



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN QUÍMICA

Desarrollo y caracterización de nuevos recubrimientos en biomateriales metálicos

Federico Belén

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2024

Universidad Nacional del Sur

TESIS DOCTORAL

Federico Belén

2024

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Química, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Química de la Universidad Nacional del Sur durante el período comprendido entre el 18 de septiembre de 2018 y el 6 de mayo de 2024, bajo la dirección de la Profesora Doctora Paula Verónica Messina, del área de Fisicoquímica y el Profesor Doctor Marcelo Fabián Pistonesi, del área de Química Analítica.

6 de mayo de 2024

Federico Belén



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

**Secretaría General de Posgrado y Educación
Continua**

La presente tesis ha sido aprobada el/...../....., mereciendo la calificación de
.....(.....)

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Universidad Nacional del Sur (UNS) por su invaluable respaldo académico y financiero.

Mis más profundos agradecimientos están dirigidos a mis directores de tesis, Marcelo F. Pistonesi y Paula V. Messina. Su vasto conocimiento y dedicación fueron pilares fundamentales en la realización de esta investigación.

Agradezco enormemente a mi familia por su constante apoyo y comprensión durante todo el proceso. Sus sacrificios y aliento han sido mi mayor motivación. En particular, deseo expresar un agradecimiento especial a mi esposa por su incansable apoyo, comprensión y amor incondicional, así como a mis perras Alma y Roma, cuya lealtad y compañía han iluminado cada día de este trayecto.

Quiero extender mi gratitud a mis colegas de trabajo por su colaboración y trabajo en equipo. Su aporte enriqueció enormemente esta investigación académica y facilitó su realización.

A cada persona que brindó ayuda, ya sea con consejos o colaboración en esta investigación, les estoy sinceramente agradecido. Sus contribuciones fueron esenciales durante este camino.

Este logro no es solo mío, sino de todos aquellos que me han apoyado a lo largo de esta tesis. Estoy profundamente agradecido por el privilegio de haber completado este trabajo y por las valiosas lecciones que he aprendido en el proceso. GRACIAS.

RESUMEN

En el ámbito de la biomedicina, el diseño y desarrollo de recubrimientos avanzados para biomateriales metálicos, como el titanio de grado 5 (Ti-6Al-4V), desempeñan un papel fundamental en la mejora de la biocompatibilidad y el rendimiento de los implantes médicos. El titanio de grado 5, conocido por su excelente resistencia mecánica y biocompatibilidad, representa una base sólida para la investigación de nuevos recubrimientos destinados a optimizar la integración del implante con el tejido óseo circundante. En este contexto, la presente propuesta se centra en el diseño, desarrollo y la caracterización de recubrimientos innovadores basados en la aleación de Ti-6Al-4V, específicamente de dióxido de titanio (TiO₂). Estos recubrimientos no solo tienen como objetivo mejorar la respuesta biológica del implante, sino también una integración más efectiva del mismo con el tejido óseo circundante y otorgarle nuevas y mejoradas propiedades que permitan emplearlo en terapias específicas.

Se desarrolló un recubrimiento de TiO₂ mediante un tratamiento electroquímico, específicamente oxidación anódica. Para aplicar el tratamiento, se emplearon discos de Ti-6Al-4V como ánodo, en una solución ácida de H₃PO₄/HF. Mediante el control de los principales parámetros del proceso electroquímico como el voltaje aplicado, concentración del electrolito, temperatura y tiempo de reacción se logró obtener un recubrimiento de TiO₂ con una estructura nanoporosa que se repite periódicamente, confiriéndole a la aleación una superficie única, caracterizada por su estabilidad ante la oxidación térmica, rugosidad multiescala, comportamiento hidrofóbico y propiedades electroópticas excepcionales. En una segunda instancia, se depositaron nanopartículas de plata con morfología de prisma (p-AgNPs) en los recubrimientos nanoporoso desarrollados mediante dos procedimientos diferentes: (i) los discos con el recubrimiento de TiO₂ anodizado electroquímicamente se colocaron en una celda de reacción en donde se sintetizaron p-AgNPs siguiendo un procedimiento previamente optimizado y se dejaron en la oscuridad durante un tiempo estipulado (procedimiento de deposición *in situ*), (ii) por otro lado, se sumergieron los discos en una suspensión p-AgNPs durante varias horas en oscuridad (procedimiento de deposición *ex situ*). A continuación, Se logró demostrar que la capa nanoporosa desarrollada es un sustrato noble para la inmovilización simple y eficiente de las nanopartículas. Además, se determinó que el procedimiento de deposición *in situ* mejora las propiedades electroópticas del recubrimiento de TiO₂ mediante foto-conversión bajo irradiación NIR, demostrando que la radiación emitida en la superficie de las p-AgNPs puede ser reflejada por los sustratos de titanio dentro de los nanoporos, aumentando las señales de reflexión del infrarrojo cercano medio y mejorando la capacidad de

reflexión de la superficie. Por otro lado, se observó que estas superficies presentan una elevada capacidad de fotoconversión incrementando su temperatura al ser irradiadas con radiación NIR. Debido a las propiedades mencionadas, el recubrimiento nanoporoso desarrollado podría ser aprovechado en plataformas teranósticas multifuncionales para imágenes y tratamientos fototérmicos, presentando oportunidades significativas en la construcción de diseños fotodinámicos aplicados a implantes ortopédicos funcionales.

A partir de los resultados obtenidos, se diseñó e implementó un sistema automatizado capaz de controlar de manera precisa y reproducible los principales parámetros durante el proceso de oxidación anódica. El sistema está comprendido por una celda de reacción de polipropileno con una ventana de acrílico y un módulo de control de temperatura digital. Además, posee un brazo robótico de polipropileno con una barra de grafito como cátodo y un soporte para un disco pulido de Ti-6Al-4V como ánodo. Los electrodos están conectados a una fuente de voltaje variable. El brazo tiene la posibilidad de realizar movimientos rotacionales y verticales precisos para colocar los electrodos en posición y los discos de Ti-6Al-4V en frente de la ventana para la obtención de imágenes digitales usando un microscopio digital para evaluar el pulido mecánico y el anodizado electroquímico. El prototipo desarrollado opera con iluminación controlada a través de un arreglo de LEDs. Un amperímetro registra la corriente que circula en el proceso de anodizado. Todas las partes mencionadas que conforman al prototipo se encuentran sobre una base estructural de PLA, la que incluye también una serie de sensores, actuadores y mecanismos esenciales para las operaciones del sistema a través de un microcontrolador comercial. Tras una cuidadosa optimización de los parámetros más importantes implicados en el proceso, y analizando las medidas de la corriente que circula por el sistema y las imágenes de la superficie a lo largo del proceso, se confirmó que el factor que afecta de manera más significativa a la formación de la capa de óxido superficial es la concentración de HF en el electrolito. Este sistema permitiría establecer los parámetros para replicar el tratamiento de manera efectiva sobre piezas metálicas de prótesis comerciales, además de monitorear su trazabilidad, en tiempo real, durante el proceso, obteniendo las nanoestructuras deseadas y representando un gran avance en la aplicación de esta técnica de modificación superficial proporcionando mejoras en estos biomateriales.

Un aspecto a considerar para el rendimiento de los implantes ortopédicos es la corrosión y desgaste que pueden sufrir una vez implantados, acortando la vida útil del implante y liberando residuos potencialmente tóxicos para el organismo. Para evaluar estos procesos es indispensable contar con métodos analíticos que permitan la cuantificación de los metales presentes en los implantes de manera simple, rápida y económica. Por lo mencionado, en la

última parte de esta Tesis, se presenta el desarrollo de una metodología para la cuantificación de aluminio y vanadio liberados de la aleación Ti-6Al-4V en forma simultánea en medios biológicos simulados. La metodología desarrollada, combina de forma conjunta, la espectroscopía UV-VIS y el procesado de datos con diferentes herramientas quimiométricas, incluyendo PLS, Algoritmo de Proyecciones Sucesivas por intervalos acoplado a Mínimos Cuadrados Parciales (*i*SPA-PLS) y Resolución de Curvas Multivariantes - Mínimos Cuadrados Alternos (MCR-ALS). Los mejores resultados se obtuvieron con *i*SPA-PLS para la determinación de aluminio y vanadio en términos de capacidad predictiva.

ABSTRACT

In the field of biomedicine, the design and development of advanced coatings for metallic biomaterials, such as grade 5 titanium (Ti-6Al-4V), play a key role in improving the biocompatibility and performance of medical implants. Grade 5 titanium, known for its excellent mechanical strength and biocompatibility, represents a solid basis for the investigation of new coatings aimed at optimizing the integration of the implant with the surrounding bone tissue. In this context, the present proposal focuses on the design, development and characterization of innovative coatings based on Ti-6Al-4V alloy, specifically titanium dioxide (TiO₂). These coatings aim not only to improve the biological response of the implant, but also to integrate it more effectively with the surrounding bone tissue and provide it with new and improved properties that allow it to be used in specific therapies.

A TiO₂ coating was developed by electrochemical treatment, specifically anodic oxidation. To apply the treatment, Ti-6Al-4V disks were used as an anode in an acidic H₃PO₄/HF solution. By controlling the main parameters of the electrochemical process such as applied voltage, electrolyte concentration, temperature and reaction time, a TiO₂ coating with a periodically repeating nanoporous structure was obtained, giving the alloy a unique surface characterized by thermal oxidation stability, multi-scale roughness, hydrophobic behavior and exceptional electro-optical properties. In a second instance, silver nanoparticles with prism morphology (p-AgNPs) were deposited on the developed nanoporous coatings by two different procedures: (i) discs with the electrochemically anodized TiO₂ coating were placed in a reaction cell where p-AgNPs were synthesized following a previously optimized procedure and left in the dark for a stipulated time (*in situ* deposition procedure), (ii) on the other hand, the discs were immersed in a p-AgNPs suspension for several hours in the dark (*ex situ* deposition procedure). It was then demonstrated that the developed nanoporous layer is a noble substrate for simple and efficient immobilization of the nanoparticles. Furthermore, it was determined that the *in situ* deposition procedure improves the electro-optical properties of the TiO₂ coating by photo-conversion under NIR irradiation, demonstrating that the radiation emitted on the surface of the p-AgNPs can be reflected by the titanium substrates inside the nanopores, increasing the mid-near infrared reflection signals and improving the surface reflectance. On the other hand, it was observed that these surfaces exhibit a high photoconversion capacity by increasing their temperature when irradiated with NIR radiation. Due to the aforementioned properties, the developed nanoporous coating could be exploited in multifunctional theranostic platforms for

imaging and photothermal treatments, presenting significant opportunities in the construction of photodynamic designs applied to functional orthopaedic implants.

Based on the results obtained, an automated system capable of accurately and reproducibly controlling the main parameters during the anodic oxidation process was designed and implemented. The system consists of a polypropylene reaction cell with an acrylic window and a digital temperature control module. In addition, it has a polypropylene robotic arm with a graphite rod as cathode and a holder for a polished Ti-6Al-4V disc as anode. The electrodes are connected to a variable voltage source. The arm has the ability to perform precise rotational and vertical movements to place the electrodes in position and the Ti-6Al-4V discs in front of the window for digital imaging using a digital microscope to evaluate mechanical polishing and electrochemical anodizing. The developed prototype operates with controlled illumination through an LED array. An ammeter records the current flowing in the anodizing process. All the aforementioned parts that make up the prototype are on a PLA structural base, which also includes a series of sensors, actuators and mechanisms essential for the system's operations through a commercial microcontroller. After careful optimization of the most important parameters involved in the process, and analyzing the measurements of the current flowing through the system and the images of the surface throughout the process, it was confirmed that the factor that most significantly affects the formation of the surface oxide layer is the concentration of HF in the electrolyte solution. This system would allow establishing the parameters to replicate the treatment effectively on metal parts of commercial prostheses, in addition to monitoring its traceability in real time during the process, obtaining the desired nanostructures and representing a breakthrough in the application of this surface modification technique providing improvements in these biomaterials.

One aspect to consider for the performance of orthopaedic implants is the corrosion and wear that they can undergo once implanted, reducing the useful life of the implant and releasing residues that are potentially toxic for the organism. To evaluate these processes, it is essential to have analytical methods that allow the quantification of the metals present in the implants in a simple, fast and economical way. Therefore, in the last part of this Thesis, we present the development of a methodology for the quantification of aluminium and vanadium released from Ti-6Al-4V alloy simultaneously in simulated biological media. The developed methodology combines UV-VIS spectroscopy and data processing with different chemometric tools, including PLS, Interval Successive Projections Algorithm coupled to Partial Least Squares (*i*SPA-PLS) and Multivariate Curve Resolution - Alternating Least Squares (MCR-ALS). The best results were

obtained with *i*SPA-PLS for the determination of aluminum and vanadium in terms of predictive ability.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometry</i> , Espectrometría de absorción atómica
A	Amperímetro
AC	Acetona
AC	Ángulo de contacto
AFM	<i>Atomic force microscope</i> , Microscopio de fuerza atómica
AJC	Análisis jerárquico de clusters
Al	Aluminio
Al ₂ O ₃	Trióxido de dialuminio
AlCl ₃	Cloruro de aluminio
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i> , Sociedad Americana para Pruebas y Materiales
BBD	<i>Box Behnken Design</i> , Diseño Box Behnken
BE	Base estructural
BR	Brazo robótico
C ₂ H ₃ NaO ₂	Acetato de sodio
CH ₃ COOH	Ácido acético
CP-Ti	<i>Commercially pure titanium</i> , Titanio comercialmente puro
CR	Celda de reacción
e-AgNPs	Nanopartículas de plata con morfología de esfera
EDX	<i>Energy dispersive X-ray</i> , Energía dispersiva de rayos X
EJCR	<i>Elliptical joint confidence region</i> , Región elíptica de confianza conjunta
EtOH	Etanol
Eλ	Irradiancia espectral
F ⁻	Ion fluoruro
FCO	Final de carrera óptico
FL	Fotoluminiscencia
GIXRD	<i>Grazing incidence X-ray diffraction</i> , Difracción de rayos X con incidencia rasante
H ₃ PO ₄	Ácido orto-fosfórico
HF	Ácido fluorhídrico
HR-SEM	<i>High resolution scanning electronic microscope</i> , Microscopio electrónico de barrido de alta resolución

