microetching Metals and Alloys.

[28] Hank's buffered salt solution (HBSS) recipe Diciembre 2014 [online] disponible en: <http://www.thelabrat.com/protocols/Hanks.shtml> [Consultada: 5 de Diciembre del 2014]

[29] KARTHEGA M, RAMAN V, RAJENDRAN N. Influence of potencial on the electrochemical behaviour of beta titanium alloys in Hank's solution. Acta Biomaterialia. November 2007. Vol. 3, p 1019 – 1023.

[30] TAPASH R. RAUTRAY and et al. Ion implantation of titanium based biomaterials. Progress in Materials Science. October 2011 Vol. 56, p. 1137 – 1177

[31] American Society for Testing and Materials F 136. Standard Specification for Wrought Titanium-6Aluminum-4Vanadium Alloy for Surgical Implant Applications .

[32] GUOZHENG, Kang and et al. Macroscopic and microscopic investigations on uniaxial ratcheting of two phase Ti-6Al-4V alloy. Materials Characterization. June 2014 Vol. 92, p. 26 - 35.

[33] I. D. TALAVERA JAUME, “Estudio de la Corrosión de una Aleación Ti6Al4V Utilizada como Biomaterial,” Universidad Central de Venezuela, 2007.

[34] TADASHI Kokubo and et al. Novel bioactive materials with different mechanical properties. Biomaterials. June 2003 Vol. 24, p. 2161 - 2175.

[35]. PIGHINELLI, Luciano. KUCHARSKA, Magdalena. Chitosan hydroxyapatite composites. Carbohydrate Polymers. 1 March 2013. Vol 93, p. 256 – 262

[36]. S. JEGATHEESWARAN, M. SUNDRARAJAN. PEGylation of novel Hydroxyapatite/PEG/Ag Nanocomposite particles to improving its Antibacterial efficacy. Materials Science and Engineering: C . 20 February 2015.

[37] WANG C. X, WANG M, ZHOU X. Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study. *Biomaterials*. Vol. 24 August 2003. p. 3069 – 3077.

[38] PALLAD, D., SANTANU D., JYOTIRMOY, C. Hydrogels and electrospun nanofibrous scaffolds of N-methylene phosphonic chitosan as bioinspired osteoconductive materials for bone grafting. *Carbohydrate polymers*. 2012; Vol. 87, p 1354 – 1362.

[39] MIN, L., et al. Biomimetic apatite – coated alginate/chitosan microparticles as osteogenic protein carriers. *Biomaterials*. 2009; Vol. 30, p 6094 – 6101.

[40] PAWLAK, A. MUCHA, M. Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. *Thermochimica Acta*. 2003, p. 153 – 166.

[41] B. S. G. Valdés, M. Guerra, G. Mieres, and L. Alba, “CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE POLIURETANOS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA FTIR Y RMN (1H y C13),” *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 9, no. 4, p. 377–388.

[42] RODRIGUEZ HAMMAMURA, N. VALDERRAMA NEGRON, A. PREPARACIÓN DE PARTÍCULAS DE QUITOSANO RETICULADAS CON TRIPOLIFOSFATO Y MODIFICADAS CON POLIETILENGLICOL. *Rev soc quim . Peru*. Octubre 2010., p. 336-354.

[43] F. GANJI and M. J. ABDEKHODAIE, "Synthesis and characterization of a new thermosensitive chitosan-PEG diblock copolymer," Carbohydr. Polym. Vol. 74, no. 3, p. 435-441.

[44] N. BHATTARAI, H. R. RAMAY, J. GUNN, F. a MATSEN, and M. ZHANG, "PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release," J. Control. Release. Vol. 103, no. 3, p. 609-24.

[45] RODRIGUEZ JAIMES, Yeison Javier. Formación de recubrimientos mediante oxidación electrolítica por plasma (PEO) sobre una aleación de Ti6Al4V para aplicaciones biomédicas. Trabajo de grado Ingeniero Metalúrgico. Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander. Facultad de fisico-quimicas, 2014.

