

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO ALCALINO SOBRE EL COMPORTAMIENTO
ELECTROQUÍMICO DE UN RECUBRIMIENTO DE BIOVIDRIO BASADO EN SiO_2 -
 P_2O_5 - CaO - Na_2O OBTENIDO POR ANODIZADO POR PLASMA QUÍMICO SOBRE
 Ti6Al4V**

JEIMY MARCELA FUENTES TORRES

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA
2008**

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO ALCALINO SOBRE EL COMPORTAMIENTO
ELECTROQUÍMICO DE UN RECUBRIMIENTO DE BIOVIDRIO BASADO EN SiO₂-
P₂O₅-CaO-Na₂O OBTENIDO POR ANODIZADO POR PLASMA QUÍMICO SOBRE
Ti6Al4V**

JEIMY MARCELA FUENTES TORRES

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

Director

DARIO YESID PEÑA BALLESTEROS

Ingeniero Metalúrgico PhD.

Codirector

HUGO ARMANDO ESTUPIÑAN DURAN

Ingeniero Metalúrgico MS.c.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2008

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus más sinceros agradecimientos a:

Darío Yesid Peña Ballesteros Ingeniero Metalúrgico Ph.D. director de esta investigación.

Hugo Armando Estupiñan Ingeniero Metalúrgico MS.c. codirector de esta investigación.

Custodio Vásquez miembro directivo del Grupo de Investigación en el área de corrosión (GIC-Guatiguara).

Mis compañeros de grupo GIC en especial a los ingenieros Yesid Orlado García, Ricardo Martínez, Carlos Mauricio Ordoñez y Paola Juliana Reyes. Por su amable y valiosa ayuda.

Guillermo Acero, técnico del Laboratorio de Ingeniería Química.

José Luis Pinto, Laboratorio DRX UIS.

JEIMY

DEDICATORIA

A Dios que siempre esta a mi lado y me dio fuerza y sabiduría para alcanzar todas mis metas propuestas.

A Jaime y Marcela, mis padres; que son mi motivo de inspiración y por ser las personas que están siempre a mi lado brindándome su apoyo y su amor incondicional.

A Lucho, mi hermano; por ser la persona que me acompaño en el transcurso de mi carrera, y por enseñarme a ver la vida de una forma diferente.

A Valentina, mi hermanita; por ser esa personita que cada día alegra mi vida

A Eduín, por brindarme su amor y compañía incondicional.

A mis amigos, amigas y en especial a Andrea por su amable y valiosa ayuda; y a todas las personas que aparecieron en diferentes etapas de mi vida y que creyeron en mí.

CON MUCHO AMOR...

JEIMY

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCION	1
2. CONCEPTOS TÉORICO	2
2.1. BIOMATERIALES	2
2.1.1. Biomateriales cerámicos	2
2.1.2. Vidrio Bioactivo (Biovidrio).	2
2.2. ANODIZADO POR MEDIO DE PLASMA QUÍMICO APQ (MICROOXIDACIÓN ANÓDICA)	3
2.2.1. Descripción del proceso de electrodeposición	3
2.3. MODIFICACION DE LA CAPA APQ POR TRATAMIENTO ALCALINO	4
2.4. EVALUACION DE RECUBRIMIENTO POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUIMICA (EIE)	4
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	6
3.1. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRAFICO	6
3.2. PUESTA A PUNTO DEL MONTAJE DEL PROCESO ELECTROLITICO	6
3.3. PRUEBAS PRELIMINARES, EVALUACION Y SELECCION DE LAS VARIABLES MÁS INFLUYENTES EN EL PROCESO	7
3.4. OBTENCIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ POR APQ	8
3.5. EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS RECUBRIMIENTOS POR MEDIO DE LA TÉCNICA ANODIZADO POR PLASMA QUÍMICO (APQ).	8
3.6. EVALUACIÓN POR MEDIO DE UN SOFTWARE ESTADÍSTICO DE LOS RECUBRIMIENTOS POR APQ.	8
3.7. TRATAMIENTO TERMOALCALINO Y BIOMINERALIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS EN EL FLUIDO CORPORAL SIMULADO (SBF).	9
3.8 EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS RECUBRIMIENTOS	9
3.9 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS.	9
4. RESULTADOS Y ANALISIS	10

4.1. APLICACIÓN DE LA TECNICA APQ	10
4.2. ESPESOR DEL RECUBRIMIENTO	11
4.3. ANÁLISIS DEL ESPESOR DEL RECUBRIMIENTO	11
4.4. ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO DE LOS RECUBRIMIENTOS POR (APQ)	12
4.5. ANALISIS MORFOLOGICO DEL RECUBRIMIENTO $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$	14
4.5.1. Análisis por SEM y EDS	14
4.5.2. Difraccion de rayos X.	15
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	15
4.7. ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO DEL RECUBRIMIENTO	16
4.8. ANALISIS MORFOLÓGICO DEL RECUBRIMIENTO $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ POR TRATAMIENTO ALCALINO	20
4.8.1. Análisis de SEM y EDS	20
4.8.2. Análisis por espectroscopia de IR con y sin tratamiento alcalino	21
4.9. MECANISMO DE FORMACION DE LA APATITA BIOMIMETICA	22
5. DISCUSION	24
6. CONCLUSIONES	25
BIBLIOGRAFIA	26
ANEXOS	30

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1 Circuito equivalente	5
Fig. 2. Esquema de metodología a desarrollar	6
Fig. 3. Recubrimientos de SiO ₂ -P ₂ O ₅ -Na ₂ O-CaO obtenidos por la técnica APQ	10
Fig. 4. Curva cronopotenciométricas obtenidas a una concentración de 0.1 M de SiO ₂ -P ₂ O ₅ -Na ₂ O-CaO	10
Fig. 5. Grafica de relación del espesor (μm) contra la raíz del tiempo (min ^{1/2}) a diferentes condiciones de obtención a) 0.025 b) 0.05 c) 0,1 con una corriente de 300mA	12
Fig. 6. Espectros de Bode a diferentes concentraciones con una corriente a 300 mA y 4 min constantes a) Log Frecuencia (Hz) vs Log Modulo (ohm) b) Angulo de fase vs Log frecuencia.	12
Fig. 7. Circuito equivalente que representa el comportamiento electroquímico del recubrimiento obtenido por APQ sobre el sustrato Ti6Al4V	14
Fig. 8. Morfología del recubrimiento SiO ₂ -P ₂ O ₅ -Na ₂ O-CaO a diferentes condiciones de obtención por APQ a una corriente de 300mA y a 4min a) 0,025M b) 0,05M y c) 0,1M de silicato de calcio	14
Fig.9 Espectro EDS del recubrimiento obtenido por APQ tratado a 0,1M-300mA y 4min	15
Fig. 10. Difracción de rayos X (DRX) normal del recubrimiento obtenido por APQ a una condición de 0,1M-300mA y 4 min	15
Fig. 11. Diagrama de pareto	16
Fig 12. Espectros de Impedancia para los recubrimientos APQ a) y c) Log Z vs Log Frecuencia sin tratamiento alcalino, b) y d) Angulo de fase vs Log Frecuencia con tratamiento alcalino.	16
Fig 13. Circuito equivalente que representa el comportamiento de las muestras con tratamiento alcalino a diferentes tiempos de Biomineralización en SBF. Donde (Rb, Cb) esta relaciona con la capa APQ tratada alcalinamente y (Rp, Cp) es la capa biomineralizada	18

Fig. 14. Variación de n vs tiempo de inmersión para el recubrimiento $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ a) con tratamiento alcalino b) sin tratamiento alcalino	19
Fig.15. Morfología de las muestras después de la inmersión en SBF: a) 0 días sin tratamiento alcalino, b) 0 días con tratamiento alcalino, c),d) y e) 14, 21 y 28 días con tratamiento alcalino respectivamente.	20
Fig.16. Espectro EDS de las superficies a) 0 días sin NaOH, b) 28 días tratada alcalinamente.	21
Fig.17. Espectro IR de las muestras a) con NaOH b) sin NaOH	21

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Valores de resistencia y capacitancia de la capa del recubrimiento SiO_2 - P_2O_5 - Na_2O - CaO con tratamiento alcalino a diferentes tiempos de biomineralización	19
Tabla 2. Valores de Resistencia y capacitancia de la capa del recubrimiento SiO_2 - P_2O_5 - Na_2O - CaO a diferentes tiempos de Biomineralización sin tratamiento alcalino.	19

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. ESTRUCTURA DE LOS VIDRIOS.	31
ANEXO B. LA OXIDACION ANODICA	32
ANEXO C. ANODIZADO POR PLASMA QUIMICO	34
ANEXO D. RECUBRIMIENTOS BIOMIMÉTICOS	36
ANEXO E. PREPARACION DE LA SOLUCION ELECTROLITICA	38
ANEXO F. MATRIZ DE EXPERIMENTOS	39
ANEXO G. MONTAJE DEL PROCESO DE ANODIZADO POR PLASMA QUIMICO (APQ)	40
ANEXO H. MONTAJE PARA LA EVALUACION ELECTROQUIMICA (EIE)	41
ANEXO I. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE FLUIDO FISILÓGICO SIMULADO SBF	42
ANEXO J. MONTAJE DE LA BIOMINERALIZACION EN SBF	45
ANEXO K. RELACIÓN DEL VOLTAJE DE ROMPIMIENTO Y VOLTAJE FINAL	46
ANEXO L. RELACIÓN DE LOS VALORES DE CAPACITANCIA	48
ANEXO M. DATOS OBTENIDOS POR EIS	49
ANEXO N. ANALISIS ESTADISTICO	54

RESUMEN

TITULO: EFECTO DEL TRATAMIENTO ALCALINO SOBRE EL COMPORTAMIENTO ELECTROQUÍMICO DE UN RECUBRIMIENTO DE BIOVIDRIO BASADO EN $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ OBTENIDO POR ANODIZADO POR PLASMA QUÍMICO SOBRE Ti6Al4V^*

AUTOR: Jeimy Marcela Fuentes Torres**

PALABRAS CLAVES:

Ti6Al4V, anodizado por plasma químico, tratamiento alcalino

DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO:

Los biomateriales, materiales implantables, se les exige que lleven a cabo una función adecuada, y no ocasionen ningún daño al organismo. Entre sus características no puede faltar la de ser biocompatible esto biológicamente aceptables. Factores decisivos a la hora de evaluar los biomateriales son su biocompatibilidad y su duración ya que estos materiales deben permanecer en contacto con los tejidos vivos.

El método anodizado por plasma químico (APQ) es una técnica que permite obtener un recubrimiento cerámico sobre aleaciones como Ti6Al4V que forman óxidos en sus superficies. El proceso se compone de 3 pasos: (i) anodizado, (ii) ruptura dieléctrica y (iii) crecimiento del recubrimiento.

En esta investigación se usó la técnica APQ seguida del tratamiento alcalino con una solución acuosa de NaOH para modificar la superficie de las capas por APQ mejorando la formación de la apatita. Durante el proceso de tratamiento alcalino, el fósforo de la superficie de la capa de APQ muestra un proceso más rápido de disolución; sin embargo el Ca exhibe un proceso re-deposición así como disolución.

Luego las muestras fueron expuestas a diferentes tiempos sin y con tratamiento alcalino (0, 7, 14, 21, 28 días) a un proceso de biomineralización con el fluido corporal simulado (SBF). En este estudio la técnica espectroscopia de impedancia electroquímica (EIE) fue usada para la investigación del crecimiento de la apatita observando la diferencia comportamiento tratadas y sin tratar.

Los resultados se corroboran con evaluaciones de SEM-EDS, DRX, FTIR con los cuales se observa la morfología, el grado de cristalinidad y los grupos funcionales que tiene este recubrimiento.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química.

Director: Darío Peña Ballesteros. Ph.D, Codirector: Hugo Armando Estupiñán M.Sc.

ABSTRACT

TITLE: EFFECT OF AN ALKALINE TREATMENT OVER THE ELECTROCHEMIST BEHAVIOR OF A BIOGLASS COATING BASED ON A $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ OBTAINED BY ANODIZATION BY CHEMICAL PLASMA ON Ti6Al4V*

AUTHOR: Jeimy Marcela Fuentes Torres**

KEYWORDS: Ti6Al4V, anodize by chemical plasma, alkaline treatment

DESCRIPTION

The biomaterials, implantable materials, are required to perform an adequate function, and do not cause any harm to the organism. Between its characteristics it can not fail the one of being biocompatible, this means, biologically acceptable. Decisive factors at the hour of evaluating the biomaterials are their biocompatibility and their duration because these materials have to be in contact with living tissues. The method anodized plasma chemical (APQ) is a technique that allows obtaining a ceramic coating on alloys as Ti6Al4V forming oxides on their surfaces. The process consists of 3 steps: (i) anodized, (ii) severance dielectric and (iii) growth of the coating

In this investigation it was used the APQ technique followed by the alkaline treatment with a solution of NaOH to modify the layers surfaces by APQ improving the formation of the apatite. During the alkaline treatment process, the surface phosphorus of the APQ layer shows a faster dissolution process, but the Ca shows a re-deposition and also dissolution process. Then the samples were exposed to different times with and without alkaline treatment (0, 7,14,21,28 days) to a biomineralization process with a simulated corporal fluid (SBF). In this study the electrochemist impedance spectroscopy (EIS) was used for the investigation of the apatite growth observing the different behaviors treated and without treatment. The results were corroborated with SEM-EDS, DRX, FTIR evaluations that allows observe the morphology, the crystallite rank and the functional groups this coating have.

* Degree Project

** Physical – Chemical Engineer Faculty, Chemical Engineer Director: Darío Yesid Peña Ballesteros. PhD. M. Sc. Codirector: Hugo Armando Estupiñán M.Sc.

1. INTRODUCCION

En la actualidad existen recubrimientos para prótesis utilizados en el medio quirúrgico que no tienen buenos resultados por su baja adherencia y compatibilidad de los materiales con el hueso. La limitación fundamental en la aplicación de los biovidrios deriva en la baja resistencia mecánica de los recubrimientos depositados por métodos tales como plasma spray. Para intentar obviar estas limitaciones se ha recurrido a otros métodos, para mejorar no solo la resistencia a la corrosión si no la biocompatibilidad y conservar sus propiedades mecánicas se ha recurrido a la técnica de anodizado por plasma químico (APQ) que es una solución electrolítica acuosa para modificar superficies de Ti6Al4V destinado a implantes. Por esta razón es la utilización del biovidrio del sistema $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$, materiales llamados biocerámicas bioactivas que se adaptan mejor al organismo y son los más similares al hueso, además de superar el resto de los materiales en biocompatibilidad.

