

**OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE SUPERFICIES DE POLICAPROLACTONA-
QUITOSANO PATRONADAS POR ABLACIÓN LÁSER**

ANDRÉS FELIPE QUINTERO JAIME

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE INGENIERÍA FISCOQUÍMICAS

ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES

BUCARAMANGA

2013

**OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE SUPERFICIES DE POLICAPROLACTONA-
QUITOSANO PATRONADAS POR ABLACIÓN LÁSER**

ANDRÉS FELIPE QUINTERO JAIME

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

Director: Ph.D. DARÍO YESID PEÑA BALLESTEROS

Codirector: Dr. HUGO ARMANDO ESTUPIÑAN DURÁN

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

2013

DEDICATORIA

A mi vieja, Nelcy Aurora Jaime Sánchez por haberme brindado el amor incondicional de madre y padre; convirtiéndose en el pilar más importante en mi crecimiento personal y profesional.

A mi padre, Jairo Enrique Quintero Moreno, por enseñarme el valor de las cosas obtenidas con esfuerzo y dedicación; permitiéndome crecer como ser humano.

A mis abuelitas hermosas, Luz María Sánchez Reyes y Simona María Moreno De Quintero que con su amor desde el cielo, me entregaron las fortalezas para continuar pese a las dificultades, así como toda la sabiduría y cariño que me transmitieron.

Como dijo Emily Dickinson "Todo mi patrimonio son mis amigos", es por ello que a Nelson, Jenny, Liliana, Oscar, Marly, Diana, Jhon Torres, Lina Gaitán, Juan Diego, Andrés Cruz, Lisseth Giorgi, Jose Quintero, Andrea Pabón, Andrés Gómez, Harrison, Carlos Ortega y a todos mis compañeros que estuvieron en el trascurso de este proceso, les entrego este triunfo ya que sin su apoyo, cariño y compañía nada de esto hubiese sido realidad.

A mis familiares Jaime y Quintero gracias por haber fomentado en mí el deseo de salir adelante y triunfar.

AGRADECIMIENTOS

El autor de este proyecto de investigación expresa sus más sinceros agradecimientos a:

Ph.D. Dario Yesid Peña Ballester, director de este proyecto de investigación, por toda su paciencia, dedicación y apoyo, los cuales permitieron forjar, las ideas y construir el conocimiento necesario para la realización de ésta investigación; así como mi crecimiento profesional.

Dr. Hugo Armando Estupiñan, codirector de esta investigación, Ms.C. Custodio Vásquez Quintero y Ph.D. Sandra García Vergara, por toda la colaboración y aporte intelectual en el presente trabajo.

Ambrosio Carillo, Domingo Carreño y todos los técnicos que directa o indirectamente estuvieron involucrados en la presente investigación; aportando las herramientas, apoyo y conocimientos necesarios para cumplir con los objetivos planteados en este proyecto.

Al laboratorio de microscopía del parque tecnológico Guatiguará, especialmente a Carlos Alberto Chacón y Carolina Mendoza Luna por todo el apoyo y conocimiento brindado en la realización de este proyecto de grado.

Al profesor Enrique Mejía por la confianza, dedicación y orientación en este proyecto, sin su ayuda y cooperación la culminación y cumplimiento de los objetivos planteados en dicha investigación no sería posible.

RESUMEN

TÍTULO: OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE SUPERFICIES DE POLICAPROLACTONA-QUITOSANO PATRONADAS MEDIANTE ABLACIÓN LÁSER*.

AUTOR: QUINTERO JAIME ANDRÉS FELIPE**.

PALABRAS CLAVES: Policaprolactona, quitosano, $\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$, ablación láser, patronamiento.

DESCRIPCIÓN

Las propiedades mecánicas del titanio y sus aleaciones; así como su elevada resistencia a la corrosión hacen de él uno de los materiales más idóneos para su uso en la sustitución de tejidos; sin embargo su poca capacidad para reaccionar en un medio biológico, suscitando el crecimiento de hueso, se convierte en una de sus principales desventajas. Por tal motivo el campo de la bioingeniería se ha enfocado en desarrollar técnicas que permitan modificar la reactividad química de la superficie del titanio y sus aleaciones.

En la presente investigación se acopló el uso de tratamientos químicos a la aleación Ti6Al4V, con una solución 10 M de NaOH a 60°C, promoviendo el crecimiento de un titanato de sodio ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$) bioactivo en la superficie; con el uso de recubrimientos biopoliméricos de policaprolactona y quitosano. Las películas se conformaron mediante la técnica *Dip Coating*, a partir de soluciones poliméricas de policaprolactona y quitosano en ácido acético glacial, con diferente contenido de policaprolactona. Con base a los análisis morfológicos SEM y los espectros infrarrojos FTIR, se observó que la cantidad de policaprolactona en la película tiene un efecto en la retención del quitosano en la superficie, así como en las características morfológicas de los recubrimientos.

Los recubrimientos biopoliméricos, en las muestras de Ti6Al4V tratadas; se modificó topográficamente empleando un láser Nd-YAG, fabricando μ -Cráteres con un diámetro de 28,29 μm en la superficie, bajo la técnica de ablación láser; los cuales aumentan la interacción iónica de la superficie frente al fluido al generarse una disminución en los valores a la transferencia de carga de las películas poliméricas. Los cráteres se fabricaron manteniendo una separación promedio entre ellos de 176,43 μm y 509,75 μm , formando una superficie patronada en toda el área de las películas, con mayor adsorción y precipitación de calcio.

*Proyecto de grado

**Facultad de ingenierías físico-químicas. Escuela de ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. Director: Ph.D. DARÍO YESID PEÑA BALLESTEROS. Codirector: Dr. HUGO ARMANDO ESTUPIÑAN DURÁN.

ABSTRACT

TITLE: OBTAINING AND EVALUATION OF POLYCAPROLACTONE-CHITOSAN PATTERNING SURFACE BY LASER ABLATION*.

AUTHOR: QUINTERO JAIME ANDRÉS FELIPE**.

KEY WORDS: Polycaprolactone, Chitosan, laser ablation, patterning.

DESCRIPTION

The titanium's mechanical properties and his alloys; as his high corrosion resistance, make it one of the best materials to use in the tissue replacement; however his little ability to react with the environment to promote the bone growth, it's becoming a major problems on this biomaterial. For this reason, the bioengineering field has focused in carry out other techniques to modify the chemical reactivity on the titanium and alloys' surface.

In this investigation, it hitched the use of chemical treatment on the Ti6Al4V alloy, with a 10 M NaOH solution to 60°C, that's promoting the growth of the bioactive titanate of sodium ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$) onto the alloy's surface; with biopolymeric coatings of polycaprolactone and chitosan. The layers were forming with dip coating technique; using polymeric solutions of polycaprolactone and chitosan in acetic glacial acid, with different amounts of polycaprolactone. Base on the morphological analysis by SEM and the spectrums infrared, it can look the effect of the polycaprolactone in the retention of chitosan; and the characteristic in the coatings' morphology.

The biopolymeric coatings onto the treated Ti6Al4V samples; it modified its topography using a Nd-YAG laser; building μ -Craters with 28,29 μm in diameter on the surface; those craters increased the ionic interaction between the surface and electrolyte to generate a reduction on the values to the transfer resistance of charge on the biopolymeric layers. The craters was making with average separation between them of 176,43 μm and 509,75 μm , creating a patterning surface, with greater adsorption and precipitation of calcium.

*Work degree

**Physicochemical engineering faculty, Metallurgical and science materials engineering school..
Directress: Ph.D. DARÍO YESID PEÑA BALLESTEROS. Codirector: Dr. HUGO ARMANDO ESTUPIÑAN DURÁN.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	17
OBJETIVOS	19
2.1. OBJETIVO GENERAL	19
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3. CONCEPTOS TEÓRICOS	20
3.1. BIOMATERIAL	20
3.2. TRATAMIENTO SUPERFICIAL ALCALINO DEL TITANIO Y SUS ALEACIONES	20
3.3. POLICAPROLACTONA	22
3.4. QUITOSÁN	22
3.5. ABLACIÓN LÁSER	23
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	25
4.1. ETAPA 1: PREPARACIÓN SUPERFICIAL	25
4.2. ETAPA 2: TRATAMIENTO ALCALINO	26
4.3. ETAPA 3: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES POLIMÉRICAS DE POLICAPROLACTONA/QUITOSANO	27
4.4. ETAPA 4: CONFORMACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POLICAPROLACTONA/QUITOSANO	28
4.5. ETAPA 5: PATRONAMIENTO POR ABLACIÓN LÁSER	29
4.6. ETAPA 6: PRUEBAS DE ADSORCIÓN DE CALCIO	30
4.7. ETAPA 7: CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA	31
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS	33
5.1. CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LA ALEACIÓN TI6AL4V	33
5.2. TRATAMIENTO SUPERFICIAL ALCALINO DE LA ALEACIÓN TI6AL4V	34
5.3. OBTENCIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POLIMÉRICOS DE POLICAPROLACTONA/QUITOSANO	37

5.3.1. Análisis por microscopia SEM de los recubrimientos Policaprolactona/Quitosano	37
5.3.2. Caracterización por espectroscopia infrarrojos de los recubrimientos Policaprolactona/Quitosano	43
5.4. OBTENCIÓN DE SUPERFICIES PATRONADAS POR ABLACIÓN LÁSER SOBRE LOS RECUBRIMIENTOS DE POLICAPROLACTONA/QUITOSANO.....	45
5.5. PRUEBAS DE ADSORCIÓN DE CALCIO EN SBF	49
5.6. ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE LA DEGRADACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POLIMÉRICOS DE POLICAPROLACTONA/QUITOSANO..	54
5.7. CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA FRENTE A FLUIDO FISIOLÓGICO SIMULADO	55
5.7.1. Evaluación por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIE).....	55
5.7.2. Análisis por circuitos equivalentes	60
6. CONCLUSIONES	63
7. RECOMENDACIONES.....	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS.....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formación de apatitas de una superficie de titanio tratada alcalinamente a) Titanato de sodio amorfo antes de inmersión en SBF, b) Liberación y formación de los grupos Ti-OH, c) Migración de calcio y formación del titanato de calcio, d) Movilidad del ion fosfato hacia el titanato de calcio y precipitación de fosfatos de calcio amorfos y e) Formación de apatita cristalina.	21
Figura 2. Estructura del monómero y de la cadena de e-caprolactona y policaprolactona.	22
Figura 3. Cadena polimérica de quitina y quitosano.	23
Figura 4. Proceso de ablación láser de una muestra sólida.	24
Figura 5. Metodología experimental realizada en el presente trabajo.	25
Figura 6. Montaje utilizado para el tratamiento alcalino de la aleación Ti6Al4V en solución 10M de NaOH a 60°C r 24 horas.	26
Figura 7. Soluciones poliméricas e PCL/Quitosano: a) 30%PCL y 70% Quitosano, b) 50%PCL y 50% Quitosano y c) 70%PCLy 30%Quitosano.	28
Figura 8. Montaje para el patronamiento por ablación láser de las muestras de Ti6Al4V tratadas alcalinamente recubiertas con mezclas poliméricas de PCL/Quitosano.	30
Figura 9. Montaje de celda plana para la caracterización por espectroscopia de impedancia electroquímica las muestras de Ti6Al4V recubiertas con PCL/Quitosano con y sin patronamiento.	32
Figura 10. Micrografía óptica de Ti6Al4V atacada con reactivo Kroll por 10 segundos a una magnificación de 2000X.	33

Figura 11. Muestra de Ti6Al4V tratadas alcalinamente: a) Antes del proceso de calcinación, b) Posterior al proceso de calcinación a 450°C por 1 hora.	34
Figura 12. Micrografías SEM de muestras de Ti6Al4V: a) Pulida, decapada y lavada, b) Tratada en solución de NaOH por 24 horas a 60°C sin calcinación y c) Tratada en solución de NaOH por 24 horas a 60°C y calcinada a 450°C	35
Figura 13. Análisis EDS de las superficies de la aleación Ti6Al4V posterior a 24 horas de tratamiento en solución 10M de NaOH a 60°C por 24 horas y calcinación a 450°C por 1 hora.	36
Figura 14. Micrografías SEM del recubrimiento 30% PCL y 70% Quitosano: a) Recubrimiento 30/70 de PCL/Quitosano a 6000X, b) Recubrimiento 30/70 de PCL/Quitosano a 10000X.	38
Figura 15. Películas poliméricas 50% PCL y 50% Quitosano: a) Recubrimiento 50/50 de PCL/Quitosano a 40000X, b) Precipitados de policaprolactona en la matriz porosa de quitosano para un recubrimiento con relación 50/50.	39
Figura 16. Películas poliméricas con 50%OCL y 50% Quitosano: a) Recubrimientos 50/50 de PCL/Quitosano a 5000X, b) Rugosidades en la capa superior y continua de las películas 50/50 de PCL/Quitosano.	40
Figura 17. Películas polimérica con 70%PCL y 30% Quitosano: a) Superficie del recubrimiento 70/30 de PCL/Quitosano a 5000X con rugosidad en su superficie, b) Recubrimiento homogéneo 70/30 de PCL/Quitosano a 20000X.	41
Figura 18. Películas poliméricas con 70%PCL y 30% Quitosano: a) Despegue del recubrimiento 70/30, b) Superficie porosa de quitosano entre el sustrato y el recubrimiento 70/30 de PCL/Quitosano.	42
Figura 19. Espectros infrarrojos (FTIR) para las muestras biopolimérica-cerámica con relaciones PCL/Quitosano 30/70, 50/50 y 70/30.	44

Figura 20. Micrografías SEM de las superficies biopoliméricas patronadas mediante ablación láser y sus respectivas medidas: a) Espaciamiento entre cráteres, b) Diámetro de los cráteres formados.	46
Figura 21. Cráteres formados por ablación láser en la superficie de la aleación Ti6Al4V recubierta con PCL/Quitosano con diferente relación polimérica: a) Película 30/70, b) Película 50/50 y c) Película 70/30.	47
Figura 22. Micrografía SEM y espectro EDS de la zona impactada por el haz del láser en una superficie de PCL/Quitosano con relación 70/30.	48
Figura 23. Micrografías SEM y espectros EDS de las películas poliméricas de PCL/Quitosano después de 8 días de inmersión en fluido SBF: a) Películas con relación 30/70 sin antes de patronar, b) Películas con relación 50/50 sin antes de patronar y c) Películas con relación 70/30 sin antes de patronar.	50
Figura 24. Micrografías SEM y espectros EDS de las películas poliméricas después de 8 días de inmersión en fluido SBF: a) Películas con relación 30/70 patronada, b) Películas con relación 50/50 patronada y c) Películas con relación 70/30 patronada.	52
Figura 25. Curva de concentración de calcio en el fluido SBF vs. Tiempo de inmersión.	53
Figura 26. Morfología superficial de las películas poliméricas después de 8 días de inmersión, degradadas por un proceso hidrolítico: a) Película con relación 50/50, b) Película con relación 70/30.	55
Figura 27. Diagramas de Nyquist para las muestras PCL/Quitosano con relaciones 30/70, 50/50 y 70/30 antes y posterior al patronamiento por ablación láser en solución SBF por 3 horas.	56

Figura 28. Curvas de Bode para el módulo de impedancia vs. Log Frecuencia: a) Muestras recubiertas con PCL/Quitosano 30/70, 50/50 y 70/30 antes de patronar en solución SBF por 3 horas, b) Muestras recubiertas con PCL/Quitosano 30/70, 50/50 y 70/30 patronadas en solución SBF por 3 horas.57

Figura 29. Diagramas de Bode para el ángulo de fase vs. Log Frecuencia: a) Muestras recubiertas con PCL/Quitosano 30/70, 50/50 y 70/30 antes de patronar en solución SBF por 3 horas, b) Muestras recubiertas con PCL/Quitosano 30/70, 50/50 y 70/30 patronadas en solución SBF por 3 horas.58

Figura 30. Representación de las interfases para un sistema compuesto por una subcapa interna densa y compacta, y una capa externa porosa o defectuosa; con su respectivo circuito equivalente representativo.61

Figura 31. Representación de las interfases para un sistema compuesto por subcapas densas y compactas, una sobre otras; con su respectivo circuito equivalente representativo.62

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1	Cantidades y concentraciones de polímeros en solución para la preparación de las soluciones PCL/Quitosano.	27
Tabla 2	Composición química del fluido fisiológico (<i>SBF</i>) para pruebas de adsorción de calcio.	31

LISTA DE ANEXOS

		Pág.
Anexo A	Listado de reactivos empleados.	72
Anexo B	Listado de equipos empleados.	72
Anexo C	Flujograma para la preparación de las soluciones poliméricas de PCL/Quitosano.	73
Anexo D	Montaje para la conformación de las películas de PCL/Quitosano por dip coating.	74
Anexo E	Análisis EDS de la superficie de la aleación Ti6Al4V antes del tratamiento alcalino.	74
Anexo F	Análisis EDS de la superficie recubierta y son recubrir de un sustrato con una películas polimérica con 30% PCL y 70% Quitosano.	75
Anexo G	Espectro infrarrojo FTIR de la policaprolactona (PCL).	75
Anexo H	Espectro infrarrojo FTIR del quitosano.	76
Anexo I	Espectro infrarrojo FTIR del titanato de sodio.	76
Anexo J	Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 30/70 sin patronar.	77
Anexo K	Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 50/0 sin patronar.	78
Anexo L	Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 70/300 sin patronar.	79
Anexo M	Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 30/70 sin patronar.	80
Anexo N	Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 50/50 sin patronar.	81
Anexo O	Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 70/30 sin patronar.	82
Anexo P	Reacción de degradación hidrolítica para el quitosano.	83

INTRODUCCIÓN

El mejoramiento de la expectativa de vida del hombre, ha enfocado en gran medida al campo médico e ingenieril al desarrollo de nuevas tecnologías que garanticen la recuperación de ciertas funciones biológicas y estructurales. Los biomateriales han sido una pieza fundamental en este proceso; y es por ello que muchas investigaciones se han encaminado en la generación de materiales con propiedades bioactivas y biocompatibles, que provean las condiciones necesarias para una interacción celular favorable.

Dada la importancia que juega la superficie del material, al estar en contacto con el medio biológico, se hace crítico y fundamental que las condiciones superficiales sean las más adecuadas, con el fin de garantizar una apropiada interacción y adhesión proteínica favorable, para una posterior interacción celular [29, 38]. Una de las más revolucionarias, debido al impacto generado por la nanotecnología, es la modificación topográfica de la superficie a nivel micro y nanométrico (menores a 100 nm), creando patrones superficiales mediante técnicas litográficas, polimerizaciones superficiales, electrodeposición localizada a nivel micro y nanométrico, entre otras. Esta clase de modificaciones superficiales en el implante, recrean una topografía similar a la del tejido (Biomimesis); las cuales influyen de manera significativa en la adhesión celular, proliferación, diferenciación y distribución del tejido en el implante óseo, garantizando el proceso de osteointegración [38].

La aleación Ti6Al4V es por excelencia el biomaterial metálico más empleado, en especial para implantes óseos; sin embargo su inercia química, hace de esta aleación, un material carente de capacidad bioactiva (Bioinerte) [29, 39]. Diversas alternativas se han desarrollado para modificar las características bioinertes del titanio y sus aleaciones, con el fin de convertirlo en un material bioactivo y biofuncional; tales como los tratamientos químicos, los procesos de oxidación y el uso de recubrimientos poliméricos o cerámicos, los cuales brindan una superficie

más favorable a las condiciones del medio, y promueven la mineralización del implante y proliferación celular; manteniendo las propiedades mecánicas e inertes de la aleación [29].

En la presente investigación se obtuvo recubrimientos de policaprolactona-quitosano empleando mezclas poliméricas y conformadas por la técnica *dip coating*; sobre un sustrato de Ti6Al4V tratado químicamente. Estos recubrimientos a su vez fueron modificados topográficamente, mediante la formación de patrones en la superficie de los recubrimientos, empleando la técnica de ablación láser; con el propósito de evaluar comportamiento de las películas frente a un fluido fisiológico, para su aplicación como implantes óseos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL.

Obtener y evaluar superficies de Policaprolactona-Quitosano patronadas por ablación láser.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Desarrollar recubrimientos de policaprolactona-Quitosano sobre sustratos de Ti6Al4V tratado químicamente.
- Obtener y caracterizar las superficies patronadas de recubrimientos de Policaprolactona-Quitosano mediante ablación láser.
- Evaluar la capacidad de formación de fosfato de calcio de superficies patronadas de policaprolactona-Quitosano mediante técnicas de espectroscopia de impedancia electroquímica en SBF.

3. CONCEPTOS TEÓRICOS

3.1. BIOMATERIAL.

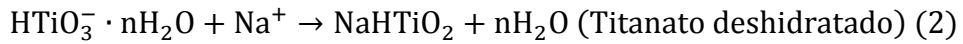
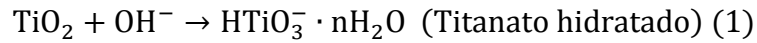
Los biomateriales pueden ser considerados como sustancias o productos, naturales o sintéticos, empleados en seres vivos para sustituir, mejorar o promover una función fisiológica en el organismo, ya sea en un órgano o una estructura tisular. Estos materiales deben caracterizarse por ser no tóxicos o cancerígenos, tener excelentes propiedades mecánicas y de fatiga, así como una buena relación densidad/peso [29].

Al entrar en contacto el biomaterial con el medio fisiológico ocurre una interacción entre el medio biológico receptor y la superficie del biomaterial que promoverán o no el proceso de crecimiento celular y tisular. El proceso de interacción celular se lleva a cabo por una serie de fenómenos superficiales, tales como la formación de una doble capa eléctrica, la migración de iones a dicha interfase, la absorción de proteínas, la interacción celular y la proliferación; los cuales presentan una alta correlación con las condiciones de la superficie como rugosidad, porosidad y topografía, que influirán en la respuesta del organismo hacia el implante, causando su encapsulamiento u osteointegración [20,22].

3.2. TRATAMIENTO SUPERFICIAL ALCALINO DEL TITANIO Y SUS ALEACIONES.

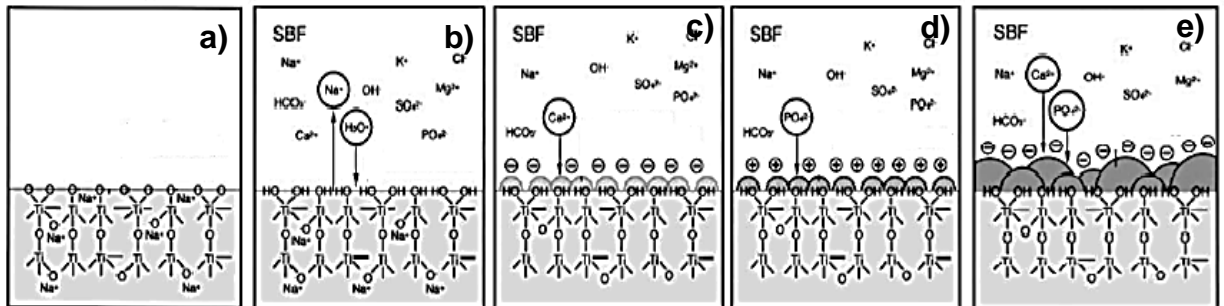
Los tratamientos químicos superficiales son procesos, donde se induce una reacción química en la superficie de una aleación metálica específica, con un medio acuoso. El titanio y sus aleaciones son tratadas mediante la inmersión de la muestra metálica en una solución de NaOH; que induce una reacción entre la superficie de la aleación con el medio básico, generando un titanato de sodio como producto químico en la superficie, como es indicado en la reacción 1 y 2.

