

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Aplicación de un Recubrimiento Funcional para Prótesis
Metálicas, Basado en Quitosano**

Doménica Nicole Álvarez Balladares

Ingeniería Mecánica

Trabajo de integración curricular presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniera Mecánica

Quito, 06 de diciembre de 2019

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS E INGENIERÍA

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**Aplicación de un Recubrimiento Funcional para Prótesis Metálicas,
Basado en Quitosano**

Doménica Nicole Álvarez Balladares

Calificación: (puntos logrados) / (puntos posibles)

Nombre del profesor, Título académico José Álvarez, PhD.

Firma del profesor: _____

Nombre del profesor, Título académico Marco León, M.Sc.

Firma del profesor: _____

Quito, 06 de diciembre del 2019

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Doménica Nicole Álvarez Balladares

Código: 00116634

Cédula de identidad: 1716386394

Lugar y fecha: Quito, diciembre de 2019

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue realizar un recubrimiento funcional para prótesis metálicas, para esto se desarrolló un hidrogel a base de quitosano con diferentes concentraciones y se recubrieron sobre placas circulares de titanio Ti6Al4V, las cuales tenían 10mm de diámetro y 3mm de espesor. Se fabricaron 3 sets de hidrogeles de quitosano cada set con una composición diferente manteniendo constantes los parámetros de deposición, el proceso de deposición del hidrogel se efectuó con concentraciones de: 0.1%, 0.5% y 1%.

Este proceso se efectuó mediante la técnica de electrodeposición, la cual se basa en la coordinación del quitosano con los iones metálicos generados in situ por la oxidación electroquímica simultánea. El hidrogel obtenido es suave, transparente y heterogéneo, así como también tiene estabilidad en condiciones ácidas. Para depositar la capa de hidrogel desarrollado sobre las placas, se suministró un voltaje de 3[V] por 20 y 30 minutos, posterior se liofilizó el recubrimiento y se observó en el microscopio electrónico de barrido.

Una vez liofilizados los recubrimientos de las 3 diferentes composiciones de quitosano, se observó mediante el microscopio electrónico de barrido la estructura de cada hidrogel y posterior a esto se realizó una prueba de rayado sobre cada recubrimiento para determinar cuál presenta una mejor adherencia sobre la superficie de las placas de titanio Ti6Al4V. Asimismo se realizó un corte transversal en el sustrato de titanio para poder determinar el tamaño del espesor del recubrimiento. El bio-recubrimiento que mejor estructura y adherencia tuvo fue el de composición de quitosano de 1% con un tiempo de 30 minutos, presentando un coeficiente de rozamiento de 0,28 y un espesor de $(6,83 \pm 1,79)\mu\text{m}$

Palabras clave: electrodeposición, recubrimiento, quitosano, hidrogel, titanio Ti6Al4V

ABSTRACT

The purpose of this research was to develop a functional coating for metal prostheses, for this a chitosan-based hydrogel with different concentrations was developed and coated on Ti6Al4V titanium circular plates, which were 10mm in diameter and 3mm thick. Three sets of chitosan hydrogels were manufactured each set with a different composition keeping the deposition parameters constant, the hydrogel deposition process was carried out with concentrations of: 0.1%, 0.5% and 1%.

This process was developed with the use of the electrodeposition technique, which is based on the coordination of the chitosan with the metal ions generated in situ by simultaneous electrochemical oxidation. The hydrogel obtained is soft, transparent and heterogeneous, as well as it has stability under acidic conditions. To deposit the developed hydrogel layer on the plates, a voltage of 3 [V] was supplied for 20 and 30 minutes, the coating was subsequently lyophilized and observed in the scanning electron microscope.

Once the coatings of the 3 different chitosan compositions were lyophilized, the structure of each hydrogel was observed by scanning electron microscopy and after that a scratch test was performed on each coating to determine which one has a better adhesion on the surface of Ti6Al4V titanium plates. A cross section was also made on the titanium substrate to determine the size of the thickness of the coating. The bio-coating with the best structure and adhesion was made of chitosan composition of 1% with a time of 30 minutes, presenting a coefficient of friction of 0.28 and a thickness of $(6.83 \pm 1.79) \mu\text{m}$

Key words: electrodeposition, chitosan coating, chitosan, hydrogel, titanium Ti6Al4V.

TABLA DE CONTENIDO

Índice de Tablas	8
Índice de Figuras	9
1. Introducción	12
2. Metodología	19
2.1. Corte sustratos de Ti6Al4V	19
2.2. Preparación de la superficie	20
2.2.1. Superficie lisa.....	20
2.2.2. Tratamiento superficial de granallado	21
2.2.3. Determinación rugosidad de la superficie	21
2.2.4. Limpieza superficial de discos de Ti6Al4V	21
2.3. Preparación de quitosano	22
2.4. Proceso de recubrimiento.....	23
2.4.1. Adsorción sobre la superficie	23
2.4.2. Electrodeposición coordinada de quitosano	23
2.5. Liofilización del recubrimiento sobre los discos.	26
2.6. Prueba de rayado.....	26
2.7. Evaluación espesores del hidrogel	28
2.7.1. Determinación de la medida del espesor del recubrimiento.....	29
2.8. Análisis Estadísticos	29
3. Resultados y Discusiones.....	31
3.1 Análisis morfológico con Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	31
3.2. Deposición de quitosano sobre superficies lisas y rugosas.	32
3.2.1. Deposición de quitosano por adsorción.....	32
3.2.2. Electrodeposición de quitosano sobre la superficie de titanio Ti6Al4V	33
3.2.3. Condiciones iniciales de electrodeposición	33
3.2.4. Mejora del proceso de electrodeposición	36
3.3. Evaluación de la adhesión del recubrimiento.....	40
3.3.1. Prueba de rayado sobre sustrato de titanio sin recubrir	40
3.3.2. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 0.1% por 30 minutos	41
3.3.3. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 0.5% por 20 minutos	42
3.3.4. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 0.5% por 30 minutos	44
3.3.5. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 1% por 20 minutos...	45
3.3.6. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 1% por 30 minutos...	47

3.4. Análisis estadísticos de coeficientes de rozamiento del recubrimiento de quitosano	49
3.5. Caracterización del espesor.	54
Conclusiones	57
Referencias Bibliográficas	59
ANEXO A: Tabla de valores de rugosidades promedio de los dos tipos de superficies de los sustratos.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros del proceso de granallado	21
Tabla 2. Parámetros iniciales electrodeposición.....	24
Tabla 3. Parámetros de trabajo actuales de electrodeposición.	25
Tabla 4. Diseño experimental para evaluar la adhesión del recubrimiento.....	28
Tabla 5. Análisis morfológico, por SEM, de la superficie lisa electrodepositada con quitosano con tiempo de 20 y 30 minutos con una magnificación de 1000x con concentraciones de quitosano (%p/v) de: a) 0, b) 0,1, c) 0,5 y d) 1. Barra de calibración:10 μm	37
Tabla 6. Resultados coeficientes de fricción con diferentes tiempos.	53
Tabla 7. Valores de rugosidades promedio de discos de titanio Ti6Al4V de superficies lisas y granalladas	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de procesos para recubrir los sustratos de titanio	19
Figura 2. Modelado del sustrato en Autodesk Inventor.	20
Figura 3. Equipo y procedimiento utilizado para medir la rugosidad de las superficies de los discos de titanio Ti6Al4V	21
Figura 4. Esquema proceso filtrado al vacío.	22
Figura 5. Esquema de electrodeposición	24
Figura 6. Esquema proceso prueba de rayado en sustratos metálicos.(Suresh Kuiry, 2012)26	26
Figura 7. Esquema sobre la realización de la prueba de rayado sobre la superficie del disco de titanio Ti6Al4V	27
Figura 8.Comparación morfológica, por SEM, de la superficie lisa (a) y la granallada (b). Barra de calibración: 100 μm	31
Figura 9.Comparación morfológica, por SEM, de la superficie lisa (a y b) y la granallada (c y d). Barra de calibración: 100 μm	32
Figura 10. Análisis morfológico, por SEM, de la superficie lisa electrodepositada con quitosano con una magnificación de 1000x con concentraciones de quitosano (%p/v) de: a) 0, b) 0,1, c) 0,5 y d) 1. Barra de calibración:10 μm	34
Figura 11. Análisis morfológico, por SEM, de la superficie lisa electrodepositada con quitosano con una magnificación de 1000x con concentraciones de quitosano (%p/v) de: a) 0, b) 0,1, c) 0,5 y d) 1. Barra de calibración:10 μm	35
Figura 12. a) Hidrogel obtenido con la técnica de electrodeposición coordinada, utilizando solución de quitosano al 1% por 30 minutos b) Hidrogel obtenido con la técnica de	

electrodeposición por capas, utilizando una solución al 1% quitosano y alginato (Z. Wang et al., 2014).	40
Figura 13. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, sin recubrir.....	41
Figura 14. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 0.1% de Quitosano y 30 minutos.....	42
Figura 15. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 0.5% de Quitosano y 20 minutos.....	43
Figura 16. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 0.5% de Quitosano y 30 minutos.....	44
Figura 17. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 1% de Quitosano y 20 minutos, dónde: a y b pertenecen a dos superficies diferentes electrodepositadas la misma concentración y tiempo de quitosano	46
Figura 18. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 1% de Quitosano y 30 minutos, dónde: a y b pertenecen a dos sustratos diferentes electrodepositadas la misma concentración y tiempo de quitosano	48
Figura 19. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie no recubierta	49
Figura 20. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 0.1% de quitosano por 30 minutos.....	50
Figura 21. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 0.5% de quitosano por 20 minutos.....	51
Figura 22. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 0.5% de quitosano por 30 minutos.....	51

Figura 23. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 1% de quitosano por 20 minutos.....	52
Figura 24. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 1% de quitosano por 30 minutos.....	53
Figura 25. Recubrimiento de quitosano al 1% por 20 minutos. a) vista transversal del recubrimiento sobre el sustrato titanio Ti6Al4V y b) espesor recubrimiento sustrato titanio Ti6Al4V	54
Figura 27. Vista superior sustrato de titanio Ti6Al4V con un recubrimiento de 1% de quitosano electrodepositado con un tiempo de 30 minutos utilizando el durómetro Rockwell	55

1. INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo de titulación se estudia la aplicación de un recubrimiento funcional para prótesis metálicas, con aplicaciones médicas en personas, basado en quitosano.

Para el desarrollo de este proyecto se planteó un objetivo general y tres objetivos específicos. El objetivo general es desarrollar un recubrimiento biocompatible a base de quitosano para superficies de titanio Ti6Al4V y los objetivos específicos son: a) realizar una preparación superficial en las placas de aleación de Ti6Al4V para generar una rugosidad comparable a las prótesis de cadera comerciales, b) analizar las condiciones necesarias para la electrodeposición de quitosano sobre la superficie rugosa y c) determinar propiedades físicas y químicas para la adherencia de los recubrimientos con diferentes concentraciones de quitosano.

En el mundo se han desarrollado nuevas tecnologías para obtener materiales biocompatibles, que actualmente benefician a personas, necesitadas de prótesis, mejorando su nivel y calidad de vida (Gilabert-Chirivella et al., 2017). Los biomateriales son un tema en auge, como su nombre lo dice, propiamente se trata sobre la interacción de materiales diseñados y desarrollados en un laboratorio para que estos sean compatibles con el cuerpo humano. Gracias a las investigaciones realizadas en este tema, se ha podido ayudar a alargar el ciclo de vida de las personas (Ratner, 1996).

Los biopolímeros son recubrimientos utilizados como una alternativa a los recubrimientos bio-cerámicos, debido a que estos últimos presentan propiedades mecánicas poco deseadas en su superficie, como una alta fragilidad (Geng et al., 2016). Por ejemplo, comúnmente la hidroxiapatita es utilizada como recubrimiento de prótesis metálicas para

mejorar la osteointegración; sin embargo, este tipo de recubrimiento se caracteriza por su fragilidad, la cual se da ante condiciones de esfuerzo debido a la susceptibilidad a fracturas bajo esfuerzos de tracción ocasionando fallas superficiales (Teh & Lai, 2019). Es por esto que es importante presentar una caracterización de los recubrimientos, que pueda ser llevada a cabo mediante pruebas de rayado, concentración de la solución de quitosano, uniformidad del espesor y análisis de la morfología mediante el microscopio electrónico de barrido SEM, entre otros.

En la industria biomédica se han realizado diferentes análisis de compatibilidad del titanio dentro del cuerpo humano, sin embargo, esta investigación no se ha basado solo en estos análisis, sino en estudiar diferentes tecnologías de aplicación en prótesis compatibles con el cuerpo humano. También se ha dado un giro en cuanto a innovación en recubrimientos con biopolímeros aplicados sobre la superficie rugosa de las prótesis, donde este tipo de recubrimiento evita el desarrollo de infecciones y ayuda a una rápida recuperación de la persona (Suzuki, Aoki, & Ohya, 1997). En la década de los ochenta, se publicaron numerosos informes sobre como la implementación de la rugosidad en la superficie de una prótesis se ve influenciada con la tasa de osteointegración, en las cuales se demuestra cuán importante es el factor de la rugosidad dentro de este proceso.

Investigaciones previas realizadas, identificaron que la estructura de la superficie de los implantes de hueso influencia la tasa de osteointegración, informes respaldan que dicha tasa se incrementa al tener una rugosidad en la superficie, debido a que su estructura confiere la formación más rápida de tejido y de huesos más fuertes, lo cual ayuda a la recuperación del proceso de curación del paciente (Wennerberg A. y Albrektsson T., 2009). La superficie del titanio Ti6Al4V recubierta será la primera interacción que tendrá el cuerpo humano con el implante, el mismo que es diseñado para colocación en cadera. Asimismo, se especifica

que el exceso de rugosidad puede aumentar el riesgo de perimplantitis (D Zujur & Álvarez-Barreto, 2016). Actualmente no se sabe con exactitud las medidas de rugosidad que deben tener las placas metálicas, en trabajos previos, se ha estimado un valor de $4\mu m$ como medida óptima para lograr una buena adhesión entre el implante recubierto con el hidrogel y el hueso, sin causar que este se afloje una vez implantado. (Rønold, Lyngstadaas, & Ellingsen, 2003).

La superficie seleccionada sobre la cual se aplicará el bio-recubrimiento es una aleación de titanio Ti6Al4V, cuyas propiedades de interés son: resistencia a la corrosión y biocompatibilidad. Estas características mencionadas son importantes, ya que deben ser cumplidas por los materiales al momento de ser implantados en el cuerpo humano (Denise Zujur, 2013). El titanio Ti6Al4V es biocompatible debido a la presencia de una capa de óxido TiO₂ estable que se forma en su superficie. Aproximadamente a temperatura ambiente la capa tiene un espesor de 5 nm; sin embargo, cuando este metal se coloca in vivo la capa superficial de óxido cambia sus propiedades dado que entra en contacto con los fluidos corporales, estos interactúan y se unen al óxido de la superficie del metal (Chiesa, Sandrini, Santin, Rondelli, & Cigada, 2018). Esta secuencia de sucesos provoca que el titanio tenga una baja bioactividad, para hacer que esta bioactividad se incremente, se ha recurrido al desarrollo de diferentes tratamientos superficiales como son: el ASD (Anodic Spark Deposition), recubrimientos biológicos, cambio en la rugosidad, entre otros. Dichos tratamientos son aplicados para mejorar la capacidad de osteointegración del titanio con el hueso (Platform, Platform, & Platform, 2017).

El biopolímero que se propone utilizar como recubrimiento es el quitosano, este biopolímero es utilizado en la industria de regeneración de tejido, se lo obtiene mediante la desacetilación de la quitina, elemento que se encuentra en el exoesqueleto de los crustáceos (Altinel, Öztürk, Akyıldız, Ulcay, & Özgüç, 2012).

