Rev. LatinAm. Metal. Mat.

Artículo Regular

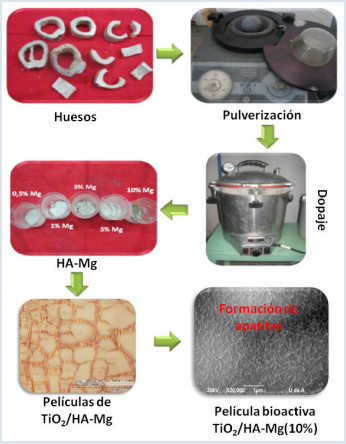
www.rlmm.org

RECUBRIMIENTOS DE HIDROXIAPATITA BIOLÓGICA DOPADA CON MAGNESIO Y REFORZADA CON TiO_2: SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN

*Astrid Cristina Niño, Marly Julieth Mogollón, Próspero Acevedo y Elcy María Córdoba**

Grupo de Investigación en Desarrollo y Tecnología de Nuevos Materiales. Universidad Industrial de Santander. Calle 9 Cra. 27, Código Postal 678. Bucaramanga (Santander). Colombia.

**e-mail: ecordoba@uis.edu.co*



RESUMEN

Se desarrollaron biorecubrimientos de TiO_2 e hidroxiapatita (HA) dopada con magnesio (TiO_2/HA-Mg) sobre acero inoxidable AISI 316L por la técnica dip-coating, a partir de suspensiones de polvos de HA-Mg (obtenidos por tratamiento hidrotermal de hueso bovino en soluciones de $Mg(NO_3)_2$) en soles de TiO_2. Los polvos de hidroxiapatita biológica dopada con Mg fueron caracterizados por las técnicas analíticas de DRX y FT-IR, con el fin de evaluar los cambios composicionales. Por su parte, las características de los recubrimientos se evaluaron mediante microscopias óptica y electrónica de barrido, fuerza de adherencia al sustrato, bioactividad *in vitro* en SBF y resistencia a la corrosión. El tratamiento hidrotermal del hueso bovino permitió obtener hidroxiapatita de mayor reactividad gracias a su dopaje con Mg, lo que fue confirmado mediante la caracterización electroquímica de las películas. La modificación de la HA con Mg no afecta en mayor medida las propiedades físico-mecánicas de las películas de TiO_2/HA. El incremento en la bioactividad de la HA sólo se observó al modificarla con un 10% de Mg, de modo que durante la inmersión de este recubrimiento en SBF presenta una etapa inicial de disolución del biomaterial y la posterior formación de apatitas sobre su superficie.

Palabras Claves: Hidroxiapatita biológica, magnesio, TiO_2, bioactividad.

COATINGS OF BIOLOGICAL HYDROXYAPATITE DOPED WITH MAGNESIUM AND REINFORCED WITH TIO_2: SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION

ABSTRACT

Bio-coatings of TiO_2 and biological hydroxyapatite (HA) doped with magnesium (TiO_2/HA-Mg) were deposited on AISI 316L stainless steel by dip-coating technique, from suspensions of HA-Mg powders (which were obtained by hydrothermal treatment of bovine bone in solutions of $Mg(NO_3)_2$) in TiO_2 sols. Biological hydroxyapatite powders doped with Mg were characterized by XRD and FT-IR analytical techniques, in order to evaluate the compositional changes. On the other hand, the coating's characteristics were evaluated by scanning electron and optic microscopies, adhesion force to the substrate, *in vitro* bioactivity in SBF and corrosion resistance. The bovine bone hydrothermally treated allowed to obtain hydroxyapatite with greater reactivity due to its doping with Mg, what was confirmed throughout the electrochemical characterization of the films. The modification of HA with Mg does not significantly affect the physical and mechanical properties of the TiO_2/HA films. An increment in the bioactivity of the HA was only observed when it was modified with 10% Mg, so that during the immersion of this coating in SBF shows an initial stage of biomaterial dissolution and the subsequent stage of apatites formation on its surface.

Keywords: Biological hydroxyapatite, magnesium, TiO_2, Bioactivity.

Recibido: 10-02-2013 ; **Revisado:** 05-06-2013

Aceptado: 19-07-2013 ; **Publicado:** 17-08-2013

pISSN: 0255-6952 | eISSN: 2244-7113

Rev. LatinAm. Metal. Mat. 2014; **34** (2): 240-250

1. INTRODUCCIÓN

La Hidroxiapatita (HA), $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, es tal vez el biocerámico que más ha llamado la atención tanto en el uso como injertos autógenos libres de hueso, así como en biorecubrimientos de implantes óseos, dadas sus excelentes propiedades de osteoconductividad y su bioactividad, debido a su similitud química, biológica y cristalográfica con la parte mineral de los tejidos óseos [1]. Por lo tanto se han desarrollado diversos métodos de producción de la HA sintética tal como mecano-química [2], precipitación química [3], sol-gel [4], entre otras. No obstante, para la producción masiva de este material se requiere establecer un proceso de síntesis económico. La respuesta a esta inquietud podría estar en la extracción de HA a partir de bioresiduos, desechos abundantes de muy bajo costo, tal como los huesos bovinos [5]. El método de producción de la HA biológica anticipa alta seguridad, debido a que las altas temperaturas de calcinación (≥700ºC) eliminan todos los riesgos de transmisión de enfermedades [6].

Por otro lado, durante su uso como biorecubrimiento para la fijación de prótesis metálicas al hueso, la hidroxiapatita presenta el inconveniente de que a pesar de ser reactiva, su cinética de disolución es muy retardada bajo condiciones fisiológicas normales [7]; es decir , no garantiza la fijación del implante en las etapas iníciales del proceso de recuperación del paciente. No obstante, varias investigaciones [8, 9, 10] indican que cuando en la estructura de la HA algunos de los átomos de calcio son sustituidos por los de magnesio, el biomaterial acelera su reactividad en contacto con los fluidos fisiológicos. En tales investigaciones, la hidroxiapatita dopada con magnesio ha sido sintetizada por precipitación química, a partir de precursores adecuados tales como $Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O$, $(NH_4)_2HPO_4$ (o H_3PO_4) y $Mg(NO_3)_2{\cdot}6H_2O$ (o $MgCl_2{\cdot}6H_2O$) [9, 11]. Por dicho método, y dependiendo de las condiciones de síntesis, el producto puede ser hidroxiapatita con algunos átomos de calcio sustituidos por los de magnesio o una mezcla de fosfatos de calcio y de magnesio. Sin embargo, no existe en la literatura investigaciones encaminadas a la obtención de hidroxiapatita modificada con magnesio a partir de la calcinación de hueso bovino. Siendo éste el objetivo del presente trabajo, junto con su uso en la obtención de recubrimientos bioactivos de HA reforzada con TiO_2, con características físico-mecánicas y bioactivas mejoradas [12, 13].