HS	<i>Hank Solution</i> , Solución de Hank
HSV	<i>Hue-saturation-value</i> , Matiz-saturación-valor
ICP-AES	<i>Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy</i> , Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> , Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy</i> , Espectroscopía de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente
iSPA-PLS	<i>Interval Successive Projection Algorithm coupled to Partial Least Squares</i> , Algoritmo de Proyecciones Sucesivas por intervalos acoplado a Mínimos Cuadrados Parciales
LDOS	<i>Local density of states</i> , Densidad local de estados
LOD	<i>Limit of Detection</i> , Límite de detección
LOQ	<i>Limit of Quantification</i> , Límite de cuantificación
LSPR	<i>Localized Surface plasmon resonance</i> , Resonancia plasmónica superficial localizada
MCR-ALS	<i>Multivariate Curve Resolution by Alternating Least Squares</i> , Resolución de curvas multivariantes por mínimos cuadrados alternos
MD	Microscopio digital
MEC	Matriz Extracelular
MeOH	Metanol
MIR	<i>Mid Infrared</i> , Infrarrojo medio
MQ	Mili-Q
NaCl	Cloruro de sodio
NH ₂ PO ₄	Fosfato de sodio monobásico
NIR	<i>Near Infrared</i> , Infrarrojo cercano
NTs	Nanotubos
OFF	Corrección del desplazamiento por línea de base
p-AgNPs	Nanopartículas de plata con morfología de prisma
PLA	<i>Polylactic acid</i> , Ácido poliláctico
PLS	<i>Partial Least Squares</i> , Mínimos Cuadrados Parciales
r _{cv}	Coefficiente de corrección de validación cruzada
REP	<i>Relative error of prediction</i> , Error relativo de predicción
RMSECV	<i>Root Mean Square Error of Cross-Validation</i> , Error cuadrático medio de validación cruzada
RMSEP	<i>Root Mean Square Error of Prediction</i> , Error cuadrático medio de predicción

ROI	<i>Region of interest</i> , Región de interés
RPD	<i>Relationship between performance and prediction deviation</i> , Relación entre el rendimiento y la desviación de la predicción
r_{pred}	Coficiente de predicción
SA	Sistema automatizado
SD	Soporte de disco
SGD	Primera derivada de Savitzsky-Golay
SiC	Carburo de silicio
SPXY	<i>Sample set partitioning algorithm based on joint x-y distances</i> , Algoritmo de partición del conjunto de muestras basado en las distancias x-y conjuntas
SVD	<i>Singular value decomposition</i> , Descomposición del valor singular
SWIR	<i>Short-wave infrared</i> , Infrarrojo de onda corta
TA	Temperatura ambiente
Ti	Titanio
Ti-13Nb-13Zr	Titanio con 13% en peso de niobio y 13% en peso de circonio
Ti ₂ O ₃	Trióxido de dititanio
Ti-5Al-2.5Fe	Titanio con 5% en peso de aluminio y 2.5% en peso de hierro
Ti-6Al-4V	Titanio con 6% en peso de aluminio y 4% en peso de vanadio
Ti-6Al-7Nb	Titanio con 6% en peso de aluminio y 7% en peso de niobio
TiO	Óxido de titanio
TiO ₂	Dióxido de titanio
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-visible
V	Vanadio
V ₂ O ₅	Pentaóxido de divanadio
VA	Ventana de acrílico
VCl ₃	Cloruro de vanadio
α	Fase Alfa del titanio
α -Ti-6Al-4V	Titanio con 6% en peso de aluminio y 4% en peso de vanadio, anodizado
β	Fase Beta del titanio
θ_A	Ángulo de contacto avanzando
θ_c	Ángulo de contacto de Cassie-Baxter

θ_R	Ángulo de contacto retrocediendo
θ_w	Ángulo de contacto de Wenzel
ω	Ángulo del haz incidente

ÍNDICE

Prefacio	IV
Agradecimientos	V
Resumen.....	VI
Abstract	IX
Lista de abreviaturas	XII
Capítulo 1: Introducción	1
1.1. Huesos y tejido óseo	2
1.2. Biomateriales	6
1.3. Titanio y aleaciones a base de titanio.....	11
1.3.1. Propiedades.....	11
1.3.2. Biocompatibilidad	14
1.3.3. Corrosión y desgaste	16
1.3.4. Aplicaciones.....	18
1.3.5. Modificaciones superficiales	20
1.4. Sistemas automatizados en el análisis y diseño de biomateriales metálicos.....	26
1.5. Consideraciones finales	27
1.6. Bibliografía	29
Capítulo 2: Objetivos	54
2.1. Objetivo general	55
2.2. Objetivos específicos	55
Capítulo 3: Recubrimiento bioinspirado sobre Ti-6Al-4V	56
3.1. Introducción.....	57
3.2. Objetivo	57
3.3. Experimental.....	58
3.3.1. Materiales.....	58
3.3.2. Anodizado de las láminas de Ti-6Al-4V	58
3.3.3. Caracterización microestructural	58
3.3.4. Medidas ópticas	60
3.3.5. Medidas de ángulo de contacto estático y dinámico.....	61

3.4. Resultados y discusión.....	62
3.4.1. Recubrimiento de nanoestructura	62
3.4.2. Humectabilidad	72
3.4.3. Análisis de bandas prohibidas, reflectancia NIR y emisión de fluorescencia espontánea amplificada	76
3.5. Conclusiones	81
3.6. Bibliografía	82
Capítulo 4: Respuesta NIR mejorada de recubrimientos de Ti-6Al-4V activados	88
4.1. Introducción.....	89
4.2. Objetivo	89
4.3. Experimental.....	90
4.3.1. Materiales.....	90
4.3.2. Nanopartículas de plata sobre la superficie nanoporosa de Ti-6Al-4V.....	90
4.3.3. Caracterización microestructural	91
4.3.4. Medidas ópticas	91
4.3.5. Aumento de la temperatura.....	92
4.3.6. Medidas de ángulo de contacto estático	93
4.4. Resultados y discusión.....	93
4.4.1. Propiedades optoelectrónicas de las superficies α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs.....	93
4.4.2. Conversión fototérmica NIR.....	99
4.4.3. Ángulo de contacto estático.....	100
4.5. Conclusiones	102
4.6. Bibliografía	103
Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico	107
5.1. Introducción.....	108
5.2. Objetivo	109
5.3. Experimental.....	109
5.3.1. Reactivos y materiales.....	109
5.3.2. Sistema automatizado.....	110
5.3.2.1. Electrónica	112
5.3.2.2. Procedimiento	114
5.3.3. Diseño de experimento del anodizado electroquímico	114
5.3.4. Medidas de corriente del anodizado electroquímico	116

5.3.5. Imágenes digitales.....	116
5.3.5.1. Coeficiente de correlación de Pearson.....	117
5.4. Resultados y discusión.....	118
5.4.1. Control del pulido mecánico.....	118
5.4.2. Corriente de anodizado electroquímico.....	121
5.4.3. Procesamiento de imágenes digitales.....	128
5.5. Conclusiones.....	133
5.6. Bibliografía.....	135
Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada	138
6.1. Introducción.....	139
6.2. Objetivo.....	140
6.3. Experimental.....	140
6.3.1. Reactivos y materiales.....	140
6.3.2. Preparación de testigos y muestras.....	141
6.3.3. Procedimiento quimiométrico.....	142
6.4. Resultados y discusión.....	144
6.4.1. Efectos del pH y procedimientos de pretratamiento.....	144
6.4.2. Determinación de la concentración de aluminio y vanadio.....	145
6.4.3. Muestras.....	149
6.5. Conclusiones.....	152
6.6. Bibliografía.....	153
Capítulo 7: Conclusiones generales	160
Capítulo 8: Propuestas futuras.....	164
Capítulo 9: Producción científica	167
9.1. Publicaciones en revistas científicas internacionales.....	168
9.1.1. Asociadas al trabajo de esta tesis.....	168
9.1.2. General.....	168
9.2. Capítulos de libro.....	169
9.2.1. General.....	169
9.3. Patentes.....	169
9.4. Presentaciones en reuniones científicas.....	169
9.4.1. Asociados al trabajo de esta tesis.....	169

9.4.2. General..... 170

Capítulo 1

Introducción

1.1. Huesos y tejido óseo

El sistema esquelético humano comprende huesos, cartílagos, tendones, tejidos conectivos y ligamentos. Los huesos son tejidos robustos, organizados, vascularizados y metabólicamente activos. El tejido óseo constituye una de las variedades especializadas de tejido conectivo siendo uno de los mayores sistemas del organismo, es un tejido vascularizado e innervado y es el principal componente estructural de los huesos. Al igual que otras variedades de tejido conectivo está compuesto por una fracción celular muy activa (osteoblastos, osteocitos, osteoclastos y células de revestimiento óseo) y una matriz extracelular (MEC), en este caso mineralizada. La MEC ósea comprende alrededor de un 65-70 % de matriz inorgánica, un 25-30 % de matriz orgánica, un 5-10 % de contenido en agua y un 1-3 % de lípidos. La matriz inorgánica está constituida principalmente por hidroxapatita dopada con iones traza. La matriz orgánica está constituida por aproximadamente un 90 % de colágeno fibrilar de tipo I y un 10 % de proteínas no colágenas y polisacáridos [1-5]. El tejido óseo es un tejido dinámico, altamente especializado y con gran actividad. El mismo, realiza diferentes funciones dentro del organismo, entre las que se destacan las mecánicas, de protección, y metabólicas. Conforman la parte estructural de los huesos, de modo que posibilita la estación, los movimientos corporales y la protección de órganos vitales como los pulmones, el corazón y los órganos del sistema nervioso central. Además, forma un almacén estructural que aloja a la médula ósea, interactuando con las células precursoras de la hematopoyesis. En virtud de su contenido mineral, al estar compuesto por fosfato de calcio en forma de cristales de hidroxapatita, el tejido óseo constituye un reservorio de calcio y fósforo, y, por consiguiente, interviene en la regulación homeostática de la calcemia (concentración de calcio en la sangre) y fosfatemia (concentración de fosfato en la sangre). El tejido óseo es un tejido altamente dinámico que puede responder a una serie de estímulos metabólicos, físicos y endocrinos [6, 7].

Estructura y composición ósea

Desde el punto de vista estructural, el hueso posee distintos niveles jerárquicos, como la macroestructura: hueso cortical o compacto y trabecular o esponjoso; la microestructura (de 10 a 500 μm): sistemas haversianos, osteonas, trabéculas individuales; la submicroestructura (de 1 a 10 μm): lamelas; la nanoestructura (de 100 nm a 1 μm): colágeno fibrilar y mineral incrustado; y la subnanoestructura (por debajo de unos cientos de nanómetros): estructura molecular de elementos constitutivos, como mineral, colágeno y proteínas orgánicas no colágenas (Figura 1.1). Esta estructura jerárquicamente organizada presenta una disposición y orientación

irregular, aunque optimizada, de los componentes, lo que hace que el material del hueso sea heterogéneo y anisótropo [1, 2, 5, 8, 9].

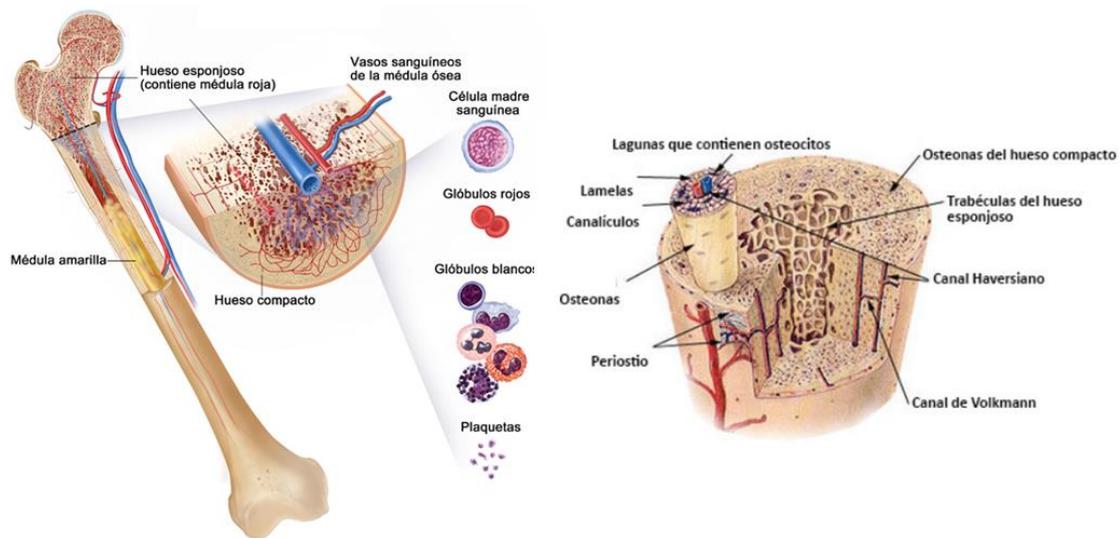


Figura 1.1. Niveles estructurales óseos

Desde el punto de vista de su composición, como se ha mencionado, el tejido óseo está compuesto por distintos tipos de células como son los osteoclastos, osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento óseo y una matriz extracelular.

Osteoclastos

Los osteoclastos son células multinucleadas especializadas que forman parte del sistema monocito-macrófago y desempeñan un papel crucial en la remodelación ósea. Provenientes de células precursoras mononucleares del linaje monocito-macrófago, se cree que la mayoría de los osteoclastos tienen su origen en células precursoras de monocitos-macrófagos ubicadas en la médula ósea. La función principal de los osteoclastos es llevar a cabo la resorción ósea, un proceso esencial para el mantenimiento y la renovación del tejido óseo, mediante la secreción de iones de hidrógeno y la enzima catepsina K. Los iones de hidrógeno acidifican el compartimento de resorción, permitiendo la disolución del componente mineral de la matriz ósea, mientras que la catepsina K digiere la matriz proteínica, predominantemente compuesta por colágeno de tipo I. En resumen, los osteoclastos son células especializadas encargadas de la resorción ósea, contribuyendo activamente al equilibrio y mantenimiento del tejido óseo a lo largo del tiempo. [10, 11].

Osteoblastos

Los osteoblastos son células especializadas fundamentales en la formación y síntesis del tejido óseo. Se originan a partir de células precursoras mesenquimales, que se diferencian en células osteoprogenitoras y, finalmente, en osteoblastos. Estos últimos desempeñan un papel esencial en la osteogénesis, el proceso de formación de hueso. La función principal de los osteoblastos es sintetizar y secretar la matriz ósea. Esta matriz consiste en una combinación de sustancias orgánicas, principalmente colágeno de tipo I, y minerales como calcio y fósforo. Durante la mineralización, los osteoblastos participan activamente en la deposición de minerales en la matriz, contribuyendo así a la formación y fortalecimiento del hueso. A medida que la matriz ósea se mineraliza, algunos osteoblastos se incorporan a ella y se transforman en osteocitos, células maduras que mantienen la homeostasis ósea. En resumen, los osteoblastos son células esenciales en la construcción y mineralización del tejido óseo, desempeñando un papel crucial en el mantenimiento y desarrollo de la estructura ósea [11-13].