En esta investigación, el tratamiento alcalino en solución acuosa de NaOH fue realizado sobre las muestras obtenidas por medio de la técnica (APQ) sobre un sustrato de Ti6Al4V seguido de un proceso de biomineralización, para acelerar la formación de la apatita ósea. Estas capas obtenidas generalmente exhiben una buena adhesión a los sustratos.

Para la caracterización del recubrimiento se empleó el método de espectroscopia e impedancia electroquímica (EIE), donde se evaluó las propiedades de la resistencia a la polarización y espesores de dichos recubrimientos; también se estudió el crecimiento de la apatita diferenciando el comportamiento de las graficas a diferentes tiempos de biomineralización (0, 7, 14, 21,28 días), sin y con tratamiento alcalino, estos resultados se corroboraron con el estudio morfológico y estructural del recubrimiento por medio de las técnicas SEM-EDS, FTIR y DRX.

2. CONCEPTOS TÉORICO

2.1. BIOMATERIALES

Los biomateriales se pueden definir como un material farmacológicamente inerte diseñado para ser implantado o incorporado dentro de un sistema vivo. Los biomateriales se implantan con el objeto de reemplazar y/o restaurar tejidos vivos y sus funciones, lo que implica que están expuestos de modo temporal o permanente a los fluidos del cuerpo humano [20, 21].

2.1.1. Biomateriales cerámicos. La principal ventaja es su baja reactividad química y su carácter inerte, en lo cual se basa su biocompatibilidad; Aunque no todas las biocerámicas son inertes, muchos materiales cerámicos que se utilizan en cirugía reconstructiva son bioactivos [1]. Sin embargo, las biocerámicas son consideradas los biomateriales ideales, ya que poseen una buena biocompatibilidad y oseointegración y, a su vez, son los materiales más parecidos al componente mineral del hueso.

2.1.2. Vidrio Bioactivo (Biovidrio). Los vidrios bioactivos son materiales cerámicos que tienen la capacidad de enlazarse iónicamente con algunos tejidos, entre ellos el hueso, intercambiando grupos moleculares con el medio fisiológico donde son implantados. Los principales representantes de este grupo son los vidrios de base silicio y los de base fosfato. En 1971, Hench y col. Descubrieron que ciertas composiciones de vidrios se enlazaban al hueso ya que la adhesión a éstos se puede observar solamente con materiales que contienen dióxido de silicio (SiO_2), pentóxido de fósforo (P_2O_5), óxido disódico (Na_2O) y óxido cálcico (CaO), en proporciones bien definidas. Dichos vidrios se les denominó *vidrios bioactivos* y han sido objeto de numerosos estudios. La unión con el hueso se produce a través de una capa de hidroxiapatita carbonatada (CHA) biológicamente activa, la cual proporciona la unión interfacial con el tejido. Dicha fase es química y estructuralmente equivalente a la fase mineral constituyente del hueso, y es la

responsable de la unión interfacial [6]. Esta capa se forma en la superficie de los vidrios bioactivos cuando entran en contacto con los fluidos biológicos. Debido a la alta reactividad de los vidrios en un medio acuoso, se propicia un rápido intercambio de los iones de la superficie del vidrio con los de los fluidos circundantes. Este proceso produce una variación de la concentración iónica del fluido y simultáneamente, la formación de una capa de gel de sílice en la superficie del vidrio, favoreciendo ambos efectos a la cristalización de hidroxicarbonatoapatita [1]. (Anexo1)

2.2. ANODIZADO POR MEDIO DE PLASMA QUÍMICO APQ (MICROOXIDACIÓN ANÓDICA)

El anodizado por medio de plasma químico es una técnica que permite formar revestimientos cerámicos sobre superficies metálicas, durante la ruptura dieléctrica de la capa de óxido aislante. El APQ es aplicable a los metales denominados “metales válvula”. Un “metal válvula”, como el titanio, el aluminio, y sus aleaciones son materiales cuya capa resultante del anodizado, permite el paso de la corriente eléctrica sólo en un sentido [13]. Varios parámetros determinan las características del recubrimiento: (i) Composición del electrolito, (ii) densidad de corriente y voltaje, (iii) temperatura, (iv) duración del proceso.

2.2.1. Descripción del proceso de electrodeposición. El APQ permite obtener un recubrimiento cerámico sobre algunos metales que forman óxidos en sus superficies. El proceso tiene lugar en una celda electrolítica y se puede obtener bajo condiciones galvanoestáticas o potencioestáticas. Si se eligen correctamente, el electrolito y los parámetros del proceso, se forma una capa delgada y aislante en la superficie del ánodo. La resistencia dieléctrica de este recubrimiento varía con el tipo de ánodo y de electrolito. El proceso se compone de 3 pasos: (i) anodizado, (ii) ruptura dieléctrica y (iii) crecimiento del recubrimiento. La ruptura dieléctrica se caracteriza por un gran número de pequeñas chispas distribuidas en toda la superficie del metal

anodizado. Cuando el revestimiento APQ ha cubierto la superficie entera, el número de chispas y la corriente disminuye exponencialmente [13].

2.2.2.1. La solución electrolítica. Hace falta seleccionar de manera adecuada los aniones y cationes de la solución electrolítica para evitar la precipitación espontánea de los elementos de la solución. Este aspecto tiene implicaciones económicas importantes porque permite un uso reiterado de la solución en la industria. La conductividad de la solución debe ser suficientemente elevada para evitar las posibles pérdidas de energía. Las sales disueltas deben ser lo más solubles posible pero no se debe omitir que para soluciones muy concentradas el proceso de anodizado puede llevar a la formación de revestimientos agrietados [13].

2.3. MODIFICACION DE LA CAPA APQ POR TRATAMIENTO ALCALINO

La disolución del Ca y P de la capas APQ ocurren durante la etapa inicial (0-12horas) del tratamiento alcalino. Durante la siguiente etapa del tratamiento alcalino (12-24horas), la disolución de P de las capas APQ termina, y el Ca presenta un proceso de re-deposición, donde ésta es iniciada por una fuerza dinámica que pueda derivar de la formación de una superficie negativamente cargada. Durante el proceso del tratamiento alcalino, la fase TiO_2 de la capa de APQ es atacada por iones de OH^- en la solución alcalina para formar la especie $HTiO^-3$ [19].

2.4. EVALUACION DE RECUBRIMIENTO POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUIMICA (EIE)

La espectroscopia de impedancia electroquímica, también conocida como EIE es una técnica relativamente moderna. Debe su existencia a la aparición de circuitos electrónicos suficientes rápidos y sensibles para generar y analizar una señal de frecuencia y fase variable. La espectroscopia de impedancias es una técnica electroquímica muy versátil, y es muy adecuada para el estudio de los materiales de uso habitual como biomateriales, ya que permite el estudio tanto de la corriente como

de la impedancia de transferencia del sistema estudiado. La espectroscopia de impedancia electroquímica es un método utilizado en estudios de corrosión, el cual se fundamenta en el uso de una señal de corriente alterna (CA) que se aplica a un electrodo (metal en corrosión) y luego se determina la respuesta sinusoidal correspondiente.

A partir de un esquema eléctrico dado, es posible representar de diversas formas los parámetros obtenidos en los experimentos de espectroscopia de impedancia. Por ejemplo, en la figura 1. Se representa un sencillo circuito, utilizado para modelar una interfase metal-solución conductora.

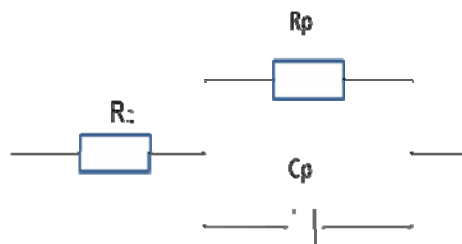


Fig. 1 Circuito equivalente

En el caso de los estudios de corrosión que utilizan la técnica de EIE, los espectros de impedancia obtenidos suelen ser analizados mediante circuitos eléctricos, compuestos por componentes tales como resistencias (R), capacitancias (C), combinados de tal manera que reproduzcan los espectros de impedancia medidos. Estos circuitos eléctricos son denominados “circuitos equivalentes” [16]. Esta técnica permite calcular la resistencia a la polarización, R_p , y como tal el grado de corrosión del medio (R_p es la diferencia entre el límite baja y alta frecuencia).

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

La figura 2 muestra un esquema de la metodología desarrollada para cumplir los objetivos trazados en este proyecto de investigación.

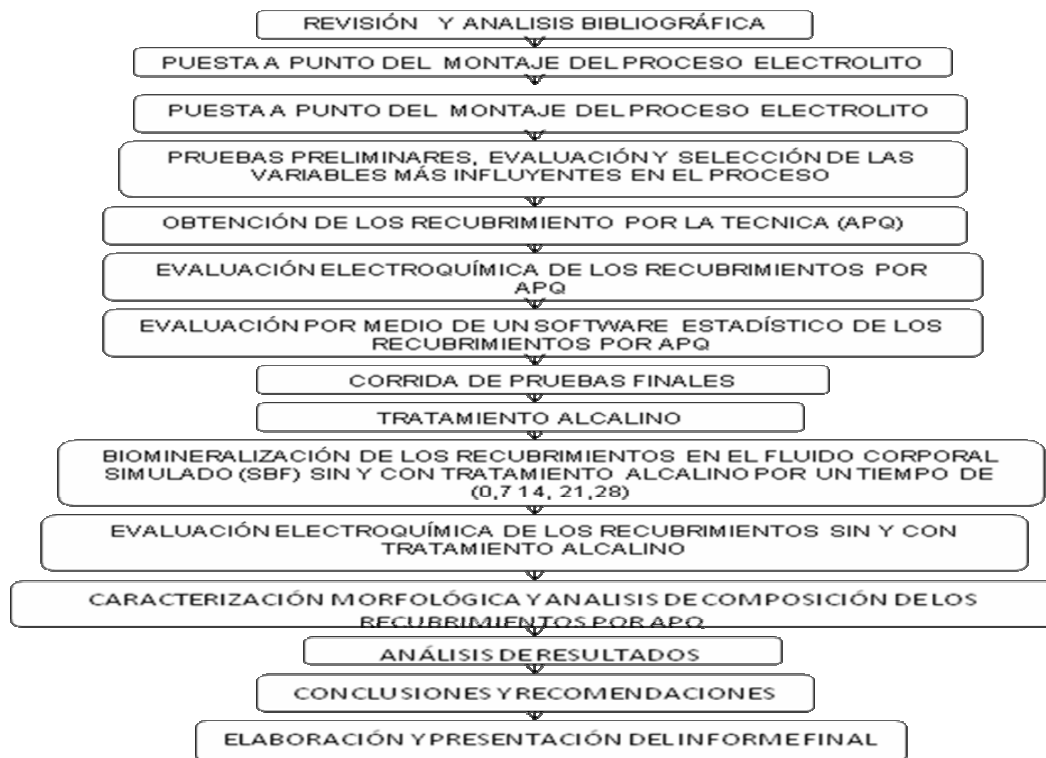


Fig. 2. Esquema de metodología a desarrollar

3.1. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRAFICO

En esta primera fase de la investigación se llevó a cabo la búsqueda y selección de trabajos, base de datos y otras fuentes de información.

3.2. PUESTA A PUNTO DEL MONTAJE DEL PROCESO ELECTROLITICO

Se seleccionó un electrolito con las especies inertes necesarias para realizar recubrimientos de Biovidrio. El electrolito se preparó en agua destilada con los siguientes reactivos y sus respectivas concentraciones. Calcio bis-(di-hidrógeno-

fosfato) 1-hidrato [6.30g/l,] $\text{Ca} (\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Calcio acetato x-hidrato [12.76g/l] $\text{Ca} (\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, Acido Etilendiaminotetraacético Sal Disódica 2-hidrato [44.67g/l] $\text{Na}_2 (\text{EDTA}) \text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Silicato de calcio [2.094 g/l]; [5.808 g/l] y [11.616 g/l] (CaSiO_3). La solución se preparó con agitación constante y calentamiento a 40°C en agua destilada. Luego se aforo a un litro con agua destilada y posteriormente se le ajustó el pH a 12 con una solución 2 M de Hidróxido de sodio (NaOH) 2M [80g/l]. (ANEXO E).

Se utilizaron probetas de Ti6Al4V de forma cilíndrica con 12 mm de diámetro (aproximadamente 3.016 cm² de área expuesta) y de 2 mm de espesor. El pulido de las probetas se realizó en húmedo sobre papel abrasivo desde #180 hasta #600, luego se sometieron en un baño ultrasónico con alcohol industrial por 15 minutos a 40°C para eliminar impurezas.

3.3. PRUEBAS PRELIMINARES, EVALUACION Y SELECCION DE LAS VARIABLES MÁS INFLUYENTES EN EL PROCESO

Se desarrolló una serie de pruebas preliminares con el fin de definir las variables dependientes e independientes para llevar a cabo el proceso de Anodizado por Plasma Químico, donde fue necesario analizar los diferentes comportamientos de las variables a utilizar. Para tal fin se realizó un diseño experimental. Para la selección de las variables constantes y manipulables se hizo un análisis detallado de toda la bibliografía para ver el proceso donde se obtuvieron los recubrimientos de Biovidrio.

Para el desarrollo de esta investigación se determinó como variables del proceso: concentración del electrolito entre 0.025 y 0.1 M, densidad de corriente entre 300 y 600mA y tiempo de duración del proceso entre 2 y 6 minutos, con una agitación constante de 350 rpm. A partir de estos resultados se determinó el número de ensayos a realizar con una matriz se diseño de experimentos de orden de 3³ y 4 replicas. Esta matriz se muestra en el anexo F.

3.4. OBTENCIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ POR APQ

Para el proceso de anodizado por plasma químico [13] se utilizó 350 ml de la solución electrolito en una celda de acero inoxidable. Los parámetros de operación se ajustaron en una fuente potencioestático/galvanostática. Para cada probeta se tomó el tiempo en el cual se llevó a cabo el rompimiento dieléctrico con su respectivo valor de voltaje, tomando este dato cada 10 segundos hasta que el máximo valor fue alcanzado. Figura del montaje anexo G.