[46] M. Karthega, V. Raman, N. Rajendran. Influence of potencial on the electrochemical behavior of β titanium alloys in Hank's solution. Acta Biomaterialia. Vol 3, p. 1019 - 1023.

[47] U. Piratoba; E. Vera, C.Ortiz. Aspectos básicos en la interpretación de diagramas de impedancia electroquímica [online]. Medellín, junio de 2010 [citado 31 de Marzo, 2015] disponible en: <<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/1571>>.

[48] A. ESCOBAR MINA, W. A. APERADOR CHAPARRO, J. C. CAICEDO ANGULO, L. del S. TIRADO MEJIA, and Y. AGUILAR CASTRO, Funcionalización

electroquímica y tribológica de películas de quitosano en fosfato tricálcico depositados en acero 316L . Vol. 22, no. 35, p. 61–73.

[49] American Society for Testing and Materials G102 – 89. Standard Practice for Calculation of Corrosion Rates and Related Information from Electrochemical Measurements

[50] SANAA M. F. Improvement in antibacterial properties of Ti by electrodeposition of biomimetic Ca-P apatite coat on anodized titania. Applied Surface Science. Vol 261 pp. 1 -7.

[51] William APERADOR, Cesar AMAYA, Jorge BAUTISTA RUIZ. Evaluación de la resistencia a la corrosión erosión de recubrimientos multicapas de TiN/AlTiN. Revista latinoamericana de Metalurgia y Materiales. Vol 32 n 2.

[52] ABBAS, Amir Zadpoor. Relationship between in vitro apatite – forming ability measured using simulated body fluid and in vivo bioactivity of biomaterials. Materials Science and Engineering : C. 2014. Vol. 35. 134 – 143.

[53] HAOBO, Pan et al. Apatite formation ability – predictor of “bioactivity”. Acta Biomaterialia. 2010. Vol. 6; p. 4181 – 4188.

[54] BOHNER, Marc,. LEMAITRE, Jacques,. Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution. Biomaterials. 2009. Vol. 30, p. 2175 – 2179.

[55] MULLER, Lenka,. MULLER, Frank. Preparation of SBF with different HCO-3 content and its influence on the composition of biomimetic apatites. Acta biomaterialia. 2006. Vol. 2, p. 181 – 189.

BIBLIOGRAFIA

ABARRATEGUI LOPEZ, Ander. Estudio del quitosano como biomaterial portador de rhBMP-2: Desarrollo, caracterización y aplicabilidad en regeneración de tejido óseo. Madrid, 2008. Trabajo de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Biológicas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.

ABBAS, Amir Zadpoor. Relationship between in vitro apatite – forming ability measured using simulated body fluid and in vivo bioactivity of biomaterials. *Materials Science and Engineering : C*. 2014. Vol. 35, p. 134 – 143.

A. ESCOBAR MINA, W. A. APERADOR CHAPARRO, J. C. CAICEDO ANGULO, L. del S. TIRADO MEJIA, and Y. AGUILAR CASTRO, Funcionalización electroquímica y tribológica de películas de quitosano en fosfato tricálcico depositados en acero 316L . Vol. 22, no. 35, p. 61–73.

AMIT Bandyopadhyay and et al. Influence of porosity on mechanical properties and in vivo response of Ti6Al4V implants. *Acta Biomaterialia*. April 2010. Vol. 6, p. 1640 - 1648.

American Society for Testing and Materials E407. Microetching Metals and Alloys.

American Society for Testing and Materials E3 – 11. Preparation of metallographic specimens.

American Society for Testing and Materials G102 – 89. Standard Practice for Calculation of Corrosion Rates and Related Information from Electrochemical Measurements

American Society for Testing and Materials F 136. Standard Specification for Wrought Titanium-6Aluminum-4Vanadium Alloy for Surgical Implant Applications .

BOHNER, Marc,. LEMAITRE, Jacques,. Can bioactivity de tested in vitro with SBF solution. *Biomaterials*. 2009.30; p. 2175 – 2179.