Osteocitos

Los osteocitos son células maduras y altamente especializadas que se derivan de osteoblastos incorporados en la matriz ósea durante el proceso de mineralización. Estas células forman parte del sistema celular del tejido óseo y desempeñan un papel central en el mantenimiento de la homeostasis ósea. Originados a partir de osteoblastos, los osteocitos se encuentran atrapados en la matriz mineralizada del hueso. Estas células se caracterizan por sus prolongaciones celulares, llamadas canaliculos, que les permiten establecer comunicación con otras células óseas, como osteocitos vecinos y células de la superficie ósea. La función principal de los osteocitos es regular y mantener la densidad mineral ósea. Participan en la detección de fuerzas mecánicas y señales bioquímicas dentro del tejido óseo, lo que les permite coordinar procesos de remodelación y reparación. Además, los osteocitos contribuyen al equilibrio entre la formación y resorción ósea, influenciando activamente la adaptación del hueso a cambios en la carga mecánica y otros estímulos. En resumen, los osteocitos son células maduras especializadas en la homeostasis ósea, desempeñando un papel crucial en la regulación del tejido óseo y en la respuesta a factores ambientales y mecánicos [14].

Matriz Extracelular

La MEC es una estructura tridimensional no celular secretada por las células al espacio extracelular. Está compuesto por proteínas y polisacáridos específicos. La MEC proporciona integridad y elasticidad al tejido y se reforma constantemente debido a cambios en la abundancia de receptores, factores de crecimiento y el pH del ambiente local para controlar el

desarrollo, la función y la homeostasis de los tejidos y órganos [15, 16]. La matriz ósea comprende compuestos orgánicos (40 %) e inorgánicos (60 %). Además, su composición exacta difiere según el sexo, la edad y las condiciones de salud. Los principales componentes inorgánicos de la MEC son la apatita y los oligoelementos deficientes en calcio. Por el contrario, la MEC orgánica es significativamente más compleja y se compone principalmente de colágeno tipo I (90 %) y proteínas no colagenosas (10 %). Es sintetizada principalmente por osteoblastos [17], e interactúa dinámicamente con células del linaje de osteoblastos y osteoclastos para regular la formación de hueso nuevo durante la regeneración [18].

Dinámica y remodelación ósea

El hueso es un tejido dinámico en constante formación y reabsorción, que permite el mantenimiento del volumen óseo, la reparación del daño tisular y la homeostasis del metabolismo fosfocálcico. A lo largo de la vida, los huesos experimentan crecimiento tanto longitudinal como radial, así como procesos de modelado y remodelación. El crecimiento longitudinal y radial se produce durante la infancia y la adolescencia mientras que el remodelado óseo existe toda la vida, pero sólo hasta la tercera década el balance es positivo. Es precisamente alrededor de los treinta años cuando se alcanza la máxima masa ósea, la cual se mantiene con pequeñas variaciones hasta los 50 años. A partir de entonces, predomina la reabsorción y la masa ósea comienza a disminuir. El proceso de remodelado óseo implica la reestructuración del hueso existente, que se encuentra en constante formación y reabsorción, evitando la acumulación de microdaños óseos. Este equilibrio permite, en condiciones normales, renovar aproximadamente un 5-10 % del hueso total cada año.

A nivel microscópico el remodelado óseo se produce en pequeñas áreas de la cortical o de la superficie trabecular, llamadas unidades básicas multicelulares, donde los osteoclastos gracias a enzimas líticas que degradan minerales reabsorben una cantidad determinada de hueso (liberando calcio y fósforo) y los osteoblastos, capaces de secretar colágeno tipo I y proteínas como la osteocalcina y osteopontina, forman la matriz osteoide y la mineralizan para rellenar la cavidad previamente creada, por último cuando los osteoblastos quedan encerrados por la matriz generada se convierten en osteocitos que se encargan del mantenimiento del hueso controlando el depósito y la liberación de minerales, regulando así la densidad mineral ósea. Cuando este proceso se desequilibra aparece la patología ósea, bien por exceso (osteopetrosis) o por defecto (osteoporosis) [11, 19-22].

1.2. Biomateriales

Los biomateriales son sustancias, naturales o sintéticas, diseñadas para interactuar de manera segura y eficiente con sistemas biológicos, con el propósito de ser utilizadas en aplicaciones médicas, terapéuticas o biomiméticas. Estos materiales pueden ser empleados para desarrollar dispositivos médicos, implantes, tejidos artificiales u otras estructuras que buscan mejorar la función biológica, restaurar tejidos o proporcionar soporte en el contexto de la salud humana. La selección y diseño cuidadoso de biomateriales son fundamentales para garantizar la biocompatibilidad y eficacia de las aplicaciones médicas en las que se utilizan. Los biomateriales han experimentado una evolución significativa desde sus comienzos, transitando desde materiales inertes y estáticos hacia una nueva generación de materiales interactivos capaces de responder a los microambientes dinámicos presentes en el cuerpo humano [23]. Simultáneamente, los avances en medicina han ampliado el espectro de aplicaciones de los biomateriales más allá de su uso convencional en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa. En la actualidad, los biomateriales juegan un papel esencial en la teranóstica, posibilitando tanto el diagnóstico como el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades, además de facilitar la creación de modelos de enfermedades. En los últimos años, se han emprendido numerosos esfuerzos para mejorar la capacidad de respuesta y la adaptabilidad de los biomateriales [24]. Se pueden mencionar innumerables avances y aplicaciones como pueden ser: (a) desarrollo y aplicación de biomateriales que responden a estímulos exógenos en el control de células madre multipotente [25], (b) fabricación de biomateriales versátiles que respondan a estímulos relacionados con desencadenantes físicos externos, como irradiación de luz, campos eléctricos y magnéticos, ultrasonidos y estímulos mecánicos, o microambientes de enfermedades endógenas o que involucran múltiples estrategias integradas con funciones terapéuticas y regenerativas óseas [26], (c) biomateriales que pueden imitar el microambiente de la MEC ósea, cruciales para la regeneración del tejido óseo, y proporcionar señales mecánicas para regular la diferenciación de células madre mesenquimales óseas mediante la inducción de la secreción de diversos factores intracelulares, a través de señales mecánicas, que incluyen tensión, compresión, cizallamiento, presión hidrostática, rigidez, elasticidad y viscoelasticidad y a través de señales electrónicas [27], (d) biomateriales inorgánicos como, nanomateriales a base de carbono y nanopartículas metálicas entre otros, sensibles a las radiaciones en el diseño dispositivos médicos no invasivos, sin contacto, precisos y controlables con aplicaciones en terapias fototérmicas, fotodinámica, administración de fármacos y medicina regenerativa [28], (e) fabricación y aplicación de biomateriales antimicrobianos inmunomoduladores [29] o (f) desarrollo de biomateriales a base

de seda en el tratamiento de ciertas infecciones y enfermedades relacionadas con la piel, ojos, dientes, huesos, corazón, nervios e hígado [30].

Implantes ortopédicos

La incorporación de biomateriales en la ortopedia contemporánea ha marcado el inicio de una era transformadora, destacada por una mejora en la atención al paciente, técnicas quirúrgicas más precisas y la creación de nuevas oportunidades terapéuticas. La constante búsqueda de mejores resultados para los pacientes impulsa el progreso de los biomateriales en el campo ortopédico. El objetivo de los avances es prolongar la duración de los dispositivos ortopédicos, reducir la incidencia de problemas y minimizar el rechazo de los implantes. En última instancia, mediante operaciones ortopédicas más seguras y eficientes, se pretende mejorar la calidad de vida de los pacientes con trastornos musculoesqueléticos. Biomateriales metálicos, cerámicos y polímeros biocompatibles desempeñan un papel fundamental en la consecución de este objetivo [31-33].

Dentro de los avances médicos, la ortopedia ha experimentado notables progresos en la investigación y aplicación de biomateriales, los cuales desempeñan un papel crucial en el tratamiento de enfermedades y lesiones musculoesqueléticas. Al ser implantados en el organismo, los biomateriales ortopédicos cumplen diversas funciones biológicas, como la sustitución o reparación de tejidos, abarcando huesos, cartílagos, ligamentos y tendones, además de orientar la regeneración ósea. Por lo mencionado, la elección de los biomateriales es concluyente ya que debe garantizar la biocompatibilidad, la bioactividad y la osteoinducción teniendo en cuenta las condiciones del entorno biológico en el cual será implantando además de sus propiedades mecánicas, químicas y físicas [34, 35]. El progreso en el campo de los biomateriales ha sido notable, logrando desarrollar materiales que son biocompatibles, bioinertes, bioactivos y biodegradables. Estos avances han permitido mejoras significativas en el tratamiento de fracturas, incluso desde el siglo pasado, mediante el uso de aleaciones como el acero inoxidable para la fijación ósea mediante placas, tornillos y clavos. Por otro lado, las aleaciones biometálicas más avanzadas para articulaciones se centran en el empleo de titanio (Ti) y sus aleaciones pudiendo ser dopadas con determinadas sustancias o partículas y con modificaciones superficiales [36-39]. Como material de soporte y conexión de articulaciones los polímeros diseñados químicamente están siendo cada vez más frecuentemente empleados [40-43]. Cerámicas bioactivas son empleadas para tratar defectos óseos y como material de sutura se utilizan polímeros biocompatibles y bioadsorbibles [44].

Implantes metálicos

Los primeros metales empleados con éxito en implantes fueron, a principios del siglo XX, el acero inoxidable y las aleaciones de cromo y cobalto, luego, en la década del 40, comenzaron a utilizarse el titanio y sus aleaciones [33]. Los metales nobles como el oro, la plata y el platino son empleados ocasionalmente como biomateriales, debido a su elevado costo, alta densidad y baja resistencia en comparación con los metales anteriormente mencionados [45].

En cuanto a los implantes dentales, los primeros intentos utilizando oro y platino a finales del siglo XIX y principios del XX resultaron en fracasos. Sin embargo, a finales de la década de 1930 se lograron realizar los primeros implantes utilizando aleaciones de cromo y cobalto, y posteriormente, en la década de 1950, se registró el primer implante dental exitoso con titanio. En la actualidad, la mayoría de los implantes metálicos son de titanio o aleaciones basadas en titanio. [23].

Los implantes de biomateriales metálicos prevalecen en la práctica clínica debido a sus destacadas características, que incluyen una elevada resistencia, buenas propiedades mecánicas, elasticidad, resistencia a la corrosión, resistencia al desgaste, resistencia a la fatiga, tenacidad, entre otras [46]. Además, su demanda está en alza, ya que el aumento en la esperanza de vida de la población mundial resulta en una mayor proporción de personas mayores, quienes enfrentan un mayor riesgo de sufrir problemas en los tejidos duros. Se prevé también que, debido a los cambios en el estilo de vida, el número de personas afectadas por trastornos articulares y óseos aumentará en los próximos años. Por lo tanto, se espera que aumente la demanda de implantes nuevos y mejorados y, en consecuencia, es imprescindible mejorar la calidad de los materiales de los mismos y los procedimientos de tratamiento [46].

De los biomateriales metálicos más empleados en la actualidad, las aleaciones a base de titanio presentan la mayor biocompatibilidad, resistencia a la corrosión y resistencia específica (relación entre la resistencia a la tracción y la densidad), en comparación con los aceros inoxidables y las aleaciones de cromo y cobalto. Las aleaciones de cromo y cobalto presentan la mayor resistencia al desgaste y una resistencia relativamente mayor que los aceros inoxidables y las aleaciones a base de titanio, y los aceros inoxidables presentan mayor ductilidad y resistencia a la torsión cíclica [47]. Una propiedad mecánica crucial desde el punto de vista clínico a considerar en los biomateriales metálicos es el módulo de Young, o módulo de elasticidad, ya que los biomateriales metálicos presentan valores mucho más altos que los huesos provocando una disparidad que genera un fenómeno conocido como blindaje de tensiones. Este fenómeno provoca una mala remodelación ósea provocando una disminución en la densidad ósea

(osteopenia), haciendo que el hueso sea más frágil y propenso a fracturas [48, 49]. Por este motivo, se requieren de biomateriales que presenten rigidez estructural y un bajo módulo de Young, en donde las aleaciones a base de titanio son las más indicadas. En la Tabla 1.1 se presentan valores del módulo de Young para los biomateriales metálicos más empleados y para el hueso cortical [33].

Tabla 1.1. Módulo de Young de biomateriales metálicos y hueso cortical [33].

Material	Módulo de Young (GPa)
Acero inoxidable 316L	205 – 210
Aleaciones de cromo y cobalto	220 – 230
Aleaciones a base de titanio	105 – 125
Hueso cortical	10 – 30

Por otro lado, la respuesta biológica al implante es fundamental para el rendimiento clínico. Esta respuesta genera reacciones biológicas adversas cuando partículas o iones metálicos son liberados por los implantes. Cuando productos de desgaste o corrosión son liberados en las interfaces de articulación del implante, se generan respuestas inflamatorias locales pudiendo ocasionar un proceso patológico conocido como osteólisis aséptica en donde se produce una disminución en la función de los osteoblastos y un aumento en la actividad de los osteoclastos generando la resorción del hueso alrededor del implante. Al ocurrir esta condición, se da el aflojamiento eventual del implante y se ve afectada su funcionalidad y estabilidad, lo que puede concluir en su sustitución.

La respuesta a los residuos metálicos liberados por los implantes está dominada por la activación inmunitaria local, por ejemplo, de los macrófagos. Se ha demostrado que la reactividad inmunitaria depende del número de partículas producidas o de la dosis, es decir, la concentración de partículas fagocitables por volumen de tejido, que puede caracterizarse conociendo la distribución de tamaños y la cantidad de restos. Las partículas alargadas (fibras) suelen ser más proinflamatorias que las redondas, y cada vez hay más consenso en que las partículas metálicas son más proinflamatorias que las poliméricas [50].

La osteólisis aséptica es, luego de las infecciones, la complicación más frecuente que lleva a la sustitución del implante, y se estima que es inevitable el aflojamiento del implante por causa de esta patología como máximo alrededor de 15-20 años después de la cirugía. Así pues, la liberación de partículas metálicas de desgaste y productos de corrosión y la subsiguiente

respuesta biológica a estos desechos juegan un papel fundamental en la durabilidad de los implantes ortopédicos [51].

Como se mencionó previamente, las infecciones bacterianas son el principal factor causante de complicaciones y necesidad de remoción de los implantes. La implantación de prótesis metálicas en el cuerpo aumenta el riesgo de colonización bacteriana, pudiendo evolucionar hacia una infección asociada al implante. Los estafilococos, especialmente el *Staphylococcus aureus*, presentan una marcada tendencia a colonizar elementos extraños, dando lugar a infección [52, 53]. Esta tendencia se atribuye a su capacidad para formar biofilms de manera eficaz en las superficies de los implantes, los cuales encapsulan el nicho bacteriano y actúan como barrera protectora contra los mecanismos de defensa del cuerpo y los efectos de los antibióticos [54 - 56]. Además, el uso generalizado de antibióticos ha llevado a que las bacterias estén expuestas a concentraciones subinhibitorias de los mismos, generando resistencia hacia estos [57]. Como alternativa o terapia adyuvante al empleo de los antibióticos, en la actualidad se están desarrollando nuevas estrategias para prevenir las infecciones bacterianas. Algunas de estas estrategias son: la funcionalización de implantes con antibióticos o fármacos antibacterianos como péptidos de defensa del huésped, componentes orgánicos (quitosano y derivados) e inorgánicos (plata, cobre) y nanopartículas metálicas. Por otro lado, la modificación de la superficie antibiopelícula (recubrimiento con polímeros antiincrustantes o inhibidores de sensores de quórum); o cambios físicos en la superficie, le otorgan al implante propiedades antibacterianas (nanotubos, nanopilares o dopaje con metales) [58, 59].