El proceso ocurre por 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 grupo HTiO_3^- atrae los cationes de Na^+ , para formar un gel de titanato de sodio sobre la superficie durante la deshidratación, consolidando un sólido estable y amorfo. Al entrar en contacto con el fluido fisiológico, la capa se hidroliza y los cationes de sodio nuevamente son liberados, dejando el HTiO_3^- libre [4], para que migren los cationes de calcio y formen el titanato de calcio, que posteriormente promueven el enlace con los iones fosfato (PO_4^{2-}) y la precipitación de los fosfatos de calcio (Apatitas), los cuales crecen a medida que consumen calcio y fósforo del medio [39]; como se aprecia en la Figura 1.

Figura 1. Formación de apatitas en una superficie de titanio tratada alcalinamente, a) Titanato de sodio amorfo antes de inmersión en SBF, b) Liberación y formación de los grupos Ti-OH , c) Migración de calcio y formación del titanato de calcio, d) Movilidad del ion fosfato hacia el titanato de calcio y precipitación de fosfato de calcio amorfo y e) Formación de apatitas cristalinas [18,39].

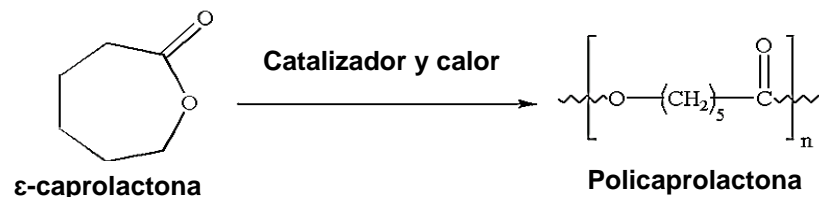


Fuente: Estudio de la susceptibilidad a la corrosión en presencia de fluidos corporales simulados de una aleación Ti6Al4V recubierta con hidroxiapatita [4].

3.3. POLICAPROLACTONA.

La policaprolactona (PCL) es un poliéster biodegradable, obtenido al polimerizar por apertura de anillo la ϵ -caprolactona, como se indica en la Figura 2. La policaprolactona se caracteriza a su vez por ser un polímero semicristalino, con un punto de ebullición alrededor de los 64°C [6].

Figura 2. Estructura del monómero y de la cadena polimérica de ϵ -Caprolactona y policaprolactona.



Fuente: Synthesis of polycaprolactone polymer for bone tissue repair. [8]

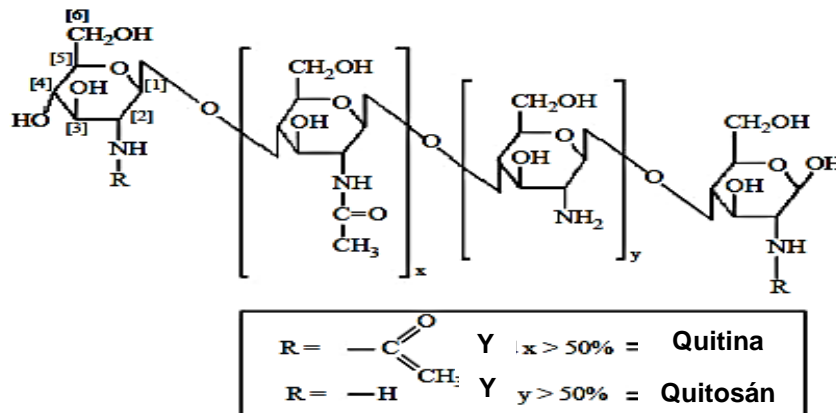
La policaprolactona se ha consolidado como uno de los polímeros sintéticos más empleados como biomaterial, gracias a su excelente biocompatibilidad con el cuerpo humano y su capacidad de formar de matriz extracelular principalmente. A medida que se descompone el polímero es reabsorbido por las células; sin embargo este biopolímero se ve bastante perjudicado por su alta hidrofobicidad (Ángulo de contacto de 80°) y una lenta velocidad degradativa [2,8].

3.4. QUITOSÁN.

El quitosán o quitosano es un biopolímero natural, derivado de la quitina presente en el caparazón de crustáceos, mariscos e insectos. La quitina y el quitosán están compuestos principalmente por unidades de N-Acetil-Glucosamina y de N-Glucosamina en su cadena polimérica, como lo observado en la Figura 3; sin

embargo dependiendo del porcentaje de cadenas N-Acetil-Glucosamina presentes en la cadena polimérica son clasificados como quitosán o quitina.

Figura 3. Cadena polimérica de la quitina y el quitosano.



Fuente: Implantable applications of chitin and chitosan. [17]

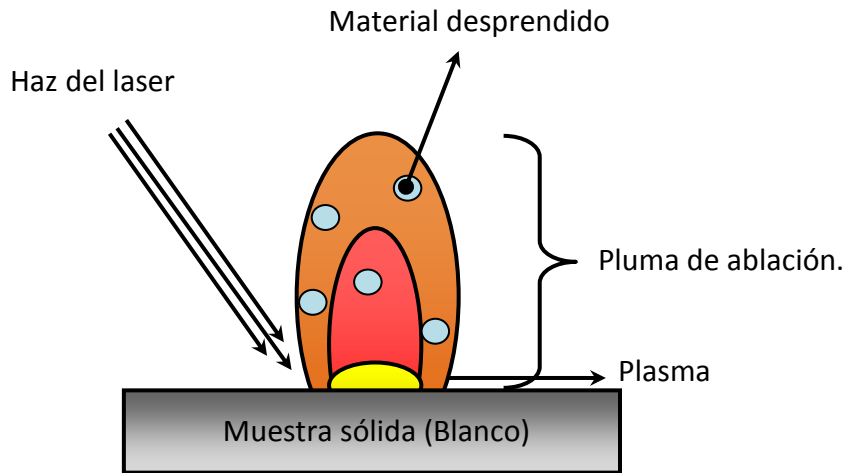
Al ser un polímero natural, el quitosán es empleado para su uso en andamios para implantes óseos, gracias a su facilidad para la precipitación de calcio, su excelente compatibilidad con las células del organismo, promoviendo el crecimiento y adhesión celular. Adicionalmente el quitosán es un polímero no tóxico en el organismo, y en su proceso degradativo es reabsorbido por las células.

3.5. ABLACIÓN LÁSER

El proceso de ablación láser se basa en la remoción de material de una muestra sólida; al impactar un haz de energía coherente (Láser) sobre la superficie de dicho material. El fenómeno de ablación está relacionado a la capacidad del haz de energía para ionizar materia, generando un plasma sobre la superficie de la

muestra, que alcanza una temperatura superior a los 1500 K; el cual sublima y/o evapora el material irradiado, como se observa en la Figura 4 [40].

Figura 4. Proceso de ablación láser de una muestra sólida.



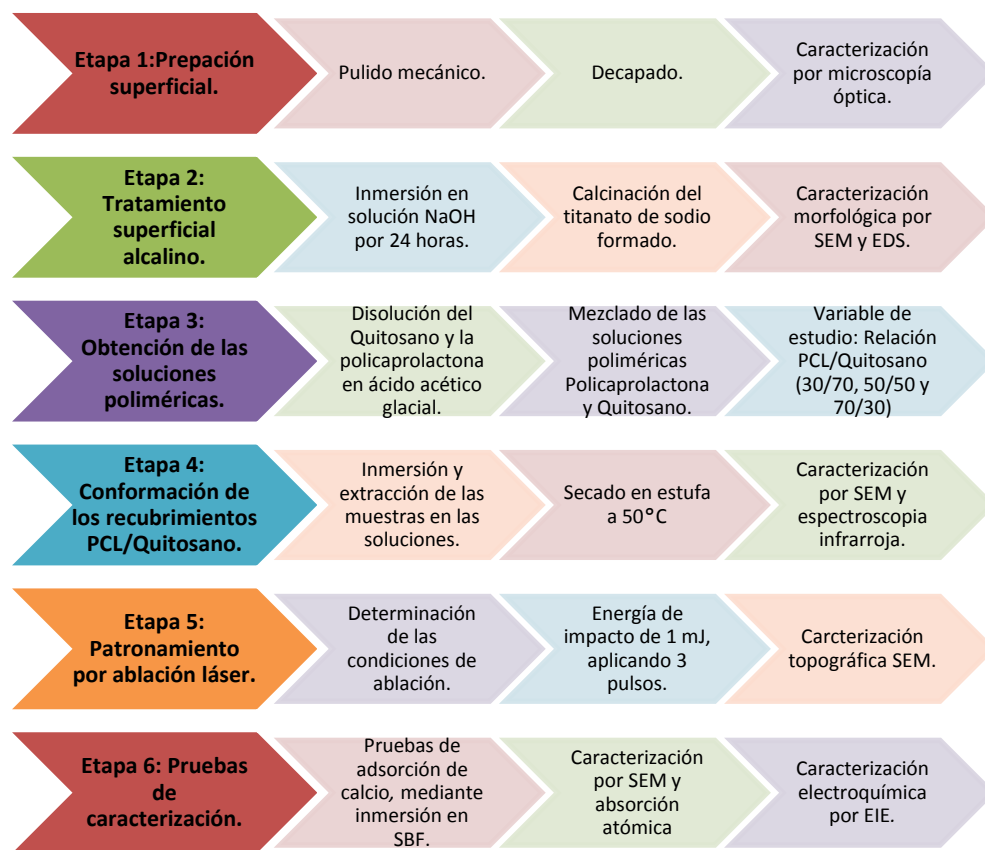
Fuente: Autor.

El plasma formado en la superficie de la muestra transforma los componentes del sólido en vapor, que posteriormente es expulsado de la superficie al exterior formando un chorro de gas, llamado “Pluma de ablación”; consecuencia de la diferencia de presión generada por el plasma en la superficie. La remoción del material de la superficie del sólido, genera un orificio o un grabado, conocido como “*Spots*” por su nombre en inglés [16].

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El desarrollo de experimental de este proyecto se basó en 6 etapas, como se pueden observar en la Figura 5.

Figura 5. Metodología experimental realizada para el presente trabajo.



Fuente: Autor

4.1. ETAPA 1: PREPARACIÓN SUPERFICIAL.

Las muestras empleadas para la realización de este proyecto fueron probetas cilíndricas de Ti6Al4V con un radio de 14 mm y una altura de 2 mm; las cuales

fueron sometidas a un proceso de pulido mecánico, empleando papel abrasivo de carburo de silicio (SiC) y suspensiones de alúmina (Al_2O_3) con tamaño de partículas de 0.5 y 0.05 μm , con el fin de eliminar heterogeneidades superficiales. Posteriormente las muestras fueron sometidas a un tratamiento ácido en una solución de 3% (v/v) HF, 20% (v/v) HNO_3 y agua destilada por 3 minutos.

4.2. ETAPA 2: TRATAMIENTO ALCALINO.

Con las muestras anteriormente pulidas, decapadas y lavadas, se procedió a realizar una activación superficial de la aleación de titanio (Ti6Al4V) mediante la inmersión de las muestras en una solución 10M de NaOH durante 24 horas [18,39], almacenada en recipientes de polipropileno a 60°C en un baño hidrotermal; como se muestra en la Figura 6.

Figura 6. Montaje utilizado para el tratamiento alcalino de la aleación Ti6Al4V en solución 10 M de NaOH a 60°C por 24 horas.



Fuente: Autor

Tras 24 horas de tratamiento en solución alcalina de NaOH, las muestras fueron retiradas, lavadas con abundante agua y secadas por 24 horas. Posteriormente se llevó a cabo un tratamiento térmico del sólido formado en la superficie desde los 24°C hasta una temperatura de 450°C, con el fin de no disminuir considerablemente la bioactividad por descomposición y cristalización del titanato [18]; a una velocidad de calentamiento de 10°C/min; sosteniendo por 1 hora a la temperatura final. Las muestras, posterior a la hora de tratamiento térmico se dejaron enfriar dentro del horno hasta temperatura ambiente.

4.3. ETAPA 3: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES POLIMÉRICAS POLICAPROLACTONA/QUITOSANO.

Las soluciones poliméricas de PCL/Quitosano fueron preparadas a partir de soluciones individuales de policaprolactona y quitosano (Ver Anexo C), que posteriormente se mezclaron para formar una única solución. Inicialmente el quitosano fue disuelto en una solución 0.5 M de ácido acético. Simultáneamente fueron disueltos 0.0857 gr, 0.2 gr y 0.466 gr de policaprolactona (C₆H₁₀O₂) en ácido acético glacial (CH₃-COOH), como se aprecia en la Tabla 1.

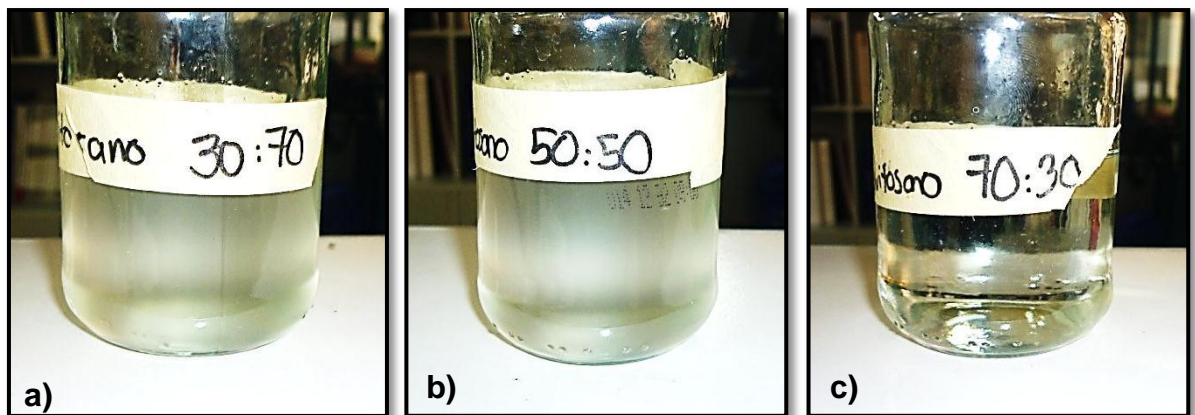
Tabla 1. Cantidades y concentraciones de polímeros en solución para la preparación de las soluciones PCL/Quitosano.

Solución Quitosano		Solución de PCL		Solución PCL:Quitosano
Concentración [%w/v]	Cantidad de quitosano [gr]	Concentración [%w/v]	Cantidad de PCL [gr]	
1	0.2	0.12	0.0857	30/70
1	0.2	0.30	0.2000	50/50
1	0.2	0.70	0.4666	70/30

Fuente: Autor

Las soluciones de policaprolactona y quitosano fueron posteriormente mezcladas, manteniendo una relación volumétrica PCL/Quitosano de 10/3, para formar soluciones de PCL/Quitosano; obteniendo soluciones con una relación de 30/70, 50/50 y 70/30 respectivamente como se observa en la Figura 7 [1].

Figura 7. Soluciones poliméricas de PCL/Quitosano a) 30% PCL y 70% Quitosano, b) 50% PCL y 50% Quitosano y c) 70% PCL y 30% Quitosano.



Fuente: Autor

4.4. ETAPA 4: CONFORMACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POLICAPROLACTONA/QUITOSANO.

Las soluciones poliméricas PCL/Quitosano (30/70, 50/50 y 70/30) obtenidas se emplearon para recubrir la superficie de 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 permanencia de los sustratos en la solución polimérica fue de 10 segundos, y su posterior secado en una estufa precalentada a 50°C durante 30

minutos. Sobre el sustrato fueron depositadas 3 capas poliméricas; cada una conformada después de 30 minutos de secado en la estufa (Ver Anexo D).

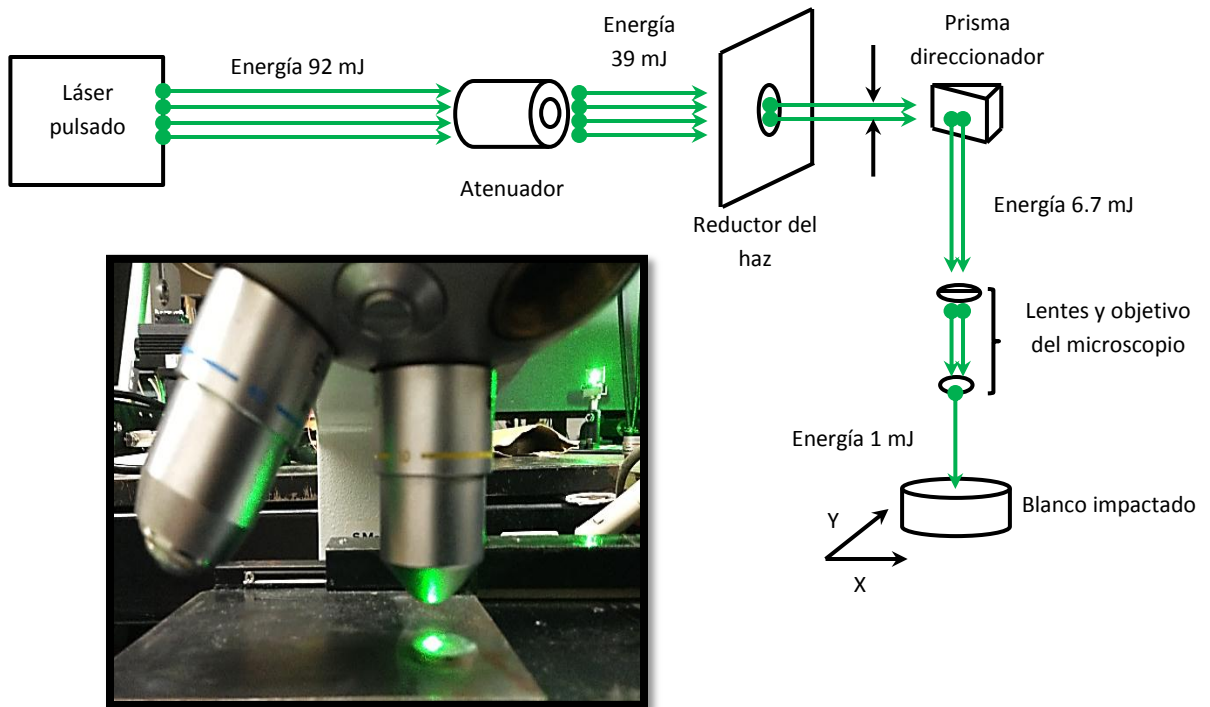
4.5. ETAPA 5: PATRONAMIENTO POR ABLACIÓN LÁSER.

Al obtener las muestras recubiertas con la mezcla polimérica de policaprolactona: Quitosano se procedió a realizar el patronamiento de la superficie; mediante la técnica de ablación láser; empleando un láser de estado sólido Nd-YAG para generar un haz coherente de luz por pulsos cortos de 5-10 ns, con una longitud de onda de 1064 nm; sin embargo empleando un sistema de cristales se pudo llegar a reducir la longitud de onda a los 540 nm y una energía de 92 mJ [25].

El haz luminoso inicialmente se hizo incidir en un atenuador, con el fin de controlar la cantidad de energía del haz que impactaría en la muestra a patronar; permitiendo controlar el tamaño de los cráteres en la superficie. La energía de salida del atenuador se controló para obtener un valor entre 40-35 mJ aproximadamente. El haz inmediatamente se hizo atravesar por un reductor de haz de 3.18 mm de diámetro, y por un prisma; con el fin disminuir el radio del haz que impactaría en la muestra y direccionar el haz de energía al interior de un microscopio óptico con una energía de 6-7 mJ, respectivamente. Al entrar al microscopio óptico, el haz ingresa al juego de espejos del mismo, permitiendo focalizar el rayo en un punto específico de la muestra con una energía aproximada de 1-1.5 mJ, empleando el objetivo con una magnificación de 10X del microscopio óptico, como se observa en la Figura 8.

La formación de los “*Spots*” se logró aplicando una secuencia de 3 a 4 pulsos seguidos cada segundo entre cada pulso. El espaciamiento entre punto y punto se controló empleando el plano XY del microscopio óptico, manteniendo una separación entre los 100-200 micras entre punto y punto.

Figura 8. Montaje para el patronamiento por ablación láser de las muestras de Ti6Al4V tratadas alcalinamente y recubiertas con mezclas poliméricas de PCL/Quitosano.



Fuente: Autor

4.6. ETAPA 6: PRUEBAS DE BIOACTIVIDAD *IN VITRO*.

Los sustratos de aleación de Ti6Al4V recubiertos, patronados y sin patronar se depositaron individualmente en recipientes de polipropileno con 61 mL de una solución fisiológica simulada *SBF* (*Simulated Body Fluid*), cuya composición se puede apreciar en la Tabla 2. Las muestras fueron llevadas a un baño hidrotérmico a 36.5°C durante 8 días [19], con el fin de simular las condiciones fisiológicas del cuerpo humano. Durante el transcurso de la prueba se retiraban alícuotas de la solución *SBF* con el fin de observar la variación de calcio en la solución, mediante la técnica de absorción atómica.

Tabla 2. Composición química del fluido fisiológico simulado (*SBF*) para pruebas de adsorción de calcio [19].

Elementos	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Concentración [mM]	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5

Fuente: Autor

Transcurridos los 8 días las muestras se lavaron con agua y colocadas a secado por 24 horas, para posteriormente realizar una caracterización mediante microscopia electrónica de barrido (*SEM*).

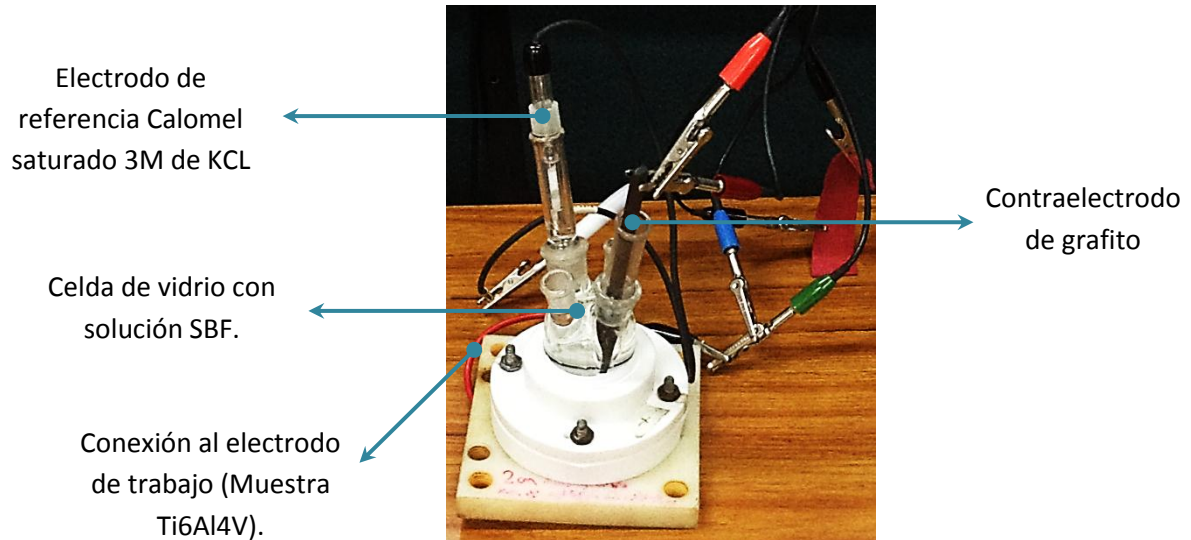
4.7. ETAPA 7: CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA.