3.5. EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS RECUBRIMIENTOS POR MEDIO DE LA TÉCNICA ANODIZADO POR PLASMA QUÍMICO (APQ).

Para el análisis fisicoquímico de los recubrimientos fue necesario utilizar la técnica espectroscopia de impedancia electroquímica (EIE) para obtener la resistencia a la polarización por medio del análisis de los diagrama de Bode y Nyquist, donde se utilizó un Potencioestato/Galvanostato tipo Gamry con una celda electroquímica, tipo plana de vidrio con una capacidad de 500 ml de electrolito como se muestra en (ANEXO H). Para los ensayos, se emplearon como electrodos de referencia y contraelectrodos, un electrodo de calomel y un pseudoelectrodo de grafico respectivamente, como electrolito se utilizó un fluido corporal simulado (SBF) propuesto por Kokubo [17]. Los parámetros utilizados fueron de 100.000 a 0.01 Hz a 30 mV de amplitud de señal. En el anexo I se puede observar la composición de la solución.

3.6. EVALUACIÓN POR MEDIO DE UN SOFTWARE ESTADÍSTICO DE LOS RECUBRIMIENTOS POR APQ.

A partir de la caracterización electroquímica se obtuvieron valores de la resistencia a la polarización la cual fue la variable respuesta en el diseño de experimentos. Con esta variable respuesta se alimentó el software estadístico para hacer el respectivo

análisis con lo cual se determinó la influencia de cada variable independiente en dicho proceso.

3.7. TRATAMIENTO TERMOALCALINO Y BIOMINERALIZACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS EN EL FLUIDO CORPORAL SIMULADO (SBF).

A partir del análisis estadístico se seleccionó la muestra con el mejor desempeño, la cual fue tratada alcalinamente con una solución acuosa en 10 ml de NaOH al 5M, a una temperatura de 60°C por 24 horas, luego fue lavada con agua desionizada por 10 minutos y secada a 25°C [19]. Las muestras sin y con tratamiento alcalino fueron sometidas a inmersión en 15 ml en un fluido corporal simulado SBF propuesto por Kokubo [17], por un tiempo de 7, 14, 21, y 28 días[19,20]; las muestras se mantuvieron a una temperatura de 36.5 °C en un baño termostatado. (Anexo J)

3.8 EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS RECUBRIMIENTOS

Se realizó una caracterización por medio de EIE para estudiar el proceso de nucleación y crecimiento de la apatita a diferentes tiempos de inmersión en la solución SBF sobre las muestras sin y con tratamiento alcalino.

3.9 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS.

Las muestras tratadas fueron caracterizadas por SEM con sonda de EDS con los cuales fue posible evaluar la morfología del recubrimiento. La técnica de EDS permitió hacer un análisis de la composición química elemental a las muestras con el fin de determinar la relación Ca/P. Además se utilizó la técnica FT-IR, la cual permitió analizar los picos correspondientes a dicho recubrimiento y DRX para apreciar las fases cristalinas de la muestra.

4. RESULTADOS Y ANALISIS

4.1. APLICACIÓN DE LA TECNICA APQ

En la figura 3. Se muestra las probetas recubiertas por la técnica APQ a diferentes condiciones de tiempo, concentración y densidad de corriente.



Fig. 3. Recubrimientos de $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ obtenidos por la técnica APQ

En la figura 4 se presenta las curvas cronopotenciométricas de voltaje contra tiempo obtenidas a partir del monitoreo de los voltajes de rompimiento dieléctrico y los voltajes máximos alcanzados.

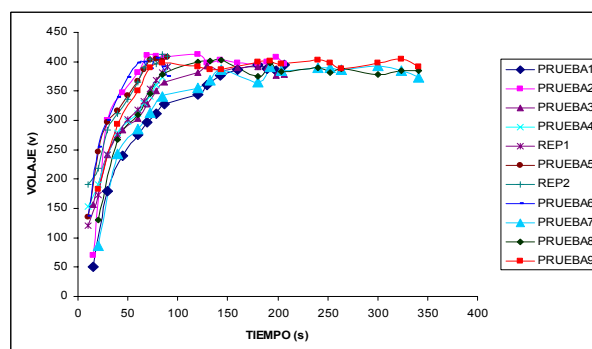


Fig. 4. Curva cronopotenciométricas obtenidas a una concentración de 0.1 M de $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$

El procedimiento se llevo a cabo con una corriente constante y se observó el aumento del voltaje a medida que el espesor de la capa anodizada fue creciendo debido al aumento de la resistencia eléctrica. En el anexo K se muestra la tabla de datos obtenidos de voltaje y sus respectivos tiempos para todas las muestras. Estas curvas evidencian una cinética de crecimiento parabólico del recubrimiento [18].

4.2. ESPESOR DEL RECUBRIMIENTO

Los espesores de los recubrimientos se muestran en el anexo L. Estos fueron calculados por medio del método de la capacitancia por Espectroscopia de Impedancia Electroquímica, EIE, cuya fórmula es (1):

$$d = \frac{\varepsilon \varepsilon_0 A}{C} \quad (1)$$

Donde

A= Área

ε = permisibilidad del material =56

ε_0 = permisibilidad en el vacío = $8.85 \cdot 10^{-14} \left[\frac{F}{cm} \right]$

C= capacitancia [F]

Este espesor se estimó a partir del cálculo de las capacitancias los cuales se obtuvieron del análisis por EIE.

4.3. ANÁLISIS DEL ESPESOR DEL RECUBRIMIENTO

En la figura 5 se muestran las graficas de espesor del recubrimiento contra la raíz del tiempo, las cuales fueron linealizadas para obtener un comportamiento de primer orden [18]. Para valores bajos, de concentración y densidad de corriente, se presenta inconsistencias en la pendiente obtenida por espesor, en este caso la constante cinética de crecimiento es diferente, como se muestra en la fig.5a. Para concentraciones más altas y con densidad de corriente baja, el valor de la constante cinética de crecimiento es mayor, lo que indica que el recubrimiento se enriquece más de fosfato de calcio con el tiempo, hasta un límite de saturación que está relacionado con el voltaje máximo alcanzado como se muestra en la fig. 5c [18]. Las constantes obtenidas tienen unidades de $[\mu m/cm^2 min^{1/2}]$.

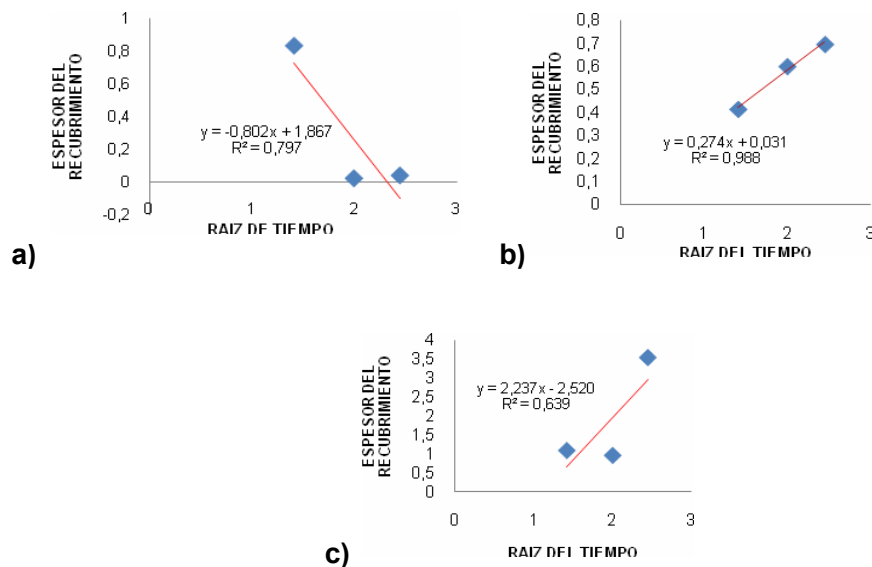


Fig.5. Grafica de relación del espesor (μm) contra la raíz del tiempo ($\text{min}^{1/2}$) a diferentes condiciones de obtención a) 0.025 b) 0.05 c) 0,1 con una corriente de 300mA

4.4. ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO DE LOS RECUBRIMIENTOS POR (APQ)

La figura 6 presenta los espectros obtenidos a diferentes concentraciones con una corriente de 300 mA y 4 min. Los demás espectros de Bode y Nyquist de todo el estudio se puede observar en el (anexo M).

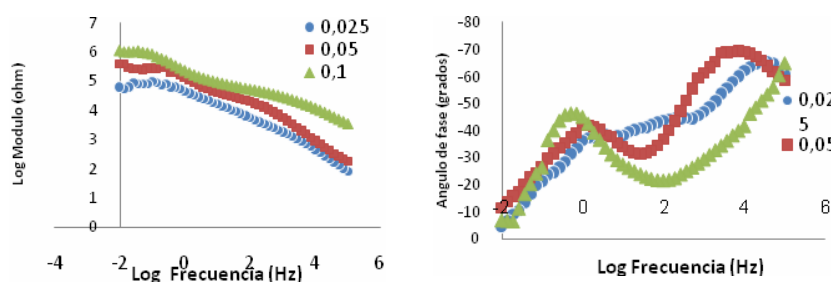


Fig. 6. Espectros de Bode a diferentes concentraciones con una corriente a 300 mA y 4 min constantes a) Log Frecuencia (Hz) vs Log Modulo (ohm) b) Angulo de fase vs Log frecuencia.

El análisis de estos espectros se puede dividir en tres regiones a altas, medias y bajas frecuencias, identificando dos constantes de tiempo. La primera, se presenta a altas frecuencias [10^5 - 10^3] Hz, correspondiendo a los cambios capacitivos del

electrodo, presentando un incremento de las pendientes, logaritmo de la frecuencia vs logaritmo de impedancia, desde -0,7 a -0,8, tal como se muestra en la figura 6 (0,025M; 0,05 M); este comportamiento capacitivo es propio de un recubrimiento protector, el cual muestra un ángulo de fase mayor a 65° lo que atribuye a la interfase electrodo-electrolito (SBF). A frecuencias medias [10^3 - 10^1] Hz se identifica la segunda constante de tiempo, donde los perfiles de la figura 6a (0,025; 0,05), presenta un comportamiento resistivo ya que hay una baja variación entre el logaritmo de la impedancia y el logaritmo de frecuencia. Este comportamiento se corrobora en la figura 6b donde se presenta un ángulo de fase de 35° ; esta región muestra un comportamiento activo, debido a la formación de un estrato de óxido adyacente a la superficie metálica altamente porosa; porosidad adquirida en el proceso de rompimiento dieléctrico. Por lo general, estos espectros muestran un decrecimiento brusco en el ángulo de fase, pasando de un comportamiento capacitivo a resistivo. En los espectros a 0.1M de silicato de calcio, presentó una constante de tiempo a bajas frecuencias [10^0 - 10^{-2}] Hz, donde el ángulo a de fase de 46° , típico de un comportamiento resistivo y de un posible sistema amorfo tal como se presenta en los resultados de DRX más adelante. En este espectro no se evidencia la presencia de una capa compacta.

Un modelo de circuito equivalente cuyos elementos resistivos y capacitivos representan el comportamiento electroquímico del recubrimiento (fig.7), identifica cada constante de tiempo, representada en un circuito RC, los cuales se han asumido como resistencias y capacitancias puras, con el fin de simplificar el fenómeno electroquímico de esta investigación.

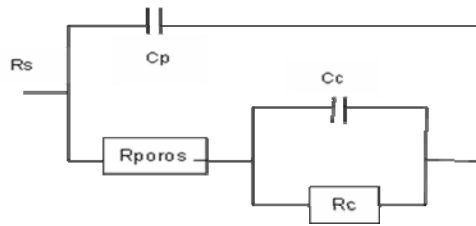


Fig.7. Circuito equivalente que representa el comportamiento electroquímico del recubrimiento obtenido por APQ sobre el sustrato Ti6Al4V

4.5. ANALISIS MORFOLOGICO DEL RECUBRIMIENTO $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$

4.5.1. Análisis de SEM y EDS

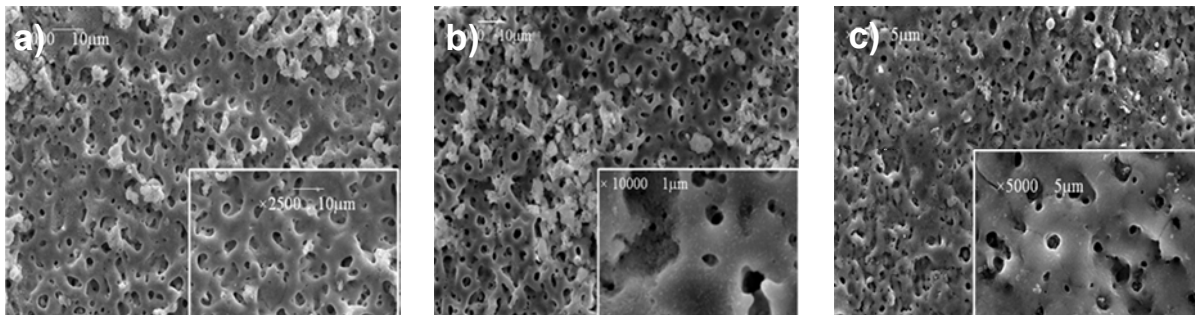


Fig. 8. Morfología del recubrimiento $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ a diferentes condiciones de obtención por APQ a una corriente de 300mA y a 4min a) 0,025M b) 0,05M y c) 0,1M de silicato de calcio

En las morfologías mostradas en la figura 8 se confirma la formación de un recubrimiento con porosidad considerable, apreciando que a medida que aumenta la concentración del silicato calcio en el electrolito, se presenta una mayor uniformidad en la superficie de la muestra. En la figura 8c, se observa un recubrimiento con más porosidad; presentando este recubrimiento, un incremento en la concentración de calcio, fósforo y sílice, tal como se muestra en el EDS obtenido en la figura 9, donde la relación de Ca/P es mayor a 1.67 lo cual es característico de fosfatos tetracalcicos, además hubo formación de hidroxiapatita, tal como se observa en los resultados de DRX de la figura 10, lo que hace posible, la oseointegración con el hueso. Por otra parte, se demuestra la formación del Biovidrio ya que los compuestos obtenidos son propios de éste material (figura 9).