Por último, es crucial destacar que mantener un entorno inflamatorio equilibrado alrededor del implante es fundamental. Tanto las respuestas inflamatorias excesivas como las que están reguladas negativamente pueden conducir a una regeneración ósea clínicamente subóptima [32, 33]. Una respuesta inflamatoria equilibrada es el estado óptimo en el que el sistema inmunológico innato trabaja para erradicar las infecciones. Por un lado, la ausencia de inflamación es perjudicial para el huésped, ya que es incapaz de erradicar las infecciones bacterianas [34, 35] y, por otro lado, la inflamación crónica se asocia con patologías como osteólisis aséptica, mencionada previamente [60-62]. En base a lo discutido, los biomateriales antiinfecciosos preventivos deben ser inmunocompatibles, lo que significa que deben inducir una respuesta inflamatoria equilibrada, no ser tóxicos y favorecer la destrucción de las bacterias [63].

1.3. Titanio y aleaciones a base de titanio

El titanio es el noveno elemento más abundante en la tierra, y encuentra sus principales fuentes minerales en el rutilo, la brookita y la anatasa. Tanto el rutilo como la anatasa exhiben una estructura cristalina tetragonal, mientras que la brookita presenta una estructura cristalina ortorrómbica. En comparación con otros elementos, la densidad del titanio es de sólo $4,51 \text{ g cm}^{-3}$, que es aproximadamente el 56 % del acero [64]. El punto de fusión del titanio es de $1668 \text{ }^\circ\text{C}$, unos $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ más que el del aluminio [65]. A partir de la década del 40, el titanio ha sido empleado en la fabricación de implantes quirúrgicos [66], ganando prominencia gracias a su combinación de propiedades como resistencia, módulo de Young y biocompatibilidad, superando a otros materiales metálicos utilizados en aplicaciones biomédicas [67]. Entre las distintas aleaciones a base de titanio, el titanio comercialmente puro (CP-Ti) y la aleación Ti-6Al-4V se destacan como los implantes más ampliamente utilizados en la práctica biomédica [46].

1.3.1. Propiedades

El CP-Ti y la aleación Ti-6Al-4V se especifican según la American Society for Testing and Materials (ASTM) como grados 1 a 5. Los grados 1 a 4 son el CP-Ti sin aleación y el grado 5 es el Ti-6Al-4V aleado. El titanio de grado 2 es el principal titanio no aleado utilizado en aplicaciones de implantes dentales. El titanio de grado 2 tiene un límite elástico equivalente al límite elástico de los aceros inoxidables austeníticos tratados térmicamente. El Ti-6Al-4V de grado 5 es la aleación a base de titanio más utilizada en implantes biomédicos en los que se requiere una alta resistencia [68].

El titanio y las aleaciones a base de titanio poseen propiedades únicas como biocompatibilidad más elevada entre los principales biomateriales metálicos, osteointegración, elevada relación específica (resistencia a la tracción sobre la densidad) y alta resistencia a la corrosión. Estas propiedades los hacen esenciales para la fabricación de componentes ligeros y de alta resistencia para aplicaciones biomédicas. Además, como se ha discutido previamente, el módulo de Young de las aleaciones de titanio es el más bajo (más cercano al valor del módulo del hueso) de los principales biomateriales metálicos empleados como implantes, lo que disminuye las diferencias de tensiones entre el hueso y el implante disminuyendo la resorción ósea y permitiendo que el implante permanezca más tiempo en la zona implantada sin aflojarse [46, 69]. En la Tabla 1.2 se comparan las ventajas y desventajas de los principales biomateriales metálicos empleados como implantes.

Tabla 1.2. Ventajas y desventajas de los principales biomateriales metálicos [46].

	Titanio y aleaciones a base de titanio	Acero inoxidable	Aleaciones a base de cobalto	Aleaciones a base de magnesio
Ventajas	Biocompatible Resistente a la corrosión Resistencia a la fatiga Bajo módulo de Young Baja densidad	Aceptable biocompatibilidad Disponible fácilmente Económico	Resistencia a la corrosión Resistencia al desgaste Resistencia a la fatiga	Biocompatible Biodegradable Bajo módulo de Young
Desventajas	Baja resistencia al desgaste	Baja resistencia a la corrosión Elevado módulo de Young Reacción alérgica	Biológicamente tóxico Elevado módulo de Young Costoso	Baja resistencia a la corrosión Generación de hidrógeno en la degradación

Una de las principales características que le da al titanio una notable amplitud de aplicabilidad es la posibilidad de variar sus propiedades modificando la composición del elemento de la aleación. La adición de estos elementos da como resultado la modulación de las propiedades de la aleación, como el endurecimiento y la mejora de la resistencia a la tracción.

Otra propiedad del titanio es que sufre una transformación alotrópica, es decir, cambia de una forma cristalográfica a otra. A temperatura ambiente, presenta una estructura hexagonal compacta denominada fase alfa (α), mientras que al ser calentado hasta una temperatura de 883 °C cambia a la estructura cúbica centrada en el cuerpo denominada fase beta (β) [70]. La temperatura a la que α o $\alpha+\beta$ cambia a todo β se denomina temperatura β transus. La temperatura β transus es sumamente importante tenerla en cuenta al momento de llevar a cabo algún tratamiento térmico. Las aleaciones a base de titanio se clasifican en cinco categorías cristalinas: α , cerca de α , $\alpha+\beta$, cerca de β y β [46, 71, 72]. Los distintos elementos empleados para alear al titanio estabilizan las fases cristalinas alterando las temperaturas de estabilización. Elementos como oxígeno, aluminio, nitrógeno o carbono, estabilizan de la fase α aumentando

la temperatura a la que esta fase permanece estable y elementos como vanadio, niobio, molibdeno, o tántalo, estabilizan la fase β disminuyendo la temperatura a la que esta fase se estabiliza [73]. Estas variaciones en las temperaturas α a β transus afectan a la transformación de la microestructura de las aleaciones al ser sometidas a tratamientos térmicos para mejorar sus propiedades, desempeñando un papel crucial en las propiedades mecánicas finales como la resistencia, ductilidad y tenacidad a la fractura entre otras que tendrá la aleación. Las aleaciones a base de titanio tipo α tienen una gran soldabilidad, colabilidad y estabilidad estructural pero una resistencia y plasticidad limitadas a temperatura bajas [46, 72, 74]. En comparación, las aleaciones tipo $\alpha+\beta$ presentan una microestructura de fase dual a temperatura ambiente exhibiendo una resistencia superior [75-77]. Mientras tanto, las aleaciones a base de titanio de tipo β presentan módulos elásticos más bajos, una excelente resistencia a la corrosión, una resistencia comparable e incluso una mejor biocompatibilidad [78-82]. Por las propiedades mencionadas, hay que destacar el que titanio presenta como gran ventaja la capacidad de modificar sus propiedades en función del requerimiento clínico a partir de alearlo con distintos elementos y realizarle tratamientos térmicos. En la Tabla 1.3 se presentan la fase constituyente y propiedades del CP-Ti de los distintos grados y de las aleaciones a base de titanio.

Por otra parte, el titanio posee propiedades fotocatalíticas, siendo el dióxido de titanio (TiO_2), la especie más comúnmente utilizada en aplicaciones de este tipo. El TiO_2 es conocido por su capacidad para descomponer compuestos orgánicos e inorgánicos cuando se expone a radiación ultravioleta (UV). Sin embargo, es importante señalar que la fotocatalisis del titanio, depende de varios factores, como la forma cristalina del TiO_2 , la intensidad y longitud de onda de la radiación utilizada, así como las condiciones del medio. La anatasa es la forma cristalina que ha mostrado la mayor actividad fotocatalítica, aunque una muestra de anatasa con presencia de rutilo aumenta dicha actividad. Debido a esta propiedad, el TiO_2 se utiliza en una variedad de aplicaciones [83-85].

Tabla 1.3. Fase constituyente y propiedades de CP-Ti y aleaciones a base de titanio [68, 70].

Material	Fase constituyente	Resistencia a la tracción (MPa)	Límite elástico 0.2% (MPa)	Módulo de Young (Gpa)
CP-Ti Grado 1	α	240	170	105
CP-Ti Grado 2	α	345	275	105
CP-Ti Grado 3	α	445	380	105
CP-Ti Grado 4	α	550	480	105
Ti-6Al-4V	$\alpha+\beta$	895-930	825-869	110-114

Ti-6Al-7Nb	$\alpha+\beta$	860	795	105
Ti-5Al-2.5Fe	$\alpha+\beta$	900	820	110
Ti-3Al-2.5V	$\alpha+\beta$	690	585	100
Ti-11Nb-0.5Fe	$\alpha+\beta$	1300	796	109
Ti-11Nb-3.5Fe	$\alpha+\beta$	1600	932	101
Ti-8Fe	$\alpha+\beta$	1750	1562	127
Ti-1Nb-7Fe	$\alpha+\beta$	1972	1785	124
Ti-9Nb-7Fe	$\alpha+\beta$	2007	1010	89
Ti-13Nb-13Zr	β	973-1037	836-908	79-84
Ti-10Mo-20Nb	β	1060	-	101
Ti-12Mo-13Nb	β	1110	-	84
Ti-12Mo-6Zr-2Fe	β	1060-1100	1000-1060	74-85
Ti-15Mo	β	874	544	78
Ti-24Nb-4Zr-8Sn	β	665-830	563-700	46-55
Ti-15Mo-5Zr-3Al	β	852	838	80
Ti-16Nb-10Hf	β	851	736	81
Ti-35.5Nb-7.3Zr-5.7Ta	β	827	793	55-66
Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr	β	911	864	80
Ti-11Nb-7Fe	β	2006	985	86
Ti-11Nb-9Fe	β	-	1078	82
Ti-33Zr-3Fe-2Cr	β	1750	1050	140
Ti-33Zr-3Fe-4Cr	β	2000	1100	130
Ti-25Nb-3Zr-3Mo-2Sn	β	622-716	308-592	49
Ti-Ni	-	900-1100	210-300	28-41
45.2Ti-49.8Ni-5Nb	-	900	230	38

1.3.2. Biocompatibilidad

Para considerar a un material como un posible implante es imprescindible garantizar que dicho material será biocompatible, es decir, que no cause ningún efecto perjudicial al ser implantando en el cuerpo humano.

La biocompatibilidad ha sido definida como "la capacidad de un biomaterial para desempeñar la función deseada con respecto a una terapia médica, sin provocar efectos locales o sistémicos indeseables en el receptor o beneficiario de dicha terapia, sino generando la respuesta celular

o tisular beneficiosa más adecuada a esa situación específica, y optimizando el rendimiento clínicamente relevante de dicha terapia" [86], o como "la capacidad de un material artificial que se utiliza como implante para funcionar con una respuesta adecuada del huésped. Por lo tanto, la interacción clínica del cuerpo humano y el biomaterial se denomina biocompatibilidad" [69].

Garantizar que un implante no libere sustancias tóxicas en el organismo es esencial, ya que esto podría derivar en daños sistémicos para el paciente [87-90]. Al introducir cualquier material en el cuerpo humano, se desencadena una respuesta intrínseca. Esta reacción se manifiesta de manera más pronunciada en la interfaz tejido-implante, dado que esta zona es inherentemente más reactiva que el núcleo del material. Básicamente, dicha interfaz se percibe como una imperfección bidimensional, donde los átomos exhiben una menor unión con sus vecinos, generando así una mayor energía en comparación con los átomos en el núcleo de los materiales [91].

El titanio se considera biocompatible porque tiene una baja conductividad eléctrica que contribuye a la su oxidación electroquímica, generando una fina capa de óxido pasiva que provoca una gran resistencia a la corrosión [92, 93]. Esta capa pasiva protectora se mantiene en los valores de pH del cuerpo humano debido a que el titanio tiene un punto isoeléctrico de óxido de 5-6 [68]. En entornos acuosos, el titanio y sus óxidos tienen una baja tendencia a la formación de iones y una baja reactividad con macromoléculas [94]. El titanio es considerado seguro para su empleo en implantes ortopédicos ya que produce, únicamente, efectos secundarios mínimos en el cuerpo humano. Esta es una de las principales razones para utilizar a este material. En el caso de las aleaciones a base de titanio, los elementos empleados como aleantes son principalmente aluminio, vanadio, niobio, molibdeno, circonio y tántalo. Estas aleaciones evidencian una mayor biocompatibilidad que los otros biometales como los aceros inoxidable y las aleaciones a base de cobalto, debido a su mayor resistencia a la corrosión [46], siendo de todas maneras el CP-Ti el metal de mayor resistencia a la corrosión y considerado el metal más biocompatible por la mencionada capa de óxido estable e inerte [68]. Además, desde el punto de vista de problemas alérgicos, el titanio y las aleaciones a base de titanio son ventajosas para aplicaciones médicas. Por otro lado, es importante destacar que las aleaciones de Ti tipo β presentan una mayor biocompatibilidad que las tipo α o $\alpha+\beta$ debido a que, como se observa en la Tabla 1.3, tienen en general un menor módulo de Young, una resistencia a la tracción superior y un mayor límite elástico. Estas propiedades hacen que las aleaciones β -titanio sean preferibles a las aleaciones $\alpha+\beta$ para aplicaciones biomédicas [95-97]. Sin embargo, las aleaciones de β -titanio utilizadas para la aplicación de biomateriales incluyen no sólo los elementos que actúan como estabilizadores de la fase β , sino también los que favorecen las propiedades mecánicas y

de corrosión del biomaterial, por ejemplo, el aluminio, un α -estabilizador en aleaciones de titanio, y circonio, que tiene propiedades α y β isomórficas al titanio y conduce al endurecimiento de la solución sólida [98].

Osteointegración, osteoconducción y osteoinducción

La osteointegración se refiere a la conexión estructural y funcional directa entre el hueso y la superficie del implante ortopédico. Este último, además de soportar carga, presenta una relación directa con la estabilidad mecánica. El proceso de osteointegración tiende a disminuir cuando hay un incremento en el micromovimiento de los implantes, el desarrollo de vasos sanguíneos y la adherencia de fibrina. La osteoconducción, que implica el crecimiento óseo en la superficie de los implantes, contribuye directamente a la osteointegración. La osteoinducción se vincula estrechamente con el proceso de curación ósea, involucrando el reclutamiento de células inmaduras que evolucionan hacia preosteoblastos que posteriormente darán lugar al crecimiento óseo. En la recuperación ósea, problemas como fisuras y fracturas tienen una fuerte conexión con la osteoinducción.

