

# **ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL**

## **FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA**

### **ESTUDIO DE LA DEPOSICIÓN DE HIDROXIAPATITA SOBRE SUSTRATOS METÁLICOS PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS EN PRESENCIA DE CAMPOS MAGNÉTICOS Y POR MÉTODOS ELECTROQUÍMICOS**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA  
QUÍMICA**

**ANDREA CAROLINA UVILLÚS HERRERA**  
andrea.uvillus@epn.edu.ec

**DIRECTOR: ING. RAFAEL ALONSO URIBE SOTO PhD.**  
rafael.uribe@epn.edu.ec

**CO-DIRECTOR: ING. OMAR FERNANDO BONILLA HIDALGO MSc.**  
omar.bonilla@epn.edu.ec

**Quito, agosto 2018**

© Escuela Politécnica Nacional (2018)  
Reservados todos los derechos de reproducción

## **DECLARACIÓN**

Yo Andrea Carolina Uvillús Herrera declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

Andrea Carolina Uvillús Herrera

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Andrea Carolina Uvillús Herrera, bajo mi supervisión.

---

Ing. Rafael Uribe PhD.  
**DIRECTOR DE PROYECTO**

---

Ing. Omar Bonilla MSc.  
**CO-DIRECTOR DE PROYECTO**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darme fortaleza para afrontar las adversidades de la vida.

A mis padres por su apoyo y amor incondicional. A mi hermana que ha sido mi compañera y confidente.

Al Dr. Rafael Uribe, quien con su experiencia me guío para culminar exitosamente este trabajo.

A la Dra. Gema González, que me brindó la oportunidad de realizar esta investigación, así como por compartir su conocimiento y darme su apoyo incondicional y motivarme en este camino.

Al Ing. Andrés Chico y al Ing. Omar Bonilla por aceptar la co-dirección de este proyecto.

A la Dra. Lenys Fernández, por compartir sus conocimientos y brindarme su ayuda siempre que la necesité.

Al Dr. Patricio Espinoza por abrirme las puertas del CICAM y permitirme desarrollar la parte experimental de este trabajo.

Al Departamento de Física de la Escuela Politécnica Nacional, por facilitarme el uso de sus instalaciones y equipos.

A mis compañeros de la Universidad que de una u otra manera hicieron que la vida universitaria fuera amena y divertida.

A Darío Rodríguez, por ser un buen compañero y darme una mano en los momentos difíciles.

## DEDICATORIA

*A mis amados padres, Freddy y Soledad  
por su esfuerzo y sacrificio, ellos han sido  
los pilares fundamentales de mi vida*

*A mi querida hermana, Grace  
que ha sido mi amiga y compañera de la vida*

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b>PÁGINA</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>xii</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>xiii</b>
<b>1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>1</b>
1.1. Biomateriales para implantes óseos: definición, clasificación, propiedades y aplicaciones	1
1.1.1. Clasificación	2
1.1.1.1. Según la interacción con los tejidos	2
1.1.1.2. Según la naturaleza del material	3
1.1.2. Propiedades	6
1.1.2.1. Propiedades Físicas	7
1.1.2.2. Propiedades Químicas	8
1.1.2.3. Propiedades Mecánicas	8
1.1.3. Aplicaciones	9
1.2. Hidroxiapatita: definición, propiedades y métodos de deposición	10
1.2.1. Hidroxiapatita: definición	10
1.2.2. Propiedades	11
1.2.2.1. Propiedades Mecánicas	11
1.2.2.2. Propiedades Biológicas	12
1.2.2.3. Propiedades Eléctricas	12
1.2.3. Métodos de deposición	12
1.2.3.1. Método Biomimético	14
1.2.3.2. Deposición electroquímica	15
1.3. Técnicas de caracterización de biomateriales	17
1.3.1. Microscopía electrónica de barrido (MEB)	17
1.3.2. Difracción de Rayos X	18
1.3.3. Espectroscopía infrarroja (FTIR)	19
1.3.4. Espectroscopía de impedancia	19
1.3.5. Pruebas de hidrofiliidad	21
<b>2. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>23</b>
2.1. Evaluación de las características estructurales y superficiales de los distintos sustratos metálicos usados para aplicaciones biomédicas	24
2.1.1. Preparación de los sustratos	24
2.1.2. Caracterización de los diferentes sustratos	26
2.1.2.1. Características estructurales	26
2.1.2.2. Características superficiales	27

2.2.	Estudio del efecto de la aplicación de campos magnéticos en la formación de películas delgadas de hidroxiapatita sobre los distintos sustratos metálicos inmersos en fluido corporal simulado	28
2.2.1.	Preparación del fluido corporal simulado enriquecido en calcio y fósforo	28
2.2.2.	Inmersión de los sustratos en fluido corporal simulado en presencia de campos magnéticos	29
2.2.3.	Caracterización de las películas formadas de hidroxiapatita en presencia de campos magnéticos	31
2.3.	Estudio de la formación electroquímica de hidroxiapatita sobre los distintos sustratos metálicos, utilizando como electrolito fluido corporal simulado	32
2.3.1.	Caracterización electroquímica de los sustratos metálicos	32
2.3.2.	Deposición electroquímica	33
2.3.3.	Evaluación de las películas de hidroxiapatita formadas electroquímicamente	34
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>36</b>
3.1.	Características estructurales de los sustratos metálicos	36
3.2.	Estudio del efecto de la aplicación de campos magnéticos en la formación de hidroxiapatita	42
3.2.1.	Efecto de las diferentes condiciones de campo magnético y tiempo	42
3.2.1.1.	Sustrato Ta/TaN/Ti	42
3.2.1.2.	Sustrato Titanio con tratamiento químico	48
3.2.1.3.	Sustrato Ta/TaN/SS316LVM	51
3.2.1.4.	Sustrato SS316LVM	54
3.2.2.	Aplicación de las mejores condiciones de formación sobre los sustratos con recubrimiento de tantalato	57
3.3.	Deposición electroquímica de hidroxiapatita sobre los distintos sustratos metálicos, utilizando como electrolito fluido corporal simulado	60
3.3.1.	Características electroquímicas de los sustratos	60
3.3.2.	Deposición electroquímica	63
3.3.2.1.	Efecto de las diferentes condiciones de voltaje y tiempo	63
3.3.3.	Aplicación de las mejores condiciones de la formación sobre los sustratos con recubrimiento de tantalato	74
3.4.	Pruebas de hidrofiliidad	76
3.5.	Comparación de métodos de deposición de hidroxiapatita	78
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>83</b>



4.1.	Conclusiones	83
4.2.	Recomendaciones	85
	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>86</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>96</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
<b>Tabla 1.1.</b>	Tipos de ortofosfatos de calcio según la relación Ca/P	5
<b>Tabla 1.2.</b>	Aplicaciones de diferentes biomateriales	9
<b>Tabla 1.3.</b>	Comparación entre las propiedades mecánicas de los huesos vs Hidroxiapatita	11
<b>Tabla 1.4.</b>	Métodos de síntesis de Hidroxiapatita	13
<b>Tabla 1.5.</b>	Métodos de deposición de recubrimientos de Hidroxiapatita	13
<b>Tabla 2.1.</b>	Características de los diferentes sustratos utilizados en la experimentación	26
<b>Tabla 2.2.</b>	Cantidad de reactivos utilizados para preparar 1 L de solución de fluido corporal simulado	29
<b>Tabla 3.1.</b>	Resultados del análisis EDS del Titanio con tratamiento químico	38
<b>Tabla 3.2.</b>	Resultados del análisis EDS del Acero inoxidable 316 LVM con tratamiento químico	38
<b>Tabla 3.3.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de campo magnético y tiempo sobre Ta/TaN/Ti	46
<b>Tabla 3.4.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de campo magnético y tiempos sobre Ti	51
<b>Tabla 3.5.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de campo magnético y tiempos sobre Ta/TaN/SS316LVM	54
<b>Tabla 3.6.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de campo magnético y tiempos sobre SS316LVM	57
<b>Tabla 3.7.</b>	Potenciales aplicados para la cronoamperometría	65
<b>Tabla 3.8.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de potencial y tiempo sobre Ta/TaN/Ti	67
<b>Tabla 3.9.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de potencial y tiempo sobre Ti con tratamiento químico	70

<b>Tabla 3.10.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de potencial y tiempo sobre Ta/TaN/SS316 LVM	72
<b>Tabla 3.11.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de potencial y tiempo sobre SS316 LVM	74
<b>Tabla 3.12.</b>	Resultados de ángulo de contacto de los diferentes sustratos antes y después de la deposición de Hidroxiapatita, a las mejores condiciones de formación a los diferentes métodos aplicados en la experimentación	77
<b>Tabla 3.13.</b>	Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita obtenida a las mejores condiciones encontradas con el método biomimético en presencia de campos magnéticos y el método electroquímico	81
<b>Tabla AI.1.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti por 7 d	97
<b>Tabla AI.2.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico por 7 d	97
<b>Tabla AI.3.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316 LVM por 7 d	97
<b>Tabla AI.4.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre SS316 LVM con tratamiento químico por 7 d	97
<b>Tabla AI.5.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti por 10 d	98
<b>Tabla AI.6.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico por 10 d	98
<b>Tabla AI.7.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316LVM por 10 d	98
<b>Tabla AI.8.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre SS316 LVM con tratamiento químico por 10 d	98
<b>Tabla AI. 9.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti por 14 d	98
<b>Tabla AI.10.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico por 14 d	99
<b>Tabla AI.11.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316LVMN por 14 d	99
<b>Tabla AI.12.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre SS316LVM atacado por 14 d	99
<b>Tabla AI.13.</b>	Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/Ti por 14 d	99

<b>Tabla AI.14.</b> Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/SS316LVMN por 14 d	99
<b>Tabla AIII.1.</b> Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ta/TaN/Ti	103
<b>Tabla AIII.2.</b> Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ti con tratamiento químico	103
<b>Tabla AIII.3.</b> Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ta/TaN/SS316LVM	105
<b>Tabla AIII.4.</b> Análisis de Varianza para Masa de película formada	106
<b>Tabla AIV.1.</b> Resultados del análisis EDS de la Hidroxiapatita formada sobre Ta/TaN/Ti	109
<b>Tabla AIV.2.</b> Resultados del análisis EDS para formación de HAp formada sobre titanio atacado	109
<b>Tabla AIV.3.</b> Resultados del análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/316LVM	110
<b>Tabla AIV.4.</b> Resultados del análisis EDS de la formación de HAp sobre SS316LVM	110
<b>Tabla AIV.5.</b> Resultados del análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/Ti y Ta/SS316LVM	110
<b>Tabla AV.1.</b> Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ta/TaN/Ti	112
<b>Tabla AV.2.</b> Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ti con tratamiento químico	113
<b>Tabla AV.3.</b> Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ta/TaN/SS316LVM	114
<b>Tabla AV.4.</b> Análisis de Varianza para Masa de película sobre SS316LVM con ataque químico	116

## ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
<b>Figura 1.1.</b>	Mecanismo de formación de apatita sobre titanio	15
<b>Figura 1.2.</b>	Diagrama Ley de Bragg	18
<b>Figura 1.3.</b>	Respuesta de corriente sinusoidal en un sistema lineal	20
<b>Figura 1.4.</b>	Montaje ángulo de contacto	22
<b>Figura 2.1.</b>	Medición ángulo de contacto (a) Montaje experimental (b) Medición ángulo con el programa Image J	28
<b>Figura 2.2.</b>	Medición campo magnético (a) y montaje de recipientes con SBF en presencia de campos magnéticos (b) 0,15 T (c) 0,22 T	31
<b>Figura 2.3.</b>	Esquema de Celda electroquímica de 3 electrodos utilizada en la experimentación	33
<b>Figura 3.1.</b>	Imágenes MEB Titanio (a) Pulido (b) Tratamiento químico (c) Con películas de Ta (d) Con películas de Ta/TaN	37
<b>Figura 3.2.</b>	Imágenes MEB Acero inoxidable 316 LVM (a) Desbastado (b) Tratamiento químico (c) Con películas de Ta (d) Con películas de Ta/TaN	37
<b>Figura 3.3.</b>	Difractograma convencional del Titanio sin recubrimiento	39
<b>Figura 3.4.</b>	Difractograma de ángulo rasante para el titanio con las películas Ta	40
<b>Figura 3.5.</b>	Difractograma de ángulo rasante para el titanio con las películas Ta/TaN	40
<b>Figura 3.6.</b>	Difractograma del acero inoxidable 316LVM sin recubrimiento	41
<b>Figura 3.7.</b>	Difractograma de ángulo rasante para el acero inoxidable 316LVM con las películas (a) Ta/TaN (b) Ta	42
<b>Figura 3.8.</b>	Imágenes MEB de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti (a) (d) (g) sin campo (b) (e) (h) 0,15 T (c) (f) (i) 0,22 T durante 7, 10 y 14 d	44
<b>Figura 3.9.</b>	FTIR de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti en presencia de campos magnéticos (a) 7 d (b) 10 d y (c) 14 d	45

<b>Figura 3.10.</b>	Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de HAp formada en Ta/TaN/Ti	47
<b>Figura 3.11.</b>	Gráfica de efectos principales para la masa de HAp formada sobre Ta/TaN/Ti	47
<b>Figura 3.12.</b>	Imágenes MEB formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico (a) (d) (g) Sin campo (b) (e) (h) 0,15 T (c) (f) (i) 0,22 T durante 7, 10 y 14 d	48
<b>Figura 3.13.</b>	FTIR de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico en presencia de campos magnéticos (a) 7 d (b) 10 d y (c) 14 d	50
<b>Figura 3.14.</b>	Imágenes MEB formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316 LVM (a) (d) (g) sin campo (b) (e) (h) 0,15 T (c) (f) (i) 0,22 T durante 7, 10 y 14 d	52
<b>Figura 3.15.</b>	FTIR de la formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316LVM en presencia de campos magnéticos (a) 7 d (b) 10 d y (c) 14 d	53
<b>Figura 3.16.</b>	Imágenes MEB formación de HAp sobre SS316 LVM con tratamiento químico (a) (d) (g) Sin campo (b) (e) (h) 0,15 T (c) (f) (i) 0,22 T durante 7, 10 y 14 d.	55
<b>Figura 3.17.</b>	FTIR de la formación de HAp sobre SS316LVM con tratamiento químico en presencia de campos magnéticos (a) 7 d (b) 10 d y (c) 14 d	56
<b>Figura 3.18.</b>	Deposición de hidroxiapatita en presencia de un campo magnético de 0,22 T sobre Ta/Ti y Ta/SS316LVM durante 14 d	58
<b>Figura 3.19.</b>	FTIR HAp depositada sobre Ta/Ti en presencia de de un campo magnético de 0,22 T por 14 d	59
<b>Figura 3.20.</b>	FTIR HAp depositada sobre Ta/ SS316LVM en presencia de de un campo magnético de 0,22 T por 14 d	59
<b>Figura 3.21.</b>	Diagrama de Nyquist del Titanio pulido, Titanio con tratamiento químico, Ta/Ti y Ta/TaN/Ti en SBF a 37° C	61
<b>Figura 3.22.</b>	Diagrama de Bode del Titanio pulido, Titanio con tratamiento químico, Ta/Ti y Ta/TaN/Ti en SBF a 37°C	61
<b>Figura 3.23.</b>	Diagrama de Nyquist del Diagrama de Nyquist del Acero 316LVM desbastado, Acero 316LVM con tratamiento químico, Ta/SS316LVM y Ta/TaN/SS316LVM en SBF a 37°C a pH de 7,2 -7,4	62

- Figura 3.24.** Diagrama de Bode del Acero 316LVM desbastado, Acero 316LVM con tratamiento químico, Ta/SS316LVM y Ta/TaN/SS316LVM en SBF a 37°C, a pH 7,2-7,4 63
- Figura 3.25.** Voltametría cíclica del titanio con tratamiento químico y titanio con recubrimiento de Ta/TaN en SBF a 37 °C y pH de 7,2 64
- Figura 3.26.** Voltametría cíclica del acero 316LVM con tratamiento químico y acero 316LVM con recubrimiento de Ta/TaN en SBF a 37 °C y pH de 7,2 64
- Figura 3.27.** Imágenes MEB formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti (a) -1,5 V 3 000 s (b) -1,5 V 6 000s (c) -1,8 V 3 000 s 66
- Figura 3.28.** FTIR de la formación de HAp sobre Ti con tratamiento químico 66
- Figura 3.29.** Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de HAp formada en Ta/TaN/Ti 68
- Figura 3.30.** Gráfica de efectos principales para la masa de HAp formada sobre Ta/TaN/Ti 68
- Figura 3.31.** Imágenes MEB de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico (a) -1,3 v 3 000 s (b) -1,3 v 6 000 s (c) -1,6 v 3 000 s (d) -1,6 v 6 000 s 69
- Figura 3.32.** FTIR de la formación de HAp sobre Ti con tratamiento químico 69
- Figura 3.33.** Imágenes MEB de la formación de HAp sobre Ta/TaN/316LVM (a) -1,4 V 3 000 s (b) -1,4 V 6 000 s (c) -1,7 V 3 000 s (d) -1,7 V 6 000 s 71
- Figura 3.34.** FTIR de la HAp depositada sobre Ta/TaN/SS316LVM 71
- Figura 3.35.** Imágenes MEB de la formación de HAp sobre SS316LVM (a) -1,2 V 3 000 s (b) -1,2 V 6 000 s (c) -1,4 V 3 000 s (d) -1,4 V 6 000 s 73
- Figura 3.36.** FTIR de la HAp depositada sobre SS316LVM con tratamiento químico 73
- Figura 3.37.** Imágenes MEB de la formación de la especie a las mayores condiciones (a) Ta/Ti -1,5V 6 000 s (b) Ta/SS316LVM -1,7 V 6 000 s 75
- Figura 3.38.** FTIR de la formación de HAp sobre (a) Ta/Ti y (b) Ta/SS316LVM por 6 000 s 76
- Figura 3.39.** Resumen de las imágenes MEB de la formación de hidroxiapatita a las mejores condiciones encontradas con el método biomimético en

presencia de campo magnético y el método electroquímico, en los diferentes sustratos utilizados en la experimentación	79
<b>Figura 3.40.</b> Análisis FTIR de la deposición de Hidroxiapatita a las mejores condiciones encontradas en el método biomimético con campo magnético, en los diferentes sustratos estudiados	80
<b>Figura 3.41.</b> Análisis FTIR de la deposición de Hidroxiapatita a las mejores condiciones encontradas en el método electroquímico, en los diferentes sustratos estudiados	80
<b>Figura AIII.1.</b> Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en Ti con tratamiento químico	104
<b>Figura AIII.2.</b> Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre Ti con tratamiento químico	104
<b>Figura AIII.3.</b> Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en Ta/TaN/SS316LVM	105
<b>Figura AIII.4.</b> Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre en Ta/TaN/SS316LVM	106
<b>Figura AIII.5.</b> Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en SS316LVM	107
<b>Figura AIII.6.</b> Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre SS316LVM	107
<b>Figura AV.1.</b> Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en Ti con tratamiento químico	113
<b>Figura AV. 2.</b> Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre Ti con tratamiento químico	113
<b>Figura AV.3.</b> Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en Ta/TaN/SS316LVM	115
<b>Figura AV.4.</b> Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre en Ta/TaN/SS316LVM	115
<b>Figura AV.5.</b> Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en SS316LVM	116
<b>Figura AV.6.</b> Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre SS316LVM	117



## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>PÁGINA</b>
<b>ANEXO I</b>	97
Análisis EDS de la formación de hidroxiapatita sobre los diferentes sustratos con el método biomimético en presencia de campos magnéticos	
<b>ANEXO II</b>	100
Ejemplo de cálculo de la masa de hidroxiapatita sobre área expuesta	
<b>ANEXO III</b>	102
Análisis estadístico en el programa STATGRAPHIC CENTURION de las variables campo magnético y tiempo sobre la masa de hidroxiapatita formada	
<b>ANEXO IV</b>	109
Análisis EDS de la formación de hidroxiapatita sobre los diferentes sustratos por el método electroquímico	
<b>ANEXO V</b>	111
Análisis estadístico en el programa STATGRAPHIC CENTURION de las variables potencial y tiempo sobre la masa de hidroxiapatita formada	
<b>ANEXO VI</b>	118
Ejemplo de cálculo del incremento/disminución del ángulo de contacto y de la masa de hidroxiapatita obtenida en los diferentes sustratos	

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la deposición de hidroxiapatita, HAp, sobre sustratos metálicos para aplicaciones biomédicas en presencia de campos magnéticos y por métodos electroquímicos. Para esto, se realizó la caracterización estructural y superficial de los sustratos Titanio (Ti) y acero inoxidable (SS316LVM), Titanio, Acero 316LVM con recubrimiento de Tántalo (Ta/Ti, Ta/SS316LVM) y, Titanio y Acero inoxidable 316LVM con recubrimiento de Tántalo/Nitruro de Tántalo (Ta/TaN/Ti, Ta/TaN/SS316LVM), por medio de Microscopía Electrónica de Barrido, Difracción de rayos X, Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier y Pruebas de hidrofiliidad. Para el método biomimético en presencia de campos magnéticos se preparó un fluido corporal simulado, en el cual los sustratos fueron inmersos por 7, 10 y 14 días, con una exposición de campos magnéticos de 0,15 y 0,22 T. Para el método electroquímico se utilizó una celda de tres electrodos, en la cual se colocaron los sustratos metálicos, como electrodos de trabajo y el fluido corporal simulado como electrolito. La caracterización electroquímica de los sustratos, por medio de espectroscopía de impedancia, permitió conocer el comportamiento capacitivo y resistivo de los sustratos. La deposición electroquímica se realizó en cada sustrato a diferentes potenciales, los cuales fueron determinados con la técnica de voltametría cíclica, a tiempos de 3 000 y 6 000 s. Se determinó que la presencia del campo magnético, en el método biomimético, aceleró la deposición de hidroxiapatita, con un incremento de masa de HAp formada superior al 120 %, en 14 días y a 0,22 T. Por otro lado, las mejores condiciones de formación de hidroxiapatita bajo el método electroquímico fueron para Ti, SS316LVM, Ta/TaN/Ti, Ta/TaN/SS316LVM a -1,6 V, -1,4 V, -1,5 V, -1,7 V, respectivamente, a 6 000 s. Todas las películas de HAp formadas por ambos métodos presentaron relaciones de Ca/P mayores a 1, lo que sugiere que dichas películas puedan ser usadas como biomateriales. El sustrato de Ta/Ti fue el que presentó la mejor formación de hidroxiapatita por ambos métodos, con una masa de HAp formada por área de 0,22 mg/mm<sup>2</sup> con el método biomimético, en presencia de campos magnéticos y 0,47 mg/mm<sup>2</sup> con el método electroquímico. En ambos casos, las relaciones de Ca/P fueron cercanas a 1,67, relación ideal de la hidroxiapatita, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>, presente en los huesos.

## INTRODUCCIÓN

Cada año más de 2,2 millones de personas en todo el mundo requieren algún tipo de prótesis o injerto óseo debido a accidentes, traumatismos o enfermedades degenerativas (Javaid y Kaartinen, 2013, p. 24), lo que genera cada día la demanda de nuevas tecnologías para la fabricación de estos implantes. En la actualidad los implantes ortopédicos son fabricados principalmente de acero inoxidable (SS), titanio (Ti) y aleaciones de magnesio, debido a su resistencia mecánica y carácter inerte. No obstante la falta de interacción de éstos con el tejido óseo evita que el implante se integre con el tejido duro circundante, y que con el pasar del tiempo se presenten anomalías de reacción a cuerpos extraños y de corrosión (Baker et al., 2006, p. 1351).

Una de las formas de protección de implantes más usadas en el presente es la deposición de hidroxiapatita (HAp) sobre diferentes sustratos, la cual es utilizada en distintas aplicaciones como los implantes óseos y dentales, debido a sus excelentes propiedades de biocompatibilidad y de inhibición de los iones del metal sobre el medio biológico (Thirugnanam, Sampath y Chakkingal, 2009, p. 76). Entre los principales métodos para formar hidroxiapatita sobre los sustratos, el método biomimético es el más utilizado, éste fue desarrollado por Kokubo y Takadama (2006), y consiste en la inmersión de las muestras en fluido corporal simulado (SBF) que asemeja las características inorgánicas del plasma sanguíneo e imita las condiciones fisiológicas del cuerpo humano, durante el proceso de biomineralización, encontrándose como limitante que ésta deposición puede tardar varias semanas (pp. 2907-2908). Para disminuir los tiempos de formación de estas películas, Pecheva, Pramatarova, Maitz y Pham (2003) utilizaron soluciones con mayor concentración de iones calcio y fósforo (p. 775). Thirugnanam, Sampath y Chakkingal (2009) realizaron pretratamientos de superficie a los sustratos metálicos para obtener un mayor anclaje de la HAp, con tratamientos químicos, de oxidación y pre-calcinación, entre otros (pp. 82-89).

Por otro lado, otros investigadores proponen el uso de otros métodos de obtención de hidroxiapatita distintos al biomimético. Zhang, Tao, Pang, Wang, W y Wang, T

(2006) proponen el uso de la deposición electroquímica de HAp en titanio, con soluciones de calcio y fósforo a un pH ácido durante 2 h, que ayudó a la activación de los procesos de nucleación y crecimiento de cristales de HAp en cortos períodos de tiempo (p. 634). Asimismo, Isa, Mohd y Yury (2012) utilizaron la deposición electroquímica de HAp en titanio, con una solución de calcio y fósforo a 80 °C por 30 min, tiempo durante el cual observaron la formación inicial de cristales de hidroxiapatita (p. 47).

En el presente trabajo se plantea evaluar el uso de métodos electroquímicos en la formación de hidroxiapatita y el efecto de la aplicación de campos magnéticos para mejorar la deposición de HAp, sobre sustratos de acero inoxidable tipo bioline SS316LVM y titanio, con y sin recubrimientos de películas delgadas de Ta y TaN/Ta, sustratos que tienen un alto potencial de aplicaciones biomédicas, debido a la alta biocompatibilidad de estos recubrimientos. En ambos casos, se pretende simular la formación de hidroxiapatita en el cuerpo humano, mediante el uso de fluido corporal simulado (SBF).

# **1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## **1.1. BIOMATERIALES PARA IMPLANTES ÓSEOS: DEFINICIÓN, CLASIFICACIÓN, PROPIEDADES Y APLICACIONES**

Los biomateriales según la American National Institute of Health son “Cualquier sustancia o combinación de sustancias, distintas de las drogas, de origen sintético o natural, que pueden utilizarse durante cualquier período de tiempo, lo que aumenta o sustituye parcial o totalmente cualquier tejido, órgano o función del cuerpo, con el fin de mantener o mejorar la calidad de vida del individuo” (Bergmann y Stumpf, 2013, p. 9). En sí, los biomateriales son materiales de cualquier tipo, ya sean metales, cerámicos, polímeros, etc., que pueden ser utilizados como reemplazo de un tejido u órgano del cuerpo y que interactúan con los sistemas biológicos.

Desde hace más de 2 600 años A.C el uso de biomateriales se dio a conocer gracias a las culturas egipcia, griega y romana, donde se han encontrado osamentas con reemplazos metálicos en sus cuerpos. En el siglo XVI, el oro y la plata fueron muy utilizados en reparación dental, y el hierro para inmovilización de fracturas, así como, materiales no metálicos en suturas de heridas. Ya para los años 60, metales como el acero inoxidable, titanio, niobio y tántalo se consolidaron como materiales por excelencia para implantes, de igual forma polímeros, poli metacrilato de metilo (PMMA), polietileno de peso molecular ultra alto (UHMWPE) y siliconas, biocerámicas, ortofosfatos de calcio, zirconia entre otros (Nuñez, 2001).

Los biomateriales para implantes, en la actualidad se definen como sustitutos óseos artificiales con adecuadas propiedades mecánicas y de resistencia al desgaste y con una respuesta tisular óptima, que permiten aumentar la esperanza de vida de pacientes con problemas en el sistema óseo (Jara, Fraise, Flaud, Fréty y Gonzalez, 2016, pp. 1-2). El desarrollo de este tipo de prótesis sigue avanzando y su fabricación requiere de expertos en diversos campos, que tienen como objetivo aumentar la funcionalidad y la biocompatibilidad de los implantes en el cuerpo.

### 1.1.1. CLASIFICACIÓN

Los biomateriales para implantes óseos han sido ampliamente desarrollados en el campo de la medicina e ingeniería, por lo que existen varias clasificaciones de éstos, de acuerdo a su interacción con los tejidos y la naturaleza de los biomateriales (Abdullaeva, 2017, p. 192).

#### 1.1.1.1. Según la interacción con los tejidos

Los biomateriales según su interacción con los tejidos se clasifican en:

- Biotolerables, materiales soportados por el cuerpo, los cuales se separan del mismo por un tejido fibroso, producido por la liberación de compuestos químicos, iones y otros elementos resultantes del material implantado (Dos Santos, Savaris y Brandalise, 2017, pp. 6-7). Entre estos materiales se destacan los poliméricos sintéticos y la mayoría de los metales.
- Bioinertes, materiales que una vez colocado en el cuerpo humano tienen una interacción mínima con su tejido circundante. Algunos ejemplos de este tipo de material son el acero inoxidable, titanio, alúmina, zirconia y polietileno de peso molecular ultra alto (The University of Rhode Island, 2015).
- Bioactivos, materiales que forman enlaces químicos con el tejido óseo, proceso conocido como osteointegración. Los más empleados en la actualidad son el fosfato de calcio, la hidroxiapatita y vitrocerámicas (Heness y Ben-Nissan, 2004).
- Biodegradables, materiales que están en contacto con el cuerpo durante un cierto período de tiempo y son reabsorbidos o disueltos. Su aplicación es de gran interés; ya que no hay necesidad de una nueva cirugía para la sustitución del implante (Dos Santos, Savaris y Brandalise, 2017, p. 7). En este grupo se encuentran el fosfato tricálsico y copolímeros (Heness y Ben-

Nissan, 2004).

La repuesta de un tejido a un biomaterial es un tema de interés, ya que muchos de los desafíos en la producción de nuevos dispositivos médicos y materiales biocompatibles se centran en la mitigación de la respuesta del organismo a un cuerpo extraño que compromete la funcionalidad *in vivo* y la durabilidad de cualquier dispositivo implantado (Ferraro, 2016, p. 3; Morais, Papadimitrakopoulos y Burgess, 2010, p. 190).

#### **1.1.1.2. Según la naturaleza del material**

Los biomateriales según la naturaleza del material se clasifican en:

- Metálicos, son los materiales más utilizados en implantes óseos debido a sus propiedades de resistencia, ductilidad, maleabilidad, dureza y su carácter inerte, que proporciona gran compatibilidad con el cuerpo (Basu, 2016, pp. 5-6; Patel y Gohil, 2012, p. 94; Yoruç y Cem Şener, 2012, pp. 72-73). La biocompatibilidad del implante metálico es de gran preocupación por la corrosión al encontrarse en un medio vivo, el metal puede sufrir un proceso de desintegración, que provoca daños en los tejidos circundantes y los órganos (Parida, Behera y Chandra, 2017, p. 33). Entre los más utilizados se destacan el acero inoxidable, titanio, aleaciones de cromo-magnesio y tántalo.

El acero inoxidable es una aleación metálica usada para implantes de fijación temporal como tornillos, placas, clavos intramedulares para huesos. Los aceros inoxidables AISI 316 y AISI 316 LVM son los más adecuados para uso ortopédico debido a su biocompatibilidad y bajo costo (Navarrete, 2008, p.1). El acero AISI 316 LVM se fabrica a alto vacío para alcanzar niveles de pureza y limpieza, ya que este es utilizado en procesos quirúrgicos. Tiene excelente resistencia en entornos fisiológicos y a la corrosión general (Alloy Wire International, 2014).

El titanio comercialmente puro y la aleación Ti-6Al-4V son los metales para implantes más usados, debido a que no producen reacciones alérgicas y en los tejidos vivos representan superficies sobre las que el hueso crece y se adhiere. El titanio es un material ligero, con alta resistencia a la corrosión, bajo módulo de elasticidad y baja expansión térmica, estas propiedades más la biocompatibilidad favorecen su uso como biomaterial (Navarrete, 2008, pp. 4-5). Por otro lado, el titanio presenta una formación espontánea de una capa de óxido en la superficie ( $\text{TiO}_2$ ), que evita la difusión del oxígeno del medio ambiente que proporciona resistencia a la corrosión (Oldani y Dominguez, 2012).

El tántalo (Ta) y el nitruro de tántalo (TaN), hoy en día se utilizan como recubrimientos por sus propiedades tribiológicas y su resistencia a la corrosión. El tántalo tiene una excelente propiedad anticorrosiva gracias a la formación natural de una película  $\text{Ta}_2\text{O}_5$  en su superficie, aunque su producción a granel se dificulta por las altas temperaturas de fundición ( $<3\ 000^\circ$ ) (Cristea y Munteanu, 2015, p. 153). El TaN es muy conocido por su alta resistencia al desgaste y corrosión, posee excelentes propiedades mecánicas y biomédicas, ha sido usado para válvulas de corazón artificiales, mucho más compatible que el TiN o Ta (Jara, Fraise, Flaud, Fréty y González, 2016, p. 2).

- Polímeros, son materiales orgánicos formados por grandes cadenas de monómeros, éstos tienen varias aplicaciones en biomateriales, a pesar que no son tan biocompatibles como los metales. Las ventajas principales de los biomateriales poliméricos son: facilidad de fabricación para producir diversas formas (látex, película, lámina, fibras, etc.), facilidad de procesamiento secundario, costo y disponibilidad. Entre los más usados están: Poli metacrilato de metilo y Polietileno de peso molecular ultra alto y siliconas (Parida, Behera y Chandra, 2017, p. 33).
- Cerámicos, son materiales químicamente inertes que tienen alto módulo de elasticidad, por lo que las fallas en la cerámica se producen con poca o



ninguna deformación plástica. Otras propiedades importantes son su alta dureza, resistencia a altas temperaturas como al desgaste (Basu, 2016, p. 9) . Además estos biomateriales presentan alta porosidad, que ayuda a que el hueso se implante dentro de la estructura porosa que fortalece la unión con integridad estructural. Todas estas propiedades juntas las hacen ideales para aplicaciones biomédicas En la actualidad los más usados son: los ortofosfatos de calcio, zirconia y alúmina (Navarrete, 2008, p. 5).

Ortofosfatos de calcio son un conjunto de compuestos formados de calcio y diversos fosfatos, donde algunos son bioactivos y son usados como implantes óseos por su similitud química en el componente mineral de los huesos de los mamíferos. En la Tabla 1.1 se muestra la clasificación de los diferentes ortofosfatos de calcio según su relación de calcio y fósforo (Ca/P). Los compuestos más utilizados para biomateriales son aquellos que tiene una relación de Ca/P mayor a 1, ya que los que tienen una relación menor a 1, no tienen buena compatibilidad con el cuerpo debido a su solubilidad y acidez (Dorozhkin, 2010, pp. 1467-1468).

**Tabla 1.1.** Tipos de ortofosfatos de calcio según la relación Ca/P

Ca/P relación molar	Compuesto	Fórmula	Solubilidad a 25 °C
0,5	Fosfato anhidro monocálcico (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1,14
1,0	Fosfato anhidro de dicalcio (DCPD), mineral monetita	$\text{CaHPO}_4$	6,9
1,33	Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	96,6
1,5	$\beta$ - Fosfato tricálcico	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	28,9
1,2 -2,2	Fosfato de calcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , $n=3-4.5$ ; 15-20% $\text{H}_2\text{O}$	No determinado
1,5- 1,67	Hidroxiapatita deficiente de calcio (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}$ ( $0 < x < 1$ )	~85,1
1,67	Hidroxiapatita (HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	116,8

(Dorozhkin, 2010, p. 1468)

### 1.1.2. PROPIEDADES

Todos los biomateriales que estén en contacto directo con el organismo deben tener características especiales para evitar algún tipo de alergia o proceso inflamatorio en el cuerpo. Entre las propiedades más importantes se encuentran la biocompatibilidad, biofuncionalidad, y estabilidad tanto química como mecánica, al mismo tiempo el implante debe ser estéril para evitar irritaciones, rechazo o pérdida de la prótesis (Dos Santos, Savaris y Brandalise, 2017, p. 7).

La biocompatibilidad según Williams (2008), se refiere “a la capacidad de un biomaterial para llevar a cabo su función deseada con respecto a una terapia médica, sin provocar ningún efecto local o sistémico indeseable en el receptor o beneficiario de dicha terapia, sino generar la respuesta celular o tisular beneficiosa más apropiada en esa respuesta específica, y optimizar el desempeño clínico de esa terapia” (p. 2951).

Del mismo modo la biofuncionalidad es la propiedad que permite al material realizar la función deseada sin perjudicar al entorno físico (Patel y Gohil, 2012, p. 92). La estabilidad mecánica y química son propiedades que evitan que el material no tenga reacciones perjudiciales con el cuerpo.