El quitosano es un polisacárido, el cual se deriva de la quitina, puede ser encontrado ampliamente en fuentes tales como: crustáceos, hongos, insectos y algunas algas. Este polisacárido contiene grupos aminos e hidroxilos y dos subunidades D-glucosamina y N-acetyl-D-glucosamina, las cuales están unidos por enlaces glucosídicos (Rui L, y otros, 2008). Es biodegradable y ha desarrollado en la industria un nivel de alta demanda comercial, debido a los factores mencionados y sumado la bio-compatibilidad, baja toxicidad y actividad antibacterial. Asimismo, es ampliamente utilizado en el campo biomédico para realizar recubrimientos a implantes, ingeniería de tejido, liberación de fármacos y uso en el tratamiento de cáncer (Geng et al., 2016).

El quitosano tiene un grado de acetilación, el cual representa la proporción de unidades de N-acetil-D-glucosamina con respecto al número total de unidades (Chatelet, Damour, & Domard, 2001). Este nos permite definir los dos términos quitina y quitosano, asimismo el valor de acetilación determina el límite de solubilidad del polímero en soluciones ácidas diluidas y tiene un pH que oscila entre 2 y 6. La acetilación influye en el peso molecular, en la factibilidad al alargamiento del hidrogel y en la recuperación de cicatrización de heridas, beneficiándola (Chatelet et al., 2001). Está comprobado que la desacetilación del quitosano no tiene una influencia significativa en la cito-compatibilidad in vitro de los hidrogeles de quitosano hacia los fibroblastos y queratinocitos; por lo que se confirma la bio-compatibilidad de los materiales que se desarrollan a partir del quitosano sea cual sea el porcentaje de desacetilación. Sin embargo, la desacetilación juega un papel importante en la proliferación celular, mientras mayor es el porcentaje de este, menor es la adhesión celular (Chatelet et al., 2001).

En un estudio realizado en el 2012 por Bumgardner, Wisner, et al, recubrimientos fabricados con un 91,2% de quitosano desacetilado se unieron químicamente a placas de titanio a través de moléculas de silano-glutaraldehído.

La resistencia de la unión de los recubrimientos fue evaluada mediante ensayos mecánicos de tracción, los resultados mostraron que los recubrimientos de quitosano se unieron químicamente al sustrato de titanio y las fuerzas de unión fueron de 1.5-1.8 MPa (Bumgardner et al., 2003).

Para el desarrollo de esta investigación, se utilizaron diferentes composiciones de quitosano en la electrodeposición para determinar cuál será la composición óptima a ser utilizada como recubrimiento de las placas metálicas de titanio Ti6Al4V.

El método utilizado para recubrir la superficie de los discos de titanio con quitosano fue la electrodeposición, este método está siendo explorado en los campos biomédicos, ingenieriles y biotecnológicos para el desarrollo de polímeros biodegradables. La técnica de electrodeposición, se usa en los campos mencionados para el desarrollo y fabricación de recubrimientos delgados (Z. Wang et al., 2014).

La electrodeposición es un método innovador, que sirve para activar la unión del biopolímero con el sustrato de titanio, el mencionado biopolímero responde a estímulos por señales eléctricas. Esta técnica se basa en el movimiento de partículas suspendidas en una solución, induciendo una diferencia de potencial para finalmente depositar dichas partículas sobre un sustrato y formar la capa del recubrimiento (Boccaccini et al., 2010). Por otro lado, cabe mencionar que el quitosano fue el primer polímero en ser electrodepositado, es por esto que se siguen experimentando en la electrodeposición del mismo. Este proceso presenta ventajas favorables, una de ellas es la fácil operación de la técnica de electrodeposición, dado

que en la programación o cálculos necesarios, se necesita determinar la corriente para adherir la solución de quitosano a la superficie metálica (Geng et al., 2016).

El quitosano tiene capacidad de formar recubrimientos y es quelante de iones metálicos (Hossain & Iqbal, 2014). Los quelantes son sustancias que eliminan iones metálicos al ser combinados químicamente (Burgos Arreaga, 2013).

El quitosano al ser de naturaleza catiónica, hace que su electrodeposición sufra un mecanismo de neutralización catódica. Las reacciones catódicas producen un gradiente de pH, y estas se llevan a cabo en la superficie del cátodo. Por ende, las moléculas que se encuentran en la superficie del cátodo cambian a un nivel alto de pH y se depositan como un recubrimiento de hidrogel estable en el cátodo (Geng et al., 2016).

Es importante señalar que las reacciones electroquímicas producidas sobre el cátodo generan burbujas de H₂ durante el proceso de electrodeposición. El efecto de estas burbujas es que afectan significativamente, suavizando la superficie y por ende, produciendo defectos en la capa del hidrogel depositado, lo cual no permite que este recubrimiento cumpla con su función. Asimismo, el hidrogel catódico que se genera es estable bajo condiciones neutras y básicas; sin embargo, al encontrarse en condiciones ácidas este se disuelve por sus características de inestabilidad en ese medio (Geng et al., 2016).

Para evaluar si el recubrimiento de la superficie de las placas de titanio Ti6Al4V se adhirió, se analizaron las microestructuras de los hidrogeles con el microscopio electrónico de barrido (SEM) y con un análisis de prueba de rayado. Previo a realizar la prueba de rayado, primero se liofilizó el recubrimiento, con el fin de tener estructuras porosas y con una mejor visibilidad en el SEM.

El ensayo de rayado es un método utilizado para caracterizar la adhesión de los recubrimientos con la superficie del metal. Dicho ensayo consiste en aplicar carga sobre el

sustrato, de forma incremental o continua (Sekler, Steinmann, & Hintermann, 1988). Con este ensayo se conocieron las características adhesivas del recubrimiento con las diferentes concentraciones de quitosano y nos permitió determinar la concentración óptima del mismo.

La liofilización se caracteriza por eliminar agua de un sistema, este proceso se utiliza con el fin de secar un producto y que la estructura del mismo se vea más porosa. Para llevar a cabo este proceso, la muestra con la que se va a trabajar debe estar previamente congelada para retener unidas las partículas existentes de agua y posterior el agua se sublima de la misma (Gaidhani, Harwalkar, Bhambere, & Nirgude, 2015). Se realizan dos secados dentro de este proceso, los cuales son: sublimación (secado primario) y desorción (secado secundario)(Gaidhani et al., 2015).

Este proceso de liofilización, se realiza a bajas temperaturas por largas horas. El tiempo de duración depende de la capacidad que tenga el equipo para conseguir temperaturas bajas y del volumen del producto. Asimismo, esta técnica es aplicable a la fabricación de algunos productos farmacéuticos y biológicos que son inestables en soluciones acuosas durante períodos prolongados de almacenamiento, pero que son estables en estado seco (Gaidhani et al., 2015).

2. METODOLOGÍA

El proceso que se utiliza para el desarrollo de este proyecto de investigación está resumido en un diagrama de bloques (fig. 1). El proceso inicia con el corte de sustratos, preparación de superficie, preparación de biopolímero de quitosano, el proceso de electrodeposición, liofilización, pruebas de adherencia y análisis morfológico de los recubrimientos.

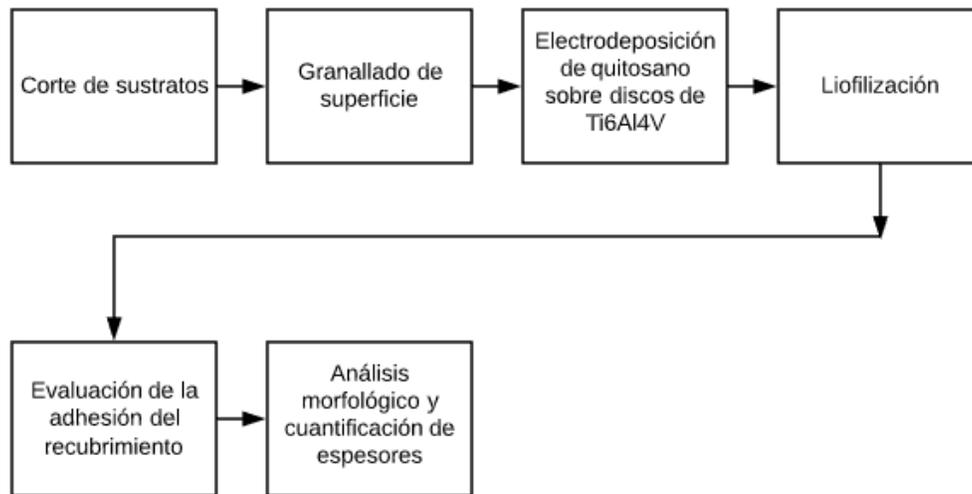


Figura 1. Diagrama de procesos para recubrir los sustratos de titanio

2.1. Corte sustratos de Ti6Al4V

Se utilizó una sierra de precisión BUEHLER IsoMet 1000 para cortar sustratos de Ti6Al4V de una barra circular de diámetro 12,7 [mm], cada uno con un espesor de 2 [mm]. El disco utilizado para cortar fue BUHLER IsoMet Diamond Wafering Blades 4'' Dia. X 0.012'' 15 HC.

A continuación, en la Figura 2., se encuentra el modelo del sustrato diseñado en Autodesk Inventor Profesional 2019 junto con las medidas correspondientes.

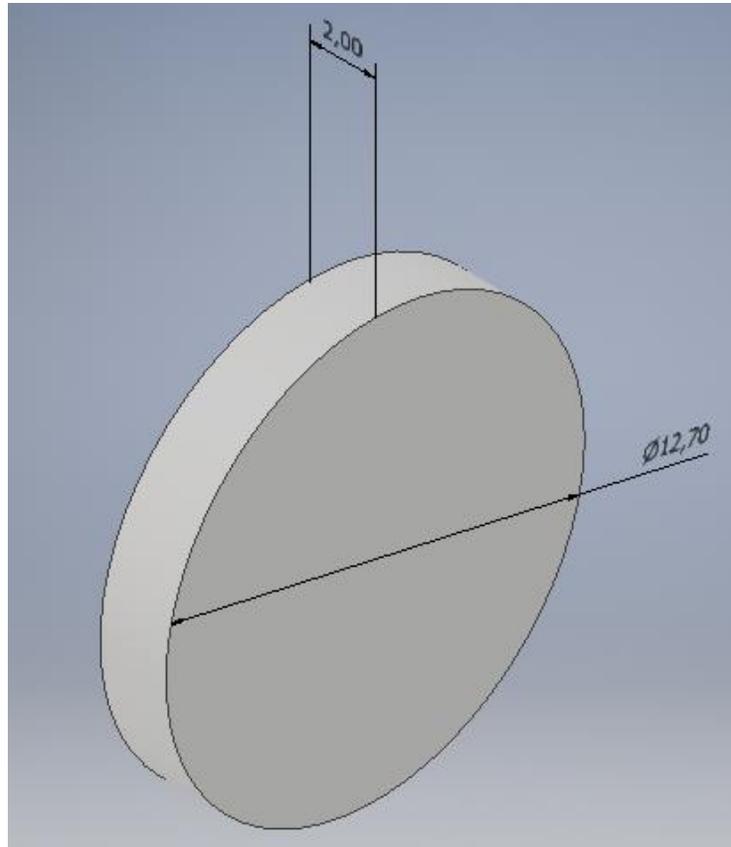


Figura 2. Modelado del sustrato en Autodesk Inventor.

2.2. Preparación de la superficie

2.2.1. Superficie lisa

Una vez obtenidos dichos sustratos, se utilizaron lijas desde 60 *Grit* hasta 1200 *Grit* y solución de diamante desde 9 μm hasta 1 μm , para pulir la cara superior de cada una, asegurando uniformidad, eliminando residuos y ralladuras producidas por el corte.

El recubrimiento se realizó para dos tipos de superficies, granallada y lisa. Para las muestras que se granallaron no se llevó el pulido al acabado tipo espejo, debido a que la superficie de Ti6Al4V debe tener una rugosidad determinada para asegurar la unión del recubrimiento con el sustrato y un buen comportamiento con el tejido. (D Zujur & Álvarez-Barreto, 2016). Para las muestras cuya superficie se modificó por granallado, se pulieron con lijas desde 60 *Grit* hasta 320 *Grit*.

2.2.2. Tratamiento superficial de granallado

El proceso de granallado se realizó en la Escuela Politécnica del Ejército (ESPE) utilizando el equipo BNP Double 220 Pressure Blast Cabinet, se utilizó óxido de aluminio y se aplicaron las siguientes condiciones:

Tabla 1. Parámetros del proceso de granallado

Distancia pistola de la superficie (cm)	10
Tiempo (s)	10
Presión (Mpa)	0.5
Tamaño partícula (um)	210 - 300

2.2.3. Determinación rugosidad de la superficie

Para determinar la rugosidad media de la superficie granallada, se hizo un promedio de 7 mediciones por muestra, tomadas con el equipo Mitutoyo 5J-201P; este procedimiento se realizó para superficies de discos granallados y lisos, como se muestra en la Figura 3.

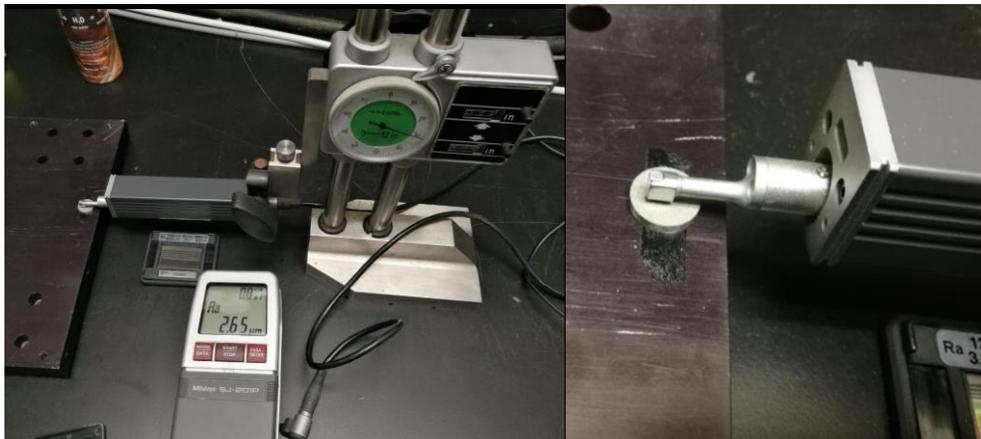


Figura 3. Equipo y procedimiento utilizado para medir la rugosidad de las superficies de los discos de titanio Ti6Al4V

2.2.4. Limpieza superficial de discos de Ti6Al4V

Para realizar la electrodeposición, fue necesario preparar la placa de titanio y limpiarla previamente, utilizando un baño de ultrasonido utilizando la máquina BRANSON 1800.

Para realizar la limpieza superficial de las muestras se debe identificar si la superficie de los discos es rugosa o lisa. De ser el caso que estas sean rugosas, la literatura se sugiere que el baño ultrasónico que los discos deben recibir es de 30 minutos, sumergidos en una solución de etanol con una concentración de 99,5%; mientras que, si la superficie es lisa, se debe realizar un baño ultrasónico de 10 minutos. Posterior a esto, se los rocía con agua destilada para quitar el etanol excedente del disco y se los deja secar a temperatura ambiente. (Denise Zujur, 2013)

2.3.Preparación de quitosano

Se prepararon 100 mL de tres soluciones de quitosano (marca SIGMA-ALDRICH chitosan-medium molecular weight, con desacetilación de 75%-85%) de concentraciones diferentes. El quitosano se disolvió en ácido acético al 0,25% (v/v), a 0,1% [w/v], 0,5% [w/v] y 1% [w/v]. Posterior se procedieron a filtrar las soluciones utilizando una bomba de vacío, un kitasato, un embudo büchner y un papel filtro, de manera que las partículas no disueltas se retengan en el embudo y se obtenga la solución. A continuación, en la Figura se muestra un esquema del proceso de filtrado.

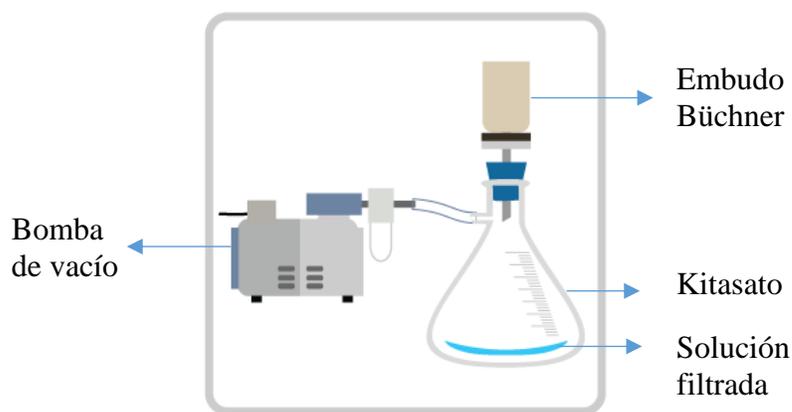


Figura 4. Esquema proceso filtrado al vacío.