Mejorar estas tres características esenciales conlleva a una optimización del proceso de implantación, reduciendo las posibles deficiencias del implante y mejorando así los resultados para los pacientes. La calidad de la superficie está intrínsecamente ligada a la orientación, unión y desarrollo de la morfología celular. Después de la implantación de biomateriales, se desencadenan reacciones químicas y biológicas, como la adsorción de agua y proteínas, las cuales están íntimamente relacionadas con las propiedades superficiales del material, incluyendo su química, topografía, rugosidad y energía [69].

1.3.3. Corrosión y desgaste

Ningún metal es completamente inerte *in vivo*, ya que sufre cierta corrosión en el tiempo. Los implantes metálicos sufren corrosión dentro del cuerpo debido a que el entorno corporal es muy reactivo. La sangre y otros constituyentes del fluido corporal incluyen varios componentes como agua, iones y proteínas que hacen que el entorno del cuerpo sea altamente reactivo para los metales [99]. La corrosión de los implantes metálicos es un proceso no deseado ya que afecta a la resistencia del material y libera iones metálicos potencialmente tóxicos para el organismo. Cada metal tiene una resistencia a la corrosión diferente, y en el caso del titanio, como se ha mencionado previamente, es muy reactivo y se oxida espontáneamente al exponerse al aire desarrollando una fina capa de óxido que pasiva a la superficie actuando como una barrera protectora que impide la transferencia de iones del implante hacia los fluidos corporales [46, 92,

93]. Las características de corrosión del titanio dependen en gran medida de la estabilidad de la capa de óxido, la cual es estable si la densidad de corriente de pasivación es baja. Los principales problemas de corrosión del titanio ocurren cuando la capa de óxido es dañada, y se dan distintos procesos corrosivos (corrosión por intersticios, corrosión por picaduras, agrietamiento por corrosión bajo tensión y fatiga por corrosión) [100-103] liberando iones metálicos hasta que la capa de óxido es nuevamente generada por un proceso denominado repasivación. Este proceso demanda un tiempo mucho menor en aleaciones a base de titanio que en aceros inoxidable u otros metales empleados como implantes, siendo esta una gran ventaja de este tipo de aleaciones, ya que implica una menor liberación de residuos en el organismo. Además, la capa de óxido se adhiere fuertemente a la superficie del titanio, permitiendo que el implante tolere en gran medida el entorno corrosivo del organismo [104].

Si bien, como se ha comentado, las aleaciones a base de titanio tienen una gran resistencia a la corrosión a lo largo del tiempo iones de titanio y de los elementos aleantes son liberados en el organismo. Estudios han demostrado que los iones de titanio podrían ser perjudiciales para la salud [105] y se han encontrado concentraciones de titanio elevadas en los pulmones y en los ganglios linfáticos [106]. Por otro lado, se han planteado preocupaciones sobre el uso de aluminio y vanadio en las aleaciones a base de titanio por sus efectos potencialmente tóxicos en el organismo [107-111]. Para tratar estas preocupaciones se han realizado implantes a base de titanio sustituyendo al aluminio y/o vanadio por elementos considerados más seguros como el niobio, el tántalo, el circonio y el hierro entre otros. Dos de las primeras desarrolladas han sido el Ti-6Al-7Nb y el Ti-5Al-2.5Fe, dos aleaciones sin vanadio con propiedades similares a las del Ti-6Al-4V [109]. La sustitución de vanadio por niobio mejora la resistencia a la corrosión de la aleación de titanio, ya que estabiliza la capa de óxido y mejora la pasivación [112]. Por otro lado, la aleación de Ti-13Nb-13Zr presenta mejor resistencia a la corrosión que el Ti-6Al-4V porque los productos de corrosión del niobio y del circonio son menos solubles en el plasma humano que los del aluminio y vanadio. Además, la capa de óxido que se forma sobre el Ti-13Nb-13Zr es mucho más inerte [113]. Otro aspecto a tener en cuenta es que el niobio, tántalo y circonio son elementos estabilizadores β lo que conlleva a que el implante tenga un menor módulo de Young mejorando su biocompatibilidad.

Las aleaciones a base de titanio tienen un elevado coeficiente de fricción y una baja dureza superficial, por lo que su resistencia al desgaste es baja. El desgaste de los implantes se convierte en un problema debido a que se liberan partículas metálicas que generan osteólisis aséptica provocando el aflojamiento del implante y, en última instancia, su necesidad de remoción. Siendo el desgaste es una de las principales causas de fallo de los implantes. Las mayores tasas

de desgaste pueden deberse a la inestabilidad mecánica de la capa de óxido en la superficie del implante. Las tensiones externas pueden romper la capa de óxido pasiva en la superficie de las aleaciones a base de titanio. La superficie expuesta no es capaz de repasivarse inmediatamente, lo que provoca el consumo de la aleación. Las aleaciones a base de titanio se prefieren por su menor módulo de Young, mayor resistencia a la corrosión y mejor biocompatibilidad en comparación con sus homólogas (acero inoxidable y aleaciones de cobalto), pero carecen de propiedades de desgaste [114].

Por lo mencionado, y destacando que hasta el momento no se registran artículos relacionados con una determinación simultánea de partículas o productos de corrosión liberados a partir de aleaciones a base de titanio en entornos biológicos, de manera simple, rápida y económica, es crucial su desarrollo para poder monitorear las posibles fallas de los implantes y problemas de salud ocasionados.

1.3.4. Aplicaciones

El titanio y las aleaciones a base de titanio se utilizan ampliamente en diversos escenarios de tratamiento biomédico, como la artroplastia y la sustitución ósea, los implantes craneofaciales, maxilofaciales y dentales, el instrumental quirúrgico, dispositivos médicos o las prótesis externas e internas. La Figura 1.2 muestra los distintos usos de las distintas aleaciones a base de titanio y del CP-Ti, en el cuerpo humano [115].



Figura 1.2. Algunos usos del CP-Ti y de las aleaciones a base de titanio en el cuerpo humano [112].

Como se puede observar, aparte del CP-Ti que se utiliza en implantes dentales, otras aleaciones α y casi α no se han utilizado mucho en aplicaciones médicas. Esto se debe principalmente a su menor resistencia y mayor valor de módulo de Young en comparación con las aleaciones de titanio $\alpha+\beta$ y β . Las aleaciones $\alpha+\beta$ han sido los implantes ortopédicos más utilizados. Aunque tienen ciertas limitaciones que han desplazado la atención hacia las aleaciones β , siguen siendo bastante relevantes [46].

Artroplastía y sustitución ósea

Las aplicaciones biomédicas del titanio y las aleaciones a base de titanio son variadas y fundamentales en procedimientos ortopédicos. Prótesis de cadera y rodilla son las principales aplicaciones, seguidas por los implantes articulares de hombro y codo. En la columna vertebral, el titanio se emplea para piezas de corrección y dispositivos de fijación vertebral y, más recientemente, sustituciones de discos vertebrales [116, 117]. Las jaulas costales de titanio para niños permiten que los implantes se expandan conforme el cuerpo crece, posibilitando el desarrollo adecuado de la caja torácica en pacientes jóvenes [118]. Además, el titanio se utiliza en implantes de dedos en manos y pies, así como en clavos tibiales para reforzar fracturas en la parte inferior de la pierna [119]. Dispositivos de fijación y reconstrucción, como placas óseas, mallas, clavos, tornillos y varillas para asegurar huesos fracturados, también son fabricados a base de titanio [120].

Aplicaciones craneofaciales y maxilofaciales

Las aplicaciones craneofaciales y maxilofaciales incluyen placas craneales, mallas y acrílicos. Las prótesis maxilofaciales fabricadas con aleaciones a base de titanio con niveles adecuados de biocompatibilidad, resistencia y osteointegración son capaces de estabilizar las prótesis de tejidos blandos [121]. La aplicación de prótesis maxilofaciales después de una cirugía maxilofacial puede ser a menudo necesaria para restaurar el aspecto estético de los pacientes, su capacidad para comer o hablar y sustituir cualquier rasgo facial ausente debido a una enfermedad o a daños por accidente [122].

Implantes dentales

En odontología el titanio y las aleaciones a base de titanio se utilizan como implantes dentales, funcionando como raíces artificiales para un solo diente o incluso una dentadura completa. La raíz de titanio es implantada quirúrgicamente en el hueso maxilar donde tiene lugar la osteointegración, el hueso crece hacia el implante y lo rodea creando un soporte estructural firme. Posteriormente, la parte superior de la estructura es fijada sobre el implante mediante

cementación o por atornillado. En este tipo de aplicaciones los biomateriales más utilizados son el CP-Ti y las aleaciones de Ti-6Al-4V y Ti-6Al-7Nb [123-125].

Prótesis externas

El titanio y aleaciones a base de titanio, debido a sus propiedades mencionadas en las secciones previas, como la resistencia a la corrosión y baja densidad, son utilizadas extensamente para la fabricación de dispositivos externos temporales o a largo plazo y fijaciones, incluyendo extremidades artificiales y prótesis ortopédicas [126-128].

Prótesis internas

Clavos de titanio se utilizan para fijar prótesis oculares y auriculares, y mallas son utilizadas para fijar fracturas interorbitarias. Además, audífonos conectados al oído medio son fabricados a partir de titanio [129]. Por otro lado, a estructura portadora de las válvulas cardíacas, los catéteres de angioplastia coronaria, los desfibriladores, los stents intravasculares, las cajas de marcapasos y los puertos de acceso vascular también están fabricados con aleaciones de titanio [130-134].

1.3.5. Modificaciones superficiales

El titanio y las aleaciones a base de titanio, como se ha mencionado en las secciones previas, son los biomateriales metálicos mayormente empleados como implantes ortopédicos y dispositivos médicos debido a sus excelentes propiedades y biocompatibilidad con el cuerpo humano. Sin embargo, presentan algunas desventajas como la baja resistencia al desgaste pudiendo provocar el aflojamiento del implante por osteólisis aséptica [135], y que las capas de óxido superficiales formadas tienen composiciones químicas significativamente diferentes en comparación con los tejidos circundantes, lo que dificulta la formación de cápsulas de fibra alrededor de los implantes. Por lo tanto, entre los implantes de titanio y los tejidos circundantes sólo se presenta una osteointegración mecánica, en lugar de una fuerte unión ósea química [136]. Estas desventajas restringen el rendimiento del implante a largo plazo y su empleo como implantes de tejidos duros portadores de carga [70].

En base a lo mencionado surge la necesidad de mejorar aún más las propiedades y biocompatibilidad de los implantes de titanio y aleaciones a base de titanio. Las características superficiales de los implantes, como la rugosidad, la conductividad y la energía superficial (hidrofilicidad) son muy importantes en la adhesión inicial, el cultivo y el crecimiento de bacterias y la posterior acción y respuesta celular. Las características mencionadas provocan la

adhesión de proteínas y la formación de biopelículas en los implantes, lo que conlleva cambios en la biocompatibilidad y el éxito final del implante [137, 138]. El desgaste de los implantes comienza siempre en su superficie. La resistencia a la corrosión y al desgaste y la biocompatibilidad se ven influenciadas significativamente por las características de sus capas superficiales. Por lo tanto, en los últimos años se han aplicado diversas técnicas de modificación superficial para mejorar el rendimiento y las aplicaciones de estos biomateriales [139-142]. Estas técnicas se pueden clasificar en mecánicas, físicas y químicas. En la Figura 1.3 se presentan algunas de las técnicas de modificación superficial más comunes.



Figura 1.3. Técnicas de modificación superficial para titanio y/o aleaciones a base de titanio.

Técnicas mecánicas

Al fabricar piezas de titanio y aleaciones a base de titanio a partir de barras o chapas, los materiales deben mecanizarse para obtener una geometría y/o dimensiones específicas. Estos procesos suelen utilizar refrigerantes o lubricantes que pueden adherirse a la superficie contaminándolas. Además, los procesos de mecanizado pueden generar una deformación plástica en la superficie del biomaterial facilitando la iniciación de grietas o corrosión bajo tensión [143]. Por lo tanto, en un primer paso se suelen utilizar técnicas mecánicas de modificación superficial como el esmerilado, el pulido y el arenado para obtener una superficie aceptable con una determinada rugosidad y topografía específica y eliminar posibles

contaminaciones [143-151]. El esmerilado y el pulido se utilizan para eliminar las capas superficiales con contaminación/deformación plástica y para reducir la rugosidad. La rugosidad de la superficie se reduce en cierta medida o incluso se consigue un acabado superficial espejo dependiendo del tamaño del material de esmerilado y de la pasta antidesgaste utilizada [146, 147]. El arenado se utiliza para disparar contra los productos de titanio mediante un compresor de aire, con el objetivo de obtener una superficie rugosa, así como topografías específicas. La rugosidad superficial del titanio y las aleaciones a base de titanio inducida por el arenado depende de la forma y el tamaño de las partículas de óxido en la arena y de la presión del aire [148, 149]. El aumento de la rugosidad superficial también incrementa el área superficial y la humectabilidad de los materiales, por lo tanto, el tratamiento con arenado aporta en gran medida superficies activadas.

Otra técnica mecánica es el “shot peening”, pudiéndose considerar como una evolución del método de arenado. La arena es sustituida por partículas esféricas de acero o cerámica que se utilizan para golpear las superficies de los biometales durante un breve período de tiempo [152-154]. Esta técnica introduce una deformación plástica severa en las superficies de los materiales procesados, obteniendo capas de superficie modificada con granos refinados. Esta técnica permite mejorar la resistencia a la fatiga de los metales, lo que se atribuye a la tensión de compresión inducida por los granos [155, 156]. Además, se mejora la dureza y la resistencia al desgaste y a la corrosión [157, 158].

Técnicas físicas

En las técnicas físicas, las capas modificadas superficialmente se adhieren directamente a los sustratos de titanio o aleaciones en base a titanio. En estas técnicas, la energía térmica, cinética y eléctrica se convierten en los factores dominantes para la formación de dichas capas. Las técnicas físicas convencionales incluyen principalmente la pulverización térmica y el tratamiento con plasma de descarga luminosa.