Asimismo existen propiedades de interacción con los tejidos como la osteoinducción, la oseointegración y la osteoconducción. Siendo la osteoinducción el proceso en el cual las células son estimuladas para desarrollarse en el tejido óseo y la oseointegración y osteoconducción son procesos donde el hueso maduro se deposita directamente en los materiales del implante, sin intervención del tejido duro o fibroso y promueven un ambiente apropiado para la formación de hueso nuevo (Albrektsson y Johansson, 2001, p. 96; Basu, 2016, p. 40; Rubio, 2012, p. 134).

El éxito del biomaterial para una cierta aplicación está relacionado, además de las propiedades antes mencionadas, con sus propiedades físicas, químicas y mecánicas.

### 1.1.2.2. Propiedades Físicas

Las propiedades físicas del biomaterial son fundamentales para la adhesión celular. Cuando las células se adhieren a la superficie del biomaterial, se producen reacciones físico-químicas entre la célula y el biomaterial, que influyen en el comportamiento del mismo. Entre las propiedades físicas más estudiadas están la humectabilidad, carga superficial y rugosidad (Dos Santos, Savaris y Brandalise, 2017, p. 8)

La humectabilidad es una de las propiedades más importantes para la absorción de proteínas, adhesión celular y bacteriana, coagulación de la sangre en implantes (Menzies y Jones, 2010, p. 388). Cuando la superficie de un biomaterial es hidrofílica existe una mayor absorción de proteínas, ya que los medios celulares están basados en agua (Liu, Zhang y Hao, 2016, p. 879). Menzies y Jones (2010) examinaron la adhesión de la matriz extracelular de proteínas, como fibronectina, fibrinógeno y colágeno, en dos sustratos artificiales. Un sustrato era hidrófilo con un ángulo de contacto de  $24^\circ$ , y el otro sustrato era hidrófobo con un ángulo de  $86^\circ$ . Los resultados mostraron que la absorción de las proteínas en las superficies hidrófobas era menor que en las superficies hidrofílicas, como se esperaba (p. 391).

La carga superficial controla la atracción o repulsión electrostática que dicta que proteínas se adsorberán, ésta se genera cuando un material se sumerge en una solución, por ejemplo acuosa, se establecen una serie de reacciones que generan una carga neta en la superficie del material. La medición de la carga superficial se realiza por el potencial zeta (Dory, 2015, p. 5).

La rugosidad del biomaterial también juega un papel importante en la adhesión y el comportamiento celular. Una superficie lisa y una superficie rugosa tienen diferentes áreas de contacto con moléculas y células por lo que influye en el tipo de enlaces de las unidades biológicas. En la mayoría de los casos las células prefieren la superficie áspera que las lisas, debido al hecho de que las superficies rugosas favorecen la proliferación de las mismas (Cases, 2015, p. 53).

### **1.1.2.3. Propiedades Químicas**

Las propiedades químicas, al igual que las mecánicas, influyen en el tipo de enlace celular y determinan la estabilidad química y reactividad del biomaterial. El ambiente corporal es severo y puede causar corrosión de los biomateriales (Dos Santos, Savaris y Brandalise, 2013, p. 10; Rodil, 2009, p. 72).

A su vez la corrosión altera la estabilidad química e integridad mecánica de los biomateriales, lo que puede provocar un fallo en el implante o degradación del mismo, que generan modificaciones en la estructura del material y, en consecuencia, modificaciones en sus propiedades. Los grupos químicos como carboxilo (-COOH), hidroxilo (-OH), amino (-NH<sub>2</sub>) y metilo (-CH<sub>3</sub>) que se forman alrededor del biomaterial afectan a la proteína absorbida y la interacción célula-proteína (Dos Santos, Savaris y Brandalise, 2017, p. 10).

### **1.1.2.4. Propiedades Mecánicas**

Entre las principales propiedades mecánicas que se evalúan en los biomateriales para implantes óseos se tiene: módulo de Young, rigidez del material, ductilidad, resistencia a la tracción, resistencia a la compresión y fatiga. (López, 2010). Es recomendable que los biomateriales tengan un módulo de Young próximo al del hueso, ya que aseguran una distribución de tensión uniforme y reducen el esfuerzo mecánico después de la colocación del implante; así como propiedades de resistencia a la compresión con valores altos de rendimiento que evitan fracturas y mejoran la estabilidad funcional. De igual manera la ductilidad es importante para modelar la formación de biomateriales, la dureza y la tenacidad también evalúan la respuesta del biomaterial; por ejemplo el aumento en la dureza reduce la incidencia de desgaste; y el aumento de la tenacidad hace que la fractura sea más difícil (Dos Santos, Savaris y Brandalise, 2017, pp. 10-11).

### 1.1.3. APLICACIONES

Debido a que cada biomaterial es diseñado para una función específica del cuerpo, estos tienen diferentes aplicaciones, algunas de las cuales se observan en la Tabla 1.2, que se presenta a continuación:

**Tabla 1.2.** Aplicaciones de diferentes biomateriales

Metales	Aplicaciones	Cerámicos	Aplicaciones	Polímeros	Aplicaciones
Acero inoxidable	Implantes dentales para la fijación de fractura, dientes, Válvulas cardíacas, instrumentos espinales, instrumentos quirúrgicos, tornillos, placas de fractura, clavos de cadera, prótesis de hombro	Alúmina	Reemplazo total articular artificial, componentes acetabulares y femorales, espaciadores y extensores vertebrales, anclajes ortopédicos, implantes dentales para fijación de dientes	Poli metacrilato de metilo (PMMA)	Cemento óseo, dientes artificiales, lentes intraoculares
Titanio y sus aleaciones	Reemplazo hueso y articulaciones (cadera, rodilla), Implantes dentales para fijación de dientes, Tornillos, Suturas, dispositivos de fijación ósea como clavos, tornillos y placas, válvulas cardíacas artificiales instrumentos quirúrgicos, marcapasos cardíacos	Zirconio	Reemplazo para caderas, rodillas, dientes, tendones y ligamentos, reparación de enfermedad periodontal, rellenos óseos después de cirugía de tumor	Siliconas	Implantes de cirugía plástica, catéteres válvulas, de corazón, membranas permeables al oxígeno, prótesis faciales y de la oreja
Tántalo y Nitruro de Tántalo	Válvulas de corazón, prótesis de hombro, rodillas, recubrimientos de metales base	Fosfato de calcio	Tratamientos de la piel, implantes dentales, reconstrucción de mandíbula, ortopedia, cirugía facial, reparación de oreja, nariz y garganta, implantes dentales	Polietileno de ultra alto peso molecular	Tejidos de alta resistencia

( Dos Santos, Savaris y Brandalise., 2017, pp. 10-12; Navarrete, 2008, pp. 2-7; Yoruç y Cem Şener, 2012, pp. 72-87)

En los últimos años el desarrollo de biomateriales biodegradables en los campos de ingeniería de tejidos, medicina regenerativa, administración controlada de fármacos y bionanotecnología, ha aumentado. Por ejemplo, andamios tridimensionales (soportes que asemejan la matriz de una célula) se han usado, para generar tejido de cartílago *in vitro* a partir de células madre que potencialmente se pueden implantar en el cuerpo humano (Ferraro, 2016, p. 3).

## **1.2. HIDROXIAPATITA: DEFINICIÓN, PROPIEDADES Y MÉTODOS DE DEPOSICIÓN**

### **1.2.1. HIDROXIAPATITA: DEFINICIÓN**

Los huesos son un sistema complejo compuesto de 70 % hidroxapatita, 20 % colágeno y 10 % de agua. En los mamíferos, la forma mineral principal se llama apatita biológica, que es una apatita hidroxildeficiente y rica en carbonatos con una relación estequiométrica de calcio y fósforo (Ca/P) de 1,67 con una estructura hexagonal, con el grupo espacial  $P6_3/m$  (García y Reyes, 2006; pp. 90-91; Szcześ, Hołysz, y Chibowski, 2017, p. 2). La hidroxapatita es un biocerámico, formado por átomos de calcio, fósforo e hidrógeno de acuerdo con la fórmula  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  con la capacidad de unirse químicamente con el tejido óseo, haciéndola bioactiva. Su similitud con el hueso, ha permitido que se convierta en una alternativa como sustituto óseo en diferentes tratamientos médicos, en especial en la cirugía maxilofacial (Pareja, Escobar, Ossa y Echavarría, 2008, p. 69).

En varios estudios se demostró que antes de la formación completa de hidroxapatita existen fases intermedias que se desarrollan. Entre las fases que se han propuesto como fases precursoras en la formación de HAp están: fosfato de calcio amorfo (ACP), fosfato dihidratado de dicalcio (DCPD), fosfato octacálcico (OCP), y hidroxapatita deficiente de calcio (CDHA). El número de fases precursoras, están influenciadas por la temperatura, el pH, catalizadores y naturaleza de la reacción (Jara, Fraisse, Flaud, Fréty y González, 2016, p. 2).

## 1.2.2. PROPIEDADES

La hidroxiapatita es un biomaterial que posee propiedades mecánicas, biológicas, eléctricas entre otras que permiten que sea un material ampliamente usado en implantes óseos.

### 1.2.2.1. Propiedades Mecánicas

La hidroxiapatita debería tener propiedades similares a las del hueso, para ayudar a la remodelación ósea, pero debido al origen cerámico de ésta, presenta deficientes propiedades mecánicas (Chetty, Wepener, Marei, Kamary y Moussa, 2013, p. 16). En la Tabla 1.3 se muestran algunas propiedades mecánicas de la hidroxiapatita comparada con la de los huesos, se observa que la tenacidad a la fractura de la HAp está entre 1,0 MPa m<sup>1/2</sup> (hueso humano: 2-12 MPa m<sup>1/2</sup>) y disminuye casi linealmente con aumento de la porosidad. El módulo de Young de la HAp densa está en el rango de 35-120 GPa, más o menos similar a los componentes más resistentes de los tejidos calcificados naturales. Debido a su alta fragilidad, el uso de implantes de HAp está restringido a aplicaciones sin carga (Chetty, Wepener, Marei, Kamary y Moussa, 2013, p. 17; Dorozhkin, 2010, p. 1467).

**Tabla 1.3.** Comparación entre las propiedades mecánicas de los huesos vs Hidroxiapatita

Propiedades Mecánicas	Hueso cortical	Hueso esponjoso	Dentina	Esmalte dental	Hidroxiapatita densa	Hidroxiapatita porosa
Fuerza de compresión (MPa)	100-230	2-12	295	384	120-900	2-100
Fuerza de tensión (MPa)	50-150	10-20	51,7	10,3	38-300	3
Tenacidad a la fractura (MPa.m <sup>1/2</sup> )	2-12	NA	-	-	1	-
Módulo de Young (GPa)	18-22	-	18-21	74-82	35-120	-

(Chetty, Wepener, Marei, Kamary y Moussa, 2013, p. 17)

### **1.2.2.2. Propiedades Biológicas**

La hidroxiapatita ha sido ampliamente utilizada como sustituto óseo artificial, debido a sus propiedades biológicas favorables que incluyen: biocompatibilidad, bioafinidad, bioactividad, osteoconducción, osteointegración, y osteoinducción. Asimismo, el hecho que la hidroxiapatita contiene sólo iones de calcio y fosfato proporciona baja toxicidad local o sistémica adversa en el cuerpo. Las superficies de HAp soportan la adhesión, el crecimiento y la diferenciación de las células osteoblásticas y se depositan en el hueso nuevo por sustitución progresiva del hueso vivo adyacente (Chetty, Wepener, Marei, Kamary y Moussa, 2013, p. 18).

### **1.2.2.3. Propiedades Eléctricas**

Las propiedades eléctricas de la biocerámica de ortofosfato de calcio influyen en las aplicaciones biomédicas. Por ejemplo, existe un interés en la polarización de las biocerámicas de HAp para generar una carga superficial mediante la aplicación de campos eléctricos a temperaturas elevadas ( $> 200$  °C). Igualmente la polarización de la HAp permite acelerar la reorganización del citoesqueleto de células similares a los osteoblastos (Dorozhkin, 2010, p. 1469).

## **1.2.3. MÉTODOS DE DEPOSICIÓN**

La gran variedad de grupos de fosfatos de calcio hace que su estudio sea extenso y la estabilidad sensible de fosfatos a cambios menores en: composición, pH y condiciones de reacción, los hace bastante complejos. Estas características determinan la aplicación final del material, por lo que es importante desarrollar un método de síntesis que permita controlar: la morfología, la composición química, la cristalinidad, la distribución del tamaño de partícula y la aglomeración del compuesto a formar (Chetty, Wepener, Marei, Kamary y Moussa, 2013, p. 4; Cox, 2015, p. 2). Existen diferentes métodos para sintetizar hidroxiapatita, mismos que son descritos brevemente en la Tabla 1.4.



**Tabla 1.4.** Métodos de síntesis de Hidroxiapatita

Métodos de síntesis	Tamaño de partículas (nm)	Ventajas	Desventajas
Precipitación	> 0,1	Bajas temperaturas	Difícil de reproducir, alto costo
Térmicos	> 0,05	Tamaño de cristal homogéneos	Costo depende de la morfología
Reacciones estado sólido	> 2	Costo medio	Lento y difícil en la producción de la reacción
Sol-gel	> 0,001	Bajo costo	Dificultad en formar la fase simple
Plasma inducido por descarga superficial	> 0,45	Tiempo corto	La partícula depende del tipo de combustible

(Cox, 2015, p. 7)

Por otro lado, los recubrimientos de hidroxiapatita en la superficie de los implantes pueden prepararse por diferentes técnicas, tales como: pulverización por plasma, deposición electroquímica, deposición por láser pulsado, deposición de sol-gel, spin-coating, sputtering y deposición biomimética, entre otros (Szcześ et al., 2017, p. 12). En la Tabla 1.5 se observan las ventajas y desventajas de los diferentes métodos de formación de películas de HAp.

**Tabla 1.5.** Métodos de deposición de recubrimientos de Hidroxiapatita

Métodos de deposición	Espesor (mm)	Ventajas	Desventajas
Plasma spraying	30-200	Velocidad de deposición alta	Altas temperaturas, recubrimientos amorfos
Sputter coating	0,5-3	Recubrimiento uniforme	Tiempo de formación largo
Láser pulsado	0,05-5	Recubrimiento con fases cristalina y amorfa	Precisión en la línea técnica
Electroforesis	0,1-2	Velocidad de deposición alta	Altas temperaturas
Electroquímica	0,05-0,5	Temperatura baja, recubrimientos uniformes	Baja adhesión
Biomimético	< 30	Bajas temperaturas, simulación de crecimiento en el cuerpo	Tiempo de formación largo, control de pH

(Agrawal, Singh, Puri y Prakash, 2011, p. 728; Szcześ et al., 2017, p. 12)

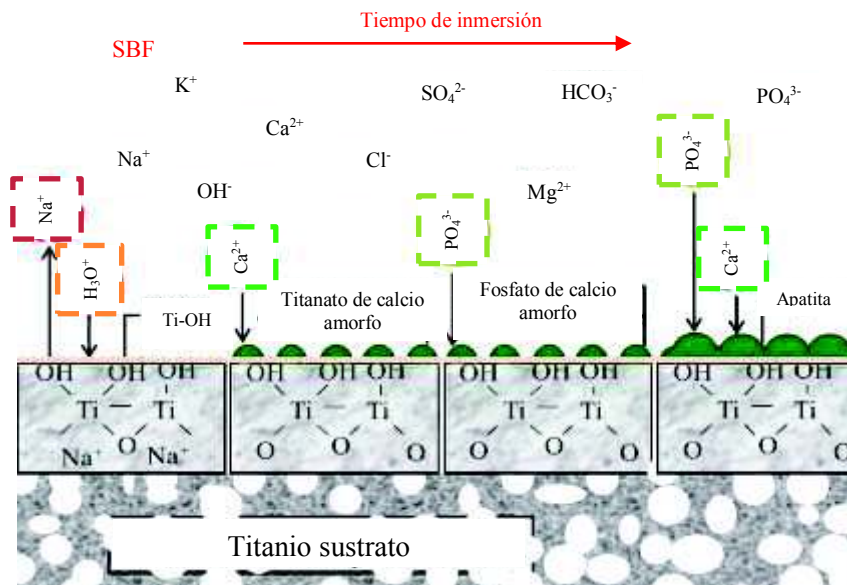
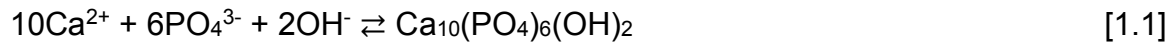
A continuación se describen los métodos que se estudiarán en este trabajo: el método biomimético y la deposición electroquímica.

### **1.2.3.1. Método Biomimético**

El método biomimético ha sido muy utilizado para la deposición de hidroxiapatita, éste consiste en la inmersión de un sustrato metálico en un fluido corporal simulado (SBF), el cual tiene una composición similar a la composición inorgánica del plasma sanguíneo, a condiciones fisiológicas del cuerpo (Temperatura: 36,5 - 37,0 °C y pH: 7,2 - 7,4), la obtención de hidroxiapatita puede tardar entre 15 a 45 días (Kokubo y Takadama, 2006, pp. 2907-2908). En los años 80, ya se había realizado la inmersión de películas de sílice en soluciones de calcio y fósforo, donde se observó la formación de una capa de apatita. Con el tiempo Kokubo, Kim y Kawashita (2003) desarrollaron un fluido corporal simulado, en el que se obtuvieron películas de hidroxiapatita similares a las producidas en el cuerpo (p. 2163).

Para disminuir los tiempos de formación de estas películas, Pecheva, Pramatarova, Maitz y Pham (2003) utilizaron una solución SBF con una concentración calcio y fósforo 1,5 veces más alta que la tradicional con pH de 7,4, donde se obtuvieron puntos de nucleación luego de 108 h (pp. 775-776). Thirugnanam, Sampath y Chakkingal (2009) realizaron pretratamientos de superficie a los sustratos metálicos para obtener un mayor anclaje de hidroxiapatita, con tratamientos químicos, de oxidación y pre-calcinación, entre otros; y luego se realizó la inmersión, la cual obtuvo una formación favorable. En la Figura 1.1 se muestra el mecanismo de formación de apatita sobre titanio atacado con NaOH. Los grupos Ti-OH formados en la superficie del titanato de sodio después de sumergirse en SBF están cargados negativamente y, por lo tanto, se combinan selectivamente con los iones  $\text{Ca}^{2+}$  cargados positivamente en el fluido para formar titanato de calcio. A medida que los iones de calcio se acumulan en la superficie, ésta gana gradualmente una carga positiva general. Como resultado, la superficie cargada positivamente se combina con iones de fosfato cargados negativamente para formar fosfato de calcio amorfo. Este fosfato de calcio se transforma espontáneamente en apatita, porque la apatita

es la fase estable en el entorno corporal. La formación de hidroxiapatita en fluido corporal sigue la siguiente Reacción de equilibrio [1.1] (Nouri, Hodgson, y Wen, 2010, p. 435).



**Figura 1.1.** Mecanismo de formación de apatita sobre titanio (Kokubo, Kim y Kawashita, 2003, p. 2166)

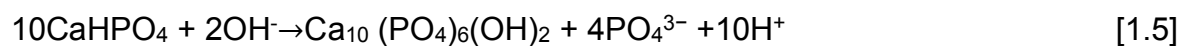
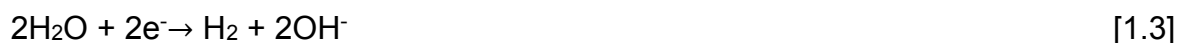
Por otra parte, Siddharthan, Sampath Kumar y Seshadri (2006), investigaron el efecto del campo magnético en recubrimientos de hidroxiapatita sobre titanio, donde realizaron la inmersión en SBF a 37 °C por 3 días, con un campo estable de 1 T, en la que se observó la formación de una película de HAp en el polo norte del campo, con cierta absorción de agua y carbonato. Esto permitió comprobar que el campo magnético aumentó la disolución de las fases precursoras metaestables y la formación de fases más estables (p. 13). Sin embargo no se ha estudiado la formación de HAp con un campo magnético soportable por el cuerpo humano (0,1 - 0,3 T).

### 1.2.3.2. Deposición Electroquímica

Una reacción electroquímica ocurre en la interfase entre un electrodo (conductor de

electrones) y un electrolito (conductor iónico) en una celda electroquímica, en la cual se da una reacción redox (reducción-oxidación). La reacción de oxidación ocurre en el ánodo, y la reducción en el cátodo. La deposición electroquímica es un método de formación de películas y recubrimientos que usa reacciones de reducción para depositar un analito en la parte superior de un electrodo mediante su disolución en un electrolito (Dissanayaka, 2011, p. 20).

Zhang, Tao, Pang, Wang, W y Wang, T (2006), realizaron la deposición electroquímica de hidroxiapatita en titanio, con soluciones de calcio y fósforo a un pH ácido durante 2 h, que obtuvo la activación de los procesos de nucleación y crecimiento de cristales de HAp en cortos períodos de tiempo (p. 634). Asimismo, Isa, Mohd y Yury (2012) utilizaron la deposición sobre titanio, con una solución de calcio y fósforo a 80 °C por 30 min, tiempo durante el cual se observaron la formación inicial de cristales de HAp (p. 47). En acero 316L se realizó la deposición electroquímica de hidroxiapatita con soluciones de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  a un potencial de 0 V a -1,6 V por 130 min, en la cual se obtuvo una formación de HAp controlada y con una morfología definida (Thanh et al., 2013, p. 2038). Durante la deposición electroquímica de hidroxiapatita ocurren un conjunto de reacciones. La Reacción [1.2] muestra como el electrolito experimenta una condición de equilibrio, luego en el lado del cátodo, la solución se descompone en gas hidrógeno e iones hidroxilo, como indica la Reacción [1.3]. A continuación en la Reacción [1.4] se observa que el  $\text{HPO}_4^{2-}$  se combina con los iones  $\text{Ca}^{2+}$  para producir precipitación y depósitos de  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Y finalmente el  $\text{OH}^-$  en la solución daría lugar a la formación de HAp, como se indica en la Reacción [1.5] (Durairaj y Ramachandran, 2016, p. 2160; Zhang, Tao, Pang, Wang, W y Wang, T, 2006, p. 634).



En la actualidad Liu, Xu y Jiang (2016) realizaron una deposición electroquímica de películas de tántalo sobre una aleación de Ti-6Al-4V y comprobaron la formación

de hidroxiapatita sobre éstas con resultados satisfactorios. Por otro lado, se han desarrollado películas delgadas de óxido de titanio, nitruro de tantalio y tantalio, que son materiales metálicos muy promisorios para lograr alta biocompatibilidad y protección al implante (Jara, Fraisse, Flaud, Fréty y González, 2016, p. 3), en los cuales los métodos de deposición electroquímica y biomimético han sido poco estudiados.

### **1.3. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE BIOMATERIALES**

La caracterización de un biomaterial es un paso esencial para conocer el comportamiento, estructura, propiedades y rendimiento del implante, que va ser implantado en el cuerpo humano, y que con el transcurso del tiempo no se produzca un rechazo o daño en la salud por parte del mismo. Entre las técnicas más utilizadas están: Microscopía electrónica de barrido (MEB), Difracción de rayos X (DRX), Fluorescencia de rayos X, espectroscopía infrarroja (FTIR), Microscopía de fuerza atómica (AFM) (Ratner, Hoffman, Schoen y Lemons, 2003, pp. 40-52). A continuación se explican las técnicas de caracterización usadas para caracterizar los sustratos y la hidroxiapatita obtenida en este estudio.

#### **1.3.1. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)**

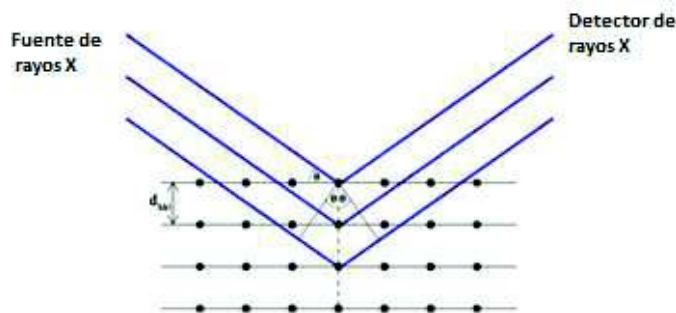
Es una técnica que permite obtener imágenes de alta resolución de superficies. El MEB utiliza electrones para la imagen, así como luz visible (Technique, 2014). Entre las ventajas de la microscopía electrónica están ampliación de imagen de mucho mayor ( $>100.000$  X) y profundidad de campo hasta 100 veces más que la microscopía óptica.

La información cualitativa y cuantitativa de análisis químico también se obtiene por medio de un espectrómetro de dispersión de energía de rayos X (EDS) (Technique, 2014). Gracias a esta técnica se ha podido observar las diferentes morfologías de los ortofosfatos de calcio y tener una idea de la relación de Ca/P que se forma en

ellos.

### 1.3.2. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

La difracción de rayos X es una de las técnicas más utilizadas para el análisis estructural de los materiales, ya que proporciona un análisis cuantitativo y cualitativo de los compuestos que no pueden ser medidos por otros medios. Ésta se basa en la interacción de la radiación electromagnética de rayos X con la materia, en la que un haz incide sobre un cristal, y es dispersado por los componentes atómicos ordenados del mismo, puesto que la longitud de onda de dicha radiación, es comparable con los espacios interplanares en los sólidos (Dissanayaka, 2011, p. 28). Estos rayos X reflejados crean un patrón de interferencia que puede ser modelado matemáticamente mediante la Ecuación [1.1], para obtener fácilmente la distancia entre dos planos reticulares ( $d_{hkl}$ ). La Figura 1.2 muestra las condiciones que se utilizan para identificar la reflexión de rayos X por el cristal.



**Figura 1.2.** Diagrama Ley de Bragg  
(Dissanayaka, 2011, p. 28)

$$n\lambda = 2d_{hkl}\text{sen}\theta_{hkl} \quad [1.1]$$

Donde:

$n$ : Número integral de la longitud de onda

$\lambda$ : Longitud de onda

$d_{hkl}$ : Espacio entre los planos cristalinos

$\theta_{hkl}$ : Ángulo de Bragg formado por los planos

La caracterización de películas delgadas se lleva a cabo mediante una variante del método anterior denominado rayos X de incidencia rasante., en el cual el ángulo del haz que incidente sobre la superficie de la muestra es pequeño y permanece fijo durante el análisis, por lo cual disminuye la influencia del sustrato base, con lo que se garantiza que el análisis sea solo de la película (Tolosa y Ortiz, 2014, p. 40).

### **1.3.3. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (FTIR)**

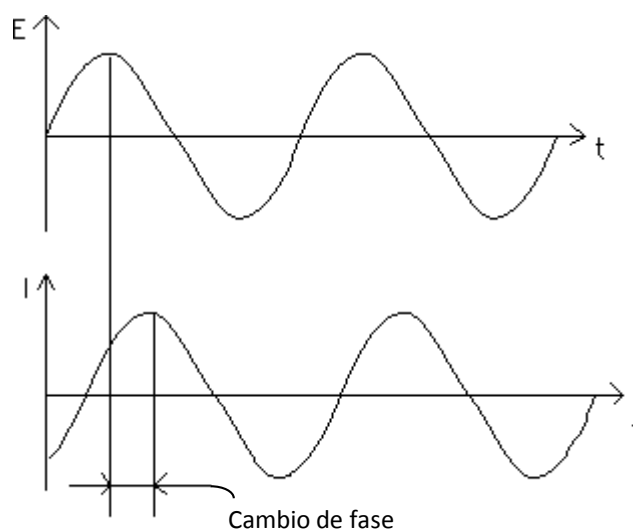
La radiación infrarroja se refiere generalmente a la parte del espectro electromagnético comprendida entre las regiones visible y de las microondas ( $400\text{ cm}^{-1} - 4000\text{ cm}^{-1}$ ), se utiliza en la técnica de espectrometría infrarroja para hacerla incidir sobre una molécula y así obtener de respuesta un espectro de bandas, donde se refleja la absorción característica de la frecuencia de vibración y/o rotación entre átomos o grupos de átomos de la referida molécula. Las vibraciones más representativas en esta técnica son las de tensión y flexión. Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión se forman por los cambios en el ángulo formado por dos enlaces (Universidad de Alcalá, 2015, p. 13). Un compuesto no puede tener el mismo espectro infrarrojo, ya que cada material es una combinación única de átomos (Thermo Nicolet, 2001).

### **1.3.4. ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA**

La espectroscopía de impedancia electroquímica es una medida de la habilidad de un circuito para resistir el flujo de la corriente eléctrica, que permite detectar las propiedades dieléctricas de un medio en un rango de frecuencias, así como revelar la información sobre el mecanismo de reacción de un proceso electroquímico (Tamilselvi, Murugaraj y Rajendran, 2007, p. 114).

Esta técnica consiste en la aplicación de un potencial sinodal en frecuencia variable al electrodo de trabajo. Las perturbaciones sinusoidales del potencial  $E(t)$  inducen

una corriente sinusoidal  $I(t)$  de la misma frecuencia ( $\omega$ ) superpuesta a la corriente de estado estacionario con el cambio de fase  $\varphi$  con respecto al potencial, Figura 1.3 y con la ayuda de un equipo electrónico se pueden procesar las mediciones de potencial-tiempo y corriente-tiempo, que muestra como resultados valores de impedancia correspondientes a cada frecuencia estudiada. Los datos obtenidos se pueden trazar en un diagrama de Bode o en un diagrama de Nyquist (Cesiulis, Tsyntsaru, Ramanavicius y Ragoisha, 2016, pp. 4-5).



**Figura 1.3.** Respuesta de corriente sinusoidal en un sistema lineal

La impedancia electroquímica de un electrodo se define de la forma análoga a la ley de Ohm como se indica en la Ecuación [1.6].

$$Z(\omega) = \frac{E(t)}{I(t)} = \frac{|E_o| \sin(\omega t)}{|I_o| \sin(\omega t - \varphi)} = Z_0 \frac{\sin(\omega t)}{\sin(\omega t - \varphi)} \quad [1.6]$$

Donde:

$E_o$  = Amplitud de potencial (V)

$I_o$  = Amplitud de corriente (A)

$\omega$  = Frecuencia (Hz)

$\varphi$  = Ángulo de fase ( $^\circ$ )

$Z_o$  = Amplitud de Impedancia ( $\Omega$ )



En coordenadas polares, estas funciones están representadas por vectores de longitud  $|E_0|$  y  $|I_0|$  que giran en sentido antihorario a la frecuencia radial  $\omega$  y se pueden describir en números complejos, como se expone en la Ecuación 1.7.

$$Z(\omega) = Z_0 \cos \varphi + Z_0 j \sin \varphi = Z'(\text{real}) + Z''(\text{ima}) \quad [1.7]$$

Donde:

$Z_0 \cos \varphi =$  Componente real de la impedancia ( $\Omega$ )

$Z_0 j \sin \varphi =$  Componente imaginario de la impedancia ( $\Omega$ )

Hryniewicz, Rokosz y Filippi (2009), estudiaron la resistencia del acero 316L después de tres tratamientos: pulido mecánica, electro-pulido y magnetoeléctro-pulido con espectroscopía de impedancia, cuyos resultados mostraron mayor resistencia electroquímica luego del proceso de magnetoeléctro-pulido, lo cual aumentaría la biocompatibilidad del acero (p. 143).

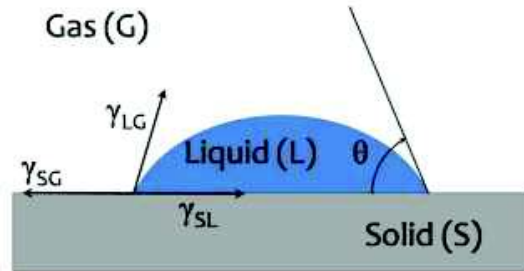
### 1.3.5. PRUEBAS DE HIDROFILICIDAD

Las características de hidrofiliidad juegan un papel importante en la interacción del biomaterial con el tejido, debido a que determinan la absorción de proteínas e influyen en la adhesión celular (Burgués, 2013, p. 2). Esta propiedad se mide por el ángulo de contacto, el cual es el ángulo formado por un líquido sobre una superficie.

El ángulo formado entre la interfaz sólido/líquido y la interfaz líquido/vapor, cuyo vértice está donde las tres interfaces se encuentran, constituye el ángulo de contacto como se ve en la Figura 1.4. La Ecuación [1.8] describe las interacciones entre las fuerzas de adhesión y cohesión, a partir de esta ecuación se puede determinar la energía superficial por unidad de área (Fernández, 2013, p. 12).

La literatura define una superficie como superhidrófoba cuando el ángulo de contacto del agua ( $\theta_w$ ) es mayor a  $150^\circ$  e hidrofóbico cuando es  $90^\circ < \theta_w < 150^\circ$ . Una

superficie tiene propiedades superhidrofílicas cuando  $\theta_w < 10^\circ$  y tiene propiedades hidrofílicas con un ángulo de contacto con el agua de  $10^\circ < \theta_w < 90^\circ$  (Minagar, Berndt y Wen, 2015, p. 159).



**Figura 1.4.** Montaje ángulo de contacto  
(Fernández, 2013, p. 12)

$$\gamma_{LG} \cdot \cos\theta = \gamma_{SG} - \gamma_{SL} \quad [1.8]$$

Donde:

$\gamma_{LG}$ : Tensión superficial líquido-gas

$\gamma_{SG}$ : Tensión superficial gas

$\gamma_{SL}$ : Tensión superficial líquido

$\theta$ : Ángulo de contacto

Estudios previos de Liu, Zhang y Hao (2016) reportan que cuando la superficie es hidrofílica existe una mayor absorción de proteínas, ya que los medios celulares están basados en agua (p. 879). Sin embargo, Dos Santos, Savaris y Brandalise (2017) reportan que las superficies hidrofóbicas pueden ser más beneficiosas para la formación de células, ya que se ha visto que la fibronectina plasmática humana (glucoproteína presente en todos los vertebrados) tiene mejor absorción en superficies de poliestireno superhidrófobo, que en poliestireno con superficie hidrofílica (p. 46).

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

En el presente trabajo de investigación, el estudio de la deposición de hidroxiapatita sobre sustratos metálicos para aplicaciones biomédicas en presencia de campos magnéticos y por métodos electroquímicos, se llevó a cabo bajo los lineamientos establecidos en los siguientes objetivos:

### **Objetivo general**

Evaluar el uso de métodos electroquímicos y el efecto de la aplicación de campos magnéticos en la deposición de hidroxiapatita, sobre diferentes sustratos metálicos usados para aplicaciones biomédicas.

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar las características estructurales y superficiales de distintos sustratos metálicos usados para aplicaciones biomédicas.
2. Estudiar el efecto de la aplicación de campos magnéticos en la formación de películas delgadas de hidroxiapatita sobre los distintos sustratos metálicos inmersos en fluido corporal simulado.
3. Estudiar la formación electroquímica de hidroxiapatita sobre los distintos sustratos metálicos, utilizando como electrolito fluido corporal simulado.

Para el estudio de la deposición de hidroxiapatita en presencia de campos magnéticos y por métodos electroquímicos se utilizaron seis tipos de sustratos usados comercialmente en aplicaciones biomédicas, estos fueron:

- Titanio sin recubrimiento.
- Acero inoxidable tipo bioline 316LVM sin recubrimiento.
- Titanio con recubrimiento de Tántalo.

- Acero inoxidable 316LVM con recubrimiento de Tántalo.
- Titanio con recubrimiento de Tántalo/Nitruro de tántalo.
- Acero inoxidable 316LVM con recubrimiento de Tántalo/Nitruro de tántalo

## **2.1. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y SUPERFICIALES DE LOS DISTINTOS SUSTRATOS METÁLICOS USADOS PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS**

Las características estructurales y superficiales de los materiales a utilizar en este trabajo son muy importantes ya que permitirán conocer la morfología y la composición química. A continuación se detalla el proceso de preparación de los sustratos antes de la respectiva caracterización.

### **2.1.1. PREPARACIÓN DE LOS SUSTRATOS**

Los sustratos metálicos con recubrimientos Ta y Ta/TaN fueron preparados por deposición catódica “sputtering” (proceso físico donde el sustrato es bombardeado con partículas energéticas como iones acelerados, que causa una expulsión de los átomos de la superficie, y estos átomos son condensados en un sustrato para formar una película delgada) (Sin, 2014, p. 8), en el Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología perteneciente al Instituto Venezolano de Investigación Científica de Venezuela.

El proceso se realizó en un equipo de pulverización catódica RF ALCATEL DION 300, con un cátodo de tántalo de 99,96 % de pureza. Las películas de Ta se depositaron durante 30 min bajo una atmósfera de argón a una presión de 6,5 Pa. Las películas delgadas de TaN se depositaron por pulverización catódica reactiva con una mezcla de gases Argón/Nitrógeno con una presión parcial de nitrógeno. La bicapa Ta/TaN fue depositada en dos pasos: primero se depositó la capa de TaN

según las condiciones expuestas anteriormente y un flujo de nitrógeno y presión constantes en la cámara durante todo el proceso. Luego, sin romper el vacío se depositó la capa de Ta siguiendo el procedimiento ya descrito (Jara, Fraisse, Flaud, Fréty y González, 2016, p. 4). Estos sustratos fueron proporcionados para su estudio dentro del marco del proyecto Prometeo “Síntesis y Caracterización de Películas de Hidroxiapatita”, llevado a cabo en la Facultad de Ciencias de la Escuela Politécnica Nacional.