2.4. Proceso de recubrimiento

Para observar si existe diferencia entre un recubrimiento en una superficie electrodepositada y otra por adsorción, se realizaron dos pruebas sobre las superficies de discos de titanio Ti6Al4V, una era lisa con acabado tipo espejo y otra granallada. A continuación, en las siguientes secciones se describirá el proceso que se llevó a cabo para cada una de ellas.

2.4.1. Adsorción sobre la superficie

Se cubrió la superficie de los discos con 30 μL de quitosano al 1% por 20 minutos a temperatura ambiente, una vez culminado el tiempo de adsorción se lavó con agua destilada y se la colocó en el ambiente de la congeladora, se liofilizaron los discos y se observó posteriormente en el microscopio electrónico de barrido. En la Figura 5 se muestra una imagen del proceso.

2.4.2. Electrodeposición coordinada de quitosano

Se utilizó la solución de quitosano al 1.0% p/v preparada de acuerdo a los parámetros especificados en la sección 2.2.

Para llevar a cabo el proceso de electrodeposición, se utilizó un disco de cobre el cual sirvió como electrodo anódico, y un disco de titanio que sirvió como electrodo catódico, respectivamente. Antes de su uso, el electrodo de cobre fue pulido cuidadosamente, y, junto con el electrodo de titanio, posteriormente, se lavaron por ultrasonido en etanol a una concentración de 99.5% y agua destilada durante 10 minutos, respectivamente. A continuación, la electrodeposición se realizó utilizando una fuente de alimentación de DC Power Supply Agileny E3634A.

Ambos, el cátodo y el ánodo, se sumergieron totalmente en la solución de deposición (quitosano al 1,0% p/v, Ph 5.5), y luego se aplicó un voltaje de corriente DC deseable, el

cual fue de 3 [V]. La celda de electrodeposición y el proceso de deposición de quitosano en la superficie de titanio se ilustra en la Figura 5.

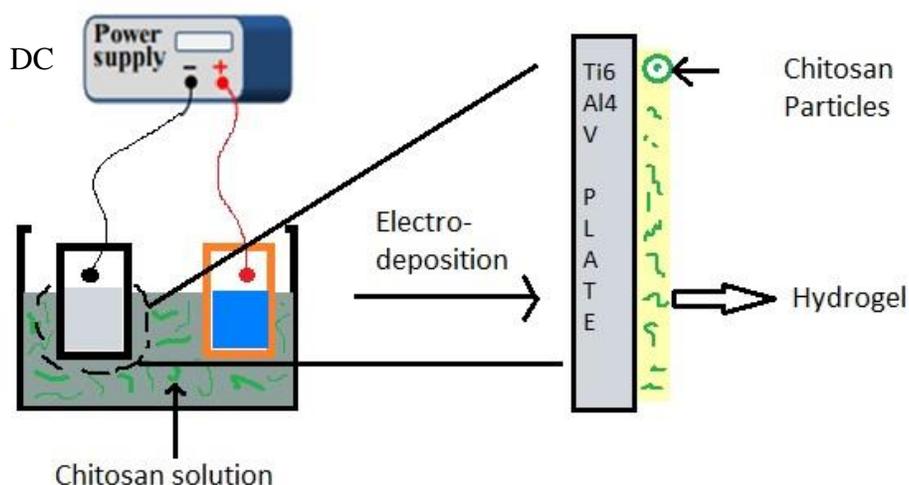


Figura 5. Esquema de electrodeposición

Los parámetros iniciales que se tomaron para realizar la electrodeposición se basaron en investigaciones previas (Geng et al., 2016), manejando tiempos pequeños tanto de corriente como de tiempo, debido a que se quería observar si existía electrodeposición del quitosano en la superficie. A continuación, se los muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros iniciales electrodeposición

Concentración [%]	Tiempo electrodeposición [min]	Voltaje [V]
0.1	2.5	1.5
0.5	2.5	1.5
1	2.5	1.5

Posteriormente, tras observar en el microscopio electrónico de barrido (SEM), el recubrimiento del hidrogel y obtener poca deposición de quitosano en la superficie de los

discos, se optimizaron los parámetros eléctricos con el fin de obtener una mayor deposición del recubrimiento en la superficie del titanio.

Se incrementó el tiempo de deposición al igual que el voltaje, de manera que al variar el tiempo se observaría mediante el SEM si el recubrimiento varía. Para dicho proceso se aplicaron 2 tiempos: 20 y 30 minutos. Los parámetros de tiempo y corriente fueron basados en investigaciones realizadas previamente (J. Wang, Van Apeldoorn, & De Groot, 2006), en donde se analizaron que tan beneficiosos pueden ser para adaptar a esta investigación y estos se modificaron, dando como resultados los parámetros de la Tabla 3.

Los cuales están parametrizados en la siguiente tabla.

Tabla 3. Parámetros de trabajo actuales de electrodeposición.

Concentración [%]	Tiempo electrodeposición [min]	Voltaje [V]
0,1	20 y 30	3
0,5	20 y 30	3
1	20 y 30	3

Se electrodepositó solución de quitosano con las 3 concentraciones planteadas en la Tabla 3. en dos discos de titanio, cada uno por separado para observar en el SEM si el recubrimiento seguía el mismo patrón con respecto a la primera electrodeposición realizada con los mismos parámetros, es decir, se realizó una réplica de la muestra. Una vez alcanzados los tiempos de deposición, el ánodo se desconectó de la fuente de alimentación y se retiró de la solución de deposición; luego se lavó con agua destilada. Finalmente, se obtuvo un hidrogel depositado de quitosano en el disco de titanio y alrededor del disco de cobre un hidrogel denominado quitosano / hidrogel de Cu^{2+} , producto de la oxidación del cobre.

2.5.Liofilización del recubrimiento sobre los discos.

Se utilizó la liofilizador BIOBASE para realizar el secado del recubrimiento, manteniendo su estructura porosa. Una vez obtenidos los recubrimientos, las muestras fueron congeladas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se liofilizaron durante 12 horas.

2.6.Prueba de rayado

Se realizó una prueba de rayado sobre la superficie de los discos ya recubiertos, con la finalidad de saber si existe recubrimiento de quitosano uniforme sobre toda la superficie de las placas de Ti6Al4V y adhesión entre el mismo con la superficie de los discos. Dichas pruebas se realizaron en colaboración con el laboratorio de CINVESTAV en México. Se enviaron cuatro muestras recubiertas con 1% de quitosano con un voltaje impreso de 3 [V], tiempos diferentes de electrodeposición y una sin recubrir. Dos muestras fueron electrodepositadas con un tiempo de 20 minutos y dos muestras electrodepositadas con un tiempo de 30 minutos. En cada muestra utilizando el indentador con punta de diamante con un radio de $200\text{ }\mu\text{m}$ Rockwell AJ-227 se realizó una indentación con un tamaño de 3.5 [mm] y carga progresiva, la cual inició con 1 [N] y finalizó con 35 [N]. A continuación, en la Figura 6., se muestra un esquema sobre el proceso para realizar la prueba de rayado.

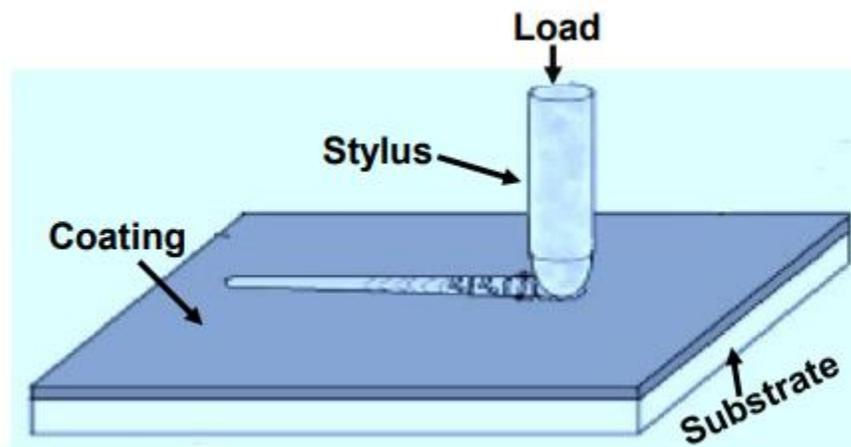


Figura 6. Esquema proceso prueba de rayado en sustratos metálicos.(Suresh Kuiry, 2012)

En cada muestra se realizaron tres indentaciones en lugares diferentes del disco, de manera que se puedan tener un mayor espectro de datos y se pueda analizar la homogeneidad del recubrimiento. A continuación, en la Figura 7., se muestra un esquema de las secciones sobre las que se realizaron las mediciones de prueba de rayado.

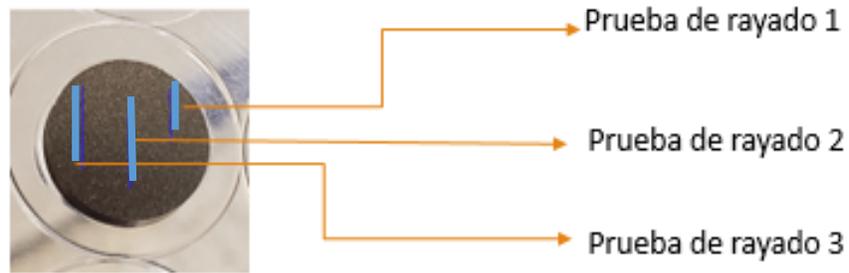


Figura 7. Esquema sobre la realización de la prueba de rayado sobre la superficie del disco de titanio Ti6Al4V

Los datos calculados que arroja la máquina son 1000 aproximadamente que corresponden a las siguientes variables:

- Distancia que recorre el indentador [mm]
- Fuerza normal [N]
- Fuerza tangencial [N]
- Emisiones acústicas [%]

Para este ensayo, es necesario saber el coeficiente de fricción que tiene el recubrimiento con respecto al sustrato de titanio Ti6Al4V, debido a que indica la adherencia del mismo y se puede determinar la uniformidad del recubrimiento sobre la superficie. Por lo tanto, se aplica la ecuación física para poder calcular dicho coeficiente que presenta a continuación.

$$F_{rozamiento} = \mu * F_{normal}$$

Dónde, despejando el coeficiente de rozamiento se obtiene:

$$\mu = \frac{F_{rozamiento}}{F_{normal}}$$

Para realizar la evaluación de la adhesión del recubrimiento, se desarrolló un modelo experimental por medio de una matriz. En la siguiente tabla se muestra como se clasifica cada micrografía.

Tabla 4. Diseño experimental para evaluar la adhesión del recubrimiento

Concentración [%]	Tiempo 0 [min]	Tiempo 20 [min]	Tiempo 30 [min]
0	x		
0.1			x
0.5		x	x
1		x	x

Se marcan con una “x”, los recubrimientos que se seleccionaron para realizar la prueba de rayado. Estos se seleccionaron para observar cual recubrimiento electrodepositado es el que presenta mejor adhesión sobre el sustrato de titanio Ti6Al4V

2.7. Evaluación espesores del hidrogel

Para tratar de determinar el espesor del hidrogel electrodepositado sobre la muestra de titanio Ti6Al4V, se utilizaron resina y endurecedor para verter sobre el recubrimiento, de manera que este quede protegido por la capa de resina y posterior se pueda realizar un corte transversal para observar en el microscopio electrónico de barrido SEM el espesor del recubrimiento. Para este proceso se tomaron dos muestras recubiertas, cuyo hidrogel fue elaborado al 1% de quitosano y con diferentes tiempos de electrodeposición de 20 y 30 minutos respectivamente.

La dosificación utilizada para realizar la mezcla de resina y endurecedor y aplicar sobre el recubrimiento de las muestras fue la siguiente: por dos partes de resina se debe utilizar una de endurecedor. Se deben mezclar bien los dos fluidos y una vez lista se vertió la mezcla de resina sobre los dos discos de titanio recubiertos con los hidrogeles. Finalmente, se dejaron curar las muestras por 9 horas, a temperatura ambiente y sobre un recipiente.

2.7.1. Determinación de la medida del espesor del recubrimiento

Con la ayuda de la sierra de precisión, se cortaron en tres segmentos diferentes las muestras de titanio resinadas, de manera que se pueda observar el espesor del recubrimiento de quitosano en diferentes segmentos del disco, los lados de corte escogidos para evaluar el espesor del mismo fueron aleatorios.

Para poder realizar el corte transversal de las muestras, se retiró el refrigerante de la máquina para que este no contamine el recubrimiento y se manejaron revoluciones bajas de corte, es decir de 120 rpm, estas son las revoluciones más bajas que permite la máquina.

Asimismo, se utilizó el durómetro Rockwell para indentar el recubrimiento y poder tener un valor estimado del mismo. Se utilizó como indentador una bola de 1/16" sobre la superficie del sustrato de titanio Ti6Al4V con un recubrimiento de 1% de quitosano con un tiempo de 30 minutos. Se aplicó una carga mínima de 10kgf y una carga máxima de 100kgf.

2.8. Análisis Estadísticos

Utilizando el programa estadístico de computadora Minitab 17 Statistical Software, se realizaron análisis estadísticos de prueba de normalidad Anderson-Darling a los coeficientes de rozamientos calculados, los cuales fueron calculados posterior al análisis de los resultados obtenidos de la prueba de rayado. Se realizó esta prueba con el fin de saber que tan dispersos son mis datos con respecto a la línea de distribución establecida por el programa en caso de

que los datos sean normales. Asimismo, se obtuvo la desviación estándar y el promedio de los coeficientes de rozamiento correspondientes para cada análisis, de esta manera se pudieron establecer los valores indicativos para saber el coeficiente de rozamiento promedio para los recubrimientos de las diferentes muestras.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Análisis morfológico con Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Estudios previos han demostrado la importancia de tener una superficie rugosa en las prótesis de cadera, debido a que se genera una mejor fijación entre la interfaz del hueso y el implante, teniendo como resultado una mejor tasa de osteointegración (Gadow, Killinger, & Stiegler, 2010). No existen parámetros específicos para realizar el proceso de granallado; sin embargo, para tratar superficialmente a los discos de titanio, se tomó como referencia la investigación de Zujur (Denise Zujur, 2013), de la cual se tomaron los parámetros necesarios para poder granallar, los cuales se mencionaron en la sección 2.2. La rugosidad promedio obtenida fue de $(3,13 \pm 0.4)\mu m$, comparable a las prótesis de cadera comerciales en el campo médico que es de $(4,1 \pm 0.9)\mu m$ (Denise Zujur, 2013). En la Figura 8. se puede apreciar las diferencias entre la superficie lisa y la rugosa, resultante del granallado. Se observa principalmente mayor rugosidad en el sustrato y una deformación plástica uniforme a lo largo de la misma (Fig. 8b).