En las técnicas de pulverización térmica las materias primas (polvo metálico, polvo cerámico, compuestos o suspensiones) se calientan y/o funden para revestir los sustratos a una alta velocidad. Los revestimientos se preparan capa por capa mediante la deposición sucesiva de las materias primas ablandadas o fundidas. Estas técnicas requieren de instrumentación que permita producir un arco de llama o plasma y en base a la fuente de energía utilizada se pueden clasificar en técnicas de pulverización de llama, de combustible de oxígeno a alta velocidad, de plasma y otras [159-163]. Las de llama y combustible de oxígeno a alta velocidad utilizan la combustión de un combustible por lo tanto tienen como limitación la temperatura de la llama,

mientras que la de plasma puede proporcionar temperaturas mucho más elevadas permitiendo fundir materiales de revestimiento con puntos de fusión mucho más elevados. El titanio y las aleaciones a base de titanio recubiertas con la técnica de pulverización térmica tienen mayor biocompatibilidad, resistencia al desgaste y estabilidad térmica. Un material de recubrimiento utilizado tanto en aplicaciones dentales como ortopédicas es la hidroxiapatita presentando adhesión a los tejidos óseos en poco tiempo [164-166]. Los silicatos de calcio también han sido utilizados como recubrimiento presentando gran bioactividad [167, 168]. En esta técnica un factor crucial es la fuerza de adhesión entre el sustrato y el recubrimiento ya que de no quedar bien adherido el recubrimiento se generan grietas y la posterior delaminación [169]. Por lo tanto, se suelen utilizar recubrimientos de adherencia, como el TiO_2 , entre el sustrato y el recubrimiento para mejorar la adhesión.

Otra técnica física es el tratamiento con plasma de descarga luminiscente donde se expone al titanio y a las aleaciones a base de titanio a una descarga luminiscente de baja presión (gas parcialmente ionizado) en ultra vacío ($< 10^{-7}$ Pa) aplicando una diferencia de potencial elevada entre dos electrodos [170]. Los tratamientos con esta técnica se pueden clasificar en modificación superficial por plasma, deposición por plasma y polimerización por plasma [171, 172]. Durante el tratamiento, las superficies de titanio y aleaciones a base de titanio reciben el impacto de iones y electrones, con el objetivo de limpiar y esterilizar sus superficies. Esta técnica puede eliminar la capa nativa, los óxidos gruesos y las impurezas de la superficie del titanio y las aleaciones a base de titanio empleando gas argón. La modificación de la superficie por plasma también aumenta la energía superficial y la humectabilidad de los biometales [173]. Las composiciones superficiales del titanio y de las aleaciones a base de titanio cambian significativamente en función del plasma utilizado y el espesor final de la capa producida por deposición de plasma depende de los parámetros de tratamiento de presión de gas, tiempo y densidad de corriente [170, 174]. La polimerización por plasma es una técnica que permite una mejor inmovilización de moléculas bioactivas, ya que los sustratos poliméricos han demostrado tener un número considerable de grupos funcionales reactivos [175]. Además, estas técnicas de plasma permiten, empleando oxígeno y nitrógeno, oxidar o nitrurar obteniendo capas de espesores controlables variando los parámetros de la técnica. Se ha demostrado que una capa de óxido de titanio amorfo generada por plasma sobre Ti-6Al-4V mostró una mejora significativa en el cultivo de células de osteosarcoma humano [176], o que la aleación de Ti-6Al-4V nitrurada tiene mayor resistencia a la corrosión [177], entre otras aplicaciones.

Técnicas Químicas

En las técnicas químicas las reacciones químicas tienen lugar en la interfaz de los productos de titanio y aleaciones a base de titanio y los medios impuestos (solución o fase gaseosa). Estas técnicas principalmente implican tratamientos químicos y electroquímicos.

Los tratamientos químicos incluyen el decapado, el tratamiento con álcalis, el tratamiento de pasivación y el tratamiento con peróxido de hidrógeno. El decapado se realiza para eliminar los óxidos/contaminación de la superficie, empleando soluciones ácidas como ácido fluorhídrico, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico y mezclas de los mismos [178-183]. Las topografías de las superficies tratadas con ácido dependen de los parámetros como la temperatura, la concentración de la solución ácida, el tiempo de tratamiento y la agitación. Tras el tratamiento ácido, pueden formarse capas de óxido significativamente finas en las superficies del titanio y las aleaciones a base de titanio, así como topografías superficiales específicas asociadas a la modificación de la composición química. Estos tratamientos pueden mejorar las propiedades de los implantes, se observó que el CP-Ti tratado con ácido fluorhídrico presenta mayor rugosidad y mejora la adhesión de células precursoras osteoblásticas embrionarias de ratón [178]. A pesar de que este tratamiento mejora las propiedades, se lo suele utilizar en combinación con otros [184, 185].

El tratamiento alcalino consiste en sumergir al titanio y las aleaciones a base de titanio en soluciones de hidróxido de sodio o hidróxido de potasio concentradas durante varias horas para producir capas modificadas en la superficie compuestas de gel de titanato de sodio o potasio [186, 187]. Luego del tratamiento alcalino se suele realizar un tratamiento térmico y finalmente formarse una superficie porosa y bioactiva. Como resultado, se modifican las composiciones químicas y las topografías superficiales lo que da lugar a una capa superficial porosa formada por fases de rutilo y anatasa [188]. Se ha informado que el CP-Ti con tratamiento alcalino y térmico se puede adherir directamente al hueso a diferencia del CP-Ti con tratamiento alcalino solo. Esta bioactividad del CP-Ti y las aleaciones a base de titanio con tratamiento alcalino y térmico se atribuye a la formación de capas de apatita similares a las del hueso [189, 190].

El tratamiento de pasivación se utiliza para obtener capas de óxido pasivas uniformes en las superficies de titanio y aleaciones a base de titanio. Estas capas pueden mejorar la resistencia a la corrosión disminuyendo la liberación de iones metálicos. El tratamiento de pasivación se puede realizar por inmersión en soluciones ácidas oxidantes, como ácido nítrico o ácido fosfórico [191, 192] o por oxidación térmica, calentado en una atmósfera que contenga oxígeno [193]. El

tratamiento de pasivación puede producir finas capas de óxido que consisten principalmente en TiO_2 y trazas de otros óxidos [194, 191].

El tratamiento con peróxido de hidrógeno se utiliza para la disolución química y la oxidación de las superficies de implantes, así como el pretratamiento para la formación de apatita [192-194]. Las características de la superficie tratada con peróxido de hidrógeno dependen de la concentración del oxidante y del tiempo de tratamiento [195-198]. La capa superficial de titanio puede transformarse de amorfa a cristalina mediante tratamiento térmico.

En los tratamientos electroquímicos se emplea al titanio y/o aleación a base de titanio como uno de los electrodos y se llevan a cabo reacciones electroquímicas en la superficie. Estas reacciones están controladas por el electrolito utilizado y los parámetros de procesamiento como el potencial aplicado, la corriente y la temperatura. Los tratamientos electroquímicos incluyen el electropulido, la oxidación anódica y la electrodeposición.

El electropulido es una técnica utilizada para obtener un acabado superficial específico [199, 200]. Al aplicar energía eléctrica, se produce una disolución electroquímica controlable en la superficie del ánodo (titanio o aleaciones a base de titanio) en las condiciones dadas de electrolito, potencial, corriente y temperatura. Las partes sobresalientes del titanio tienen una corriente de electropulido mayor por lo que su velocidad de disolución será más rápida, y de esta manera se logra obtener una superficie homogénea y lisa. Para el titanio y las aleaciones a base de titanio, el electrolito suele consistir en una mezcla de ácido y alcohol, como ácido perclórico/ butanol/metanol [201]. Con esta técnica se obtiene una terminación cristalina bajo la capa de óxido y la rugosidad de la superficie llega a ser muy pequeña. El electropulido puede producir un inicio reproducible y bien definido para otros tratamientos superficiales posteriores.

La oxidación anódica es una técnica que permite generar diferentes capas de óxido (principalmente TiO_2) sobre materiales metálicos, empleando al metal como ánodo [202]. En comparación con la pasivación, las reacciones de oxidación anódica son impulsadas por un campo eléctrico que promueve la difusión de iones, dando lugar a la formación de una capa de óxido en la superficie [203-205]. Para el titanio y las aleaciones a base de titanio, se han utilizado varios electrolitos, como ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido crómico, ácido fluorhídrico entre otros. Las estructuras y propiedades de los óxidos anódicos pueden controlarse alterando los parámetros de procesamiento, incluyendo el potencial, la corriente, el electrolito y la temperatura [206, 207]. El espesor final de la capa de óxido es aproximadamente proporcional al potencial aplicado y su morfología depende de su espesor (normalmente el aumento de la rugosidad se asocia al aumento del espesor) y de las topografías de los sustratos

subyacentes [208]. El titanio y las aleaciones a base de titanio tratados por oxidación anódica muestran muchas propiedades mejoradas, tanto en lo que respecta a las composiciones como a las microestructuras. Gracias a la compacidad y rigidez de las capas de óxido, el titanio y las aleaciones a base de titanio presentan mayor dureza, mayores propiedades mecánicas, mayor resistencia a la corrosión e incluso mejor biocompatibilidad [208-212]. Además, se pueden incorporar iones de calcio y fósforo a las capas de óxido con una solución electrolítica que contenga compuestos de calcio y fósforo disueltos [207, 213] o sintetizar nanotubos de TiO_2 en la superficie utilizando una solución electrolítica que contenga iones fluoruros [214]. Por otro lado, debido a su mejor adhesión y unión, las capas de óxido también se utilizan como recubrimiento base para la posterior galvanoplastia u otras técnicas de recubrimiento [215, 216]. Otra característica sorprendente es que los colores de las capas de óxido varían controlando su espesor, ya que la luz puede interferir en las películas [217, 218].

La electrodeposición es una técnica que permite sintetizar recubrimientos sobre titanio y aleaciones a base de titanio, utilizando una fuente de energía eléctrica y al titanio como uno de los electrodos. La electrodeposición sintetiza los revestimientos a partir de una solución acuosa, una solución no acuosa o incluso una sal fundida bajo el efecto de un campo eléctrico y una serie de reacciones electroquímicas, lo que puede referirse a una amplia gama de procesos que incluyen la electrodeposición catódica, la electrodeposición anódica, el recubrimiento electrolítico, etc. Con esta técnica se pueden generar películas metálicas simples sobre titanio y aleaciones a base de titanio con el objetivo de mejorar su dureza, resistencia al desgaste o resistencia a la oxidación [219-221].

1.4. Sistemas automatizados en el análisis y diseño de biomateriales metálicos

Los sistemas automatizados proporcionan mejoras en el desarrollo de los procesos analíticos, originando un aumento significativo en la frecuencia, precisión, reproducibilidad y exactitud de estos procesos. Estos sistemas permiten la manipulación de sustancias inestables, tóxicas, corrosivas, explosivas y hasta radioactivas, además de posibilitar un monitoreo continuo en cualquier proceso, reduciendo los costos para grandes volúmenes de análisis y control de los equipamientos con una mínima intervención de los operadores. Estos sistemas son controlados mediante un microcontrolador y por ende todos los pasos del proceso se llevan a cabo de manera completamente automatizada [222-226].

La implementación de sistemas automatizados en el análisis y diseño de biomateriales metálicos, como titanio o aleaciones a base de titanio, presentan diversas ventajas que mejoran la eficiencia y la precisión en los procesos de investigación de laboratorio que de otra manera suelen ser complicados, demandar mucho tiempo, requerir numerosas mediciones y presentar una baja repetibilidad. Estos sistemas pueden ser especialmente beneficiosos al aplicar técnicas de modificación superficial a estos biomateriales metálicos, facilitando la automatización de pasos clave en los procesos. Por ejemplo, en la preparación de muestras, un sistema automatizado puede dosificar con precisión los reactivos necesarios, garantizando una reproducibilidad y consistencia en cada experimento. Además, en técnicas de modificación superficial, como recubrimientos o tratamientos térmicos, la automatización permite un control más preciso de las condiciones, optimizando la uniformidad y la calidad del resultado final. La capacidad de monitorear y ajustar parámetros en tiempo real también contribuye a la mejora de la reproducibilidad experimental. En resumen, la aplicación de sistemas automatizados en el análisis y diseño biomateriales metálicos no solo agiliza los procesos, sino que también promueve una mayor fiabilidad y exactitud en la investigación, permitiendo avances significativos en el desarrollo de biomateriales metálicos.

Algunas aplicaciones que se pueden mencionar son el desarrollo de un método automatizado para analizar la forma y el tamaño de los hoyuelos de desgarro dúctil formados durante la fractura estática y por impacto de las aleaciones de titanio VT23 y VT23M, basándose en el análisis de la topología de la imagen [227]; un nuevo método automatizado para segmentar imágenes microestructurales de una aleación Ti-6Al-4V en sus granos constituyentes y producir mediciones [228]; un sistema de inspección automatizado para el estudio de las propiedades de una aleación de titanio, y en particular de sus microestructuras, con el fin de clasificar las partes del material inspeccionado en diferentes fases mecánico-físicas [229], un novedoso proceso de grabado autoterminante para aleaciones de Ti-6Al-4V abordando los desafíos en la manufactura aditiva, permite eliminar las estructuras de soporte y polvo atrapado, mejorando el acabado superficial de las características exteriores e interiores [230].

1.5. Consideraciones finales

Los siguientes capítulos estudiarán una serie de parámetros que son condicionantes con el éxito de los implantes de Ti-6Al-4V, incluyendo modificaciones superficiales y detecciones de residuos liberados. En el Capítulo 3 se estudiará y caracterizará una aleación de Ti-6Al-4V con una modificación superficial de oxidación anódica. En el Capítulo 4 se estudiarán las mejoras en las propiedades que presenta la aleación de Ti-6Al-4V modificada superficialmente, en un primer

lugar, con la técnica de oxidación anódica y, en un segundo lugar, recubierta con nanopartículas de plata de morfología de prisma. Luego, en el Capítulo 5 se detallará el desarrollo de un sistema automatizado para llevar a cabo el proceso de oxidación anódica controlando los principales parámetros que influyen en las características finales del recubrimiento generado y monitoreando al proceso en tiempo real. Por último, en el Capítulo 6 se describirá el desarrollo de un método simple, de fácil aplicación y económico para determinar residuos de aluminio y vanadio liberados de la aleación de Ti-6Al-4V en medios biológicos simulados.

1.6. Bibliografía

- [1] Ding, C., Chen, Z. y Li, J. (2017). From molecules to macrostructures: recent development of bioinspired hard tissue repair. *Biomaterials Science*, 5(8), 1435-1449.
- [2] Liu, Y., Luo, D. y Wang T. (2016). Hierarchical structures of bone and bioinspired bone tissue engineering. *Small*, 12(34), 4611-4632.
- [3] Rosa N., Moura, M.F., Olhero, S., Simoes, R., Magalhães, F.D., Marques, A.T., Ferreira, J.P., Reis, A.R., Carvalho, M. y Parente, M. (2022). Bone: an outstanding composite material. *Applied Science*, 12(7), 3381.
- [4] Zimmermann, E.A. y Ritchie, R.O. (2015). Bone as a structural material. *Advanced Healthcare Materials*, 4(9), 1287-1304.
- [5] Hussain, Z., Mehmood, S., Liu, X., Liu, Y., Wang, G. y Pei, R. (2024). Decoding bone-inspired and cell-instructive cues of scaffolds for bone tissue engineering, *Engineered Regeneration*, 5(1), 1-44. <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2023.10.003>
- [6] Pachamé, A. V., Andrés Laube, P. F., Scianda, M. D., Barbeito, C. G. y Diessler, M. E. (2022). Tejidos cartilaginosa y ósea. En Libros de Cátedra, (pp. 119-140). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/149557>
- [7] Lafita, J. (2003). Fisiología y fisiopatología ósea. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(3), 7-17. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000600002&lng=es&tlng=es
- [8] Beniash, E. (2011). Biominerals—hierarchical nanocomposites: the example of bone. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 3(1), 47-69.
- [9] Rho, J. Y., Kuhn-Spearing, L. y Zioupos, P. (1998). Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical Engineering & Physics*, 20(2), 92-102. [https://doi.org/10.1016/S1350-4533\(98\)00007-1](https://doi.org/10.1016/S1350-4533(98)00007-1)
- [10] Boyle, W. J., Simonet, W. S. y Lacey, D. L. (2003). Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423(6937), 337-342.