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Obtención de polvos de hidroxiapatita biológica

La HA biológica se obtuvo mediante la calcinación de hueso (fémur) bovino, el cual fue previamente tratado con una solución de acetona-agua durante 24 h y secado a 130°C, con el fin de retirar las grasas presentes. Diferentes muestras de trozos de hueso fueron calcinados durante seis horas a varias temperaturas, 600, 700, 800, 900 y 1000ºC, con una velocidad de calentamiento de 5ºC/min. Finalmente, las muestras de HA así obtenidas fueron reducidas de tamaño en un pulverizador de ágata durante 12 h.

2.2 Modificación de la hidroxiapatita con magnesio

El dopaje de los polvos de HA con magnesio se llevó a cabo por tratamiento hidrotermal de 3 g de hueso bovino pulverizado con 20 mL de solución de nitrato de magnesio ($Mg(NO_3)_2{\cdot}6H_2O$, Merck, 99%) a varias concentraciones, con el fin de obtener diferentes proporciones de magnesio en la HA (0, 1, 3, 5 y 10 % p/p Mg). La suspensión compuesta de solución de $Mg(NO_3)_2$ y polvo de hueso bovino permaneció bajo agitación magnética durante 12 h y, posteriormente, fue puesta en una autoclave durante 4 h a una temperatura y presión de 120ºC y 0.12 MPa, respectivamente, con el fin de favorecer la inclusión del ion Mg dentro de la estructura de la hidroxiapatita [14]. El producto de este proceso fue lavado, filtrado y secado a 70ºC durante 6 h y posteriormente calcinado a 800ºC.

2.3 Conformación de los recubrimientos mixtos de TiO_2/HA-Mg

En primer lugar, se prepararon soles de TiO_2, teniendo en cuenta la metodología propuesta por Cárdenas y col. [13], usando tetraisopropóxido de titanio IV (Aldrich, 97%) como precursor del TiO_2, isopropanol (Merck, 99.5%) como solvente, acetilacetona (Aldrich, 99%) como estabilizador e hidróxido de amonio (Merck, 24%) para ajustar el pH. Los soles fueron preparados a temperatura ambiente, de la siguiente forma: Primero 2.6 mL de acetilacetona fueron adicionados a 12.5 mL de isopropanol bajo agitación contante durante 15 min. Entonces 5 mL de tetraisopropóxido de titanio

©2014 Universidad Simón Bolívar

fueron adicionados a la anterior solución, manteniéndola bajo agitación durante 1 h. Posteriormente, 2.4 mL de agua desionizada fueron agregados gota a gota y la solución se mantuvo con agitación durante 30 min más, al cabo de los cuales se ajustó el pH a un valor de 10 con solución de hidróxido de amonio, manteniendo la agitación de los soles durante 2 h más. Finalmente, los soles se dejaron envejecer durante 12 h.

A partir de dichos soles, se obtuvieron las suspensiones de TiO_2/HA-Mg utilizando trietanolamina, TEA, (Merck, 98%) como dispersante [15]. A 10 mL de sol de TiO_2 se le adicionaron 0.12 mL de TEA y, posteriormente, se agregó 1 g de los polvos de HA-Mg. Las suspensiones se mantuvieron en agitación magnética durante 30 min, para estabilizarlas y proceder a la obtención de las películas.

La conformación de los recubrimientos se realizó mediante la técnica "dip-coating" utilizando un equipo inmersor de velocidad variable. En primer lugar, las probetas metálicas (acero AISI 316L), con tamaño de 25×15×3 mm, fueron desbastadas con lijas de carburo de silicio números 80, 120, 150, 240, 320, 400 y 600; posteriormente se limpiaron con etanol en un baño de ultrasonido durante media hora y, finalmente, se secaron con flujo de aire a temperatura ambiente. La inmersión y extracción de las probetas en los soles se hizo a una velocidad de 6 cm/min [13], los recubrimientos se dejaron secar a temperatura ambiente durante cuatro horas y se repitió el proceso para lograr recubrimientos con doble capa. Finalmente, las probetas ya recubiertas se sinterizaron a una temperatura de 500ºC [16]; el ciclo de tratamiento térmico consistió del calentamiento desde temperatura ambiente hasta la temperatura máxima (500°C) a una velocidad de calentamiento de 2°C/min y un tiempo de sostenimiento a dicha temperatura de una hora, finalmente las probetas se dejaron enfriar dentro del horno luego de finalizar el ciclo de calentamiento.

2.4 Caracterización de los polvos de Hidroxiapatita y de los recubrimientos TiO_2/HA-Mg

Los polvos de HA biológica calcinados a diferentes temperaturas, así como los de HA-Mg, fueron caracterizados química y cristalográficamente, mediante las técnicas de FT-IR (Espectrómetro de infrarrojos SHIMADZU FTIR-8400S) y DRX (Difractómetro de rayos X de polvo PHILIPS X PERT-PRO con geometría Bragg-Brentano (θ/2θ), operado con tubo de descarga con ánodo de cobre (Kα1 = 1.5406 Å) a 40 kV y 40 mA, con un intervalo de barrido del ángulo de difracción (2θ) comprendido entre 3º y 70º y un tiempo de conteo de 10 segundos por paso).

Por su parte, el espesor de los recubrimientos se determinó por perfilometría en las interfases recubrimiento-sustrato y con ayuda de reconstrucciones 3D, para lo cual se empleó un microscopio óptico confocal (HIROX KH-7700 3D) y el software Eye Dinamic Plus 3D. Las reconstrucciones 3D se obtuvieron mediante la toma de fotografías secuenciales desde el punto más bajo de la imagen hasta el más alto y la posterior reconstrucción por superposición de puntos focalizados en cada imagen. Además, la fuerza de adherencia de las películas al sustrato metálico fue determinada según la norma ASTM D 4541-02 [17], para lo cual se utilizó un medidor de adherencia pul-off (ELCOMETER108). Cada medida de adherencia se repitió cuatro veces y se calculó su valor promedio.