B. S. G. Valdés, M. Guerra, G. Mieres, and L. Alba, “CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE POLIURETANOS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA FTIR Y RMN (1H y C13),” *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 9, no. 4, p. 377–388.

CHEN, Jing et at. Fabrication of biomimetic polysiloxane - bioactive glass chitosan Hybrid monoliths with apatite forming bioactivity. *Ceramics International*. 2015.<http://ezproxy.uis.edu.co:2084/science/article/pii/S027288421500677X>

CHIAA Wei Lin, CHEIN Ping Ju, JIIN Huey Chern Lin. A comparison of the fatigue behavior of cast Ti7.5Mo with c.p. titanium, Ti6Al4V and Ti13Nb13Zr alloys. *Biomaterials*. 2005. Vol. 26, p. 2899 – 2907

CHU, Paul K. Surface engineering and modification of biomaterials. *Thin Solid Films*. 2013; Vol. 528, p. 93 - 105.

CVIJOVIC Alagic I, CVIJOVIC Z, BAJAT J, RAKIN M. Composition and processing effects on the electrochemical characteristics of biomedical titanium alloys. *Corrosion Science*. June 2014, Vol 83, p. 245 -254.

DEMCZUK, B. SWIECZKO-ZUREK, A. OSSOWSKA. Corrosion resistance examinations of Ti6Al4V alloy with the use of potentiodynamic method in Ringer's and artificial saliva solutions. En: *Advances in Materials Science*, Vol. 11, No. 4, Diciembre de 2011. p. 35-42.

D. PEÑA BALLESTEROS, H. ESTUPIÑAN DURAN, E CORDOBA TUTTA. Recubrimientos de quitosano/fosfato de calcio obtenidos por electrodeposición sobre una aleación de titanio [online]. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*. Medellin, Colombia. Julio 2013. no. 54.

F. GANJI and M. J. ABDEKHODAIE, "Synthesis and characterization of a new thermosensitive chitosan-PEG diblock copolymer," *Carbohydr. Polym.* Vol. 74, no. 3, p. 435-441, Nov. 2008.

GUOZHENG, Kang and et al. Macroscopic and microscopic investigations on uniaxial ratchetting of two phase Ti-6Al-4V alloy. *Materials Characterization*. June 2014 Vol. 92, p. 26 - 35.

HADUCH, Zygmunt. Biomateriales: Características y aplicaciones. Diciembre del 2007 [Citado: 20 junio 2014]. Disponible en: <http://franciscoalavez.wordpress.com/2007/12/19biomaterialescaracteristicas-y-aplicaciones/>

Hank's buffered salt solution (HBSS) recipe Diciembre 2014 [online] disponible en: <http://www.thelabrat.com/protocols/Hanks.shtml> [Consultada: 5 de Diciembre del 2014]

HAOBO, Pan et al. Apatite formation ability – predictor of “bioactivity”. Acta Biomaterialia. 2010. Vol. 6, p. 4181 – 4188.

I. D. TALAVERA JAUME, “Estudio de la Corrosión de una Aleación Ti6Al4V Utilizada como Biomaterial,” Universidad Central de Venezuela, 2007.

KARTHEGA M, RAMAN V, RAJENDRAN N. Influence of potencial on the electrochemical behaviour of beta titanium alloys in Hank's solution. Acta Biomaterialia. November 2007. Vol. 3, p. 1019 – 1023.

LEE, Esther. MIKOS, Antonios. Biomaterials for Tissue Engineering. Annals of Biomedical Engineering. 2013. Vol. 42, No. 2, p. 323–337.

LLORENS, Elena. Scaffolds with tuneable hydrophilicity from electrospun microfibers of polylactide and poly (ethylene glycol) mixtures: morphology, drug release behavior, and biocompatibility. J Polym Res. 2014 Vol. 31, p. 360

JAN W.Gooch. Encyclopedic Dictionary of Polymers (2011)
http://ezproxy.uis.edu.co:2428/static/pdf/266/prt%253A978-3-540389187%252F-16.pdf?auth66=1404143279_6695f209d72fa67d0107427c42adf621&ext=.pdf.