- [11] Clarke, B. (2008). Normal bone anatomy and physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3(3), S131–S139. doi: 10.2215/CJN.04151206
- [12] Grigoriadis, A.E., Heersche, J.N. y Aubin, J.E. (1988). Differentiation of muscle, fat, cartilage, and bone from progenitor cells present in a bone-derived clonal cell population: effect of dexamethasone. *The Journal of Cell Biology*, 106(6), 2139-2151.
- [13] Capulli, M., Paone, R. y Rucci, N. (2014). Osteoblast and osteocyte: Games without frontiers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 561, 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.05.003>.
- [14] Robling, A. G. y Bonewald, L. F. (2020). The osteocyte: New insights. *Annual Review of Physiology*. 82, 485-506. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021119-034332>
- [15] Bonnans, C., Chou, J. y Werb, Z. (2014). Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(12), 786–801. <https://doi.org/10.1038/nrm3904>
- [16] Mouw, J. K., Ou, G. Q. y Weaver, V. M. (2014). Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(12), 771–785. <https://doi.org/10.1038/nrm3902>
- [17] Mansour, A., Mezour, M. A., Badran, Z. y Tamimi, F. (2017). Extracellular matrices for bone regeneration: A literature review. *Tissue Engineering Part A*, 23(23-24), 1436–1451. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2017.0026>
- [18] Lin, X., Patil, S., Gao, Y. G. y Qian, A. (2020) The bone extracellular matrix in bone formation and regeneration. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 757. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00757>
- [19] Burr, D. B. (2002). Targeted and nontargeted remodeling. *Bone*, 30(1), 2-4.
- [20] Parfitt, A. M. (2002). Targeted and nontargeted bone remodeling: Relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone*, 30(1), 5-7.

- [21] Parfitt, A. M. (1982). The coupling of bone formation to bone resorption: A critical analysis of the concept and of its relevance to the pathogenesis of osteoporosis. *Metabolic Bone Disease and Related Research*, 4(1), 1-6.
- [22] Fernández-Tresguerres Hernandez-Gil, I., Alobera Gracia, M. A., Canto Pingarrón, M. D. y Blanco Jerez, L. (2006). Bases fisiológicas de la regeneración ósea II: El proceso de remodelado. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 11(2), 151-157.
- [23] Ratner, B. D. y Zhang, G. (2020). A history of biomaterials. En W. R. Wagner, S. E. Sakiyama-Elbert, G. Zhang y M. J. Yaszemski (Eds.), *Biomaterials science* (4° ed., pp. 21-34). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816137-1.00002-7>
- [24] Wang, X., Liang, Q., Luo, Y., Ye, J., Yu, Y. y Chen, F. (2024). Engineering the next generation of theranostic biomaterials with synthetic biology. *Bioactive Materials*, 32, 514-529. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.10.018>
- [25] Gelmi, A. y Schutt, C. E. (2021). Stimuli-responsive biomaterials: Scaffolds for stem cell control. *Advanced Healthcare Materials*, 10(1), 2001125. <https://doi.org/10.1002/adhm.202001125>
- [26] Wei, H., Cui, J., Lin, K., Xie, J. y Wang, X. (2022). Recent advances in smart stimuli-responsive biomaterials for bone therapeutics and regeneration. *Bone Research*, 10(1), 17. <https://doi.org/10.1038/s41413-021-00180-y>
- [27] Gao, Q., Liu, J., Wang, M., Liu, X., Jiang, Y. y Su, J. (2024). Biomaterials regulates BMSCs differentiation via mechanical microenvironment. *Biomaterials Advances*, 157, 213738. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213738>
- [28] Lee, H. P. y Gaharwar, A. K. (2020). Light-responsive inorganic biomaterials for biomedical applications. *Advanced Science*, 7(17), 2000863. <https://doi.org/10.1002/advs.202000863>
- [29] Zhang, S., Yang, H., Wang, M., Mantovani, D., Yang, K., Witte, F., Tan, L., Yue, B. y Qu, X. (2023). Immunomodulatory biomaterials against bacterial infections: Progress, challenges, and future perspectives. *The Innovation*, 4(6), 100503. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2023.100503>.

- [30] Babu, P.J. y Suamte, L. (2024). Applications of silk-based biomaterials in biomedicine and biotechnology. *Engineered Regeneration*, 5(1), 56-69. <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2023.11.002>.
- [31] Ozturk, S., Ayanoğlu, F. B., Parmaksiz, M., Elçin, A. E. y Elçin, Y. M. (2020). Clinical and surgical aspects of medical materials' biocompatibility. En M. Mozafari (Ed.), *Handbook of Biomaterials Biocompatibility*, (pp. 219-250). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102967-1.00012-8>
- [32] Chen, J. (2016). Thin film coatings and the biological interface. En H. J. Griesser (Ed.), *Thin Film Coatings for Biomaterials and Biomedical Applications*, (pp. 143-164). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-453-6.00007-9>
- [33] Al Mahmud, M. Z., Mobarak, M. H., Hossain, N., Islam, M. A. y Rayhan, M. T. (2023). Emerging breakthroughs in biomaterials for orthopedic applications: A comprehensive review. *Bioprinting*, 36, e00323. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2023.e00323>
- [34] Cochis, A., Barberi, J., Ferraris, S., Miola, M., Rimondini, L., Vernè, E., Yamaguchi, S. y Spriano, S. Competitive surface colonization of antibacterial and bioactive materials doped with strontium and/or silver ions. *Nanomaterials*, 10(1), 120. <https://doi.org/10.3390/nano10010120>
- [35] Navarro, M., Michiardi, A., Castano, O. y Planell, J.A. (2008). Biomaterials in orthopaedics. *Journal of the Royal Society Interface*, 5(27), 1137-1158.
- [36] Spriano, S., Yamaguchi, S., Baino, F. y Ferraris, S. (2018). A critical review of multifunctional titanium surfaces: New frontiers for improving osseointegration and host response, avoiding bacteria contamination. *Acta Biomaterialia*, 79, 1-22. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.08.013>
- [37] Ferraris, S., Warchomicka, F., Iranshahi, F., Rimondini, L., Cochis, A. y Spriano, S. (2020). Electron beam structuring of Ti6Al4V: New insights on the metal surface properties Influencing the bacterial adhesion. *Materials*, 13, 409. <https://doi.org/10.3390/ma13020409>

- [38] Zhao, Y. Y., Zhao, B., Su, X., Zhang, S., Wang, S., Keatch, R. y Zhao, Q. (2018). Reduction of bacterial adhesion on titanium-doped diamond-like carbon coatings. *Biofouling*, 34(1), 26-33. <https://doi.org/10.1080/08927014.2017.1403592>
- [39] Jäger, M., Jennissen, H.P., Dittrich, F., Fischer, A. y Köhling, H.L. (2017). Antimicrobial and osseointegration properties of nanostructured titanium orthopaedic implants. *Materials*, 10, 1302. <https://doi.org/10.3390/ma10111302>
- [40] Bistolfi, A., Giustra, F., Bosco, F., Sabatini, L., Aprato, A., Bracco, P. y Bellare, A. (2021). Ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) for hip and knee arthroplasty: The present and the future. *Journal of Orthopaedics*, 25, 98-106. <https://doi.org/10.1016/j.jor.2021.04.004>
- [41] Affatato, S., Ruggiero, A., Jaber, S.A., Merola, M. y Bracco, P. (2018). Wear Behaviours and Oxidation Effects on Different UHMWPE Acetabular Cups Using a Hip Joint Simulator. *Materials*, 11, 433. <https://doi.org/10.3390/ma11030433>
- [42] Bracco, P., Bellare, A., Bistolfi, A. y Affatato, S. (2017). Ultra-High Molecular Weight Polyethylene: Influence of the Chemical, Physical and Mechanical Properties on the Wear Behavior. A Review. *Materials*, 10, 791. <https://doi.org/10.3390/ma10070791>
- [43] Lambert, B., Neut, D., van der Veen, H.C. y Bulstra, S. K. (2019). Effects of vitamin E incorporation in polyethylene on oxidative degradation, wear rates, immune response, and infections in total joint arthroplasty: A review of the current literature. *International Orthopaedics*, 43, 1549-1557. <https://doi.org/10.1007/s00264-018-4237-8>
- [44] Prabhu, B., Karau, A., Wood, A., Dadsetan, M., Liedtke, H. y DeWitt, T. (2018). Bioresorbable materials for orthopedic applications (lactide and glycolide based). En: Li, B. y T. Webster (Eds.), *Orthopedic Biomaterials: Progress in Biology, Manufacturing, and Industry Perspectives*, (pp. 287-344). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89542-0_13
- [45] Pires, A. L. R., Bierhalz, A. C. y Moraes, A. M. (2015). Biomaterials: types, applications, and market. *Química Nova*, 38, 957-971.

- [46] Kaur, M. y Singh, K. (2019). Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications. *Materials Science and Engineering: C*, 102, 844-862. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.064>
- [47] Niinomi, M., Nakai, M. y Hieda, J. (2012). Development of new metallic alloys for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*, 8(11), 3888-3903. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.06.037>
- [48] Niinomi, M., Hattori, T., Morikawa, K., Kasuga, T., Suzuki, A., Fukui, H. y Niwa, S. (2002). Development of low rigidity β -type titanium alloy for biomedical applications. *Materials Transactions*, 43(12), 2970-2977.
- [49] Biesiekierski, A., Lin, J., Li, Y., Ping, D., Yamabe-Mitarai, Y. y Wen, C. (2016). Investigations into Ti-(Nb, Ta)-Fe alloys for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*, 32, 336-347.
- [50] Hallab, N. J. y Jacobs, J. J. (2009). Biologic effects of implant debris. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*, 67(2), 182-188.
- [51] Sansone, V., Pagani, D. y Melato, M. (2013). The effects on bone cells of metal ions released from orthopaedic implants. A review. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 10(1), 34-40. <https://doi.org/10.11138/ccmbm/2013.10.1.034>
- [52] Darouiche, R. O. (2004). Treatment of infections associated with surgical implants. *New England Journal of Medicine*, 350(14), 1422-1429. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra035415>
- [53] De Breij, A., Riool, M., Kwakman, P. H., De Boer, L., Cordfunke, R. A., Drijfhout, J. W., Cohen, O., Emanuel, N., Zaat, S. A., Nibbering P. H. y Moriarty, T. F. (2016). Prevention of *Staphylococcus aureus* biomaterial-associated infections using a polymer-lipid coating containing the antimicrobial peptide OP-145. *Journal of Controlled Release*, 222, 1-8.
- [54] Alves, D. y Pereira M. O. (2014). Mini-review: Antimicrobial peptides and enzymes as promising candidates to functionalize biomaterial surfaces. *Biofouling*, 30(4), 483-499. <https://doi.org/10.1080/08927014.2014.889120>

- [55] Jorge, P., Lourenço A. y Pereira M. O. (2012). New trends in peptide-based anti-biofilm strategies: a review of recent achievements and bioinformatic approaches, *Biofouling*, 28(10), 1033-1061. <https://doi.org/10.1080/08927014.2012.728210>
- [56] Costerton, J. W., Stewart, P. S. y Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>
- [57] Hall-Stoodley, L., Costerton, J. y Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 95-108. <https://doi.org/10.1038/nrmicro821>
- [58] Raphel, J., Holodniy, M., Goodman, S. B. y Heilshorn, S. C. (2016). Multifunctional coatings to simultaneously promote osseointegration and prevent infection of orthopaedic implants. *Biomaterials*, 84, 301-314. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.016>
- [59] Mas-Moruno, C., Su, B. y Dalby, M. J. (2019). Multifunctional Coatings and Nanotopographies: Toward Cell Instructive and Antibacterial Implants. *Advanced Healthcare Materials*, 8(1), 1801103.
- [60] Zimmerli, W. y Sendi, P. (2011). Pathogenesis of implant-associated infection: the role of the host. En *Seminars in immunopathology*, (Vol. 33, pp. 295-306). Springer-Verlag.
- [61] Hosman, A. H., Bulstra, S. K., Sjollema, J., van der Mei, H. C., Busscher, H. J. y Neut, D. (2012). The influence of Co–Cr and UHMWPE particles on infection persistence: an in vivo study in mice. *Journal of Orthopaedic Research*, 30(3), 341-347.
- [62] Hosman, A. H., van der Mei, H. C., Bulstra, S. K., Busscher, H. J. y Neut, D. (2010). Effects of metal-on-metal wear on the host immune system and infection in hip arthroplasty. *Acta Orthopaedica*, 81(5), 526-534.
- [63] Amin Yavari, S., Castenmiller, S. M., van Strijp, J. A. y Croes, M. (2020). Combating implant infections: shifting focus from bacteria to host. *Advanced Materials*, 32(43), 2002962. <https://doi.org/10.1002/adma.202002962>

- [64] Liu, X., Chu, P. K. y Ding, C. (2004). Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 47(3-4), 49-121.
- [65] Murray, J. L. (1988). Calculation of the titanium-aluminum phase diagram. *Metallurgical Transactions A*, 19, 243-247.
- [66] Bothe, R. T. (1940). Reaction of bone to multiple metallic implants. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*, 71, 59-602.
- [67] Planell, J. A., y Navarro, M. (2009). Challenges of bone repair. En *Bone repair biomaterials* (pp. 3-24). Woodhead Publishing.
- [68] Sidambe, A.T. (2014). Biocompatibility of Advanced Manufactured Titanium Implants - A Review. *Materials*, 7, 8168-8188. <https://doi.org/10.3390/ma7128168>
- [69] Khorasani, A. M., Goldberg, M., Doeven, E. H. y Littlefair, G. (2015). Titanium in biomedical applications—properties and fabrication: a review. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 5(8), 593-619. <https://doi.org/10.1166/jbt.2015.1361>
- [70] Zhang, L., Chen, L. y Wang, L. (2020). Surface modification of titanium and titanium alloys: technologies, developments, and future interests. *Advanced Engineering Materials*, 22(5), 1901258. <https://doi.org/10.1002/adem.201901258>
- [71] Geetha, M., Singh, A. K., Asokamani, R. y Gogia, A. K. (2009). Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—a review. *Progress in Materials Science*, 54(3), 397-425.
- [72] Elias, C. N., Fernandes, D. J., Resende, C. R. y Roestel, J. (2015). Mechanical properties, surface morphology and stability of a modified commercially pure high strength titanium alloy for dental implants. *Dental Materials*, 31(2), e1-e13.
- [73] Donachie, M. J. (2000). *Titanium: a technical guide*. ASM international.
- [74] Attar, H., Calin, M., Zhang, L. C., Scudino, S. y Eckert, J. (2014). Manufacture by selective laser melting and mechanical behavior of commercially pure titanium. *Materials Science and Engineering: A*, 593, 170-177.