Con el fin de evaluar el grado de reactividad de los recubrimientos en el fluido fisiológico simulado y su carácter protector contra la corrosión de los sustratos de acero AISI 316L, se realizaron pruebas electroquímicas mediante las técnicas de Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS) y curvas de Polarización Potenciodinámicas (Curvas Tafel y RPL), con ayuda de un potenciostato/galvanostato SOLARTRON 1280 B. Las mediciones se llevaron a cabo empleando una celda convencional de tres electrodos, en donde un electrodo de calomel saturado (ECS) se utilizó como electrodo de referencia, una barra de grafito como contra-electrodo, y como electrodo de trabajo las probetas de acero AISI 316L recubiertas. El electrodo de trabajo se prensó contra una de las caras de la celda electroquímica, con el fin de controlar el área expuesta al electrolito a 1 cm^2; de esta manera se mantuvo un relación alta entre el área del contraelectrodo sumergida en electrolito, y el área del electrodo de trabajo en contacto con el electrolito, para así despolarizar la semi-reacción que ocurre sobre el contra electrodo durante la caracterización electroquímica de las probetas de acero AISI 316L recubiertas. El electrolito empleado para la caracterización electroquímica

©2014 Universidad Simón Bolívar

consistió de 200 mL del fluido fisiológico simulado propuesto por Kokubo [18]. Antes del inicio de las pruebas, las probetas se mantuvieron sumergidas en el SBF durante 1 hora para alcanzar la estabilización del potencial a circuito abierto.

Finalmente, se evaluó la bioactividad in vitro de los recubrimientos, para lo cual se sumergieron las probetas recubiertas en el fluido corporal simulado (SBF) de Kokubo, a 36.5ºC durante 7 días. Para estas pruebas se utilizaron frascos de polietileno, conteniendo 100 mL de SBF, dentro de los cuáles se sumergió parte de la probeta recubierta, siendo el área efectiva de la película en contacto con el fluido de 6 cm^2; estos ensayos se llevaron a cabo de manera estática. El crecimiento de apatitas en la superficie de los recubrimientos y su composición elemental se evaluó mediante las técnicas SEM-EDX (Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6490LV). La bioactividad de las películas también fue evaluada a través del seguimiento de la variación en la concentración de Ca^{+2} en el SBF a diferentes tiempos de inmersión, durante 7 días, con la ayuda de la técnica de Espectroscopia de Absorción Atómica (espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN ELMER 372).

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Caracterización de la HA biológica calcinada a diferentes temperaturas

En la Figura 1(a) se comparan los espectros FT-IR de los polvos de HA, obtenidos por calcinación de hueso a diferentes temperaturas, junto con el espectro del hueso sin calcinar. Los espectros infrarrojo del hueso bovino calcinado a temperaturas entre 700ºC y 1000ºC muestran sólo las bandas de absorción características de la HA biológica, indicando la presencia de los iones fosfato (490 cm^{-1}, 600 cm^{-1}, 900 cm^{-1}, 1000-1125 cm^{-1} y 2300-2350 cm^{-1}), hidroxilo (630 cm^{-1} y 3560 cm^{-1}) y carbonato (1375-1500 cm^{-1} y 875 cm^{-1}) [1, 19], estas últimas bandas son típicas de las hidroxiapatitas carbonatadas [20].

En el caso del hueso sin calcinar se observan bandas adicionales correspondientes a enlaces fuertes de N-H (alrededor de 2850 cm^{-1}) y amida (a 1600 cm^{-1}). Estas bandas son características de macromoléculas de proteína presentes en la matriz del hueso bovino [19], las cuales desaparecen al calcinar el hueso a temperaturas mayores a 600ºC, indicando así la remoción completa del material orgánico, ésto concuerda con el cambio de color observado en las muestras calcinadas, al pasar de gris a blanco.

Por otro lado, no se observan diferencias significativas en los espectros de las muestras calcinadas entre 700ºC y 900ºC, lo que sugiere que no hay cambios de fase debido al efecto térmico en este rango de temperaturas. Por último, en el espectro de la muestra calcinada a 1000ºC se observa una disminución de la intensidad de la banda del ión hidroxilo (3560 cm^{-1}), lo cual indica una posible deshidroxilación de la HA que podría estar relacionada con el inicio de un cambio de fase [19].

La Figura 1(b) muestra los difractogramas de los polvos de hidroxiapatita, obtenidos por calcinación del hueso a diferentes temperaturas, comparados con el difractograma patrón de este mineral. Los difractogramas de todas las muestras obtenidas confirman la presencia de la fase pura de hidroxiapatita.

Teniendo en cuenta estos resultados, se decidió escoger 800ºC como la temperatura de calcinación del hueso para las siguientes etapas de la investigación. Dicha temperatura ha sido reportada por diversos autores [1, 5, 19] como adecuada para la obtención de la HA cristalina a partir de hueso bovino.

3.2 Caracterización de los polvos de HA-Mg

Los espectros FT-IR de los polvos de hidroxiapatita dopada con magnesio (HA-Mg), en diferentes concentraciones, se muestran en la Figura 2(a). Con respecto a la muestra sin modificar (HA 0% Mg), las modificadas con Magnesio presentan una notable disminución de las bandas de absorbancia situadas alrededor de 2350 cm^{-1} y 490 cm^{-1} correspondientes al ión fosfato, así como aquellas situadas a 1375-1500 cm^{-1} y 875 cm^{-1}, asignadas al ión carbonato. Esta pérdida de carbonato y fosfato con el tratamiento hidrotermal, puede deberse al intercambio iónico de estos aniones con el medio. También puede indicar que en el proceso de dopaje del hueso con magnesio predomine el mecanismo de disolución-precipitación o coprecipitación [20], más que el dopaje sustitucional, puesto que el magnesio es uno de los iones más difíciles de introducir en la estructura de la apatita, en reemplazo del calcio, debido a la tendencia de éste a hidratarse ($Mg^{+2}(H_2O)_n$) y a su mayor radio hidratado o de

©2014 Universidad Simón Bolívar

solvatación [21]. Los patrones DRX, mostrados en la Figura 2(b), indican que la hidroxiapatita se mantiene como la única fase cristalina, a pesar de la adición de Mg, puesto que no se evidencia presencia de nuevas fases, tales como Withlockita ($Ca_3(PO_4)_2$) y Stanfieldita ($Ca_4Mg_5(PO_4)_6$), las cuales han sido reportadas por otros autores [22]. Teniendo en cuenta que no hay evidencia de la formación de nuevas fases cristalinas, se podría inferir que los iones de magnesio se introdujeron dentro de la red cristalina de la HA, ocupando algunos de los sitios del Ca^{+2} (Reacción (1)); aunque también existe la posibilidad de que el magnesio haya formado alguna fase no cristalina.