Las muestras a su vez son evaluadas mediante la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIE) antes de 8 días de inmersión en fluido fisiológico simulado, con el fin de observar la variación del comportamiento de las películas antes y después del proceso de modificación superficial.

El montaje experimental constaba de una celda plana con 3 electrodos, siendo el electrodo de trabajo, la muestra de Ti6Al4V recubierta con 3 diferentes relaciones entre polímeros, establecidas anteriormente en la metodología; patronadas y sin patronar; un electrodo de grafito como contraelectrodo y un electrodo de referencia Calomel saturado 3M de KCl. El electrolito empleado fue solución SBF con una relación Ca/P=2.5, por un tiempo de 1 hora, como se aprecia en la Figura 9.

Previo a la prueba de espectroscopia, se establece para cada una de las muestras el potencial a circuito abierto, colocando las muestras en contacto con el electrolito y siguiendo la variación del potencial en el tiempo; hasta que la diferencia entre potenciales sea menor o igual a 5 mV.

Figura 9. Montaje de celda plana para la caracterización por espectroscopia de impedancia electroquímica de las muestras Ti6Al4V recubiertas con PCL/Quitosano, con y sin patronamiento.



Fuente: Autor

La prueba de espectroscopia de impedancia electroquímica se realizó aplicando un potencial de perturbación de 10 mV desde el potencial de circuito abierto (OCP), sobre la muestra de Ti6Al4V recubiertas con las diferentes mezclas poliméricas, con y sin patronamiento; realizando un barrido desde los 0.01 Hz hasta los 50000 Hz, a una temperatura constante de 25°C.

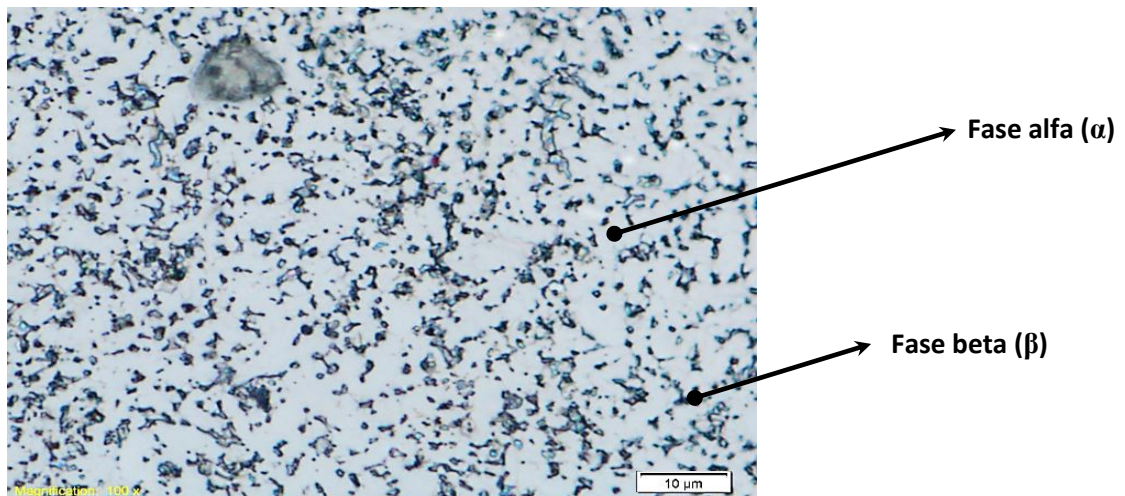
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS.

5.1. CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LA ALEACIÓN Ti6Al4V.

Previo a todo tratamiento, prueba o modificación fisicoquímica de la aleación Ti6Al4V se llevó a cabo una caracterización microestructural mediante inmersión por 10 segundos en reactivo Kroll, cuya composición fue: 5% HNO₃, 10% HF y agua destilada.

El reactivo Kroll atacó preferencialmente la fase beta (Color oscura) dura y frágil, que se encuentra de forma globular y precipitada de manera coherente sobre la matriz de fase alfa (Color blanca) blanda y dúctil, como se ve en la Figura 10; mostrando una correspondencia entre la microestructura de las muestras, con las características microestructurales de las aleaciones de titanio bifásicas $\alpha+\beta$ [11].

Figura 10. Micrografía de Ti6Al4V atacada con reactivo Kroll por 10 segundos a una magnificación de 2000X.

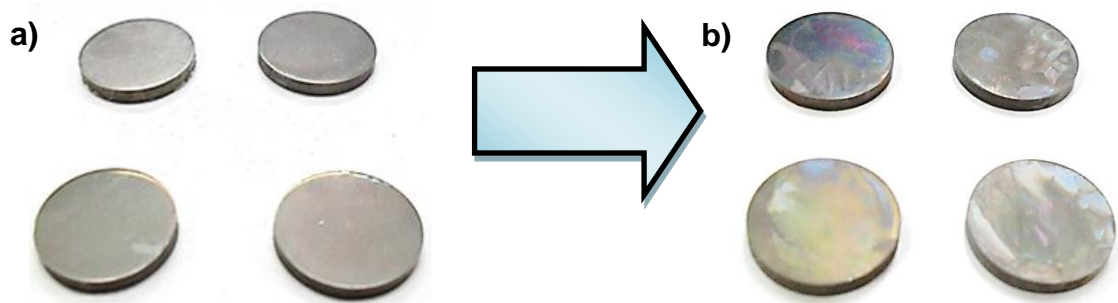


Fuente: Autor.

5.2. TRATAMIENTO SUPERFICIAL ALCALINO DE LA ALEACIÓN Ti6Al4V.

Al llevarse a cabo el tratamiento alcalino en la aleación de Ti6Al4V se presentó como resultado de este proceso la formación de una capa sólida, homogénea y opaca sobre la superficie de la muestra; diferente a la apariencia inicial, que al momento del proceso de calcinación se oscureció y mostró diferentes tonalidades en su superficie como se observa en la Figura 11.

Figura 11. Muestras de Ti6Al4V tratadas alcalinamente a) Antes del proceso de calcinación, b) Posterior al proceso de calcinación a 450°C por 1 hora.



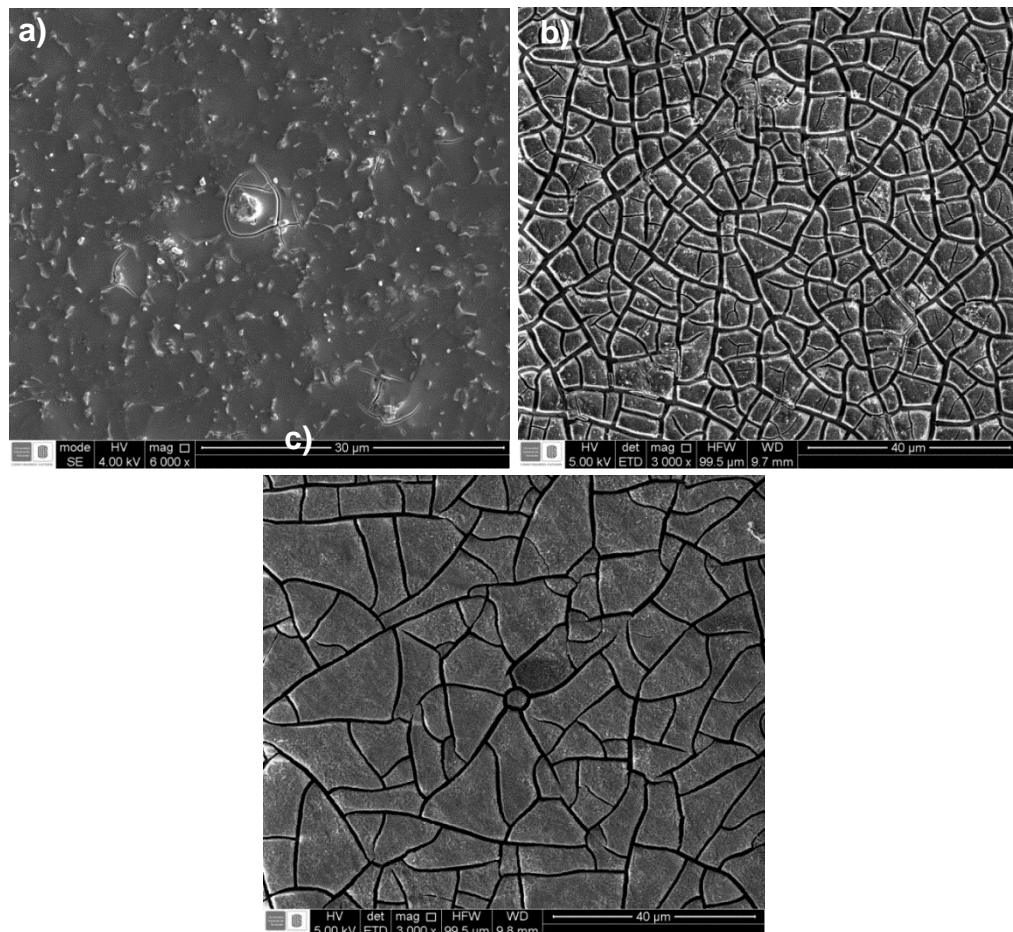
Fuente: Autor

La microestructura de las muestras sin tratar y tratadas alcalinamente antes y después del proceso de calcinación, fueron vistas mediante microscopía electrónica de barrido (*SEM*), como se aprecia en la Figura 12. Inicialmente la muestra de Ti6Al4V presentó una morfología superficial caracterizada por ser una capa homogénea, no porosa y uniforme [42], como se observa en la Figura 12-a); compuesta principalmente por oxígeno y titanio (Ver Anexo E) correspondiente a la formación de un óxido de titanio.

Posterior al tratamiento alcalino se presenta una variación en la morfología de la superficie con respecto a la inicial; en donde se destruye la estructura homogénea

del óxido de titanio, para formar una estructura granular, como la observada en la Figura 12-b; sin embargo al someterla al tratamiento térmico a 450°C se presentó una disminución de la cantidad de granos; causado por un proceso de densificación del cerámico, como se observa en la Figura 12-c), por el proceso de sinterización durante el ciclo de calentamiento.

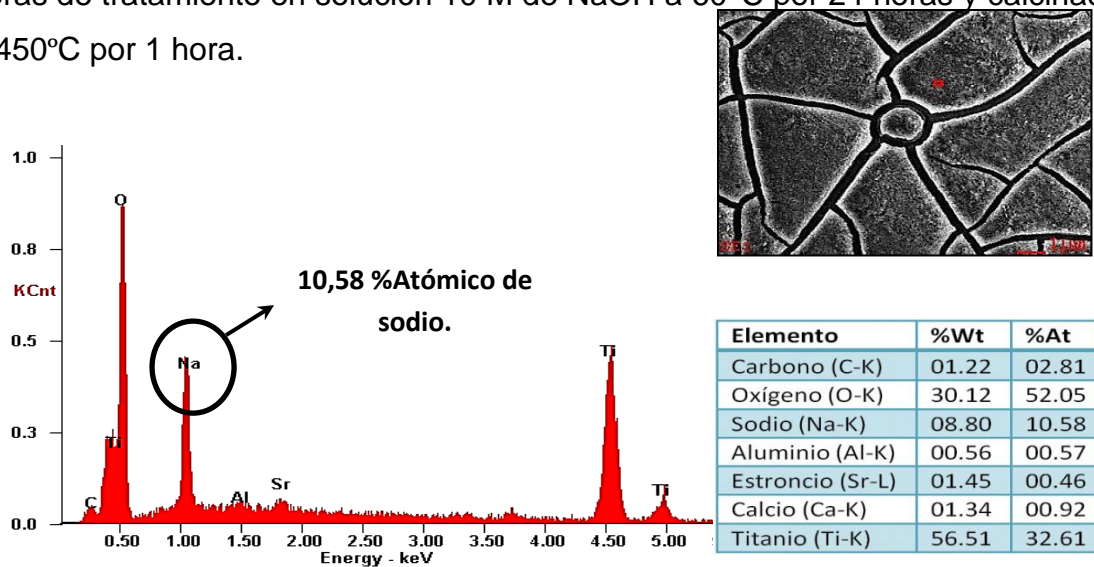
Figura 12. Micrografías SEM de muestras de Ti6Al4V : a) Pulida, decapada y lavada, b) Tratada en solución de NaOH por 24 horas a 60°C sin calcinación y c) Tratada en solución de NaOH por 24 horas a 60°C y calcinada a 450°C por 1 hora.



Fuente: Autor.

Los espectros EDS de la estructura cerámica después del proceso de calcinación en la Figura 13, muestra la existencia de sodio alrededor del 9 - 11 % atómico en el material formado tras el tratamiento alcalino; de manera que durante éste proceso el ion hidroxilo ingresa a la estructura del óxido de titanio, y al deshidratarse absorbe los cationes de sodio [4].

Figura 13. Análisis EDS de la superficie de la aleación Ti6Al4V posterior de 24 horas de tratamiento en solución 10 M de NaOH a 60°C por 24 horas y calcinación a 450°C por 1 hora.



Fuente: Autor.

Los porcentajes experimentales de sodio encontrados en los espectros EDS, de la estructura cerámica, obtenida por inmersión en solución 10M de NaOH fueron coherentes con los valores teóricos existentes en la estructura del titanato de sodio $\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$, formado en esta clase de tratamiento químico, como lo reportan autores; dicho titanato presenta un porcentaje atómico de sodio aproximado del 11,11% [18, 3].

5.3. OBTENCIÓN DE RECUBRIMIENTOS POLIMÉRICOS POLICAPROLACTONA/QUITOSANO.

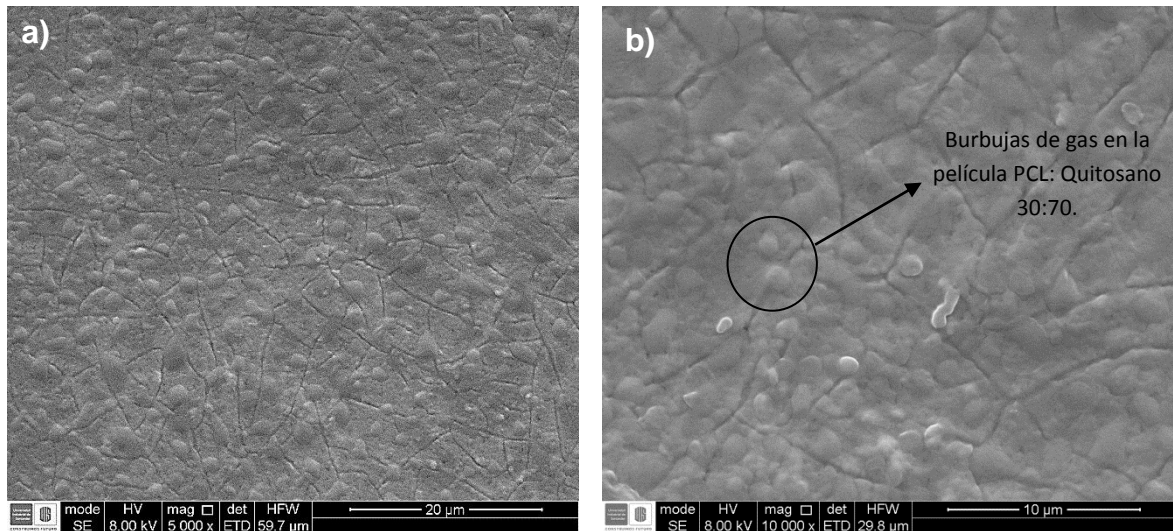
Las soluciones de PCL/Quitosano (Policaprolactona/Quitosano) obtenidas mediante la mezcla de soluciones individuales de policaprolactona y quitosano en una solución al 77% v/v de ácido acético [1]; permitió obtener soluciones estables de ambos polímeros, con una sola fase de polímeros y solvente; sin embargo el grado de turbidez de la solución aumenta a medida que disminuye la cantidad de policaprolactona en solución.

Las películas poliméricas de PCL/Quitosano con relaciones 30/70, 50/50 y 70/30 conformadas mediante la técnica de inmersión (*Dip Coating*) a partir de las soluciones poliméricas, como se especificó en la metodología; fueron caracterizadas por técnicas de espectroscopia infrarroja, con el fin de observar la interacción polímero-cerámico, y mediante la técnica SEM para evaluar la homogeneidad y morfología superficial de los recubrimientos.

5.3.1. Análisis por microscopia SEM de los recubrimientos Policaprolactona/Quitosano. Las películas con una relación PCL/Quitosano de 30/70 depositadas sobre los sustratos muestran en su morfología zonas recubiertas por la película polimérica y libres de precipitados; sin embargo se encontraron zonas con falta de recubrimiento polimérico (Ver Anexo F), donde se observa la superficie del titanato de sodio inicial, sugiriendo que la mezcla polimérica no logra adherirse completamente en la superficie del sustrato. Así mismo las zonas parcialmente recubiertas manifiestan un espesor de película delgado, dado que se observa la estructura granular del cerámico, como se aprecia en la Figura 14-a. En las partes recubiertas se observa la formación de burbujas en la superficie del recubrimiento, atribuidas a gas atrapado entre la

superficie del sustrato (Titanato de sodio) y la película polimérica durante el proceso de secado del solvente, como se observa en la Figura 14-b.

Figura 14. Micrografías SEM del recubrimiento 30% PCL y 70% Quitosano: a) Recubrimiento 30/70 de PCL/Quitosano a 5000X, b) Recubrimiento 30/70 de PCL/Quitosano a 10 000X.



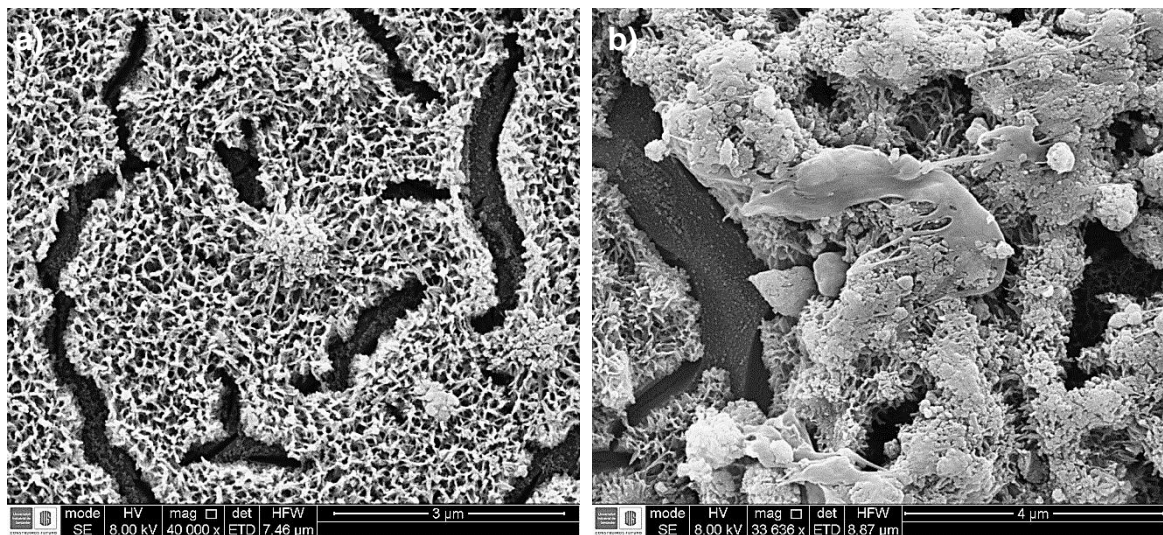
Fuente: Autor.

Los bajos espesores de las películas con relación 30/70, acompañado de la falta de continuidad en el recubrimiento, sugiere que la cantidad de policaprolactona en el recubrimiento no logra consolidar sobre el sustrato una película polimérica continua, densa y uniforme en la superficie de la muestra.

A diferencia de los recubrimientos con relación 30/70, las películas poliméricas con una relación PCL/Quitosano de 50/50 y 70/30 cubrieron completamente la superficie de los sustratos tratados. En las películas con una relación 50/50 se presentaron faltas de homogeneidades en su superficie; por la presencia de zonas compuestas por una matriz de quitosano, con una morfología porosa [9], como la observada en la Figura 15-a, con un diámetro promedio de poros de 210.8 nm

aproximadamente; la cual presentó a su vez agrietamiento, atribuido a un fenómeno de degradación hidrolítica del polímero, así como una contracción durante el secado [12]. En la misma superficie del sustrato se lograron observar zonas con una película homogénea y continua, logrando cubrir la matriz porosa de quitosano, como se observa en las Figuras 16-a y 16-b.

Figura 15. Películas poliméricas con 50% PCL y 50% Quitosano: a) Recubrimiento 50/50 de PCL/Quitosano a 40 000X, b) Precipitados de policaprolactona en la matriz porosa de Quitosano para un recubrimiento con relación 50/50.

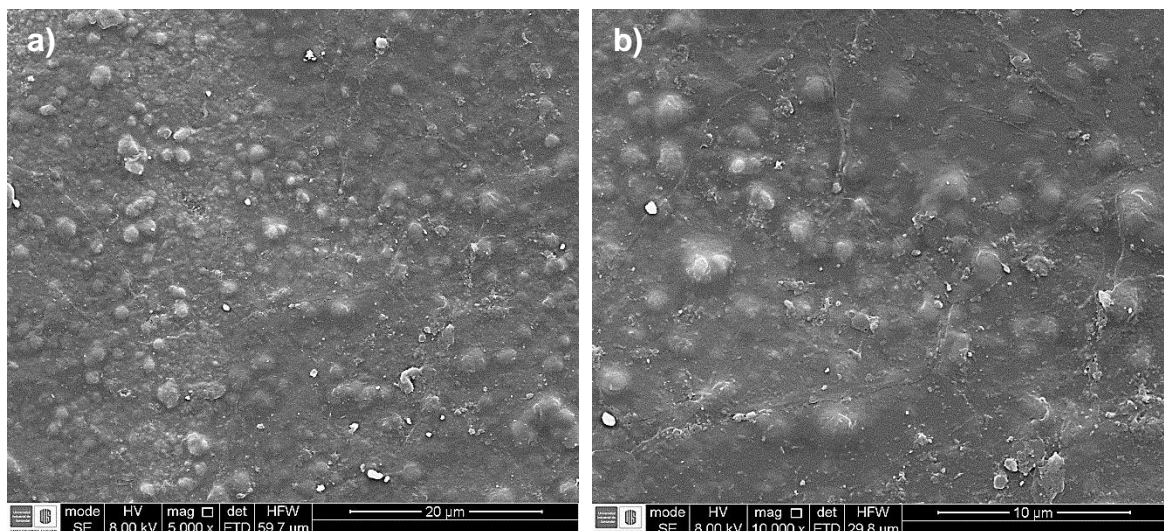


Fuente: Autor.

En la estructura porosa de quitosano de las películas con relación 50/50, se presenta la precipitación de fases poliméricas de policaprolactona entre la red de la matriz [1]; ocasionado por la diferencia de los puntos de evaporación del ácido acético glacial y el agua, durante el proceso de secado. En este proceso el quitosano precipita primero por la evaporación del agua, volviéndose insoluble por un incremento del pH; causando la precipitación de la matriz porosa de quitosano

[14, 5]. La policaprolactona se sobresatura en el solvente, y precipita en la matriz como glóbulos en la estructura de la matriz, ver Figura 15-b; sin embargo en otras zonas precipita como una capa continua que logra cubrir la matriz del quitosano de manera homogénea. La existencia de una matriz de quitosano, debajo de la capa continua de la mezcla polimérica; causa la formación de rugosidades en la superficie de la película, como se observa en la Figura 16-a y 16-b.