MÁRMOL, Zulay y otros. Quitina y quitosano polímeros amigables, una revisión de sus aplicaciones. Revista Tecnocientífica URU. 2011; Disponible en: <http://uru.edu/fondoeditorial/revista/pdf/rtu/TCUn1/Quitina%20y%20quitosano.pdf>>

MALAKAUSKAITE Milda. Sol–gel synthesis of calcium hydroxyapatite thin films on quartz substrate using dip-coating and spin-coating techniques. Springer Mayo 2014 [online] disponible en:<http://ezproxy.uis.edu.co:2097/article/10.1007/s-109-710143394-5/fulltext.html>. [Consultada: 13 de enero del 2015]

M. Karthega, V. Raman, N. Rajendran. Influence of potencial on the electrochemical behavior of β titanium alloys in Hank's solution. Acta Biomaterialia. Vol 3, p. 1019 – 1023. November 2007.

MIN, L,. et al. Biomimetic apatite – coated alginate/chitosan microparticles as osteogenic protein carriers. Biomaterials. 2009; 30: p. 6094 – 6101.

MULLER, Lenka,. MULLER, Frank. Preparation of SBF with different HCO-3 content and its influence on the composition of biomimetic apatites. Acta biomaterialia. 2006. 2, p. 181 – 189.

M. Wei, H.-M Kim, T. Kokubo, J.H. Evans. Optimising the bioactivity of alkaline treated titanium alloy. Material Science and Engineering. Kyoto, Japan. 2002. Vol, 20, p. 125 – 134.

M. Zhang, X.H. Li, Y.D. Gong, N.M. Zhao, X.F. Zhang. Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. Biomaterials Beijing, China. July 2002. Vol. 23, p. 2641 – 2648.

NARAYAN, Roger. Biomedical Materials USA, Springer Science. 2009. pp. 573

N. BHATTARAI, H. R. RAMAY, J. GUNN, F. a MATSEN, and M. ZHANG, “PEG-grafted chitosan as an injectable thermosensitive hydrogel for sustained protein release,” J. Control. Release. Vol. 103, no. 3, p. 609–24, Apr. 2005.

NUTTELMAN, Charles R. The effect of athylene glycol methacrylate phosphate in PEG hydrogels on mineralizarin and viability for encapsulated hMSCs Biomaterials. September 2005.

QUINTERO JAIME, Andrés Felipe. Obtención y evaluación de superficies de Policaprolactona-quitosano patronadas por ablación laser. Bucaramanga, 2013.

Trabajo de grado (Ingeniero Metalúrgico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingeniería Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales.

RODIL, Sandra E. "Modificación superficial de biomateriales metálicos". Caracas. Venezuela. 2009. Revista latinoamericana de metalurgia y materiales Vol. 29, p. 65-76

RODRIGUEZ HAMMAMURA, N. VALDERRAMA NEGRON, A. PREPARACIÓN DE PARTÍCULAS DE QUITOSANO RETICULADAS CON TRIPOLIFOSFATO Y MODIFICADAS CON POLIETILENGLICOL. Rev soc quim . Peru. Octubre 2010, p. 336-354.

RODRIGUEZ JAIMES, Yeison Javier. Formación de recubrimientos mediante oxidación electrolítica por plasma (PEO) sobre una aleación de Ti6Al4V para aplicaciones biomédicas. Trabajo de grado Ingeniero Metalúrgico. Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander. Facultad de físico-químicas, 2014.

PALLAD, D., SANTANU D., JYOTIRMOY, C. Hydrogels and electrospun nanofibrous scaffolds of N-methylene phosphonic chitosan as bionspired osteoconductive materials for bone grafting. Carbohydrate polymers. 2012; Vol. 87, 1354 – 1362.