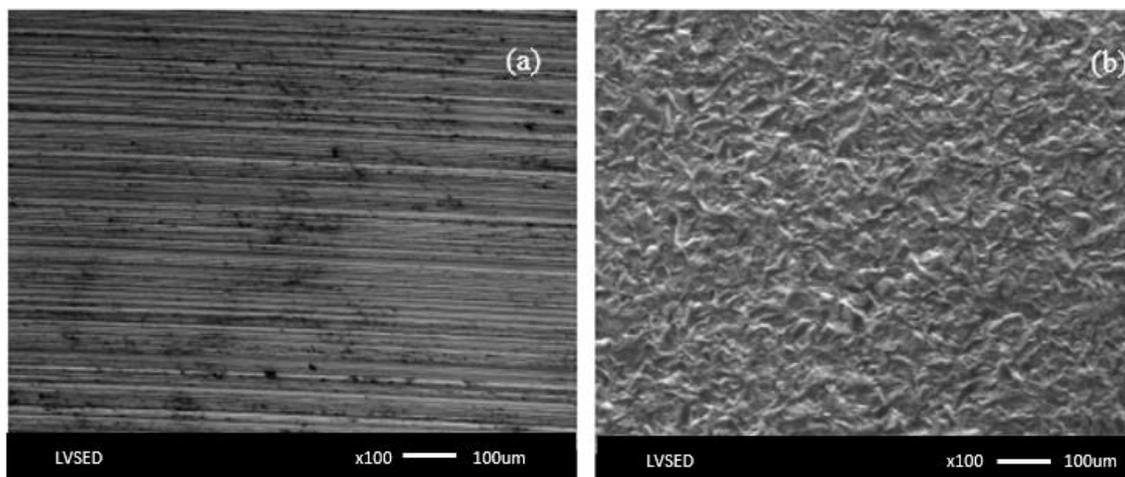


Figura 8. Comparación morfológica, por SEM, de la superficie lisa (a) y la granallada (b). Barra de calibración: 100 μm

3.2. Deposición de quitosano sobre superficies lisas y rugosas.

3.2.1. Deposición de quitosano por adsorción

Por ser la técnica de deposición más utilizada en la literatura, se realizó este ensayo por adsorción a fin de establecer diferencias con respecto al método por electrodeposición (sección 3.3.2). Las superficies recubiertas y sin recubrir se pueden observar en la figura 9.

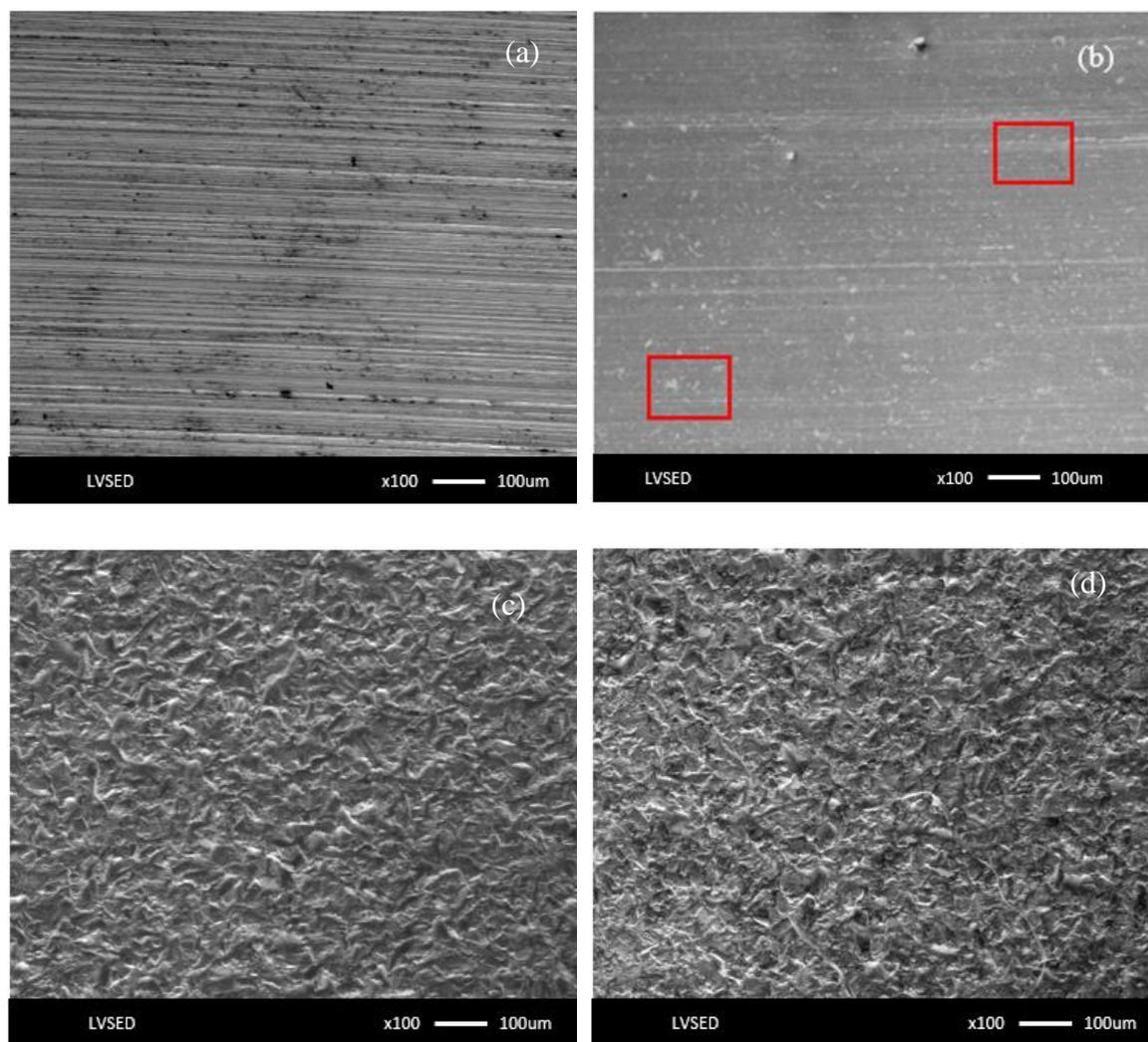


Figura 9. Comparación morfológica, por SEM, de la superficie lisa (a y b) y la granallada (c y d). Barra de calibración: 100 μm

En la superficie lisa con la aplicación de quitosano, se puede apreciar una ligera capa con minúsculas partículas que podrían ser del polímero (recuadros rojos, Fig. 9b). En el caso de superficies rugosas, por otro lado, no se observa diferencias, posiblemente debido a la topografía que el granallado otorga a la superficie del sustrato y por la cantidad de deformaciones plásticas que este tiene. Investigaciones previas, realizaron el mecanismo de adsorción de la solución de quitosano sobre el sustrato de titanio Ti6Al4V, se utilizaron soluciones al 0,5% y 1% (p/v) , de manera que se observa una capa blanca en la superficie; sin embargo, esa capa se produce debido a que el quitosano utilizado es modificado (LA-QT-AZ) y esto le otorga una mejor estabilidad y viscosidad a la solución (Denise Zujur, 2013).

3.2.2. Electrodeposición de quitosano sobre la superficie de titanio Ti6Al4V

Se realizaron diferentes ensayos de electrodeposición del quitosano. Primero se deseó observar si la técnica de obtención del recubrimiento de quitosano funciona, por lo que trabajaron con dos parámetros de electrodeposición: iniciales y finales. Posteriormente, tras utilizar dichos parámetros iniciales, se observó la escasa deposición de partículas de quitosano en la superficie de los sustratos de Ti6Al4V, por lo que se modificaron las condiciones de electrodeposición en función a los recubrimientos obtenidos en su superficie. Estos ensayos se realizaron en superficies lisas y rugosas para poder observar en qué superficie existe mayor capacidad de recubrimiento.

3.2.3. Condiciones iniciales de electrodeposición

Inicialmente, se tomaron de la literatura parámetros para electrodepositar con corrientes y tiempos pequeños (Geng et al., 2016). En la sección 2.4.2., se describe el proceso que se realizó y en la Tabla 2 se muestran las condiciones iniciales de electrodeposición. Para este primer ensayo, se mantuvo constantes el tiempo y el voltaje,

en valores de 2,5 min y a 1,5 V, y se trabajó con soluciones poliméricas al 0.1%, 0.5% y 1% p/v. En la Figura 10, se muestran las micrografías electrónicas de las superficies recubiertas con estas condiciones preliminares.

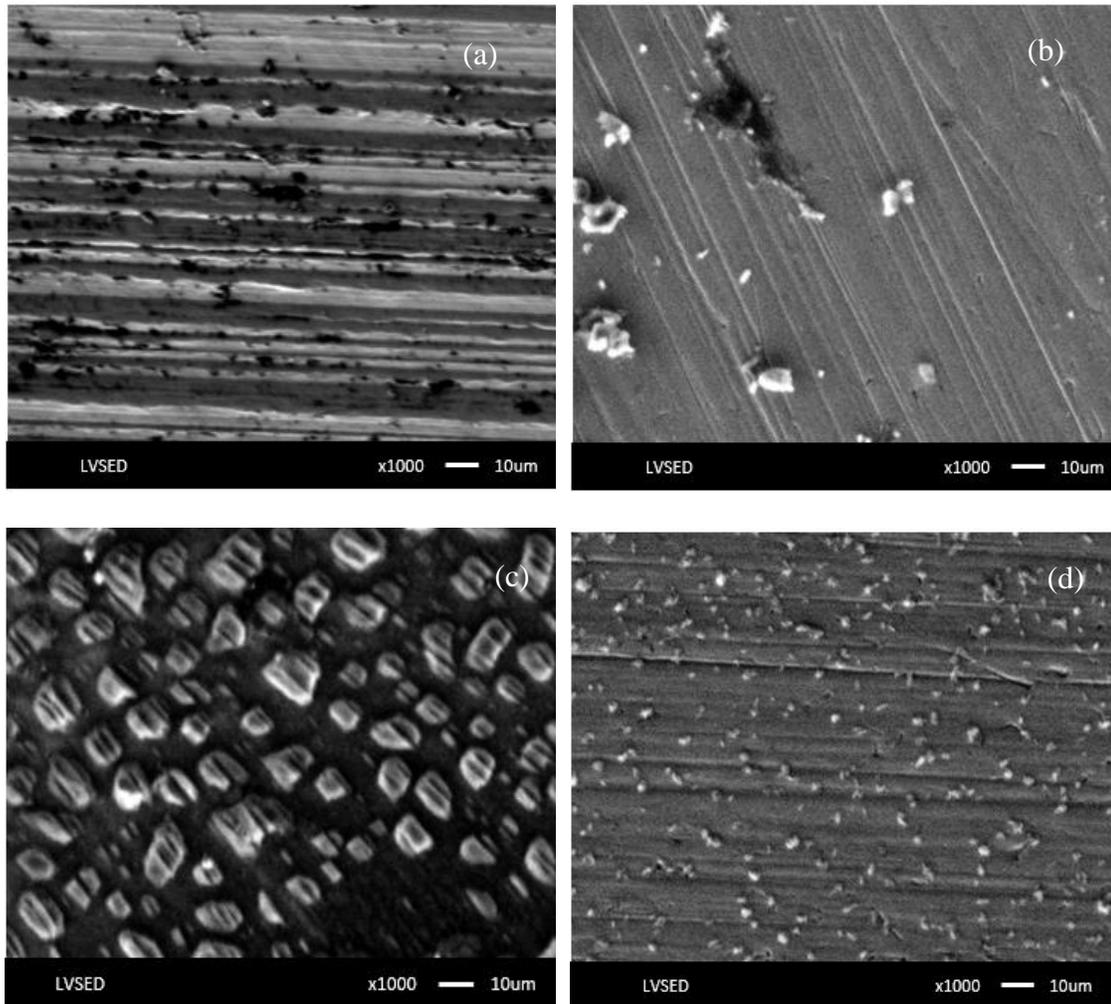


Figura 10. Análisis morfológico, por SEM, de la superficie lisa electrodepositada con quitosano con una magnificación de 1000x con concentraciones de quitosano (%p/v) de: a) 0, b) 0,1, c) 0,5 y d) 1. Barra de calibración: 10 μ m

Para todas las concentraciones de quitosano (Fig. 10 b, c y d), se pueden observar aglomeraciones de quitosano sobre la superficie, producto de la electrodeposición. Mientras mayor fue la concentración de quitosano utilizada para recubrir los sustratos, mayor número de partículas de quitosano se depositan sobre su superficie. Sin embargo, todavía no se podría clasificar este resultado aún como recubrimiento, debido a que tiene

un alto grado de discontinuidad sobre la superficie. Se puede observar la diferencia de tamaño de grano entre la figura c y d, esto se podría deber a la poca cantidad de quitosano utilizado para preparar la solución y la disolución de las hojuelas de este polímero en ácido acético.

Se utilizaron los mismos parámetros de electrodeposición para las superficies rugosas; en la Figura 11., se muestran las superficies recubiertas con las diferentes concentraciones poliméricas.

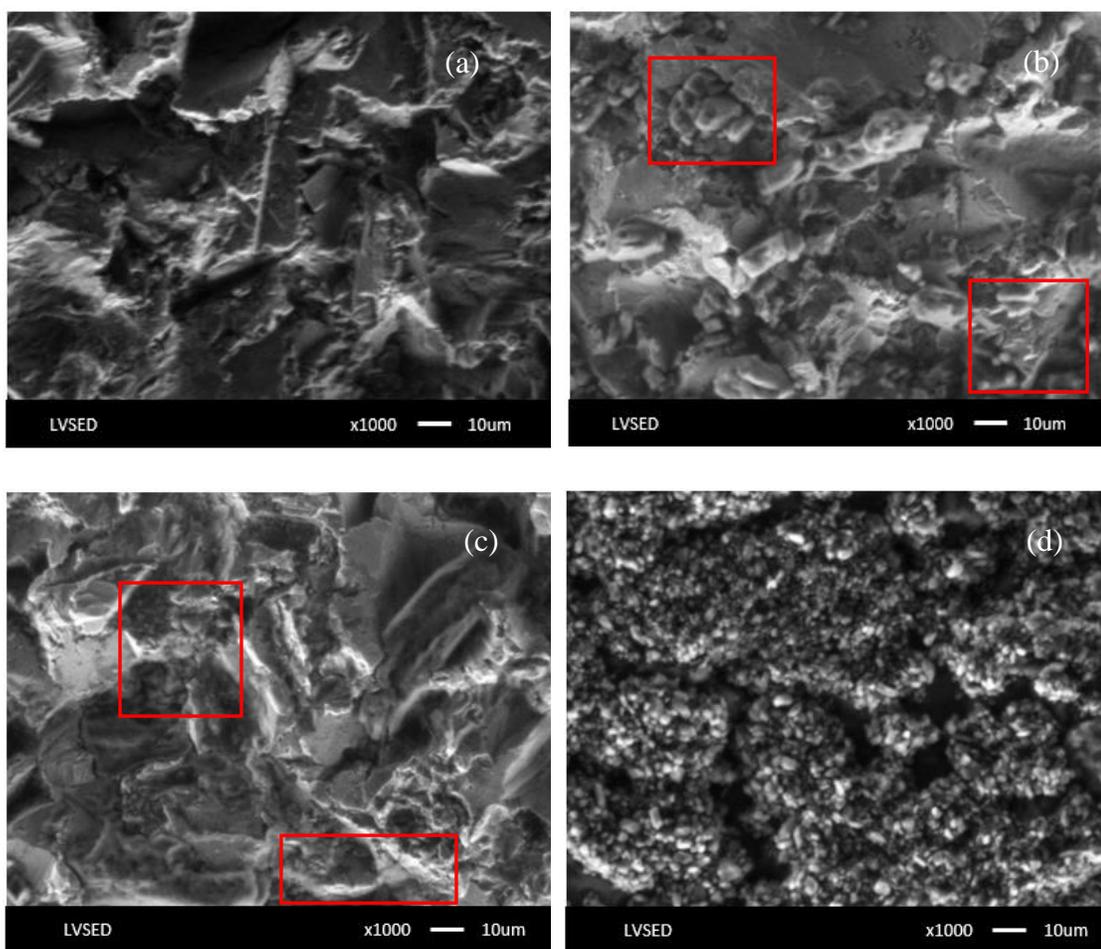


Figura 11. Análisis morfológico, por SEM, de la superficie lisa electrodepositada con quitosano con una magnificación de 1000x con concentraciones de quitosano (%p/v) de: a) 0, b) 0,1, c) 0,5 y d) 1. Barra de calibración: 10 μ m

Para una concentración de quitosano de 0.1% (Fig. 11b), se puede observar partículas de quitosano adheridas a lo largo de la superficie (recuadro rojo). Esto puede deberse a las bajas concentraciones de quitosano en la solución, asimismo al tener un tiempo corto, no se puede obtener un recubrimiento continuo. A 0.5% quitosano (Fig. 11c), se mantiene el comportamiento descrito, y sigue siendo una concentración muy baja para un recubrimiento completo de la superficie. Al incrementar la concentración al 1% (Fig. 11d), se presenta una estructura porosa, con grietas aparentes, persistiendo el problema de la discontinuidad del recubrimiento. Esto podría provocar, posteriormente, una delaminación del recubrimiento otorgándole una menor fijación entre la interfaz del hueso-implante (Gómez-Robledo, 2016). Sin embargo, esta última concentración podría ser considerada para tiempos mayores de deposición, y diferentes voltajes.