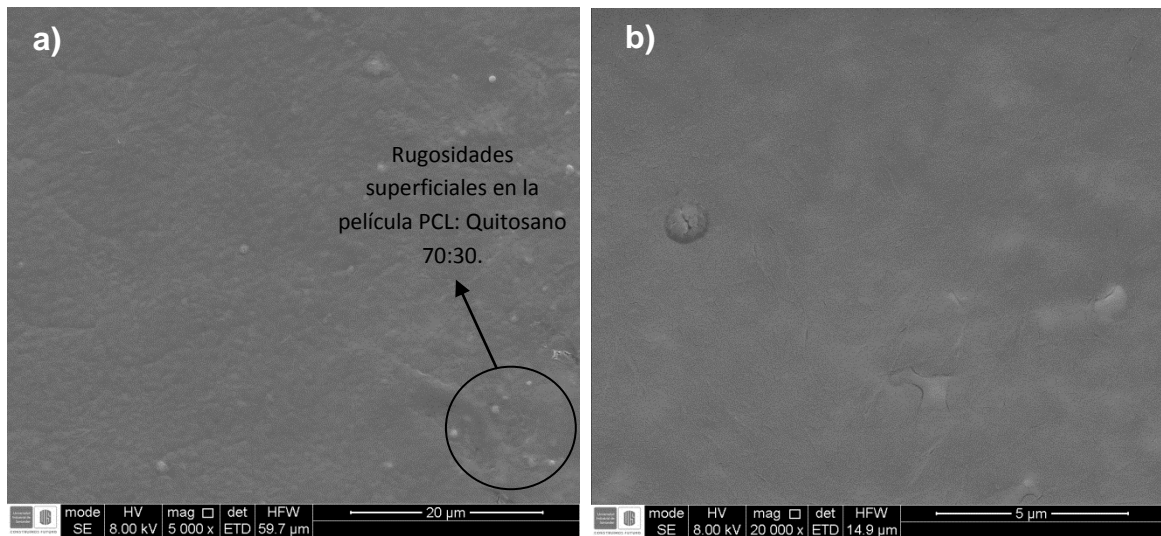
Figura 16. Películas poliméricas con 50% PCL y 50% Quitosano: a) Recubrimiento 50/50 de PCL/Quitosano a 5 000X, b) Rugosidades en la capa superior y continua de las películas 50/50 de PCL/Quitosano.



Fuente: Autor.

La morfología superficial de los recubrimientos con 70% de Policaprolactona y 30% de Quitosano se caracterizaron por ser películas poliméricas completamente homogéneas, continuas, densas y sin presencia de la estructura porosa del quitosano en la superficie del sustrato, como se puede observar en la Figura 17-a; sin embargo la estructura de la película presenta la formación de pequeñas rugosidades en su superficie, como se en la Figura 17-b.

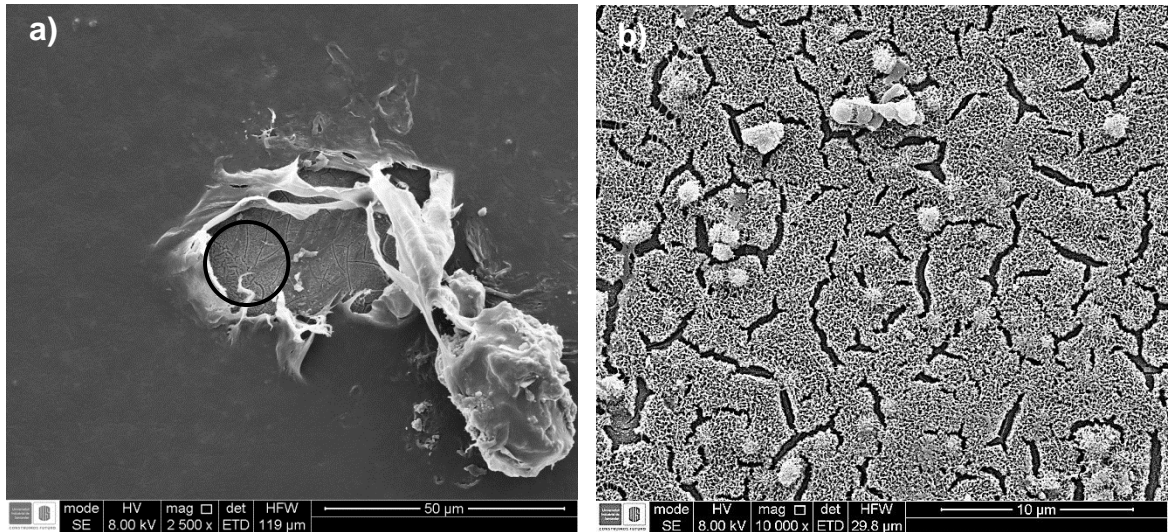
Figura 17. Películas poliméricas con 70% PCL y 30% Quitosano: a) Superficie del recubrimiento 70/30 de PCL/Quitosano a 5000X con rugosidades en su superficie, b) Recubrimiento homogéneo 70/30 de PCL/Quitosano a 20 000X.



Fuente: Autor.

La presencia de pequeñas rugosidades en los recubrimientos 70/30 se atribuye a la existencia de una estructura porosa perteneciente al quitosano, entre la película polimérica y la superficie del sustrato (Titanato de sodio); como se observa en los despegues del recubrimiento polimérico en la Figura 18-a. La matriz de quitosano, es a su vez, acompañada por precipitados globulares de policaprolactona en la Figura 18-b, causada por la eliminación del solvente de la misma manera que las películas 50/50; sin embargo a diferencia de éstas; las cantidades de policaprolactona presentes en la solución, permiten consolidar una capa continua de polímeros, densa y completamente homogénea, sobre la matriz porosa, como se observa en las Figuras 17 y 18, cubriendo la matriz de quitosano y los precipitados de policaprolactona en ella.

Figura 18. Películas poliméricas con 70% PCL y 30% Quitosano: a) Despegue del recubrimiento 70/30 de PCL/Quitosano, b) Superficie porosa de quitosano entre el sustrato y el recubrimiento 70/30 de PCL/Quitosano.



Fuente: Autor.

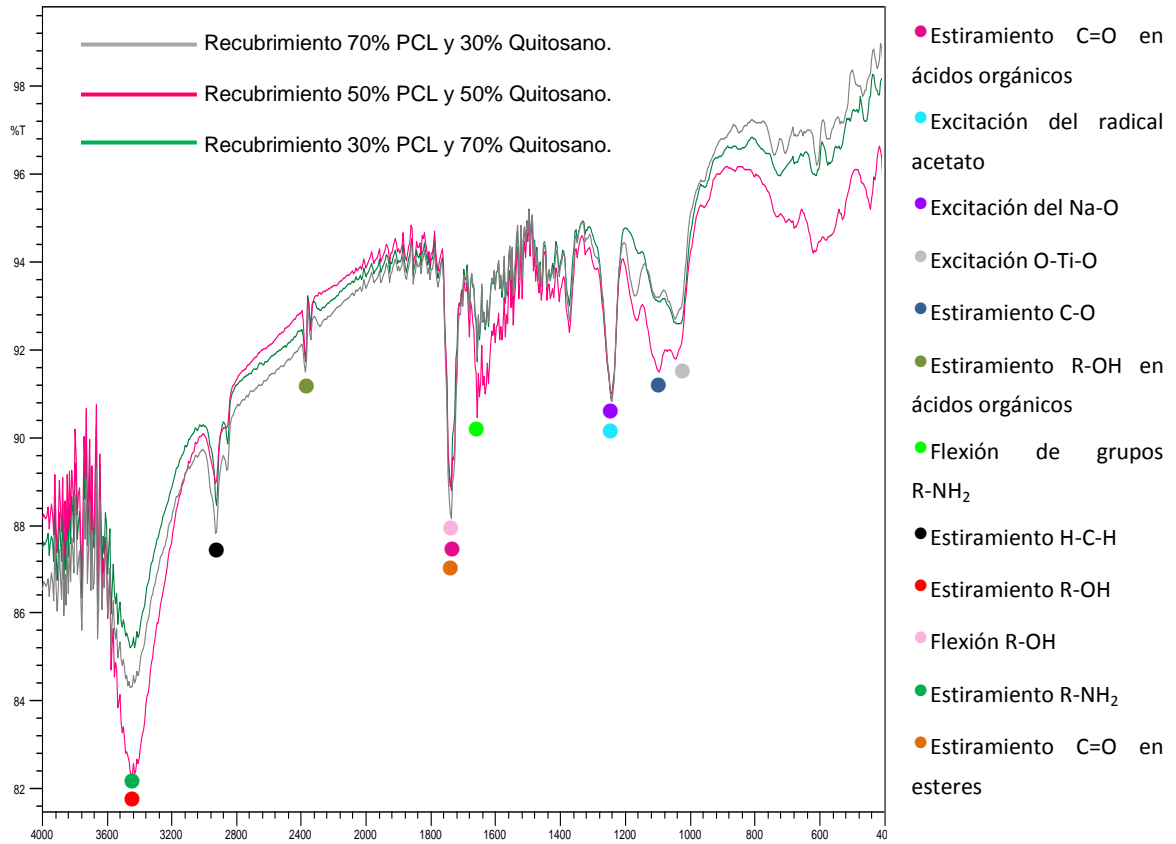
Las morfologías observadas en los recubrimientos 50/50 y 70/30 sugieren que la presencia de policaprolactona en las soluciones poliméricas, consolidan sobre toda la superficie del sustrato, una película polimérica compuesta de policaprolactona y quitosano. Dichas películas a su vez presentan en su morfología la formación de estructuras porosas o continuas, con la presencia de rugosidades; dependiendo de las cantidades de policaprolactona presentes en el recubrimiento polimérico. Estos análisis por microscopía SEM sugieren que las películas con una relación 30/70 y 50/50 no contienen la cantidad de policaprolactona para formar una película continua, densa y homogénea; en comparación con las películas 70/30; donde la policaprolactona logra formar películas homogéneas; sin formación de zonas carentes de recubrimiento y de una matriz porosa en su superficie.

5.3.2. Caracterización por espectroscopia infrarroja de los recubrimientos Policaprolactona/Quitosano. Los espectros infrarrojos FTIR para cada una de las películas poliméricas presentaron semejanzas en casi todos los picos de emisión de los enlaces presentes en el biopolímero, indicando la ausencia de nuevos enlaces covalentes entre los grupos funcionales de los polímeros y el cerámicos, por tal motivo las películas poliméricas tendrán una cierta similitud en sus propiedades físicas y químicas, por ende, no difieren con la cantidad de policaprolactona presente en la película.

En los espectros se presentan, para los 3 biopolímeros, un estiramiento asimétrico y la flexión en la banda de los 3000 a 3610 cm^{-1} y 1700 cm^{-1} respectivamente, como se observa en la Figura 19; debido a los grupos hidroxilo ($R - OH$) presentes en los anillos del quitosano y la estructura cerámica del titanato de sodio en los recubrimientos mixtos. Las emisiones observadas corresponden a los espectros infrarrojos de los patrones del quitosano y del cerámico empleados (Ver anexo H y I). La presencia de estos enlaces garantiza que exista una interacción entre los cationes de calcio, los iones fosfatos y la superficie del biomaterial, favoreciendo la nucleación y precipitación de fosfatos de calcio [33].

De igual manera se presentan los estiramientos asimétricos y simétricos entre las bandas 3500 y 3400 cm^{-1} respectivamente; así como el modo de flexión en las banda de los 1640 a 1560 cm^{-1} para los grupos amino ($R - NH_2$) en la estructura del biopolímero, como se observa en la Figura 19. Adicionalmente se observan los estiramientos en las bandas 1700 y 1715 cm^{-1} correspondientes al enlace carbonilo de los ésteres ($R = O$) de la policaprolactona y la presencia del grupo carbonilo de los ácidos orgánicos respectivamente; este último presente en la matriz de la película biopolimérica posiblemente como remanente del solvente empleado (Ácido acético) durante la evaporación del mismo [37].

Figura 19. Espectros infrarrojos (FTIR) para las muestras biopolimérica-cerámica con relaciones PCL/Quitosano 30/70, 50/50 y 70/30.



Fuente: Autor.

Tanto los grupos aminos, como los carboxilos en la matriz polimérica proveniente del ácido acético remanente; pueden promover la interacción e inmovilización de las cadenas proteínicas del medio biológico y el biomaterial, permitiendo su absorción y posterior consolidación de una capa proteínica [16]. Las intensidades de las emisiones de los grupos amino e hidroxilos, son los que presentan la mayor diferencia con respecto a la variación de policaprolactona en el recubrimiento polimérico; siendo los recubrimientos con una relación 50/50 donde se encuentra la mayor emisión de estos enlaces por lo que presentarían mayor interacción con el medio fisiológico promoviendo el proceso de osteointegración.

Entre las emisiones observadas en el espectro se encuentran la correspondiente al radical acetato, con una emisión en las bandas de los 1250 cm^{-1} , indicando su presencia en el recubrimiento polimérico, por el grado de desacetilación del quitosano empleado. Las emisiones de los enlaces $O - Ti - O$ del rutilo y del enlace $Na - O$ presentes en la estructura cerámica del titanato de sodio en las bandas de 1000 cm^{-1} para la emisión del titanio y el oxígeno, y entre los 1100 y 1200 cm^{-1} para la emisión del sodio con el oxígeno [21, 28]. Las cadenas carbonadas de los polímeros presentan también las emisiones características a los enlaces $H - C - H$ y $C - O$ en las bandas de emisión de los 2100 cm^{-1} y 1300 cm^{-1} respectivamente.

Al no presentarse formación de nuevos enlaces covalentes, la interacción entre la policaprolactona y el quitosano en las películas son atribuidas, según autores, a un fenómeno de interacción física entre los biopolímeros por la unión por puentes de hidrogeno entre el grupo carbonilo de la policaprolactona y los grupos amino e hidroxilo del quitosano [7, 35, 32].

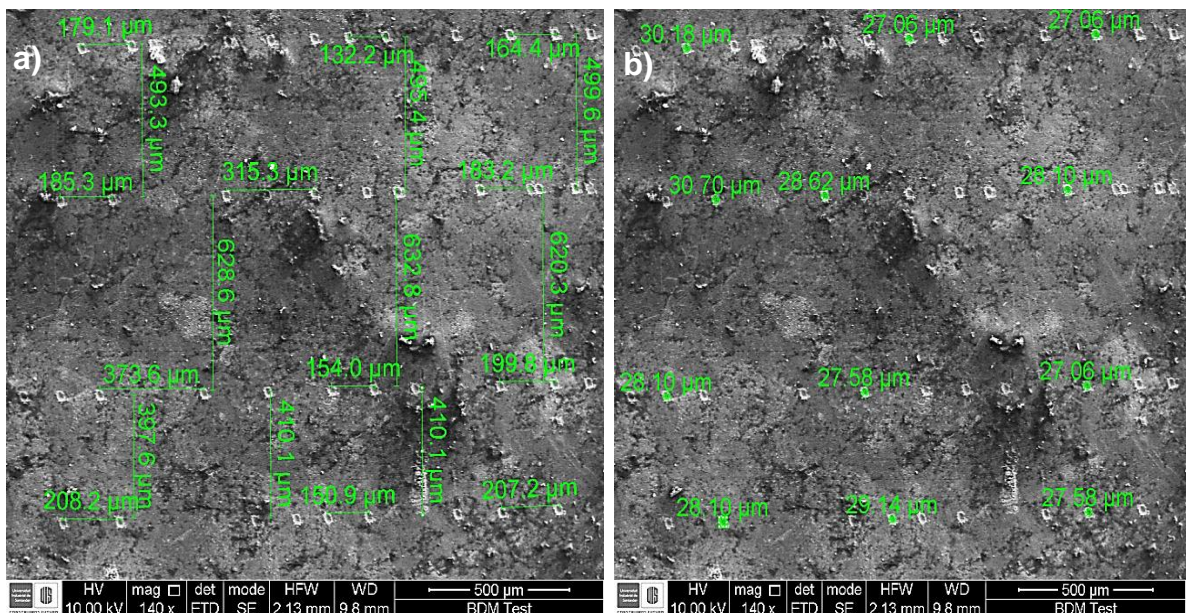
5.4. OBTENCIÓN DE SUPERFICIES PATRONADAS POR ABLACIÓN LÁSER SOBRE LOS RECUBRIMIENTOS DE POLICAPROLACTONA/QUITOSANO.

Las superficies poliméricas de PCL/Quitosano irradiadas por el haz de energía monocromático con longitud de onda de 540 nm ; incidió a la superficie con una densidad de energía de $1,77 \times 10^2\text{ J/cm}^2$; impactando en la superficie de las muestras colocadas sobre el plano XY del microscopio, con el cual se realizó el patronamiento de toda la superficie de las muestras.

El haz de energía fue posicionado en la zona a impactar en las superficies de las películas poliméricas, empleando el plano XY del microscopio, con el propósito de mantener una separación constante y uniforme entre las zonas impactadas por el láser. Las superficies patronadas que se obtuvieron presentaron una separación

promedio en la dirección del eje X de 176,43 μm y de 509,75 μm en la dirección del eje Y; con una densidad de 1239,39 Cráteres/ cm^2 , como se puede apreciar en la Figura 20-a. La falta de homogeneidad en la distribución de los patrones se debe a la falta de precisión del sistema de posicionamiento de la muestra frente al láser (Plano XY del microscopio).

Figura 20. Micrografía SEM de las superficies biopoliméricas patronadas mediante ablación láser y sus respectivas medidas: a) Espaciamiento entre cráteres, b) Diámetro de los cráteres formados.

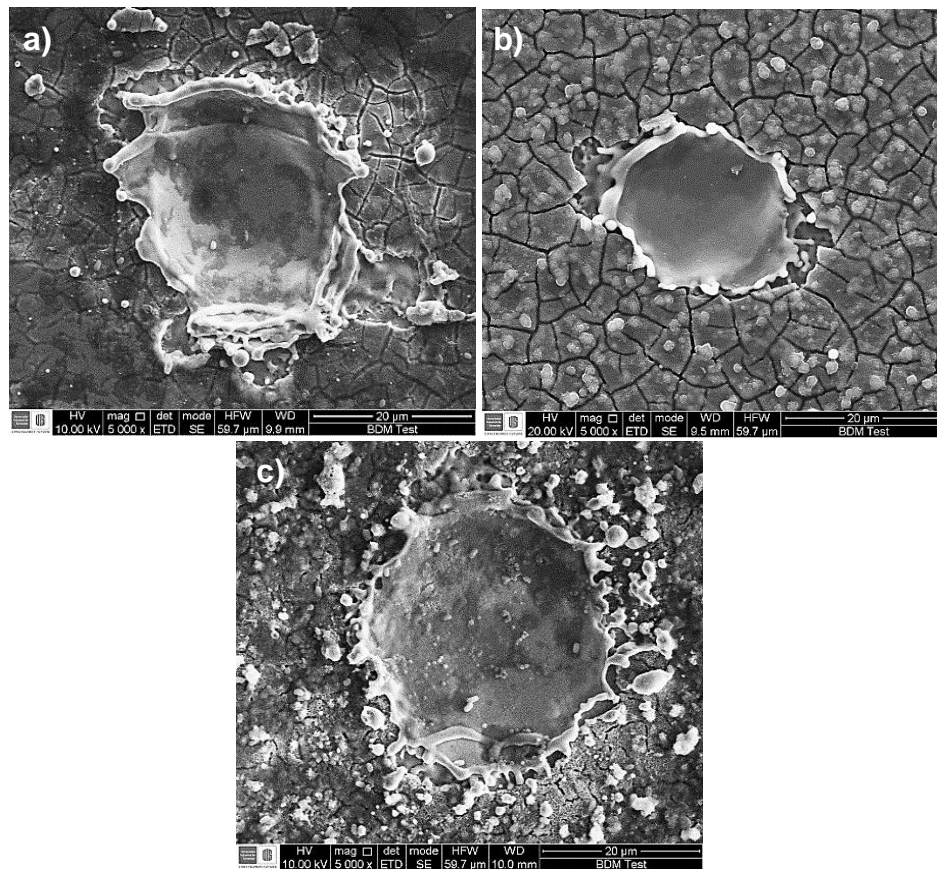


Fuente: Autor.

Al formarse el μ -plasma en las zonas de incidencia del láser, dicho plasma causó la evaporación y sublimación las capas poliméricas de las películas de PCL/Quitosano; así como la capa de $\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$ generado en el tratamiento alcalino. La combinación de temperatura y presión del μ -Plasma formado en las superficies de las muestras de Ti6Al4V recubiertas, generó cráteres con un

diámetro promedio de 28,29 μm en la superficie como se observa en la Figura 20-b) y 21; los cuales no presentaron una variación significativa, con relación a la cantidad de policaprolactona y quitosano presente en las películas poliméricas.

Figura 21. Cráteres formados por ablación láser en la superficie de la aleación de Ti6Al4V recubierta con PCL/Quitosano con diferentes relaciones poliméricas: a) Película 30/70, b) Película 50/50 y c) Película 70/30.

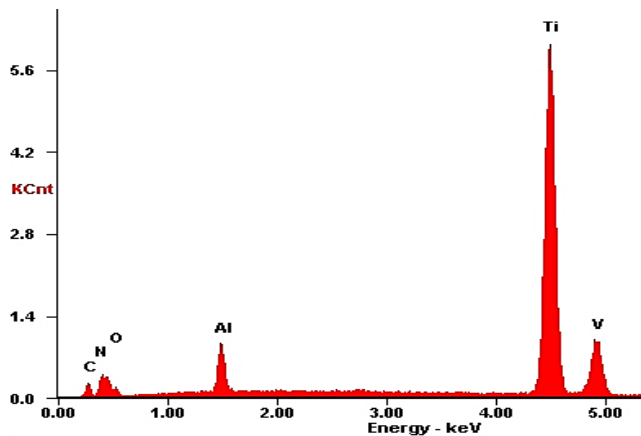
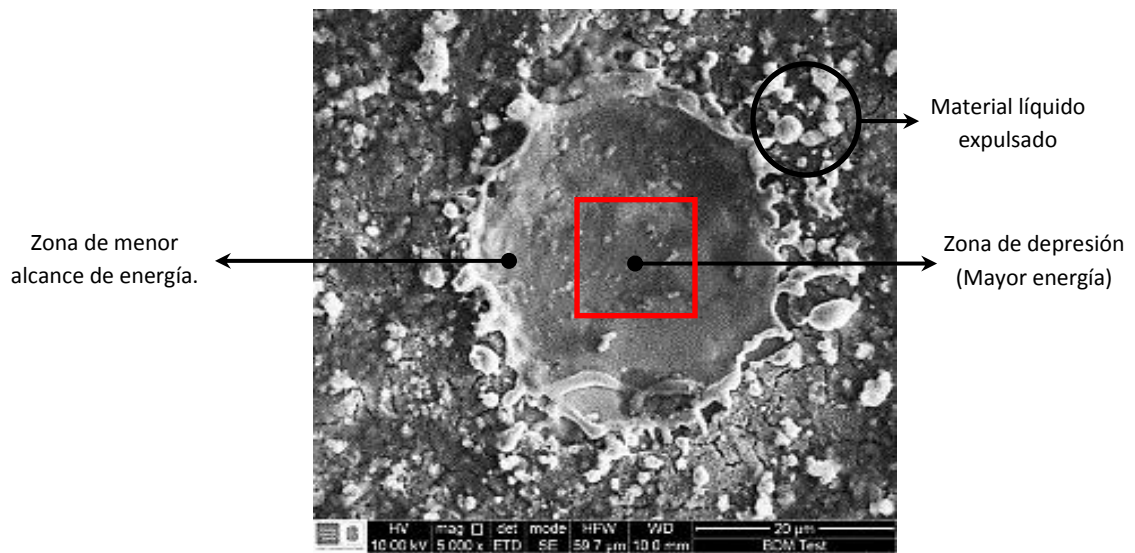


Fuente: Autor.