Los sustratos metálicos sin recubrimiento se sometieron superficialmente a una preparación metalográfica hasta alcanzar un acabado final tipo espejo, basada en la norma ASTM E03-1:2007 *Preparation of metallographic specimen* (ASTM, 2010), la cual tiene como objetivo revelar los constituyentes y la estructura de los metales y sus aleaciones mediante microscopía óptica de luz o barrido electrónico. El lijado de las muestras se realizó con diferentes láminas de SiC (P400, P600, P800, P1 000, P1 200, P1 500 y P2 000) con ayuda de agua destilada. Para la fase de pulido se utilizaron paños con polvo de alúmina de 3, 1 y 0,05 micras. Luego los sustratos fueron introducidos en un baño ultrasónico por 5 min y después lavados con alcohol y agua desionizada.

Con el fin de aumentar la bioactividad, el crecimiento y la fijación de la película de hidroxiapatita, la superficie de los sustratos sin recubrimiento fue modificada con un ataque químico. Este ataque constó de dos fases, un ataque ácido y un ataque alcalino. Para el ataque ácido se realizó la limpieza de los sustratos en un baño de ultrasonido por 10 min con agua destilada y se secaron con aire comprimido; luego los sustratos fueron sometidos a un decapado químico con una mezcla de HCl al 18 % y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 48 % en peso, en un volumen 1:1; preparada la solución, se procedió a impregnar un trozo de algodón con la solución de ataque, y se frotó sobre la superficie de las muestras por treinta segundos (Meenakshi et al., 2006). Posteriormente se lavaron las muestras con abundante agua destilada y se secaron con aire comprimido. Seguidamente, se realizó un ataque alcalino con una solución de NaOH 10 M y se procedió a colocar las muestras en un recipiente hermético. Se agregó sosa cáustica dentro del recipiente de manera que las muestras fueron cubiertas completamente y se introdujeron en una estufa de atmósfera controlada

directamente a 60 °C por un tiempo de 36 h ( Thirugnanam, Sampath y Chakkingal 2009, p. 76).

En la Tabla 2.1 se detallan: codificación y características dimensionales de cada uno de los sustratos utilizados en la experimentación.

**Tabla 2.1.** Características de los diferentes sustratos utilizados en la experimentación

Sustratos	Codificación	Dimensiones	Imagen
Titanio	Ti	Diámetro: 12 mm Espesor: 0,8 mm	
Acero inoxidable 316LVM	SS316LVM	Diámetro: 10 mm Espesor: 1 mm	
Titanio con recubrimiento de tantaló/nitruro de tantaló	Ta/TaN/Ti	Diámetro: 12 mm Espesor: 0,8 mm	
Acero con recubrimiento de tantaló/nitruro de tantaló	Ta/TaN/SS316LVM	Diámetro: 10 mm Espesor: 1 mm	
Titanio con recubrimiento de tantaló	Ta/Ti	Diámetro: 6 mm Espesor: 0,8 mm	
Acero con recubrimiento de tantaló	Ta/SS316LVM	Diámetro: 10 mm Espesor: 1 mm	

## 2.1.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS DIFERENTES SUSTRATOS

### 2.1.2.1. Características estructurales

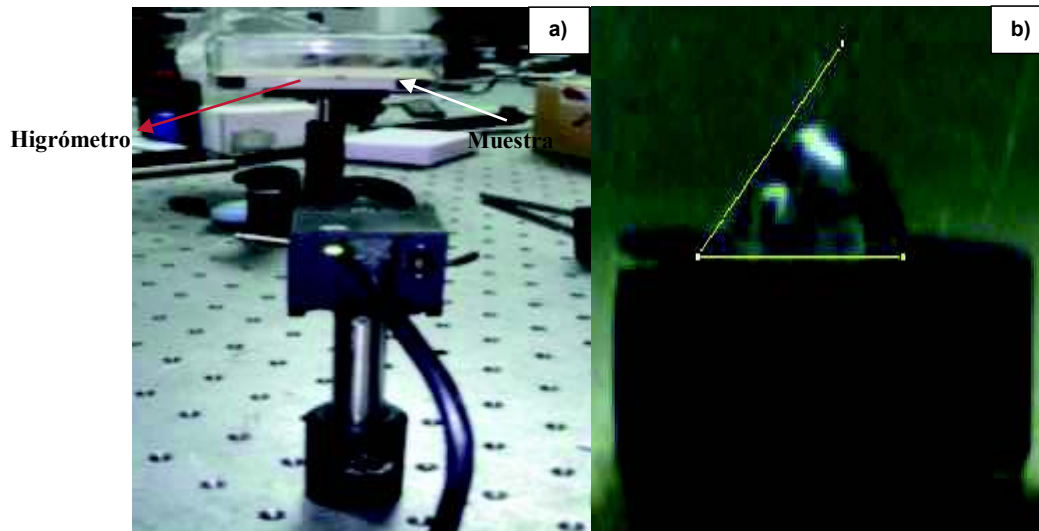
Las características estructurales de los sustratos metálicos fueron determinadas en

el Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) con un microscopio FEI Inspec F50 con análisis elemental (EDS), Difracción de rayos X (DRX) con un equipo BRUNKER AXS con radiación de  $\text{CuK}\alpha$  operado a 45kV y 30 mA y Difracción de rayos X rasante a 45 kV y 20 mA con un ángulo offset de  $7^\circ$  y una penetración de 250 nm. Para la interpretación de los difractogramas se usó el programa PANalytical X-Pert HighScore Plus® con la base de datos JCPDS.

Los sustratos metálicos sin recubrimiento que fueron sometidos al ataque químico, fueron caracterizados, mediante Microscopía Electrónica de Barrido con un microscopio PHENON ProX operado a 15 kv con alto vacío acoplado a un detector de análisis elemental.

#### **2.1.2.2. Características superficiales**

Para conocer las características superficiales se realizaron pruebas de hidrofiliidad sobre los diferentes sustratos. El método consiste en determinar el ángulo de contacto producido por una gota de agua en un ambiente de temperatura y presión controladas (Burgués, 2013, p. 2; Fernández, 2013, p. 12). El control de presión y temperatura dentro de la cámara hermética se monitoreó mediante la utilización de un higrómetro marca BOE 330. Con ayuda de una micropipeta, se añadió una gota de agua destilada con un volumen definido igual a un microlitro sobre el sustrato. Para la medición del ángulo de contacto se usó un montaje con una cámara conectada a un ordenador y un soporte como se muestra en la Figura 2.1 (a), luego se tomaron las respectivas fotografías y se midió el ángulo producido por medio de un software de imagen (Image J) en las fotografías tomadas para las diferentes condiciones experimentales. En la Figura 2.1 (b) se muestra una imagen típica de la medición del ángulo. Se llevaron a cabo cinco repeticiones del ángulo obtenido, con el fin de eliminar el error relativo de medición y obtener un valor promedio.



**Figura 2.1.** Medición ángulo de contacto (a) Montaje experimental (b) Medición ángulo con el programa Image J

## **2.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CAMPOS MAGNÉTICOS EN LA FORMACIÓN DE PELÍCULAS DELGADAS DE HIDROXIAPATITA SOBRE LOS DISTINTOS SUSTRATOS METÁLICOS INMERSOS EN FLUIDO CORPORAL SIMULADO**

Este estudio contó con dos etapas: la primera fue la preparación de un fluido corporal simulado enriquecido en calcio y fósforo y posteriormente, se realizó la inmersión de los sustratos en presencia de diferentes campos y tiempos de inmersión. Estos procedimientos se detallan a continuación:

### **2.2.1. PREPARACIÓN DEL FLUIDO CORPORAL SIMULADO ENRIQUECIDO EN CALCIO Y FÓSFORO**

Para la preparación del fluido corporal simulado (SBF) enriquecido en calcio y fósforo se siguió el protocolo propuesto por Kokubo y Takadama (2006), con una variante de concentración de Ca/P de 1,5 veces la tradicional (p. 2907), la cual permitirá acelerar el proceso de formación de HAp (Baker et al., 2006, p. 1352).



Para la elaboración de un litro de solución se usó agua destilada y desionizada y se agregaron los reactivos con una agitación constante de 250 rpm, siguiendo el orden del protocolo de preparación mostrado en la Tabla 2.2, se esperó que cada reactivo fuera disuelto completamente antes de agregar el siguiente, a temperatura de 37 °C en un baño térmico.

**Tabla 2.2.** Cantidad de reactivos utilizados para preparar 1 L de solución de fluido corporal simulado

N°	REACTIVOS	C-SBF 1.5 (g)	PUREZA (%)
1	NaCl	8,035	99,5
2	NaHCO <sub>3</sub>	0,355	99,5
3	KCl	0,225	99,5
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	0,346	99,0
5	MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,311	98,0
6	1.M-HCl	40 mL	-
7	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,438	95,0
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,072	99,0
9	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> N (Tris)	6,118	99,0
10	1.M-HCl	0-5mL	-

(Kokubo y Takadama, 2006, p. 2912; Baker et al., 2006, p. 1352)

A la solución preparada se le añadieron 40 mL HCl 1 M y con un pH-metro marca HANNA instrument se controló que el pH se encuentre entre 7,2 - 7,4, a 36,5-37 °C. La solución se almacenó en un recipiente de polietileno cerrada herméticamente y refrigerada a 4 °C, a fin de mantener sus propiedades.

### **2.2.2. INMERSIÓN DE LOS SUSTRATOS EN FLUIDO CORPORAL SIMULADO EN PRESENCIA DE CAMPOS MAGNÉTICOS**

Como primer paso, las muestras fueron esterilizadas con alcohol y lavadas en un baño de ultrasonido por 5 min. Posteriormente, fueron secadas con aire comprimido, y pesadas antes de la inmersión.

Los sustratos con recubrimiento (Ta/TaN/SS316LVM, Ta/TaN/Ti) y los sustratos sin recubrimientos con tratamiento químico (Ti y SS316LVM) se colocaron en inmersión con un volumen de fluido corporal simulado calculado según la Ecuación [2.1] (Kokubo y Takadama, 2006, p. 2912), dentro de pequeños recipientes por 7, 10 y 14 días, con un pH de solución entre 7,2-7,4 a 37 °C, estas muestras sirvieron como blanco de comparación para el estudio de sustratos sometidos a campos magnéticos.

$$V_s = S_a/10 \quad [2.1]$$

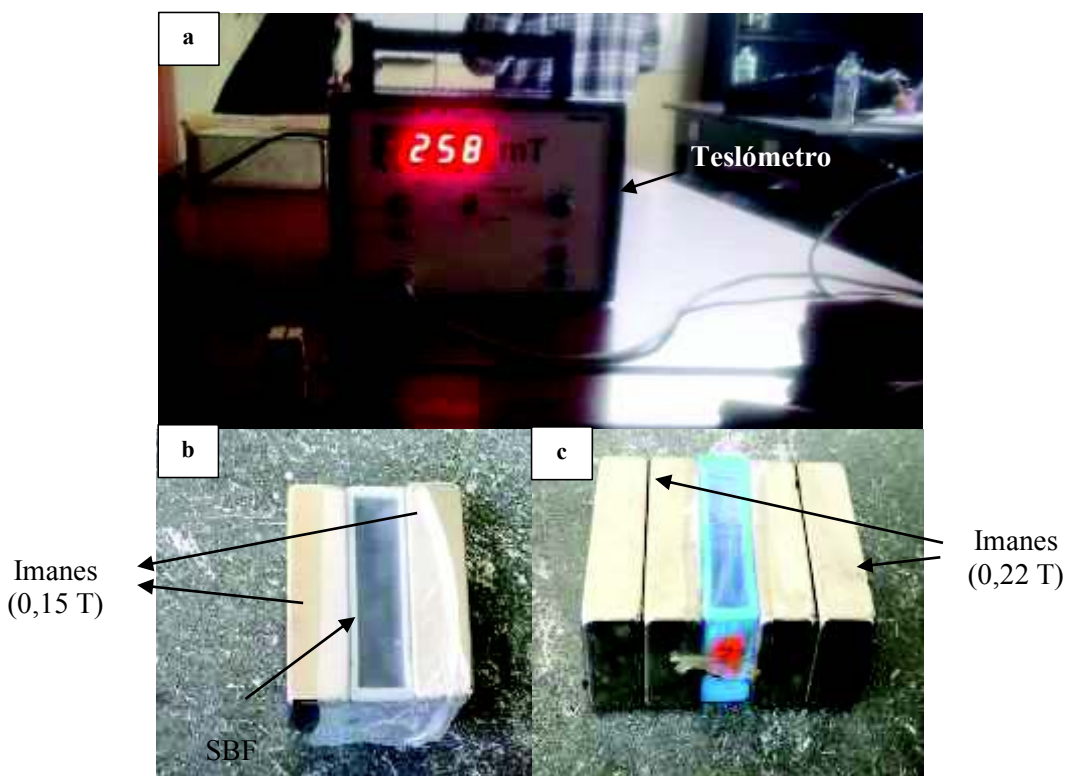
Donde:

$V_s$ : Volumen de la solución de fluido corporal simulado (mL)

$S_a$ : Área superficial sustrato (mm<sup>2</sup>)

Para el estudio de la influencia del campo magnético sobre los sustratos se repitió el proceso de inmersión anterior, con la presencia de campos magnéticos. Los ensayos se realizaron con valores de campo de 0,15 y 0,22 T, durante 7, 10 y 14 días. El valor y distribución del campo magnético, en Teslas, se controló con el tamaño y número de imanes, y con la distancia muestra-imanés, estos valores fueron medidos con un teslómetro marca TESLAMETER, como se muestra en la Figura 2.2 (a).

Los campos magnéticos fueron proporcionados por imanes de neodimio de 40 x 30 x 10 mm, los cuales se colocaron en las paredes de los recipientes que contenían la solución de fluido corporal simulado, como se indica en La Figura 2.2 (b) colocación de dos imanes que corresponden a 0,15 T y (c) cuatro imanes que representan a 0,22 T.



**Figura 2.2.** Medición campo magnético (a) y montaje de recipientes con SBF en presencia de campos magnéticos (b) 0,15 T (c) 0,22 T

### 2.2.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS FORMADAS DE HIDROXIAPATITA EN PRESENCIA DE CAMPOS MAGNÉTICOS

Todos los sustratos con depósitos de hidroxiapatita, fueron lavados con agua destilada, secados con aire comprimido y pesados para su posterior análisis.

Para la evaluación de la formación de las películas de Hidroxiapatita, las muestras fueron analizadas por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) con un microscopio FEI Inspec F50 con análisis elemental (EDS), a fin de conocer la morfología y composición de la hidroxiapatita formada, en el Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Las muestras de igual manera fueron analizadas por espectroscopía de infrarrojo (FTIR) en un equipo PerkinElmer Spectrum 100 entre una longitud de onda de  $4\ 000$  a  $500\ \text{cm}^{-1}$ , en el Laboratorio de Nuevos Materiales de la Facultad de Ingeniería Mecánica.

Para determinar la influencia del campo magnético y tiempo de inmersión en la formación de hidroxiapatita, se efectuó un análisis estadístico con el programa STATGRAPHICS Centurion. Un diseño experimental multifactorial 3 x 3 fue utilizado con la relación de Ca/P y la masa de película formada a los diferentes tiempos como variables de respuesta. El análisis se hizo para los sustratos con recubrimiento (Ta/TaN/SS316LVM, Ta/TaN/Ti) y los sustratos sin recubrimientos con tratamiento químico (Ti y SS316LVM). Por otro lado, con las mejores condiciones de formación de hidroxiapatita en los sustratos anteriores, se realizó la inmersión a los sustratos con recubrimiento de Ta. Asimismo, se llevaron a cabo en los sustratos que presentaron la mejor formación de hidroxiapatita, las pruebas de hidrofiliidad, basadas en la sección 2.1.2.2.

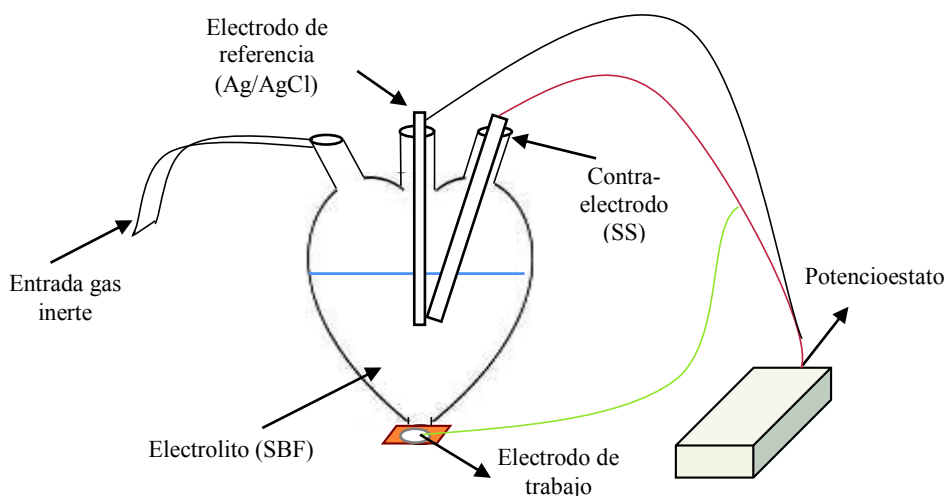
### **2.3. ESTUDIO DE LA FORMACIÓN ELECTROQUÍMICA DE HIDROXIAPATITA SOBRE LOS DISTINTOS SUSTRATOS METÁLICOS, UTILIZANDO COMO ELECTROLITO FLUIDO CORPORAL SIMULADO**

Este estudio contó con tres etapas: la primera fue la caracterización electroquímica de los sustratos metálicos sin depósito de hidroxiapatita, luego se realizó la deposición electroquímica de la hidroxiapatita y finalmente se caracterizaron las películas de hidroxiapatita formadas.

#### **2.3.1. CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DE LOS SUSTRATOS METÁLICOS**

Los sustratos con y sin recubrimiento se caracterizaron mediante impedancia electroquímica, a una señal de excitación de 20 mV en un rango de frecuencia de 1 Hz a  $10^5$  Hz (Liu, Xu y Jiang 2016, p. 4). Para esto se usó una celda electroquímica de tres electrodos como se indica en la Figura 2.3., en la cual se colocaron la solución de fluido corporal simulado (electrolito) a 37 °C, los sustratos

a estudiar (electrodos de trabajo), un electrodo de acero inoxidable (contraelectrodo) y un electrodo de plata-cloruro de plata (electrodo de referencia). El proceso se monitorea con un potencioestato CH Instruments 600E. En el electrodo de trabajo se aplica un potencial deseado para que se dé la reacción. El electrodo de referencia tiene un potencial bien definido, utilizado para medir el potencial del electrodo de trabajo y el contraelectrodo se usa para mantener el flujo de corriente (Li y Miao, 2013, p. 11).



**Figura 2.3.** Esquema de Celda electroquímica de 3 electrodos utilizada en la experimentación

### 2.3.2. DEPOSICIÓN ELECTROQUÍMICA

Para conocer los voltajes de formación de la hidroxiapatita se realizó un análisis por voltametría cíclica de barrido, que es una técnica electroquímica de diagnóstico, que realiza un barrido de potencial sobre el electrodo de trabajo, este barrido de potencial aplica un voltaje que se incrementa gradualmente de un voltaje mínimo a voltaje máximo, y luego el voltaje decrece con la polaridad inversa, y mide la corriente que pasa por el mismo. Este análisis permite observar las reacciones de reducción u oxidación en el sistema (Guamán, 2017, p. 20). Para esto, se usó una celda electroquímica de 3 electrodos, mencionada en la sección 2.3.1, como electrolito la solución de fluido corporal simulado a 37 °C y pH de 7,2 - 7,4, con un suministro constante de nitrógeno por 10 min. Luego se aplicaron potenciales de reducción de -2 V a 0 V con una velocidad de barrido de 100 mV/s (Isa, Mohd y

Yury, 2012, p. 47). Todo el proceso se monitoreó y controló con un potencioestado DIY 2 100.

Con los potenciales encontrados por medio de la voltametría cíclica, se realizó la deposición por cronoamperometría, la cual es una técnica que consiste en aplicar un potencial constante al sistema durante un periodo de tiempo, para causar la reacción electroquímica, que permite la formación de hidroxiapatita (Baeza y García, 2011, p. 53). En esta investigación se realizó la deposición electroquímica con dos valores de voltajes, que están dentro de la zona estable de trabajo, seleccionada del voltagrama obtenido por voltametría cíclica en tiempos de 3 000 y 6 000 s.

### **2.3.3. EVALUACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE HIDROXIAPATITA FORMADAS ELECTROQUÍMICAMENTE**

Para la evaluación de las películas de hidroxiapatita formadas electroquímicamente, primero se realizó la limpieza con agua destilada de los sustratos metálicos con la hidroxiapatita depositada y se secaron con aire comprimido. Con el objetivo de conocer la cantidad de HAp formada, todas las muestras fueron pesadas después del proceso de lavado.

Luego, los sustratos con la formación de hidroxiapatita fueron analizadas por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) con un microscopio FEI Inspec F50 con análisis elemental (EDS), para conocer la morfología y composición de la HAp formada, estos análisis se realizaron en el Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas y asimismo, para el análisis se utilizó un análisis de espectroscopía de infrarrojo (FTIR) en un equipo PerkinElmer Spectrum 100 con una longitud de onda de 4 000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ , disponible en laboratorio de nuevos materiales de la Facultad de Ingeniería Mecánica.

Con el objeto de conocer, la influencia del tiempo y del voltaje aplicado en la formación de HAp se realizó un análisis estadístico con el programa STATGRAPHICS Centurion. Se empleó un diseño experimental 2 x 2, donde las variables de respuestas fueron la relación de Ca/P y la masa de película formada. El análisis se realizó para los sustratos con recubrimiento (Ta/TaN/SS316LVM, Ta/TaN/Ti) y los sustratos sin recubrimientos con tratamiento químico (Ti y SS316LVM). Por otro lado, con las mejores condiciones de formación de hidroxiapatita en los sustratos con recubrimiento de Ta/TaN, se realizó la inmersión a los sustratos con recubrimiento de Ta. Asimismo, en los sustratos que presentaron una mejor formación de hidroxiapatita, se realizaron pruebas de hidrofiliidad basados en la sección 2.1.2.2.

Finalmente, se realizó una comparación con los resultados obtenidos en los métodos utilizados en esta investigación

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LOS SUSTRATOS METÁLICOS

En las Figuras 3.1 y 3.2 se muestran las imágenes MEB del Titanio y Acero inoxidable 316LVM con las diferentes modificaciones de superficie realizadas. En la Figura 3.1 (a) se muestra un sustrato de titanio pulido, con presencia de una morfología suave; en este todavía no se ha revelado la microestructura de granos. Luego del tratamiento químico, se observa la morfología de la capa de óxido formada sobre el titanio, la cual presentó microgrietas, como se ve en la Figura 3.1 (b). En la Tabla 3.1 se expone el análisis EDS, del titanio con tratamiento químico, en el cual se observa la presencia de oxígeno, que comprueba la formación de un óxido en la superficie del mismo. Los estudios de Nouri, Hodgson y Wen (2010), reportan que al realizar un ataque alcalino con NaOH, la capa superficial formada podría ser un titanato de sodio, el cual se produce por la disolución del  $TiO_2$  (pp. 434 - 435), como se ve en la Reacción 3.1, la formación de  $TiO_2$  se favoreció en el ataque ácido. En este caso el análisis EDS de esta muestra, no mostró presencia de sodio, probablemente debido a que la capa de óxido es muy fina. La formación de esta capa favorece la adsorción de proteínas e iones de calcio y fosfato en la superficie.



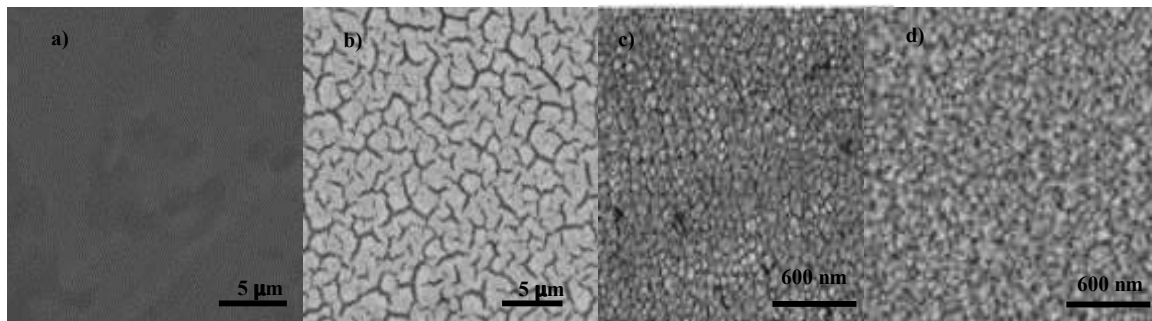
Por otro lado la Figura 3.2 (a) muestra un acero inoxidable 316LVM desbastado, con una topografía irregular debido al proceso de lijado que se realizó hasta grado P600, sin darle el acabado especular final, a diferencia del titanio. En este caso, este proceso favorece la adhesión de las capas que se depositarán posteriormente (Thanh et al., 2013, p. 2038) . En la Figura 3.2 (b) se observa el acero luego del tratamiento químico, el cual no es muy notorio como en el titanio, ya que este tipo de acero es resistente a los tratamientos alcalinos, sin embargo el análisis EDS presentado en la Tabla 3.2 mostró la presencia de oxígeno, que comprueba la



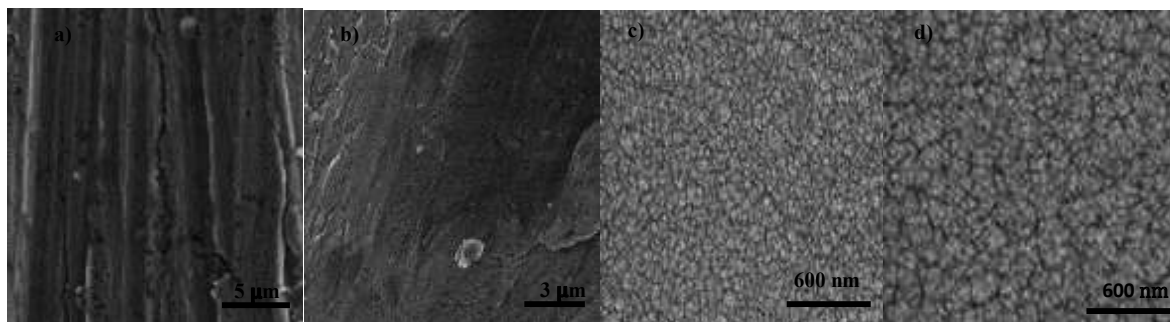
formación de óxidos en la superficie del acero. Al realizar el ataque con NaOH, se podría formar una capa de cromato de sodio, que sigue la Reacción 3.2, a pesar que en el EDS, no se observó la presencia de sodio como en el caso del titanio.



Por otro lado, las Figuras 3.1 (c) y 3.2 (c) muestran la deposición de la película de tántalo sobre el titanio y acero inoxidable 316LVM, en la cual el tamaño de grano de la película de tántalo (60 nm) sobre titanio es ligeramente mayor a la película de tántalo depositada (50 nm) sobre acero (Jara, Fraise, Flaud, Fréty y González, 2016, p. 5). De igual manera, en las Figuras 3.1 (d) y 3.2 (d) se observa la deposición de la película de Ta/TaN sobre los sustratos, la película de Ta/TaN formada sobre titanio es más densa que la formada en el acero, esto puede ser debido a la influencia de la pre-película de TaN, así como por la formación espontánea de  $\text{TiO}_2$  en la superficie del titanio (Jara, Fraise, Flaud, Fréty y González, 2016, pp. 5-6).



**Figura 3.1.** Imágenes MEB Titanio (a) Pulido (b) Tratamiento químico (c) Con películas de Ta (d) Con películas de Ta/TaN



**Figura 3.2.** Imágenes MEB Acero inoxidable 316 LVM (a) Desbastado (b) Tratamiento químico (c) Con películas de Ta (d) Con películas de Ta/TaN

**Tabla 3.1.** Resultados del análisis EDS del Titanio con tratamiento químico

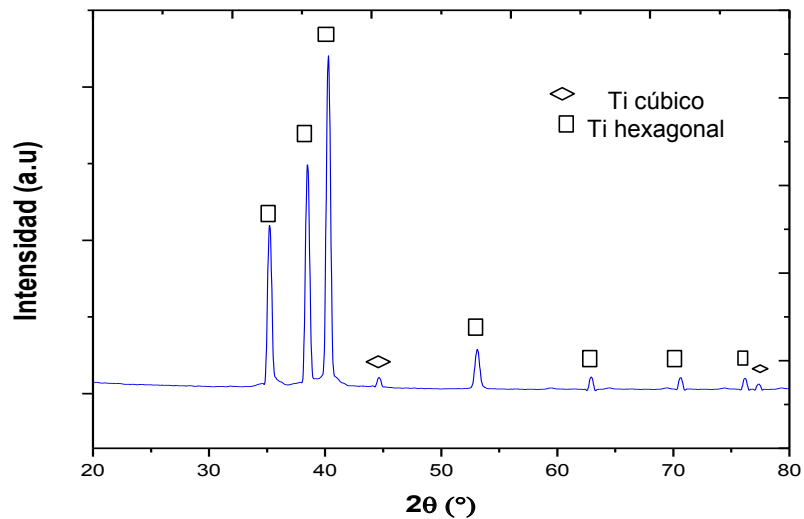
<b>Muestra</b>	<b>Ti (%)</b>	<b>O (%)</b>
Titanio con tratamiento químico	31,0	69,0

**Tabla 3.2.** Resultados del análisis EDS del Acero inoxidable 316 LVM con tratamiento químico

<b>Muestra</b>	<b>Fe (%)</b>	<b>Cr (%)</b>	<b>O (%)</b>	<b>Ni (%)</b>	<b>Mo (%)</b>
Acero inoxidable 316LVM con tratamiento químico	56,5	15,9	13,4	12,0	2,1

A continuación se exponen el análisis por difracción de rayos X convencional para los sustratos de Ti y SS316LVM sin recubrimiento y el análisis DRX con ángulo rasante de los sustratos con recubrimientos de Ta y Ta/TaN, donde se observaron los picos característicos de cada elemento que conforman los sustratos.

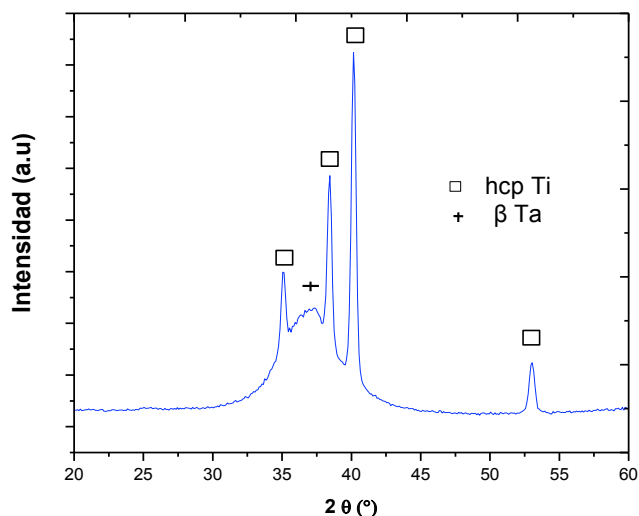
La Figura 3.3 expone el difractograma del Titanio sin recubrimiento, en el cual se aprecia que el titanio tuvo dos estructuras cristalinas, una cúbica en 44,6, 65,2 y 77,0 °  $2\theta$  [JCPDS 88-2321] y otra hexagonal en 35,0, 38,5, 40,3 y 53,1 °  $2\theta$  [JCPDS 44-1294], este comportamiento es típico por el cambio de la presión en el proceso metalúrgico (Oldani y Dominguez, 2012).



**Figura 3.3.** Difractograma convencional del Titanio sin recubrimiento

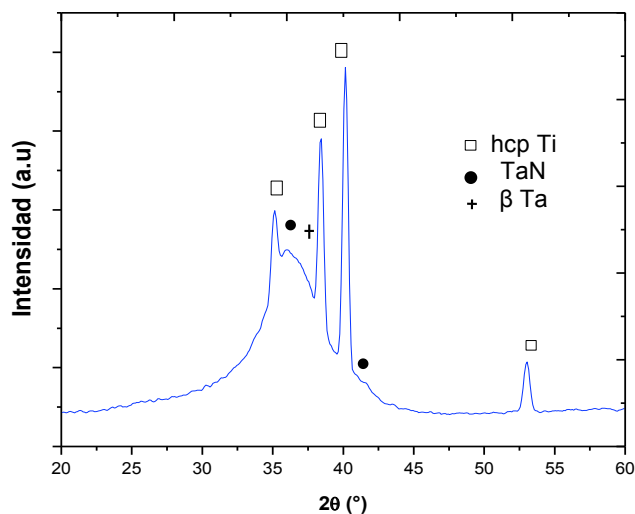
La fase hexagonal muestra una mayor intensidad debido a que es la fase que cristalizó mucho más que la fase cúbica, aunque la presencia de la fase cúbica es importante, ya que ésta es más compatible con el cuerpo humano al momento de fabricar una prótesis (IMDEA Materials Institute, 2009).

Las Figuras 3.4 y 3.5 muestran los difractogramas del Ta/Ti Ta/TaN/Ti, respectivamente, como el Ta y TaN son películas delgadas sobre el sustrato de Ti, se realizó una difracción de rayos X con ángulo rasante, para atenuar la presencia del sustrato base y resolver con claridad la contribución proveniente de las películas. En los difractogramas se observan que entre los picos de 35,0 y 38,5 °  $2\theta$  existió una reflexión ancha, que está centrada en 37,5 °  $2\theta$  correspondiente a  $\beta$ -tántalo [JCPDS 25-1280], el ensanchamiento de este pico se debe a que la capa está formada por cristales nanométricos, como se evidenció en las imágenes MEB presentadas en las Figuras 3.1 (a) y (b).



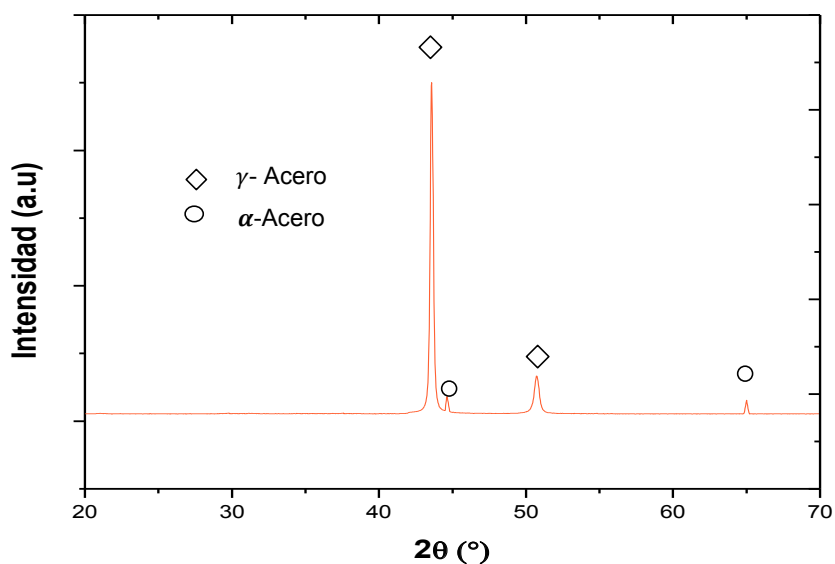
**Figura 3.4.** Diffractograma de ángulo rasante para el titanio con las películas Ta

Por otro lado, en la Figura 3.5 adicionalmente, está presente el TaN en  $35,8^\circ 2\theta$  ubicado dentro del ensanchamiento y en  $41,6^\circ 2\theta$  [JCPDS 049-1283]. De igual manera se notó la presencia de titanio con mayor presencia de fase hexagonal en  $35,0, 38,5, 40,3,$  y  $53,1^\circ 2\theta$ .