Una vez analizadas las condiciones de electrodeposición de quitosano sobre las superficies, se decidió que la superficie adecuada para trabajar es la rugosa debido a que presenta mayor deposición de partículas de recubrimiento. Al mismo tiempo, se decidió cambiar los parámetros de electrodeposición de quitosano, tomando datos referenciales de literatura (Z. Wang et al., 2014), los cuales se mencionan en la Tabla 3., y serán descritos en la siguiente sección.

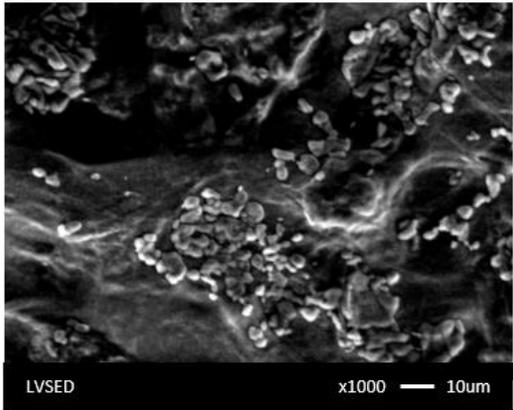
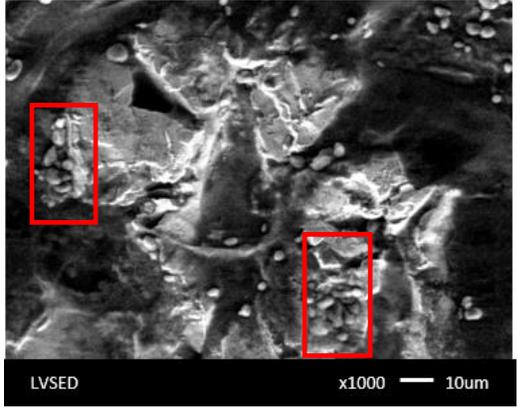
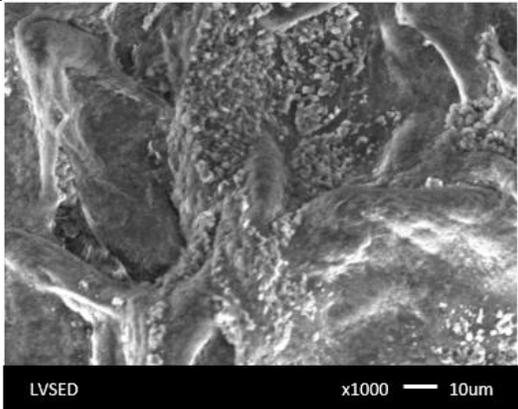
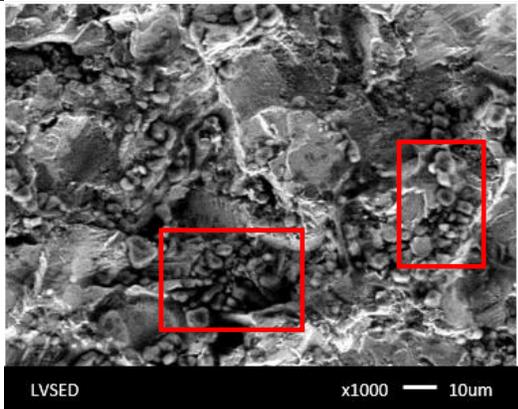
3.2.4. Mejora del proceso de electrodeposición

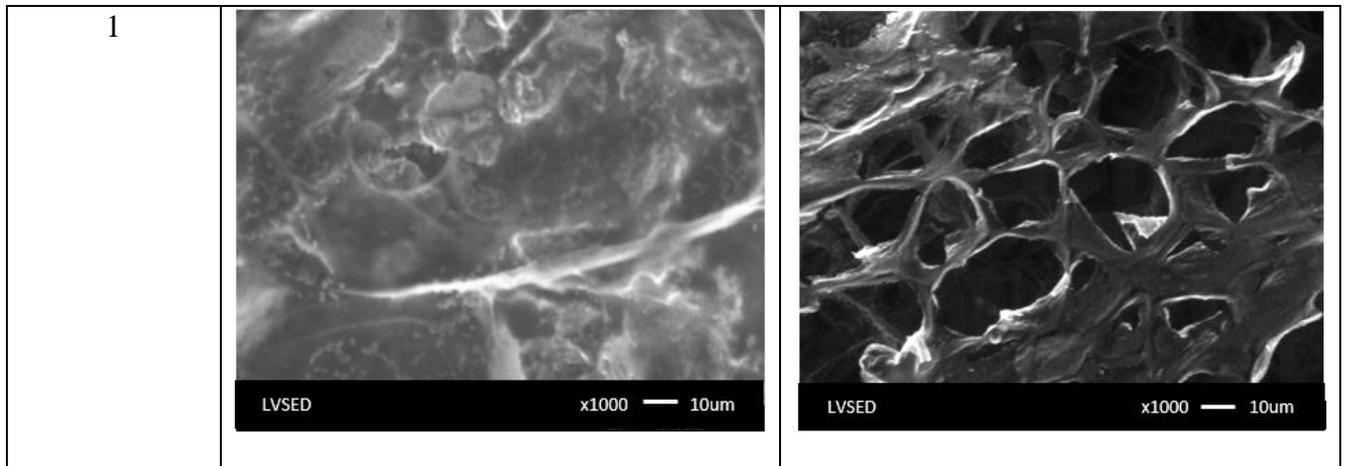
En la sección 2.4.2., se establecieron nuevos parámetros los cuales se describen en la Tabla 3. La modificación de estos se debe a que, posterior a comprobar la adherencia de las partículas de quitosano a la superficie y al ver que la deposición es escasa, se determinó la necesidad de incrementar el tiempo de electrodeposición y el voltaje del

mismo. Es por esto que se tomaron nuevos parámetros de investigaciones previas y se acoplaron a este trabajo (Z. Wang et al., 2014)

En la Tabla 5., se presentan las superficies recubiertas por electro deposición de quitosano, a las concentraciones previamente utilizadas, y a tiempos de 20 y 30 min.

Tabla 5. Análisis morfológico, por SEM, de la superficie lisa electrodepositada con quitosano con tiempo de 20 y 30 minutos con una magnificación de 1000x con concentraciones de quitosano (%p/v) de: a) 0, b) 0,1, c) 0,5 y d) 1. Barra de calibración: 10 μ m

Concentración de qt (% p/v)	Tiempo (min)	
	20	30
0.1		
0.5		



Los resultados obtenidos para el tiempo de 20 minutos, a 0.1% y 0,5% se pueden observar partículas de quitosano en la superficie; sin embargo, estas se encuentran depositadas en áreas localizadas y no son uniformes a lo largo de la superficie. A medida que se va incrementando el porcentaje de la solución se obtiene mayor aglomeración de partículas, el cambio es visible cuando se utilizó la solución al 1% de quitosano, se observa cómo se crea una estructura con una geometría de poros no definidos.

Para el tiempo de 30 minutos, a 0.1% y 0.5% se observa mayor cantidad de partículas en la superficie a diferencia de los observado para 20 min (Tabla 5), asimismo, mayor dispersión de partículas de quitosano fueron depositadas la mayoría en los valles de la superficie granallada, sin embargo, esto no implica que se obtenga un recubrimiento uniforme, debido a que se siguen teniendo áreas sin recubrir (recuadro rojo). Se atribuye la existencia de más partículas de quitosano debido al tiempo que se está utilizando. Utilizando la concentración de 1%, se puede observar una estructura porosa tridimensional debido a la existencia de mayor concentración de quitosano en la solución con la que se realizó el proceso. En esta investigación no se tomó en consideración la medida del tamaño de poro de los hidrogeles, lo que se desea obtener es un recubrimiento a base de quitosano a partir de

diferentes concentraciones. En la literatura se menciona que el tamaño de poro para poder encapsular fármacos es importante, depende mucho lo que se desea encapsular y la cantidad, esta medida se puede modificar realizando varias capas de electrodeposición en la superficie y controlando la liberación de O₂ producida durante esta técnica (Z. Wang et al., 2014).

Posterior de realizar el análisis y comparación entre los 3 ensayos con diferentes composiciones y tiempo utilizando la técnica de electrodeposición coordinada, el recubrimiento que presenta una mejor estructura es aquel que presenta una composición de 1% de quitosano con 30 minutos de electrodeposición. Es importante darle una característica al hidrogel con el cual se está trabajando, de manera que se pueda tener una medida aproximada del espesor del recubrimiento que se obtiene tras realizar electrodeposición. Para saber si existe adhesión entre la interfaz del recubrimiento y el sustrato de titanio, es necesario darle una caracterización al mismo, esto se realizó mediante una prueba de rayado, la cual se mencionará en la siguiente sección.

Investigaciones previas no han analizado el proceso de electrodeposición utilizando únicamente quitosano, para la obtención de hidrogeles este biopolímero ha sido mezclado con alginato, ácido lactiobiónico, bio vidrio, policaprolactona, entre otros debido a que esto otorga a la solución una mayor estabilidad y permite una electrodeposición más uniforme sobre el sustrato (Zhao et al., 2017).

Tomando como referencia una investigación previa, en la cual se realiza el proceso de electrodeposición por capas para la obtención de hidrogeles, se utilizó solución de quitosano al 1% mezclada con alginato, con parámetros de electrodeposición de voltaje y tiempo de 20V y 20 minutos respectivamente (Z. Wang et al., 2014). Por lo que, para observar que tan diferentes son los resultados obtenidos con un hidrogel combinado y un hidrogel solamente de quitosano, en la Figura 12., se muestran las imágenes comparativas.

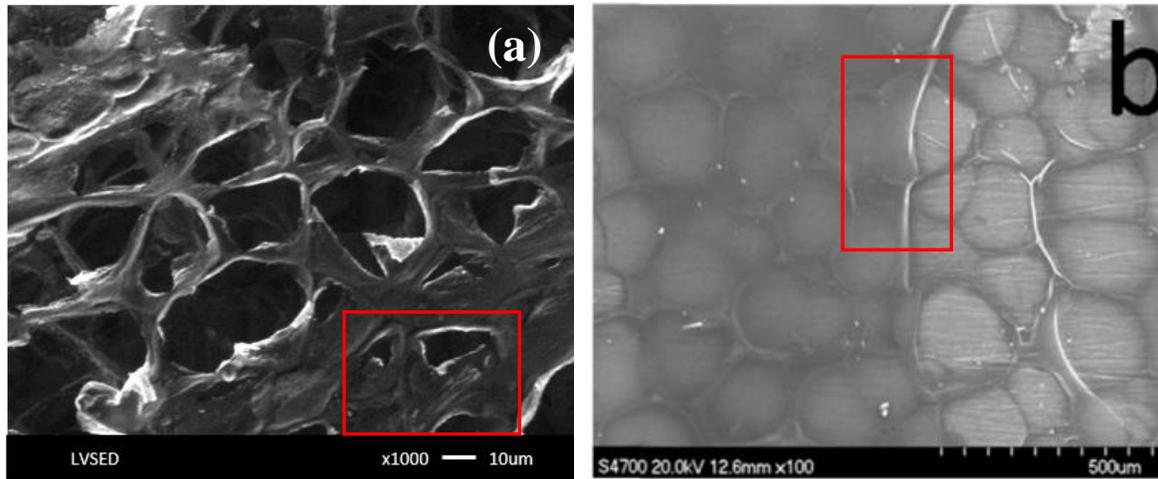


Figura 12. a) Hidrogel obtenido con la técnica de electrodeposición coordinada, utilizando solución de quitosano al 1% por 30 minutos b) Hidrogel obtenido con la técnica de electrodeposición por capas, utilizando una solución al 1% quitosano y alginato (Z. Wang et al., 2014).

Existe una diferencia entre la Figura 11a y Figura 11b), no solo por la forma que los poros presentan, sino que en la imagen b, se puede observar como el recubrimiento presenta una mayor uniformidad en la superficie, recubriendo el sustrato y definiendo de mejor manera la forma de los poros y la cantidad que estos se forman en la superficie, sin embargo, posiblemente por la técnica empleada para la deposición de la solución, se puede observar que sobre los poros se encuentra una ligera capa y esta pierde continuidad sobre los mismos, tal como se puede observar en el recuadro rojo. En la Figura 11a, se puede observar la poca definición de los poros, sin embargo, estos presentan una estructura tridimensional, la cual posiblemente modificando los parámetros de corriente podría tener una mayor definición en los poros.

3.3. Evaluación de la adhesión del recubrimiento.

Una vez procesados los datos, para el recubrimiento de 1% de quitosano con una electrodeposición se obtuvieron.

3.3.1. Prueba de rayado sobre sustrato de titanio sin recubrir

En la Figura 13 se muestran los resultados de la prueba de rayado sobre el material base, que en este caso es el Ti6Al4V sin recubrir

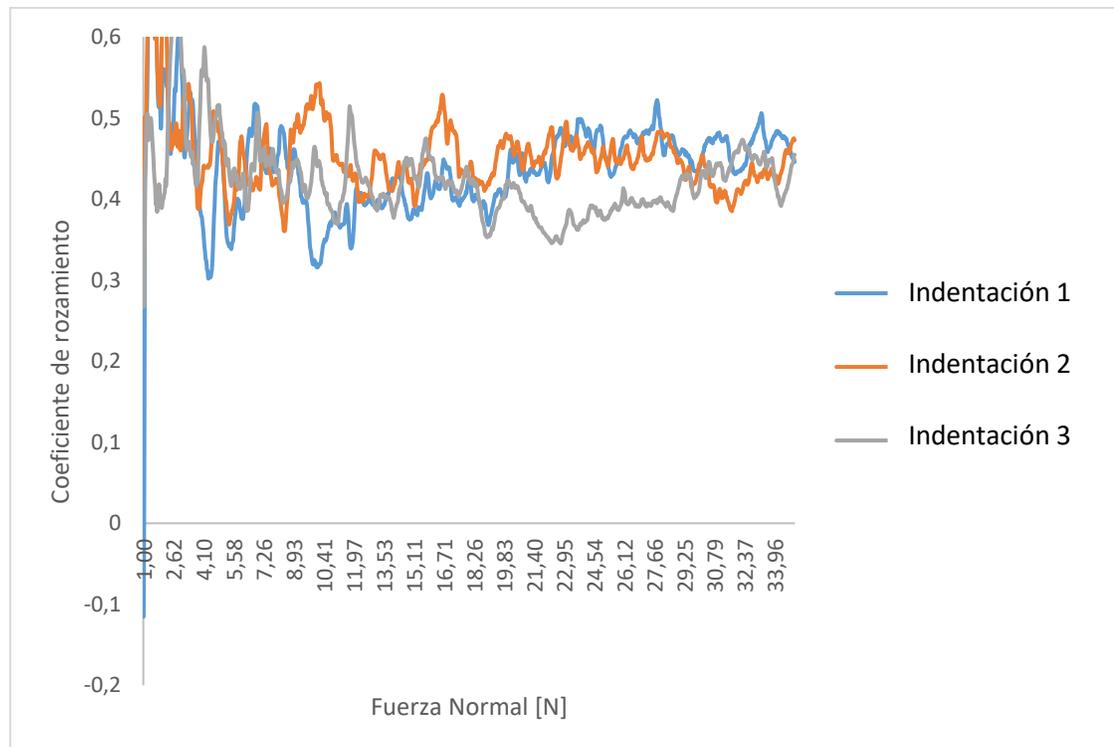


Figura 13. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, sin recubrir.

. Las 3 curvas de indentaciones muestran una tendencia similar de oscilaciones y permiten apreciar rangos de valores entre los cuales se pueden determinar ausencia o presencia de recubrimiento.

A partir de los 19,83 [N] la gráfica tiende a una estabilización, mostrando menor ruido y manteniendo menos fluctuantes los valores del coeficiente de rozamiento aproximadamente entre los 0.40 y 0.53.