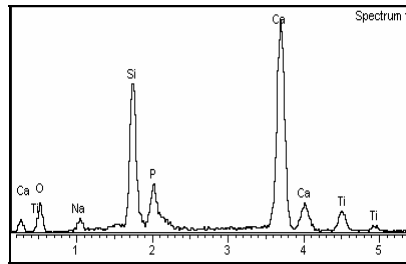


Fig.9 Espectro EDS del recubrimiento obtenido por APQ tratado a 0,1M-300mA y 4min

4.5.2. Difracción de rayos X. En la figura 10 se muestra los perfiles de DRX del recubrimiento obtenidos a la mejor condición de APQ,

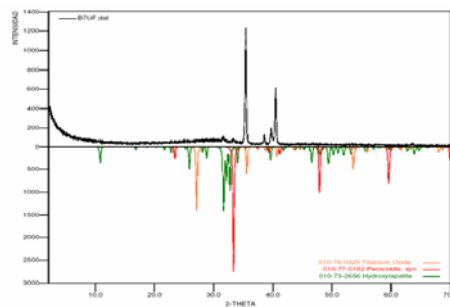


Fig.10. Difracción de rayos X (DRX) normal del recubrimiento obtenido por APQ a una condición de 0,1M-300mA y 4 min

Se presentaron reflexiones de TiO_2 (Rutilo), y picos de $(Ca)_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (hidroxiapatita) y una pronunciación de picos de $CaTiO_3$ (Perovskita).

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el fin de determinar las variables más influyentes en la obtención del recubrimiento por APQ, se utilizó un software estadístico para analizar los valores obtenidos de la variable respuesta. En la figura 11 se muestra el pareto donde las variables más influyentes son la concentración y la corriente. Donde la condición más óptima fue para una concentración de 0.1M de silicato de calcio a 300mA y a un tiempo de 4min. Con esta condición se realizó el tratamiento alcalino y la biomineralización. En la figura A7 del anexo N, se muestran gráficos de efectos principales para la variable Rp.

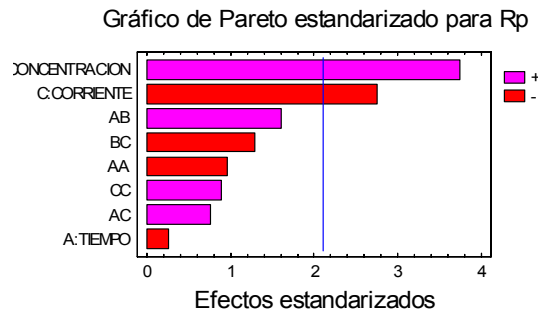


Fig. 11. Diagrama de pareto

4.7. ANÁLISIS ELECTROQUÍMICO DEL RECUBRIMIENTO

En la figura 12 se muestra los espectros de EIE obtenidos a 0, 7, 14 21 y 28 días; sin y con tratamiento alcalino

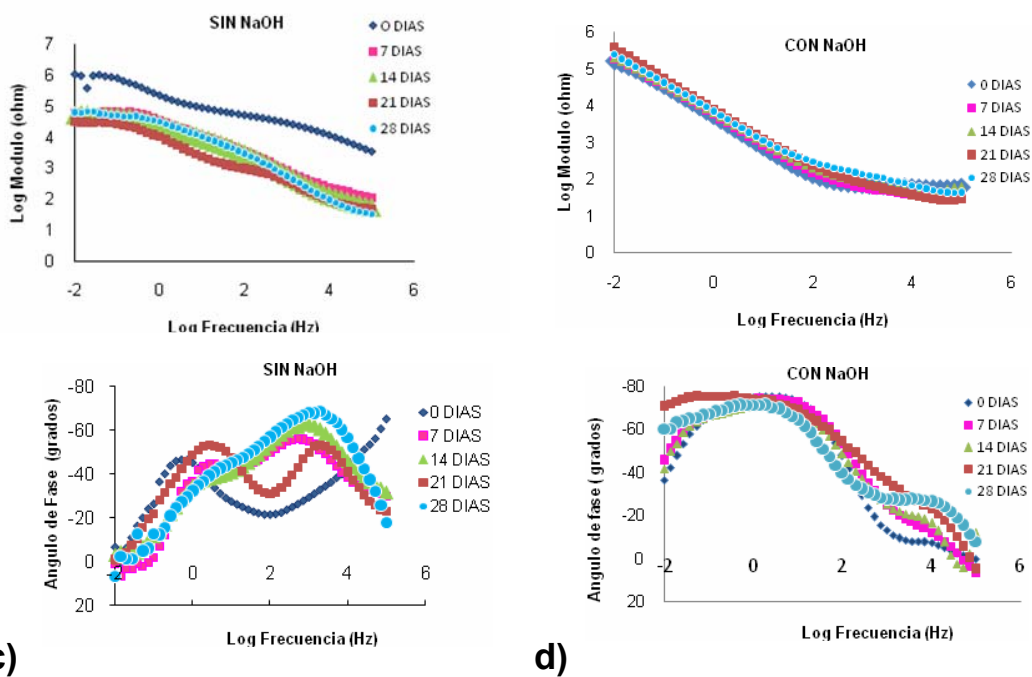


Fig.12 Espectros de Impedancia para los recubrimientos APQ a) y c) Log |Z| vs Log Frecuencia sin tratamiento alcalino, b) y d) Angulo de fase vs Log Frecuencia con tratamiento alcalino.

La fig.12a, anodizada por APQ sin NaOH presenta dos constantes de tiempo (τ_1, τ_2); una a altas frecuencias (τ_1^{AF}) [10^5 - 10^3] Hz, en la cual los espectros presentan un

comportamiento capacitivo, evidenciado un aumento de la pendiente logaritmo de frecuencia vs logaritmo de la impedancia con el tiempo de exposición en SBF. A frecuencias medias, se identifica la segunda constante de tiempo (τ_2^{MF}) en un rango de $[10^3-10^1]$ Hz, con un comportamiento activo o resistivo. A medida que aumenta el tiempo de exposición en el fluido corporal simulado (SBF), ésta constante tiende a disminuir, reflejando un comportamiento menos capacitivo. El espectro a 0 días, se explicó en el apartado (4.3). Estas constantes de tiempo fueron también identificadas en la figura 12c. (Ángulo de fase vs logaritmo frecuencia) donde el ángulo de fase decrece con respecto al logaritmo de frecuencia lo que indica que el sistema sustrato-deposito-electrolito es inversamente proporcional al tiempo de exposición, dando lugar a un comportamiento resistivo. En la Fig. 12b, predominan dos constantes de tiempo, una constante se encuentra a un rango de frecuencia $[10^5-10^3]$ Hz, donde el logaritmo de modulo de impedancia varia en función del logaritmo de frecuencia de manera insignificante en los espectros, lo cual es característicos de comportamientos resistivos. La segunda constante de tiempo se identifica en la zona a frecuencias medias, observando un aumento de pendiente de logaritmo de frecuencia contra logaritmo de impedancia entre -0,77 y -0.81 a medida que transcurrió el tiempo de biomineralización, aumentando el comportamiento capacitivo, este comportamiento es propio de un recubrimiento protector, atribuido posiblemente a la formación de una capa de apatita. La Fig. 12d corrobora lo anterior, ya que el ángulo de fase a frecuencias medias aumentó de -70 a -76 existiendo absorción de iones de calcio y fósforo en la superficie. Por lo general se puede observar el cambio de la resistencia a la transferencia de carga, durante el tiempo de inmersión tratada alcalinamente alcanzando un mínimo en un tiempo igual a 0 días e incrementándose a partir de este punto. Ocurre lo contrario con las muestras sin tratamiento alcalino.

La simulación realizada con el circuito equivalente figura 13, muestra la necesidad de realizar un análisis detallado que consiste en la sustitución de un elemento de fase constante (EFC), una expresión matemática que representa varios elementos eléctricos. Este se representa básicamente por una capacitancia ideal y n, que

representa el coeficiente de transferencia. La representación de la impedancia del EFC esta dada por [26].

$$Z_{(EFC)} = \frac{1}{[Q(j\omega)^n]} \quad (2)$$

Donde:

ω = Frecuencia (Hz)

Q= Capacitancia (F)

n= Constante de transferencia

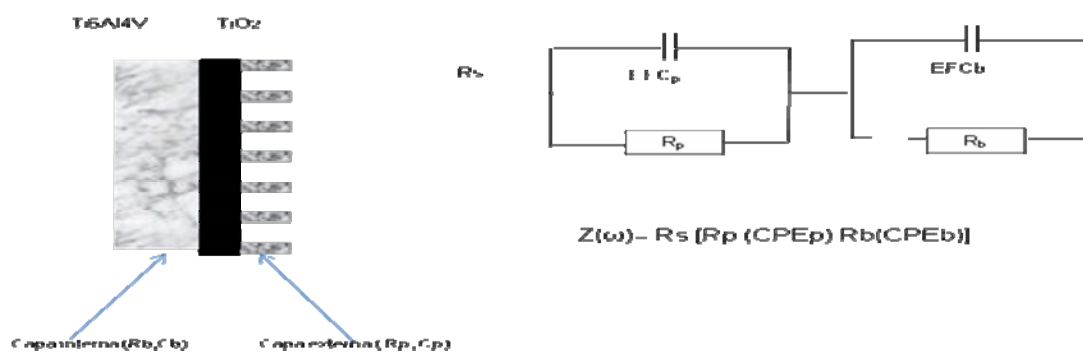


Fig.13. Circuito equivalente que representa el comportamiento de las muestras con tratamiento alcalino a diferentes tiempos de Biomineralización en SBF. Donde (Rb, Cb) esta relaciona con la capa APQ tratada alcalinamente y (Rp, Cp) es la capa biomineralizada

El circuito equivalente figura 13 consta de una Rs la cual se encuentra en serie con circuito RC uno externo asociado con los procesos capacitivos y resistivos de la capa irregular producto de la biomineralización y otro interno que representa el comportamiento eléctrico de la capa compacta del recubrimiento. En las tablas 1 y 2 se presenta las resistencias y las capacitancias del recubrimiento SiO₂-P₂O₅-Na₂O-CaO a diferentes tiempos de exposición en SBF, calculados a partir del modelo propuesto en la figura 13.

Tabla 1. Valores de resistencia y capacitancia de la capa del recubrimiento $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ con tratamiento alcalino a diferentes tiempos de biomineralización

T (DIAS)	R_s (OHM)	R_{EXTERNA} (ohm)	EFC_{EXTERNA} (F)	N	R_{INTERNA} (ohm)	EFC_{INTERNA} (F)	n	R_p (ohm)	R_{tc} (ohm)
0	58,930	57.83535	2,75E-7	-0,54	2980,37	2,76E-5	-0,86	3038,20	159340,797
7	37,103	42,5522	7,22E-7	-0,603	2548,713	2,33E-5	-0,84	2591,26	184377,545
14	63,4476	49,30218	3,23E-7	-0,619	3814,324	2,16E-5	-0,81	3863,62	197270,662
21	29,3364	42,44799	5,21E-7	-0,601	42894,05	2,67E-5	-0,8	42936,5	399916,016
28	43,067	68,01413	2,34E-7	-0,61	7076,193	2,24E-5	-0,82	7114,3	252462,348

Tabla 2. Valores de Resistencia y capacitancia de la capa del recubrimiento $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ a diferentes tiempos de Biomineralización sin tratamiento alcalino.

T (DIAS)	R_s (ohm)	R_{EXTERNA} (ohm)	EFC_{EXTERNA} (F)	n	R_{INTERNA} (ohm)	EFC_{INTERNA} (F)	n	R_p (ohm)	R_{tc} (ohm)
0	3370,273	-----	-----	-----	273009,422	4,08E-06	-0,425	273009,42	1,106E6
7	112,355	18152,699	4,51E-05	-0,6	1299,036	1,53E-05	-0,46	19451,73	62097,571
14	52,390	755,122	7,37E-05	-0,68	19005,784	2,93E-05	-0,4	19760,906	52054,096
21	48,242	245,396	1,97E-04	-0,63	5398,479	7,02E-05	-0,48	5640,875	31132,533
28	33,401	561,337	9,45E-05	-0,8	10347,032	1,54E-05	-0,42	10908,369	63516,453

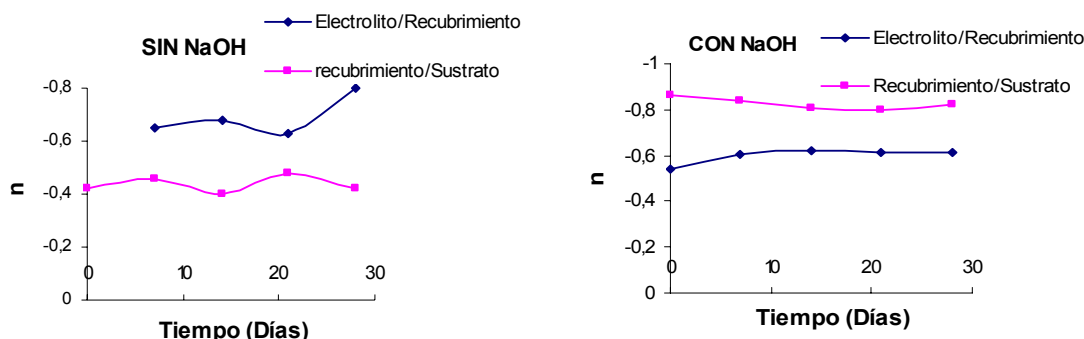


Fig. 14. Variación de n vs tiempo de inmersión para el recubrimiento $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ a) con tratamiento alcalino b) sin tratamiento alcalino

En la figura 14 sin y con tratamiento alcalino muestran la variación de n con el tiempo de inmersión en SBF durante 28 días. La diferencia entre la constante de transferencia entre los tratamientos sin y con NaOH radica en la presencia de compuestos activos con morfología irregular sobre la superficie y una estabilización electroquímica del recubrimiento por la formación de la capa biomineralizada.