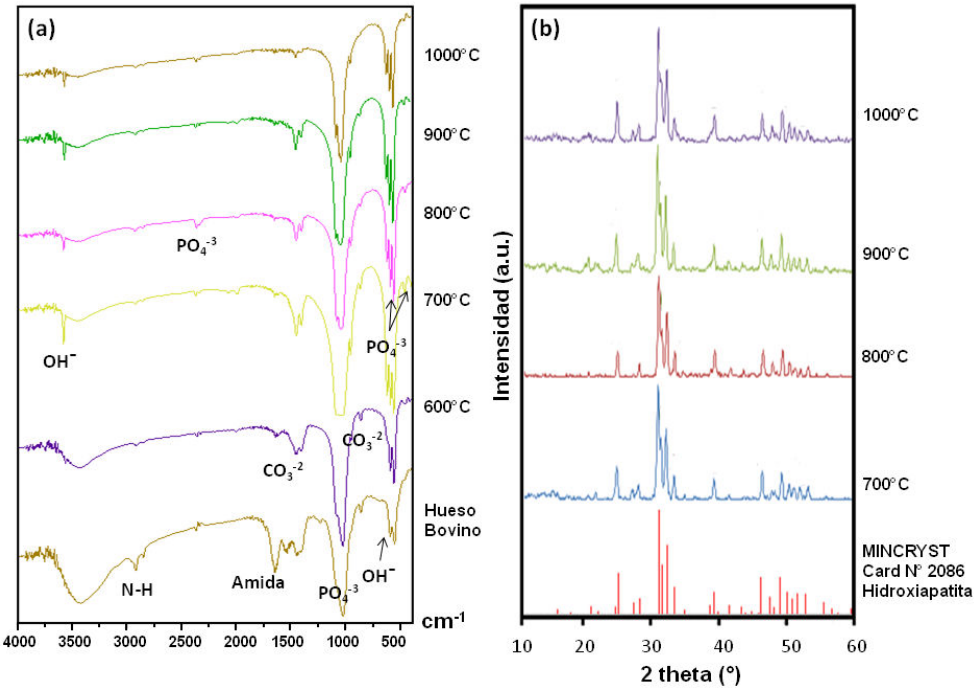


Figura 1. Caracterización composicional del hueso bovino calcinado a diferentes temperaturas: a) Espectros FT-IR, b) Difractogramas de rayos X.

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + n\,Mg^{+2} \rightarrow Ca_{10-n}Mg_n(PO_4)_6(OH)_2 + n\,Ca^{+2} \qquad (1)$$

No obstante, el análisis de los difractogramas, podría evidenciar el dopaje de la HA con Mg, lo cual está relacionado con el desplazamiento de los picos de difracción de la HA hacia la izquierda (aproximadamente en 1º), efecto que puede deberse a la sustitución de los iones Ca^{+2} por los iones Mg^{+2} [23], dado que la sustitución de los átomos de Ca por los de Mg produce desestabilización de la celda, y de allí su mayor reactividad. En cualquier caso, para confirmar tal sustitución se requiere de un mayor estudio, que incluya la determinación de las posibles variaciones de los parámetros de red de la HA por efecto de su modificación con Mg.

3.3 Espesor y fuerza de adherencia de los recubrimientos

En la Figura 3 se presenta un ejemplo de las reconstrucciones de la superficie de las probetas metálicas recubiertas con TiO_2/HA-Mg, obtenidas mediante microscopia óptica confocal y con las cuales se determinaron los espesores promedio de las mismas. En las Figuras 3(a) y 3(b) la coloración más oscura corresponde a la superficie del sustrato metálico, mientras que las partes claras a la película de TiO_2/HA-Mg. Por su parte en la reconstrucción de la Figura 3(c), la zona azul es la más profunda (sustrato) y la verde-amarillo la más superficial de los recubrimientos. El agrietamiento de los recubrimientos (Figura 3(a)) es debido a su gran contracción durante la etapa de sinterización y a los altos valores de espesor de los mismos, los cuales fueron superiores a 1 µm.

©2014 Universidad Simón Bolívar

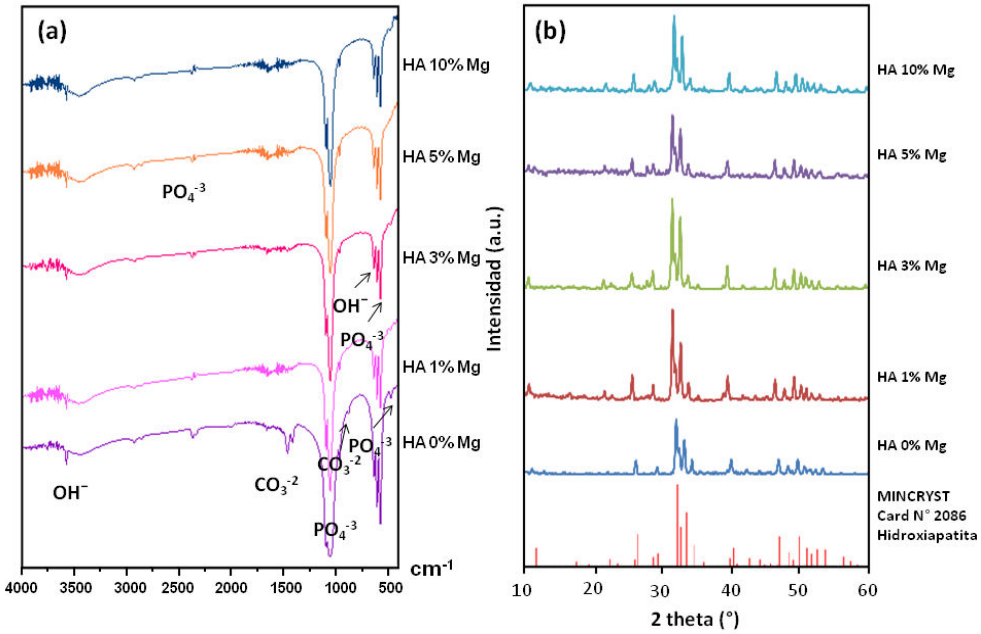


Figura 2. Caracterización composicional del hueso bovino dopado con magnesio luego de su calcinación a 800ºC: a) Espectros FT-IR, b) Difractogramas de rayos X.