3.3.2. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 0.1% por 30 minutos

En la Figura 14 se muestran los resultados de la prueba de rayado sobre el recubrimiento de quitosano al 0.1% electrodepositado por 30 minutos. A continuación,

se puede observar mediante la gráfica la discontinuidad del recubrimiento sobre la superficie del sustrato.

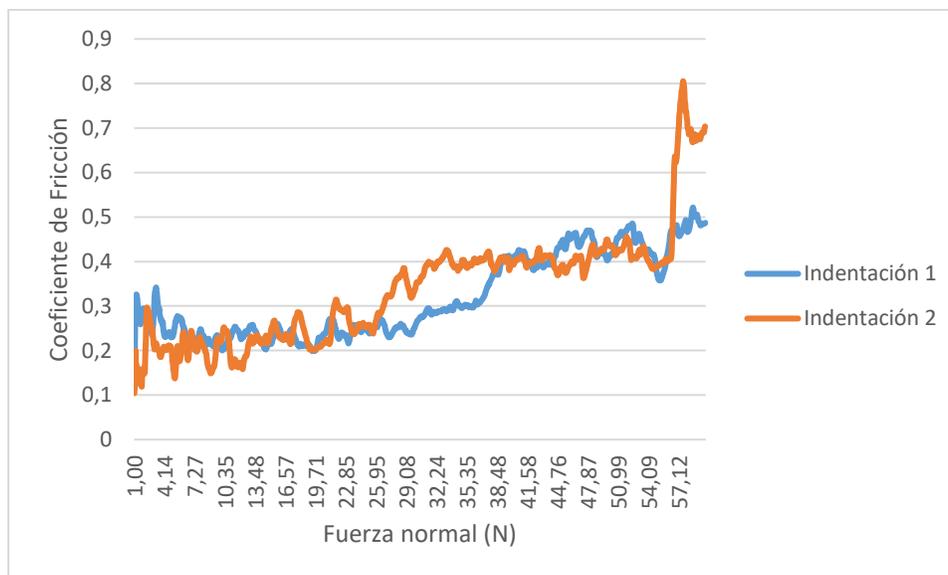


Figura 14. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 0.1% de Quitosano y 30 minutos.

La gráfica al comienzo de la toma de datos presenta ruido, esto se debe al posicionamiento del indentador y la baja fuerza aplicada en la superficie del sustrato. A partir de los 10,35 Newton, la gráfica tiende a estabilizarse. Desde ese valor en adelante aproximadamente hasta los 19,71 Newton presenta una uniformidad en el recubrimiento, tomando un rango de valores para su coeficiente de fricción desde 0,21 hasta 0,32. Posterior a los 22,85 Newton, tiende a delaminarse el recubrimiento, presentando así un incremento en su gráfica.

3.3.3. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 0.5% por 20 minutos

En la Figura 14 se muestran los resultados de la prueba de rayado sobre el recubrimiento de quitosano al 0.5% electrodepositado por 20 minutos. A continuación, se pueden observar como los valores de coeficiente de rozamiento van variando con la trayectoria de la indentación.

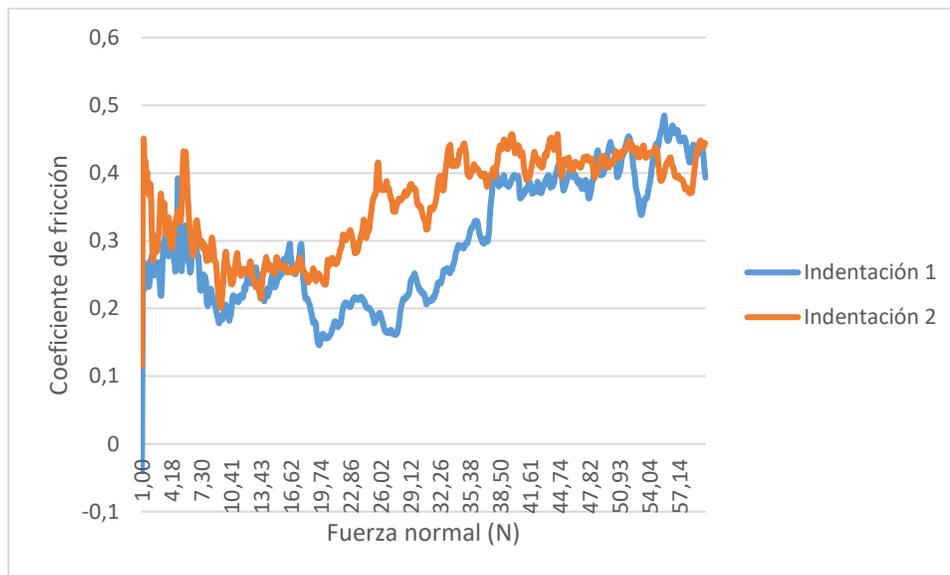


Figura 15. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 0.5% de Quitosano y 20 minutos.

La gráfica al comienzo de la toma de datos presenta ruido hasta los 16,62 Newton, esto se debe al posicionamiento del indentador y el incremento de la fuerza aplicada en la superficie del sustrato. A partir de los 10,41 Newton, la gráfica tiende a estabilizarse, desde ese valor en adelante aproximadamente hasta los 19,74 Newton presenta una uniformidad en el recubrimiento, tomando un posible rango de valores para su coeficiente de fricción desde 0,18 hasta 0,30. Posterior a los 19,74 Newton, tiende a delaminarse el recubrimiento, presentando así un incremento en su gráfica hasta llegar a los 38,50 N. A partir de ese valor, las gráficas parecen haberse estabilizado, mostrando presencia de un recubrimiento el cual posiblemente toma un rango de valores entre los 0,34 hasta los 0,40. Finalmente, este se delamina nuevamente presentando un incremento en su gráfica. Este análisis, da un indicador de que el recubrimiento no es uniforme y que no tolera cargas altas sobre el recubrimiento, ya que se delamina con facilidad.

3.3.4. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 0.5% por 30 minutos

En la Figura 16, se muestran los resultados de la prueba de rayado sobre el recubrimiento de quitosano al 0.5% electrodepositado por 30 minutos. A continuación, se pueden observar como los valores de coeficiente de rozamiento van variando con la trayectoria de la indentación.

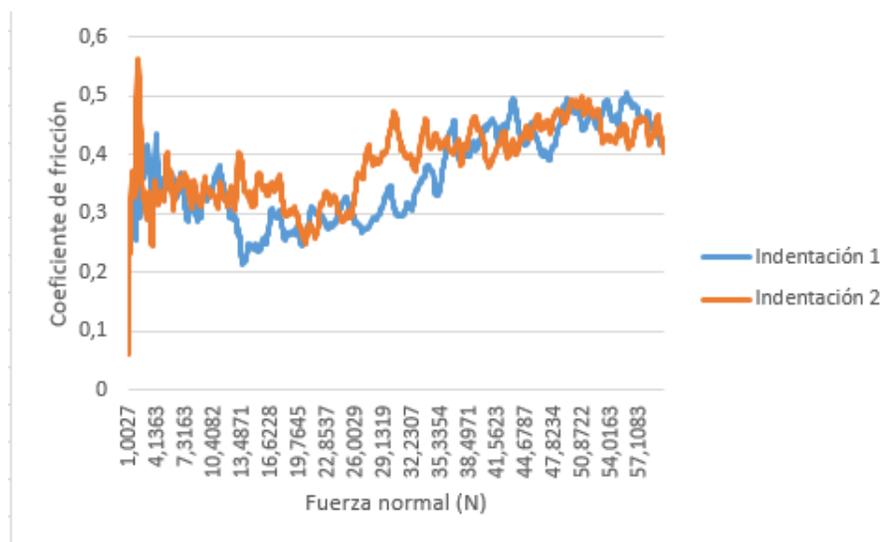


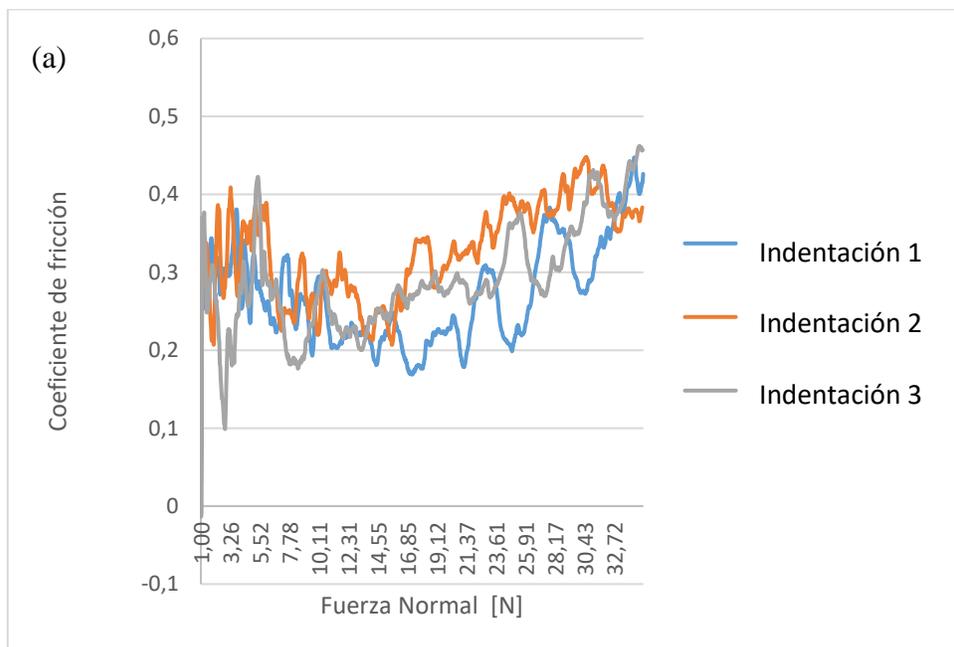
Figura 16. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 0.5% de Quitosano y 30 minutos.

La gráfica al comienzo de la toma de datos presenta ruido hasta los 13,48 Newton, esto se debe al posicionamiento del indentador y el incremento de la fuerza aplicada en la superficie del sustrato. A partir de los 16,62 Newton, la gráfica tiende a estabilizarse, desde ese valor en adelante aproximadamente hasta los 26,00 Newton presenta una uniformidad en el recubrimiento, tomando un posible rango de valores para su coeficiente de fricción desde 0,22 hasta 0,33. Posterior a los 26 Newton, tiende a delaminarse el recubrimiento, presentando así un incremento en su gráfica hasta llegar a los 57,10 N. Este análisis, da un indicador de que el recubrimiento no es uniforme, debido a que en algunos segmentos existen

bajos coeficientes de rozamiento, asimismo, el recubrimiento no tolera cargas altas sobre el recubrimiento, ya que se delamina con facilidad.

3.3.5. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 1% por 20 minutos

A medida que la fuerza incrementa durante el recorrido del rayado, hace que su coeficiente de fricción aumente. Esto se debe a la pérdida de contacto que el indentador tiene con el recubrimiento, haciendo que el contacto aumente entre el indentador y el sustrato de titanio Ti6Al4V. Asimismo, al aplicar esfuerzos cortantes en diferentes secciones del disco, el recubrimiento tiende a delaminarse, lo cual se puede observar en la Figura 17.



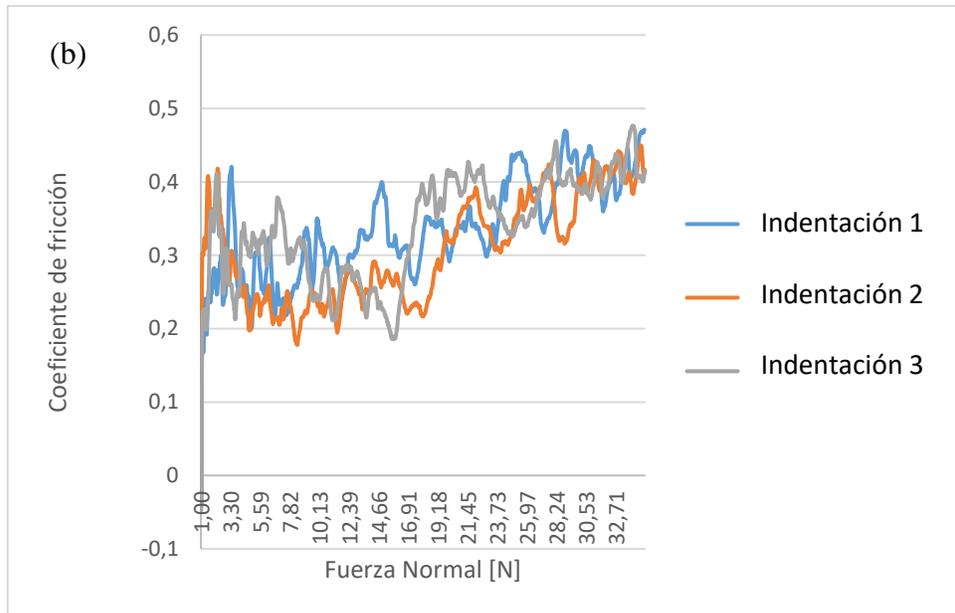


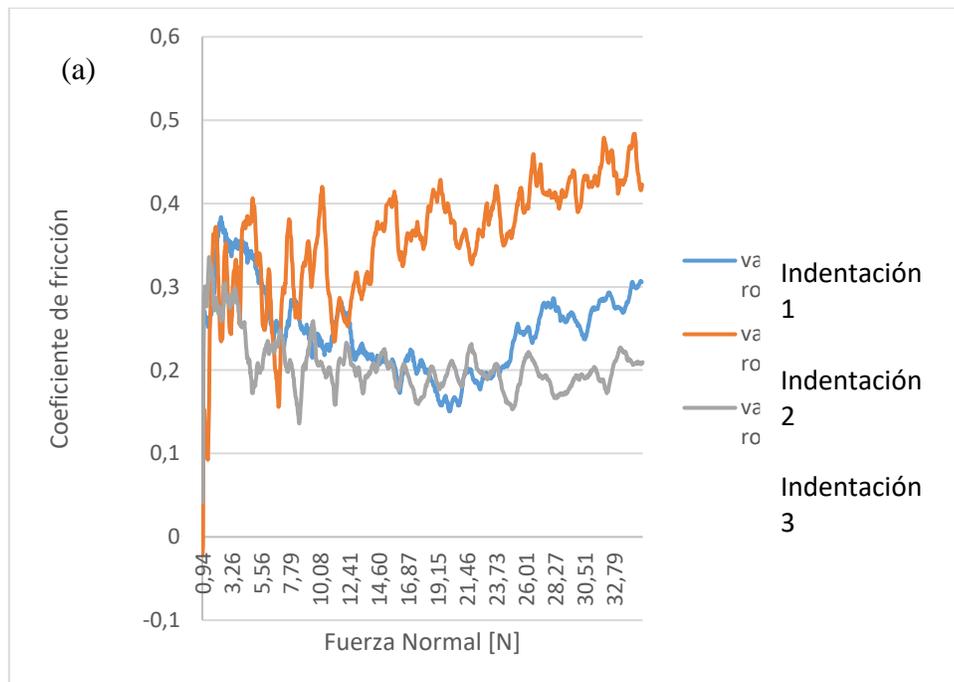
Figura 17. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 1% de Quitosano y 20 minutos, dónde: a y b pertenecen a dos superficies diferentes electrodepositadas la misma concentración y tiempo de quitosano

El patrón inicial en el cual se presentan oscilaciones y ruido comienza desde el 1 Newton de carga inicial, hasta los 10,71 Newton aproximadamente. En la Figura 17a, se puede apreciar que las 3 indentaciones realizadas sobre la superficie del sustrato no siguen la misma tendencia, unas presentan más ruido que otras, probablemente debido a la poca uniformidad del recubrimiento en la superficie. Aproximadamente, a partir de los 6,69 Newton, se puede observar como la gráfica tiende a una estabilización manteniéndose así hasta los 14,38 Newton, tomando valores de coeficiente de fricción alrededor de 0,18 a 0,32. A partir de los 20 Newton en adelante, el recubrimiento presenta una delaminación, lo cual se observa en el incremento de las líneas de indentación en la gráfica.