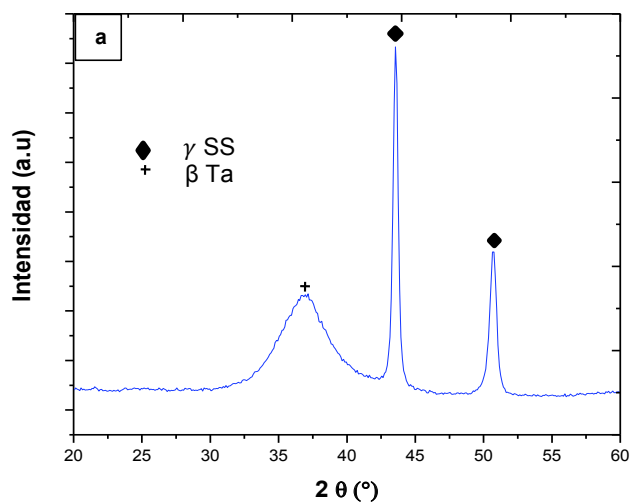
**Figura 3.5.** Diffractograma de ángulo rasante para el titanio con las películas Ta/TaN

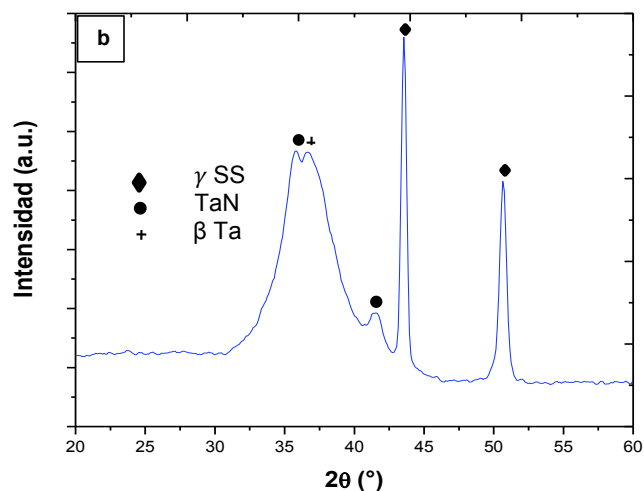
La Figura 3.6 corresponde al diffractograma del acero inoxidable 316LVM sin recubrimiento, en el cual se observó una mezcla de las dos fases austeníticas del acero, gama ( $\gamma$ ) en  $44,1, 50,8^\circ 2\theta$  [JCPDS 33-0945] y alfa ( $\alpha$ ) en  $44,8,$  y  $66,1^\circ 2\theta$  [JCPDS 35-1375].



**Figura 3.6.** Difractograma del acero inoxidable 316LVM sin recubrimiento

Asimismo, las Figura 3.7 (a) y (b) muestran el difractograma del Ta/SS316LVM Ta/TaN/SS316LVM, en los cuales se notó la presencia de la fase  $\gamma$ -acero, en 44,1, 50,8  $2\theta$  ° para ambos sustratos, así como la fase  $\beta$ -Tántalo centrada en 37,5  $2\theta$  ° [JCPDS 25-1280], y en la Figura 3.7 (b) se ven los picos correspondientes al TaN en 35,8 y 41,6  $2\theta$  °.





**Figura 3.7.** Difractograma de ángulo rasante para el acero inoxidable 316LVM con las películas (a) Ta (b) Ta/TaN

## 3.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CAMPOS MAGNÉTICOS EN LA FORMACIÓN DE HIDROXIAPATITA

### 3.2.1. EFECTO DE LAS DIFERENTES CONDICIONES DE CAMPO MAGNÉTICO Y TIEMPO

Los resultados del efecto de la aplicación de campos magnéticos en la formación de hidroxiapatita se exponen en las imágenes MEB y el análisis FTIR, los cuales fueron encontrados a las diferentes condiciones aplicadas, sobre Ta/TaN/Ti, Ta/TaN/SS316LVM, Ti y SS316LVM con tratamiento químico y Ta/Ti y Ta/SS316LVM, éstos se presentan a continuación:

#### 3.2.1.1. Sustrato Ta/TaN/Ti

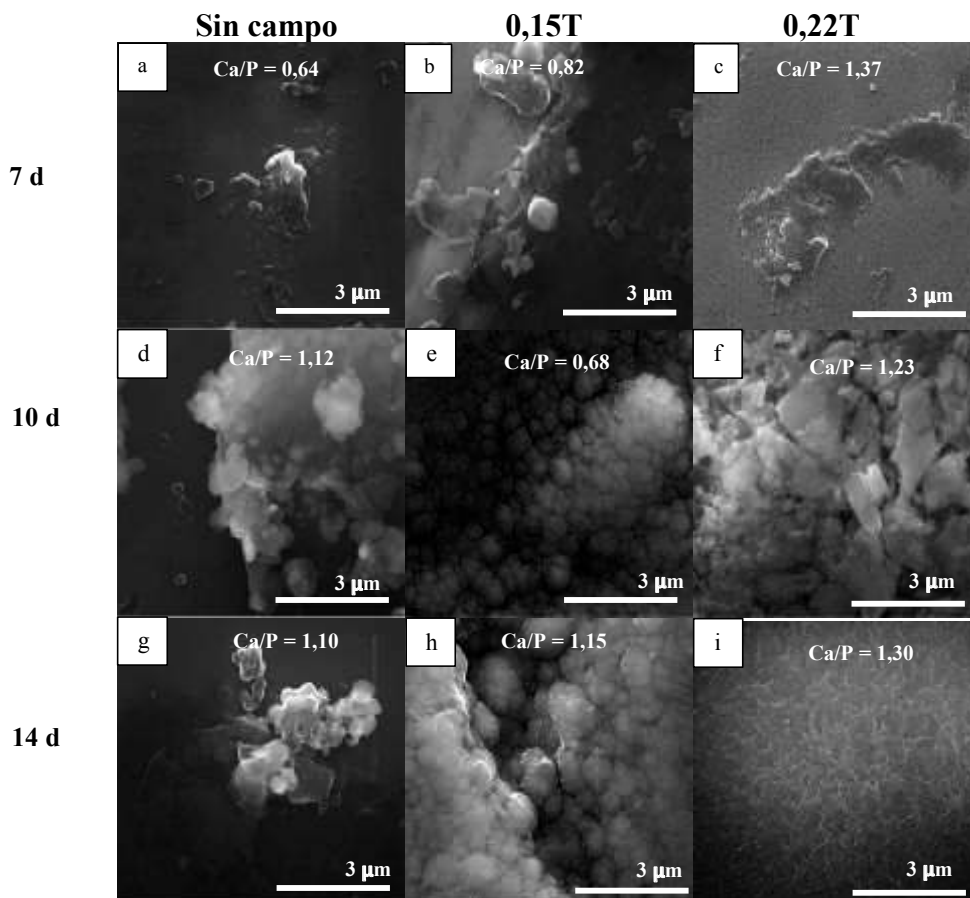
En la Figura 3.8 se muestra el MEB de la deposición de hidroxiapatita sobre Ta/TaN/Ti a los tiempos de 7, 10 y 14 días. En la Figura 3.8 (a) se observa una nucleación heterogénea en el sustrato a los 7 días, que indicaría el proceso inicial de formación del compuesto, ya que como reporta Jara, Fraise, Flaud, Fréty y González (2016), el mecanismo de deposición de hidroxiapatita sobre tántalo comienza por la formación de grupos Ta-OH en la superficie del tántalo por la

hidratación de la capa de óxido de tántalo formada en la inmersión en el fluido corporal simulado. Luego el Ta-OH se unirá con pequeñas cantidades de iones  $\text{Ca}^{2+}$  para formar una especie de tántalato de calcio. Seguidamente esta especie química se combinará con los iones fosfatos para empezar la nucleación heterogénea con la formación de la fase amorfa de fosfato de calcio, y luego el exceso de iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  será adsorbido en la superficie para formar la hidroxiapatita.

Se ve que a medida que transcurre el tiempo, existe una mayor precipitación de compuesto, como se aprecia en las Figuras 3.8 (d) y (g), en las cuales a su vez se presentan una relación mayor de Ca/P, esta relación se encontró gracias al análisis EDS, que se presenta en la Tabla A1.1, Anexo I. Asimismo, se observa en las Figuras 3.8 (b) (c) (e) (f) (h) (i), que la influencia de campos magnéticos aumentó la nucleación y crecimiento del compuesto, y este proceso fue mayor con la presencia de un campo de 0,22 T. Este fenómeno se podría explicar gracias al estudio de Tian, Xue, Liu, He y Yang (2010), quienes proponen que la única propiedad sobre la cual el campo magnético actúa en la precipitación de fosfatos de calcio es sobre el giro de protones, dado que el protón tiene spin  $I = 1/2$ , que está sujeto al principio de exclusión de Pauli (pp. 1198-1199). Tian, Xue, Liu, He y Yang (2010) suponen que si el protón puede dejar el ion fosfato con solo una de las dos posibles orientaciones de espín, se debe esperar una duplicación de la velocidad de transferencia en presencia de un campo magnético suficientemente fuerte. Las tasas de nucleación y crecimiento de cristales entonces deberían duplicarse de forma similar, siempre que sean proporcionales a la tasa de transferencia de protones (p. 1199).

Varias investigaciones muestran que el proceso de formación por el método biomimético puede tardar entre 15 a 45 días (Baker et al., 2006, p. 1351; Kokubo y Takadama, 2006, pp. 2907-2908; Paz et al., 2011, p. 138). En este caso se ve que la presencia de campos sí influye en el efecto de deposición de HAp y disminuye los tiempos de formación notoriamente, ya que a las condiciones de 0,22 T y 14 d, como se muestra en la Figura 3.8 (i) se obtuvo una morfología definida, que

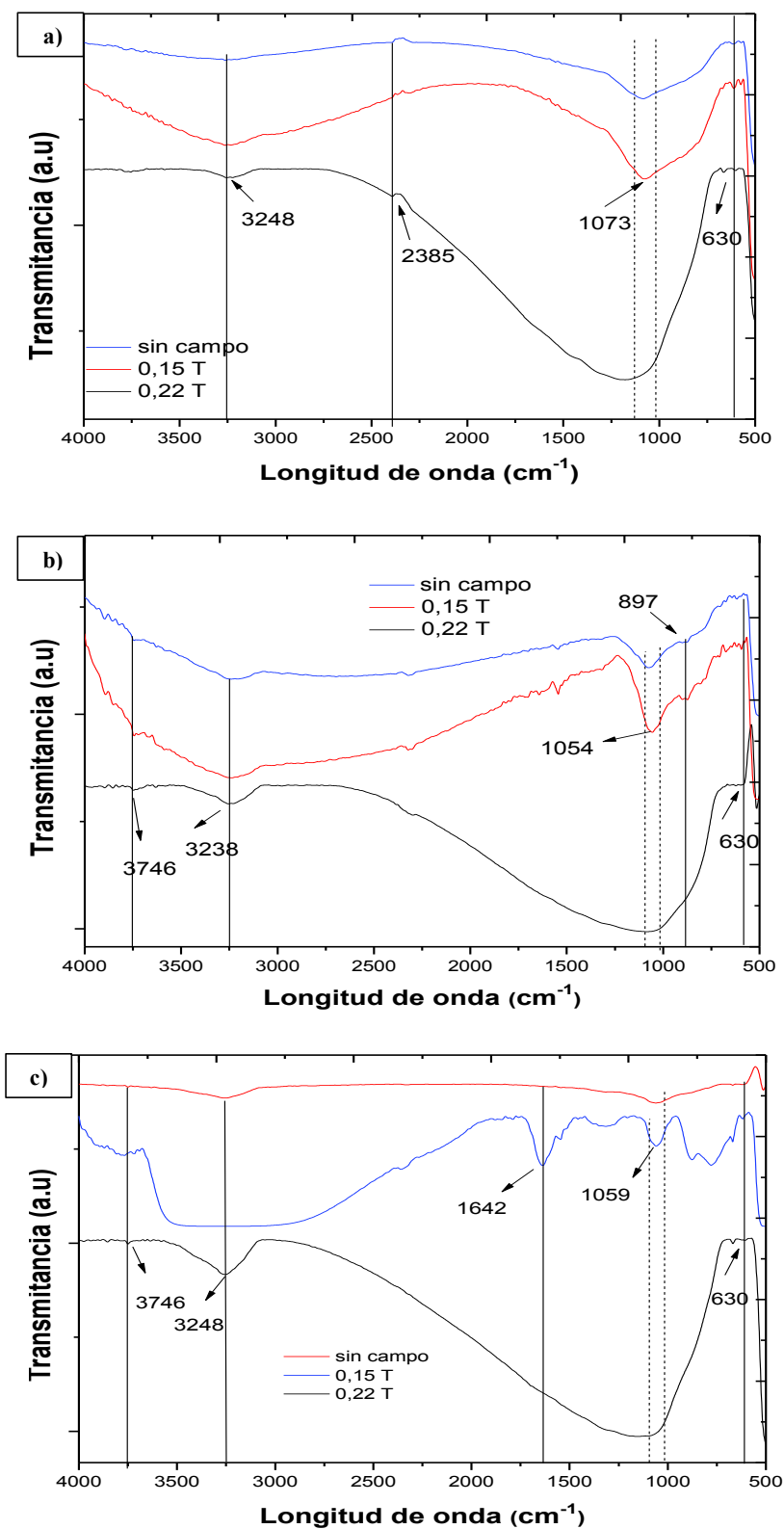
asemeja a un coral, típica de una hidroxiapatita formada biomiméticamente (Baker et al., 2006, pp. 1359-1360).



**Figura 3.8.** Imágenes MEB de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti (a) (d) (g) sin campo (b) (e) (h) 0,15 T (c) (f) (i) 0,22 T durante 7, 10 y 14 d

El análisis por FTIR de la formación de hidroxiapatita sobre Ta/TaN/Ti a 7, 10 y 14 días con y sin presencia de campos, se indica en la Figura 3.9. En la región de  $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$  a  $1\ 110\ \text{cm}^{-1}$  se encuentran los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ , correspondientes a la HAp. En las Figuras 3.9 (a) y (b), apareció una pequeña banda dentro de esta región. En el caso de la Figura 3.9 (c) existió un solapamiento de bandas, lo que no permitió observar los compuestos formados en esta región.





**Figura 3.9.** FTIR de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti en presencia de campos magnéticos (a) 7 d (b) 10 d y (c) 14 d

Asimismo en los tres casos existió la presencia del grupo OH<sup>-</sup> en 630 cm<sup>-1</sup> y la vibración de tensión asimétrico del OH<sup>-</sup> en 3 746 cm<sup>-1</sup>, coincidente con los

resultados presentados por Koutsopoulos (2002), esta última banda fue más visible en las Figuras 3.9 (b) y (c) a un campo de 0,22 T. De igual manera, una molécula de agua absorbida en  $3\ 248\ \text{cm}^{-1}$  se presentó; debida a una formación rápida de las partículas de HAp, que hace que exista una absorción de cristales de agua (Koutsopoulos, 2002, p. 605). Por otra parte en las Figuras 3.9 (a) y (b) se observa una banda en  $897\ \text{cm}^{-1}$ , la cual corresponde a  $\text{HPO}_4^{2-}$ , propia de una formación deficiente de calcio (Cimdina y Borodajenko, 2012, p. 127). En la Figura 3.9 (c) existe una absorción de  $\text{CO}_3^{2-}$  en  $1\ 642\ \text{cm}^{-1}$ , atribuidas al  $\text{CO}_2$  de la atmósfera (Cimdina y Borodajenko, 2012; p. 127; Koutsopoulos, 2002, p. 604).

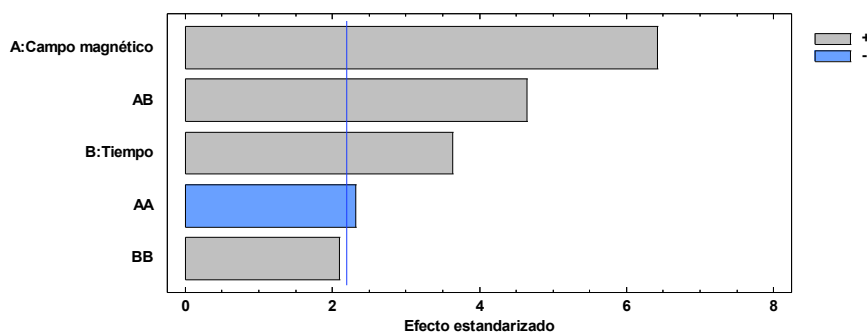
Por otro lado, en la Tabla 3.3 se muestra la relación de Ca/P y la cantidad de masa promedio de hidroxiapatita formada por área de deposición expuesta ( $\text{mg}/\text{mm}^2$ ), a las diferentes condiciones sobre Ta/TaN/Ti, en la cual se observa una mayor cantidad de masa a las condiciones de mayor tiempo y mayor campo magnético, lo que corroboraría las observaciones de las imágenes MEB, presentadas en la Figura 3.8.

**Tabla 3.3.** Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de campo magnético y tiempo sobre Ta/TaN/Ti

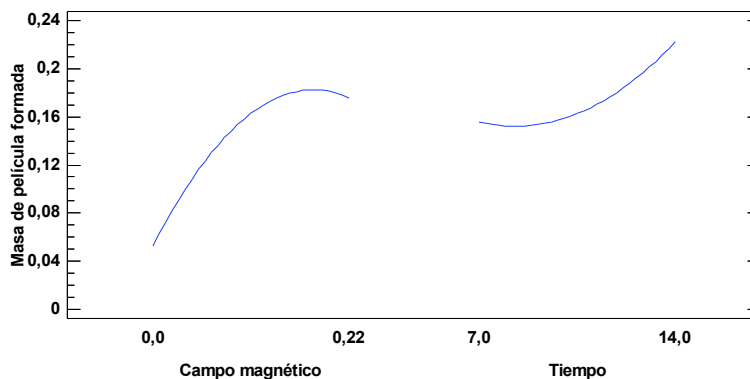
<b>Campo Magnético (Tesla)</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Relación Ca/P</b>	<b>Masa promedio de HAp formada (g)</b>	<b>Masa promedio de HAp formada (<math>\text{mg}/\text{mm}^2</math>)</b>
0,00	7,00	0,64	0,0006	0,020
0,15	7,00	0,82	0,0053	0,174
0,22	7,00	1,37	0,0060	0,197
0,00	10,00	1,12	0,0035	0,116
0,15	10,00	0,68	0,0068	0,224
0,22	10,00	1,23	0,0069	0,229
0,00	14,00	1,10	0,0043	0,141
0,15	14,00	1,15	0,0085	0,280
0,22	14,00	1,30	0,0092	0,303

En el Anexo I se muestran los análisis EDS de la formación de hidroxiapatita con el método biomimético en presencia de campos magnéticos, de los cuales se calculó la relación de Ca/P y en el Anexo II se indica el ejemplo del cálculo de la cantidad de masa promedio por área, cuyos resultados se exponen en la Tabla 3.3.

En el Anexo III, se muestra el análisis estadístico detallado realizado en el programa Statgraphics Centurion, en el cual el análisis de varianza expuesto en la Tabla AIII.1, determina que las variables campo magnético y tiempo de inmersión tienen una influencia estadística significativa en el nivel de 0,05, con los términos del modelo actual, sobre la masa de hidroxiapatita obtenida en Ta/TaN/Ti. De igual forma, en la Figura 3.10 se corrobora que las variables campo magnético A y tiempo B son estadísticamente significativas, ya que cruzan la línea de referencia de efectos. La variable campo magnético A tiene un mayor efecto sobre la masa formada que la variable tiempo B y que la combinación de ambas variables AB. La Figura 3.11 muestra una tendencia significativa de aparición de la masa de HAp formada en presencia de dichas variables.



**Figura 3.10.** Diagrama de Pareto Estandarizada para la masa de película de HAp formada en Ta/TaN/Ti

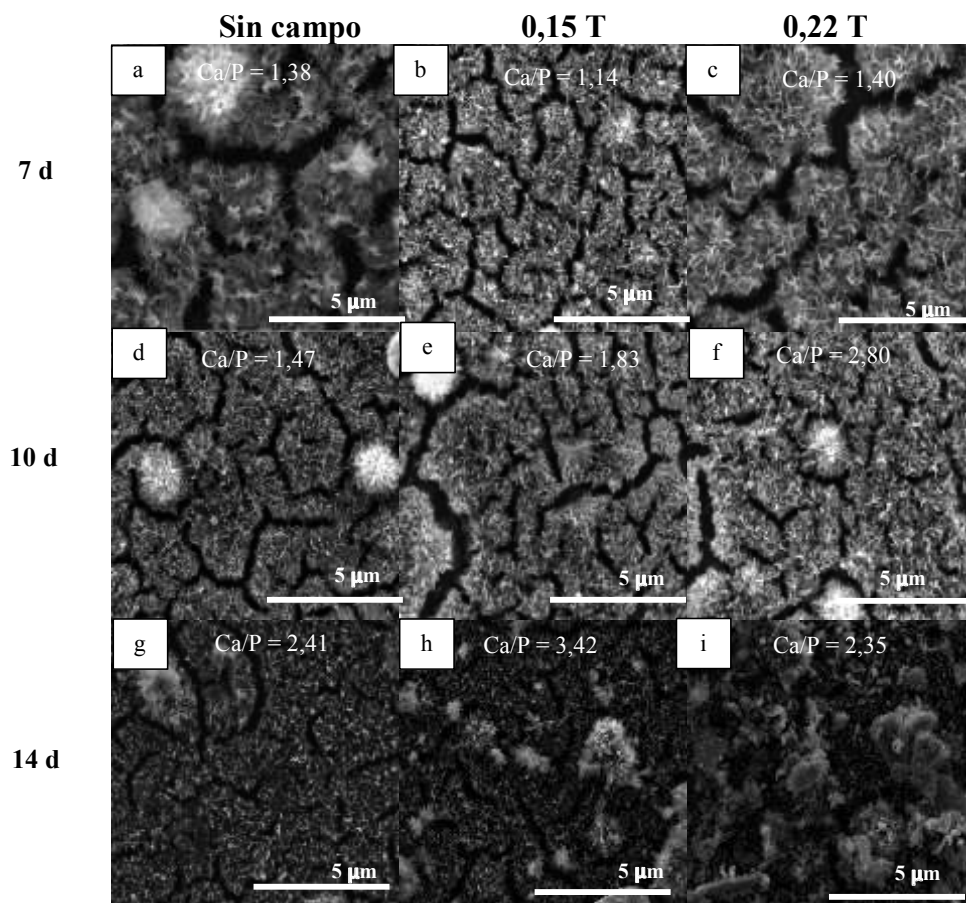


**Figura 3.11.** Gráfica de efectos principales para la masa de película de HAp formada sobre Ta/TaN/Ti

Para el caso de la relación Ca/P, no se pudo realizar el análisis estadístico, debido a que no se contó con los datos de repetición necesarios para el análisis. Los reportes de Dorozhkin (2010), afirman que la relación de Ca/P en la formación de fosfatos de calcio está influenciada principalmente por el pH y la temperatura, por lo cual en esta investigación se mantuvieron constantes los valores de pH en 7,2 - 7,4 y temperatura en 36,6-37,0 °C, según las condiciones ideales probadas por Kokubo, Kim y Kawashita (2003).

### 3.2.1.2. Sustrato Titanio con tratamiento químico

La formación de HAp en presencia de campo de magnéticos sobre Titanio con tratamiento químico a tiempos de 7, 10 y 14 días, se muestra en la Figura 3.12. A diferencia del sustrato de Ta/TaN/Ti, se observan morfologías más definidas tipo coral.

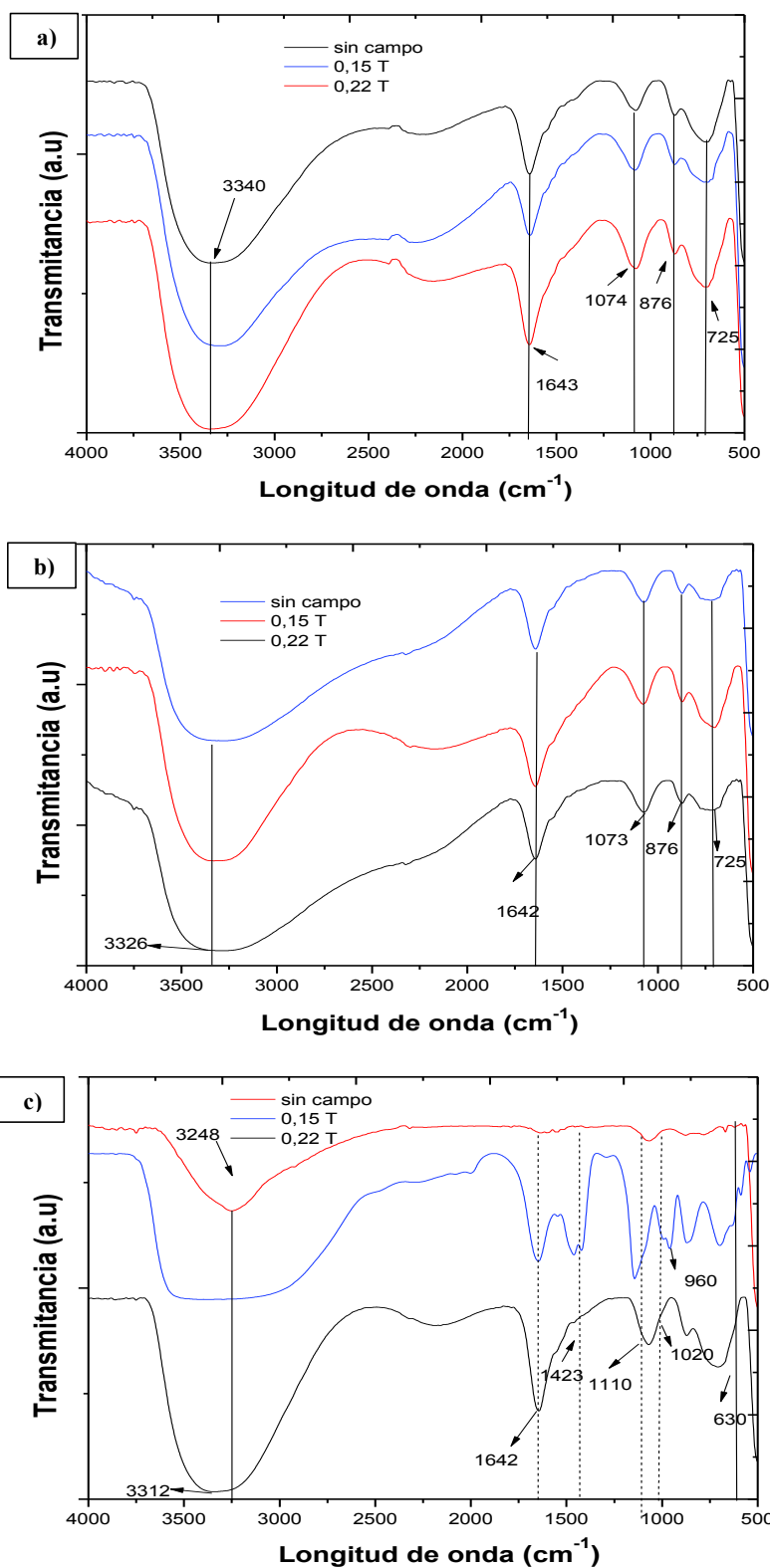


**Figura 3.12.** Imágenes MEB formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico (a) (d) (g) Sin campo (b) (e) (h) 0,15 T (c) (f) (i) 0,22 T durante 7, 10 y 14 d

La mayor formación se presenta cuando se aplicaron los campos magnéticos de 0,15 T y 0,22 T, con presencia de la mayor relación de calcio y fósforo. A los catorce días de inmersión del sustrato se observaron morfologías tipo coral o coliflor con aglomeraciones que indica una formación de capas gruesas, siendo este tipo de morfología beneficiosa para la adhesión celular.

El tratamiento químico realizado en la superficie del titanio influyó en la formación de HAp, posiblemente debido a la formación de una capa de titanato de sodio, que induce a la formación de apatitas en la superficie del sustrato (Nouri, Hodgson y Wen, 2010, p. 435). Luego, la capa de titanato de sodio libera sus iones  $\text{Na}^+$  en el fluido circundante a través de un intercambio iónico con  $\text{H}_3\text{O}^+$  en el fluido para formar grupos Ti-OH. Los grupos Ti-OH interactúan inmediatamente con los iones de calcio en el fluido para formar un titanato de calcio. El titanato de calcio incorpora los iones de fosfato, así como los iones de calcio, en el fluido para formar núcleos de hidroxiapatita en la solución SBF (Wang, Zhou y Wang, 2004, p. 10).

Los espectros infrarrojos de la formación de hidroxiapatita sobre titanio con tratamiento químico con y sin presencia de campo a los tiempos de 7, 10 y 14 días, se indican en la Figura 3.13. A los diferentes tiempos se notó la presencia de grupos fosfatos entre  $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$  a  $1\ 110\ \text{cm}^{-1}$ , a excepción de la condición de catorce días y 0,15 T, que presentó una vibración de tensión simétrica del fosfato en  $960\ \text{cm}^{-1}$ , como se indica en la Figura 3.13 (c) (Cimdina y Borodajenko, 2012, p. 127; Universidad de Alcalá, 2015, p. 13). Para los tres casos existió una absorción de  $\text{CO}_3^{2-}$  en  $1\ 642\ \text{cm}^{-1}$  y  $870\ \text{cm}^{-1}$ , así como, agua absorbida en  $3\ 248\ \text{cm}^{-1}$ . En todos los casos el grupo  $\text{OH}^-$  no se encontró presente, debido a un solapamiento de los grupos  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  en  $725\ \text{cm}^{-1}$ , atribuidos a la fase de pirofosfato de calcio (Cimdina y Borodajenko, 2012, p. 134).



**Figura 3.13.** FTIR de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico en presencia de campos magnéticos (a) 7 d (b) 10 d y (c) 14 d

En la Tabla 3.4 se exponen los resultados de relación de Ca/P y la masa promedio

de hidroxiapatita obtenida a las diferentes condiciones en titanio con tratamiento químico. Como en el caso del Ta/TaN/Ti, se observa una mayor cantidad de hidroxiapatita formada a mayor campo y mayor tiempo, el mismo comportamiento se tiene en la relación de Ca/P.

**Tabla 3.4.** Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de campo magnético y tiempos sobre Ti

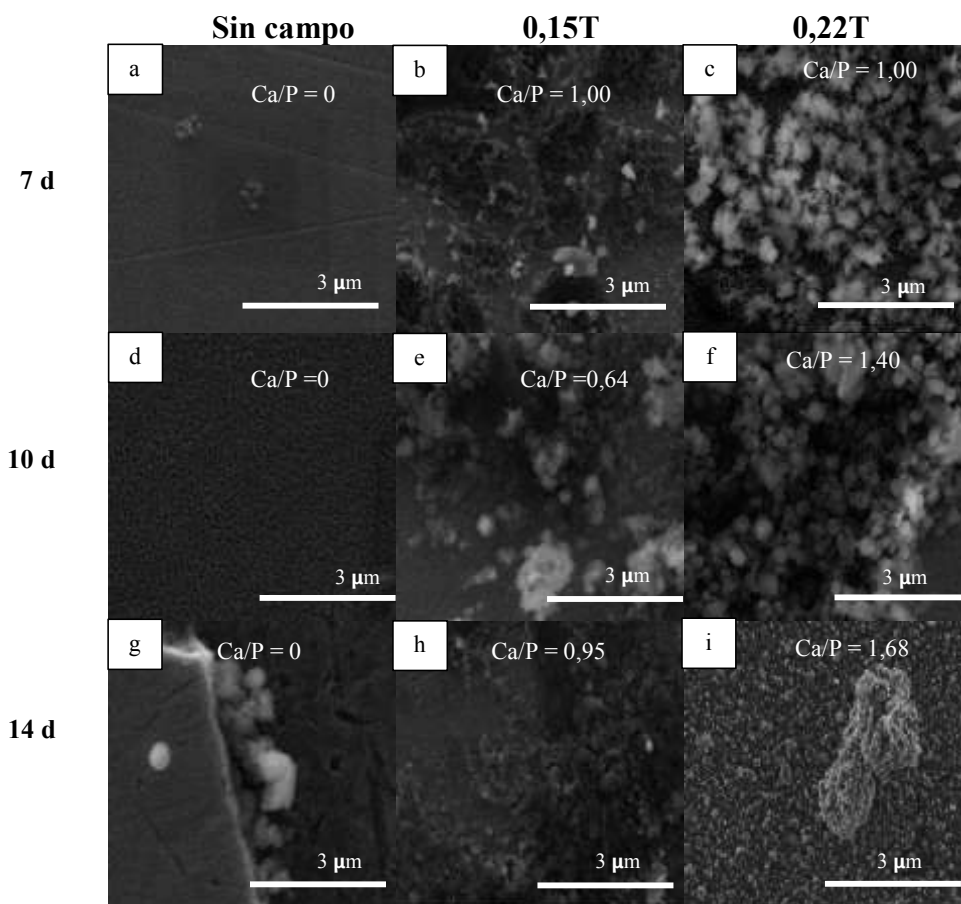
<b>Campo Magnético (Tesla)</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Relación Ca/P</b>	<b>Masa promedio de HAp formada (g)</b>	<b>Masa promedio de HAp formada (mg/mm<sup>2</sup>)</b>
0,00	7,00	1,38	0,0008	0,025
0,11	7,00	1,14	0,0010	0,031
0,22	7,00	1,40	0,0026	0,085
0,00	10,00	1,47	0,0027	0,088
0,11	10,00	1,83	0,0066	0,219
0,22	10,00	2,80	0,0076	0,252
0,00	14,00	2,41	0,0044	0,144
0,11	14,00	3,42	0,0063	0,209
0,22	14,00	2,35	0,0085	0,282

En el Anexo III se muestra el análisis estadístico detallado realizado en el programa Statgraphic Centurion, el cual demostró que en este sustrato las variables campo magnético A y tiempo B son estadísticamente significativas en la experimentación, como en el sustrato Ta/TaN/Ti.

### 3.2.1.3.Sustrato Ta/TaN/SS316LVM

En el caso de la deposición de hidroxiapatita sobre Ta/TaN/SS316LVM se observaron morfologías más definidas como se muestra en la Figura 3.14. Igual que en los sustratos de Ta/TaN/Ti y Titanio con tratamiento químico, una mayor precipitación se formó con la presencia de campos magnéticos, ya que como se ve en las Figuras 3.14 (a), (d) y (g) con el método biomimético sin campo no existe

una presencia notoria del compuesto. En este caso, al tiempo de catorce días se evidencia el inicio de la nucleación del fosfato, sin la aplicación del campo magnético. Las muestras en presencia del campo magnético de 0,22 T ya tuvieron una morfología típica de HAp, como se ve en las Figuras 3.14 (c) (f) y (i). A los catorce días de inmersión del sustrato y con un campo de 0,22 T, se obtuvo una película uniforme con una relación de Ca/P de 1,68, propia de la formación de hidroxiapatita, como se muestra en la Figura 3.14 (i).

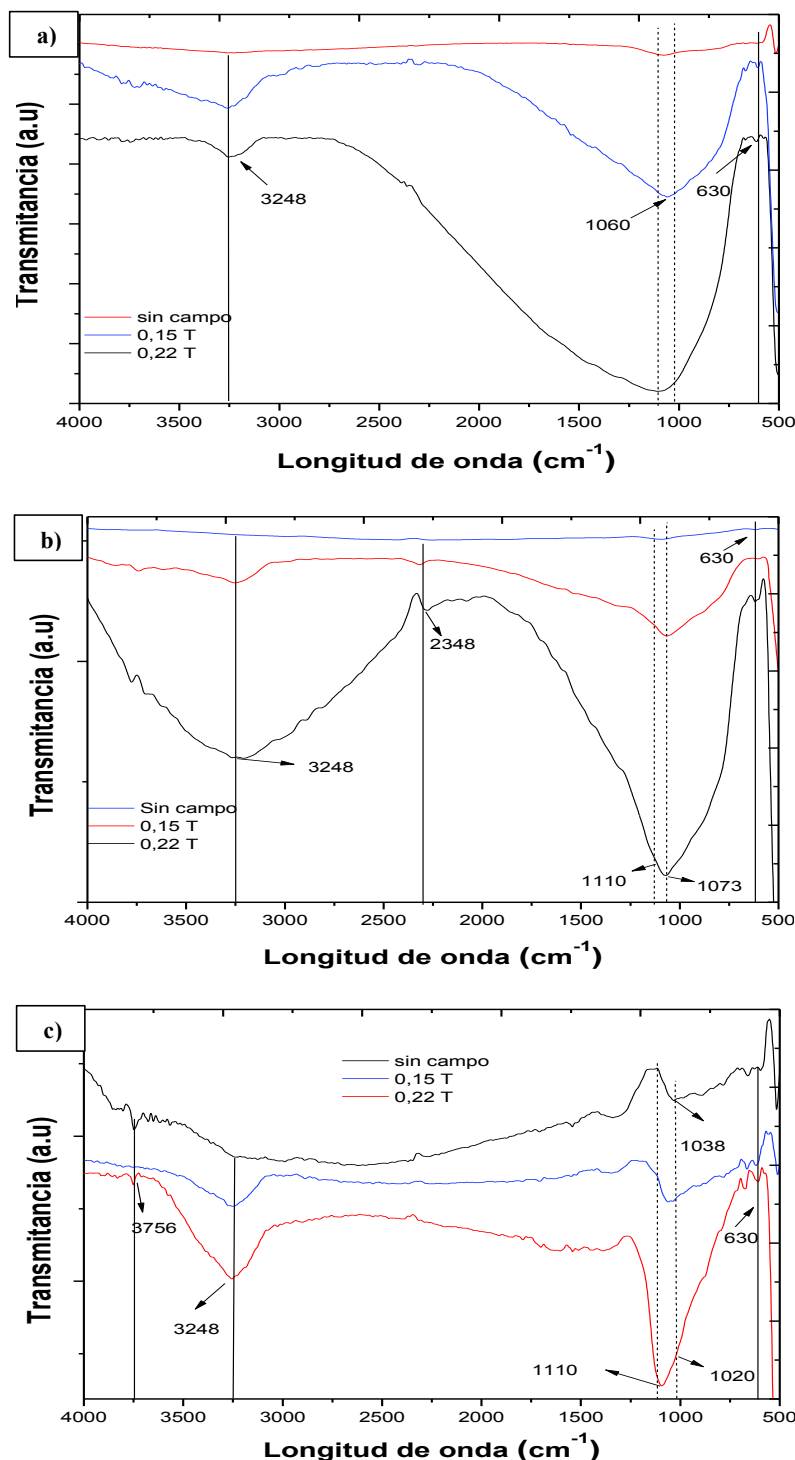


**Figura 3.14.** Imágenes MEB formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316 LVM (a) (d) (g) sin campo (b) (e) (h) 0,15 T (c) (f) (i) 0,22 T durante 7, 10 y 14 d

Los infrarrojos de la formación de hidroxiapatita sobre Ta/TaN/SS316LVM, presentados en la Figura 3.15, muestran que con el transcurso de los días las bandas de los fosfatos empezaron a definirse mejor en comparación del caso del Ta/TaN/Ti, entre  $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$  a  $1\ 110\ \text{cm}^{-1}$ . Con la influencia de los campos magnéticos en tiempos de 10 y 14 d se observaron bandas más marcadas de  $\text{PO}_4^{3-}$ , como se ve en las Figuras 3.15 (b) y (c); así como una disminución de agua



absorbida en  $3\ 248\ \text{cm}^{-1}$  comparada con los otros casos. Asimismo, en estos espectros se observa que la aparición del grupo  $\text{OH}^-$  en  $3\ 756\ \text{cm}^{-1}$ , es más intensa y a diferencia de los sustratos mencionado anteriormente no existió una absorción de  $\text{CO}_2$  presente.