Adicionalmente se observó que la formación del plasma no sólo involucró la remoción de las capas poliméricas y cerámicas en la muestra; sino también la eliminación de las capas de óxido de titanio ubicadas por debajo del titanato de

sodio. Los cráteres mostraron en los espectros EDS de la Figura 22 estar constituidos principalmente por titanio, aluminio y vanadio; elementos pertenecientes al sustrato (Ti6Al4V). Dichos elementos posteriormente pudieron haber sufrido un fenómeno de oxidación natural, formando una capa delgada de óxido en la zona impactada.

Figura 22. Micrografía SEM y espectro EDS de la zona impactada por el haz del láser en una superficie de PCL/Quitano con relación 70/30.



Elemento	%Wt	%At
Carbono (C-K)	03.87	10.90
Oxígeno (O-K)	05.58	11.80
Aluminio (Al-K)	05.94	07.45
Vanadio (V-K)	02.53	01.68
Titanio (Ti-K)	76.13	53.78

Fuente: Autor.

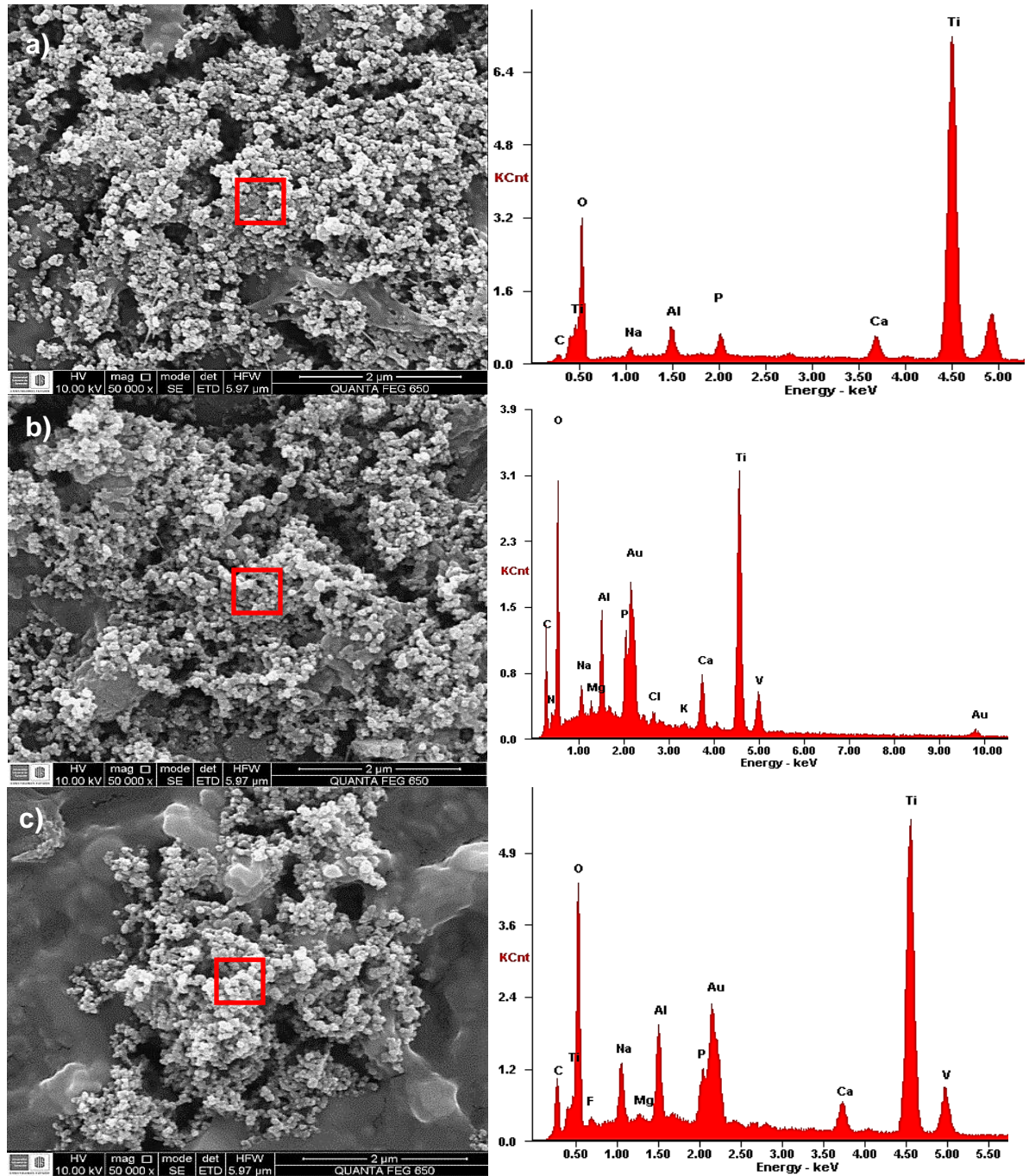
5.5. PRUEBAS DE ADSORCIÓN DE CALCIO EN SBF.

Con el propósito de evaluar la capacidad de adsorción de calcio de los recubrimientos de PCL/Quitosano se llevó a cabo pruebas de inmersión en fluido SBF durante 8 días a 36.5°C, permitiendo evaluar la capacidad de formación de fosfatos de calcio de los diferentes recubrimientos mediante las técnicas de microscopia electrónica de barrido y absorción atómica.

Al transcurrir los 8 días de inmersión para las películas poliméricas sin patronamiento, se apreció la formación y precipitación de fosfatos de calcio en la superficie de las películas 30/70, 50/50 y 70/30, como lo muestran las Figuras 23-a), 23-b) y 23-c), respectivamente. La precipitación de fosfatos de calcio manifiesta la capacidad de dichas películas para adsorber calcio; sin embargo se observó una mayor cantidad de precipitados en las muestras con relación 50/50, seguido por las muestras 70/30 y las películas 30/70. Esta diferencia en la cantidad de precipitados es atribuido a la cantidad de radicales hidroxilo en las películas, los cuales presentaron una mayor emisión para las películas 50/50, en la banda de los 3400 cm^{-1} , como se observaron en los espectros infrarrojos. Otra característica importante en estas películas fue la morfología superficial, compuesta por una matriz porosa de quitosano; la cual presenta una mayor área superficial, lo que incrementó la interacción entre el polímero y los iones, especialmente el calcio, favoreciendo la nucleación y crecimiento de los fosfatos de calcio.

En base a los espectros EDS de dichos precipitados, se observó que las películas con relación 30/70, 50/50 y 70/30 sin patronamiento, presentan fosfatos de calcio en sus superficie, con una relación Ca/P de 0.99, 0.92 y 1.05 respectivamente, la cual corresponde a la relación de calcio y fósforo, aproximadamente de 1, presente en el fosfato dicálcico dihidratado $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Figura 23. Micrográficas SEM y espectros EDS de las películas poliméricas de PCL/Quitosano después de 8 días de inmersión en fluido SBF: a) Película con relación 30/70 antes de patronar, b) Película con relación 50/50 antes de patronar, y c) Película con relación 70/30 antes de patronar.



Fuente: Autor.

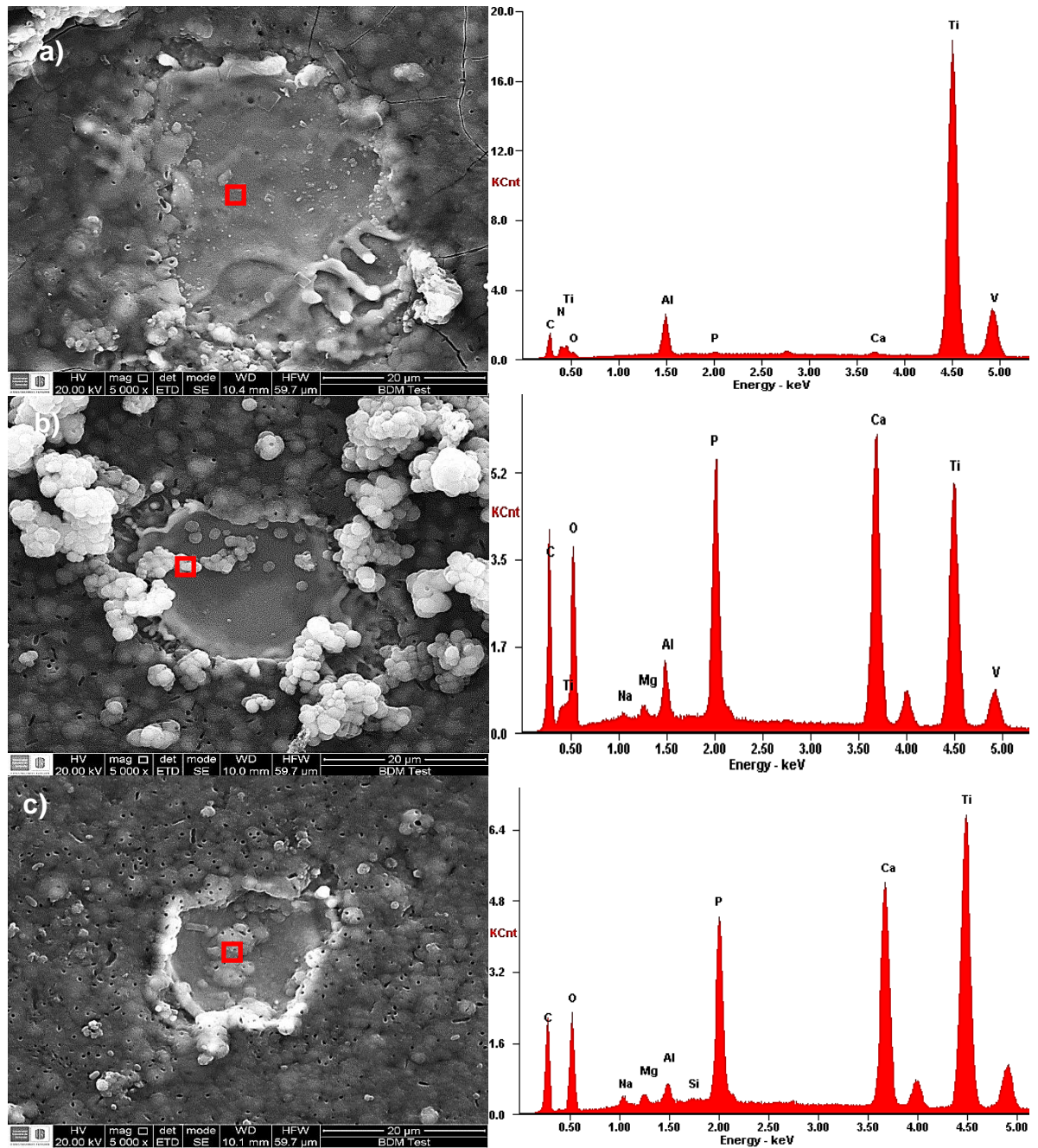
En cuanto a las superficies de PCL/Quitosano patronadas presentaron al finalizar los 8 días de inmersión, la formación de una capa de fosfatos de calcio homogénea sobre las zonas no impactadas por el haz de energía; indicando que las superficies poliméricas mantienen sus capacidades para adsorber calcio después de la ablación; por lo que el μ -Laser sólo afecta de manera localizada la superficie de las películas. Adicionalmente, los cráteres formados por el impacto del μ -Láser, presentaron nucleación y crecimiento de fosfatos de calcio en su interior; principalmente para las películas con relación 50/50 y 70/30, como se observan en la Figura 24-b) y 24-c) respectivamente. En el caso de las películas con relación 30/70 no se manifiesta la precipitación de fosfato de calcio en el interior de los cráteres; sin embargo se observa que hubo adsorción de iones calcio y fosfato, como se muestra en los espectros EDS en la Figura 24-a), sugiriendo la formación de pequeños núcleos de fosfatos de calcio.

La adsorción y precipitación del calcio y el ion fosfato, en el interior de los cráteres, son consecuencia del proceso de hidrólisis que experimenta el óxido de titanio presente en la zona irradiada por el láser. El óxido reacciona con el agua, ingresando iones hidroxilo a la estructura del óxido, formando el radical HTiO_3^- en la superficie, como lo muestra la reacción 1.



Los radicales hidroxilo en la estructura del óxido; causan un aumento del pH en la interfase cráter/electrolito, que permite la precipitación del fosfatos de calcio; por lo que los spots actúan como sitios activos en la precipitación del calcio [39]. Esto permite que el calcio migre hacia el óxido y se incorpora para formar un titanato de calcio, que posteriormente actúa como nucleante para la incorporación del ion fosfato (PO_4^{3-}) y carbonato (CO_3^{2-}) [18,39]. Este mecanismo en los patrones generó fosfatos de calcio con una relación Ca/P aproximada de 1.33 para todas las películas, correspondiente a la relación del fosfato octacálcico $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, como se observa en los espectros EDS en la Figura 24.

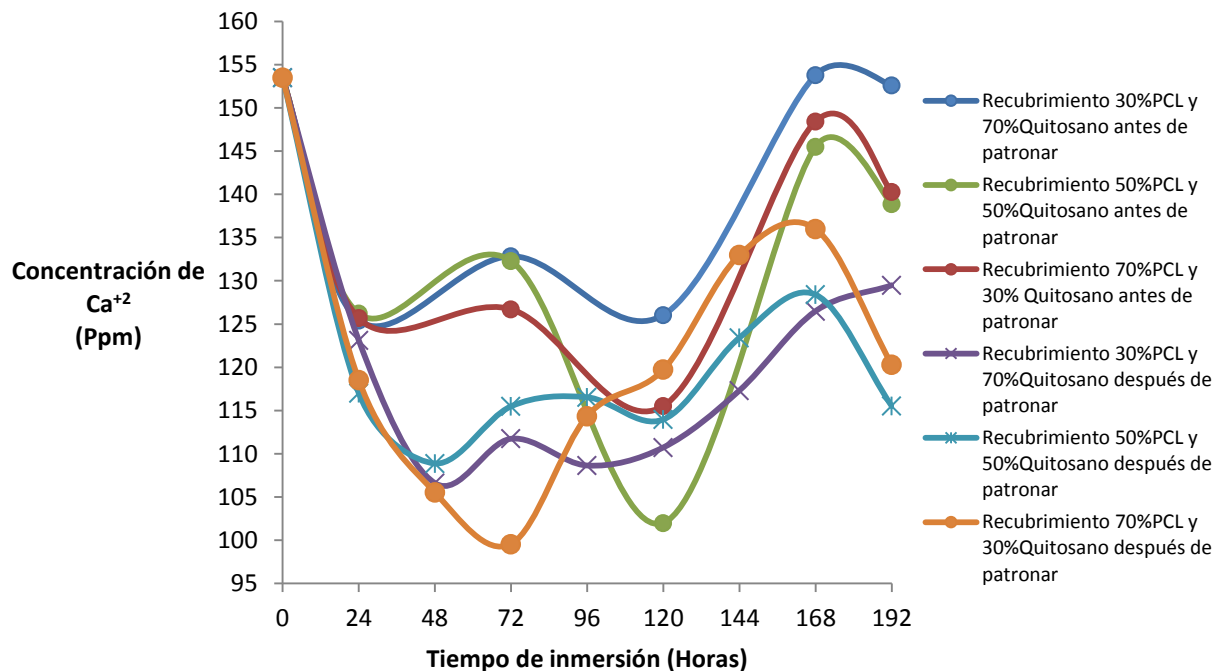
Figura 24. Micrográficas SEM y espectros EDS de las películas poliméricas PCL/Quitosano después de 8 días de inmersión en fluido SBF: a) Película con relación 30/70 patronada, b) Película con relación 50/50 patronada y c) Película con relación 70/30 patronada.



Fuente: Autor.

La formación de los fosfatos de calcio en los recubrimientos, fueron coherentes con la variación de los iones de calcio en la solución SBF, como se observa en la Figura 25; donde se muestra que en el transcurso de los días de inmersión; para el recubrimiento con relación 30/70 antes de patronar; al finalizar los 8 días de inmersión, la concentración de calcio en la solución es cercana al del fluido SBF inicial, por lo que la adsorción y precipitación del calcio fue mínima en esta película.

Figura 25. Curvas de Concentración de calcio en el fluido *SBF* vs. Tiempo de inmersión.



Fuente: Autor.

A diferencia de las películas con relación 30/70, los recubrimientos 50/50 y 70/30 sin patronar, muestran una mayor tendencia a la absorción de calcio y su posterior precipitación en su superficie como fosfatos como se observó en las micrografías

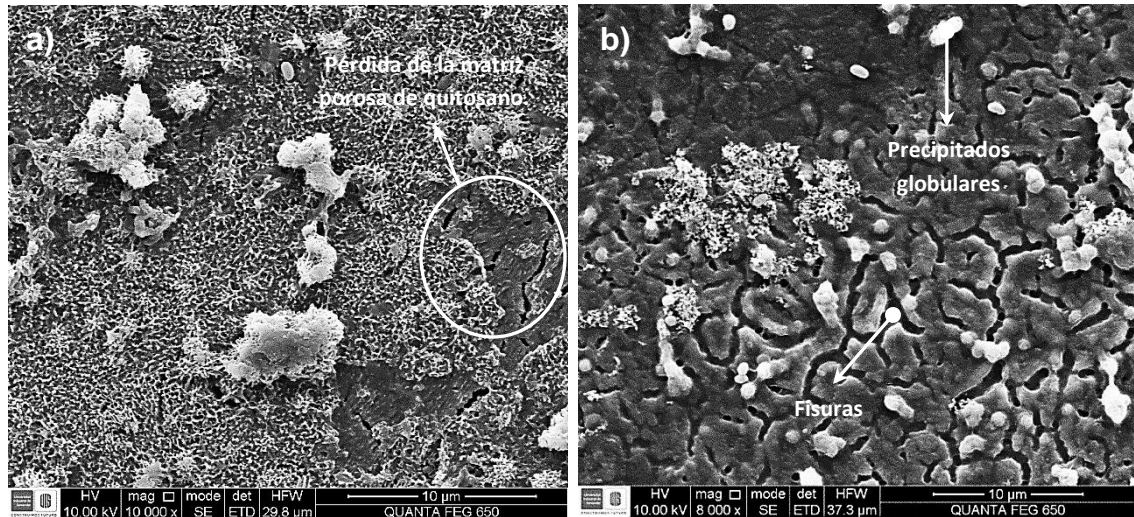
SEM; sin embargo el recubrimiento con relación 50/50 fue el que mostró la mayor adsorción de calcio del fluido SBF, formando mayor cantidad de precipitados de calcio, debido a los radicales hidroxilo y la matriz porosa de dicha película, mencionado anteriormente.

En cuanto a las películas patronadas se observa que inmediatamente pasadas las 24 horas de inmersión, ocurre una mayor precipitación del calcio, en comparación con las muestras sin patronar por lo que ocurre una mayor interacción entre el ion calcio y la superficie del biomaterial. Al finalizar los 8 días de inmersión se presenta una disminución en las concentraciones de calcio en las muestras patronadas a niveles inferiores a los del SBF y al de las muestras sin patronamiento; aproximadamente en un rango entre los 130 y 115 ppm, lo cual es producto de la absorción de calcio, su nucleación, precipitación y crecimiento como fosfato octacálcico; vistos en las micrografías SEM en la Figura 25. El incremento en la adsorción y precipitación del calcio es atribuida al a presencia de sitios activos (Cráteres) preferenciales, generados por la ablación láser, que aumentaron el área de contacto entre el fluido y la superficie de la muestra; incrementando la interacción con el electrolito y la adsorción de mayores cantidades de calcio.

5.6. ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE LA DEGRADACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS POLIMÉRICOS DE POLICAPROLACTONA/QUITOSANO

Al finalizar los días de inmersión de las superficies de las películas con relación 50/50 y 70/30 presentaron la pérdida de la matriz porosa de quitosano y la formación de grietas, respectivamente, en sus superficies como son observados en la Figura 26. Esta falta de homogeneidad después de los 8 días de inmersión, se atribuyen a un proceso de hidrolisis del biopolímero al entrar en contacto con el agua presente en el fluido *SBF*, causando la degradación de la capa polimérica [12].

Figura 26. Morfología superficial de las películas poliméricas después de 8 días de inmersión, degradadas por un proceso hidrolítico: a) Película con relación 50/50, b) Película con relación 70:30.



Fuente: Autor.

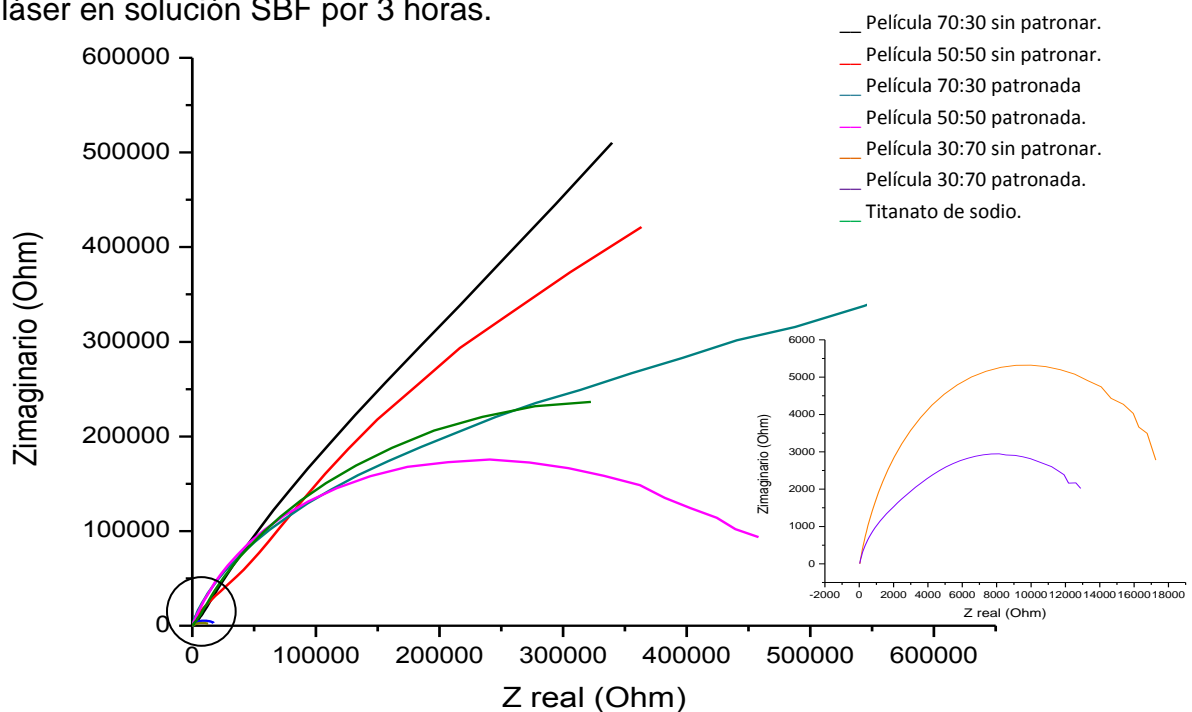
Este proceso hidrolítico es consecuencia de la disolución de los monómeros sacáridos, en la estructura del quitosano (Ver Anexo P), dada su velocidad de degradación, la cual es mayor en comparación con la policaprolactona [2]. Adicional a la formación de las fisuras en la superficie de la película con relación 70/30, ocurre la formación de precipitados globulares superficiales, similares a los vistos en la matriz de quitosano, durante la precipitación de policaprolactona en el proceso de conformación de las capas poliméricas.