4.8. ANALISIS MORFOLÓGICO DEL RECUBRIMIENTO $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ POR TRATAMIENTO ALCALINO

4.8.1. Análisis por SEM y EDS

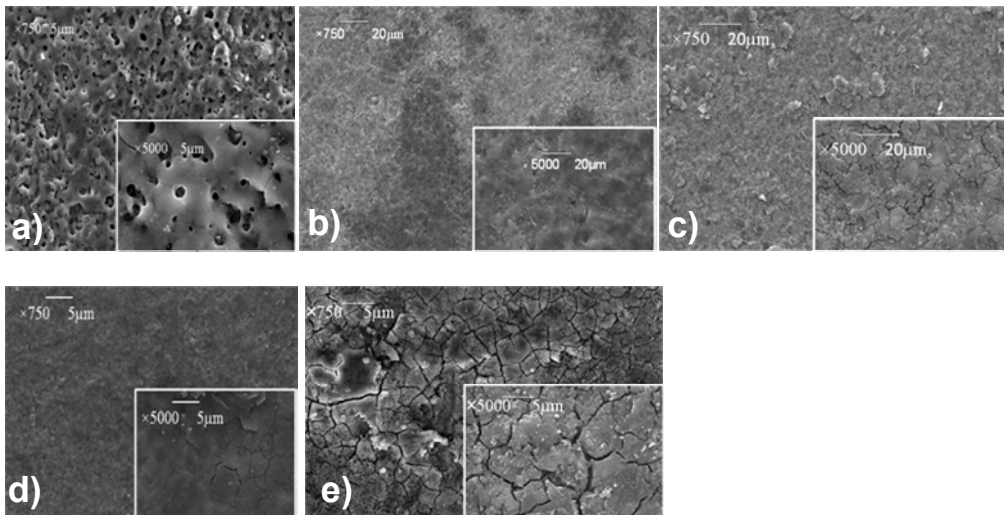


Fig.15. Morfología de las muestras después de la inmersión en SBF: a) 0 días sin tratamiento alcalino, b) 0 días con tratamiento alcalino, c),d) y e) 14, 21 y 28 días con tratamiento alcalino respectivamente.

En la figura 15a se puede apreciar la morfología de un Biovidrio con una superficie porosa y al ser tratado alcalinamente figura 15b, se puede observar que la capa fue modificada ya que exhibe una superficie con muy baja porosidad esto debido a la disolución de Ca y P. Después de estar en contacto con SBF por determinados periodos de tiempo, se puede observar que después de 14 días figura 15c, han ocurrido cambios superficiales en el material, apreciándose la formación de una capa de fosfato de calcio sobre el mismo. A un tiempo de 21 días figura 15d, se formó una capa cubriendo la superficie disminuyendo la formación de fosfato de calcio debido a la reacción de disolución ocurrida durante el proceso de inmersión en SBF. Transcurrido los 28 días figura 15e, se puede apreciar que la capa formada sobre la superficie ha continuado su crecimiento en forma de estructuras de microporos de fosfato de calcio mejor desarrolladas que cubren toda la superficie del material. Los espectros de EDS realizados en varias zonas de la superficie a 0 días con tratamiento, se detectó la presencia de Ti, Na, Si, O, Al, V, donde no se encontraron

concentraciones de Ca y P debido a la disolución en el momento del tratamiento alcalino (figura 16a); estos resultados se pueden comparar con la figura 8c. Después de la inmersión en SBF a 28 días se observa la presencia de calcio y fósforo donde la relación Ca/P fue de 1,3 que corresponde a la apatita ósea. Figura 16b.

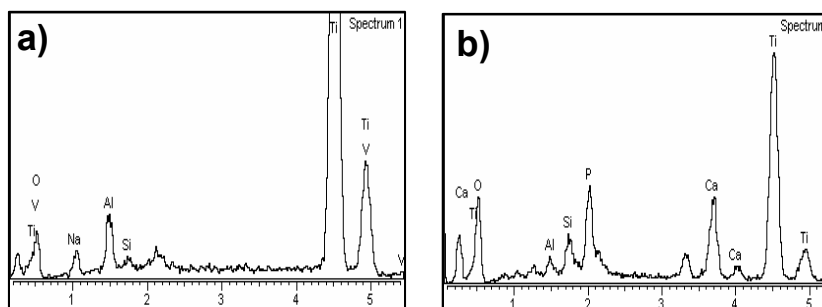


Fig.16. Espectro EDS de las superficies a) 0 días sin NaOH, b) 28 días tratada alcalinamente.

4.8.2. Análisis por espectroscopia de IR con y sin tratamiento alcalino

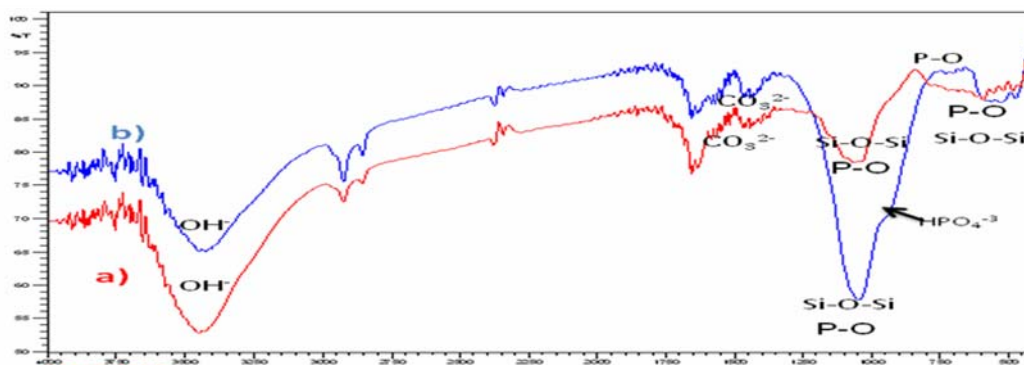


Fig.17. Espectro IR de las muestras a) con NaOH b) sin NaOH

En la figura 17 se puede apreciar los espectros de infrarrojo de las muestras sin NaOH figura 17a, y con NaOH figura 17b. En ambos, se observa la vibración característica del P-O que corresponde a los grupos funcionales fosfato (PO_4^{3-}) traslapados con los de (Si-O-Si) [23,24] a 1150 cm^{-1} , con un pico característico de vibración de estiramiento a 1040 cm^{-1} y una vibración de deformación a 560 cm^{-1} , pero debido al tratamiento alcalino éste decrece. Adicionalmente las bandas de absorción del grupo hidroxil (OH^-) [24], con un pico ancho de aproximadamente de

3560 cm⁻¹, se observó los picos característicos del grupo funcional HPO₄⁻² a 960, 873 cm⁻¹, debido a la presencia de apatita, también se presenta el pico a 600-560 cm⁻¹ propio de P-O [23]. Aunque en la síntesis no se adicionó ninguna fuente de carbono, son notables las bandas de absorción del CO₃⁻², con un pico característico a 1580 cm⁻¹ y otras bandas asociadas al modo de estiramiento simétrico, a 1440 cm⁻¹. Estas sustituciones parciales que muestran como resultado CHA carbonatada [19].

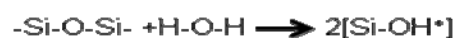
4.9. MECANISMO DE FORMACION DE LA APATITA BIOMIMETICA

La capa modificada con tratamiento alcalino presenta una gran habilidad para la formación de apatita en SBF más que las capa de sin tratamiento alcalino [19]. Una variedad de reacciones ocurren en la superficie de las capas del tratamiento alcalino durante el proceso de inmersión en SBF, sobre el Biovidrio formado por la técnica APQ; para la formación de CHA tales como [27]:

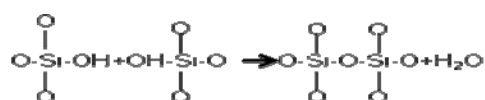
- Intercambio rápido de iones Na⁺ del medio fisiológico, por los iones modificadores de red.



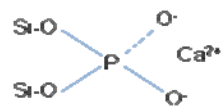
- Pérdida de sílice soluble debido formación de Si(OH)₄ en la solución debido de la red Si-O-Si, dando como resultado la formación de Si-OH (silanoles) en la interface solución-biovidrio, según la reacción:



- Condensación de los grupos vecinos de Si-OH y polimerización de la capa rica en SiO₂ en la superficie, dando lugar a una capa rica en sílice amorfa.



- Adsorción de los iones de Ca⁺ y PO₄³⁻ a la superficie a través de la capa rica en SiO₂ formando una película amorfa rica en CaO-P₂O₅ sobre la capa de SiO₂, por la incorporación de calcio y de fosfatos procedentes de la solución.



- Cristalización de la película amorfa de $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ por la incorporación de aniones OH^- , CO_3^{2-} desde la solución para formar una carbohidroxiapatita [6].

5. DISCUSION

El recubrimiento $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ obtenido por la técnica APQ, tratado alcalinamente; presenta mayor resistencia a la transferencia de carga que los de sin tratamiento alcalino en el periodo de tiempo analizado. Esto se podría atribuir a la reacción de las partículas presentes en el recubrimiento con el medio fisiológico, nucleando fosfatos de calcio sobre la superficie y cubriendo la porosidad existente o generada en el recubrimiento. Estos resultados se pueden corroborar por SEM-EDS y FT-IR.

6. CONCLUSIONES

La técnica de Anodizado por plasma químico (APQ) sobre sustratos de Ti6Al4V fue un método eficaz que permitió la formación del recubrimiento $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O-CaO}$ donde además favoreció el crecimiento de la hidroxiapatita.

La evaluación por espectroscopia de impedancia electroquímica (EIE) sirvió para caracterizar el recubrimiento, por medio de parámetros como la resistencia a la transferencia de carga (R_{tc}) y capacitancia con los que se determinaron de forma precisa el crecimiento de espesor del recubrimiento, y donde los resultados del diagrama de Bode se ajustaron en un circuito equivalente.

A partir del análisis estadístico se estableció que las variables más significativas de la técnica de APQ fueron la concentración y corriente, logrando obtener mayores valores de R_{tc} a una concentración de 0.1M, una densidad de corriente de 300mA y un tiempo de anodizado de 4 min.

El estudio con el tratamiento alcalino exhibió una alta habilidad de formación de la apatita con la formación del grupo hidroxilo, y con el proceso de inmersión en SBF, ayuda al crecimiento y nucleación de la apatita. En los diagramas de Bode se observó que el sistema sin tratamiento alcalino es menos capacitivo conforme pasa el tiempo de exposición en SBF, caso opuesto ocurre con las muestras tratadas alcalinamente ya que estas a medida que transcurre el tiempo su comportamiento es capacitivo.

BIBLIOGRAFIA

1. M. VALLET REGÍ Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. 28040-MADRID.
2. J. HONGCHENG fabrication and characterization of microporous calcium phosphate coatings and in *wtro* evaluation of chemical stability. Queen's University Kingston, Ontario, Canada July 2001
3. O. H. Andersson, K. H. Karlsson, "On the bioactivity of silicate glass", Journal of Non-Crystalline Solids 129, pp. 145-151 (1991).
4. V. REGÍ MARÍA biomateriales: repuestos para el cuerpo humano Universidad Complutense. 28040-MADRID.
5. M. Barral A. Isabel , bioactividad y biocompatibilidad de materiales sol-gel con contenido constante en CaO; universidad complutense de Madrid facultad de farmacia. madrid 2005.
6. S. ROBERTO, AZA SALVADOR. Biomateriales para la salud, programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo CYTED.
7. C. JINSUB. Anodization of nanoimprinted titanium: a comparison with formation of porous alumina, Science and Technology, 2004.
8. CAIA and NUNNB. Electrochemical characterization of cast titanium alloys, Biomaterials, 2002.
9. X. ZHU. Anodic oxide films containing Ca and P of titanium biomateirals, Biomaterials, 2000

10. ZHAO and WANG. Fabrication of titanium oxide nanotube arrays by anodic oxidation; Solid State Communications, 2005.
11. PICAS, JOSEPH. Caracterización y optimización de la aleación Ti-0.2Pd para aplicaciones clínicas, Universidad de Catalunya, 2000.
12. www.azom.com
13. R. CHIESA, E. SANDRINI, M. SANTIN, G. RONDELLI, A. CIGADA. Osteointegration of titanium and its alloys by anodic spark deposition and other electrochemical techniques: a review. Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics (2003), p.91-107.
14. M, FINI, ALBERTO CIGADA, GIANNI RONDELLI. In Vitro and in vivo behaviour of Ca and P-enriched anodized titanium. Biomaterials 20 (1999), p.1587-1594.
15. DOMINIQUE LECOURT. Encyclopédie des sciences, La Pochotèque (1998), p.1208.
16. M. FLOREZ, D. Romero Rubén, espectroscopia de impedancia electroquímica en corrosión. Instituto Mexicano del Petroleo, facultad de química UNAM.
17. KOKUBO T, KUSHITANI H, SAKKA S, KITSUGI T, YAMAMURO T: Solutions Able to Reproduce In vivo Surface-Structure Changes in Bioactive Glass-Ceramic A-W3. *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol 24. p. 721-734. (1990).
18. B. RAMIREZ, Y. VESGA, obtención de recubrimientos de fosfatos de calcio sobre sustratos de Ti6Al4V por medio de la técnica anodizado por plasma químico.

19. D. WEI, Y ZHOU *, D. JIA, Characteristic and in vitro bioactivity of a microarc-oxidized TiO₂-based coating after chemical treatment. Institute for Advanced Ceramics, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China Received 6 October 2006; received in revised form 23 February 2007; accepted 2 March 2007.
20. D. WEI, YU ZHOU *, D. Jia, Biomimetic apatite deposited on microarc oxidized anatase-based ceramic coating. Institute for Advanced Ceramics, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, PR China Received 7 November 2006; received in revised form 11 December 2006; accepted 2 February 2007.
21. J. ABRAHAM, N. KUMAR. Biodegradable polymers as drug carrier system. Polymeric Biomaterials. The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem. Israel, 2002:91-11
22. A.J. BARD, L. R. FAULKNER, Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications. Wiley, New York, 2nd Edition, 980.
23. M.A. AZOOZ, Characterization of some bioglass–ceramics Received 7 August 2002; received in revised form 20 September 2002; accepted 15 November 2002 Materials Chemistry and Physics 80 (2003) 599–609.
24. H. RAMÍREZ, F. ESQUIVEL, Incorporación de un fármaco antiinflamatorio no esterooidal en SiO₂ sintetizado por sol-gel Universidad Autónoma de Nuevo León, facultad de ciencias químicas, mayo 2007.
25. M. METIKOS, E. TKALCEC, An in vitro study of and Ti-alloys coated with sol-gel derived hydroxyapatite coatings, received 21 April 2002; accepted in revised form 18 September 2002.