**Figura 3.15.** FTIR de la formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316LVM en presencia de campos magnéticos (a) 7 d (b) 10 d y (c) 14 d

En la Tabla 3.5 se presentan los resultados de la relación de Ca/P y la masa promedio de hidroxiapatita obtenida a las diferentes condiciones en Ta/TaN/SS316LVM. Como en los sustratos anteriores, se observa una mayor cantidad de hidroxiapatita formada a mayor campo y mayor tiempo, así como con la relación de Ca/P.

**Tabla 3.5.** Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de campo magnético y tiempos sobre Ta/TaN/SS316LVM

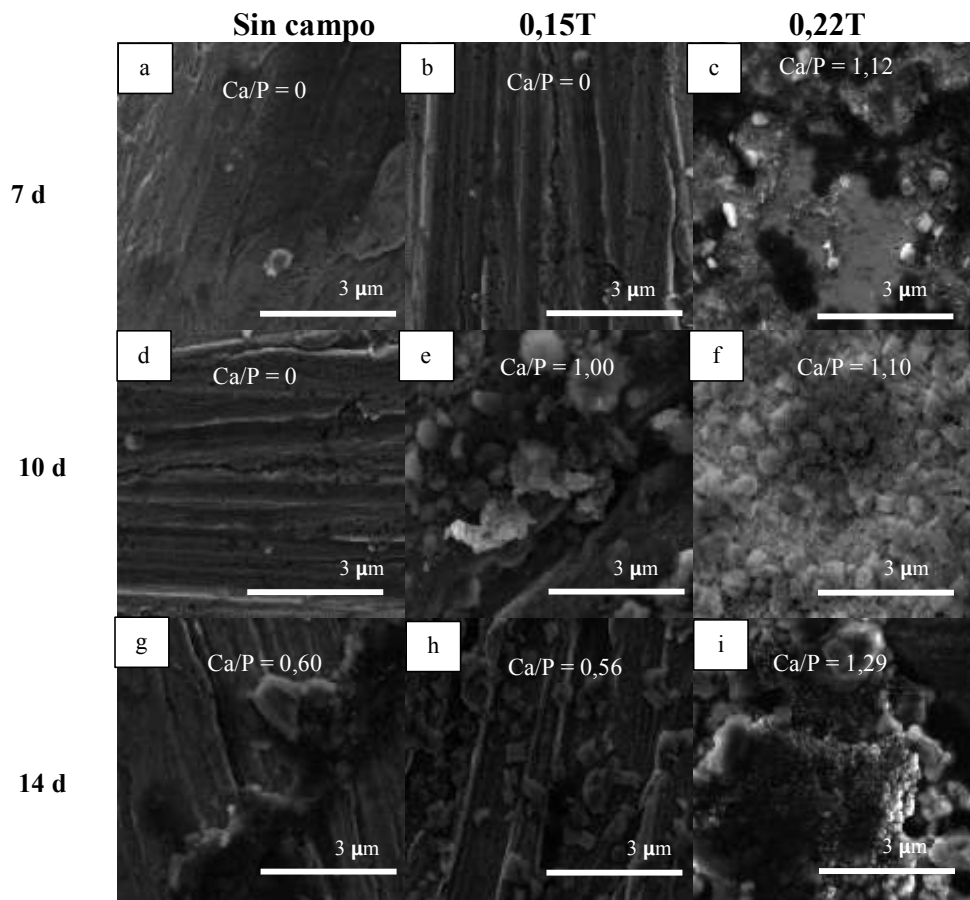
<b>Campo Magnético (Tesla)</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Relación Ca/P</b>	<b>Masa promedio de HAp formada (g)</b>	<b>Masa promedio de HAp formada (mg/mm<sup>2</sup>)</b>
0,00	7,00	0,00	0,0002	0,008
0,11	7,00	1,00	0,0037	0,116
0,22	7,00	1,00	0,0072	0,229
0,00	10,00	0,00	0,0010	0,033
0,11	10,00	0,64	0,0049	0,156
0,22	10,00	1,40	0,0053	0,170
0,00	14,00	0,00	0,0017	0,054
0,11	14,00	0,95	0,0057	0,180
0,22	14,00	1,68	0,0074	0,236

Los resultados de la influencia del campo magnético y del tiempo de inmersión sobre la cantidad de masa de hidroxiapatita sobre el Ta/TaN/SS316LVM se muestran en el Anexo III, que al igual que en los casos anteriores se observa que las variables campo magnético A y tiempo B tienen una influencia estadísticamente significativas sobre la formación de hidroxiapatita.

#### **3.2.1.4.Sustrato SS316LVM**

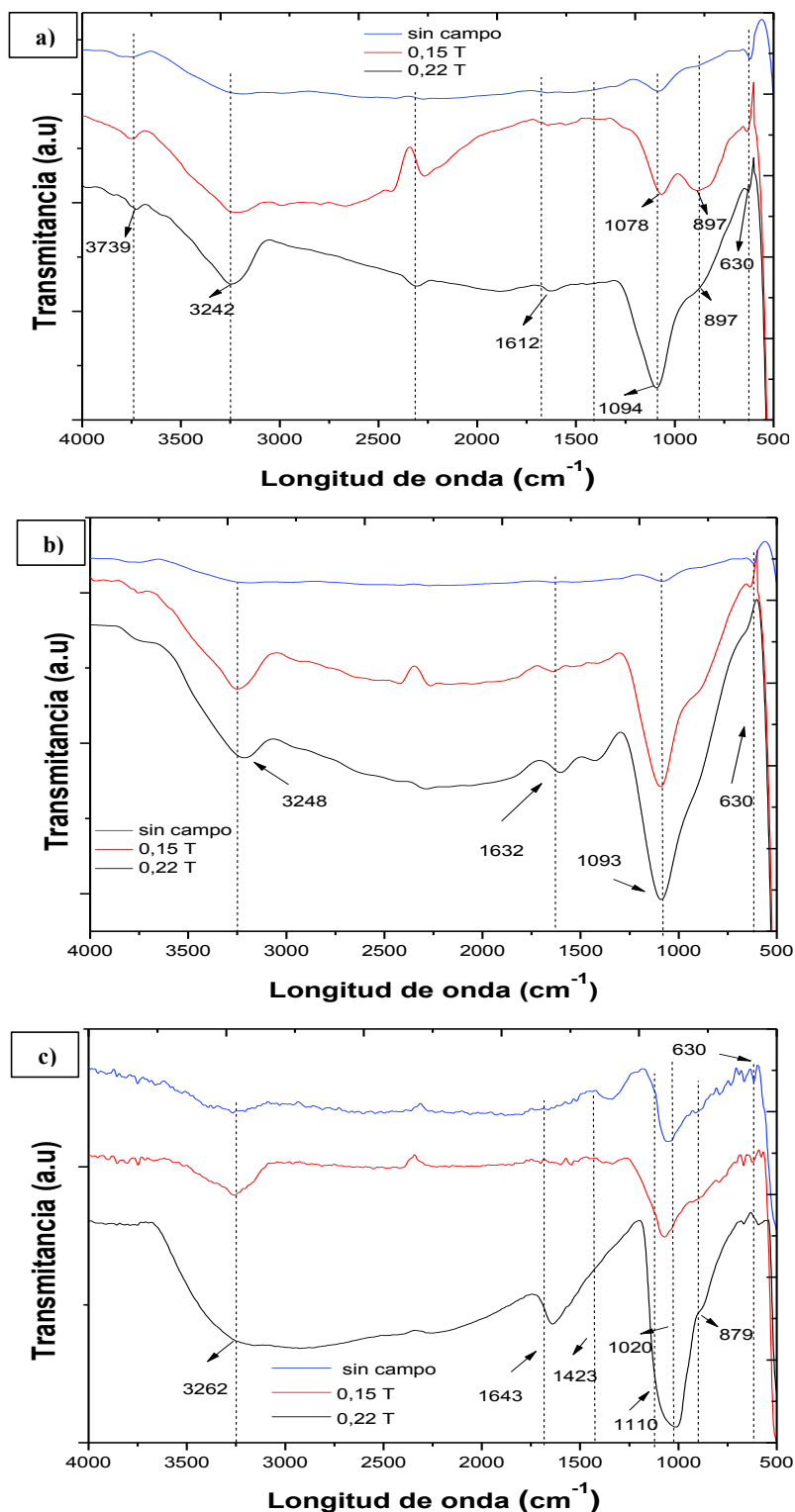
La Figura 3.16 expone las imágenes MEB de la deposición de hidroxiapatita sobre SS316LVM con tratamiento químico con y sin presencia de campos por tiempos de 7, 10 y 14 días. Las Figuras 3.16 (a-c), muestran que a los 7 días de inmersión en

el SBF no existieron nucleaciones, y con un campo de 0,22 T, comenzó el proceso de formación con presencia de calcio y fósforo. Ya a los 10 y 14 días, como se muestra en las Figuras 3.16 (d-i), el proceso de nucleación es más notorio que a los 7 días a ambos valores de campo magnéticos. Para la condición de 10 y 14 días con un campo magnético de 0,22 T se observó una película uniforme en todo el sustrato. Por otro lado, en la Figura 3.16 (i) se observa la mayor relación de Ca/P. Asimismo al realizar la experimentación con el método biomimético sin presencia de campos magnéticos para el acero 316LVM a los catorce días, se nota el proceso de precipitación con presencia de Ca y P. Al igual que en el titanio con tratamiento químico, la capa de óxido formada ayudó a la formación de la hidroxiapatita.



**Figura 3.16.** Imágenes MEB formación de HAp sobre SS316 LVM con tratamiento químico (a) (d) (g) Sin campo (b) (e) (h) 0,15 T (c) (f) (i) 0,22 T durante 7, 10 y 14 d.

Al igual que los casos anteriores, el análisis FTIR, ayudó a reconocer los grupos formados en el método biomimético con y sin presencia de campos magnéticos sobre el acero inoxidable 316 LVM, que se presenta en la Figura 3.17.



**Figura 3.17.** FTIR de la formación de HAp sobre SS316LVM con tratamiento químico en presencia de campos magnéticos (a) 7 d (b) 10 d y (c) 14 d

En todos los casos, se observa la presencia de  $\text{PO}_4^{3-}$  entre  $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$  a  $1\ 110\ \text{cm}^{-1}$ , excepto para la condiciones de 7 y 10 días sin presencia de campos, lo que se corrobora en las imágenes MEB presentadas en las Figuras 3.16 (a) y (d).

En las Figuras 3.17 (a) y (b) apareció el grupo  $\text{HPO}_4^{2-}$  en  $897\text{ cm}^{-1}$ , esto a un campo de 0,15 T, debido a una formación deficiente de calcio y una presencia de carbonatos entre  $1\ 642\text{ cm}^{-1}$  a  $1\ 420\text{ cm}^{-1}$ .

De igual manera en la Tabla 3.6 se exponen los resultados de la relación de Ca/P y la masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones sobre SS316LVM, en la que se observa el mismo comportamiento de los sustratos anteriores.

**Tabla 3.6.** . Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de campo magnético y tiempos sobre SS316LVM

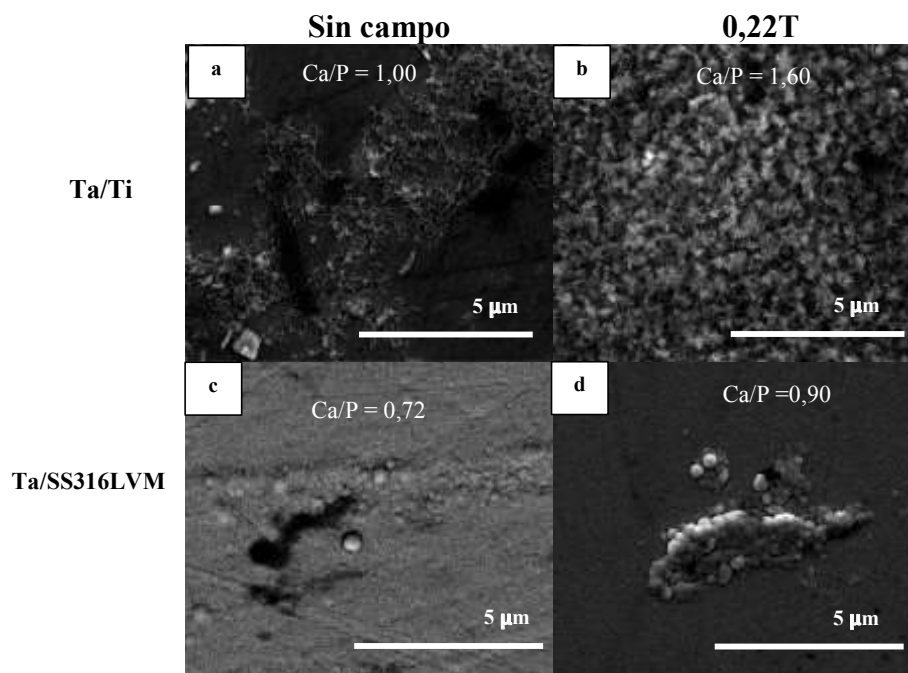
<b>Campo Magnético (Tesla)</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Relación Ca/P</b>	<b>Masa promedio de HAp formada (g)</b>	<b>Masa promedio de HAp formada (mg/mm<sup>2</sup>)</b>
0,00	7,00	0,00	0,0000	0,000
0,11	7,00	0,00	0,0002	0,006
0,22	7,00	1,12	0,0001	0,005
0,00	10,00	0,00	0,0002	0,006
0,11	10,00	1,00	0,0040	0,127
0,22	10,00	1,10	0,0021	0,067
0,00	14,00	0,60	0,0003	0,010
0,11	14,00	0,56	0,0020	0,064
0,22	14,00	1,29	0,0051	0,162

En el Anexo III se muestra el análisis estadístico realizado en el programa Statgraphic Centurion, que corrobora la influencia del campo magnético y el tiempo de inmersión sobre la masa de hidroxiapatita obtenida a las diferentes condiciones sobre SS316LVM, mismo comportamiento que en los casos anteriores.

### **3.2.2. APLICACIÓN DE LAS MEJORES CONDICIONES DE FORMACIÓN SOBRE LOS SUSTRATOS CON RECUBRIMIENTO DE TÁNTALO**

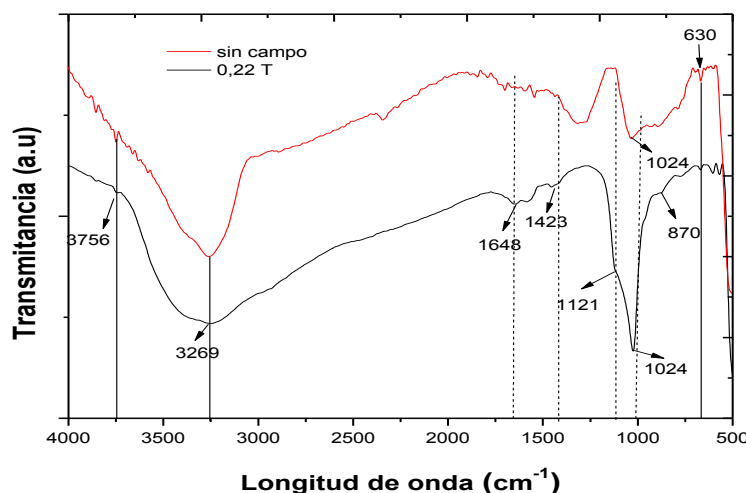
A continuación se presentan los resultados del efecto de la formación de

hidroxiapatita sobre los sustratos con recubrimientos de Tántalo (Ta/Ti y Ta/SS316LVM), a las mejores condiciones de formación de HAp deducidas de los análisis realizados en los sustratos anteriores. Estas condiciones se presentaron con un tiempo de inmersión en el fluido corporal simulado de catorce días y un campo magnético de 0,22 T, bajo las cuales se obtienen la mayor cantidad de hidroxiapatita precipitada y las mejores relaciones de Ca/P y morfología tipo coral. En la Figura 3.18 (a) y (b) se muestran las imágenes MEB de la formación de hidroxiapatita sobre Ta/Ti, en las cuales se evidencia que con la presencia del campo magnético, se obtiene una mayor nucleación y crecimiento del compuesto HAp con una morfología tipo coral bien definida, así como una relación óptima de Ca/P de 1,60, derivada del análisis elemental presentado en el Anexo I. De la misma forma, el análisis de las Figuras 3.18 (c) y (d) evidencian que no se mostraron resultados satisfactorios en la deposición de hidroxiapatita sobre el Ta/SS316LVM, con y sin efecto de campo magnético, observándose solamente una fase inicial de precipitación de HAp sobre el sustrato. Este efecto negativo puede ser atribuido a la delaminación de la película de tántalo sobre el sustrato de acero, que fue observada durante la experimentación.

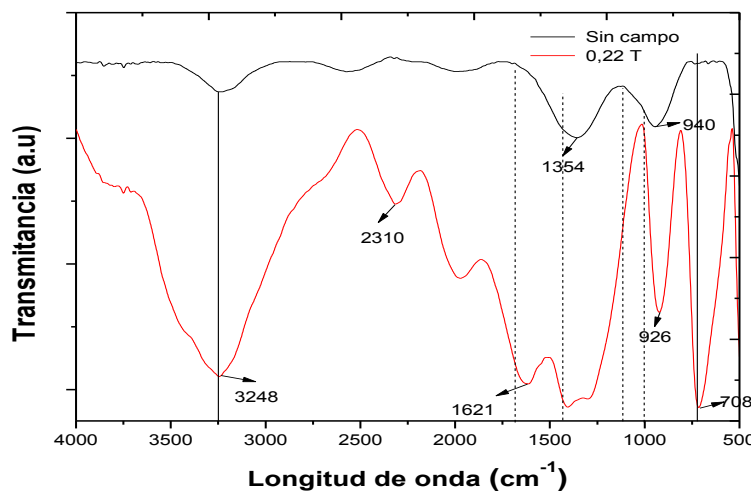


**Figura 3.18.** Deposición de hidroxiapatita en presencia de un campo magnético de 0,22 T sobre Ta/Ti y Ta/SS316LVM durante 14 d

En las Figuras 3.19 y 3.20 se muestran los análisis FTIR de la formación de hidroxiapatita sobre Ta/Ti y Ta/SS316LVM, respectivamente. En el caso del Ta/Ti, se observa un espectro más definido con la presencia de campo magnético, en este se nota la presencia de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  entre  $1\,020\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,110\text{ cm}^{-1}$  y carbonatos entre  $1\,642\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,420\text{ cm}^{-1}$ , como la presencia del grupo  $\text{OH}^-$  en  $630\text{ cm}^{-1}$  y  $3\,756\text{ cm}^{-1}$ . Por otro lado, en la Figura 3.20 no se evidencian las bandas características que muestran la formación de HAp. Resultados que concuerdan con las observaciones de las imágenes MEB para este sustrato, corroborándose el efecto negativo de la delaminación del tántalo sobre la superficie del acero antes mencionado.



**Figura 3.19.** FTIR HAp depositada sobre Ta/Ti en presencia de un campo magnético de 0,22 T por 14 d



**Figura 3.20.** FTIR HAp depositada sobre Ta/ SS316LVM en presencia de un campo magnético de 0,22 T por 14 d

### **3.3. DEPOSICIÓN ELECTROQUÍMICA DE HIDROXIAPATITA SOBRE LOS DISTINTOS SUSTRATOS METÁLICOS, UTILIZANDO COMO ELECTROLITO FLUIDO CORPORAL SIMULADO**

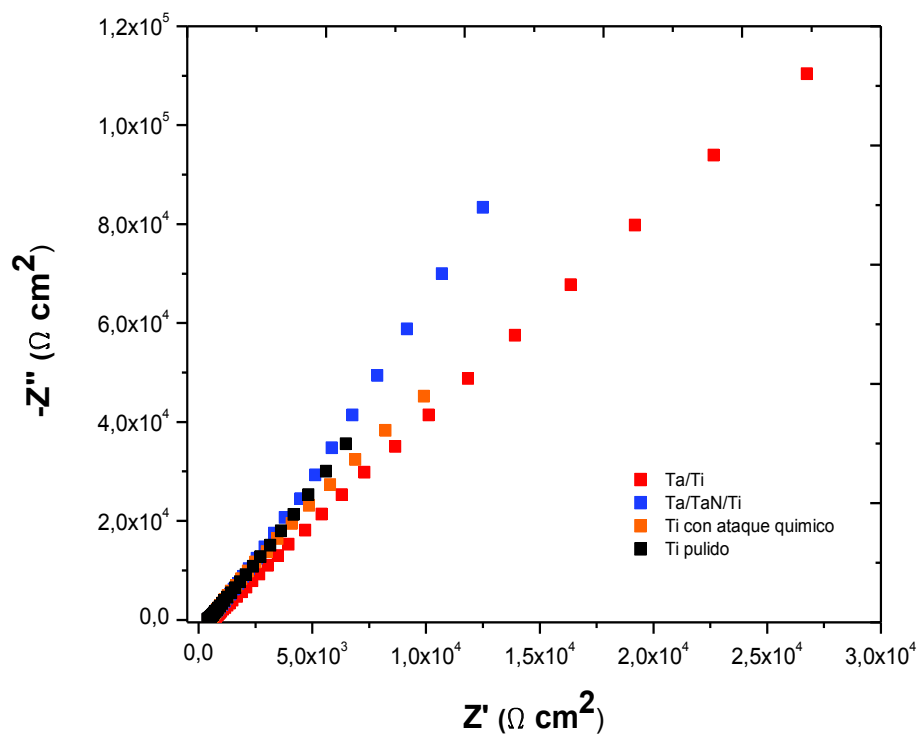
#### **3.3.1. CARACTERÍSTICAS ELECTROQUÍMICAS DE LOS SUSTRATOS**

En este apartado se presentan los resultados de la caracterización electroquímica de los sustratos, mediante espectroscopía de impedancia, antes de la deposición de hidroxiapatita. Los datos obtenidos se representaron con ayuda del diagrama de Nyquist, que relaciona la componente imaginaria de la impedancia ( $Z''$ ) vs la componente real de la misma ( $Z'$ ). Y el diagrama de Bode, que relaciona el módulo de la impedancia  $|Z(\omega)|$  y el ángulo de fase  $\varphi$  vs el log de frecuencia de Nyquist, (Pérez, 2012, pp. 40-41).

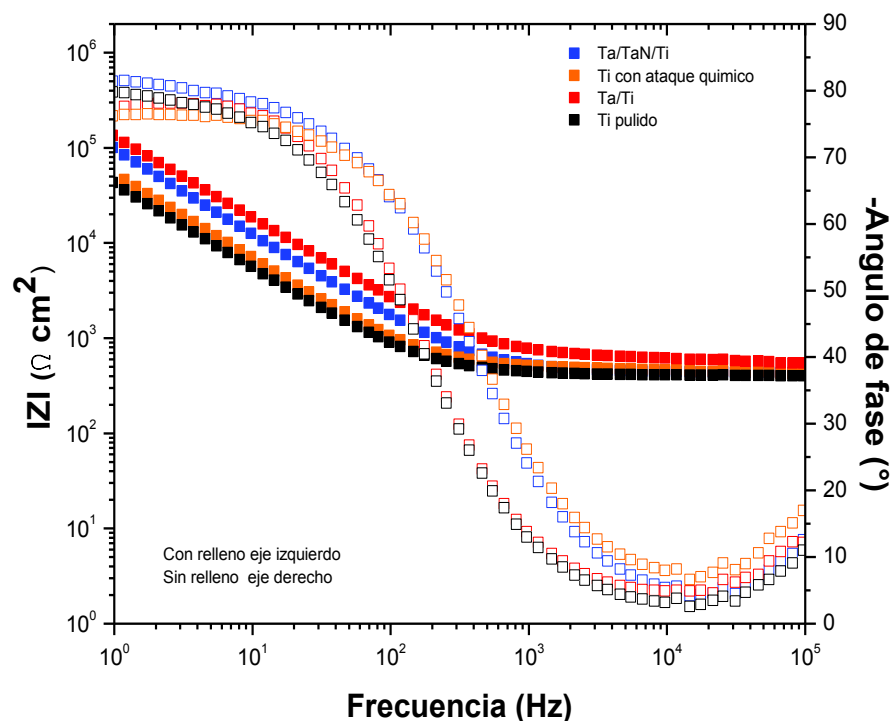
El diagrama de Nyquist presentado en la Figura 3.21, muestra que el titanio con recubrimiento de Ta/TaN posee una pendiente más elevada que los otros sustratos, lo que indica que el Ta/TaN/Ti tiene un comportamiento más capacitivo que el titanio con recubrimiento de Ta, titanio pulido y titanio con tratamiento químico. Este comportamiento revela que la doble capa de Ta/TaN presenta mayor resistencia electroquímica, y sugiere que la doble capa tendrá un efecto de protección en el sustrato ante un proceso de corrosión (Liu, Xu y Jiang, 2016, p. 11).

El diagrama de Bode expuesto en la Figura 3.22, corrobora el mismo comportamiento del Ta/TaN/Ti, ya que en el rango de baja y media frecuencia el  $\log Z$  se mantiene constante con el ángulo de fase cerca de  $90^\circ$ , característico del comportamiento capacitivo y cae para altas frecuencias atribuido al comportamiento resistivo de la solución (Liu, Xu y Jiang, 2016, p. 11). El titanio con recubrimiento de Ta/TaN muestra un rango mayor de  $\log Z$  vs frecuencia en la relación lineal y en el plateau del ángulo de fase que el titanio sin recubrimiento, por lo que la doble capa tendría un efecto más aislante y protector que en los materiales sin recubrimiento (Liu, Xu y Jiang, 2016, pp.10-11).





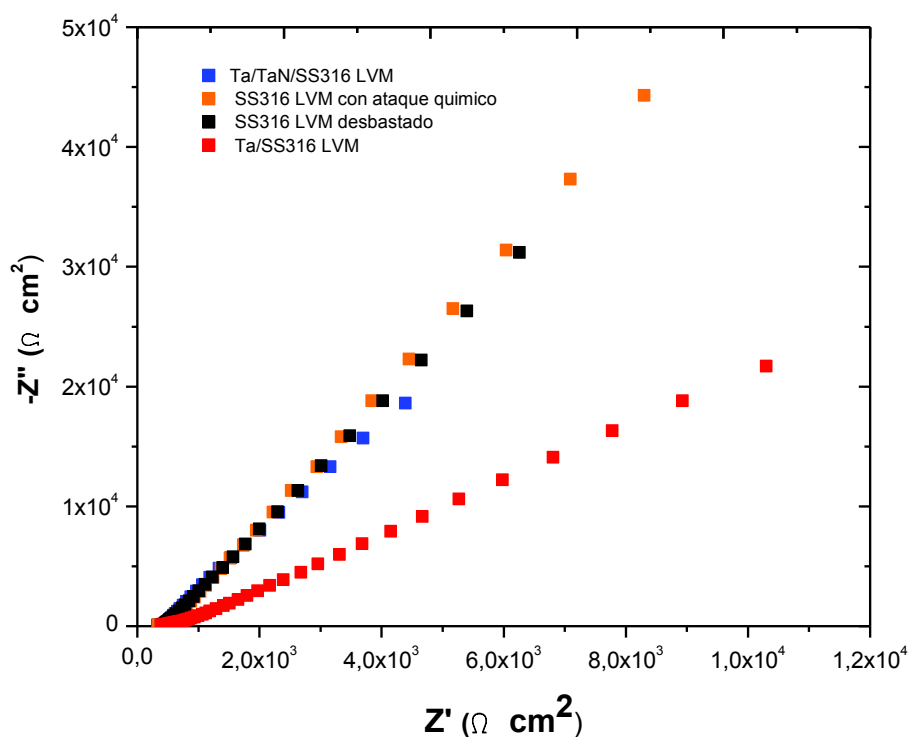
**Figura 3.21.** Diagrama de Nyquist del Titanio pulido, Titanio con tratamiento químico, Ta/Ti y Ta/TaN/Ti en SBF a 37 °C y pH de 7,2 -7,4



**Figura 3.22.** Diagrama de Bode del Titanio pulido, Titanio con tratamiento químico, Ta/Ti y Ta/TaN/Ti en SBF a 37 °C y pH de 7,2 -7,4

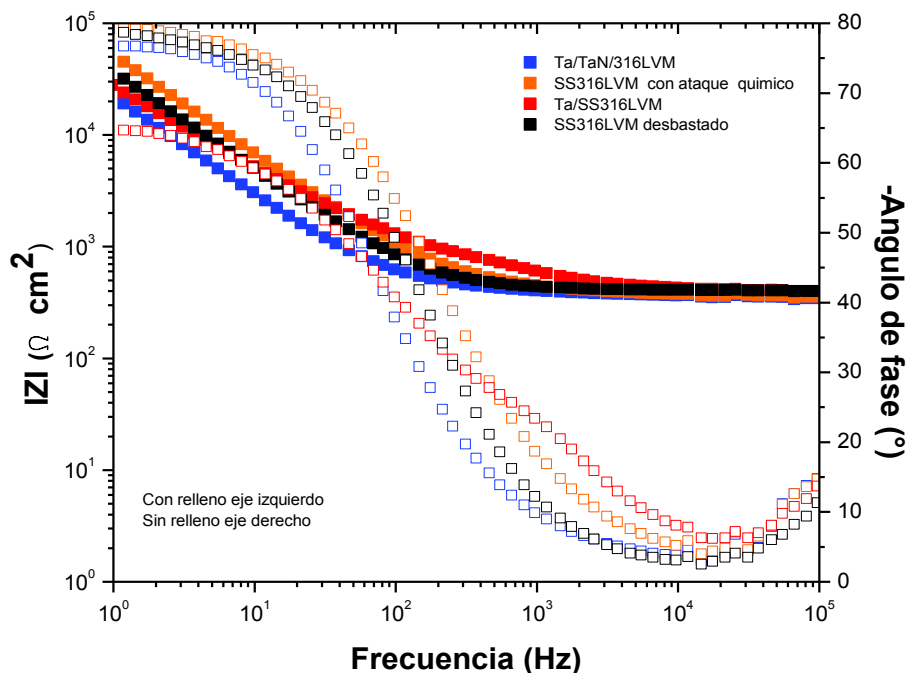
La Figura 3.23 representa el diagrama de Nyquist, en el cual se observa que el acero 316LVM con tratamiento químico, acero desbastado y el acero con

recubrimiento de TaN/Ta tienen las pendientes más elevadas, que el acero recubierto con una película Ta, que demuestran que dichos sustratos tienen un comportamiento más capacitivo que el Ta/SS316LVM.



**Figura 3.23.** Diagrama de Nyquist del Acero 316LVM desbastado, Acero 316LVM con tratamiento químico, Ta/SS316LVM y Ta/TaN/SS316LVM en SBF a 37 °C y pH de 7,2 - 7,4

Por otro lado la Figura 3.24 representa el diagrama de Bode, que confirma lo visto en el diagrama de Nyquist, ya que se observa que el acero desbastado, con tratamiento químico y el acero con recubrimiento de TaN/Ta tienen una mayor relación lineal, así como un ángulo cercano a 90°, propio del comportamiento capacitivo, que el acero con recubrimientos de Ta; es decir que el recubrimiento no es tan efectivo ante un proceso corrosivo como en el caso del Ta/Ti, esto ocurre porque la película de Ta no tiene una buena adhesión con el SS316LVM, puesto que se observó un proceso de delaminación de la película, posiblemente atribuido a la generación de tensión, a medida que se depositan nuevas capas por la llegada de nuevos átomos, dicha tensión aumenta entre ellas y estos granos coalescen y empiezan a tener un crecimiento tipo isla (Jara, Fraise, Flaud, Fréty y González, 2016, p. 5), por lo que es necesaria una pre-película que aumente la adhesión, en este caso fue de TaN.



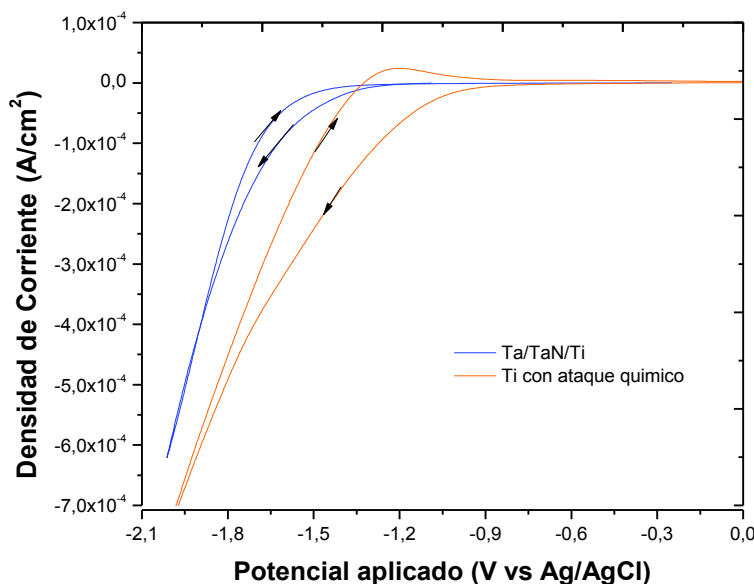
**Figura 3.24.** Diagrama de Bode del Acero 316LVM desbastado, Acero 316LVM con tratamiento químico, Ta/SS316LVM y Ta/TaN/SS316LVM en SBF a 37 °C y pH 7,2-7,4

### 3.3.2. DEPOSICIÓN ELECTROQUÍMICA

#### 3.3.2.1. Efecto de las diferentes condiciones de voltaje y tiempo

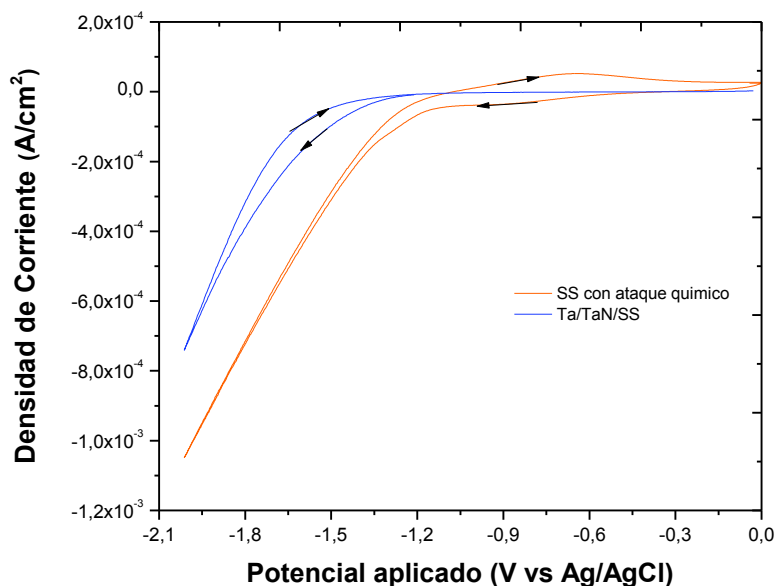
La voltametría cíclica permitió conocer los picos de reducción que se produjeron durante el proceso de deposición de hidroxiapatita. La Figura 3.25 representa la voltametría cíclica de barrido de los sustratos modificados: titanio con tratamiento químico y titanio recubierto con películas de Ta/TaN en solución de fluido corporal a 37 °C y pH de 7,2. Este análisis permitió determinar el rango de voltaje, en el cual se dan la nucleación y crecimiento de hidroxiapatita, el cual será usado para los experimentos de deposición.