PAWLAK, A. MUCHA, M. Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. Thermochemica Acta. 2003. p. 153 – 166.

PIGHINELLI, Luciano. KUCHARSKA, Magdalena. Chitosan hydroxyapatite composites. *Carbohydrate Polymers*. 1 March 2013. Vol 93, p. 256 – 262

PRZEKORA, Agata. GINALSKA, Grażyna . Biological properties of novel chitosan-based composites for medical application as bone substitute. *Central European Journal of Biology*. 02 December 2013, p. 634 - 641

SEETO, W.J, Y. TIAN , E.A. LIPKE . Peptide-grafted poly(ethylene glycol) hydrogels support dynamic adhesion of endothelial progenitor cells. *Acta Biomaterialia Journal*. 13 June 2013.

SHENG Zhang, QINGSONG Wei, LINGUY Cheng, SOU Li, Yusheng Shi. Effects of scan line spacing on pore characteristics and mechanical properties of porous Ti6Al4V implants fabricated by selective laser melting. *Materials & Design* 2014. Vol. 63, p. 185 - 193.

S. JEGATHEESWARAN, M. SUNDRARAJAN. PEGylation of novel Hydroxyapatite/PEG/Ag Nanocomposite particles to improving its Antibacterial efficacy. *Materials Science and Engineering: C* . 20 February 2015.

SANAA M. F. Improvement in antibacterial properties of Ti by electrodeposition of biomimetic Ca-P apatite coat on anodized titania. *Applied Surface Science*. Vol 26, p. 1 -7 Noviembre 2012.

TADASHI Kokubo and et al. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials*. June 2003 Vol. 24, p. 2161 - 2175.

TAPASH R. RAUTRAY and et al. Ion implantation of titanium based biomaterials. *Progress in Materials Science*. October 2011 Vol. 56, p. 1137 – 1177

U. Piratoba; E. Vera, C.Ortiz. Aspectos básicos en la interpretación de diagramas de impedancia electroquímica [online]. Medellín, junio de 2010 [citado 31 de Marzo, 2015] disponible en: <<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/1571>>.

WANG C. X, WANG M, ZHOU X. Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study. *Biomaterials*. Vol. 24 , p. 3069 – 3077.

William APERADOR, Cesar AMAYA, Jorge BAUTISTA RUIZ. Evaluación de la resistencia a la corrosión erosión de recubrimientos multicapas de TiN/AlTiN. *Revista latinoamericana de Metalurgia y Materiales*. Vol 32 n 2. Diciembre 2012

ZHONGGEN, Shi. Nanoparticles of deoxycholic acid, polyethylene glycol and folic acid -modified chitosan for targeted delivery of doxorubicin. *Mater Med* 2014. Vol. 25, p. 723 – 731

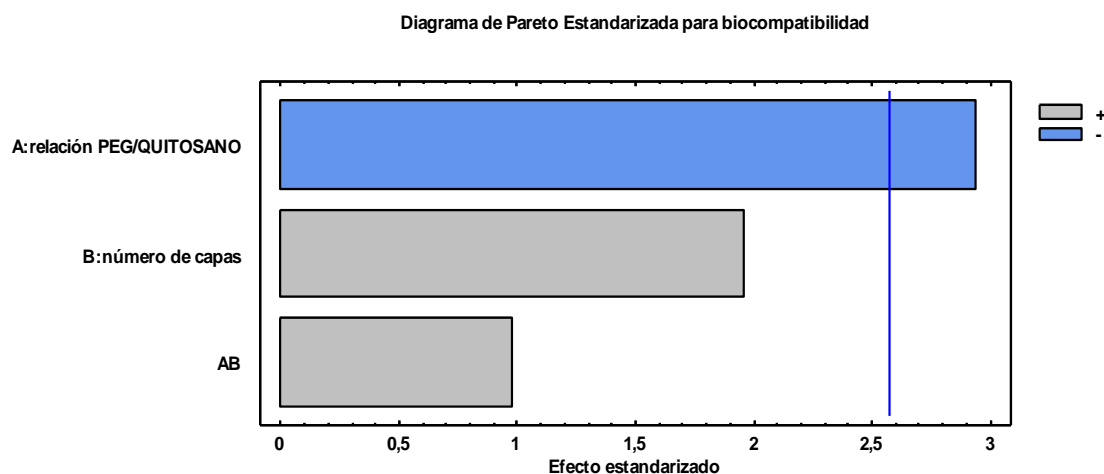
ZUWEI, MA., et al. Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2007; Vol. 60, p.137-157.