26. C.X. WANG, M. WANG, X. ZHOU, Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study. Received 25 September 2002; accepted 9 March 2003.
27. J.C. ESCOBEDO BOCARDO, J.C. ORTIZ ROBLES. Recubrimiento de una aleación base cobalto con una mezcla fosfato tricálcico-biovidrio durante la colada. Iberomet IX 2006. *CINVESTAV Unidad Saltillo, Carr. Saltillo-Monterrey Km. 13.5 A. P. 663, C. P. 25000, Saltillo, Coah., México.*

ANEXOS

ANEXO A. ESTRUCTURA DE LOS VIDRIOS.

Los vidrios son materiales de carácter amorfo que contienen un elemento de estado de oxidación elevado, capaz de formar una red tridimensional infinita, que recibe el nombre de *formador de red*, siendo el silicio el más común. La estructura de los vidrios de silicato está formada por tetraedros [SiO₄] unidos por los vértices. Mientras que la sílice cristalina muestra una disposición uniforme de estos tetraedros (tal y como podría esperarse para cualquier material cristalino) [5].

Una característica común tanto a las estructuras cristalinas como a las amorfas es que cada oxígeno une dos tetraedros, aunque formando una disposición más abierta en la sílice amorfa. Tal estructura abierta facilita la inclusión de cationes conocidos como *modificadores de red*, y esta característica permite obtener un amplio margen de composiciones de vidrios [5].

La presencia de cationes como Na⁺, K⁺ y Ca²⁺ causa una discontinuidad en la red del vidrio a través de la ruptura de algunos enlaces siloxano (Si-O-Si). Como consecuencia de ello, se forman oxígenos no enlazantes. El propósito de los *formadores de red* es construir una red tridimensional donde, en el caso de los vidrios de silicato, están presentes los enlaces Si-O-Si, mientras que el de los *modificadores de red* es romper una proporción de estos enlaces originando los denominados oxígenos no enlazantes, permitiendo que el fundido solidifique con un mayor grado de desorden [5].

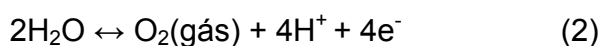
ANEXO B. LA OXIDACION ANODICA

Proceso de anodizado. En la oxidación anódica, las reacciones en los electrodos combinadas con la difusión de iones de oxígeno y del metal llevan a la formación de una capa de óxido a la superficie del ánodo.

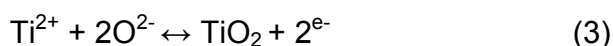
Así se pueden producir capas sobre metales como titanio y aluminio. La oxidación anódica suele ser utilizada para conseguir capas de óxido gruesas, coloración y revestimientos porosos. Las características fisicoquímicas, morfológicas y estructurales de los óxidos anódicos de titanio pueden ser controladas modificando los parámetros del proceso: potencial del ánodo, densidad de corriente, composición y temperatura del electrolito [13]. Las reacciones químicas principales que ocurren durante la oxidación anódica de las superficies de titanio son las siguientes.

Al interface Ti/óxido de Ti:

Al interface óxido de Ti/electrolito:



A las dos interfaces:



Al cátodo



El campo eléctrico aplicado hace difundir a través del óxido los iones Ti y O formados por las reacciones redox. Por consiguiente la capa de óxido se ensancha. Esta capa posee una resistividad eléctrica elevada en comparación con el electrolito o las partes metálicas del circuito, y la caída de potencial que ocurre durante el anodizado es debida en gran parte a ésta.

La capa de óxido sigue creciendo mientras el campo eléctrico es suficientemente fuerte para conducir los iones a través del óxido. El óxido aumenta su espesor con una velocidad de crecimiento bastante lineal hasta que ocurre la ruptura dieléctrica [13]. Se puede anodizar controlando o la corriente (corriente constante) o el voltaje (voltaje constante). Para voltajes superiores al límite dieléctrico se desprende más gas y a menudo se observen chispas. Además asistimos a un aumento del espesor de la capa y al desarrollo de una morfología porosa del óxido.

La composición química de la capa de óxido es sobretodo dióxido de titanio así como elementos del electrolito y un enriquecimiento en oxígeno. En la parte más externa del óxido se nota la presencia de hidrógeno [13].

ANEXO C. ANODIZADO POR PLASMA QUIMICO

ASPECTO HISTÓRICO.

En 1932, Gunthershulze y Betz fueron los primeros científicos en descubrir que el material procedente de un electrolito se deposita sobre el ánodo en una celda electrolítica durante la ruptura dieléctrica de la capa aislante externa del ánodo. La primera aplicación práctica (1936) fue la deposición de revestimientos de alta resistencia a la corrosión sobre aleaciones de magnesio. Se hicieron muchas tentativas en los años 1960 y 1970 para aplicar esta técnica a varios metales válvula y de nuevo en los 90, pero sin conseguir productos explotables comercialmente. El grupo de Kurze y col. hizo en los años 60 en el dominio de la APQ al fin de mejorar los resultados, controlar y entender los mecanismos del proceso [14]. En los 1990, el japonés Ishizawa patentó un recubrimiento delgado y poroso, constituido de fosfato de calcio amorfo. El objetivo de este proceso era mejorar la oseointegración para implantes ortopédicos y dentales

MECANISMO DEL APQ.

El mecanismo implicado en la ruptura dieléctrica de la capa todavía no es muy claro. La teoría más probable es la siguiente. Cuando se aplica el potencial eléctrico entre el ánodo y el cátodo, los iones disueltos del electrolito se mueven hacia los electrodos de carga opuesta bajo el efecto del campo eléctrico. Mientras que aumenta el potencial, se forma una capa delgada sobre el ánodo. Esta capa es una barrera por el flujo de corriente. Provoca un incremento de la caída de tensión a través de la capa, cuando la corriente se mantiene constante. Antes de la ruptura de la barrera dieléctrica, se supone que la caída de potencial es uniforme en todo punto del recubrimiento.

Sin embargo, el recubrimiento anodizado no es completamente uniforme: existen puntos donde la barrera dieléctrica es más débil. Grietas, defectos, concentraciones de tensiones y variación en el espesor se encuentran en la superficie entera. Cuando el potencial aplicado sigue aumentando, la caída de tensión en estos lugares “débiles” supera la rigidez dieléctrica de la capa. Se puede considerar cada punto de

la ruptura dieléctrica como un ánodo parcial [14]. Un ánodo parcial es un área muy pequeña donde pasa un flujo de densidad de corriente extremadamente elevado. Los aniones están atraídos por la intensidad de la descarga eléctrica en la interfaz metal/capa anodizada, acelerando así la deposición de material a través del proceso de chispas [13].

PROPIEDADES Y ESTRUCTURAS DE LAS CAPAS OBTENIDAS CON APQ

Los parámetros del proceso influyen mucho en las propiedades de la capa obtenida con el APQ y es muy difícil dar la descripción de todas las diferentes propiedades obtenidas cuando se cambia un parámetro en particular. La resistencia a la corrosión del metal, es mejorada por la formación de la capa de óxido. Cuando se hacen recubrimientos cerámicos con APQ, el aumento del espesor provoca una disminución de las propiedades mecánicas pero mejora la resistencia a la corrosión.

PROPIEDADES MECÁNICAS Y ADHESIÓN AL SUSTRATO

Los recubrimientos hechos con APQ poseen generalmente una dureza elevada¹⁴ y presentan una superficie rugosa y porosa. El APQ produce revestimientos cerámicos sobre superficies de metales válvula con una fuerza de adhesión de hasta 25 MPa [13]. La zona interfacial entre la capa de óxido y el metal sustrato no suele presentar discontinuidad. La adhesión del revestimiento es mejorada por el gradiente de concentración de sus especies.

Generalmente, las concentraciones de los elementos del sustrato disminuyen gradualmente desde la parte más interior de la capa hasta la parte del óxido más alejada del metal. A la inversa, las concentraciones de las especies del electrolito disminuyen desde la capa externa hasta el metal sustrato [13].

La capa más externa del recubrimiento puede tener problemas de adherencia cuando sube la temperatura del electrolito [13]. La ruptura del recubrimiento ocurre en general en la interfaz entre la capa anodizada y la capa depositada por APQ.

ANEXO D. RECUBRIMIENTOS BIOMIMÉTICOS

Los procesos de formación de tejidos mineralizados son una fuente de información de gran valor para el desarrollo de nuevos materiales para aplicaciones biomédicas, capaces de mimetizar las características de los tejidos vivos por lo que en el campo de biomateriales se denominan materiales biomiméticos. En el caso del sistema óseo, estos nuevos conceptos generan ideas innovadoras inspiradas en tejidos mineralizados muy abundantes en la naturaleza [6].

Aproximación Biomimética. Los compuestos minerales de Ca-P encontrados en los tejidos duros están fabricados en un ambiente fisiológico, a bajas temperaturas y a partir de disoluciones moderadamente saturadas. En los últimos años se ha observado un interés creciente por la propagación de recubrimientos de fosfato de calcio biomimético, aplicados sobre implantes protésicos. Diversas tecnologías han sido desarrolladas y resultan bastante apropiadas para el recubrimiento de materiales poliméricos, ya que permiten utilizar temperaturas muy próximas a la fisiológica [6].

Kokubo y col. Consiguieron por primera vez aplicar un recubrimiento de Ca-P en un sustrato mediante un proceso biomimético, para lo que utilizaron un vidrio Bioactivo basado en una composición $\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$. Los iones de silicato a partir de los grupos silanoles Si-OH se supone que se libera en la superficie del sustrato para inducir la formación de apatita. El vidrio Bioactivo fue utilizado en forma de pequeñas partículas que en contacto con el sustrato induce la nucleación de apatita en un medio denominado fluido corporal simulado SBF, que presenta una composición muy similar a la del plasma sanguíneo. Después de una semana la apatita se formó por inmersión de los sustratos en una solución 1.5 veces la concentración de los iones de la solución SBF. Este método permite la formación de recubrimientos tanto de metales, cerámicos y polímeros. Otra vía para mejorar el crecimiento de la apatita fue la modificación de la superficie en donde se aplica el recubrimiento incorporando grupos polares antes de proceder al tratamiento biomimético. Los grupos polares pueden actuar como agentes de nucleación para la formación de la capa de apatita en la superficie del sustrato. El grupo de Kokubo propuso varios métodos, como

tratamiento con hidróxido de sodio NaOH o con ácido clorhídrico HCl, que mejoraban sensiblemente la adhesión y reducían los periodos de inducción para la nucleación [6].

ANEXO E. PREPARACION DE LA SOLUCION ELECTROLITICA

El papel del calcio di-hidrógeno fosfato es traer calcio y fósforo, el acetato de calcio y el silicato de calcio aporta sólo calcio. Así el electrolito consiste en una solución acuosa de fosfato, calcio y silicio, este último bajo forma acomplejada debido a la adición de $\text{Na}_2(\text{EDTA})$ ($\text{Na}_2(\text{EDTA})$ es $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ con $\text{Y}=[2(\text{OOC})\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{COO})_2]^{4-}$). La acomplejación de Ca^{2+} para formar $[\text{Ca}\text{Y}]^{2-}$ tiene 2 consecuencias: primero aumentar la solubilidad de Ca para evitar la precipitación de CaP cuando la concentración de Ca es elevada. Segundo, los cationes Ca^{2+} se convierten en aniones $[\text{CaY}]^{2-}$ que son atraídos (al lugar de ser repelidos como iones Ca^{2+}) por el electrodo de titanio cargado positivamente durante la APQ (Anodic Spark Deposition). En efecto, debido a sus cargas positivas los iones calcio están rechazados por las cargas positivas de la superficie de titanio polarizada anódicamente, lo que tiene por efecto de reducir la incorporación del calcio en el recubrimiento. Al contrario, los aniones fosfato y silicato son atraídos por el sustrato de Ti polarizado positivamente y se incorporan a una tasa más elevada. La reacción de formación del complejo $[\text{CaY}]^{2-}$ es la siguiente [ec. 5]



Cuando se aumenta el pH, la reacción precedente se desplaza hacia la derecha. Sin embargo a los pH estudiados la variación en el equilibrio de la [ec. 5] es poco significativo [13].

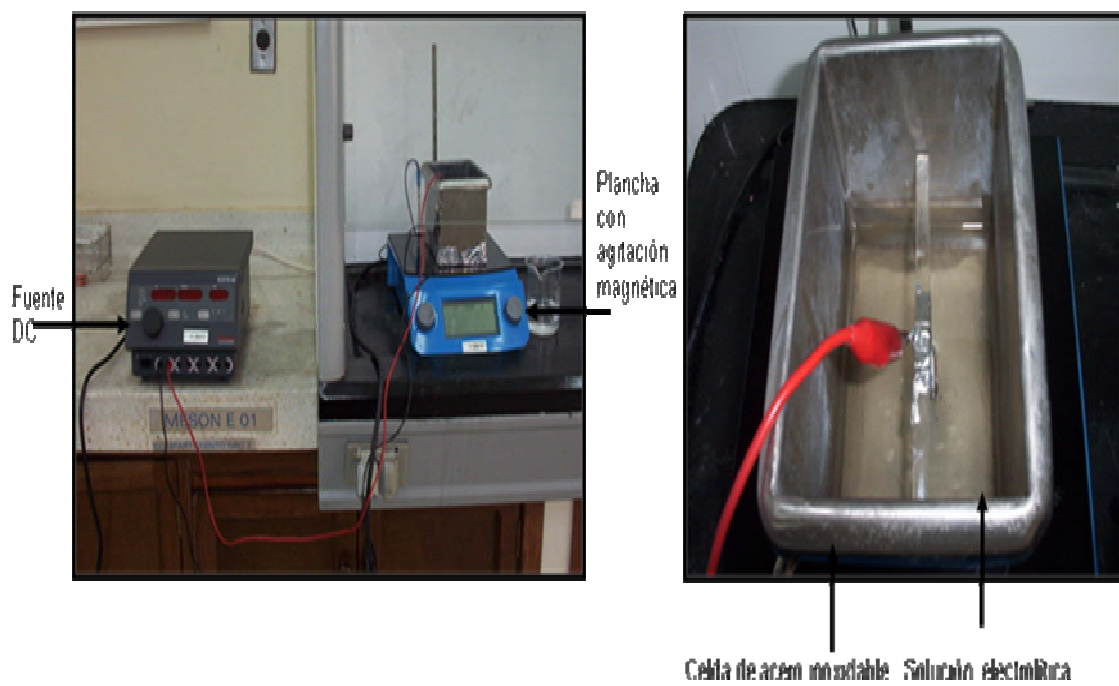
ANEXO F. MATRIZ DE EXPERIMENTOS

TABLA A1. MATRIZ DE EXPERIMENTOS

ENSAYO	TIEMPO (min)	CONCENTRACION (M)	DENSIDAD DE CORRIENTE (mA)
1	6.0	0.025	450
2	6.0	0.1	300
3	2.0	0.1	600
4	4.0	0.025	450
5	6.0	0.025	300
6	6.0	0.1	600
7	2.0	0.05	300
8	4.0	0.05	300
9	2.0	0.1	300
10	2.0	0.1	450
11	4.0	0.025	300
12	4.0	0.025	600
13	6.0	0.025	600
14	4.0	0.05	450
15	4.0	0.1	450
16	2.0	0.025	600
17	2.0	0.025	300
18	4.0	0.1	300
19	6.0	0.1	450
20	4.0	0.1	600
21	4.0	0.05	600
22	6.0	0.05	450
23	2.0	0.05	450
24	2.0	0.025	450
25	2.0	0.05	600
26	6.0	0.05	300
27	6.0	0.05	600
REP 1	6.0	0.025	450
REP 2	2.0	0.05	300
REP 3	6.0	0.1	600
REP 4	2.0	0.1	450