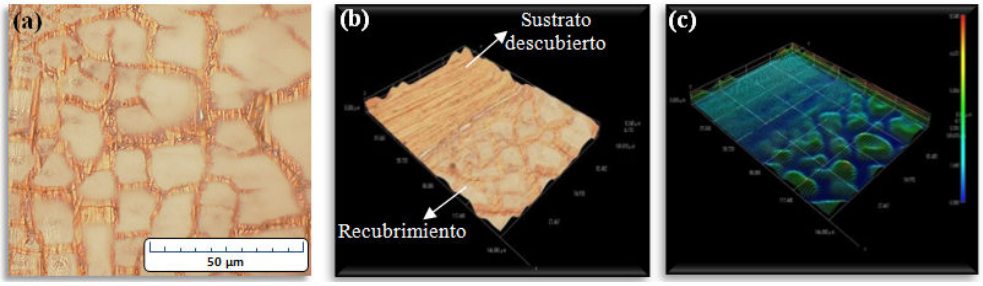


Figura 3. Análisis óptico del recubrimiento de TiO_2/HA-5%Mg: a) Micrografía tomada a 1400x, b) y c) Reconstrucciones topográficas de la interfase sustrato-recubrimiento para la determinación del espesor.

En la Figura 4 se presentan los valores promedio de adherencia y espesor de las películas depositadas sobre los sustratos de acero. Se observa que la fuerza de adherencia de los recubrimientos de HA-biológica (8,66±0,72 MPa) se incrementa al modificar el material con Mg, alcanzándose un máximo a un 3% de Mg (10,42±0,85 MPa), después del cual disminuye hasta 9,89±0,88 MPa para los materiales con 10% de Mg. Sin embargo, esta variación parece no ser significativa, debido a que a un cierto porcentaje de sólidos constante, la adherencia del recubrimiento al sustrato es debida principalmente al TiO_2 [13], o más exactamente a las propiedades del sol precursor de TiO_2, tales como la viscosidad y la tensión superficial.

Esto último puede explicarse por el hecho de que las suspensiones de HA sin dopar son más estables que las de HA-Mg, lo cual fue comprobado experimentalmente en la investigación. La mayor estabilidad de las suspensiones de HA sin dopar conlleva a que las películas obtenidas con ellas presenten mayor espesor (tal como se aprecia en la Figura 4), por el mayor número de partículas en contacto con un cierto volumen del sol de TiO_2, y como se ha informado previamente, la adherencia de este tipo de películas disminuye con el aumento de

©2014 Universidad Simón Bolívar

su espesor [13]. Estos resultados concuerdan con lo observado por Landi y Col. [9] quienes encontraron que al dopar la HA con 1,2% Mg el punto isoeléctrico se aumentó desde un valor de 7 hasta 8,5; es decir que el exceso de carga superficial de los materiales HA-Mg, a altos valores de pH (>8,5), es menor que para la HA-pura. Lo que se traduce en que las suspensiones de HA-Mg son menos estables que las de sólo HA.

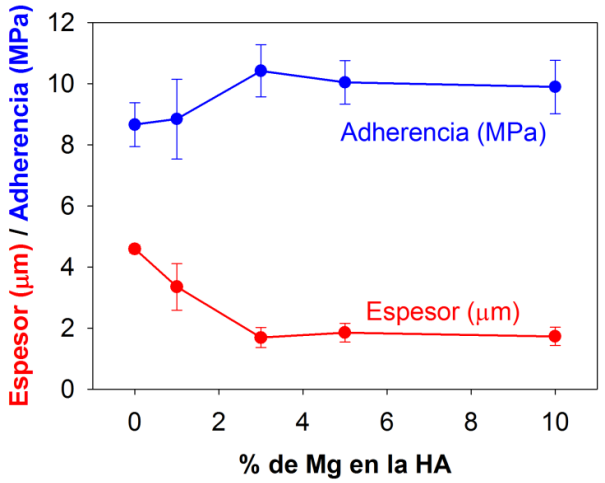


Figura 4. Valores promedio de adherencia y espesor para películas de TiO_2/HA-Mg.

Los valores de fuerza de adherencia obtenidos son inferiores a los típicos para películas desarrolladas por el método sol-gel (superiores a 40 MPa [24]), lo cual es debido a que en la presente investigación se utilizaron suspensiones de HA en el sol de TiO_2 y no soles puros y estables; por este mismo motivo los espesores obtenidos son en general superiores a los típicos del proceso sol-gel (inferiores a 1 μm [24]). En este sentido, se puede decir que la adherencia de los recubrimientos es comparable a la obtenida por otros métodos, tal como deposición electroforética (7-11 MPa [25]) y superior a la de los recubrimientos conformados por el método de proyección por plasma (3-5 MPa [26]), los cuales tienen grandes espesores (300-400 μm).

3.4 Evaluación de la bioactividad de los recubrimientos

En la Figura 5 se puede observar que durante las primeras 24 h en el sistema de 10% Mg, se presentaron los procesos de disolución y precipitación de calcio en el medio, etapas necesarias para la formación de apatitas sobre el recubrimiento [27]. Estos procesos son una reacción reversible debida al contacto del material recubierto con el fluido, donde la dirección hacia la cual se mueve la reacción, se determina por la diferencia en la concentración de iones Ca^{+2} en la solución y su concentración en el equilibrio, puesto que el crecimiento de cristales de apatitas se debe al consumo de iones de la solución SBF [28]. Este proceso dinámico de disolución y crecimiento de apatitas dentro del SBF está dado por la siguiente reacción [27]:

$$10Ca^{+2} + (6-x)PO_4^{-3} + (2+x)OH^- + xCO_3^{-2} \leftrightarrow Ca_{10}(PO_4)_{6-x}(CO_3)_x(OH)_{2+x} \quad (2)$$

En donde, por un lado, la disolución de la capa superficial hace que la concentración de los iones Ca en SBF se incremente y, por otro lado, los iones Ca y P se consumen debido a la nucleación y crecimiento de la apatitas.

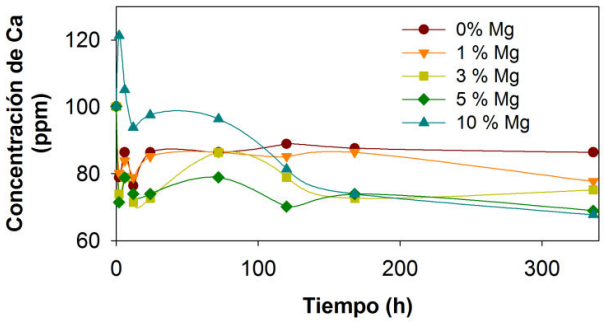


Figura 5. Concentración de Ca en la solución SBF vs Tiempo de inmersión.