5.7. CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA.

5.7.1. Evaluación por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIE). En los diagramas de Nyquist de la Figura 27, se observa que las películas poliméricas antes del patronamiento, presentan mayores valores de la resistencia a la polarización en comparación con las muestras patronadas. Este incremento se

encuentra relacionado de manera proporcional con el incremento de las cantidades de policaprolactona en el recubrimiento. Esto sugiere que las películas con relación 70/30 y 50/50 antes de patronar presentan mayor resistencia a la transferencia de carga, en comparación con la muestra con relación 30/70.

Figura 27. Diagramas de Nyquist para las muestras de PCL/Quitosano con relaciones 30/70, 50/50 y 70/30 antes y posterior al patronamiento por ablación láser en solución SBF por 3 horas.

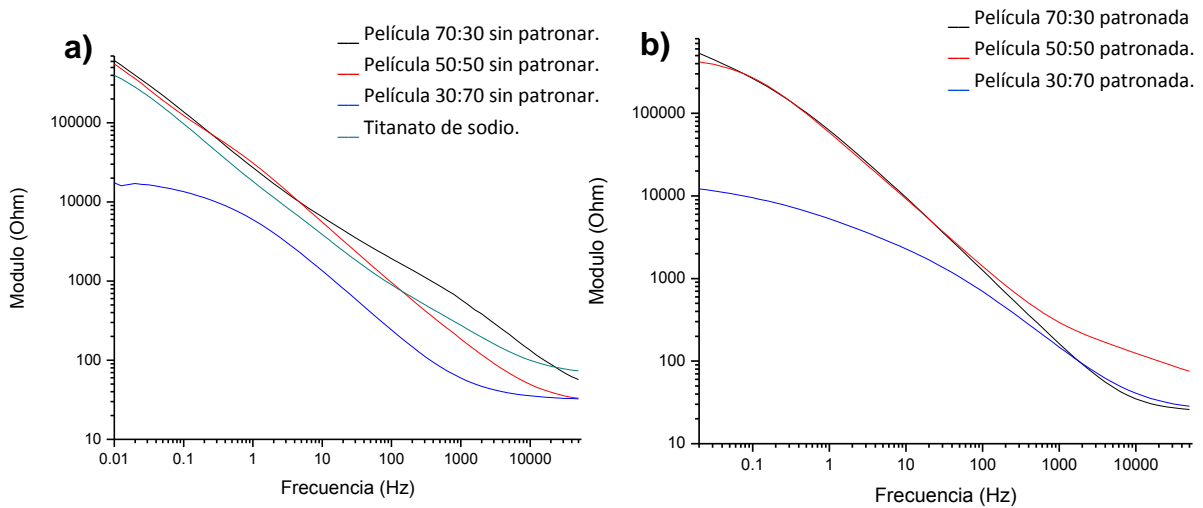


Fuente: Autor.

A diferencia de las muestras sin patronamiento, los valores de resistencia a la transferencia de carga en las muestras patronadas, disminuye en comparación a las películas sin patronamiento; atribuido a la formación de los cráteres, que actúan como zonas activas frente al fluido *SBF* en la superficie de los recubrimientos. Estos sitios activos disminuyen la capacidad resistiva de las

películas frente a las especies electroactivas del medio, aumentando la interacción de las superficies con el medio.

Figura 28. Curvas de Bode para el módulo de impedancia vs. Log Frecuencia: a) Muestras recubiertas con PCL/Quitosano 30/70, 50/50 y 70/30 antes de patronar en solución SBF por 3 horas, b) Muestras recubiertas con PCL/Quitosano 30/70, 50/50 y 70/30 patronadas en solución SBF por 3 horas.



Fuente: Autor

El comportamiento resistivo de las películas sin y con patronamiento, puede observarse en los diagramas de Bode para el módulo de la impedancia en la Figura 28, en los rangos de las bajas frecuencias (0.01-1 Hz); donde la películas con una relación PCL/Quitosano de 70/30 sin patronamiento muestra los mayores valores de impedancia, en comparación con las muestras con relación 30/70 y 50/50 antes de patronar, indicando la presencia de una película homogénea y densa en la superficie, consistente con la morfología obtenida por SEM de dichas películas. Por el contrario las películas con relación 30/70 y 50/50 sin patronamiento, muestran una disminución en los valores de impedancias, asociados a la presencia de porosidades en la morfología de los recubrimientos

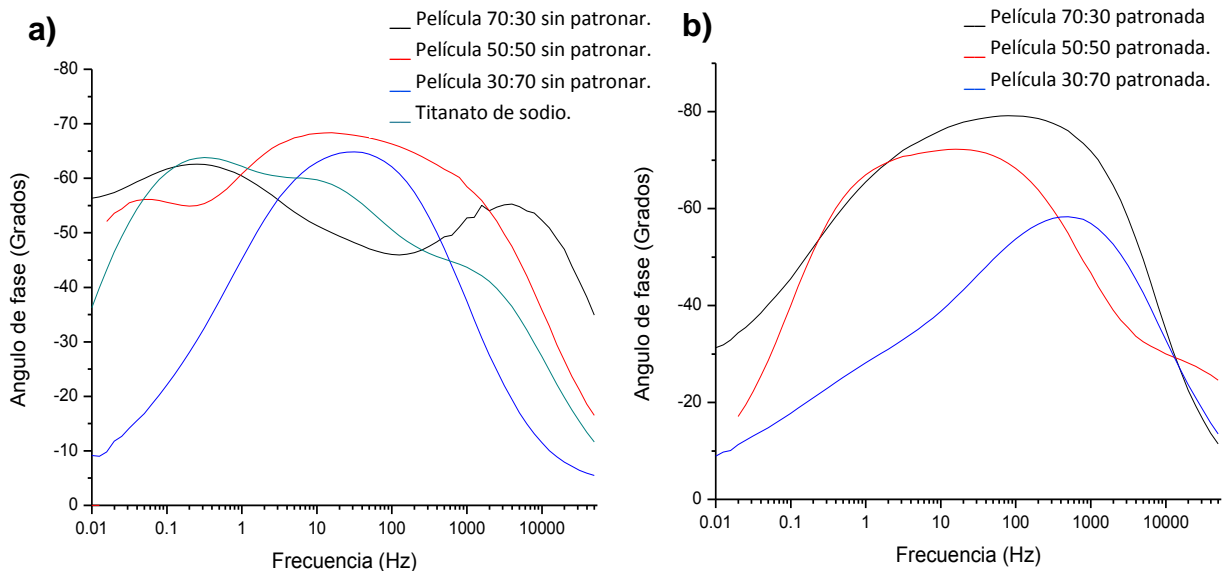
[24]; que ocasionan un descenso en la resistividad de las películas, concordantes con los comportamientos en los diagramas de Nyquist. En el caso de las muestras con patronamiento se observa un comportamiento similar entre las películas; por lo que la generación de los cráteres no afecta significativamente la variación de este parámetro; por lo que la película con mayor densidad fue la de relación 70/30, seguida por la 50/50 y 30/70 respectivamente.

A su vez se puede apreciar un cambio en el comportamiento de las películas, en los diagramas de Bode para los valores del ángulo de fase en la Figura 29; pasando de un comportamiento capacitivo a uno resistivo, al presentarse una caída en los valores del ángulo de fase en la zona de medias y altas frecuencias para las 3 relaciones poliméricas [26]; el cual según lo reportado por autores, se le atribuye a 2 fenómenos ocurientes en las interfases. El primero debido a la presencia de porosidades y microporosidades en la interfase electrodo/electrolito [15]; lo cual concuerda con las características morfológicas de las películas con relación 50/50 y 30/70 sin patronamiento; las cuales mostraron la presencia de una estructura porosa de quitosano en su superficie y la falta de zonas recubiertas con la mezcla polimérica, respectivamente. Esta misma clase de comportamiento es observado en las muestras patronadas; debido a los cráteres (Spots) formados en la superficie de la película; los cuales causan un aumento en la caída del valor del ángulo de fase en este rango de frecuencias en comparación con las muestras sin patronar; por lo que su comportamiento en la interfase se asemejan a la de porosidades en la película polimérica.

El segundo fenómeno involucra un proceso de adsorción de iones en la superficie, que estaría relacionado al proceso de adsorción del ion calcio y el ion fosfato principalmente, permitiendo la formación de fosfatos de calcio en las primeras etapas de la precipitación de los mismo; que generarían una monocapa que obstruiría parte de las porosidades existentes en los recubrimiento, aumentando la capacidad resistiva de la interfase [13, 27], lo cual concuerda con el comportamiento visto en las películas antes y después de patronamiento, al formar

capas de fosfatos en su superficie. Este fenómeno de adsorción difiere entre las muestras sin patronamiento y las patronadas; siendo en éstas últimas las que presentan una caída del ángulo de fase en un mayor rango de frecuencia, como se observa en la Figura 29-b), indicativo de una mayor adsorción de iones en la superficie; por lo que hay una mayor tendencia a la formación de fosfato de calcio, lo cual concuerda con los resultados de microscopia electrónica de barrido y absorción atómica anteriormente mostrados.

Figura 29. Diagramas de Bode para el ángulo de fase vs. Log Frecuencia: a) Muestras recubiertas con PCL/Quitosano con relación 30/70, 50/50 y 70/30 antes de patronar en solución SBF por 3 horas, b) Muestras recubiertas con PCL/Quitosano con relación 30/70, 50/50 y 70/30 patronadas en solución SBF por 3 horas.



Fuente: Autor

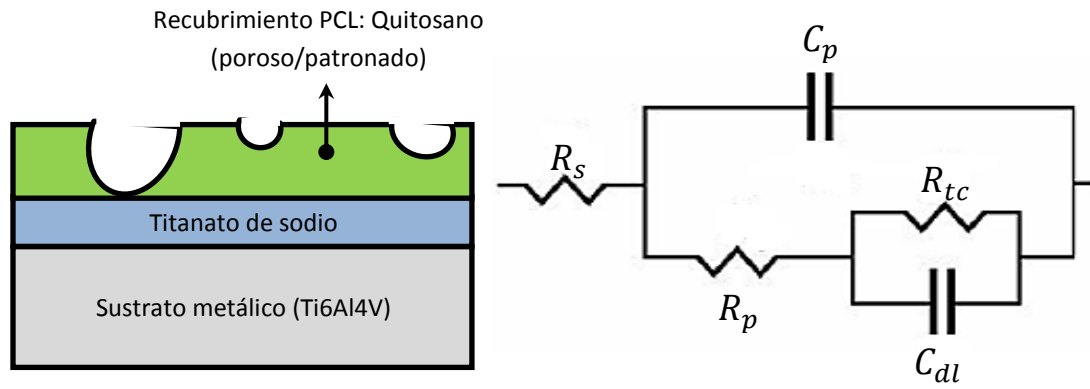
Adicionalmente en los diagramas de Bode para el ángulo de fase, se observa que las películas con relación 30/70, 50/50 con y sin patronamiento, así como la 70/30

patronada; presentan un aumento del comportamiento capacitivo en la zona de frecuencias medias (1000-1 Hz); por lo que en la interfase ocurren procesos controlados por la transferencia de carga [30], atribuidos a la liberación de iones Na^{+2} provenientes de la estructura del cerámico $\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$ en dicha interfase. En la película con relación 70/30 sin patronar este último fenómeno no se manifiesta, dado a que la densidad de la capa dificulta el proceso de liberación del ion Na^{+2} hacia el electrolito.

5.7.2. Análisis por circuitos equivalentes. Con base a los espectros de impedancia electroquímica obtenidos del Potenciostato/Galvanostato GAMRY G750, se procedió a establecer el comportamiento electroquímico de los sustratos (Recubrimientos PCL/Quitosano sin y con patronamiento) frente al electrolito (Fluido corporal simulado); en base a un circuito eléctrico análogo, que permite relacionar los diferentes fenómenos en las interfases de las muestras. Los circuitos equivalentes se seleccionaron teniendo en cuenta las características morfológicas observadas mediante las micrográficas SEM y los comportamientos observados en los diagramas de Nyquist y Bode para cada una de las películas poliméricas antes y después del patronamiento.

En el caso de los recubrimientos con una relación polimérica PCL/Quitosano 30/70 y 50/50 sin y con patronamiento, se establece un circuito eléctrico equivalente con elementos RC en serie-paralelo, para un sistema donde el electrodo (Muestra de $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ tratada alcalinamente) se encuentra compuesto por una película porosa exterior en contacto con el electrolito (Recubrimiento polimérico PCL/Quitosano); y una subcapa densa y compacta por debajo de la película porosa (Titanato de sodio), como se observa en la Figura 30 y en los anexos J, K y M [34, 41].

Figura 30. Representación de las interfases para un sistema compuesto por una subcapa interna densa y compacta, y una capa externa porosa o defectuosa; con su circuito equivalente representativo.



Siendo:

R_s : Resistencia eléctrica del electrolito.

R_p : Resistencia eléctrica asociado a las porosidades.

R_{tc} : Resistencia a la transferencia de carga.

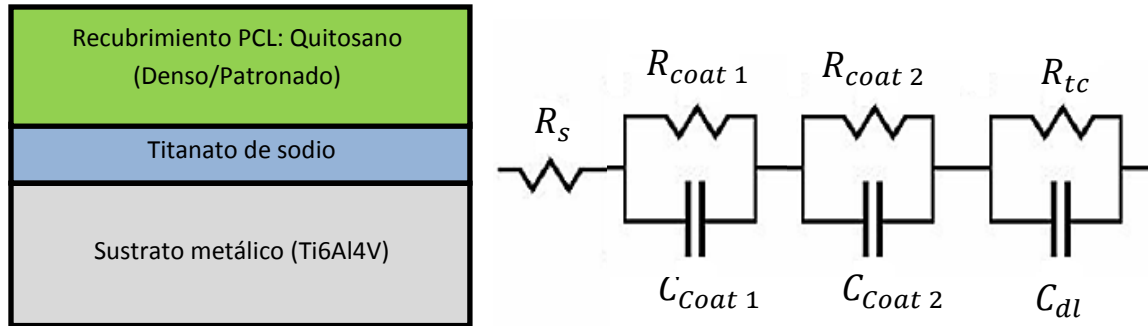
C_p : Capacitancia eléctrica asociada a las porosidades.

C_{dl} : Capacitancia eléctrica relacionada a la doble capa electrica en la interfase electrodo/electrolito.

Fuente: Autor.

A diferencia de los comportamientos de las películas 30/70 y 50/50 anteriormente mencionadas; las películas con relación 70/30 sin y con patronamiento, son simuladas empleando un circuito equivalente compuesto por elementos RC en serie, en donde el electrodo (Aleación Ti6Al4V tratada alcalinamente), está compuesto por 2 películas densas y compactas; de diferente naturaleza química una sobre la otra [34, 36]; para el caso de este estudio; sería el titanato de sodio formado durante el tratamiento alcalino sobre la aleación de titanio y la película de PCL/Quitosano con relación 70/30.sobre él, tal como se observa en la Figura 31 y en los anexos L, N y O.

Figura 31. Representación de las interfases para un sistema compuesto por subcapas densas y compactas, una sobre la otra; con su circuito equivalente representativo.



Siendo:

R_s : Resistencia eléctrica del electrolito.

$R_{coat 1}$: Resistencia eléctrica asociado al recubrimiento exterior.

$R_{coat 2}$: Resistencia eléctrica asociado a la subcapa interna de recubrimiento.

R_{tc} : Resistencia a la transferencia de carga.

$C_{coat 1}$: Capacitancia eléctrica asociada al recubrimiento exterior.

$C_{coat 2}$: Capacitancia eléctrica asociada al recubrimiento interior.

C_{dl} : Capacitancia eléctrica relacionada a la doble capa electrica en la interfase electrodo/electrolito.

Fuente: Autor.

A partir de los diagramas de bode del ángulo de fase para las 3 diferentes películas poliméricas, 30/70, 50/50 y 70/30 sin y con patronamiento, se aprecia que los valores máximos del ángulo de fase, se encuentran por debajo de los -90° ; por lo que los elementos capacitivos pertenecientes a los circuitos equivalente pueden ser sustituidos por elementos de fase constante en los circuitos [26, 31]. Este cambio de comportamiento se le atribuye a las porosidades en las películas, rugosidades y heterogeneidades en los recubrimientos; tales como la ocasionada por la matriz porosa del quitosano, las faltas de continuidad en los recubrimientos, la presencia de los cráteres generados por el patronamiento y las rugosidades por la precipitación de fases.

6. CONCLUSIONES

La presencia de mayores cantidades de grupos hidroxilo (R-OH) y la existencia de una matriz porosa de quitosano en las películas con relación 50/50, facilitaron el proceso de adsorción de calcio y una mayor precipitación del mismo en dichos recubrimientos, mostrando el mejor carácter bioactivo.

El proceso de ablación empleando un μ -Láser, permitió obtener una superficie patronada con cráteres de 28,29 μm de diámetro promedio y una densidad de 1239 cráteres/ cm^2 en las películas poliméricas, constituidos principalmente por óxido de titanio; manteniendo una separación entre cráteres promedio de 176,43 μm x 509,75 μm , formando un patrón definido sobre los recubrimientos de PCL/Quitosano.

La formación de cráteres en las superficies de los recubrimientos poliméricos de PCL/Quitosano generaron una disminución en los valores de la resistencia a la transferencia de carga en todas las películas biopoliméricas; por lo que al patronar se generaron sitios activos, que permitieron aumentar la interacción iónica entre el fluido fisiológico y la superficie biopolimérica, promoviendo un incremento en la adsorción, nucleación y precipitación de mayores cantidades de fosfatos de calcio.

El comportamiento bioactivo que presentaron los recubrimientos PCL/Quitosano, así como el aumento en la adsorción y precipitación de fosfatos de calcio al realizar el patronamiento en la superficie, permiten a esta clase de recubrimientos biopoliméricos, como al proceso de modificación topográfica; ser aplicados sobre materiales con poca bioactividad como el titanio, en su uso como implantes para la regeneración y sustitución de tejidos estructurales.

7. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda llevar a cabo un estudio de las mezclas biopoliméricas, empleando soluciones proteínicas corporales como colágeno, así como cultivos celulares y pruebas de bioactividad en seres vivos (*In vivo*); con el fin de garantizar la respuesta positiva del biomaterial frente a condiciones biológicas más reales.
- ✓ Diseñar un sistema de posicionamiento de la muestra de mayor precisión con el fin de garantizar una separación más uniforme y constante entre los cráteres formados por ablación láser, empleando un sistema de motor de paso o usando un cristal piezoeléctrico.
- ✓ Las soluciones poliméricas de Policaprolactona/Quitano usadas para la conformación de las películas deben emplearse máximo 24 horas después de su obtención, para evitar la degradación de la policaprolactona por acción del solvente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

[1] APARNA REDDY, Sarasam. Chitosan- polycaprolactone mixtures as biomaterials - influence of surface morphology on cellular activity. Oklahoma, USA. 2006. [Internet] Disponible en: <http://digital.library.okstate.edu/etd/umi-okstate-1981.pdf>. Acceso 28 de noviembre de 2012.

[2] Biomateriales y nanobiotecnología. (2: 3-14 Diciembre de 2010. Madrid, España.) Memorias. Madrid. Universidad autónoma de Madrid.2010. [Internet] Disponible en: www.uam.es/personal_pdi/ciencias/rinking/BioPolimeros.pdf. Acceso 23 de octubre de 2012.

[3] BLANCO VERA, Marly X. CARVAJAL REY, Johanna. Obtención de superficies bioactivas sobre el sustrato Ti6Al4V mediante patronamiento por litografía láser. Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de INGENIERO METALÚRGICO. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería metalúrgica. Bucaramanga. 2013.

[4] BRICEÑO B., Rubén D. Estudio de la susceptibilidad a la corrosión en presencia de fluidos corporales simulados de una aleación Ti6Al4V recubierta con hidroxiapatita. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 2007. Acta Microscopica, Vol. 18, pp 150-159

[5] CHENG, Yi. GRAY, Kelsey. LAURENT, David. ROYAUD, Isabelle. PAYNE, Gregory. RUBLOFF, Gary. Characterization of the cathodic electrodeposition of semicrystalline chitosan hydrogel. Maryland, United States. 2012. Materials Letters87(2012)97–100.

[6] COLLET, G. Polímeros biodegradables con aplicaciones en suturas quirúrgicas. Departamento de ingeniería química, Universitat Politècnica de

Catalunya. 2011. P60. [Internet] Disponible en: <http://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/3093/4/34111-4.pdf>. Acceso: 1 de agosto de 2012.

[7] COOPER, Ashleigh. NARAYAN, Bhattarai. ZHANG, Migin. Fabrication and cellular compatibility of aligned chitosan–PCL fibers for nerver tissue regeneration. Seattle, USA. 2012. Carbohydrate Polymers 85 (2011) 149–156.

[8] COWELL, Jhon. Synthesis of polycaprolactone polymer for bone tissue repair. Trabajo de doctorado, Universidad tecnológica de Queensland, Departamento de ciencias físicas y químicas, 2006. [Internet] Disponible en: http://eprints.qut.edu.au/16505/1/John_Colwell_Thesis.pdf. Acceso: 1 de agosto de 2012.

[9] DAI, M. ZHENG, X. XU, X. KONG, X. LI, X. GUO, G. LUO, F. ZHAO, X. WEI, YQ. QIAN, Z. Chitosan-Alginate Sponge: Preparation and Application in Curcumin Delivery for Dermal Wound Healing in Rat. 2009. Journal Biomed. Biotechnol. [Internet] Disponible en: <http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult>. Acceso: 12 de febrero de 2013.

[10] DE LA TORRE IGLESIAS, Paloma Marina. Hidrogeles poliiónicos de chitosán y ácido poliacrílico como nuevos sistemas de liberación gástrica de amoxicilina para el tratamiento de “hpylori”. Madrid, España, 2003.[Internet] Disponible en: pendientedemigracion.ucm.es/BUCM/tesis/far/ucm-t26645.pdf. Acceso: 4 de febrero 2013.

[11] DONATHIE Jr, M. Titanium: A technical guide. Second Edition. Charter 3 “Understanding the metallurgy of titanium”. ASM International. 2000. Página 15. [internet] Disponible en: <http://>

books.google.com.co/books?id=HgzukknbnGAC&pg=PA15&dq=Ti6Al4V+diagram &hl. Acceso 17 de diciembre de 2012.

[12] ELDSATER, Carina. KARLSSON, Sigbritt. ALBERTSSON, Ann Christine. Effect of abiotic factors on the degradation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in simulated and natural composting environments. Stockholm, Sweden. 1999. Polymer degradation and Stability 64 (1999) 177-183.

[13] ESTUPIÑAN DURÁN, Hugo Armando. Estudio electroquímico de la electroactivación de osteoblastos inmovilizados en compuestos poliméricos semiconductores de PLA-PLG-Biocerámico. Trabajo de grado para optar al título de doctor en INGENIERÍA QUÍMICA. Universidad Industrial de Santander. Facultad de ingenierías fisicoquímicas. Escuela de ingeniería química. Bucaramanga. 2011.