Para el caso del titanio con tratamiento químico este rango se encuentra entre -1,3 V a -1,8 V. Por otro lado, para el caso del titanio con recubrimientos de Ta/TaN, este rango está entre -1,5 V a -2,0 V.



**Figura 3.25.** Voltametría cíclica del titanio con tratamiento químico y titanio con recubrimiento de Ta/TaN en SBF a 37 °C y pH de 7,2, velocidad de barrido de 0,1 V/s

La Figura 3.26 muestra el voltagrama del acero inoxidable 316LVM con tratamiento químico y acero inoxidable 316LVM recubierto con Ta/TaN en SBF a 37 °C y pH de 7,2.- 7,4. En este caso se notó que en el acero con tratamiento químico los procesos de nucleación y crecimiento se dan entre -1,2 V a -2,0 V, y para el acero inoxidable recubierto con Ta/TaN estos procesos se realizan entre potenciales de -1,5 V a -1,8 V.



**Figura 3.26.** Voltametría cíclica del acero 316LVM con tratamiento químico y acero 316LVM con recubrimiento de Ta/TaN en SBF a 37 °C y pH de 7,2, velocidad de barrido de 0,1 V/s

En la Tabla 3.7 se muestran los potenciales a los cuales se realizará la cronoamperometría, escogidos en la zona de nucleación y crecimiento determinada en la voltametría cíclica, en la cual se realiza la deposición de hidroxiapatita a los tiempos de 3 000 y 6 000 s.

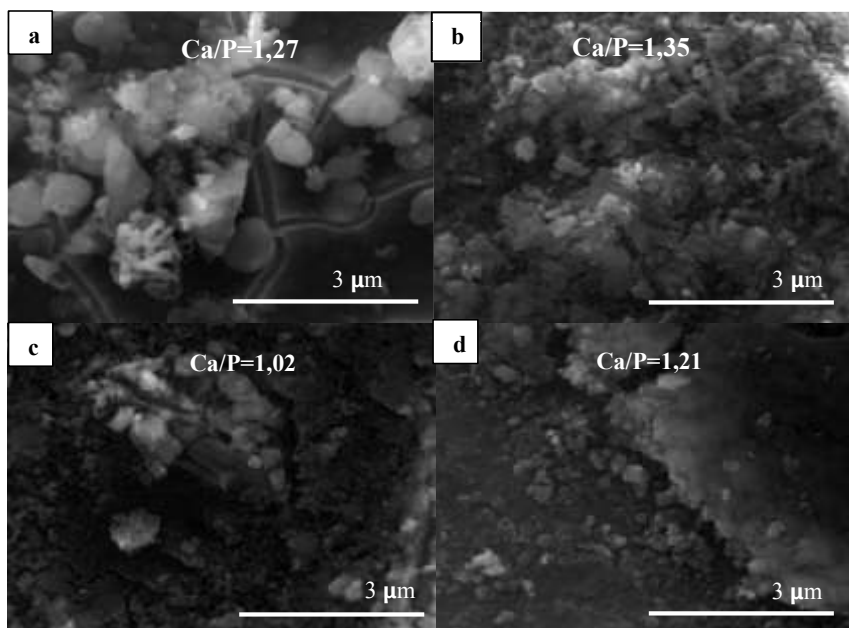
**Tabla 3.7.** Potenciales aplicados para la cronoamperometría

Sustrato	Potencial 1 (V)	Potencial 2 (V)	Sustrato	Potencial 1 (V)	Potencial 2 (V)
Ti con tratamiento químico	-1,3	-1,6	SS316LVM con tratamiento químico	-1,2	-1,4
Ta/TaN/Ti	-1,5	-1,8	Ta/TaN/SS316LVM	-1,4	-1,7

- **Sustrato de Ta/TaN/Ti**

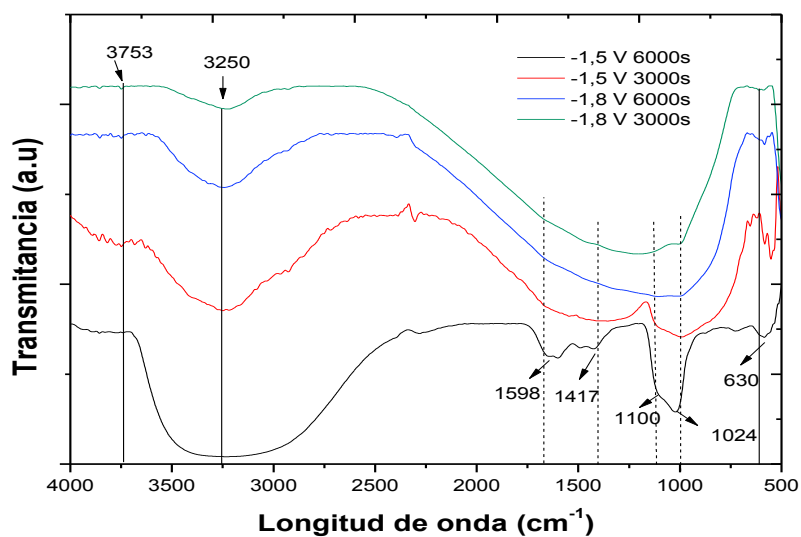
Los resultados de la morfología de la hidroxiapatita depositada, a los diferentes potenciales y tiempos se muestran a continuación. La Figura 3.27 muestra las imágenes MEB de la formación de HAp sobre el Ta/TaN/Ti, en todos los casos se observa que la formación del producto se da en capas, este fenómeno fue visto también en estudios de Ciro, Zapata y López, (2015) sobre sustratos de vidrio.

En las Figuras 3.27 (a) y (b), se muestra la deposición a -1,5 V por 3 000 y 6 000 s, en la que a las condiciones de -1,5 V y 6 000 s se mostró una morfología más uniforme y densa en todo el sustrato que en la formación biomimética. Por otro lado el análisis EDS, que se expone en el Anexo IV, indicó que la mayor relación de Ca/P se presentó a 6 000 s. Asimismo, las deposiciones realizadas a -1,8 V, expuestas en las Figuras 3.27 (c) y (d), fueron menos uniformes, aun cuando se observó que el efecto del tiempo mejora la deposición.



**Figura 3.27.** Imágenes MEB formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti (a) -1,5 V 3 000 s (b) -1,5 V 6 000s (c) -1,8 V 3 000 s

En la Figura 3.28 se muestran los resultados del análisis de FTIR de la formación de HAp sobre titanio con tratamiento químico. Se observa que a las condiciones de -1,8 V a 3 000 y 6 000 s, existe un solapamiento de las bandas en la región de  $1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  a  $1\ 400\ \text{cm}^{-1}$ , región donde se encuentra la huella digital de la hidroxiapatita, lo que no permitió reconocer los compuestos formados.



**Figura 3.28.** FTIR de la formación de HAp sobre Ti con tratamiento químico

Por otro lado, a la condición de -1,5 V a 3 000 s, se mostró la formación de un

fosfato amorfo, que es una primera fase de formación de HAp, que concuerda con el FTIR encontrado por Drouet (2013). A mayor tiempo, 6 000 s, y con un potencial de -1,5 V, se observaron las bandas características de HAp, en  $1\,024\text{ cm}^{-1}$  y  $1\,110\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a  $\text{PO}_4^{3-}$ , y la presencia de grupos  $\text{OH}^-$  en  $630\text{ cm}^{-1}$  y  $3\,753\text{ cm}^{-1}$ . También se notó la presencia de  $\text{CO}_3^{2-}$  en las bandas de  $1\,420\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,650\text{ cm}^{-1}$ , y agua absorbida en  $3\,250\text{ cm}^{-1}$ .

En la Tabla 3.8 se presenta la relación de Ca/P y la masa promedio de hidroxiapatita obtenida a las diferentes condiciones aplicadas sobre Ta/TaN/Ti. En este caso a la condición de -1,5 V y 6 000 s se obtuvo la mayor cantidad de masa, así como la mayor relación de Ca/P. En esta condición también se encontró el mejor FTIR de hidroxiapatita formada.

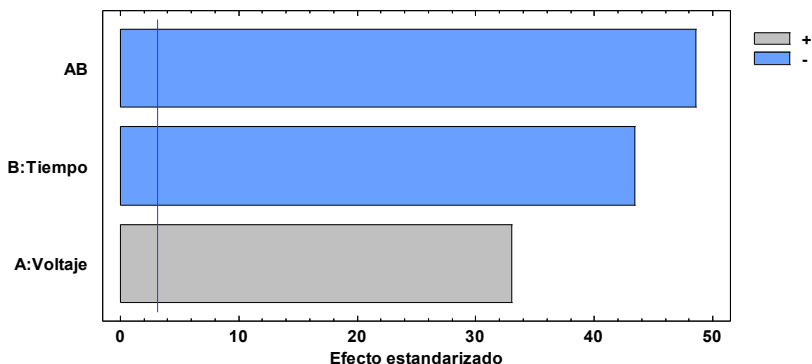
En el Anexo IV se exponen los análisis EDS de la formación de hidroxiapatita por el método electroquímico, de los cuales se calcula la relación de Ca/P expuesta en la Tabla 3.8.

**Tabla 3.8.** Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de potencial y tiempo sobre Ta/TaN/Ti

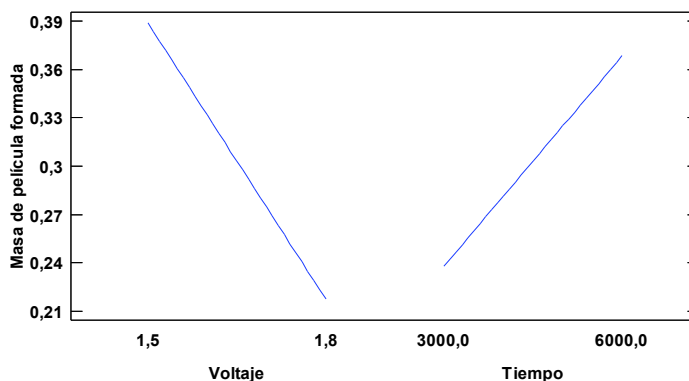
Potencial (V)	Tiempo (s)	Ca/P	Masa promedio de HAp formada (g)	Masa promedio de HAp formada ( $\text{mg}/\text{mm}^2$ )
-1,50	3 000	1,27	0,0029	0,228
-1,80	3 000	1,02	0,0031	0,248
-1,50	6 000	1,35	0,0069	0,550
-1,80	6 000	1,21	0,0024	0,187

En el Anexo V se muestra el análisis estadístico detallado realizado en el programa Statgraphic Centurion, en el cual se observó que tanto el voltaje como el tiempo son variables que tienen una influencia estadística significativa en la masa de hidroxiapatita formada, ya que existen tres efectos que tienen un valor-P menor que 0,05, como se ve en la Tabla IVA. 1. En la Figura 3.29 muestra que las variables voltaje A y tiempo B, así como, la combinación AB, tienen una influencia significativa

en la experimentación, ya que pasan la línea de efectos estandarizados. En la Figura 3.30 se observa la tendencia significativa de la masa formada en relación de dichas variables. Al igual que con el método biomimético en presencia de campos magnéticos, no se pudo realizar el análisis estadístico con la relación de Ca/P encontrada, debido a la insuficiencia de datos.



**Figura 3.29.** Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de HAp formada en Ta/TaN/Ti

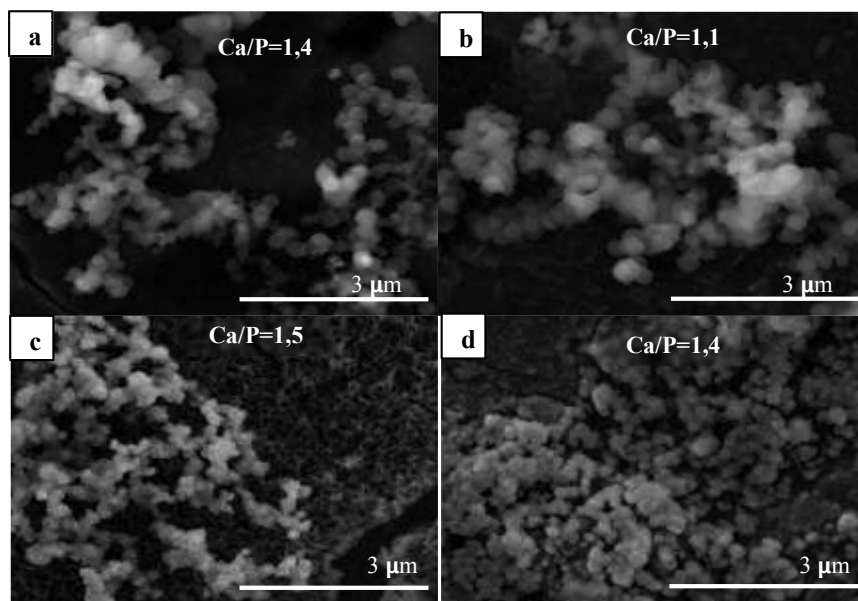


**Figura 3.30.** Gráfica de efectos principales para la masa de HAp formada sobre Ta/TaN/Ti

- **Sustrato Ti atacado con tratamiento químico**

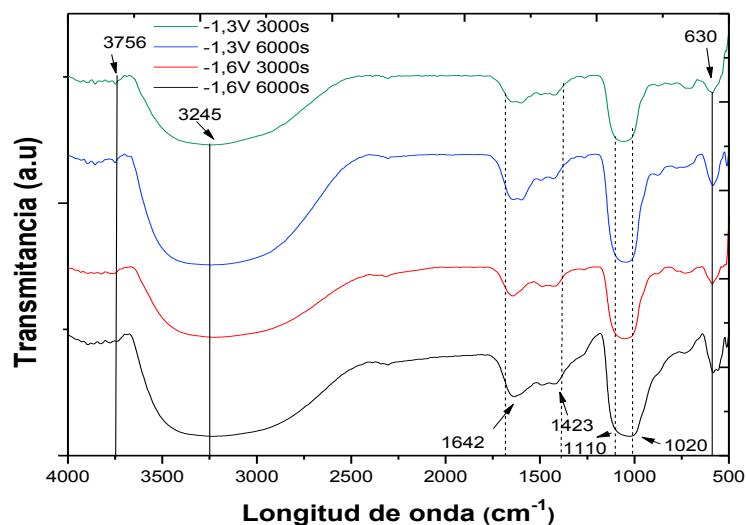
En la Figura 3.31 se observa las imágenes MEB de la formación de HAp sobre titanio con tratamiento químico, donde todos los productos obtenidos tienen una morfología bien definida con forma de pequeñas partículas esferoidales, esta morfología también fue encontrada en estudios de Spadavecchia y González (2007), para obtención de hidroxiapatita nanoestructurada. En las Figuras 3.31 (c) y (d), se nota una mayor formación de producto y mayor relación de Ca/P, que arrojó el análisis elemental.





**Figura 3.31.** Imágenes MEB de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico (a) -1,3 v 3 000 s (b) -1,3 v 6 000 s (c) -1,6 v 3 000 s (d) -1,6 v 6 000 s

Los resultados FTIR de la deposición sobre titanio con tratamiento químico, se exponen en la Figura 3.32, donde a las diferentes condiciones se obtuvo el espectro de HAp bien definido, con presencia de las bandas características. Las bandas están más definidas, ya que como se vio en el MEB tienen la estructura más ordenada, a diferencia del caso del recubrimiento de Ta/TaN. De igual forma se observó la presencia de  $\text{PO}_4^{3-}$ , en las bandas de  $1\,110\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,024\text{ cm}^{-1}$ , con presencia de carbonatos en  $1\,650\text{ cm}^{-1}$  y  $1\,423\text{ cm}^{-1}$  y  $\text{OH}^-$  en las bandas  $630\text{ cm}^{-1}$  y  $3\,756\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 3.32.** FTIR de la formación de HAp sobre Ti con tratamiento químico

La relación de Ca/P y la masa promedio de hidroxiapatita obtenida a los diferentes voltajes tiempos, se presentan en la Tabla 3.9. La mayor cantidad de masa de hidroxiapatita se da a -1,6 V, que es el voltaje más alto aplicado. De igual manera la relación de Ca/P es mayor a este voltaje.

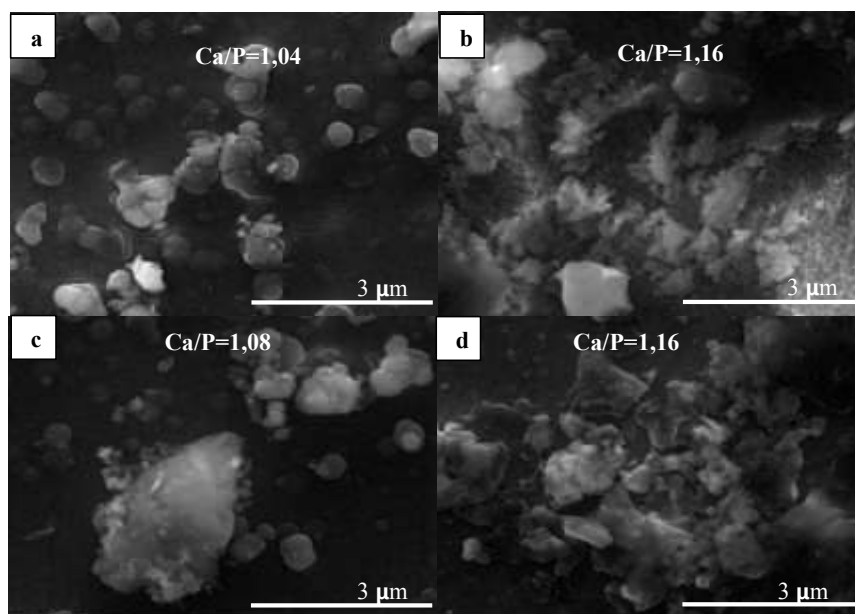
**Tabla 3.9.** Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de potencial y tiempo sobre Ti con tratamiento químico

Potencial (V)	Tiempo (s)	Ca/P	Masa promedio de HAp formada (g)	Masa promedio de HAp formada (mg/mm <sup>2</sup> )
-1,30	3 000	1,40	0,0024	0,191
-1,60	3 000	1,50	0,0031	0,247
-1,30	6 000	1,10	0,0014	0,111
-1,60	6 000	1,40	0,0031	0,247

En el Anexo V, se muestra el análisis estadístico detallado realizado en el programa Statagrophic Centurion de la influencia del voltaje aplicado A y el tiempo B sobre la masa de hidroxiapatita en el ti con tratamiento químico, que al igual que en el caso del Ta/TaN/Ti mostró que son variables que tienen una influencia estadística significativa en la experimentación.

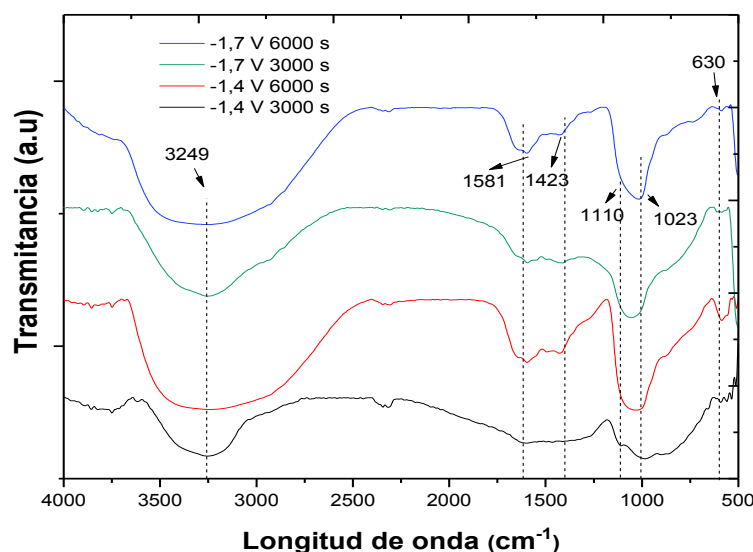
- **Sustrato de Ta/TaN/SS316 LVM**

En las imágenes MEB de la deposición sobre Ta/TaN/SS316 LVM mostradas en la Figura 3.33, no se observan grandes diferencias entre las diferentes condiciones de potencial empleados, -1,4 V y -1,7 V, en todas se observan formaciones de aglomerados de partículas de fosfatos de calcio sobre todo el sustrato. Aunque al tiempo de 6 000 s como se ve en las Figuras 3.33 (b) y (d) existe una mayor precipitación de producto, además en éstas se tienen las mayores relaciones de calcio y fósforo.



**Figura 3.33.** Imágenes MEB de la formación de HAP sobre Ta/TaN/316LVM (a) -1,4 V 3 000 s (b) -1,4 V 6 000 s (c) -1,7 V 3 000 s (d) -1,7 V 6 000 s

En la Figura 3.34 se observa el FTIR de la formación de HAP sobre Ta/TaN/SS316LVM, en todas las condiciones se notan las bandas características de fosfatos de calcio. Entre  $1\ 110\ \text{cm}^{-1}$  a  $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$  se encuentra las bandas de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ , y entre  $865\ \text{cm}^{-1}$  a  $877\ \text{cm}^{-1}$ , el grupo  $\text{HPO}_4^{2-}$ , que se da por la vibración de tensión del P-OH (Cimdina y Borodajenko, 2012, p. 130). La banda del grupo  $\text{OH}^-$  también está presente en  $632\ \text{cm}^{-1}$ . A la condición de -1,7 V por 6 000 s tiene un espectro con el perfil de bandas más características de hidroxiapatita.



**Figura 3.34.** FTIR de la HAP depositada sobre Ta/TaN/SS316LVM

En la Tabla 3.10 se indican la relación de Ca/P y la masa promedio de hidroxiapatita formada a los diferentes voltajes y tiempos sobre Ta/TaN/SS316LVM. Al igual que en los casos anteriores se observa una mayor cantidad de producto a un potencial mayor, así como, de relación de Ca/P al mayor potencial y tiempo.

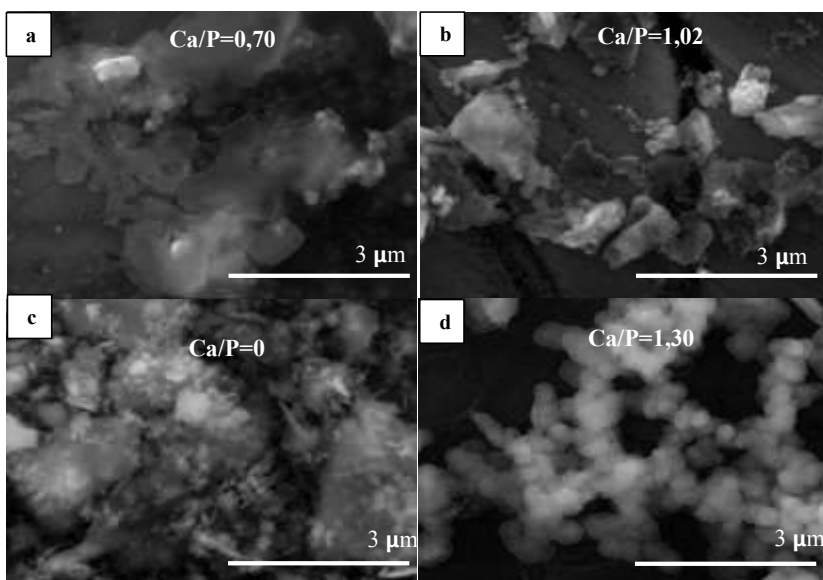
**Tabla 3.10.** Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de potencial y tiempo sobre Ta/TaN/SS316 LVM

Potencial (V)	Tiempo (s)	Ca/P	Masa promedio de HAp formada (g)	Masa promedio de HAp formada (mg/mm <sup>2</sup> )
-1,40	3 000	1,04	0,0003	0,021
-1,70	3 000	1,08	0,0036	0,286
-1,40	6 000	1,16	0,0034	0,267
-1,70	6 000	1,16	0,0036	0,286

En el Anexo V se muestra el análisis estadístico detallado de la influencia del voltaje A y del tiempo B en la masa de hidroxiapatita formada realizado en el programa Statgraphic Centurion, que demostró que estas variables tienen una influencia estadística significativa sobre la masa.

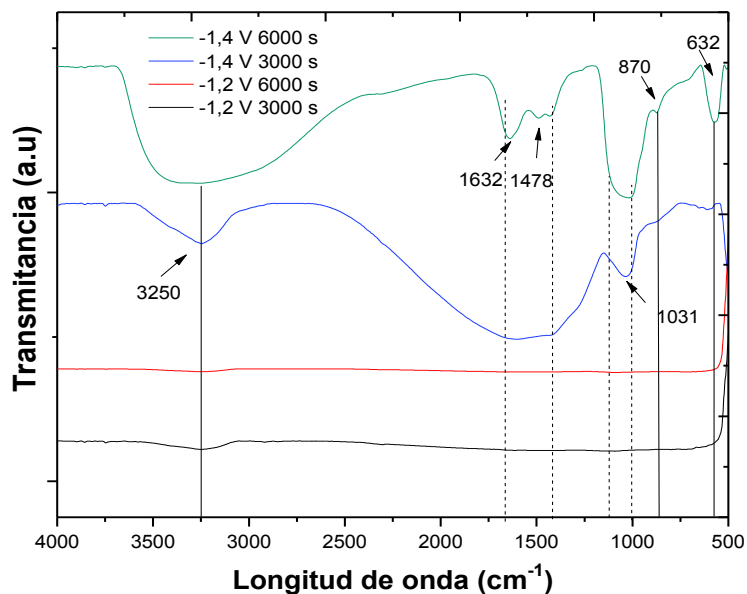
- **Sustrato de acero 316LVM**

La formación de hidroxiapatita sobre acero 316LVM con tratamiento químico a las diferentes condiciones se muestra en la Figura 3.35. Cuando se emplea un potencial de -1,2 V se obtiene una menor formación de producto, con una morfología irregular, no característica, como se observa en las Figuras 3.35 (a) y (b), atribuida a que el voltaje aplicado fue muy bajo para que se dé el crecimiento, por otro lado la Figura 3.35 (c) en la cual se utilizó -1.4 V se obtuvo la formación de una capa con partículas con morfología más definida, especialmente a 6 000 s, con una relación de Ca/P igual a 1,30.



**Figura 3.35.** Imágenes MEB de la formación de HAp sobre SS316LVM (a) -1,2 V 3 000 s (b) -1,2 V 6 000 s (c) -1,4 V 3 000 s (d) -1,4 V 6 000 s

A continuación se muestran los resultados FTIR de la deposición de HAp sobre SS316 LVM con tratamiento químico, expuestos en la Figura 3.36. A la condición de -1,4 V por 6 000 s se observa el espectro más definido de la formación de hidroxiapatita con presencia de los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  entre  $1\,110\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,020\text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{OH}^-$  en  $630\text{ cm}^{-1}$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$  en  $870\text{ cm}^{-1}$ , lo que se corrobora con el MEB de la Figura 3.36 (d), obteniéndose una morfología definida de pequeños bastones esferoidales.



**Figura 3.36.** FTIR de la HAp depositada sobre SS316LVM con tratamiento químico

A la condición de -1,4 V y 3 000 s, se nota la formación de un fosfato con una banda corta a  $1\ 031\ \text{cm}^{-1}$ . Por otro lado a las demás condiciones de -1,2 V no se tuvieron buenos resultados, ya que las estructuras encontradas tuvieron una formación deficiente y amorfa. Esto se debe a que la síntesis se realizó a un potencial bajo, en el cual no se produjo el proceso de nucleación y crecimiento.

En la Tabla 3.11 se presentan la relación de Ca/P y la masa promedio de hidroxiapatita obtenida a las diferentes condiciones, se puede apreciar que a mayor potencial existe un aumento de la masa del producto y de la relación de calcio y fósforo.

**Tabla 3.11.** Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita formada a las diferentes condiciones de potencial y tiempo sobre SS316 LVM

Potencial (V)	Tiempo (s)	Ca/P	Masa promedio de HAp formada (g)	Masa promedio de HAp formada (mg/mm <sup>2</sup> )
1,20	3000	0,70	0,0007	0,056
1,40	3000	0,00	0,0016	0,125
1,20	6000	1,02	0,0008	0,064
1,40	6000	1,30	0,0021	0,170

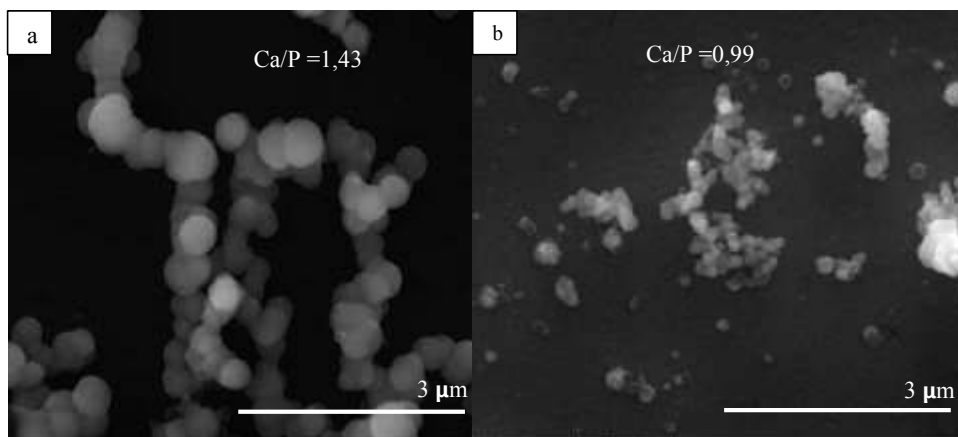
Asimismo, en el Anexo V se expone el análisis estadístico detallado realizado en el programa Statgraphic Centurion, con el cual se corroboró que el potencial A y el tiempo B son variables estadísticamente significativas sobre la masa de hidroxiapatita formada en acero 316LVM con tratamiento químico.

### 3.3.3. APLICACIÓN DE LAS MEJORES CONDICIONES DE LA FORMACIÓN SOBRE LOS SUSTRATOS CON RECUBRIMIENTO DE TÁNTALO

A continuación se presentan los resultados de la formación de hidroxiapatita sobre los sustratos con recubrimiento de Ta, con las mejores condiciones de formación obtenidas en los sustratos con recubrimiento de Ta/TaN, al igual que en estudio del

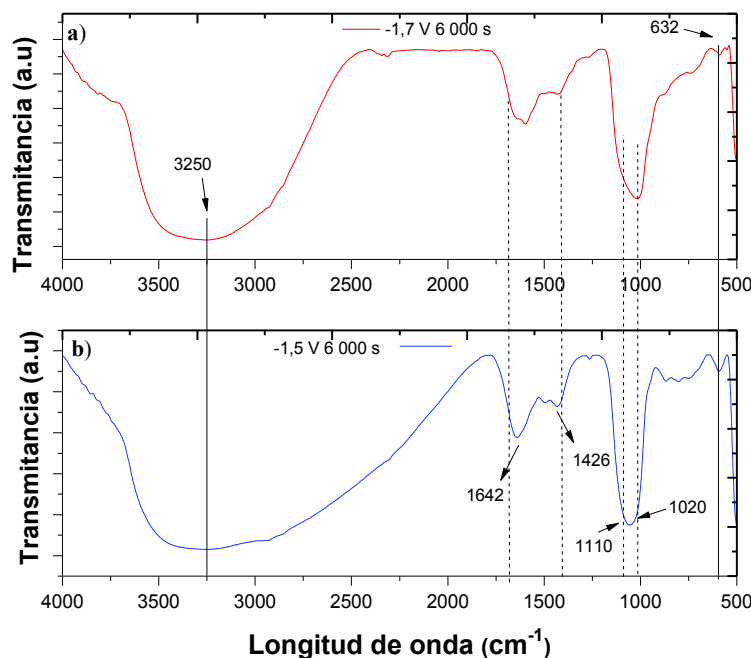
efecto del campo magnético, dichas condiciones se basaron en la mayor cantidad de hidroxiapatita producida y la mayor relación de Ca/P.

En la Figura 3.37 se observan las imágenes MEB de la especie formada sobre Ta/Ti a las condiciones de -1,8 V por 6 000 s y Ta/SS316LVM a -1,7 V por 6 000 s. En el caso de la Figura 3.37 (a) se observa una formación de pequeños bastones esferoidales típica de la HAp, la cual es más definida que en el caso de la HAp formada sobre Ta/TaN/Ti. Por otro lado en la Figura 3.37 (b) se formó una especie más pequeña y dispersa, aunque más definida que en el caso de Ta/TaN/SS316LVM. Ambos sustratos muestran nucleaciones de la especie alrededor del sustrato.



**Figura 3.37.** Imágenes MEB de la formación de la especie a las mayores condiciones (a) Ta/Ti -1,5V 6 000 s (b) Ta/SS316LVM -1,7 V 6 000 s

Los resultados del análisis FTIR de la formación de hidroxiapatita sobre Ta/Ti y Ta/SS316 LVM, se exponen en la Figura 3.38. En ambos casos, existe la presencia de grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  entre  $1\,110\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,020\text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{CO}_2^{3-}$  de  $1\,650\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,420\text{ cm}^{-1}$ , y del grupo  $\text{OH}^-$  en  $630\text{ cm}^{-1}$ , así como agua absorbida en  $3\,250\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 3.38.** FTIR de la formación de HAp sobre (a) Ta/Ti y (b) Ta/SS316LVM por 6 000 s

### 3.4. PRUEBAS DE HIDROFILICIDAD

Los resultados de las pruebas superficiales realizadas por medio de la medición del ángulo de contacto antes y después de la deposición de hidroxiapatita, a las mejores condiciones de formación encontradas en los diferentes métodos, para cada uno de los sustratos analizados se muestran en la Tabla 3.12.

El titanio con tratamiento químico antes de la deposición muestra un ángulo de  $67,48 \pm 1,37^\circ$ , lo que concuerda con ángulos de contacto para titanio después de un ataque ácido de  $67,89^\circ$  reportados por Strnad, Chirila, Petrovan y Russu (2016). El ángulo obtenido se encuentra en el rango de una superficie hidrofílica ( $10^\circ < \theta < 90^\circ$ ) según lo indican Minagar, Berndt y Wen (2015), y este comportamiento hidrofílico aumenta relativamente al colocar los recubrimientos de Ta y Ta/TaN, ya que el ángulo disminuye a  $46,22 \pm 0,96^\circ$  y  $49,32 \pm 2,56^\circ$ , respectivamente. Este comportamiento es beneficioso para la adhesión celular, ya que los medios celulares están basados en agua, la unión celular con el implante sería pobre, si la superficie es hidrofóbica (Menzies y Jones, 2010, p. 388). Otros autores han



reportado para tántalo sobre titanio, un ángulo de contacto en agua de  $51,00 \pm 2,50^\circ$  (Balla, Banerjee, Bose y Bandyopadhyay, 2010, p. 2331), lo cual es consistente con el ángulo de contacto encontrado sobre Ta/TaN/Ti y Ta/Ti en este trabajo. Luego de la deposición de HAp por ambos métodos el ángulo sobre Ti con tratamiento químico disminuyó en 33,98 % y 39,33 %, para el Ta/TaN/Ti en 19,08 % y 21,18 % y el Ta/Ti, en 8,19 % y 7,14 %, lo que hace que sea un material más compatible en el cuerpo.