ANEXO G. MONTAJE DEL PROCESO DE ANODIZADO POR PLASMA QUIMICO (APQ)

FIGURA .A1 Equipos y montaje para el proceso de APQ

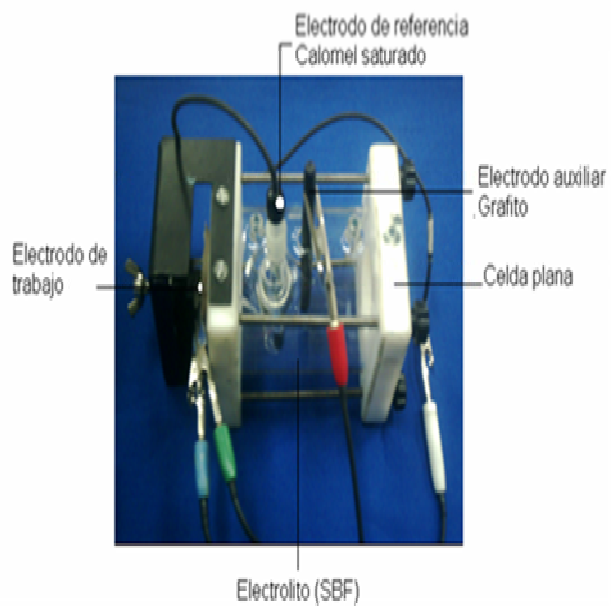


ANEXO H. MONTAJE PARA LA EVALUACION ELECTROQUIMICA (EIE)

Figura. A2. Potenciostato-Galvanostato Gamry y montaje de la celda plana.



POTENCIOSTATO-GALVANOSTATO GAMRY



ANEXO I. PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE FLUIDO FISIOLÓGICO SIMULADO SBF

Kokubo y sus colegas desarrollaron un fluido a celular simulado inorgánico con concentraciones iónicas similares a las existentes en el fluido sanguíneo humano, con el fin de reproducir la formación de apatita sobre materiales bioactivos in Vitro. Este fluido puede ser utilizado no solo para evaluar la bioactividad de materiales in Vitro, además o para producir capas de apatita sobre varios materiales en condiciones biomiméticas. Este fluido es abreviado SBF o solución Kokubo.

Tabla.A2. Comparación de las concentraciones iónicas del fluido corporal simulado y del plasma de sangre humana.

ION	CONCENTRACION (mmol/dm ³)	
	Fluido corporal simulado (SBF)	Plasma de sangre humana
Na ⁺	142.0	142.0
K ⁺	5.0	5.0
Mg ²⁺	1.5	1.5
Ca ²⁺	2.5	2.5
Cl ⁻	147.8	103.0
HCO ³⁻	4.2	27.0
HPO ₄ ²⁻	1.0	1.0
SO ₄ ²⁻	0.5	0.5

El pH del SBF es ajustado a 7.25 a 36.5 °C usando 50mM de tris(hidroximetila aminometano) y aproximadamente 45 mM de HCl.

PREPARACION DEL SBF

El SBF es una solución meta estable que contiene iones de calcio y fósforo saturados con respecto a la apatita, esta es preparada de la siguiente manera:

(a) Limpieza

- Limpiar todas las botellas, beakers, etc. Con HCl diluido, agente esterilizante y agua destilada.
- Sumergir los recipientes anteriores en HCl diluido por varias horas, retirarlas de la solución y enjuagar con agua.
- Sumergir los recipientes en un agente esterilizante toda la noche. Retirarlos del mismo y lavar con agua destilada.
- Lavar los recipientes con agua ionizada varias veces y taparlos con una película. Las botellas no necesitan secarse, si se considera necesario secar a 50°C.

(b) Disolución de los reactivos

- Colocar 750 ml de agua destilada en un beaker de 1000 ml (preferiblemente de polietileno). Mantener agitación con un agitador magnético, así como mantener la temperatura a 36.5 °C. El beaker es preferible colocarlo en un lugar limpia para evitar que se ensucie con polvo.
- Adicionar cada reactivo de acuerdo a la tabla A.3 al agua hasta el reactivo No 8, uno por uno hasta que cada reactivo se disuelva completamente.
- La adición del reactivo No 9 se adiciona en cantidades menores a 1 g para evitar un incremento localizado del pH.

(c) Ajuste del pH

- Calibrar el pH-metro con una solución Buffer Standard. Después de adicionar el reactivo No 9 ajustar la temperatura a 36.5 °C en este punto el pH debe estar alrededor de 7.5. Con una solución 1 M de HCL ajustar el pH a 7.25 o 7.4.
- Después de ajustado el pH transferir la solución a un balón aforado de 1000 ml, lavando el beaker con agua destilada varias veces y adicionar la solución al frasco.

- Adicionar agua ultra pura a la solución ajustando el volumen a 1000 ml y agitar muy bien. Mantener la solución en el frasco a temperatura ambiente hasta que la temperatura baje a 20 °C y agitar muy bien.

(d) Almacenamiento

- Lavar la botella de polietileno con un poco de solución al menos tres veces. Transferir la solución a esta botella.
- Almacenar la botella en un refrigerador a temperaturas de 5 a 10°C.

(e) Notas

- Para examinar la estabilidad de la solución. Ponga 50 ml de solución en una botella de poliestireno a 36.5 °C. después de 2 a 3 días verifique que tanto se ha precipitado. Si existe alguna precipitación no usar la solución.
- Los frascos donde existe precipitación no deben usarse para futuros experimentos, por que algunos fosfatos de calcio pueden adherirse a las paredes. Una precipitación de fosfatos de calcio induce formación de hidroxiapatita en la solución por ende se precipitará.

Tabla A.3. Reactivo para la preparación de SBF (Ph 7.25, 1 L).

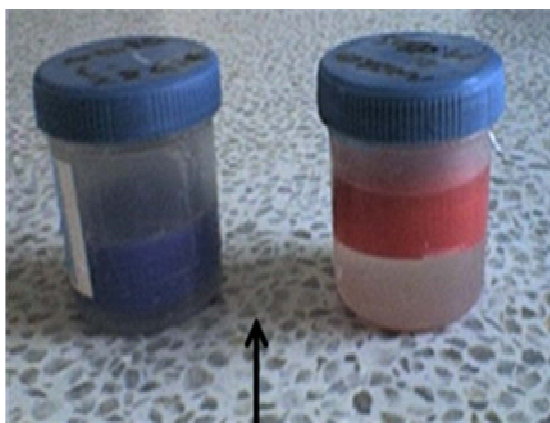
ORDEN	REACTIVOS	CANTIDAD
1	NaCl	7.996 g
2	NaHCO ₃	0.350 g
3	KCl	0.224 g
4	K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.228 g
5	MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.305 g
6	1 kmol/m ³ HCl	40 cm ³
7	CaCl ₂	0.278 g
8	Na ₂ SO ₄	0.071 g
9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6.057 g
10	1 kmol/m ³ HCl	Apropiarte de la cantidad para ajustar el pH

ANEXO J. MONTAJE DE LA BIOMINERALIZACION EN SBF

FIGURA. A3. MONTAJE DEL BAÑO TERMOSTATADO Y LA INMERSION EN SBF.



Baño Termostatado



Inmersión en SBF

ANEXO K. RELACIÓN DEL VOLTAJE DE ROMPIMIENTO Y VOLTAJE FINAL

Tabla. A4. Datos obtenidos de voltaje de rompimiento y voltaje final.

Prueba	Tiempo (min)	Concentración (M)	Corriente (mA)	Voltaje del rompimiento dieléctrico (V)	Voltaje final (V)	Tiempo de alcanzar el rompimiento dieléctrico (s)
1	2	0,025	300	242	300	40
2	2	0,025	450	258	320	50
3	2	0,025	600	216	375	20
4	4	0,025	300	249	368	60
5	4	0,025	450	257	390	45
6	4	0,025	600	252	360	30
7	6	0,025	300	249	350	60
8	6	0.025	450	380	315	120
9	6	0,025	600	261	348	40
10	2	0,05	300	169	308	30
11	2	0,05	450	285	389	40
12	2	0,05	600	348	408	60
13	4	0,05	300	286	396	60
14	4	0,05	450	343	392	69
15	4	0,05	600	296	388	78
16	6	0,05	300	313	401	84
17	6	0,05	450	362	367	72
18	6	0,05	600	345	370	60
19	2	0,1	300	278	391	40
20	2	0,1	450	317	407	50
21	2	0.1	600	300	375	30
22	4	0,1	300	240	390	45
23	4	0,1	450	382	397	60
24	4	0,1	600	241	378	30
25	6	0,1	300	286	386	60
26	6	0,1	450	268	384	40
27	6	0,1	600	293	380	30

FIGURA.A4 GRAFICA CRONOPOTENCIOMETRICAS CONCENTRACION DE 0,025

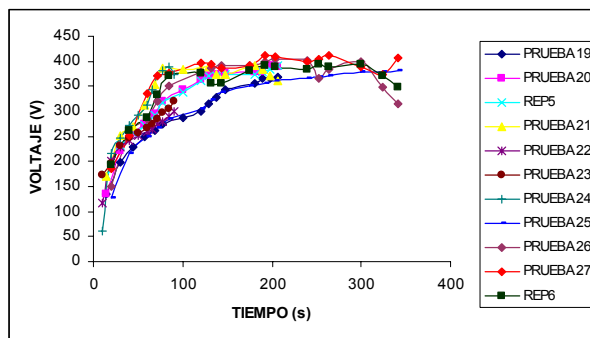
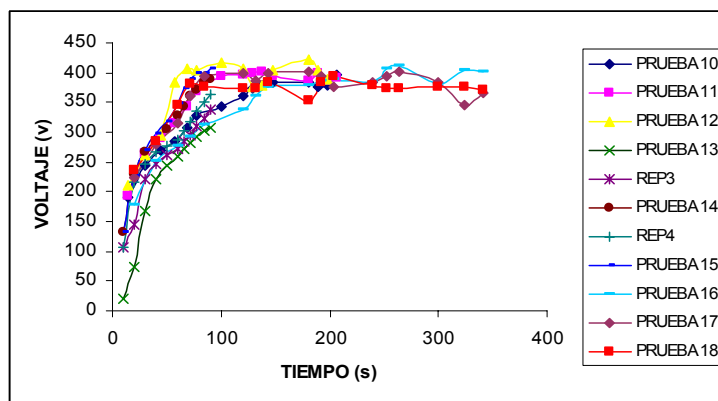


FIGURA. A5. GRAFICA CRONOPOTENCIOMETRICAS CONCENTRACION DE 0.05



ANEXO L. RELACIÓN DE LOS VALORES DE CAPACITANCIA

Tabla A5. Valores de capacitancia, Resistencia a la solución, Resistencia a la polarización y el espesor de cada recubrimiento.

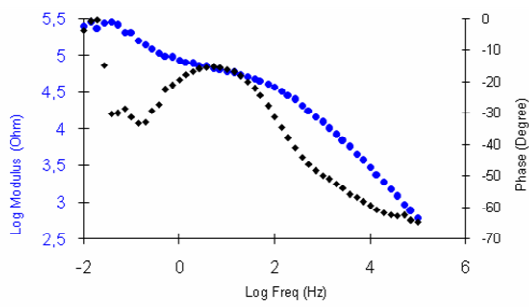
PRUEBA	Rs (Ω)	Rp (Ω)	CAPACITANCIA (F)	ESPESOR (μm)
1	167,42	206450,66	4,80E-8	0,837
2	608,25	285876,30	7,13E-6	5,631E-3
3	133,55	109514,26	4,65E-7	0,863
4	44,40	79075,40	2,09E-6	0,019
5	68,49	33902,30	2,65E-7	0,151
6	60,93	12655,38	4,09E-7	9,810E-2
7	101,46	18130,66	1,06E-6	0,037
8	141,21	101072,81	8,73E-8	0,460
9	71,33	52379,60	1,67E-7	0,239
10	213,27	130946,50	9,74E-8	0,412
11	167,61	33716,79	1,16E-7	0,345
12	146,26	43505,32	1,47E-7	0,272
13	184,80	592453,06	6,72E-8	0,598
14	378,21	140809,78	6,1E-8	0,658
15	385,83	292190,17	1,1E-7	0,367
16	792,71	130778,09	6,5E-8	0,614
17	649,48	279977,37	7,7E-8	0,518
18	236,04	122155,74	4,9E-8	0,813
19	393,65	281337,77	3,72E-8	1,08
20	278,81	203205,02	4,55E-8	0,883
21	399,01	339687,97	5,35E-8	0,751
22	2096,48	759333,06	4,23E-8	0,95
23	1065,22	175459,70	2,56E-8	1,56
24	440,64	268734,54	4,6E-8	0,87
25	907,86	522084,82	1,13E-8	3,53
26	1482,31	471686,02	4,03E-8	0,99
27	294,117	272495,88	5,8E-8	0,69