Por otra parte, se observa que los demás sistemas (0, 1, 3 y 5% Mg) no presentan la etapa inicial de disolución que de paso a la sobresaturación del medio, y posterior inicio al proceso de precipitación. Por tanto, es de esperarse que la disminución inicial de la concentración de calcio en el SBF, debida a la fisisorción de iones calcio sobre los recubrimientos, no genere la formación de una capa de apatitas.

Teniendo en cuenta las diferencias en los comportamientos de las curvas de concentración de calcio para las diferentes películas, se decidió analizar por SEM los recubrimientos con 0%, 5% y 10% de Mg antes y después de su inmersión en SBF (Figura 6), con el fin de comprobar el efecto del

©2014 Universidad Simón Bolívar

dopaje de HA con magnesio en la bioactividad de los recubrimientos, determinando si hubo o no formación de una capa de apatitas sobre los mismos. En primer lugar, hay que señalar que la microestructura inicial de todos los recubrimientos consistió de aglomerados de HA (dopada o sin dopar) inmersos en una matriz de TiO_2, tal microestructura era la esperada teniendo en cuenta que los recubrimientos se obtuvieron a partir de una suspensión de polvos de HA en el sol de TiO_2. Al cabo de los 7 días de inmersión en SBF, sólo el recubrimiento con HA dopada con 10% Mg evidenció ser bioactivo, formándose una capa homogénea de apatitas que recubrió totalmente dicha película. Estos resultados no sólo comprueban la efectividad del dopaje de la HA con magnesio para aumentar su bioactividad, sino que también constituyen evidencia de que dicho dopaje también favorece la bioactividad del TiO_2 (reconocido como un cerámico bioinerte), cuando los dos biocerámicos están formando un *composite*.

Al analizar de forma conjunta los resultados de variación de la concentración de calcio en el SBF y los de SEM, se concluye que la adsorción de iones Ca^{+2} en la superficie cerámica no es suficiente para que ocurra el crecimiento de apatitas sobre ésta, dado que tal adsorción ocurrió en todos los ensayos y sólo se evidenció bioactividad en aquel que se utilizó el recubrimiento con HA-10% Mg. Y éste es justamente el único ensayo en el que se produjo la etapa inicial de disolución de la película antes de la de precipitación de los iones Ca^{+2}.

3.5 Evaluación electroquímica de los recubrimientos

Las películas obtenidas de HA-TiO_2 y HA(Mg)-TiO_2 se evaluaron mediante técnicas electroquímicas, después de 1 h de inmersión en la solución de SBF (tiempo en el que se alcanzó un potencial de corrosión estacionario para cada una de ellas), para estudiar cómo la deposición de este tipo de materiales sobre el acero AISI 316L, puede alterar la corrosión del sustrato en una solución de SBF. La evaluación en etapas tempranas de inmersión de las películas en la solución de SBF, es particularmente interesante, porque muestra de una manera muy rápida la interacción que tienen estos recubrimientos con la solución.

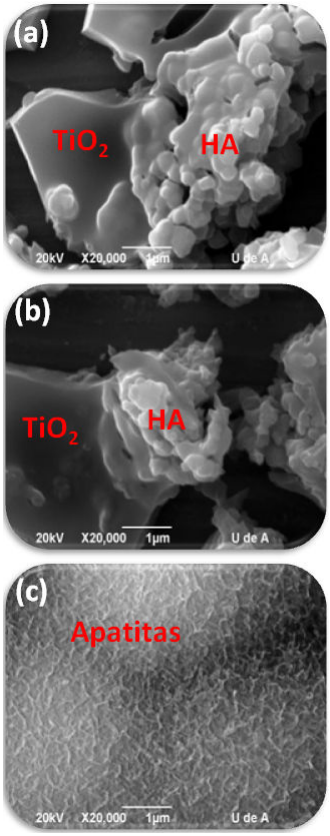


Figura 6. Micrografías SEM de los recubrimientos de TiO_2 e HA dopada con 0% (a), 5% (b) y 10% (c) de magnesio, luego de 7 días de inmersión en SBF.

Inicialmente se midieron los espectros de impedancia electroquímica de las películas, después de alcanzar un potencial de corrosión (E_{corr}) estacionario. La medición se realizó en el E_{corr}, imponiendo una perturbación AC de ±10mV, en el intervalo de frecuencias comprendido entre 10KHz y 20mHz. Los diagramas de Nyquist y de Bode para el ángulo de fase, obtenidos experimentalmente para todas las películas y el sustrato de acero AISI 316L, se muestran en la Figura 7. El espectro obtenido cuando se utilizó el sustrato de acero AISI 316L muestra un comportamiento RC, en donde se forma una campana en el diagrama de bode para el ángulo de fase (Figura 7 (c)), y un semicírculo en el diagrama de Nyquist (Figura 7 (a)). Este semicírculo (Figura 7 (a)) no alcanza a cerrarse debido a que la resistencia a la transferencia de carga, por la corrosión del acero, es muy alta (Figura 7 (b)). Este comportamiento evidencia el carácter protector de la película de óxido formada térmicamente durante el tratamiento del material a 800 C. Cuando se depositó la película de HA-TiO_2 sobre el sustrato se

©2014 Universidad Simón Bolívar

observa un incremento en el valor de $-Z_{img}$ y un incremento en los valores del ángulo de fase, así como un desplazamiento del comportamiento capacitivo (incremento de los valores del ángulo de fase), hacia menores valores de frecuencia. Este comportamiento muestra que al depositar este tipo de películas sobre el sustrato, se mejora la protección contra la corrosión del sustrato. Cuando se evaluaron las películas de HA(Mg)-TiO_2 se observa un comportamiento similar al obtenido con la película de HA-TiO_2 pero con menores impedancias (Figura 7 (a y b)) y menores valores de ángulo de fase (Figura 7 (c)). Además, cuando se evaluó la película modificada con 10 % Mg se observa la formación una segunda constante de tiempo. Estos comportamientos, parecen indicar que se disminuyó la protección contra la corrosión del sustrato; sin embargo, como se mencionó anteriormente, la modificación con Mg de la HA-biológica, se llevó a cabo para incrementar su reactividad, haciendo que los procesos de disolución en el electrolito se aceleren, y se alcance en cortos tiempos, una sobresaturación de carbonatos y fosfatos en el electrolito, permitiendo el inicio del crecimiento de las películas de HA sobre el sustrato. Por lo que la disminución de las impedancias registradas, puede ser relacionada con la disolución parcial de la película de HA(Mg)-TiO_2 depositada, particularmente para la modificada con 10 % de Mg que muestra la formación de una segunda constante de tiempo que es normalmente atribuida a la porosidad de la película depositada sobre el sustrato [13], en este caso, ocasionada por la disolución del film en las etapas iniciales.