En la Figura 17b, se observa que las curvas siguen tendencias similares, lo cual indica una mayor uniformidad del recubrimiento en la superficie, sin embargo, lo que se mantiene constante son los patrones de ruido debido a la penetración del indentador. Aproximadamente, a partir de los 8,56 Newton, se puede observar como la gráfica tiende a

una estabilización manteniéndose así hasta los 16,25 Newton, tomando valores de coeficiente de fricción alrededor de 0,18 a 0,35. A partir de los 16,25 Newton en adelante, el recubrimiento presenta una delaminación, lo cual se observa en el incremento de las líneas de indentación en la gráfica.

3.3.6. Prueba de rayado sobre recubrimiento de quitosano al 1% por 30 minutos



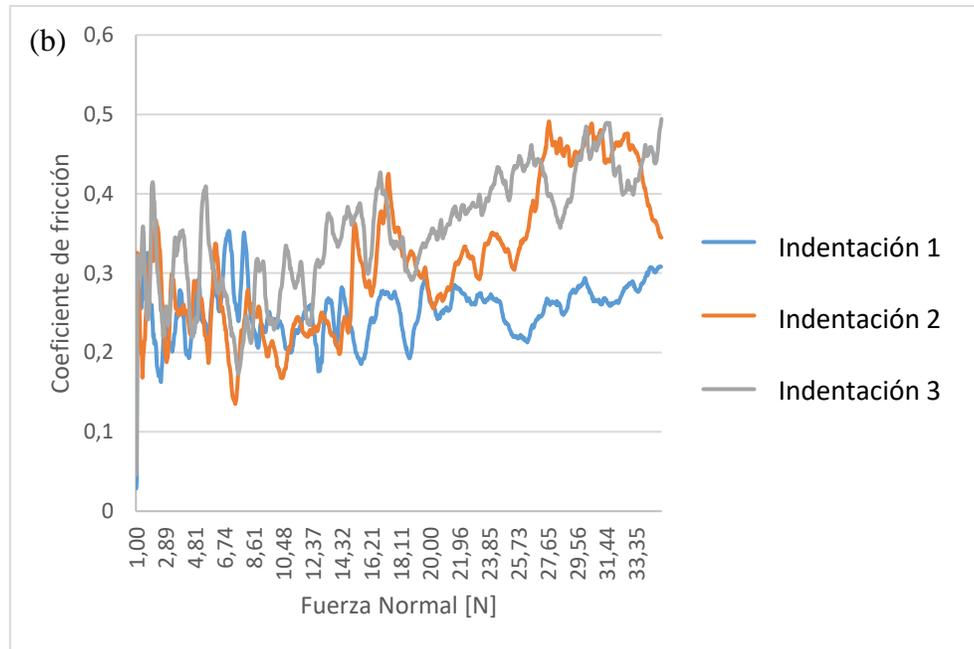


Figura 18. Análisis de prueba de rayado en función del Coeficiente de Fricción vs Fuerza Normal, con 1% de Quitosano y 30 minutos, dónde: a y b pertenecen a dos sustratos diferentes electrodepositadas la misma concentración y tiempo de quitosano

En la Figura 18a, el patrón inicial en el cual se presentan oscilaciones y ruido comienza desde los 0,94 Newton de carga inicial, hasta los 12,41 Newton aproximadamente. Se puede apreciar que las 3 indentaciones realizadas sobre la superficie del sustrato no siguen la misma tendencia, unas presentan más ruido que otras, probablemente debido a la poca uniformidad del recubrimiento en la superficie. En la Figura 18a, aproximadamente a partir de los 12,41 hasta los 26,01 presenta uniformidad en el recubrimiento, tomando valores de coeficiente de fricción alrededor de 0,18 a 0,31. A partir de los 32,79 Newton en adelante, el recubrimiento presenta una delaminación, lo cual se observa en el incremento de las líneas de indentación en la gráfica.

En la Figura 18b, se observa que las curvas siguen tendencias similares, lo cual indica una mayor uniformidad del recubrimiento en la superficie. Aproximadamente, a partir de los 20 Newton, se puede observar como la gráfica tiende a una estabilización manteniéndose así

hasta los 27,65 Newton, tomando valores de coeficiente de fricción alrededor de 0,18 a 0,30. A partir de los 27,65 Newton en adelante, el recubrimiento presenta una delaminación, lo cual se observa en el incremento de las líneas de indentación en la gráfica.

3.4. Análisis estadísticos de coeficientes de rozamiento del recubrimiento de quitosano

A continuación, en la Figura 19 se observan los resultados de dichos análisis.

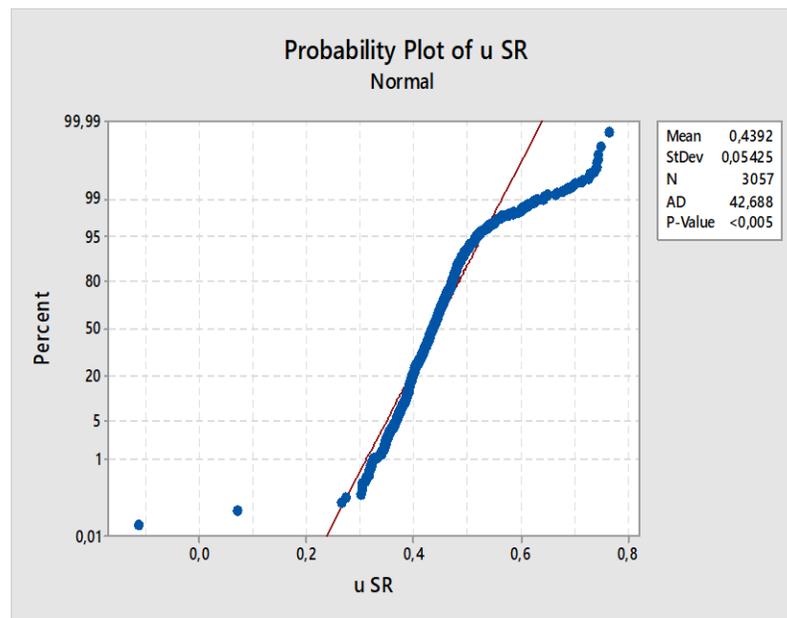


Figura 19. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie no recubierta

En la Figura 19., la línea roja corresponde a la línea de tendencia ideal que deberían seguir los datos. Se obtuvo un total de 3057 datos, los cuales fueron procesados en el programa y como resultado se tiene que el coeficiente medio de rozamiento del sustrato sin recubrir es de $0,44 \pm 0,05$. Asimismo, los datos que son representados por la línea azul, a partir del número 0.50 en el eje de los coeficientes de rozamiento comienzan a alejarse hasta que el último dato toma un valor cercano a 0.8. Estos valores pueden deberse al ruido que se produce en la obtención de datos al momento de colocar las probetas y empezar la trayectoria de la prueba de rayado y al terminar la misma.

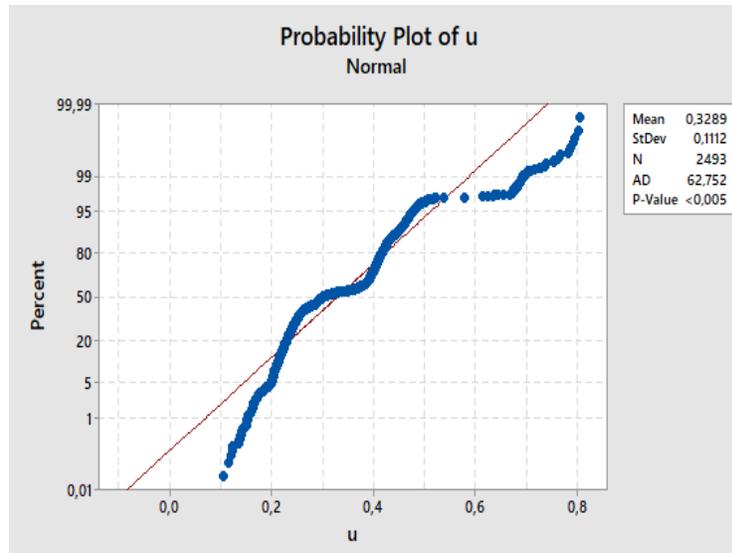


Figura 20. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 0.1% de quitosano por 30 minutos

En la Figura 20., la línea roja corresponde a la línea de tendencia ideal que deberían seguir los datos. Se obtuvo un total de 2493 datos, los cuales fueron procesados y como resultado se tiene que el coeficiente medio de rozamiento del recubrimiento sobre el sustrato es de $0,33 \pm 0,11$. Asimismo, los datos representados por la línea azul, al comienzo toma valores negativos debido a que seguramente al momento de haber realizado las pruebas sobre el recubrimiento estos no se sujetaron bien al porta muestras y se movió en dirección contraria marcando en la máquina valores negativos. Los datos son muy dispersos, debido a la poca concentración de quitosano utilizado para electrodepositar y eso dificulta la movilidad del indentador en la superficie.

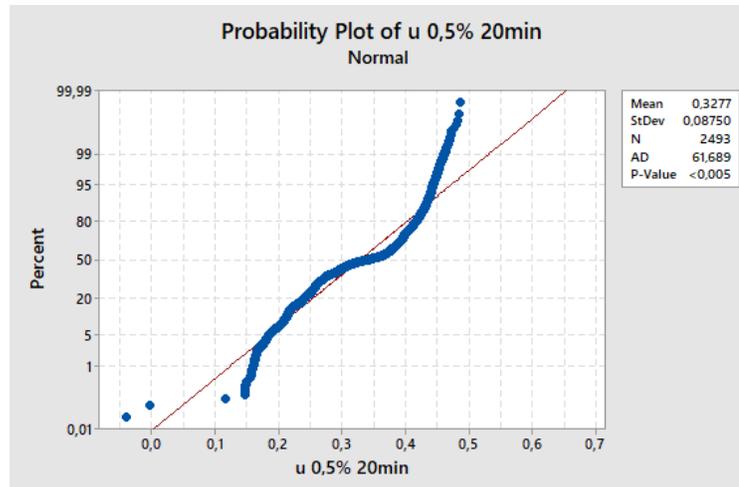


Figura 21. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 0.5% de quitosano por 20 minutos

En la Figura 21., la línea roja corresponde a la línea de tendencia ideal que deberían seguir los datos. Se obtuvo un total de 2493 datos, los cuales fueron procesados y como resultado se tiene que el coeficiente medio de rozamiento del recubrimiento sobre el sustrato es de $0,33 \pm 0,09$. Asimismo, los datos representados por la línea azul, al comienzo toma valores negativos debido a las causas mencionadas en las figuras 20 y 21. Los datos son muy dispersos, debido a la baja concentración de quitosano y tiempo utilizado para electrodepositar.

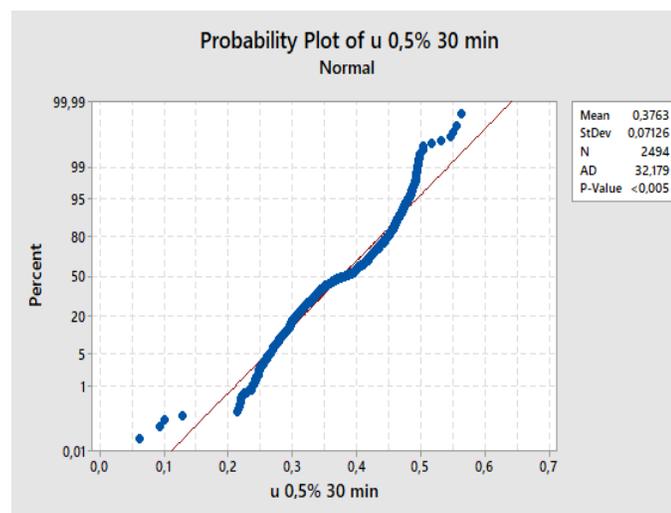


Figura 22. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 0.5% de quitosano por 30 minutos

En la Figura 22., la línea roja corresponde a la línea de tendencia ideal que deberían seguir los datos. Se obtuvo un total de 2494 datos, los cuales fueron procesados y como resultado se tiene que el coeficiente medio de rozamiento del recubrimiento sobre el sustrato es de $0,38 \pm 0,07$.

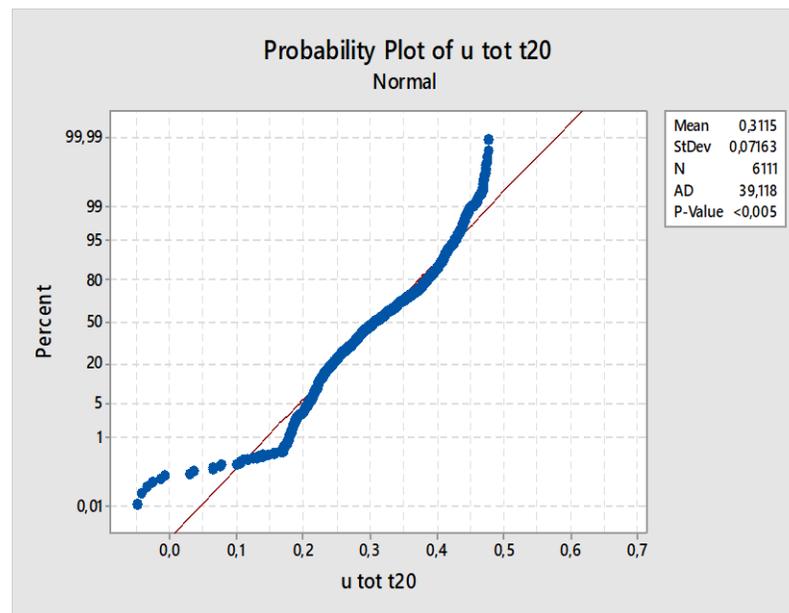


Figura 23. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 1% de quitosano por 20 minutos

En la Figura 23., la línea roja corresponde a la línea de tendencia ideal que deberían seguir los datos. Se obtuvo un total de 6111 datos, los cuales fueron procesados y como resultado se tiene que el coeficiente medio de rozamiento del recubrimiento sobre el sustrato es de $0,31 \pm 0,07$. Asimismo, los datos representados por la línea azul, al comienzo toma valores negativos debido a que seguramente al momento de haber realizado las pruebas sobre el recubrimiento estos no se sujetaron bien al porta muestras y se movió en dirección contraria marcando en la máquina valores negativos.

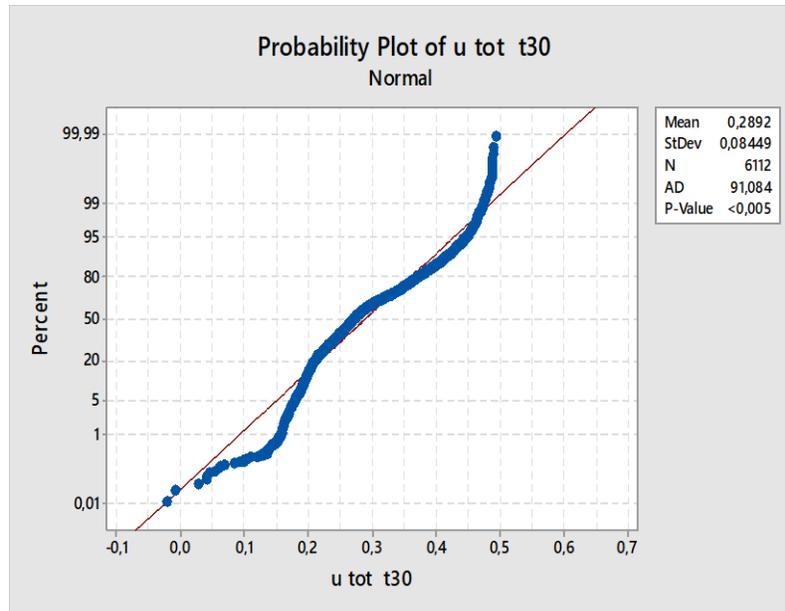


Figura 24. Gráfico de prueba de normalidad de coeficientes de rozamiento para una superficie electrodepositada con 1% de quitosano por 30 minutos

En la Figura 24., la línea roja corresponde a la línea de tendencia ideal que deberían seguir los datos. Se analizó un total de 6112 datos para procesar, como resultado se tiene que el coeficiente medio de rozamiento del recubrimiento sobre el sustrato es de $0,28 \pm 0,08$. Asimismo, los datos representados por la línea azul, al comienzo se observan valores negativos debido a las causas mencionadas en las figuras 20 y 21.