**Tabla 3.12.** Resultados de ángulo de contacto de los diferentes sustratos antes y después de la deposición de Hidroxiapatita, a las mejores condiciones de formación a los diferentes métodos aplicados en la experimentación

Sustrato	Sin Deposición de HAp	Con Deposición de HAp (Método biomimético en presencia de campo magnético)		Con Deposición de HAp (Deposición electroquímica)			
	Ángulo (°)	Condiciones		Ángulo (°)	Condiciones		Ángulo (°)
		Campo magnético (T)	Tiempo (días)		Voltaje (V)	Tiempo (s)	
Ti con tratamiento químico	67,48±1,37	0,22	14,00	44,55±1,35	-1,60	6 000	40,94±1,21
Ta/TaN/Ti	46,22±0,96	0,22	14,00	37,40±2,41	-1,50	6 000	36,43±2,46
Ta/Ti	49,32±2,56	0,22	14,00	45,28±1,20	-1,50	6 000	45,80±1,90
SS316LVM con tratamiento químico	45,74±2,22	0,22	14,00	45,61±1,10	-1,40	6 000	40,35±1,29
Ta/TaN/SS316 LVM	48,45±1,28	0,22	14,00	36,37±1,23	-1,70	6 000	34,31±1,53
Ta/SS316LVM	52,02±3,22	0,22	14,00	53,32±1,14	-1,70	6 000	43,32±1,14
<b>PROMEDIO</b>	51,54±8,13			43,76±6,21			40,19±4,26

En el caso del acero inoxidable 316LVM, el ángulo de contacto medido antes de la deposición de HAp fue de  $45,74 \pm 2,22^\circ$ , por lo que tiene un comportamiento hidrofílico, este comportamiento aumentó con la disminución del ángulo a  $48,45^\circ$  y  $52,02^\circ$  con recubrimiento de Ta/TaN y Ta respectivamente. En reportes de la literatura se ha encontrado para acero inoxidable 316L pulido, un ángulo de  $63,33^\circ$  (Kumar, 2014, p. 19), esto indica que tanto el tratamiento químico como la deposición de las películas de Ta y Ta/TaN mejoran la hidrofiliidad, lo cual se busca en su aplicación como biomateriales. De igual manera, luego de la

deposición de HAp, el ángulo disminuyó en ambos métodos, en el caso del SS316LVM con tratamiento químico se observó una disminución del ángulo en 0,28 % y 11,78 % y para el Ta/TaN/SS316LVM en 24,93 % y 29,18 %; aunque para el caso del Ta/SS316LVM el ángulo aumentó en un 2,50 %, con el método biomimético en presencia de campos magnéticos, esto pudo darse por los problemas de adherencia de la película de Ta sobre el acero, lo que perjudicó la formación de hidroxiapatita en este tipo de sustrato, por el contrario en el método electroquímico se dio un comportamiento diferente, ya que el ángulo formado después de la deposición de HAp sobre Ta/SS316LVM disminuyó en un 16,72 %, pero esto se debe a que en este método se usa solo una parte del área del sustrato, que se delimita por el área de la celda electroquímica ( $\varnothing=4$  mm), y en el caso del método biomimético, la deposición se realiza en toda el área superficial del sustrato.

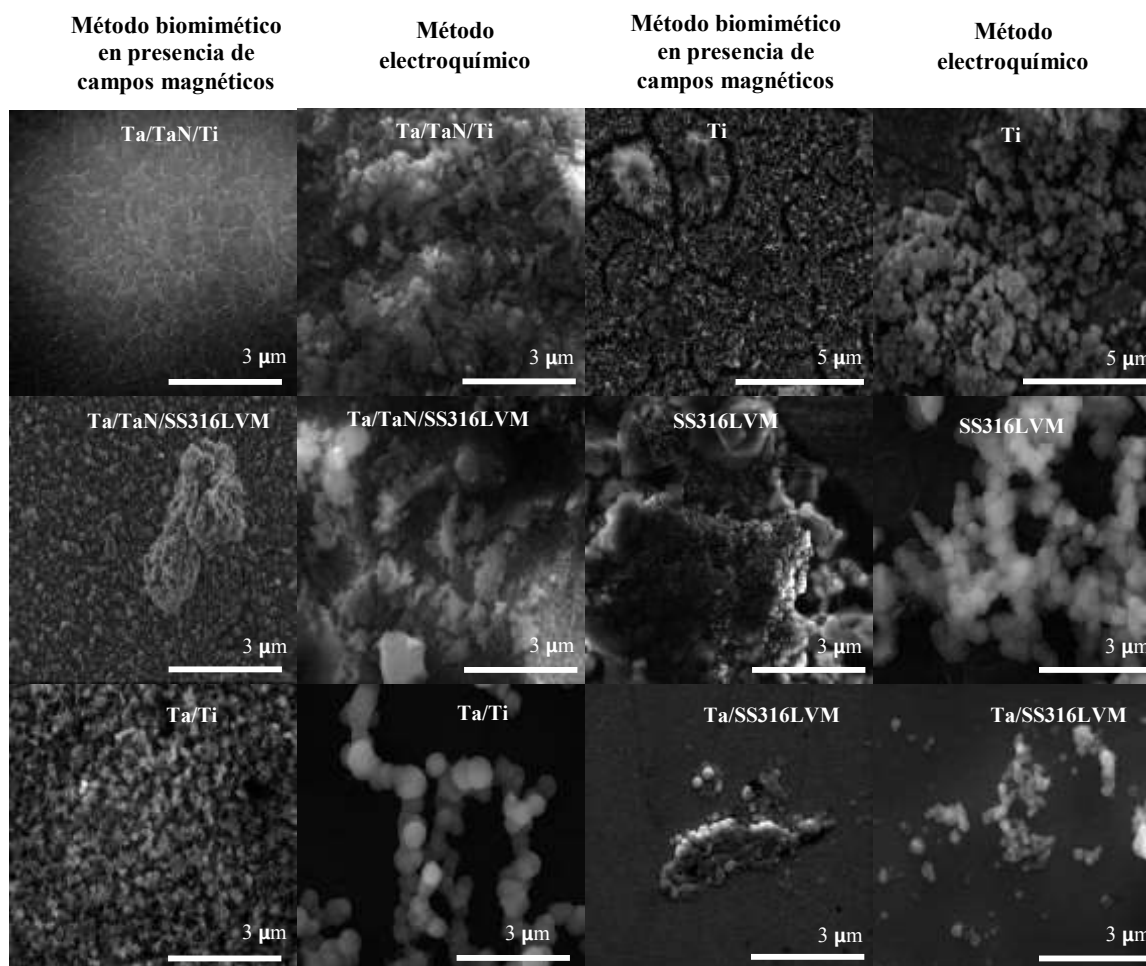
En el Anexo VI se muestra el ejemplo de cálculo de la disminución del ángulo del contacto después de la deposición de la película de hidroxiapatita.

### **3.5. COMPARACIÓN DE MÉTODOS**

En esta sección se comparan los mejores resultados obtenidos en la formación de hidroxiapatita con el método biomimético en presencia de campos magnéticos y el método de deposición electroquímica, en los diferentes sustratos analizados. Estos resultados se basaron en la cantidad de masa formada, relación de Ca/P, morfología y análisis FTIR.

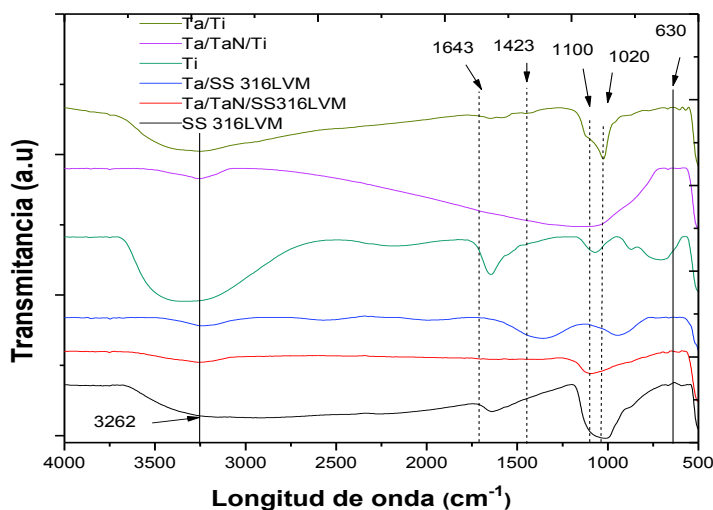
En la Figura 3.39 se observa un resumen de las imágenes MEB obtenidas a las mejores condiciones encontradas en los diferentes métodos, en el cual se pudo observar morfologías distintas tanto para el caso de la deposición de hidroxiapatita con el método biomimético en presencia de campos magnéticos y el método electroquímico. En primer lugar, cuando se empleó un campo magnético se observó que el tiempo de formación de la hidroxiapatita disminuyó considerablemente, ya que a 14 d se observó una morfología definida con respecto al método biomimético sin presencia del campo, el cual puede tardar entre 15 a 45 días para apreciar la

nucleación y crecimiento de la HAp. En este método la morfología de la capa formada fue tipo coral, la cual es una estructura beneficiosa, ya que posee cierta porosidad y esto ayuda a aumentar la biocompatibilidad de los implantes, y la adhesión de las células osteoblásticas en la formación del hueso/implante (García y Reyes, 2006, p. 94). En el caso del método electroquímico el tiempo de formación de la hidroxiapatita fue mucho menor que los dos anteriores, ya que en aproximadamente 2 h, se obtuvo una capa de hidroxiapatita bien definida. En la deposición electroquímica, la morfología encontrada presentó una estructura de pequeñas partículas esferoidales en todos los sustratos, que es típica de una hidroxiapatita nanoestructurada (Spadavecchia y Gonzalez, 2007), a excepción de los sustratos con recubrimiento de Ta/TaN, que presentaron una morfología amorfa.

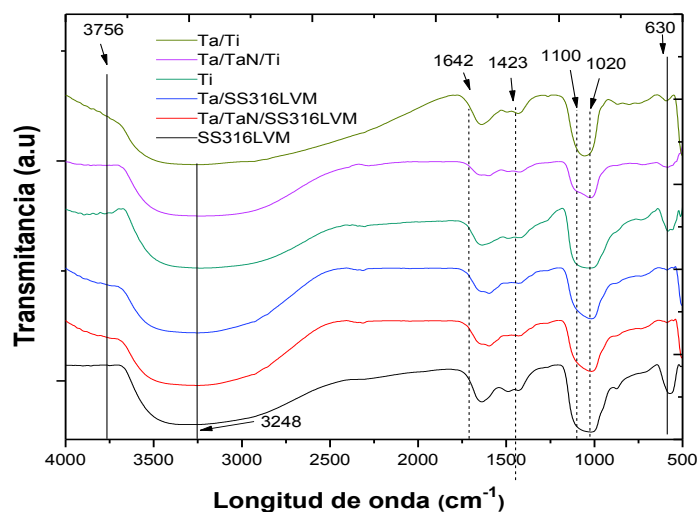


**Figura 3.39.** Resumen de las imágenes MEB de la formación de hidroxiapatita a las mejores condiciones encontradas con el método biomimético en presencia de campo magnético y el método electroquímico, en los diferentes sustratos utilizados en la experimentación

En las Figuras 3.40 y 3.41 se exponen los análisis FTIR de la formación de hidroxiapatita a las mejores condiciones encontradas con el método biomimético en presencia de campo magnético y el método electroquímico, en los diferentes sustratos estudiados. Como se puede observar, en el método electroquímico se obtuvieron espectros FTIR mejor definidos que en el caso de la deposición biomimética en presencia de campos de magnéticos, ya que los compuestos encontrados por el método electroquímico tendrían una mayor cristalización.



**Figura 3.40.** Análisis FTIR de la deposición de Hidroxiapatita a las mejores condiciones encontradas en el método biomimético con campo magnético, en los diferentes sustratos estudiados



**Figura 3.41.** Análisis FTIR de la deposición de Hidroxiapatita a las mejores condiciones encontradas en el método electroquímico, en los diferentes sustratos estudiados

En todos los casos se observaron las bandas características de la hidroxiapatita

grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  entre  $1\,110\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,020\text{ cm}^{-1}$ , y del grupo  $\text{OH}^-$  en  $630\text{ cm}^{-1}$  y  $3\,756\text{ cm}^{-1}$ , esta última banda más evidente en el método electroquímico, así como agua absorbida en  $3\,250\text{ cm}^{-1}$  en ambos métodos, excepción del Ta/TaN/Ti en el método biomimético, en cuyo FTIR existió un solapamiento de bandas. Además, se observa que la presencia de grupos  $\text{CO}_2^{3-}$  de  $1\,650\text{ cm}^{-1}$  a  $1\,420\text{ cm}^{-1}$ , es más notoria en el método electroquímico. Por otro lado, el FTIR de la formación de hidroxiapatita sobre Ta/SS316LVM en el método biomimético no fue satisfactorio.

En la Tabla 3.13 se exponen la relación de calcio-fósforo (Ca/P) y de masa promedio de hidroxiapatita obtenida por área de deposición expuesta ( $\text{mg}/\text{mm}^2$ ), a las mejores condiciones encontradas con el método biomimético en presencia de campos magnéticos y el método electroquímico. Se puede observar en general, que existe un incremento en la formación de la masa de HAp de aproximadamente el 127 %, con el método biomimético en presencia de campos magnéticos y del 80 % con el método electroquímico, contra el método biomimético tradicional. En el Anexo VI se expone el ejemplo de cálculo del incremento de masa.

**Tabla 3.13.** Relación de Ca/P y masa de hidroxiapatita obtenida a las mejores condiciones encontradas con el método biomimético en presencia de campos magnéticos y el método electroquímico

Sustrato	Método biomimético	Método biomimético en presencia de campo magnético		Deposición electroquímica	
	Masa promedio de HAp formada ( $\text{mg}/\text{mm}^2$ )	Relación Ca/P	Masa promedio de HAp formada ( $\text{mg}/\text{mm}^2$ )	Relación Ca/P	Masa promedio de HAp formada ( $\text{mg}/\text{mm}^2$ )
Ti con tratamiento químico	0,144	2,35	0,282	1,40	0,247
Ta/TaN/Ti	0,144	1,30	0,303	1,21	0,187
Ta/Ti	0,220	1,60	0,47	1,43	0,254
SS316LVM con tratamiento químico	0,076	1,29	0,162	1,30	0,170
Ta/TaN/SS316 LVM	0,054	1,68	0,236	1,16	0,286
Ta/SS316LVM	0,010	0,90	0,019	0,99	0,024
<b>PROMEDIO</b>	0,108	1,52	0,245	1,25	0,190

Por otro lado, si bien la masa promedio obtenida en el método electroquímico es menor que la masa promedio obtenida con el método biomimético en presencia de campos magnéticos, las velocidades de formación son de 1,6 h vs 14 días, respectivamente.

En la mayoría de los compuestos obtenidos se obtuvo una relación de Ca/P mayor a 1, lo cual es beneficioso en compuestos que son utilizados como biomateriales, ya que los que tienen una relación Ca/P inferior a 1, no tienen buena compatibilidad con el cuerpo debido a su solubilidad y acidez (Dorozhkin, 2010, p. 1468).

Las pruebas de hidrofiliidad mostraron una disminución promedio del ángulo de contacto obtenido después de la deposición de hidroxiapatita en 10 % y 20 %, comparado con el ángulo antes de dicha deposición, con el método biomimético en presencia de campos magnéticos y el método electroquímico, respectivamente.

De la evaluación de todos los sustratos se determinó que el titanio con recubrimiento de tántalo mostró la mejor formación de hidroxiapatita sobre su superficie en ambos métodos, obteniéndose mayores proporciones de hidroxiapatita, así como mayores relaciones de Ca/P, las cuales a su vez se acercan a la relación estequiometría ideal de la hidroxiapatita de 1,67.

## 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1. CONCLUSIONES

Los sustratos metálicos de titanio y de acero inoxidable tipo bioline SS316LVM sin recubrimientos, después del tratamiento químico, formaron óxidos en sus superficies. Por otro lado, las morfologías de los recubrimientos de Ta y Ta/TaN sobre titanio y acero SS316LVM fueron similares, aunque los recubrimientos de Ta/TaN depositados sobre acero fueron más densos que los recubrimientos depositados sobre el titanio, debido a que el titanio forma una película de  $\text{TiO}_2$  espontánea al contacto con el ambiente. Las diferentes modificaciones de la superficie, aumentaron la bioactividad de los sustratos, proceso que se evidenció con la formación de fosfatos de calcio en ellos.

El análisis difracción de rayos X mostró que el titanio tiene en su estructura dos fases cristalinas una cúbica y otra hexagonal. De igual forma, en el acero 316LVM se determinó la presencia de las dos fases austeníticas del acero, la gama ( $\gamma$ ) y alfa ( $\alpha$ ). La presencia de estas fases hace que dichos sustratos sean compatibles con el cuerpo humano. Por otro lado, los sustratos con recubrimientos de Ta y Ta/TaN mostraron la presencia de la fase  $\beta$ -tántalo en sus superficies.

Se demostró que el efecto de la aplicación de campos magnéticos en el método biomimético, influye significativamente en el incremento de la masa de hidroxiapatita obtenida, por área de deposición expuesta, obteniéndose incrementos del orden del 120 % de formación de masas, con respecto al método biomimético sin presencia de campos magnéticos. Las mejores condiciones de deposición de hidroxiapatita sobre sustratos de titanio y acero SS316LVM se definieron en presencia de un campo magnético de 0,22 T y un tiempo de inmersión de 14 días.

La caracterización electroquímica permitió conocer que los sustratos de titanio con recubrimiento de Ta/TaN y el acero SS316LVM con tratamiento químico, tuvieron

un comportamiento más capacitivo que los otros sustratos, lo que comprueba que son sustratos más resistentes a la corrosión.

Se determinó que la formación electroquímica de películas de hidroxiapatita sobre los distintos sustratos metálicos, utilizando como electrolito fluido corporal simulado es un método promisorio para la deposición de dichas películas, ya que se obtiene en promedio un incremento de masa de HAp de aproximadamente 80 %, comparado con el método biomimético tradicional. Las mejores condiciones de deposición electroquímica fueron sobre Ta/TaN/Ti, a -1,5 V, Ti con tratamiento químico a -1,6 V, Ta/TaN/SS316LVM a -1,7 V y SS316LVM a -1,4 V, y un tiempo de 6 000 s.

Las pruebas de hidrofiliidad mostraron que los ángulos de contacto después de la deposición de hidroxiapatita disminuyeron en 10 % y 20 % aproximadamente en el método biomimético en presencia de campos magnéticos y el método electroquímico, respectivamente, lo que indica que las películas de HAp aportan un comportamiento más hidrofílico a los sustratos.

La morfología de la hidroxiapatita formada con el método biomimético en presencia de campos magnéticos fue tipo coral y en el método electroquímico estuvo compuesta por pequeñas partículas esferoidales. Asimismo, en ambos métodos se obtuvieron relaciones de Ca/P mayores a 1, lo que hace que el compuesto formado sea apto para su uso como biomaterial.

El sustrato de Ta/Ti fue el que presentó la mejor formación de hidroxiapatita por ambos métodos, con una masa de HAp formada por área de 0,22 mg/mm<sup>2</sup> con el método biomimético en presencia de campos magnéticos y 0,47 mg/mm<sup>2</sup> con el método electroquímico y, en ambos casos, las relaciones de Ca/P fueron cercanas a 1,67, relación ideal de la hidroxiapatita.



## 4.2. RECOMENDACIONES

Realizar otros tratamientos de superficies como tratamientos térmicos y la combinación de tratamientos térmicos-químicos en las superficies del titanio y acero 316LVM y observar el efecto de estos en la formación de hidroxiapatita.

Estudiar la respuesta celular y actividad bacteriana de las superficies de los diferentes sustratos con la hidroxiapatita depositada, para comprobar el efecto de dichos materiales *in vivo*.

Evaluar las propiedades de corrosión de los diferentes sustratos después de la deposición de hidroxiapatita.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdullaeva, Z. (2017). Introduction to Biomaterials 7 . 1 Biomaterials : Subject , Purpose , and Problems. In *Nano- and Biomaterials: Compounds, Properties, Characterization, and Applications* (pp. 189–207). Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH y Co. KGaA.
2. Agrawal, K., Singh, G., Puri, D. y Prakash, S. (2011). Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Sol-Gel Method for Biomedical Application. *Journal of Minerals Characterization y Engineering*, 10(8), 727–734.
3. Albrektsson, T. y Johansson, C. (2001). Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J*, 10, 96–101.
4. Alloy Wire International. (2014). *Stainless Steel 316LVM*. Recuperado de: <https://www.alloywire.es/products/stainless-steel-316lvm/> (Agosto, 2017)
5. ASTM. (2010). E3-01 Standard Guide for Preparation of Metallographic Specimens. Current, 01(Reapproved 2007), 1–13. <https://doi.org/10.1520/E0003-01R07E01>. Copyright
6. Baeza, A. y García, A. (2011). *Principios de Electroquímica Analítica*. Recuperado de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/DOC\\_APOY\\_FUNDAMENTOS\\_ELECTROANALITICA\\_2011\\_16333.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/DOC_APOY_FUNDAMENTOS_ELECTROANALITICA_2011_16333.pdf). (Junio, 2017)
7. Baker, K. C., Anderson, M. A., Oehlke, S. A., Astashkina, A. I., Haikio, D. C., Drelich, J. y Donahue, S. W. (2006). Growth, characterization and biocompatibility of bone-like calcium phosphate layers biomimetically deposited on metallic substrata. *Materials Science and Engineering C*, 26(8), 1351–1360. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2005.08.015>
8. Basu, B. (2016). *Biomaterials for Musculoskeletal Regeneration: Introduction*.

(5ta ed.). Bangalore: Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-3059-8> ISSN

9. Balla, V. K., Banerjee, S., Bose, S. y Bandyopadhyay, A. (2010). Direct laser processing of a tantalum coating on titanium for bone replacement structures. *Acta Biomaterialia* (pp. 2329-2334). <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.11.021>
10. Bergmann, C. y Stumpf, A. (2013). Biomaterials In Dental Ceramics. *Topics in Mining, Metallurgy and Materials Engineering* (pp. 9–13). Berlín, Alemania : Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38224-6>
11. Burgués, J. T. (2013). *Report : Medida del ángulo de contacto*.
12. Cases, C. (2015). Implant biomaterials: A comprehensive review. *World Journal of Clinical Cases*, 3(1). <https://doi.org/10.12998/wjcc.v3.i1.52>
13. Cesiulis, H., Tsyntsaru, N., Ramanavicius, A. y Ragoisha, G. (2016). The Study of Thin Films by Electrochemical Impedance Spectroscopy. En Tiginyanu et al. (Eds.). *Nanostructures and Thin Films for Multifunctional Applications* (pp. 3–43). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-30198-3>
14. Chetty, Wepener, Marei, Kamary y Moussa, A., Wepener, I., Marei, M. K., Kamary, Y. E. y Moussa, R. M. (2013). Synthesis, properties, and applications of hydroxyapatite. En Gshalaev y A. C. Demirchan (Eds.). *Hydroxyapatite: Synthesis, Properties and Applications*. Cairo, Egipto.
15. Cimdina, L. y Borodajenko, N. (2012). Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In P. T. Theophile (Ed.). *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology* (pp. 124–148). Latvia: InTech.
16. Ciro, E., Zapata, N. y López, E. (2015). Elaboración de un cemento óseo de

- fosfato de calcio con una adición de biovidrio. *Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 54(2), 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.bsecv.2015.03.006>
17. Cox, S. (2015). *Synthesis methods of hydroxyapatite*. Recuperado de <http://ceram.com> (Agosto, 2017)
  18. Cristea, D. y Munteanu, D. (2015). Tantalum based materials for implants and prostheses applications. *Bulletin of the Transilvania University of Braşov* (Vol. 8), 151-158.
  19. Dissanayaka, W. (2011). *Electrochemical Deposition and Characterization of Thermoelectric Thin Films of  $(Bi_x Sb_{1-x})_2 Te_3$* , (Tesis de maestría no publicada). Chalmers University Of Technology, Göteborg, Sweden
  20. Dorozhkin, S. V. (2010). Biomaterials Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*, 31(7), 1465–1485. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.050>
  21. Dory, J. B. (2015). *Influencia de la microestructura de la hidroxiapatita en su carga de superficie*. (Tesis de maestría no publicada). Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona, Barcelona, España
  22. Dos Santos, V., Savaris, M. y Brandalise, R. (2013). Biomaterials. En L. Librarian (Ed.). *Engineering of Biomaterials* (pp. 9–14). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-38224-6>
  23. Dos Santos, V., Savaris, M. y Brandalise, R. (2017). Biomaterials: Characteristics and Properties. En L. Librarian (Ed.). *Engineering of Biomaterials* (1a ed.). Caxias do Sul: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-58607-6>
  24. Drouet, C. (2013). Apatite Formation : Why It May Not Work as Planned , and

How to Conclusively Identify Apatite Compounds. *Hindawi*, 2013, 1-12.

25. Durairaj, R. B. y Ramachandran, S. (2016). Corrosion Characteristics Of Hydroxyapatite Coated Titanium Substrate For Biomedical Applications. *Int. J. Chem*, 14(4), 2157–2163.
26. Fernández, A. (2013). *Estudio de la Hidrofobicidad y Autolimpieza en Materiales con Nanotratamientos Superficiales*, (Tesis de maestría no publicada). Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España.
27. Ferraro, A. (2016). Biomaterials and therapeutic applications Biomaterials and therapeutic applications. *Materials Science and Engineering*, 1(108), 1-4. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/108/1/012021>
28. García, M. y Reyes, J. (2006). La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 9(2), 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.10.045>
29. Guamán, W. (2017). *Desinfección catódica de aguas de consumo humano mediante la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> utilizando un electrodo de grafito*, (Proyecto de Titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Ambiental). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
30. Heness, G. y Ben-Nissan, B. (2004). *Innovative Bioceramics*. Recuperado de [http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=2630#\\_Biomaterials\\_Classifications](http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=2630#_Biomaterials_Classifications) (Julio, 2017)
31. Hryniewicz, T., Rokosz, K. y Filippi, M. (2009). Biomaterial Studies on AISI 316L Stainless Steel after Magneto-electropolishing, *Materials*, 3, 129–145. <https://doi.org/10.3390/ma2010129>
32. IMDEA Materials Institute (2009). *Hacia una nueva generación de materiales*.

Recuperado de: <http://www.madrimasd.org/noticias/Hacia-nueva-generacion-materiales/38088> (Septiembre, 2017)

33. Isa, N. N. C., Mohd, Y. y Yury, N. (2012). Electrochemical Deposition and Characterization of Hydroxyapatite (HAp) on Titanium Substrate. *APCBEE Procedia*, 3(5), 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.044>
34. Jara, A., Fraise, B., Flaud, V., Fréty, N. y González, G. (2016). Thin film deposition of Ta, TaN and Ta/TaN bi-layer on Ti and SS316-LVM substrates by RF sputtering. *Surface and Coatings Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.10.067>
35. Javid, M. A. y Kaartinen, M. T. (2013). Mesenchymal Stem Cell-based Bone Tissue Engineering. *Int Dent J Students Res*, 1(3), 24–35.
36. Kokubo, T., Kim, H. y Kawashita, M. (2003). Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials*, 24, 2161–2175. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00044-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00044-9)
37. Kokubo, T. y Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15), 2907–2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>
38. Koutsopoulos, S. (2002). Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals : A review study on the analytical methods, *J Biomed Mater Res*, 62, 600-612.
39. Kumar, A. (2014). *Surface modification of 316L Stainless steel by Sol-Gel method*. (Tesis de maestría no publicada). National institute of technology Rourkela, Rourkela, India.
40. Li, G. y Miao, P. (2013). Theoretical Background of Electrochemical Analysis. En SpringerBriefs in Molecular Science (Ed.). *Electrochemical Analysis of*

*Proteins and Cells*. Naijing, China: Springer International Publishing.  
<https://doi.org/10.1007/978-3-642-34252-3>

41. Liu, L., Xu, J. y Jiang, S. (2016). Nanocrystalline  $\beta$ -Ta Coating Enhances the Longevity and Bioactivity of Medical Titanium Alloys. *Metals*, 6(221), 1–27.  
<https://doi.org/10.3390/met6090221>
42. Liu, Y., Zhang, X. y Hao, P. (2016). The effect of topography and wettability of biomaterials on platelet adhesion. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 30(8), 878-893. <https://doi.org/10.1080/01694243.2015.112988>
43. López, A. (2010). BLOQUE I: FRACTURA FRÁGIL. Recuperado de [http://materiales.unex.es/miembros/personal/p-mirandaold/docencia\\_sec/PMII/apuntesFRACTURA.pdf](http://materiales.unex.es/miembros/personal/p-mirandaold/docencia_sec/PMII/apuntesFRACTURA.pdf) (Julio, 2017)
44. Meenakshi Sundaram, N., Girija, E. K., Ashok, M., Anee, T. K., Vani, R., Suganthi, R. V. y Kalkura, S. N. (2006). Crystallisation of hydroxyapatite nanocrystals under magnetic field. *Materials Letters*, 60(6), 761–765.  
<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2005.10.034>
45. Menzies, K. L. y Jones, L. (2010). The Impact of Contact Angle on the Biocompatibility of Biomaterials. *Optometry And Vision Science*, 87(6), 387–399.
46. Minagar, S., Berndt, C. C. y Wen, C. (2015). Fabrication and Characterization of Nanoporous Niobia. *Journal of Functional Biomaterials*, 6, 153–170.  
<https://doi.org/10.3390/jfb6020153>
47. Morais, J. M., Papadimitrakopoulos, F. y Burgess, D. J. (2010). Biomaterials / Tissue Interactions: Possible Solutions to Overcome Foreign Body Response. *The AAPS Journal*, 12(2), 188–196. <https://doi.org/10.1208/s12248-010-9175-3>

48. Navarrete, L. (2008). *Materiales para prótesis internas*. Ambato-Ecuador.
49. Nouri, A., Hodgson, P. y Wen, C. (2010). Biomimetic Porous Titanium Scaffolds for Orthopedic and Dental Applications. En A. Mukherjee (Ed.). *Biomimetics Learning from Nature* (pp. 415-450). Waurm Ponds: InTech Published.
50. Nuñez, G. (2001). La Evolución del Campo de los Biomateriales. Recuperado de <http://www.cec.uchile.cl/~mpilleux/id42a/Trabajos/14ImplantesOseos/14ImplantesOseos.doc>
51. Oldani, C. y Dominguez, A. (2012). *Recent Advances in Arthroplasty. Titanium as a Biomaterial for Implants*. Recuperado de <http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-arthroplasty/titanium-as-a-biomaterial-for-implants%0AInTech> (Julio, 2017)
52. Pareja, N., Escobar, D., Ossa, C. y Echavarría, A. (2008). Síntesis y caracterización de hidroxiapatita microporosa , comparación con un producto comercial Synthesis and characterization of microporous hydroxyapatite , comparison with a commercial product. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, 43, 67–76.
53. Parida, P., Behera, A. y Chandra, S. (2017). Classification of Biomaterial Used in Medicine Classification of Biomaterials used in Medicine. *International Journal of Advances in Applied Sciences*, 1(7), 31–35.
54. Patel, N. R. y Gohil, P. P. (2012). A Review on Biomaterials: Scope , Applications y Human Anatomy Significance. *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, 2(4), 91–101.
55. Paz, A., Martín, Y., Pazos, L. M., Parodi, M. B., Ibarra, G. O. y González, J. E. (2011). Obtención de recubrimientos de hidroxiapatita sobre titanio mediante el método biomimético. *Revista de Metalurgia*, 47(2), 138–145. <https://doi.org/10.3989/revmetalmadrid.1009>



56. Pecheva, E., Pramatarova, L., Maitz, M. y Pham, M. (2003). Study of the calcium phosphate layer grown on AISI 316 stainless steel from a simulated body fluid. *J Mater Sci Mater Electron*, 14(2003), 775-776. <https://10.1023/A:1026192802037>
57. Pérez, C. (2012). *Evaluación mediante técnicas electroquímicas del comportamiento de recubrimientos alquídicos utilizados en la protección anticorrosiva del acero*. (Proyecto de Titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Químico). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
58. Ratner, B., Hoffman, A., Schoen, F. y Lemons, J. (2003). *Biomaterials Science: Surface Properties and Surface Characterization of Materials* (2a ed.). Washington, USA: El Servier
59. Rodil, S. E. (2009). Modificación Superficial De Biomateriales Metálicos. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 29(2), 67–83. Recuperado de <http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/view/1> (Junio, 2017)
60. Rubio, S. (2012). Diferentes alternativas de rellenos óseos, *Av Periodon Implantol*. 24(3), 133–138.
61. Siddharthan, A., Sampath Kumar, T. S. y Seshadri, S. K. (2006). Effect of magnetic field on biomimetic coating of hydroxyapatite on titanium. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, 20(1), 12–15.
62. Sin, S. (2014). *Técnicas de depósitos y caracterización de películas delgadas*. (Tesis de maestría no publicada). Universidad de Sonora. México DF, México.
63. Spadavecchia, U. y Gonzalez, G. (2007). Obtención de hidroxiapatita nanométrica para aplicaciones médicas. *Revista de La Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 22. Recuperado de <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-40652007000400004yscript>

=sci\_arttextytlng=es (Marzo, 2018)

64. Strnad, G., Chirila, N., Petrovan, C. y Russu, O. (2016). Contact Angle Measurement on medical implant titanium based biomaterials. *Procedia Technology*, 22, 946–953. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2016.01.094>
65. Szcześ, A., Hołysz, L. y Chibowski, E. (2017). Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249(2017), 321-330. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.007>
66. Tamilselvi, S., Murugaraj, R. y Rajendran, N. (2007). Electrochemical impedance spectroscopic studies of titanium and its alloys in saline medium, *Materials and Corrosion*, 044(2), 113–120. <https://doi.org/10.1002/maco.200603979>
67. Technique, D. O. F. (2014). Scanning Electron Microscopy, 39–42. Recuperado de <http://www.mee-inc.com/hamm/scanning-electron-microscopy-sem/> (Agosto, 2017)
68. Thanh, D. T. M., Nam, P. T., Phuong, N. T., Que, L. X., Anh, N. Van, Hoang, T. y Lam, T. D. (2013). Controlling the electrodeposition, morphology and structure of hydroxyapatite coating on 316L stainless steel. *Materials Science and Engineering C*, 33(4), 2037–2045. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.018>
69. The University of Rhode Island. (2015). *Biomaterials*. Recuperado de [www.ele.uri.edu/courses/bme462/.../Intro\\_Biomaterials.pdf](http://www.ele.uri.edu/courses/bme462/.../Intro_Biomaterials.pdf) (Agosto, 2017)
70. Thermo Nicolet. (2001). *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry*. Recuperado de <http://www.mee-inc.com/hamm/scanning-electron-microscopy-sem/> (Agosto, 2017)
71. Thirugnanam, A., Sampath Kumar, T. S. y Chakkingal, U. (2009). Bioactivity

enhancement of commercial pure titanium by chemical treatments. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, 23(2), 76–85.