ANEXO M. DATOS OBTENIDOS POR EIS

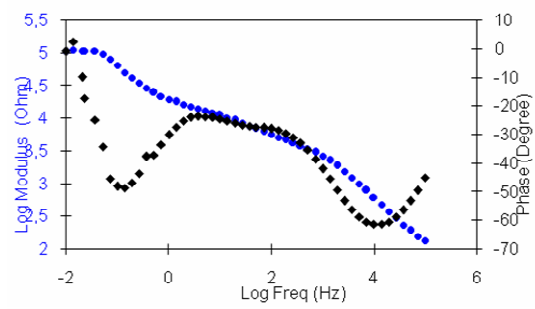
FIGURA A6. Diagrama de Bode obtenidos por EIS

CONCENTRACION 0.025

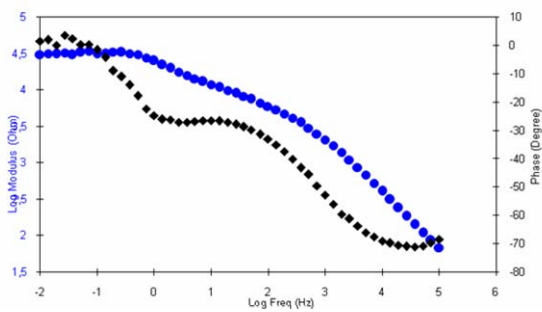
2min-300mA



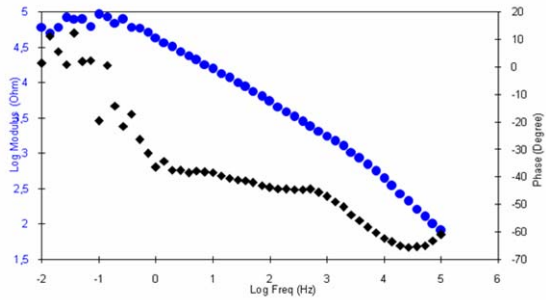
2min-450mA



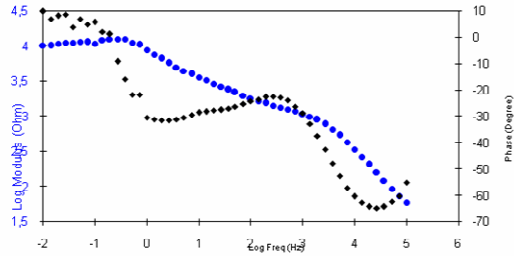
2min-600mA



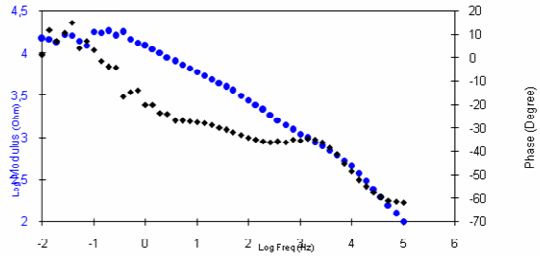
4min-300mA



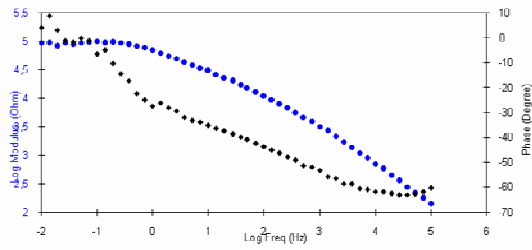
4min-450mA



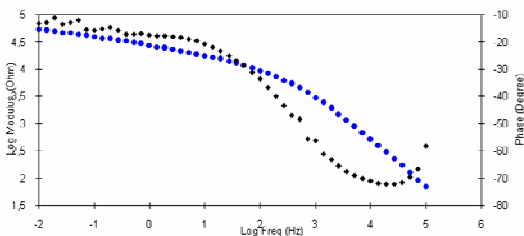
4min-600mA



6min-300mA

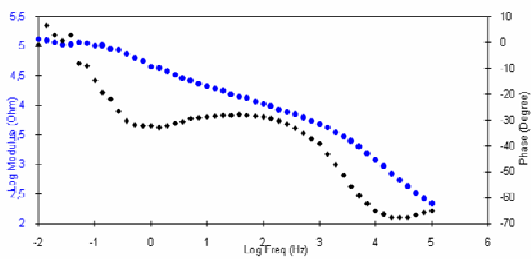


6min-450mA

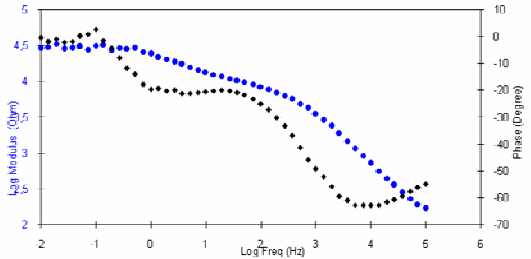


CONCENTRACION 0.05

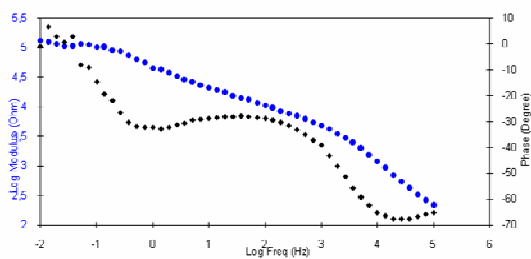
2min-300mA



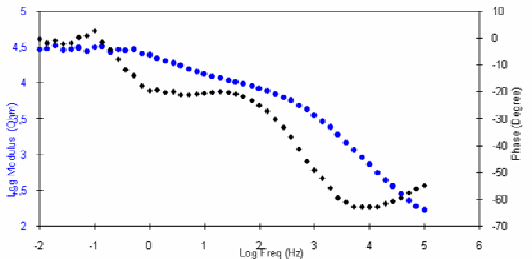
2min-450mA



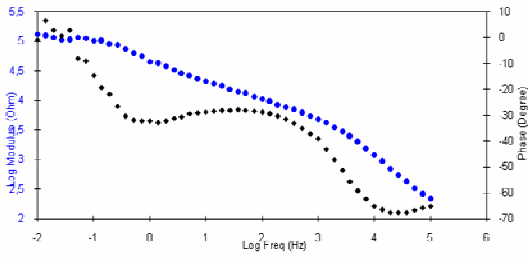
2min-600mA



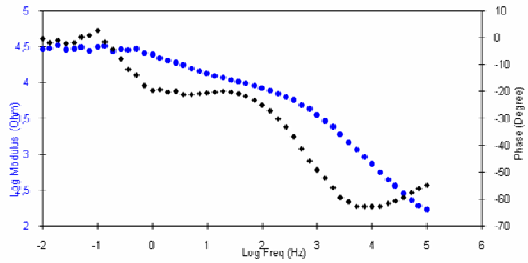
4min-300mA



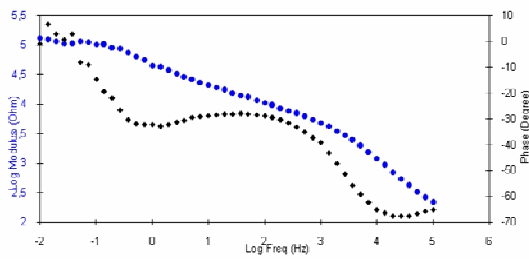
4min-450



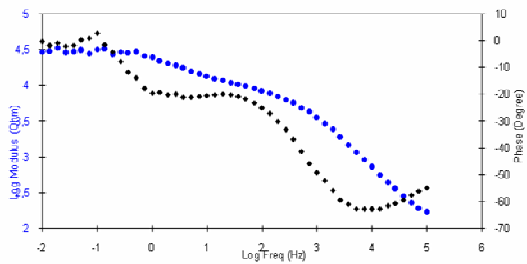
4min-600mA



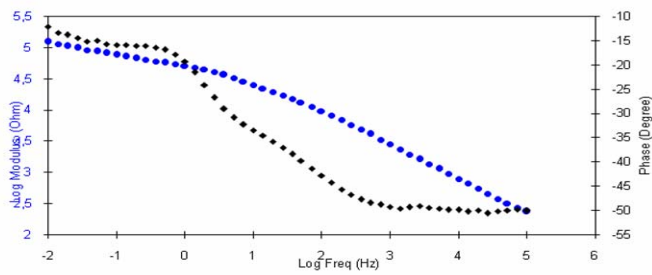
6min-300mA



6min-450mA

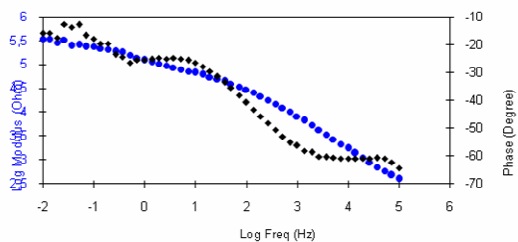


6min-600mA

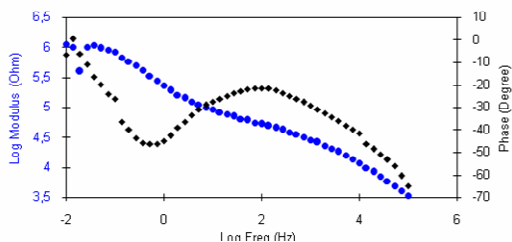


CONCENTRACION 0.1M

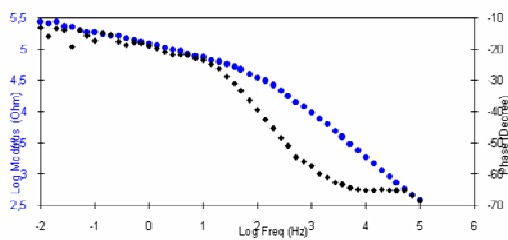
2min-300mA



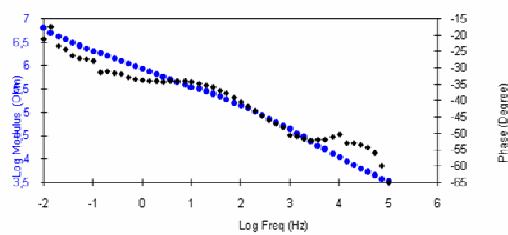
2min-450mA



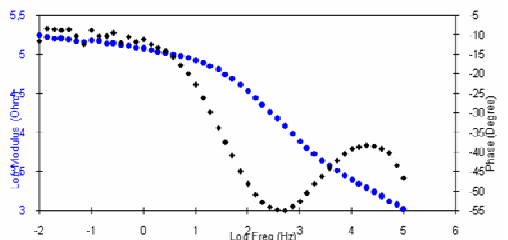
2min-600mA



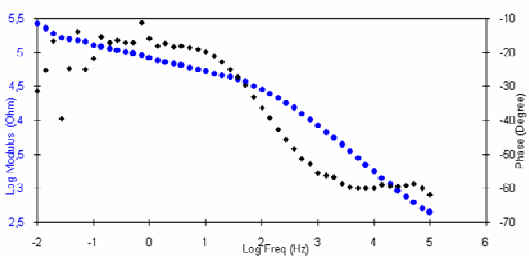
4min-300m



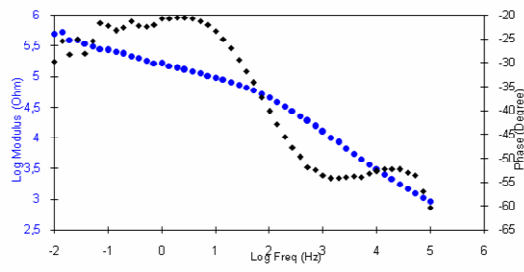
4min-450mA



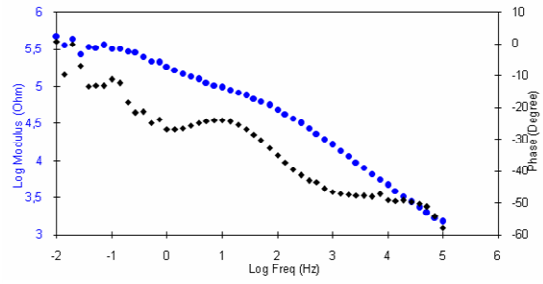
4min-600mA



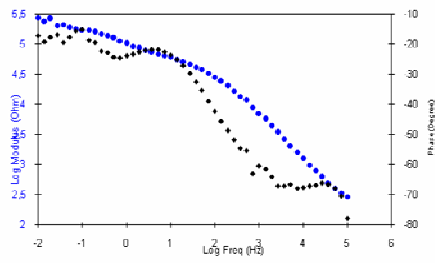
6min-3000mA



6min- 450mA

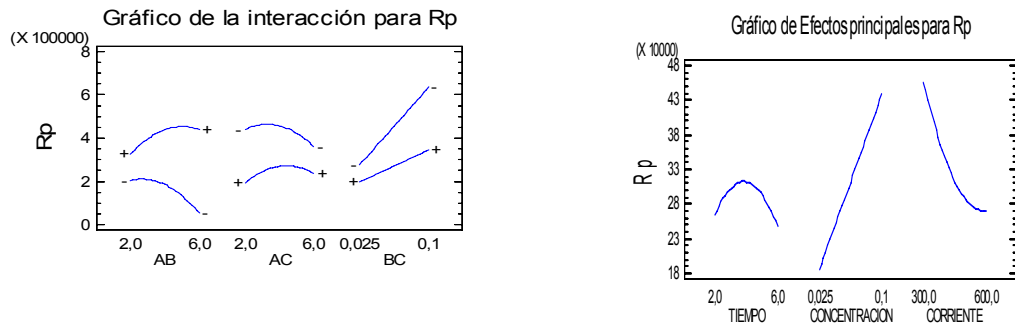


6min-600mA



ANEXO N. ANALISIS ESTADISTICO

FIGURA A.7. Gráficos de pareto y de efectos principales



RESPUESTA OPTIMIZADA

Meta: maximizar Rp

FACTOR	INFERIO	MAYOR	OPTIMO
TIEMPO	2,0	6.0	4.0
CONCENTRACION	0.025	0.1	0.1
	300	600	300

$$Rp = 779490,0 + 6202,68 \cdot \text{TIEMPO} + 4,077E6 \cdot \text{CONCENTRACION} - 2508,77 \cdot \text{CORRIENTE} - 14072,4 \cdot \text{TIEMPO}^2 + 884129,0 \cdot \text{TIEMPO} \cdot \text{CONCENTRACION} + 104,154 \cdot \text{TIEMPO} \cdot \text{CORRIENTE} - 2,79397E9 \cdot \text{CONCENTRACION}^2 + 9438,08 \cdot \text{CONCENTRACION} \cdot \text{CORRIENTE} + 2,29178 \cdot \text{CORRIENTE}^2$$