[14] FERNANDEZ, Rohan. WU, Qun. TIANHONG, Chen. HYUNMIN, Yi. RUBLOFF, Gary. REZA, Ghodssi. BENTLEY, William. PAYNE, Gregory. Electrochemically Induced Deposition of a Polysaccharide Hydrogel onto a Patterned Surface. Maryland, USA. 2000. Biomaterials 20 (1999) 1133-1142

[15] GARCÍA, Claudia. CERÉ, Silvia. DURÁN, Alicia. Recubrimientos bioactivos sobre aleaciones de titanio depositados por la técnica sol-gel. Medellín, Colombia. 2005. Revista Scielo, Nro 37, pp 129-140.

[16] KEYFFER, J. SALAS, P. FERNÁNDEZ, Freddy. FERNÁNDEZ, Carlos. Regimenes de ablación láser en la elaboración de películas delgadas. Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V, Vol. 25, N° 4, pp. 121-126, 2010

[17] KHOR, Eugene. YANG, Lee. Implantable applications of chitin and chitosan. Singapur, Indonesia. 2004. Biomaterial (2003) 2339-2349.

- [18] KIM, H. M. MIYAJI, F. KOKUBO, T. Effect of heat treatment on apatite-forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. Kyoto, Japan. 1998. Journal of materials & sciences, Material medicine (1997) 341-347
- [19] KOKUBO, Tadashi. TAKADAMA, Hiroaki. How useful is SBF in predicting in vivo bone activity. Kosugai, Japón. 2006. Biomaterials 27 (2006) 2907-2915.
- [20] LANEY R. William. TAYLOR, Thomas. Osteointegration. University of Connecticut, Health center. [Internet] Disponible en: http://dentalimplants.uchc.edu/about/surgery_osseointegration. [Acceso: 9 de septiembre de 2012].
- [21] LEFÈVRE, G. In situ Fourier-transform infrared spectroscopy studies of inorganic ions. Seine, France. 2005. Advances in Colloid and Interface Science 107 (2004) 109–123.
- [22] MENDOZA, C. BAHENA, N. A. MELÉNDEZ, M. A. VELASQUILLO, C. Diseño, construcción y aplicación de un sistema de electrodeposición química: Películas de Quitosano sobre acero inoxidable. Revista mexicana de física E 52 (2) 244-250. Ciudad de México, México. 2006.
- [23] NISAR, Alí. BASHIR, Shazia. KALSOOM, Umm. AKRAM, Mahreen. MAHMOOD, Khaliq. Effect of dry and wet ambient environment on the pulsed laser ablation of titanium. Lahore,. Pakistán. 2013. Applied surface science 270 (2013) 49-57.
- [24] PEÑA, Darío. FONTALVO, Paola. ESTUPINAN, Hugo. NINO, Dannier. Evaluación experimental de la resistencia a la corrosión de un acero AISI-SAE 4140 implantado con iones de

[25] PINTO SALAZAR, Mónica P. CALDERÓN CASCAVITA, Leidy X. Caracterización superficial del acero inoxidable hp-40 utilizando espectroscopia de μ -plasma inducido por láser (μ -LIBS). Trabajo de grado para optar al título de QUÍMICO. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Bucaramanga. 2013.

[26] PIRATOBA MORALES, Ulises. MARINO CAMARGO, Alvaro. OLAYA FLÓREZ, John. Impedancia electroquímica interpretación de diagramas típicos con circuitos equivalentes. Medellín, Colombia. 2010. Dyna, Año 77, Nro. 164, pp. 6975.

[27] RAGHUNANDAN, Ummethala. FLORIAN, Despang. GELINSKY, Michael. BIKRAMJIT, Basua. In vitro corrosión and mineralization of novel Ti-Si-C alloy. Dresden, Alemania. 2011. Electrochimica Acta 56 (2011) 3809–3820.

[28] RODENAS, Lillo. CAZORLA-AMORO'S, D. LINARES, A. Understanding chemical reactions between carbons and NaOH and KOH An insight into the chemical activation mechanism. Alicante, Spain. 2004. Carbon 41 (2003) 267–275.

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

[30] RUHI, G. MODI, P. JHA, K. SINGH, I.B. Characterization of corrosion resistance properties of sol-gel alumina coating in mine water environment. Bhopal, India. 2008. Indian Journal of Chemical Technology. Vol. 16, May 2009, pp. 216-220.

[31] RUIQUIANG, Hang. XIAOBO, Huang. LINHAI, Tian. ZHIYONG, He. BIN, Tang. Preparation, characterization, corrosion behavior and bioactivity of Ni₂O₃-

doped TiO₂ nanotubes on NiTi alloy. Taiyuan, China. 2012. *Electrochimica Acta* 70 (2012) 382–393.

[32] VAN DER SCHUEREN, Lien. STEYAERT, Iline. DE SCHOENMAKER, Bert. DE CLERCK, Karen. Polycaprolactone/chitosan blend nanofibres electrospun from an acetic acid/formic acid solvent system. Zwijnaarde (Ghent), Belgium. 2013. *Carbohydrate Polymers* 88 (2012) 1221– 1226.

[33] VARELA CASELIS, Jenaro. REYES CERVANTES, Eric. RUBIO ROSAS, Efraín. Crecimiento en fluido fisiológico simulado de hidroxiapatita sobre películas de PMMA-sílice-CaO. Puebla, México. 2011. *Revista Scielo*, Volumen 24, Nro 3, pp 148-153.

[34] VÁSQUEZ GUITIÉRREZ, José L. Empleo de la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica para la caracterización de biomateriales. Aplicación a una aleación biomédica de Co-Cr-Mo. Valencia, España. 2007. [Internet] Disponible en: riunet.upv.es/bitstream/handle/riunet/10000/1/TesisMaster_LuisVazquez.pdf?1. Acceso 7 de marzo de 2013.

[35] VERA, N. MALHEIRO, Sofia. CARIDADE, Natalia. ALVES, João. New poly(ϵ -caprolactone)/chitosan blend fibers for tissue engineering applications. Guimarães, Portugal. 2011. *Acta Biomaterialia* 6 (2010) 418–428.

[36] WANG, C.X. WANG, M. ZHOU, X. Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study. Shinchuan, China. 2003. *Biomaterials* 24 (2003) 3069-3077.

[37] WON POK, Seok. WALLACE, Kristin. SANDARARAIAN, Madihally. In vitro characterization of polycaprolactone matrices generated in aqueous media. *Acta Biomaterialia*. [Internet] Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2997440/> Acceso 25 de octubre de 2012.

[38] XUANYONG, L. CHU, P. CHUANXIAN, D. Surface nano-functionalization of biomaterials. Departamento de física y ciencia de los materiales, Universidad de Hong Kong, China. 2010. Material Science and engineering R. 70. 2010. 275-302.

[39] XUANYONG, Liua. CHUB, K. CHUANXIAN, Dinga. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. Shanghai, China. 2004. Materials Science and Engineering R 47 (2004) 49–121.

[40] ZEA, Alejandra. La ablación láser. 2013. [Internet] Disponible en: http://prezi.com/mpwgdedr_scx/ablacion-laser/. Acceso 1 de marzo de 2013.

[41] ZELINKA, Samuel. ORTIZ CANDELARIA, Lorraine. STONE, Donald. RAMMER, Douglas. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) as a tool for measuring corrosion of polymer-coated fasteners used in treated wood. FOREST PRODUCTS JOURNAL VOL. 59, NO. ½.

[42]ZHENG, Y. LIU, X. SUN, J. Antimicrobial and osteogenic effect of Ag-implanted titanium with a nanostructured surface. Shanghai, Republic of China. 2012 [Internet] Disponible en: <http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php>. Acceso 10 de enero de 2013.

ANEXOS

Anexo A: Listado de reactivos empleados.

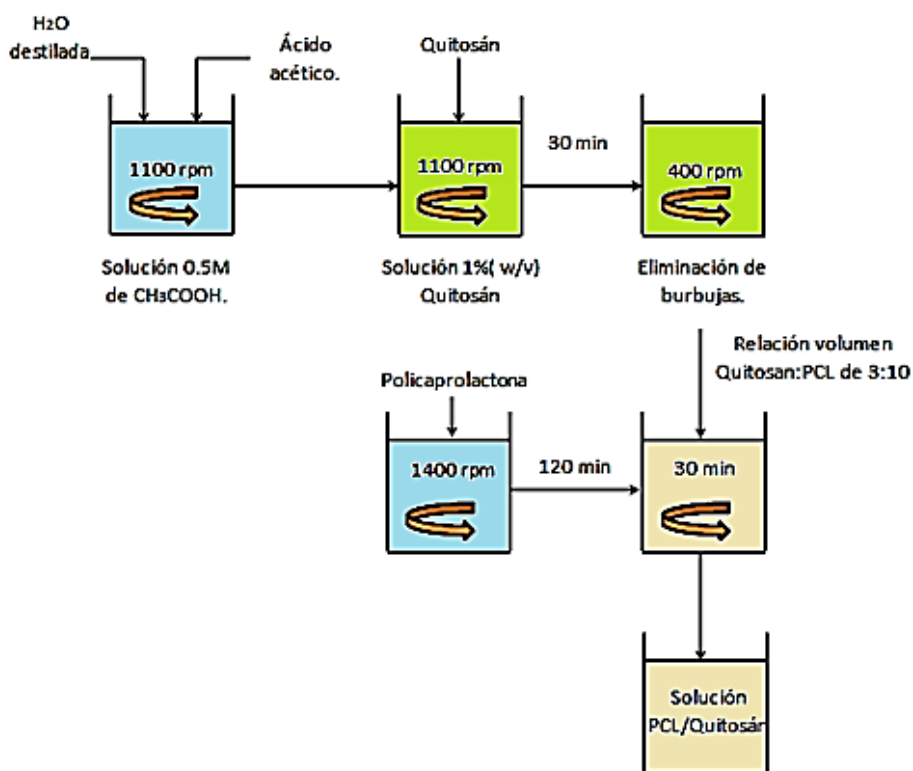
REACTIVO	FÓRMULA QUÍMICA	CARACTERÍSTICAS
Ácido acético glacial	CH ₃ COOH	Mallinckrodt, 99.8% Pureza.
Ácido clorhídrico	HCl	Merck, 37% Pureza.
Ácido fluorhídrico	HF	Panreac, 40% Pureza.
Ácido nítrico	HNO ₃	Carlo Erba, 65% Pureza.
Agua destilada y desionizada	H ₂ O	Agua tipo I.
Aleación de titanio	Ti6Al4V	Quirúrgicos especializados S.A
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	Merck, 99.7% Pureza.
Cloruro de calcio	CaCl ₂	Carlo Erba, 92% Pureza.
Cloruro de magnesio hexahidratado	MgCl ₂ ·6H ₂ O	Mallinckrodt (Cristal), 99.7% Pureza.
Cloruro de potasio	KCl	Merck, 99.5% Pureza.
Cloruro de sodio	NaCl	Merck, 99% Pureza.
Di-potasio hidrogeno fosfato trihidratado	K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	Pancreac, 98.102% Pureza.
Etanol	C ₂ H ₆ O	Merck, 99% Pureza.
Hidróxido de sodio	NaOH	Merck, 99% Pureza.
Policaprolactona	(C ₆ H ₁₀ O ₂) _n	Aldrich Chemistry, Mn=80.000.
Quitosano		Aldrich Chemistry, 85% Desacetilación.
Sulfato de sodio	Na ₂ SO ₄	Merck, 99% Pureza.
Tris(Hidroximetil) aminometano)	(HOCH ₂) ₃ CNH ₂	Merck.

Anexo B: Listado de equipos empleados.

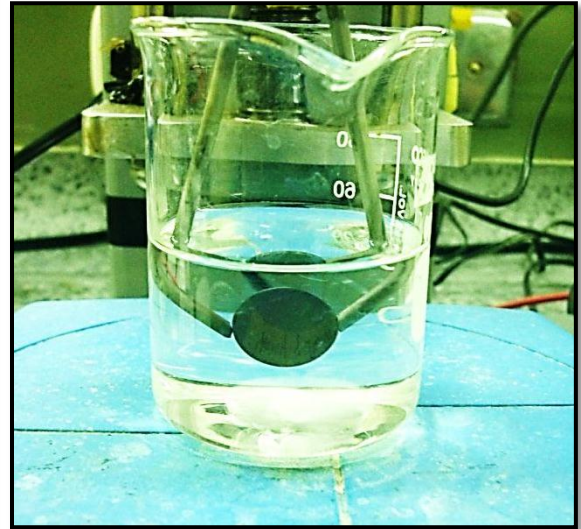
EQUIPO	APLICACIÓN
Pulidora Metkan-Grinder/Polisher.	Preparación superficial de la aleación Ti6Al4V.
Microscopio óptico Olympus GX71	Caracterización microestructural de la aleación Ti6Al4V.
Baño termostataado -Polystast CC1. HUBER.	Tratamiento superficial alcalino de la Ti6Al4V y pruebas de bioactividad in vitro.
Estufa MERMMET	Secado de los recubrimientos poliméricos policaprolactona/Quitosano.
Horno Heraeus	Tratamiento térmico posterior al tratamiento con NaOH.
Plancha de agitación -SCHOTT	Preparación de la solución de quitosano, policaprolactona y

	SBF.
Equipo de inmersión "Dip Coating"- Versión 3.0.	Conformación de los recubrimientos Policaprolactona/Quitosano.
Espectrofotómetro infrarrojo Shimadzu 8400S Fourier transform.	Caracterización por espectroscopia infrarroja de los recubrimiento Policaprolactona/Quitosano.
Microscopio electrónico de barrido FEI. Quanta FEG 650.	Caracterización morfológica y química de la superficie del material inicial cerámico-polimérico antes y después de patronar.
Balanza - Santorius TE2145.	Pesado de cantidades de NaOH, Quitosano, Policaprolactona y reactivos para el SBF.
Láser Nd:YAG - Quanta Ray, Indi	Patronamiento de las superficies poliméricas por ablación láser.
Potenciostato/Galvanostato GAMRY INSTRUMENTS Serie G750	Pruebas de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIE) sobre las muestras patronadas y sin patronas de Policaprolactona/Quitosano.

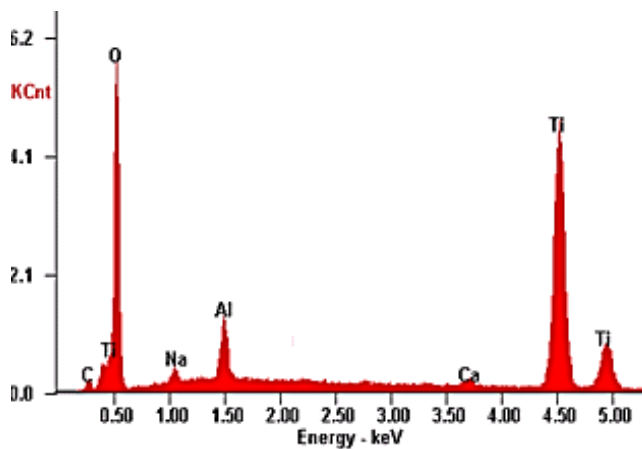
ANEXO C: Flujograma para la preparación de las soluciones poliméricas PCL/Quitosano.



ANEXO D: Montaje para la conformación de películas PCL/Quitosano por Dip Coating.

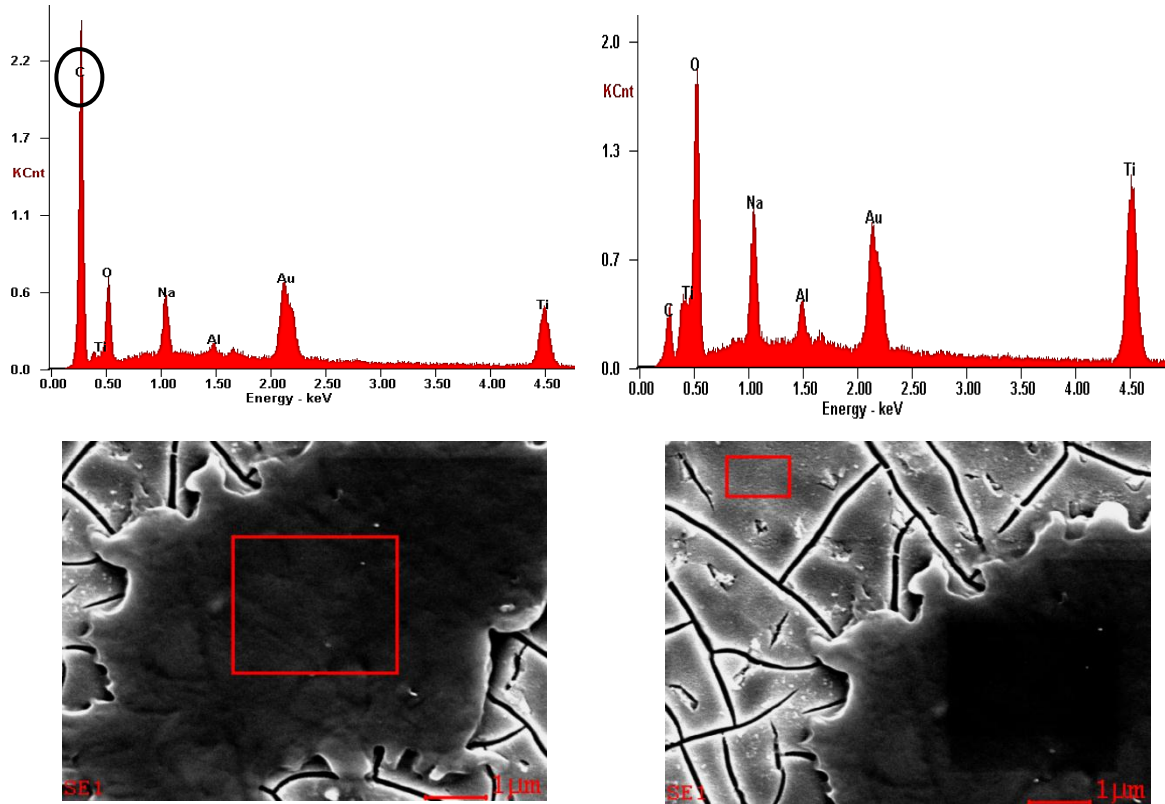


ANEXO E: Análisis EDS de la superficie de la aleación Ti6Al4V antes del tratamiento alcalino.

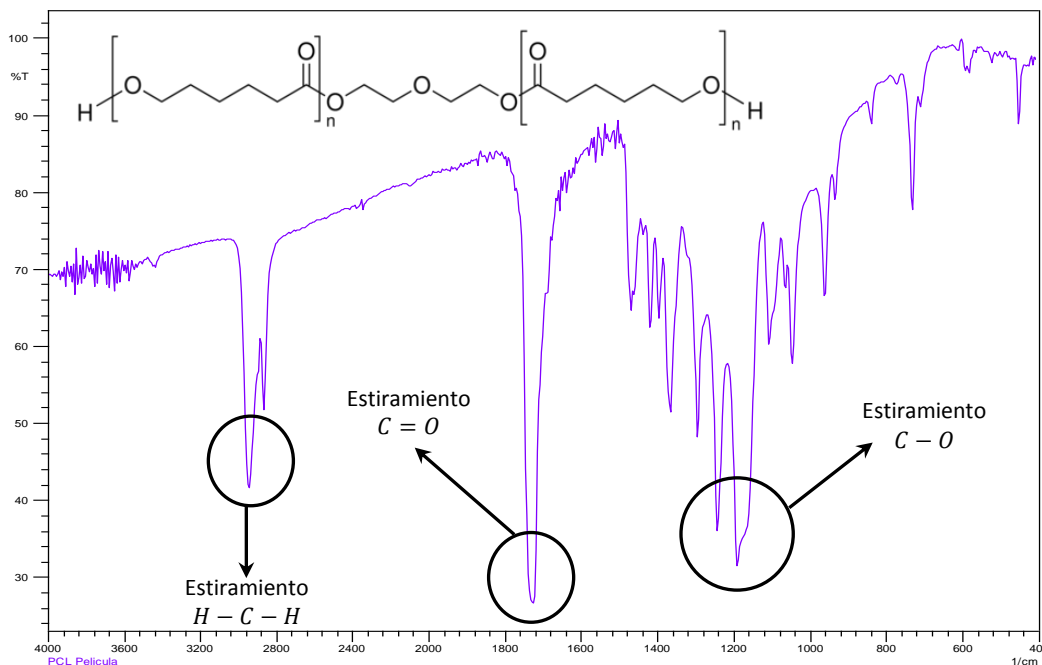


Elemento	%Wt	%At
Carbono (C-K)	01.54	03.15
Oxígeno (O-K)	39.26	60.50
Sodio (Na-K)	00.88	00.94
Aluminio (Al-K)	02.79	02.55
Calcio (Ca-K)	00.67	00.41
Titanio (Ti-K)	54.86	32.44

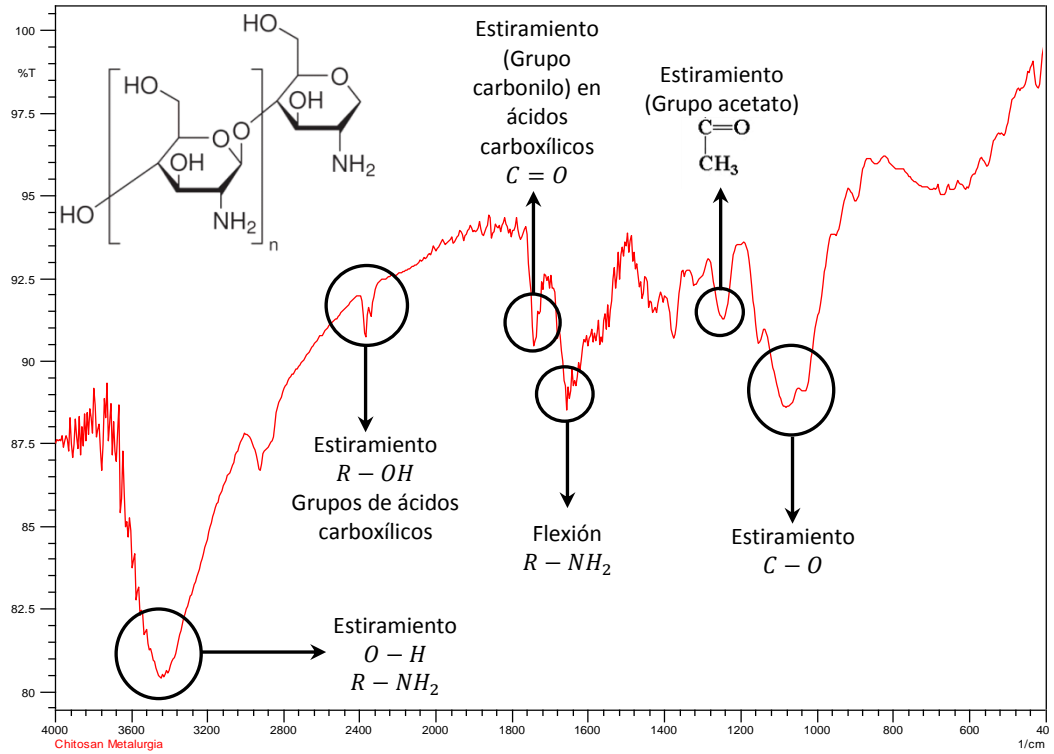
ANEXO F: Análisis EDS de la superficie recubierta y sin recubrir de los sustratos con una película polimérica con 30% PCL y 70% Quitosano.