Las curvas de resistencia a la polarización lineal (RPL) obtenidas para cada una de las películas preparadas y el sustrato de acero AISI 316L, se muestran en la Figura 8. Los datos experimentales obtenidos muestran la formación de una línea recta, cuya pendiente es asociada a la resistencia a la transferencia de carga, o resistencia a la polarización lineal (RPL). Este valor es inversamente proporcional a la velocidad de corrosión del sustrato, por lo que una disminución en la pendiente de la línea recta registrada, indica un incremento en la velocidad de corrosión del sustrato. Los resultados en la Figura 8 confirman lo observado en la caracterización EIS (Figura 7), que la modificación con Mg de la HA-biológica, conduce a una disminución a la resistencia a la transferencia de carga por la corrosión del sustrato.

Las curvas de polarización obtenidas en la solución de SBF, para todas las películas preparadas en este estudio (indicadas en la figura) y el sustrato de acero AISI 316L, se muestran en la Figura 9. Los resultados obtenidos confirman nuevamente lo observado mediante EIS (Figura 7), la deposición de la película de HA-TiO_2 llevó a una disminución de la velocidad de corrosión del sustrato, mientras que las películas de HA(Mg)-TiO_2 la aumentaron. La corriente de corrosión del sustrato de acero AISI 316L se midió mediante la ecuación (3):

$$i_{corr} = \frac{\beta_a \beta_c}{2.3A(\beta_{a+}\beta_c)(RPL)} \qquad (3)$$

donde β_a y β_c representan las pendientes de Tafel anódicas y catódicas, respectivamente, y A representa el área de la solución expuesta a la solución de SBF.

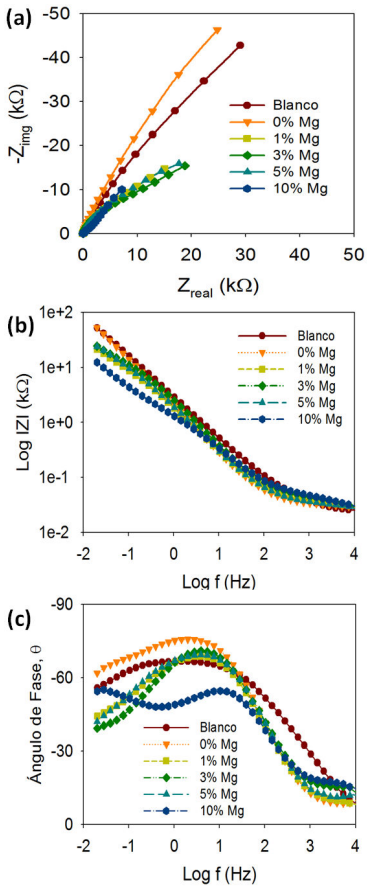


Figura 7. Diagramas de: a) Nyquist y Bode, b) magnitud de impedancia, y c) ángulo de fase; obtenidos experimentalmente en la solución de SBF, para todas las películas preparadas en este estudio (indicadas en la figura) y el sustrato de acero AISI 316L (Blanco).

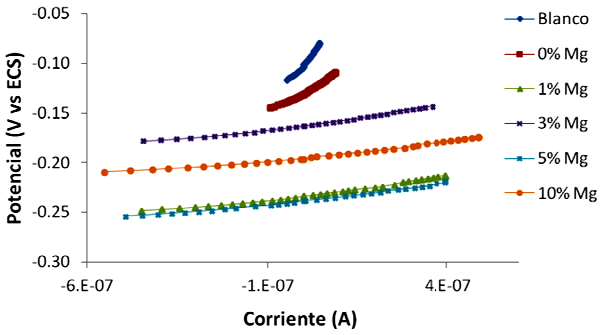


Figura 8. Curvas de resistencia a la polarización lineal (RPL) obtenidas en la solución de SBF, para todas las películas preparadas en este estudio (indicadas en la figura) y el sustrato de acero AISI 316L (Blanco).

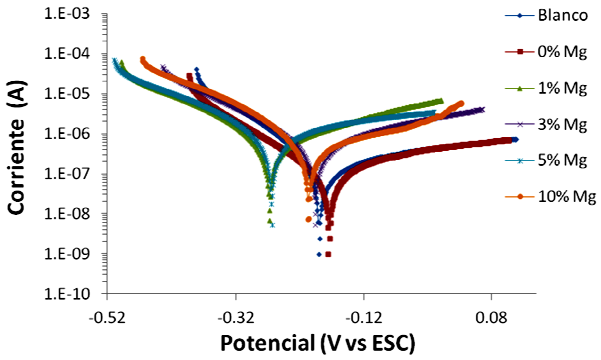


Figura 9. Curvas Tafel obtenidas en la solución de SBF, para todas las películas preparadas en este estudio (indicadas en la figura) y el sustrato de acero AISI 316L (Blanco).

Los datos de i_{corr} y RPL para cada una de las películas se muestran en la Tabla 1, en donde se observa un incremento en el valor de i_{corr} cuando se modifica la HA-Biológica con Mg. Como se discutió anteriormente, este comportamiento se puede asociar a la mayor reactividad de estas películas, particularmente la modificada con 10% Mg, en la solución de SBF. Para poder estudiar la formación de la película de apatitas mediante técnicas electroquímicas, y además, evaluar su influencia sobre la protección contra la corrosión del sustrato, es necesario hacer un estudio electroquímico más profundo, a diferentes tiempos de inmersión de las películas en la solución de SBF, por lo que será el objetivo de una futura investigación.

Tabla 1. Valores de corriente de corrosión derivados de las curvas de resistencia a la polarización lineal en la Figura 8, y de las curvas de polarización en la Figura 9.