Teniendo ya los valores de los coeficientes de fricción medios, se establece una tabla para realizar un análisis comparativo y poder determinar con cuál tiempo de electrodeposición se puede obtener mayor recubrimiento.

Tabla 6. Resultados coeficientes de fricción con diferentes tiempos.

Concentración de quitosano (p/v)	Tiempo (min)	Coefficientes de fricción medio
0%	0	0,44
0,5% y 1%	20	0,31 y 0,33
0,1%, 0,5% y 1%	30	0,33, 0,38 y 0,28

Se tiene que el sustrato que tiene menor coeficiente de fricción es el que pertenece a un tiempo de electrodeposición de 30 minutos, con un valor de 0.28. Al presentar un valor menor este indica que existe mayor cantidad de recubrimiento que permite que el indentador se deslice con mayor facilidad sobre la superficie.

3.5. Caracterización del espesor.

Para poder tener un valor aproximado del recubrimiento con el que se está trabajando, se decidió realizar por dos métodos una cuantificación del espesor. A continuación, se muestran el análisis por el SEM del proceso por corte transversal.

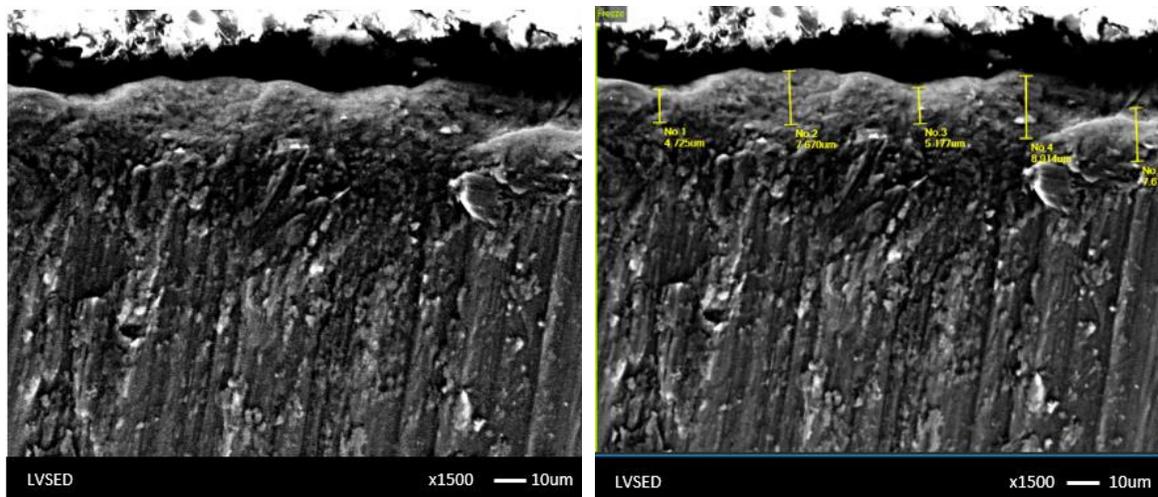


Figura 25. Recubrimiento de quitosano al 1% por 20 minutos. a) vista transversal del recubrimiento sobre el sustrato titanio Ti6Al4V y b) espesor recubrimiento sustrato titanio Ti6Al4V. Barra de calibración 10 µm

Se tomaron de diferentes secciones mediciones del recubrimiento, de manera que se pueda hacer un promedio y se pueda aproximar un valor medio de recubrimiento. El valor medio del mismo fue de $6.83 \pm 1.79 \mu\text{m}$. El recubrimiento tiene un espesor pequeño con respecto al área del sustrato, quizá se debe al tiempo de exposición de 20 minutos y a la resina que se colocó en su superficie. En investigaciones previas, se ha realizado electrodeposición por la técnica de capa por capa de quitosano con alginato, de manera que este componente

químico le otorga una mayor estabilidad al hidrogel y este tiene una deposición más uniforme en la superficie (Z. Wang et al., 2014). La caracterización física del espesor de este hidrogel es aproximadamente de $10 \mu m$, lo cual equivale a un recubrimiento muy delgado y podría corresponder a un valor de espesor típico obtenido al trabajar con una concentración de quitosano al 1% p/v. Los autores no mencionan la técnica de obtención del espesor; sin embargo, como se mencionó en secciones anteriores, el espesor del recubrimiento se ve ligado directamente por 3 variables principales: tiempo, concentración y voltaje. En la investigación mencionada se utilizaron diferentes parámetros, los cuales fueron suministro de 20 V por 20 minutos y una solución al 1% de quitosano con mezcla de alginato, por lo que la uniformidad y el espesor pudieron haber dependido más del voltaje utilizado para electrodepositar la solución sobre los sustratos que de la mezcla como tal del recubrimiento (Z. Wang et al., 2014).

Se realizó un ensayo más, utilizando un durómetro Rockwell. Se utilizó una probeta con la misma concentración de quitosano al 1% por un tiempo de 30 minutos. A continuación, se pueden ver las imágenes de dicho proceso.

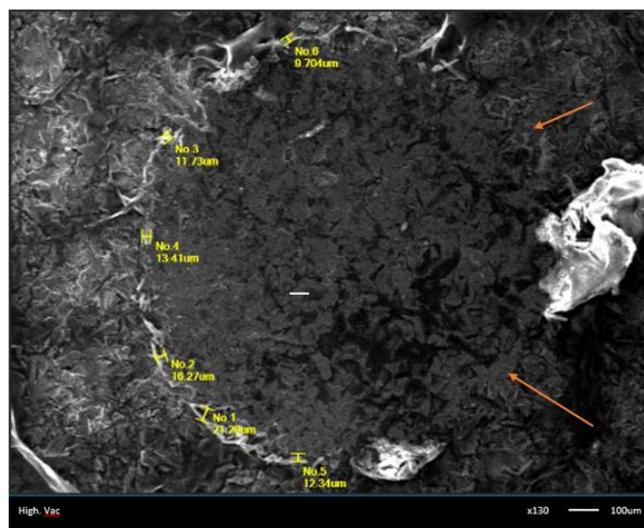


Figura 26. Vista superior sustrato de titanio $Ti6Al4V$ con un recubrimiento de 1% de quitosano electrodepositado con un tiempo de 30 minutos utilizando el durómetro Rockwell

Se tomaron de diferentes secciones mediciones del recubrimiento, de manera que se pueda hacer un promedio y se pueda aproximar un valor medio de recubrimiento. El valor medio del mismo fue de $14,11 \pm 4.09 \mu m$. El recubrimiento tiene un mayor espesor, a pesar de que este no es continuo como se puede observar en la foto, tiene áreas en donde no hay presencia del recubrimiento, tal como lo señalan las flechas tomates, solo se presencia la indentación en la superficie. Asimismo, al momento de indentar la esfera del durómetro el recubrimiento se ve desplazado en la superficie, por lo que no es un método recomendable para aplicar en este caso, no otorga medidas reales del recubrimiento, pero si una aproximación para poder cuantificar el espesor.

CONCLUSIONES

- Se pudo verificar que al tener una superficie rugosa las partículas de quitosano se adhirieron de mejor manera a las cavidades a diferencia de una superficie lisa. Asimismo, tras granallar la superficie de los sustratos de titanio, se logró obtener una superficie con una rugosidad similar a la de prótesis de cadera comerciales.
- Si existe una diferencia entre el método de adsorción y electrodeposición, y el método de electrodeposición si funciona para depositar recubrimiento de quitosano sobre los sustratos de titanio Ti6Al4V.
- Las mejores condiciones de electrodeposición, se mejoraron utilizando un voltaje de 3 V por 30 minutos
- El recubrimiento obtenido utilizando los parámetros finales, no es uniforme a lo largo de los discos de titanio Ti6Al4V.
- Se realizó una prueba de rayado, la cual demostró que el coeficiente de rozamiento de los hidrogeles de quitosano más bajo, se obtiene utilizando una concentración de quitosano al 1%, con un tiempo de 30 minutos y un voltaje de 3V.
- El menor coeficiente de rozamiento obtenido es de 0,28, perteneciente a una concentración de quitosano al 1%, con un tiempo de 30 minutos, de igual manera, utilizando esta concentración, se tienen más estructuras porosas a diferencia de las obtenidas con otras concentraciones y tiempos.
- Mediante los valores de prueba de rayado para las 3 diferentes concentraciones, se puede atribuir que el recubrimiento que mayor espesor tiene es aquel de 1% de quitosano por 30 minutos.

- Los valores obtenidos por la técnica de corte transversal y con el durómetro Rockwell son muy pequeños en relación a la superficie de los sustratos de titanio Ti6Al4V.
- Las técnicas de espesor utilizadas para determinar las medidas del mismo, no fueron las adecuadas. Se recomienda utilizar el ensayo realizado de corte transversal, el espesor promedio obtenido fue de $(6.83 \pm 1,79) \mu m$ y con la técnica de indentación con el durómetro Rockwell el espesor promedio fue de $(14,11 \pm 4.09) \mu m$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boccaccini, A. R., Keim, S., Ma, R., Li, Y., Zhitomirsky, I., Boccaccini, A. R., ...
Zhitomirsky, I. (2010). Electrophoretic deposition of biomaterials Electrophoretic deposition of biomaterials. *Society*, (May).
<https://doi.org/10.1098/rsif.2010.0156.focus>
- Bumgardner, J. D., Wiser, R., Gerard, P. D., Bergin, P., Chestnutt, B., Marini, M., ...
Gilbert, J. A. (2003). Chitosan: Potential use as a bioactive coating for orthopaedic and craniofacial/dental implants. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 14(5), 423–438. <https://doi.org/10.1163/156856203766652048>
- Burgos Arreaga, J. C. (2013). *Importancia de la irrigación en la fase de desinfección de los conductos radiculares*. Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/3378>
- Chatelet, C., Damour, O., & Domard, A. (2001). Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. *Biomaterials*, 22(3), 261–268.
[https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00183-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00183-6)
- Chiesa, R., Sandrini, E., Santin, M., Rondelli, G., & Cigada, A. (2018). Osteointegration of Titanium and Its Alloys by Anodic Spark Deposition and other Electrochemical Techniques: A Review: <https://doi.org/10.1177/228080000300100201>, 91–107.
<https://doi.org/10.1177/228080000300100201>
- Gadow, R., Killinger, A., & Stiegler, N. (2010). Hydroxyapatite coatings for biomedical applications deposited by different thermal spray techniques. *Surface and Coatings Technology*, 205(4), 1157–1164. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2010.03.059>
- Gaidhani, K. A., Harwalkar, M., Bhambere, D., & Nirgude, P. S. (2015).
Lyophilization/Freeze drying-A review. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(8), 516–543.

- Geng, Z., Wang, X., Guo, X., Zhang, Z., Chen, Y., & Wang, Y. (2016). Electrodeposition of chitosan based on coordination with metal ions in situ-generated by electrochemical oxidation. *J. Mater. Chem. B*, 4(19), 3331–3338.
<https://doi.org/10.1039/C6TB00336B>
- Gilabert-Chirivella, E., Pérez-Feito, R., Ribeiro, C., Ribeiro, S., Correia, D. M., González-Martín, M. L., ... Gómez-Ribelles, J. L. (2017). Chitosan patterning on titanium implants. *Progress in Organic Coatings*, 111(May), 23–28.
<https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2017.04.027>
- Gómez-Robledo, J. (2016). Tres roturas sucesivas de los vástagos protésicos de cadera implantados en una paciente TT - Three successive fractures of different hip femoral stems on the same patient. *Acta Ortopédica Mexicana*, 30(3), 138–143. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2306-41022016000300138&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.org.mx/pdf/aom/v30n3/2306-4102-aom-30-03-00138.pdf
- Hossain, M. S., & Iqbal, A. (2014). Production and characterization of chitosan from shrimp waste. *J. Bangladesh Agril. Univ*, 12(1), 153–160. Retrieved from <http://www.bioflux.com.ro/docs/2013.339-344.pdf>
- Platform, P., Platform, P., & Platform, P. (2017). Osteointegración de implantes de titanio con superficies activas.
- Ratner, B. D. (1996). Biomaterials science: An interdisciplinary endeavour. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 1–8. <https://doi.org/10.3139/B978-0-08-050014-0.50005-5>
- Rønold, H. J., Lyngstadaas, S. P., & Ellingsen, J. E. (2003). Analysing the optimal value for titanium implant roughness in bone attachment using a tensile test. *Biomaterials*,

24(25), 4559–4564. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00256-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00256-4)

Sekler, J., Steinmann, P. A., & Hintermann, H. E. (1988). The scratch test: Different critical load determination techniques. *Surface and Coatings Technology*, 36(1–2), 519–529.

[https://doi.org/10.1016/0257-8972\(88\)90179-X](https://doi.org/10.1016/0257-8972(88)90179-X)

Suresh Kuiry, P. (2012). Advanced Scratch Testing for Evaluation of Coatings. *Bruker*.

Retrieved from [https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-](https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/SurfaceAnalysis/TMT/Webinars/Advanced-Scratch-Testing-for-Evaluation-of-Coatings-Slides.pdf)

[Docs/SurfaceAnalysis/TMT/Webinars/Advanced-Scratch-Testing-for-Evaluation-of-Coatings-Slides.pdf](https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/SurfaceAnalysis/TMT/Webinars/Advanced-Scratch-Testing-for-Evaluation-of-Coatings-Slides.pdf)

Suzuki, K., Aoki, K., & Ohya, K. (1997). Effects of surface roughness of titanium implants on bone remodeling activity of femur in rabbits. *Bone*, 21(6), 507–514.

[https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(97\)00204-4](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(97)00204-4)

Teh, S. J., & Lai, C. W. (2019). *Carbon nanotubes for dental implants. Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813742-0.00005-5>

Wang, J., Van Apeldoorn, A., & De Groot, K. (2006). Electrolytic deposition of calcium phosphate/chitosan coating on titanium alloy: Growth kinetics and influence of current density, acetic acid, and chitosan. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 76(3), 503–511. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30542>

Wang, Z., Zhang, X., Gu, J., Yang, H., Nie, J., & Ma, G. (2014). Electrodeposition of alginate/chitosan layer-by-layer composite coatings on titanium substrates. *Carbohydrate Polymers*, 103(1), 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.007>

Zhao, P., Zhao, Y., Xiao, L., Deng, H., Du, Y., Chen, Y., & Shi, X. (2017).

Electrodeposition to construct free-standing chitosan/layered double hydroxides hydro-membrane for electrically triggered protein release. *Colloids and Surfaces B:*

Biointerfaces, 158, 474–479. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.07.024>

Zujur, D, & Álvarez-Barreto, J. F. (2016). Prótesis En Artroplastia Total De Cadera Y Recubrimientos Bioactivos De Quitosano Para Mejorar Su Desempeño Tt - Prótese Em Artroplastia Total De Quadril E Quitosana Bioactivos Revestimentos Para Melhorar O Desempenho Tt - Protheses in Total Hip Arthro. *Revista Ingeniería Biomédica*, 10(19), 33–43. <https://doi.org/10.14508/rbme.2016.10.19.33-43>

Zujur, Denise. (2013). EVALUACIÓN DE RECUBRIMIENTOS BIOMIMETICOS ÓSEOS A BASE DE QUITOSANO FOTOSENSIBLE SOBRE Ti6Al4V.

ANEXO A: TABLA DE VALORES DE RUGOSIDADES PROMEDIO DE LOS DOS TIPOS DE SUPERFICIES DE LOS SUSTRATOS

Tabla 7. Valores de rugosidades promedio de discos de titanio Ti6Al4V de superficies lisas y granalladas

Número de muestras	Rugosidad media	Rugosidad media
	superficie lisa (Ra) [μm]	superficie granallada (Ra) [μm]
1	0,24	2,80
2	0,31	3,1
3	0,42	3,23
4	0,21	3,75
5	0,67	2,78
Promedio	0,37	3,13