ANEXOS

Anexo A. Análisis Estadístico

En el diagrama de Pareto figura 19, se observa la estimación de dos variables, A : relación Quitosano/PEG, B : número de capas, que fueron empleadas para la realización del proyecto, dónde la variable más significativa para la biocompatibilidad, es la A : relación Quitosano/PEG.

Figura 19. Diagrama de Pareto estandarizada para biocompatibilidad.



En la tabla 10, se presenta el análisis de varianza para la resistencia a la transferencia de carga, donde se corrobora lo mostrado en el diagrama de Pareto. La mejor variable cuyo valor es menor a 0.05, es la A : la relación Quitosano/PEG, las otras variables tienen influencia significativa en el rango utilizado para este estudio, con un nivel de confianza del 95%.

El estadístico R – Cuadrado indica que el modelo, así ajustado, explica 72,987% de la viabilidad en biocompatibilidad. El estadístico R- cuadrada ajustada, que es

más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 51,3766%.

R-cuadrada = 72,987 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 51,3766 por ciento

Error estándar del estancia. = 1,44222

Error absoluto medio = 0,8

Estadístico Durbin-Watson = 2,50385 (P=0,6694)

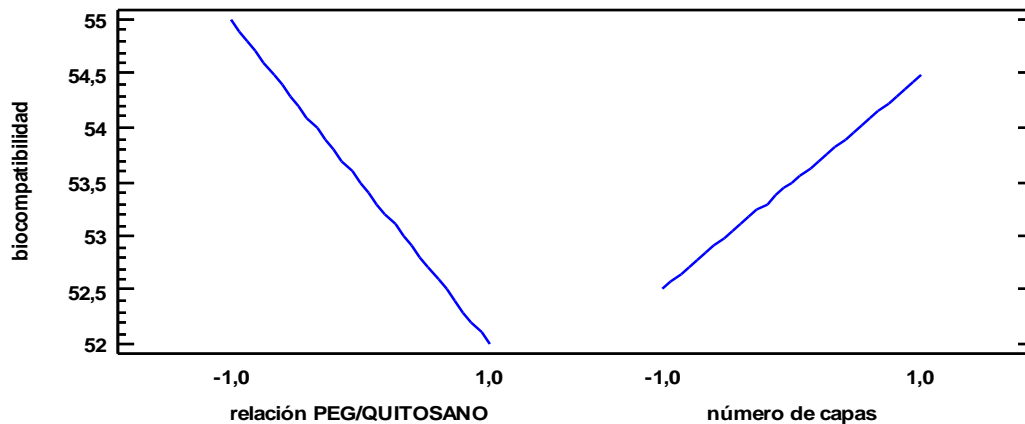
Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,276923

Tabla 9. Análisis de varianza para biocompatibilidad.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:relación Quitosano/PEG	18,0	1	18,0	8,65	0,0322
B:número de capas	8,0	1	8,0	3,85	0,1071
AB	2,0	1	2,0	0,96	0,3718
bloques	0,1	1	0,1	0,05	0,8351
Error total	10,4	5	2,08		
Total (corr.)	38,5	9			

Figura 20. Análisis de varianza

Gráfica de Efectos Principales para biocompatibilidad



En biocompatibilidad, el factor que contribuye con la máxima varianza son las relaciones poliméricas, lo cual es acorde con los resultados donde la mayor precipitación de iones Ca^{+} se dio en la relación 50/50 Quitosano/PEG.