Muestra	*Parámetros electroquímicos*	
	RPL (kΩ)	i_{corr} *(μAcm^{-2})*
Acero (blanco)	426,7	0,09
HA 0% Mg	204,7	0,15
HA 1% Mg	44,6	0,69
HA 3% Mg	46,7	0,72
HA 5% Mg	39,0	1,05
HA 10% Mg	36,7	0,88

4. CONCLUSIONES

El método de calcinación de hueso bovino a temperaturas entre 700ºC y 900ºC se establece como un proceso práctico para la obtención masiva de HA biológica pura, y el dopaje con magnesio del hueso, mediante el proceso hidrotermal y su posterior calcinación, permite obtener polvos de HA-Mg sin afectar la estabilidad de la fase de HA.

La modificación de los polvos de HA con Magnesio conllevó a la disminución del espesor y al aumento de la adherencia de los recubrimientos obtenidos a partir de suspensiones de tales polvos en soles de TiO_2, por efecto de la disminución de la estabilidad de las suspensiones de HA-Mg con respecto a la de hidroxiapatita o de la disminución de la cantidad de partículas de HA en la película. La modificación de la HA con 10% de magnesio es un método efectivo de aumentar su bioactividad, lo cual se refleja en la rápida formación de una capa de apatitas sobre la superficie de los recubrimientos sumergidos en el fluido corporal simulado (SBF). Tal modificación no sólo favorece la bioactividad de la HA, sino también la del TiO_2 utilizado para reforzar los recubrimientos.

La fisisorción de iones Ca^{+2} sobre las superficies biocerámicas no es suficiente para promover la formación de apatitas sobre ellas, al estar sumergidas en un fluido fisiológico simulado. Para que ello ocurra es imprescindible la disolución inicial del biorecubrimiento, de tal forma que la solución se sobresature en dichos iones.

La caracterización electroquímica de las películas de TiO_2/HA-Mg depositadas sobre sustratos de acero AISI 316L, luego de una hora de inmersión en SBF,

©2014 Universidad Simón Bolívar

evidenció que la reactividad de la HA se incrementó debido a su modificación con Mg, reflejándose esto en un incremento en la velocidad de corrosión del sustrato debido a la disolución parcial de las películas de HA-Mg. Aunque en la primera hora de inmersión se presenta un incremento en la velocidad de corrosión del sustrato, es de esperarse que debido a la formación de las apatitas sobre el sustrato, la velocidad de corrosión disminuya durante tiempos de inmersión mayores.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander por la financiación de esta investigación, a través del proyecto 5437 "Síntesis por sol-gel de recubrimientos compuestos Hidroxiapatita/TiO_2 sobre acero inoxidable quirúrgico 316L para aplicaciones biomédicas".

6. REFERENCIAS

[1]. Herliansyah MK, Handi M, Ide-Ektessabi A, Wildan MW, Toque JA. Materials Science and Engineering C 2009; 29: 1674-1680.

[2]. Isobe T, Nakamura S, Nemoto R, Senna M, Sfihi H. Journal Physical Chemistry B 2002; 106: 5169-5176.

[3]. Xu LJ, Khor KA, Dong ZL, Gu YW, Kumar R. Materials Science and Engineering A 2004; 374: 101-108.

[4]. Bezzi G, Celotti G, Landi E, La Torretta TMG, Sopyan I, Tampieri A. Materials Chemical Physics 2008; 78: 816-824.

[5]. Nasser A, Khalil K, Sheikh F, Omran A, Gaihre B, Khil S, Kim H. Materials Science and Engineering C 2008; 28: 1381-1287.

[6]. Nüzhet Oktar F, Agathopoulos S, Sevgi L. J. Mater. Sci: Mater Med 2007; 18: 2137 2143.

[7]. Sastre R, San Román J, De Aza S. Biomateriales, Florencia (Italia): Faenza Editrice Iberica S.L., 2004.

[8]. Jiao MJ, Wang XX. *Materials Letters 2009;* 63 (27): 2286-2289.

[9]. Landi E, Tampieri A, Mattioli-Belmonte M, Celotti G, Sandri M, Gigante A, Fava P, Biagini G. Journal of the European Ceramic Society 2006; 26: 2593–2601.

[10]. Kheradmandfard M, Fathi MH, Ahangarian M, Mohammadi E. Ceramics International 2012; 38: 169–175.

[11]. Cacciotti I, Bianco A, Lombardi M, Montanaro L. Journal of the European Ceramic Society 2009; 29: 2969–2978.

[12]. Balamurugan A, Balossier G, Kannan S, Michel J, Rajeswari S. Materials Science and Engineering C 2007; 27: 162–171.

[13]. Cárdenas DC, Acevedo P, Córdoba EM. Rev. Latin Am. Metal. Mat. 2013; 33 (2): 214-224.

[14]. Murugan R, Sampath Kumar T, Panduranga Rao K. Materials Letters 2002; 57: 429-433.

[15]. Xiao XF, Liu RF. Materials Letters 2006; 60: 2627–2632.

[16]. Alvarado E, Vesga B, Síntesis de fotoánodos de TiO_2 sobre vidrio conductor por el método de dip-coating y su evaluación en la remoción fotoelectroquímica de cobre en soluciones acuosas cianuradas (Trabajo de Grado), Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2008.

[17]. Standard test method for pull-off strength of coatings using portable adhesion testers. ASTM International D 4541-02.

[18]. Kokubo T. Takadama H. Biomaterials 2006; 27: 2907-2915.

[19]. Ooi CY, Hamdi M, Ramesh S. Ceramics International 2007; 33: 1171-1177.

[20]. Qi G, Zhang S, Aik K, Who S, Zeng X. Applied Surface Science 2008; 255: 304-307.

[21]. Rodríguez S, Jockusch R, Williams E. J. Am. Chem. Soc. 1999; 121(38): 8898–8906.

[22]. Ren F, Leng Y, Xin R, Ge X. Acta Biomaterialia 2010; 6: 2787-2796.

[23]. Santiago M, Hernández L, Montiel H, Flores M. Superficies y Vacío 2010; 23: 25-30.

[24]. Liu D, Yang Q, Troczynski T. *Biomaterials 2002; 23: 691-698.*

[25]. Kwok C, Wong P, Cheng F, Man H. Applied Surface Science 2009; 255: 6736-6744.

[26]. Yugeswaran S, Yoganand C, Kobayashi A, Paraskevopoulos K, Subramanian B. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials 2012; 9: 22-33.

[27]. Kim H, Himeno T, Kokubo T, Nakamura T. Biomaterials 2005; 26: 4366-4373.

[28]. Leonor IB, Ito A, Onuma K. Biomaterials 2003; 24: 579-585.

©2014 Universidad Simón Bolívar