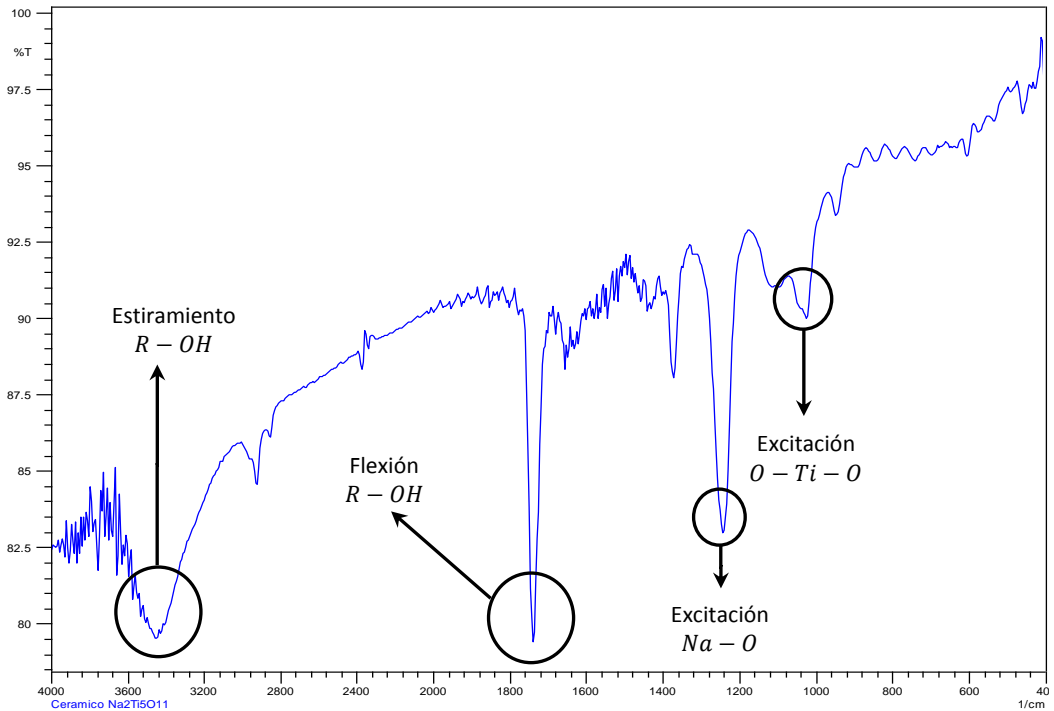
ANEXO G: Espectro infrarrojo FTIR de la Policaprolactona (PCL)



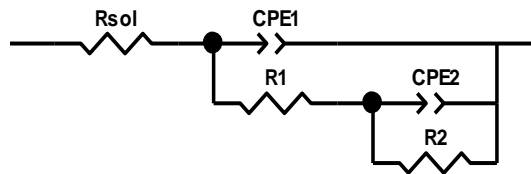
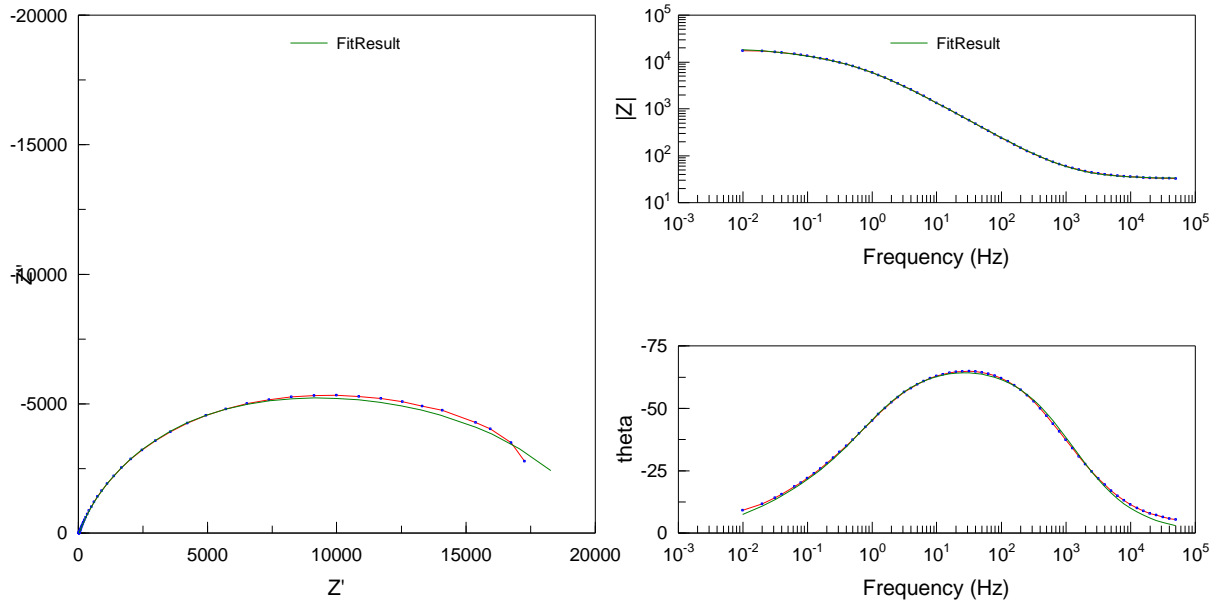
ANEXO H: Espectro infrarrojo FTIR del Quitosano.



ANEXO I: Espectro infrarrojo FTIR del titanato de sodio.



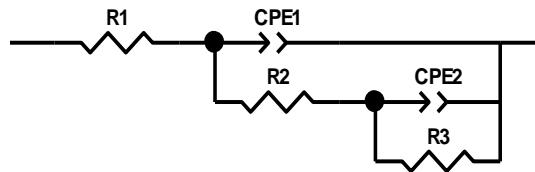
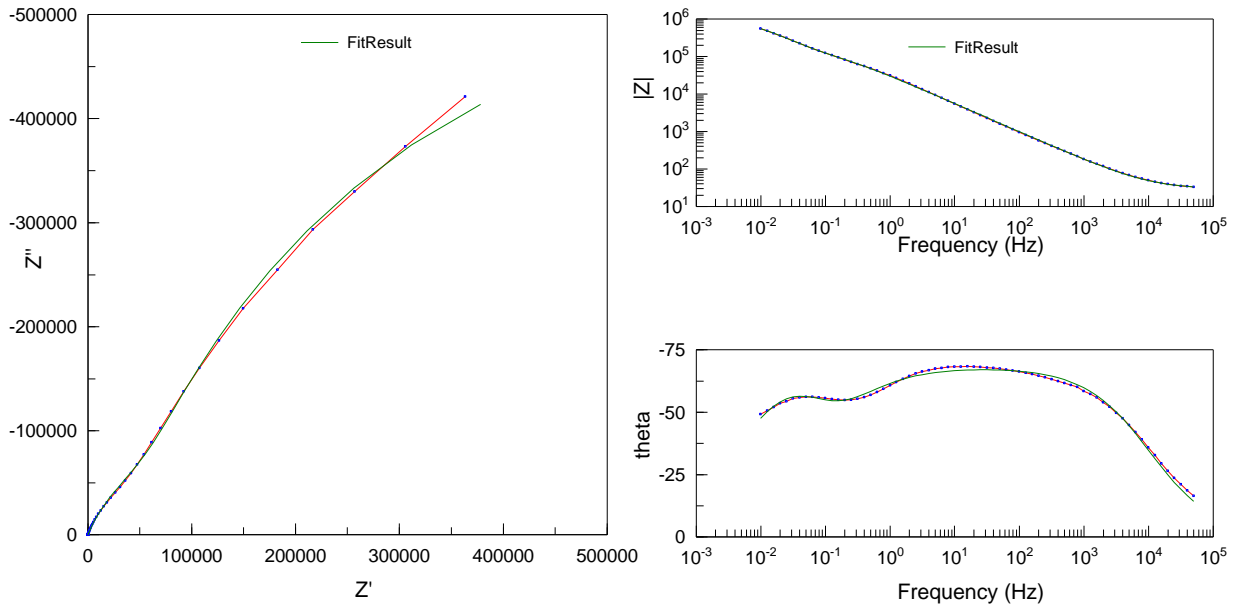
ANEXO J: Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano de 30/70 sin patronar.



<u>Element</u>	<u>Freedom</u>	<u>Value</u>	<u>Error</u>	<u>Error %</u>
Rsol	Free(+)	32,59	0,14465	0,44385
CPE1-T	Free(+)	2,9279E-05	3,4459E-07	1,1769
CPE1-P	Free(+)	0,77422	0,0017854	0,23061
R1	Free(+)	12205	519,98	4,2604
CPE2-T	Free(+)	0,00020046	3,5012E-05	17,466
CPE2-P	Free(+)	0,61215	0,064384	10,518
R2	Free(+)	8176	986,8	12,069

Chi-Squared: 0,0006561
 Weighted Sum of Squares: 0,079388

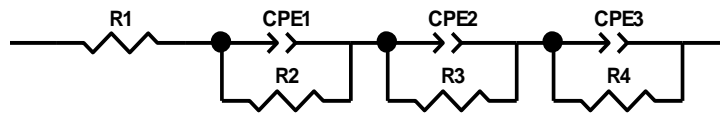
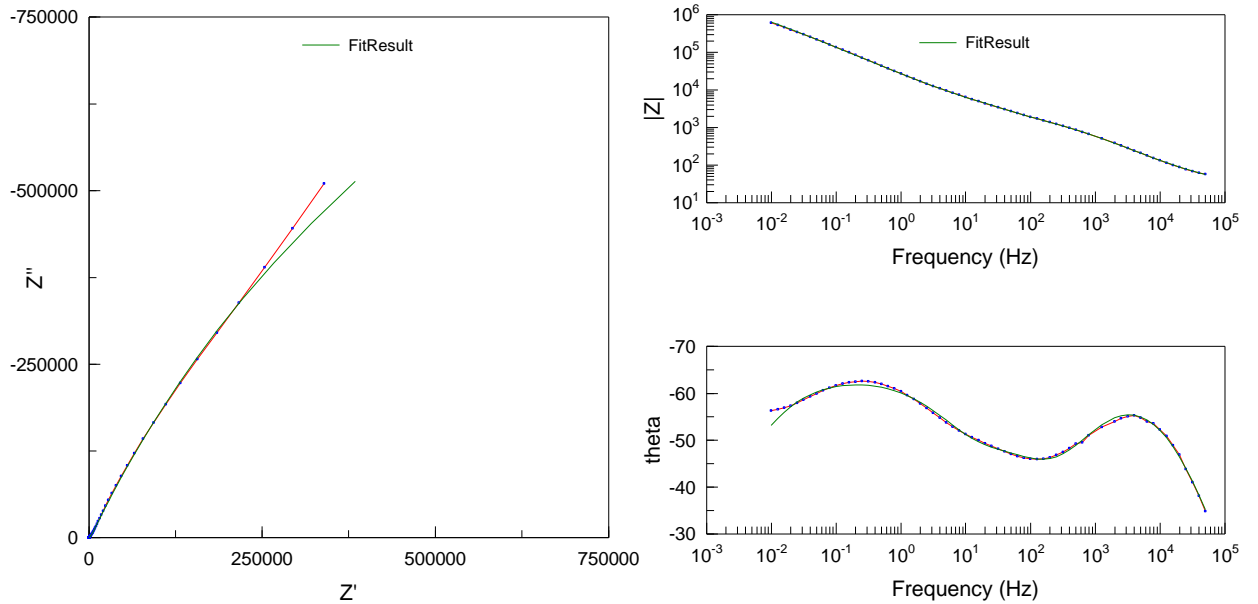
ANEXO K: Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano de 50/50 sin patronar.



<u>Element</u>	<u>Freedom</u>	<u>Value</u>	<u>Error</u>	<u>Error %</u>
R1	Free(+)	28.93	0.2602	0.89941
CPE1-T	Free(+)	7.6915E-06	6.3828E-08	0.82985
CPE1-P	Free(+)	0.758	0.0012105	0.1597
R2	Free(+)	2.2724E05	11042	4.8592
CPE2-T	Free(+)	8.2787E-06	4.4523E-07	5.378
CPE2-P	Free(+)	0.90374	0.027627	3.057
R3	Free(+)	1.1452E06	70749	6.1779

Chi-Squared: 0.00090548
 Weighted Sum of Squares: 0.11681

ANEXO L: Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano de 70/30 sin patronar.

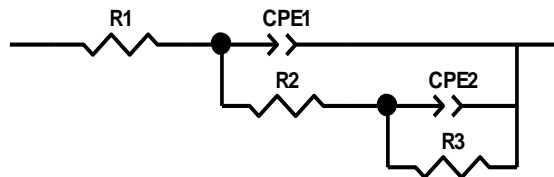
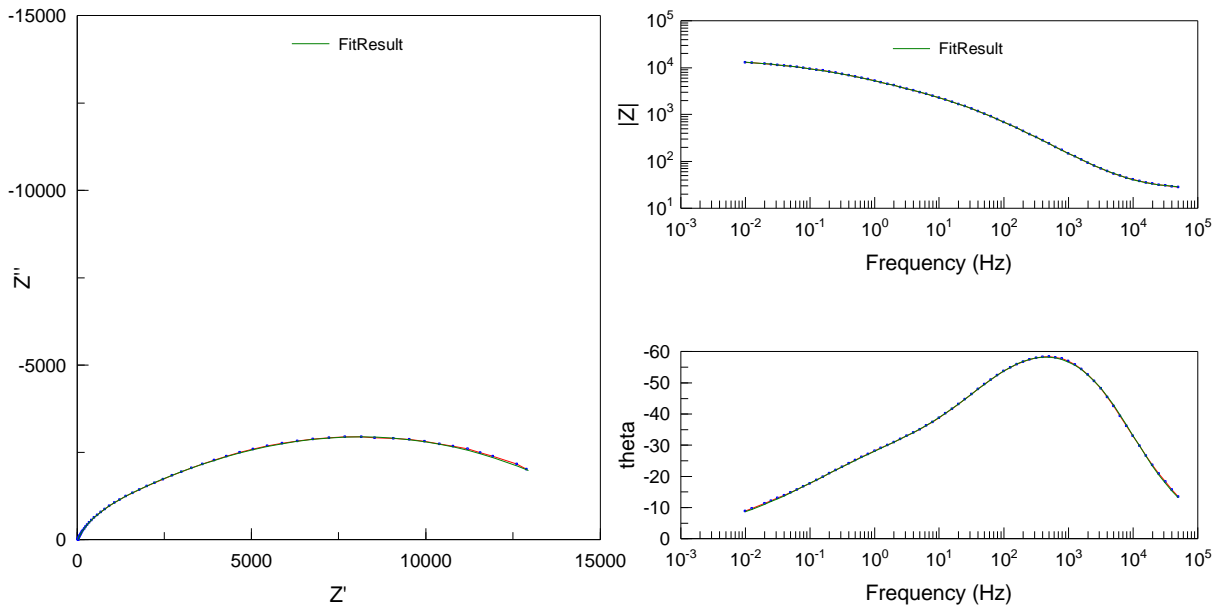


Element	Freedom	Value	Error	Error %
R1	Free(+)	31.95	0.51755	1.6199
CPE1-T	Free(+)	3.2405E-06	1.6789E-07	5.181
CPE1-P	Free(+)	0.75749	0.011092	1.4643
R2	Free(+)	786.9	119.75	15.218
CPE2-T	Free(+)	1.3462E-05	3.0402E-06	22.584
CPE2-P	Free(+)	0.78521	0.073289	9.3337
R3	Free(+)	1446	254.17	17.577
CPE3-T	Free(+)	1.0137E-05	2.8222E-08	0.27841
CPE3-P	Free(+)	0.71836	0.0022496	0.31316
R4	Free(+)	2.9445E06	1.5118E05	5.1343

Chi-Squared: 0.00025504

Weighted Sum of Squares: 0.031114

ANEXO M: Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 30/70 patronada.

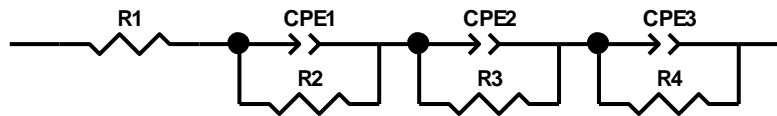
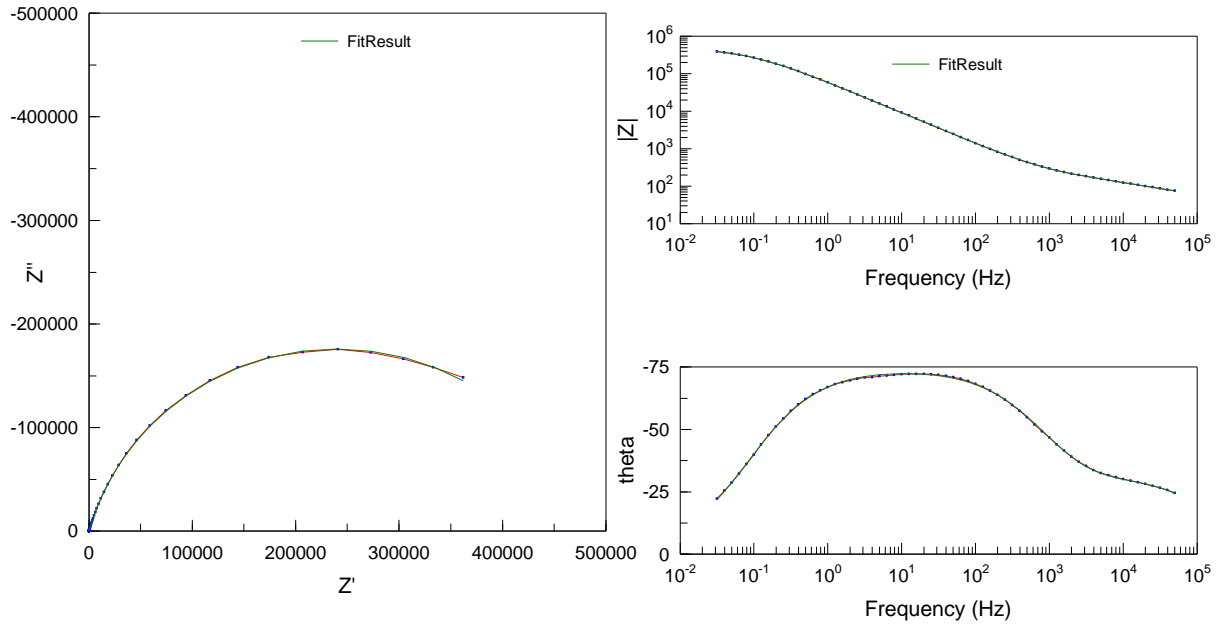


<u>Element</u>	<u>Freedom</u>	<u>Value</u>	<u>Error</u>	<u>Error %</u>
R1	Free(+)	25.24	0.0426	0.16878
CPE1-T	Free(+)	8.7945E-06	6.2422E-08	0.70978
CPE1-P	Free(+)	0.76585	0.00075311	0.098336
R2	Free(+)	1882	27.95	1.4851
CPE2-T	Free(+)	7.64E-05	2.9909E-07	0.39148
CPE2-P	Free(+)	0.44229	0.0021574	0.48778
R3	Free(+)	14263	81.01	0.56797

Chi-Squared: 2.2811E-05

Weighted Sum of Squares: 0.002897

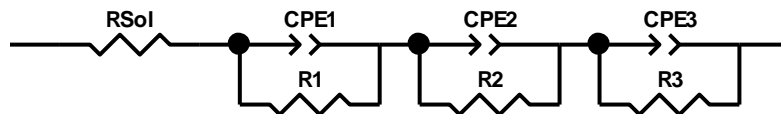
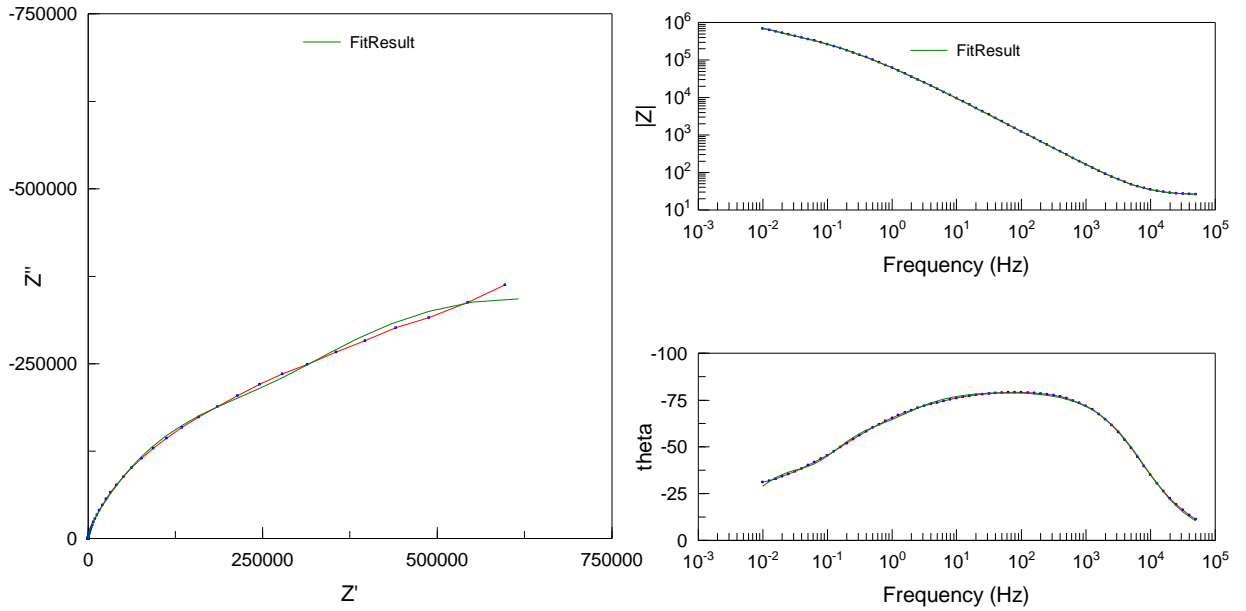
ANEXO N: Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 50/50 patronada.



<u>Element</u>	<u>Freedom</u>	<u>Value</u>	<u>Error</u>	<u>Error %</u>
R1	Free(+)	41.44	0.94582	2.2824
CPE1-T	Free(+)	8.5773E-06	8.5807E-07	10.004
CPE1-P	Free(+)	0.62732	0.0099949	1.5933
R2	Free(+)	126	2.4346	1.9322
CPE2-T	Free(+)	9.7199E-06	2.7738E-05	285.37
CPE2-P	Free(+)	0.83276	0.089658	10.766
R3	Free(+)	2.4584E05	5.1539E05	209.64
CPE3-T	Free(+)	5.6078E-06	9.452E-06	168.55
CPE3-P	Free(+)	0.82498	0.039199	4.7515
R4	Free(+)	2.3251E05	5.1046E05	219.54

Chi-Squared: 5.974E-05
 Weighted Sum of Squares: 0.0069299

ANEXO O: Simulación del circuito equivalente para la película con relación PCL/Quitosano 70/30 patronada.



Element	Freedom	Value	Error	Error %
RSol	Free(+)	24.9	0.12355	0.49618
CPE1-T	Free(+)	1.588E-05	3.7908E-06	23.872
CPE1-P	Free(+)	0.87649	0.048419	5.5242
R1	Free(+)	7.7727E05	83611	10.757
CPE2-T	Free(+)	5.4481E-06	1.034E-06	18.979
CPE2-P	Free(+)	0.90155	0.062326	6.9132
R2	Free(+)	2.3501E05	60024	25.541
CPE3-T	Free(+)	6.9696E-06	1.6319E-06	23.415
CPE3-P	Free(+)	0.88938	0.043002	4.8351
R3	Free(+)	26802	14433	53.85

Chi-Squared: 0.00036653

Weighted Sum of Squares: 0.046183

ANEXO P: Reacción de degradación hidrolítica para el quitosano.