72. Tian, A., Xue, X., Liu, C., He, J. y Yang, Z. (2010). Electrodeposited hydroxyapatite coatings in static magnetic field. *Materials Letters*, 64(10), 1197–1199. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2010.02.049>
73. Tolosa, J. O. y Ortiz, C. A. (2014). Caracterización De Películas Delgadas Mediante El Difractómetro X ' Pert-PRO PANalytical. *Revista de Física*, 5(48), 38–51.
74. Universidad de Alcalá. (2015). Espectroscopía vibracional. Recuperado de [www3.uah.es/edejesus/resumenes/DECI/tema\\_2.pdf](http://www3.uah.es/edejesus/resumenes/DECI/tema_2.pdf) (Febrero, 2018)
75. Wang, C. X., Zhou, X. y Wang, M. (2004). Mechanism of apatite formation on pure titanium treated with alkaline solution. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 14, 5–11.
76. Williams, D. F. (2008). Biomaterials On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29, 2941–2953. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>
77. Yoruç, A. y Cem Şener, B. (2012). Biomaterials. En Prof. Sadik Kara (Ed.). *A Roadmap of Biomedical Engineers* (pp. 67-114). Rijeka, Croatia : INTECH
78. Zhang, Y., Tao, J., Pang, Y., Wang, W. y Wang, T. (2006). Electrochemical deposition of hydroxyapatite coatings on titanium. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 16(3), 633–637. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(06\)60112-X](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(06)60112-X)

## **ANEXOS**

## ANEXO I

**ANÁLISIS EDS DE LA FORMACIÓN DE HIDROXIAPATITA SOBRE  
LOS DIFERENTES SUSTRATOS CON EL MÉTODO BIOMIMÉTICO  
EN PRESENCIA DE CAMPOS MAGNÉTICOS**

**Tabla AI.1.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti por 7 d

Condición	Ta (%)	Ti (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	22,71	63,92	5,24	8,14	-	-
<b>0,15 T</b>	10,51	16,83	3,09	3,78	1,36	64,42
<b>0,22 T</b>	15,89	52,66	1,18	0,86	-	29,41

**Tabla AI.2.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico por 7 d

Condición	Ti (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	11,41	17,94	13,05	-	57,6
<b>0,15 T</b>	34,83	3,72	3,27	-	58,17
<b>0,22 T</b>	16,02	14,85	10,56	3,5	55,06

**Tabla AI.3.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316 LVM por 7 d

Condición	Ta (%)	Ni (%)	Fe (%)	Cr (%)	Ca (%)	P (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	60,67	5,33	26,02	7,98	-	-	-
<b>0,15 T</b>	74,75	-	9,71	2,88	1,99	1,99	8,69
<b>0,22 T</b>	71,94	-	8,09	2,7	3,32	3,32	10,63

**Tabla AI.4.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre SS316 LVM con tratamiento químico por 7 d

Condición	Ni (%)	Fe (%)	Cr (%)	Ca (%)	Mo (%)	P (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	12,02	54,56	12,90	-	2,56	-	17,96
<b>0,15 T</b>	12,00	56,60	15,90	-	2,10	-	13,40
<b>0,22 T</b>	11,99	57,74	16,09	1,05	1,21	0,94	10,97

**Tabla AI.5.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti por 10 d

Condición	Ta (%)	Ti (%)	Ca (%)	P (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	29,35	18,05	1,34	1,20	50,06
<b>0,15 T</b>	56,16	25,67	0,66	0,97	16,54
<b>0,22 T</b>	60,64	29,42	0,27	0,22	9,45

**Tabla AI.6.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico por 10 d

Condición	Ti (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	33,67	3,84	2,61	0,84	61,04
<b>0,15 T</b>	27,03	8,22	4,47	-	60,29
<b>0,22 T</b>	35,33	3,70	1,32	-	59,65

**Tabla AI.7.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316LVM por 10 d

Condición	Ta (%)	Ni (%)	Fe (%)	Cr (%)	Ca (%)	P (%)	O (%)	Mo (%)
<b>Sin campo</b>	80,60	-	-	-	-	-	19,40	-
<b>0,15 T</b>	12,56	-	61,72	16,25	1,30	2,04	3,79	2,35
<b>0,22 T</b>	20,17	-	-	-	10,94	7,83	61,05	-

**Tabla AI.8.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre SS316 LVM con tratamiento químico por 10 d

Condición	Ni (%)	Fe (%)	Cr (%)	Ca (%)	Mo (%)	P (%)	O (%)	Mg (%)
<b>Sin campo</b>	12,71	61,42	17,36	-	1,33	-	4,89	2,33
<b>0,15 T</b>	11,99	57,74	16,09	1,05	1,21	1,05	10,86	-
<b>0,22 T</b>	8,04	25,46	16,00	1,98	1,34	1,98	33,10	11,08

**Tabla AI. 9.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/Ti por 14 d

Condición	Ta (%)	Ti (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)	O (%)	C (%)
<b>Sin campo</b>	18,80	11,20	5,40	4,90	-	42,80	16,90
<b>0,15 T</b>	33,80	15,32	5,01	4,38	-	36,20	5,28
<b>0,22 T</b>	15,02	4,20	24,68	19,03	0,62	36,44	15,02

**Tabla AI.10.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Titanio con tratamiento químico por 14 d

Condición	Ti (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	34,16	2,70	1,12	1,22	60,80
<b>0,15 T</b>	18,69	3,38	1,44	1,31	75,18
<b>0,22 T</b>	19,31	2,26	0,66	1,17	76,6

**Tabla AI.11.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/SS316LVMN por 14 d

Condición	Ta (%)	Ni (%)	Fe (%)	Cr (%)	Ca (%)	Mo (%)	P (%)	Mg (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	47,63	-	12,47	4,21	-	-	-	-	35,69
<b>0,15 T</b>	-	13,05	64,27	16,72	0,60	2,25	0,63	-	2,49
<b>0,22 T</b>	38,40	-	6,12	1,25	10,50	-	6,24	1,96	35,53

**Tabla AI.12.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre SS316LVM atacado por 14 d

Condición	Ni (%)	Fe (%)	Mn (%)	Cr (%)	Mo (%)	P (%)	Ca (%)	O (%)	Si (%)
<b>Sin campo</b>	9,25	26,32	12,3	16,63	1,17	1,42	0,86	31,92	-
<b>0,15 T</b>	11,68	60,40	-	16,48	1,29	1,76	0,98	7,89	0,47
<b>0,22 T</b>	12,82	60,72	-	16,28	2,20	1,43	1,84	4,21	-

**Tabla AI.13.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/Ti por 14 d

Condición	Ta (%)	Ti (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	99,56	-	0,22	0,22	-	-
<b>0,22 T</b>	13,06	41,28	4,84	3,04	-	37,78

**Tabla AI.14.** Análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/SS316LVMN por 14 d

Condición	Ta (%)	Fe (%)	Cl (%)	Ca (%)	P (%)	O (%)
<b>Sin campo</b>	7,29	25,46	1,77	1,63	2,25	61,59
<b>0,22 T</b>	2,25	37,80	-	2,25	2,5	55,2

## ANEXO II

### EJEMPLO DE CÁLCULO DE LA MASA DE HIDROXIAPATITA SOBRE ÁREA EXPUESTA

- **Método biomimético en presencia de campos magnéticos**

En este método el área de deposición de hidroxiapatita se realiza en toda el área superficial del sustrato ( $S_a$ ).

- **Cálculo área superficial del sustrato Titanio**

$$r = 6 \text{ mm}$$

$$\text{espesor} = 0,8 \text{ mm}$$

$$S_a = 2\pi * r * \text{espesor}$$

$$S_a = 2\pi * (6 \text{ mm}) * (0,8 \text{ mm})$$

$$S_a = 30,159 \text{ mm}^2$$

- **Cálculo de masa de hidroxiapatita sobre área superficial expuesta**

$$\text{masa de HAp 1} = 0,0008 \text{ g}$$

$$\frac{\text{masa de HAp}}{S_a} = \frac{0,0008 \text{ g} * 1000}{30,159 \text{ mm}^2}$$

$$\frac{\text{masa de HAp}}{S_a} = 0,025 \frac{\text{mg}}{\text{mm}^2}$$



- **Método electroquímico**

El área expuesta en la deposición electroquímica de HAp, se encuentra limitada por el área de la boquilla de la celda electroquímica, donde se coloca el sustrato, que tiene un diámetro de 4 mm. En este caso se realizará el cálculo con la masa obtenida en el titanio.

- **Cálculo área boquilla celda electroquímica**

$$r = 2 \text{ mm}$$

$$A_{\text{boquilla}} = \pi * r^2$$

$$A_{\text{boquilla}} = \pi * (2\text{mm})^2$$

$$A_{\text{boquilla}} = 12,57 \text{ mm}^2$$

- **Cálculo de masa de hidroxiapatita sobre área boquilla celda**

$$\text{masa de HAp 1} = 0,0024 \text{ g}$$

$$\frac{\text{masa de HAp}}{A_{\text{boquilla}}} = \frac{0,0024 \text{ g} * 1000}{12,57 \text{ mm}^2}$$

$$\frac{\text{masa de HAp}}{A_{\text{boquilla}}} = 0,0191 \frac{\text{mg}}{\text{mm}^2}$$

## ANEXO III

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN EL PROGRAMA STATGRAPHIC CENTURION DE LAS VARIABLES CAMPO MAGNÉTICO Y TIEMPO SOBRE LA MASA DE HIDROXIAPATITA FORMADA

Para conocer la influencia de las variables campo magnético y tiempo de inmersión sobre la masa de hidroxapatita formada, se utilizó un diseño experimental 3 x 3, el cual fue aplicado para el Ta/TaN/Ti, Ti con tratamiento químico, Ta/TaN/SS316LVM y SS316LVM. A continuación se muestra el diseño base aplicado en los sustratos mencionados.

#### Diseño Base

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 2

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 18

Grados de libertad para el error: 11

Factores	Bajo	Alto	Niveles	Unidades
Campo magnético	0,0	0,22	3	Tesla
Tiempo	7,0	14,0	3	días

Respuestas	Unidades
Masa de película formada	g

- **Resultados en el sustrato Ta/TaN/Ti**

Como se puede observar en la Tabla AIII.1. La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Masa de película formada en piezas separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba la significancia estadística de cada efecto que

compara su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 4 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, que indica que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

**Tabla AIII.1.** Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ta/TaN/Ti

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Campo magnético	0,0000229633	1	0,0000229633	41,20	0,0000
B:Tiempo	0,00000736333	1	0,00000736333	13,21	0,0039
AA	0,00000300444	1	0,00000300444	5,39	0,0405
AB	0,000012005	1	0,000012005	21,54	0,0007
BB	0,00000245444	1	0,00000245444	4,40	0,0598
bloques	5,55556E-10	1	5,55556E-10	0,00	0,9754
Error total	0,00000613167	11	5,57424E-7	-	-
Total (corr.)	0,0000539228	17	-	-	-

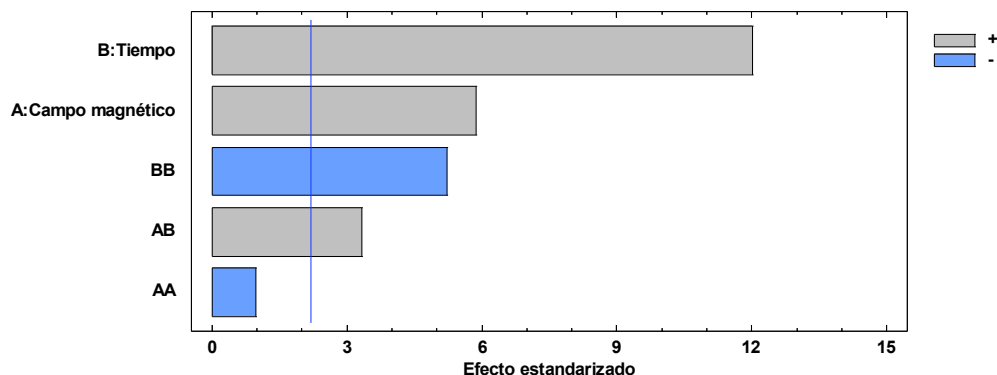
- **Resultados en el sustrato Ti con tratamiento químico**

Como se ve en la Tabla AIII.2, cuatro efectos tienen un valor-P menor que 0,05, que indica que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

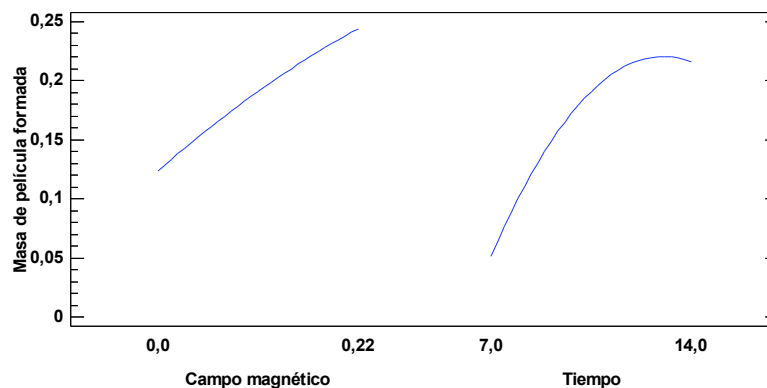
**Tabla AIII.2.** Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ti con tratamiento químico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Campo magnético	0,000027331	1	0,000027331	34,60	0,0001
B:Tiempo	0,000114207	1	0,000114207	144,60	0,0000
AA	7,59803E-7	1	7,59803E-7	0,96	0,3478
AB	0,00000879901	1	0,00000879901	11,14	0,0066
BB	0,0000214987	1	0,0000214987	27,22	0,0003
bloques	6,48E-8	1	6,48E-8	0,08	0,7799
Error total	0,00000868798	11	7,89816E-7	-	-
Total (corr.)	0,000181348	17	-	-	-

En la Figura AIII.1, se ve que en este sustrato las variables campo magnético y tiempo son estadísticamente significativas, ya que cruzan la línea de efectos propuesta en este modelo. Asimismo se nota que el efecto de la variable tiempo B es mayor que el efecto del campo magnético A y de la combinación de ambas variables AB. En la Figura AIII.2, se expone la tendencia de la masa de hidroxiapatita en las variables campo magnético y tiempo.



**Figura AIII.1.** Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en Ti con tratamiento químico



**Figura AIII.2.** Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre Ti con tratamiento químico

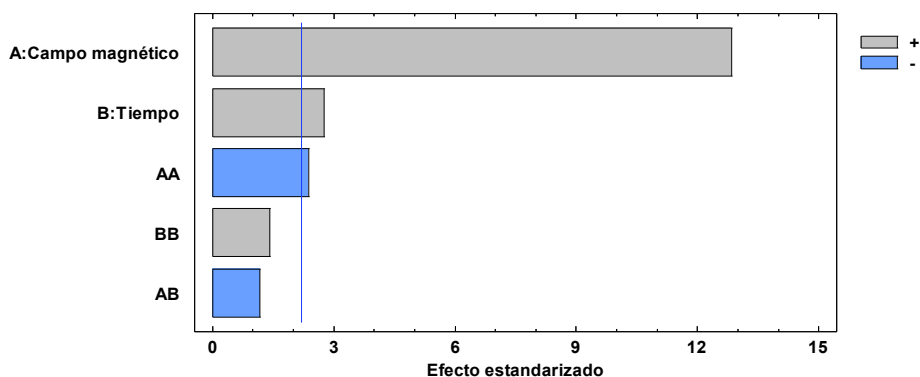
- **Resultados en el sustrato Ta/TaN/SS316LVM**

De igual manera en la Tabla AIII.3, se muestra que tres efectos tienen un valor-P menor que 0,05, que indica que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

**Tabla AIII.3.** Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ta/TaN/SS316LVM

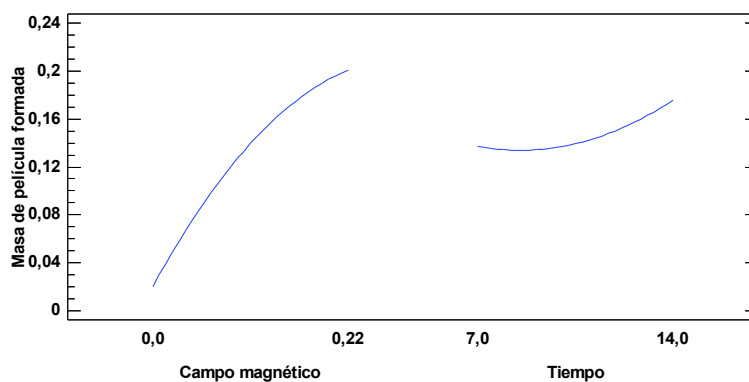
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Campo magnético	0,0000957675	1	0,0000957675	165,15	0,0000
B:Tiempo	0,00000444083	1	0,00000444083	7,66	0,0183
AA	0,00000330028	1	0,00000330028	5,69	0,0361
AB	7,8125E-7	1	7,8125E-7	1,35	0,2703
BB	0,00000117361	1	0,00000117361	2,02	0,1826
bloques	1,38889E-8	1	1,38889E-8	0,02	0,8798
Error total	0,00000637875	11	5,79886E-7	-	-
Total (corr.)	0,000111856	17	-	-	-

La influencia del campo magnético y del tiempo de inmersión sobre la cantidad de masa de hidroxiapatita sobre el Ta/TaN/SS316LVM se muestra en la Figura AIII.3, que al igual que en los casos anteriores se observa que las variables campo magnético A y tiempo B tienen una influencia estadísticamente significativa sobre la formación de hidroxiapatita



**Figura AIII.3.** Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en Ta/TaN/SS316LVM

La tendencia de la masa de hidroxiapatita formada en dichas variables se expone en la Figura AIII.4.



**Figura AIII.4.** Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre en Ta/TaN/SS316LVM

- **Resultados en el sustrato SS316LVM con tratamiento químico**

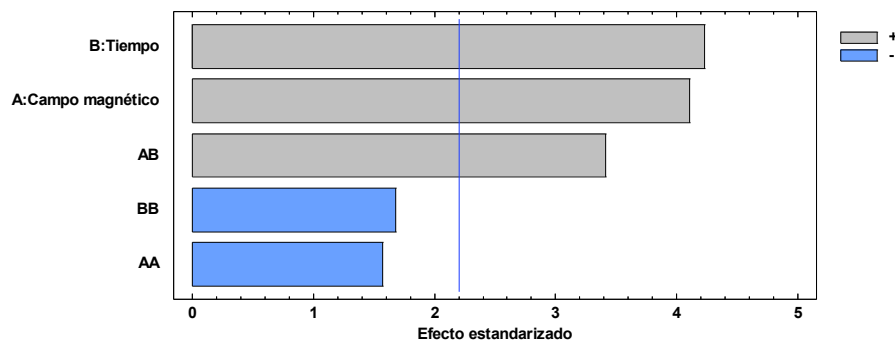
En la Tabla AIII.4, se indica que tres efectos tienen un valor-P menor que 0,05, que indica que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%.

**Tabla AIII.4.** Análisis de Varianza para Masa de película formada

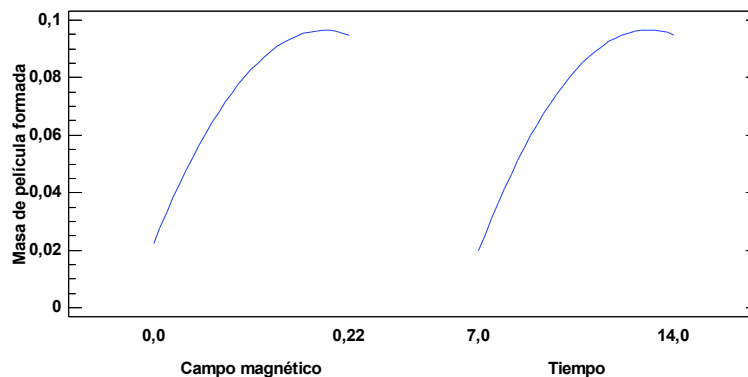
Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Campo magnético	0,0000156408	1	0,0000156408	16,86	0,0017
B:Tiempo	0,0000165675	1	0,0000165675	17,86	0,0014
AA	0,00000230028	1	0,00000230028	2,48	0,1436
AB	0,0000108112	1	0,0000108112	11,65	0,0058
BB	0,00000261361	1	0,00000261361	2,82	0,1214
bloques	2,45E-7	1	2,45E-7	0,26	0,6175
Error total	0,0000102043	11	9,27664E-7	-	-
Total (corr.)	0,0000583828	17	-	-	-

En la Figura AIII.5 se exponen los resultados de la influencia del campo magnético y el tiempo de inmersión sobre la masa de hidroxiapatita obtenida a las diferentes condiciones sobre SS316LVM, en el cual se observa que las variables campo magnético A y tiempo B en este caso, tienen un efecto parecido sobre la masa, pero mayor para la combinación de ambas AB. Por otro lado la Figura AIII.6,

muestra la tendencia de la masa de hidroxiapatita obtenida a las variables evaluadas



**Figura AIII.5.** Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en SS316LVM



**Figura AIII.6.** Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre SS316LVM

A continuación se presenta el análisis estadístico de la variable respuesta Relación Ca/P, en el cual se muestra que es un diseño factorial multinivel que consiste de 4 corridas. El diseño deberá ser ejecutado en un solo bloque. NO hay grados de libertad disponibles para estimar el error experimental. Por lo tanto, no será capaz de hacer ninguna prueba estadística a los resultados.

### Diseño Base

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 1

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 4

Grados de libertad para el error: 0

<b>Factores</b>	<b>Bajo</b>	<b>Alto</b>	<b>Niveles</b>	<b>Unidades</b>
Campo magnético	0,0	0,22	2	Tesla
Tiempo	7,0	14,0	2	días

<b>Respuestas</b>	<b>Unidades</b>
Relación de Ca/P	-



## ANEXO IV

**ANÁLISIS EDS DE LA FORMACIÓN DE HIDROXIAPATITA SOBRE  
LOS DIFERENTES SUSTRATOS POR EL MÉTODO  
ELECTROQUÍMICO**

**Tabla AIV.1.** Resultados del análisis EDS de la Hidroxiapatita formada sobre Ta/TaN/Ti

<b>Muestra</b>	<b>Ta (%)</b>	<b>Ti (%)</b>	<b>Ca (%)</b>	<b>P (%)</b>	<b>O (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>Mg (%)</b>
Ta/TaN/Ti (-1,5 V 3 000 s)	38,15	2,59	12,06	9,49	32,34	0,89	4,48
Ta/TaN/Ti (-1,5 V 6 000 s)	81,52	6,40	1,24	0,92	9,92	-	-
Ta/TaN/Ti (-1,8 V 3 000 s)	68,14	11,94	2,28	2,23	15,42	-	-
Ta/TaN/Ti (-1,8 V 6 000 s)	42,43	4,71	12,80	10,55	28,85	-	0,65

**Tabla AIV.2.** Resultados del análisis EDS para formación de HAp formada sobre titanio atacado

<b>Muestra</b>	<b>Ti (%)</b>	<b>Ca (%)</b>	<b>P (%)</b>	<b>O (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>Mg (%)</b>
Ti atacado (-1,3 V 3 000 s)	45,12	6,47	4,76	42,21	-	1,45
Ti atacado (-1,3 V 6 000 s)	91,59	3,74	3,45	-	-	1,22
Ti atacado (-1,6 V 3 000 s)	30,59	12,87	8,65	44,36	1,56	1,97
Ti atacado (-1,6 V 6 000 s)	34,66	13,48	9,71	39,64	-	2,51

**Tabla AIV.3.** Resultados del análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/TaN/316LVM

Muestra	Ta (%)	Ni (%)	Co (%)	Fe (%)	Ca (%)	P (%)	Al (%)	O (%)	Cr (%)	Mg (%)
Ta/TaN/SS316LVM (-1,4 V 3 000 s)	55,94	-	0,89	6,93	6,66	6,40	-	19,59	2,27	1,31
Ta/TaN/SS316LVM (-1,4 V 6 000 s)	35,02	-	0,34	3,19	15,45	13,36	-	31,49	-	1,15
Ta/TaN/SS316LVM (-1,7 V 3 000 s)	64,28	-	-	5,49	5,11	4,74	1,69	16,38	2,31	-
Ta/TaN/SS316LVM (-1,7 V 6 000 s)	45,70	1,28	0,28	4,86	4,77	4,10	8,86	28,58	1,56	1,97

**Tabla AIV.4.** Resultados del análisis EDS de la formación de HAp sobre SS316LVM

Muestra	Ni (%)	Fe (%)	Cr (%)	Ca (%)	K (%)	Cl (%)	Mo (%)	P (%)	Na (%)	O (%)	C (%)
SS316LVM (-1,2 V 3 000 s)	10,44	47,79	12,86	0,58	2,44	4,65	1,87	0,83	14,04	4,5	-
SS316LVM (-1,2 V 6 000 s)	-	46,39	12,42	0,99	-	-	1,96	0,97	-	12,19	4,38
SS316LVM (-1,4 V 3 000 s)	17,27	46,44	12,8	-	1,54	-	1,43	-	-	13,05	-
SS316LVM (-1,4 V 6 000 s)	8,16	38,77	10,83	9,07	-	-	1,64	7,13	-	19,24	3,03

**Tabla AIV.5.** Resultados del análisis EDS de la formación de HAp sobre Ta/Ti y Ta/SS316LVM

Muestra	Ta (%)	Ni (%)	Fe (%)	Cr (%)	Ca (%)	P (%)	O (%)	Ti (%)	C (%)
Ta/Ti (-1,8 V 6 000 s)	13,96	-	-	-	1,29	0,9	22,52	54,99	6,34
Ta/SS316LVM (-1,8 V 6 000 s)	67,31	2,39	8,94	2,72	2,33	2,34	13,98	-	-

## ANEXO V

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN EL PROGRAMA STATGRAPHIC CENTURION DE LAS VARIABLES POTENCIAL Y TIEMPO SOBRE LA MASA DE HIDROXIAPATITA FORMADA

Para conocer la influencia de las variables potencial y tiempo de inmersión sobre la masa de hidroxiapatita formada, se utilizó un diseño experimental 2 x 2, el cual fue aplicado para el Ta/TaN/Ti, Ti con tratamiento químico, Ta/TaN/SS316LVM y SS316LVM.

- **Sustrato:** Ta/TaN/Ti

#### **Diseño Base**

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 2

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 8

Grados de libertad para el error: 3

Factores	Bajo	Alto	Niveles	Unidades
Voltaje	1,5	1,8	2	V
Tiempo	3000,0	6000,0	2	s

Respuestas	Unidades
Masa de película formada	g

Como se puede observar en la Tabla AV.1 el análisis de varianza revela que existen tres efectos que tienen un valor-P menor que 0,05, que indica que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%. De la misma manera la Figura IV.1 muestra que las variables potencial A y tiempo B, así como, la combinación AB, tienen una influencia significativa en la experimentación,

ya que pasan la línea de efectos estandarizados. En la Figura IV.2 se observa la tendencia de la masa de hidroxiapatita en dichas variables.

**Tabla AV.1.** Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ta/TaN/Ti

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Voltaje	0,000536281	1	0,000536281	1091,67	0,0001
B: Tiempo	0,000926651	1	0,000926651	1886,31	0,0000
AB	0,00115921	1	0,00115921	2359,72	0,0000
bloques	9,1125E-7	1	9,1125E-7	1,85	0,2665
Error total	0,00000147375	3	4,9125E-7	-	-
Total (corr.)	0,00262453	7	-	-	-

- **Sustrato:** Ti con ataque químico

### Diseño Base

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 2

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 8

Grados de libertad para el error: 3

Factores	Bajo	Alto	Niveles	Unidades
Voltaje	1,3	1,6	2	V
Tiempo	3000,0	6000,0	2	s

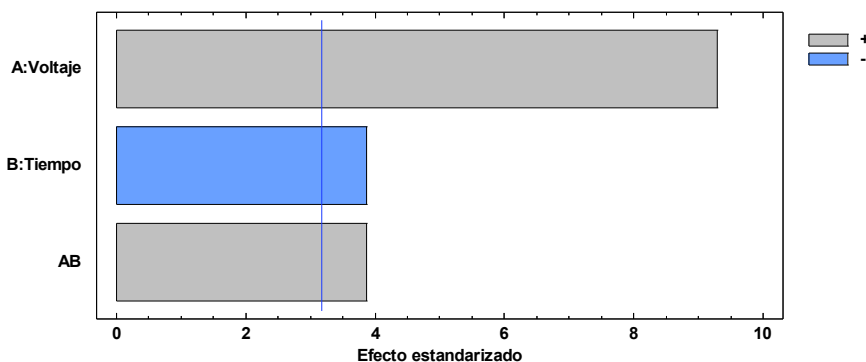
Respuestas	Unidades
Masa de película formada	g

En este caso, la Tabla AV.1 expone que existen tres efectos que tienen un valor-P menor que 0,05, que indica que son significativamente diferentes de cero con un

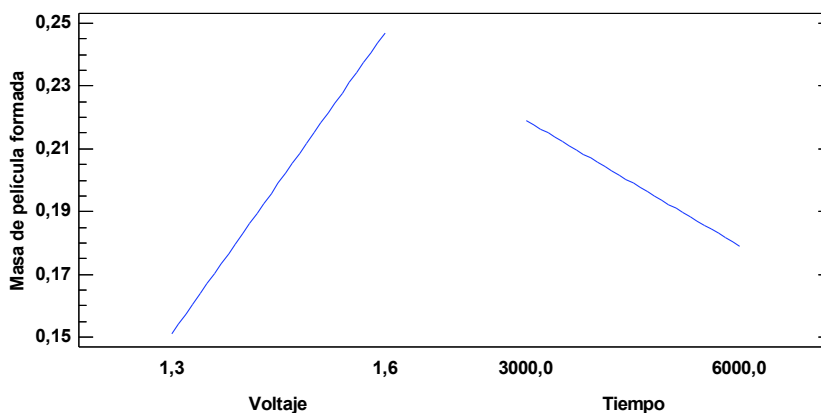
nivel de confianza del 95,0%. En la Figura AV.1 se observa que las variables potencial A y tiempo B, y la combinación de ambas AB, tienen una influencia sobre la masa de hidroxiapatita formada. De igual manera, la Figura AV.2 muestra la tendencia de masa de hidroxiapatita en dichas variables.

**Tabla AV.2.** Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ti con tratamiento químico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Voltaje	0,00000288	1	0,00000288	86,40	0,0026
B: Tiempo	5,E-7	1	5,E-7	15,00	0,0305
AB	5,E-7	1	5,E-7	15,00	0,0305
bloques	2,E-8	1	2,E-8	0,60	0,4950
Error total	1,E-7	3	3,33333E-8	-	-
Total (corr.)	0,000004	7	-	-	-



**Figura AV.1.** Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en Ti con tratamiento químico



**Figura AV. 2.** Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre Ti con tratamiento químico

- **Sustrato:** Ta/TaN/SS316LVM

### Diseño Base

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 2

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 8

Grados de libertad para el error: 3

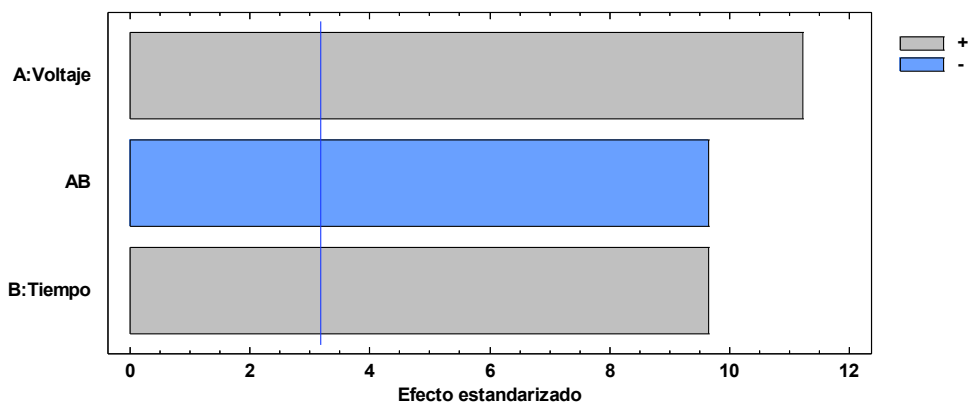
Factores	Bajo	Alto	Niveles	Unidades
Voltaje	1,4	1,7	2	V
Tiempo	3000,0	6000,0	2	s

Respuestas	Unidades
Masa de película formada	g

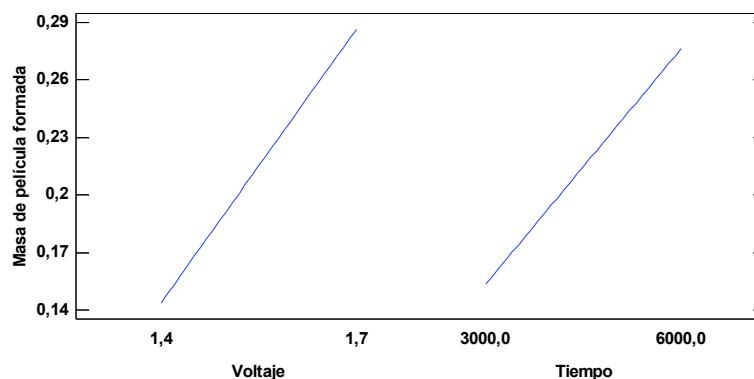
Como se puede observar en la Tabla AIV.3, el análisis de varianza muestra que en este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0,05, que indica que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%. Asimismo, la Figura AV.3 muestra que las variables potencial A, tiempo B y su combinación AB tienen una influencia significativa sobre la masa de hidroxiapatita formada. En la Figura AV.4, al igual que en los casos anteriores se observa la tendencia de la masa formada en los distintos voltajes y tiempos.

**Tabla AV. 3.** Análisis de Varianza para Masa de película formada sobre Ta/TaN/SS316LVM

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Voltaje	0,00000642611	1	0,00000642611	125,72	0,0015
B:Tiempo	0,00000475861	1	0,00000475861	93,10	0,0024
AB	0,00000475861	1	0,00000475861	93,10	0,0024
bloques	7,41125E-8	1	7,41125E-8	1,45	0,3149
Error total	1,53338E-7	3	5,11125E-8	-	-
Total (corr.)	0,0000161708	7	-	-	-



**Figura AV.3.** Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en Ta/TaN/SS316LVM



**Figura AV.4.** Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre en Ta/TaN/SS316LVM

- **Sustrato:** SS316LVM con tratamiento químico

### Diseño Base

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 2

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 8

Grados de libertad para el error: 3

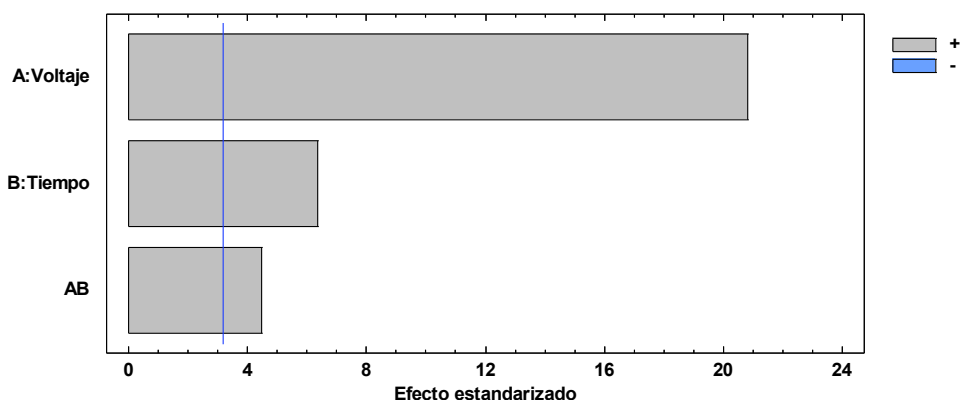
Factores	Bajo	Alto	Niveles	Unidades
Voltaje	1,2	1,4	2	V
Tiempo	3000,0	6000,0	2	s

Respuestas	Unidades
Masa de película	g

Al igual que en los caos anteriores, el análisis de varianza que se muestra en la Tabla AV.4, que tres efectos tienen una valor-P menor que 0,05, que indica que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%. Lo que se corrobora en las Figuras AV.5 y AV.6, en las cuales se observa que el potencial A y el tiempo B tienen una fuerte influencia sobre la masa de hidroxapatita, así como la combinación de AB.

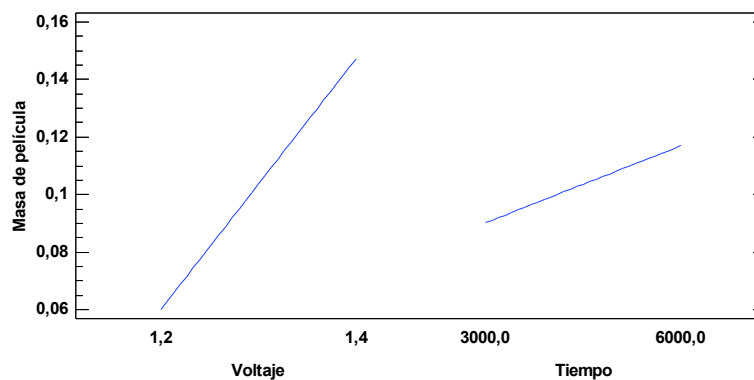
**Tabla AV.4.** Análisis de Varianza para Masa de película sobre SS316LVM con ataque químico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Voltaje	0,00000243101	1	0,00000243101	433,14	0,0002
B: Tiempo	2,27812E-7	1	2,27812E-7	40,59	0,0078
AB	1,12812E-7	1	1,12812E-7	20,10	0,0207
bloques	3,6125E-9	1	3,6125E-9	0,64	0,4811
Error total	1,68375E-8	3	5,6125E-9	-	-
Total (corr.)	0,00000279209	7	-	-	-



**Figura AV.5.** Diagrama de Pareto Estandarizada para Masa de Película formada en SS316LVM





**Figura AV.6.** Gráfica de efectos principales para la masa de película formada sobre SS316LVM

A continuación se presenta el análisis estadístico de la variable respuesta relación Ca/P, en el cual se muestra que NO hay grados de libertad disponibles para estimar el error experimental. Por lo tanto, no será capaz de hacer ninguna prueba estadística a los resultados.

### Diseño Base

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 1

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 4

Grados de libertad para el error: 0

Factores	Bajo	Alto	Niveles	Unidades
Voltaje	1,5	1,8	2	V
Tiempo	3000,0	6000,0	2	s

Respuestas	Unidades
Relación de Ca/P	-

## ANEXO VI

### EJEMPLO DE CÁLCULO DEL INCREMENTO/DISMINUCIÓN DEL ÁNGULO DE CONTACTO Y DE LA MASA DE HIDROXIAPATITA OBTENIDA EN LOS DIFERENTES SUSTRATOS

- **Cálculo de la disminución del ángulo de contacto después de la deposición de hidroxiapatita**

Se toma el sustrato de titanio con tratamiento químico como ejemplo, cuyos datos se exponen en la Tabla 3.12.

Ángulo antes de la deposición de HAp (A) = 67,48 °

Ángulo después de la deposición de HAp con el método biomimético en presencia de campos magnéticos (B)= 44,55 °

$$\% \textit{disminución} = 100 - \frac{(B) * 100}{(A)}$$

$$\% \textit{disminución} = 100 - \frac{(44,55 \text{ °}) * 100}{(67,48 \text{ °})}$$

$$\% \textit{disminución} = 33,98$$

- **Cálculo del incremento de masa de HAp**

Como datos se tomaron la masa promedio obtenida en el método biomimético y la masa promedio obtenida con el método biomimético en presencia de campos magnéticos que se exponen en la Tabla 3.13.

Masa promedio de HAp en el método biomimético (mp1) = 0,108 mg/mm<sup>2</sup>

Masa promedio de HAp en el método biomimético en presencia de campos magnéticos (mp2) = 0,245 mg/mm<sup>2</sup>

$$\% \textit{ incremento} = 100 - \frac{(mp2) * 100}{(mp1)}$$

$$\% \textit{ incremento} = 100 - \frac{(0,108 \text{ mg/mm}^2) * 100}{0,245 \text{ mg/mm}^2}$$

$$\% \textit{ incremento} = \mathbf{127,16}$$