- [75] Dai, N., Zhang, J., Chen, Y. y Zhang, L. C. (2017). Heat treatment degrading the corrosion resistance of selective laser melted Ti-6Al-4V alloy. *Journal of the Electrochemical Society*, 164(7), C428.
- [76] Bai, Y., Gai, X., Li, S., Zhang, L. C., Liu, Y., Hao, Y., Zhang, X., Yang, R. y Gao, Y. (2017). Improved corrosion behaviour of electron beam melted Ti-6Al-4V alloy in phosphate buffered saline. *Corrosion Science*, 123, 289-296.
- [77] Dai, N., Zhang, L. C., Zhang, J., Zhang, X., Ni, Q., Chen, Y., Wu, M. y Yang, C. (2016). Distinction in corrosion resistance of selective laser melted Ti-6Al-4V alloy on different planes. *Corrosion Science*, 111, 703-710.
- [78] Zhang, L. C., Klemm, D., Eckert, J., Hao, Y. L. y Sercombe, T. B. (2011). Manufacture by selective laser melting and mechanical behavior of a biomedical Ti-24Nb-4Zr-8Sn alloy. *Scripta Materialia*, 65(1), 21-24.
- [79] Jawed, S. F., Rabadia, C. D., Liu, Y. J., Wang, L. Q., Li, Y. H., Zhang, X. H. y Zhang, L. C. (2019). Mechanical characterization and deformation behavior of β -stabilized Ti-Nb-Sn-Cr alloys. *Journal of Alloys and Compounds*, 792, 684-693.
- [80] Liu, Y. J., Li, X. P., Zhang, L. C. y Sercombe, T. B. (2015). Processing and properties of topologically optimised biomedical Ti-24Nb-4Zr-8Sn scaffolds manufactured by selective laser melting. *Materials Science and Engineering: A*, 642, 268-278.
- [81] Rabadia, C. D., Liu, Y. J., Cao, G. H., Li, Y. H., Zhang, C. W., Sercombe, T. B., Sun, H. y Zhang, L. C. (2018). High-strength β stabilized Ti-Nb-Fe-Cr alloys with large plasticity. *Materials Science and Engineering: A*, 732, 368-377.
- [82] Liu, Y., Li, S., Hou, W., Wang, S., Hao, Y., Yang, R., Sercombe, T.B. y Zhang, L. C. (2016). Electron beam melted beta-type Ti-24Nb-4Zr-8Sn porous structures with high strength-to-modulus ratio. *Journal of Materials Science & Technology*, 32(6), 505-508.
- [83] Chen, H., Nanayakkara, C. E. y Grassian, V. H. (2012). Titanium dioxide photocatalysis in atmospheric chemistry. *Chemical Reviews*, 112(11), 5919-5948.
- [84] Fujishima, A., Rao, T. N. y Tryk, D. A. (2000). Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 1(1), 1-21.

- [85] Fujishima, A. y Zhang, X. (2006). Titanium dioxide photocatalysis: present situation and future approaches. *Comptes Rendus Chimie*, 9(5-6), 750-760.
- [86] David F. Williams. (2008). On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29(20), 2941-2953. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>
- [87] Smith, A. J., Dieppe, P., Vernon, K., Porter, M. y Blom, A. W. (2012). Failure rates of stemmed metal-on-metal hip replacements: analysis of data from the National Joint Registry of England and Wales. *The Lancet*, 379(9822), 1199-1204.
- [88] Bradberry, S. M., Wilkinson, J. M. y Ferner, R. E. (2014). Systemic toxicity related to metal hip prostheses. *Clinical Toxicology*, 52(8), 837-847.
- [89] Moniz, S., Hodgkinson, S. y Yates, P. (2017). Cardiac transplant due to metal toxicity associated with hip arthroplasty. *Arthroplasty Today*, 3(3), 151-153.
- [90] Black, J. (1984). Systemic effects of biomaterials. *The biomaterials: Silver Jubilee Compendium*, 27-34.
- [91] Callister, W. D., Rethwisch, D. G., Blicblau, A., Bruggeman, K., Cortie, M., Long, J., Marceau R. y Mitchell, R. (2007). *Materials science and engineering: an introduction* (Vol. 7, pp. 665-715). New York: John Wiley & Sons.
- [92] Quinn, R.K. y Armstrong, N.R. (1978). Electrochemical and surface analytical characterization of titanium and titanium hydride thin-film electrode oxidation. *Journal of the Electrochemical Society*, 125, 1790–1796.
- [93] Schiff, N., Grosgeat, B., Lissac, M. y Dalard, F. (2002). Influence of fluoride content and pH on the corrosion resistance of titanium and its alloys. *Biomaterials*, 23, 1995–2002.
- [94] Tengvall, P. y Lundström, I. (1992). Physico-chemical considerations of titanium as a biomaterial. *Clinical Materials*, 9, 115–134.
- [95] Niinomi, M. (2002). Recent metallic materials for biomedical applications. *Metallurgical and Materials Transactions A*, 33, 477–486. <https://doi.org/10.1007/s11661-002-0109-2>

- [96] Long, M. y Rack, H. J. (1998). Titanium alloys in total joint replacement - A materials science perspective. *Biomaterials*, 19(18), 1621-1639. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(97\)00146-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(97)00146-4)
- [97] Eisenbarth, E., Velten, D., Müller, M., Thull, R. y Breme, J. (2004). Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys. *Biomaterials*, 25(26), 5705-5713. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.01.021>
- [98] Kobayashi, E., Doi, H., Yoneyama, T., Hamanaka, H., Gibson, I. R., Best, S. M., Shelton, J. C y Bonfield, W. (1998). Influence of aging heat treatment on mechanical properties of biomedical Ti–Zr based ternary alloys containing niobium. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 9, 625-630.
- [99] Kubie, L. S., y Shults, G. M. (1925). Studies on the relationship of the chemical constituents of blood and cerebrospinal fluid. *The Journal of Experimental Medicine*, 42(4), 565.
- [100] Zielinski, A. y Sobieszczyk, S. (2008). Corrosion of titanium biomaterials, mechanisms, effects and modelisation. *Corrosion Reviews*, 26(1), 1-22. <https://doi.org/10.1515/corrrev.2008.1>
- [101] Antunes, R. A. y De Oliveira, M. C. L. (2012). Corrosion fatigue of biomedical metallic alloys: Mechanisms and mitigation. *Acta Biomaterialia*, 8(3), 937-962.
- [102] Rodrigues, D. C., Urban, R. M. Jacobs, J. J. y Gilbert, J. L. (2009). In vivo severe corrosion and hydrogen embrittlement of retrieved modular body titanium alloy hip-implants. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 88(1), 206-219.
- [103] House, K., Sernetz, F., Dymock, D., Sandy, J. R. y Ireland, A. J. (2008). Corrosion of orthodontic appliances—should we care? *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 133(4), 584-592.
- [104] Solar, R. J., Pollack, S. R. y Korostoff, E. (1979). In vitro corrosion testing of titanium surgical implant alloys: an approach to understanding titanium release from implants. *Journal of Biomedical Materials Research*, 13(2), 217-250.

- [105] Wang, J. X., Fan, Y. B., Gao, Y., Hu, Q. H. y Wang, T. C. (2009). TiO₂ nanoparticles translocation and potential toxicological effect in rats after intraarticular injection. *Biomaterials*, 30(27), 4590-4600.
- [106] Frisken, K. W., Dandie, G. W., Lugowski, S. y Jordan, G. (2002). A study of titanium release into body organs following the insertion of single threaded screw implants into the mandibles of sheep. *Australian Dental Journal*, 47(3), 214-217.
- [107] Zaffe, D., Bertoldi, C. y Consolo, U. (2004). Accumulation of aluminium in lamellar bone after implantation of titanium plates, Ti-6Al-4V screws, hydroxyapatite granules. *Biomaterials*, 25(17), 3837-3844.
- [108] Engelhart, S. y Segal, R. J. (2017). Allergic reaction to vanadium causes a diffuse eczematous eruption and titanium alloy orthopedic implant failure. *Cutis*, 99(4), 245-249.
- [109] BomBač, D., Brojan, M., Fajfar, P., Kosel, F. y Turk, R. (2007). Review of materials in medical applications Pregled materialov v medicinskih aplikacijah. *RMZ-Materials and Geoenvironment*, 54(4), 471-499.
- [110] Srivastava, A. K. (2000). Anti-diabetic and toxic effects of vanadium compounds. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 206, 177-182.
- [111] Jeffery, E. H., Abreo, K., Burgess, E., Cannata, J. y Greger, J. L. (1996). Systemic aluminum toxicity: effects on bone, hematopoietic tissue, and kidney. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 48(6), 649-666.
- [112] Kobayashi, E., Wang, T. J., Doi, H., Yoneyama, T. y Hamanaka, H. (1998). Mechanical properties and corrosion resistance of Ti-6Al-7Nb alloy dental castings. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 9, 567-574.
- [113] Khan, M. A., Williams, R. L. y Williams, D. (1999). The corrosion behaviour of Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb and Ti-13Nb-13Zr in protein solutions. *Biomaterials*, 20(7), 631-637.
- [114] Long, M. y Rack, H. J. (1998). Titanium alloys in total joint replacement - a materials science perspective. *Biomaterials*, 19(18), 1621-1639.

- [115] Sarraf, M., Rezvani Ghomi, E., Alipour, S., Ramakrishna, S. y Liana Sukiman, N. (2022). A state-of-the-art review of the fabrication and characteristics of titanium and its alloys for biomedical applications. *Bio-Design and Manufacturing*, 5(2), 371-395. <https://doi.org/10.1007/s42242-021-00170-3>
- [116] Warburton, A., Girdler, S. J., Mikhail, C. M., Ahn, A. y Cho, S. K. (2020). Biomaterials in spinal implants: a review. *Neurospine*, 17(1), 101.
- [117] Tan, J. H., Cheong, C. K. y Hey, H. W. D. (2021). Titanium (Ti) cages may be superior to polyetheretherketone (PEEK) cages in lumbar interbody fusion: a systematic review and meta-analysis of clinical and radiological outcomes of spinal interbody fusions using Ti versus PEEK cages. *European Spine Journal*, 30, 1285-1295.
- [118] Alvarez, A. G., Evans, P. L., Dvlgalski, L. y Goldsmith, I. (2021). Design, additive manufacture and clinical application of a patient-specific titanium implant to anatomically reconstruct a large chest wall defect. *Rapid Prototyping Journal*, 27(2), 304-310.
- [119] Baltatu, M. S., Tugui, C. A., Perju, M. C., Benchea, M., Spataru, M. C., Sandu, A. V. y Vizureanu, P. (2019). Biocompatible titanium alloys used in medical applications. *Revista de Chimie (Bucharest)*, 70(4), 1302–1306. <https://doi.org/10.37358/RC.19.4.7114>
- [120] Vijayavenkataraman, S., Gopinath, A. y Lu, W. F. (2020). A new design of 3D-printed orthopedic bone plates with auxetic structures to mitigate stress shielding and improve intra-operative bending. *Bio-Design and Manufacturing*, 3, 98-108.
- [121] Shakir, D. A. y Abdul-Ameer, F. M. (2018). Effect of nano-titanium oxide addition on some mechanical properties of silicone elastomers for maxillofacial prostheses. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 13(3), 281-290.
- [122] Cevik, P. y Eraslan, O. (2017). Effects of the addition of titanium dioxide and silaned silica nanoparticles on the mechanical properties of maxillofacial silicones. *Journal of Prosthodontics*, 26(7), 611-615.
- [123] Asserghine, A., Filotás, D., Németh, B., Nagy, L. y Nagy, G. (2018). Potentiometric scanning electrochemical microscopy for monitoring the pH distribution during the self-healing

of passive titanium dioxide layer on titanium dental root implant exposed to physiological buffered (PBS) medium. *Electrochemistry Communications*, 95, 1-4.

- [124] Das, R. y Bhattacharjee, C. (2019). Titanium-based nanocomposite materials for dental implant systems. En A. M. Asiri y M. A. Inamuddin (Eds.), *Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry*, (pp. 271-284). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813742-0.00016-X>
- [125] Niinomi, M. (2003). Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods. *Science and Technology of Advanced Materials*, 4(5), 445.
- [126] Shahryari, L., JavidSharifi, B. y Dabaghmanesh, M. (2020). A case study of performance improvement of femur prosthesis. *Journal of Structural Engineering and Geo-Techniques*, 10(2), 57-75.
- [127] Kumari, N. y Kumar, K. (2017). Mechanisms and materials of orthotic calipers for polio infected patients - A review. *2nd International Conference for Convergence in Technology (I2CT)*, (pp. 12-19). <https://doi.org/10.1109/i2ct.2017.8226086>
- [128] Zhu, Y., Liu, D., Wang, X., He, Y., Luan, W., Qi, F. y Ding, J. (2019). Polydopamine-mediated covalent functionalization of collagen on a titanium alloy to promote biocompatibility with soft tissues. *Journal of Materials Chemistry B*, 7(12).
- [129] Hol, M. K., Cremers, C. W., Coppens-Schellekens, W. y Snik, A. F. (2005). The BAHA Softband: A new treatment for young children with bilateral congenital aural atresia. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 69(7), 973-980.
- [130] Ferreira, C. C., Ricci, V. P., Sousa, L. L. D., Mariano, N. A. y Campos, M. G. N. (2018). Improvement of titanium corrosion resistance by coating with poly-caprolactone and poly-caprolactone/titanium dioxide: potential application in heart valves. *Materials Research*, 20, 126-133.
- [131] Aikawa, Y., Kataoka, Y., Kanaya, T., Amaki, M., Tahara, Y., Asaumi, Y., Kanzaki, H., Noguchi, T., Fujita, T., Kobayashi, J. y Yasuda, S. (2018). Procedural challenge of coronary catheterization for ST-segment elevation myocardial infarction in patient who

- underwent transcatheter aortic valve replacement using the CoreValve™. *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*, 8(2), 190.
- [132] Meininghaus, D. G., Kruells-Muench, J. y Peltroche-Llacsahuanga, H. (2020). First-in-man implantation of a gold-coated biventricular defibrillator: difficult differential diagnosis of metal hypersensitivity reaction vs chronic device infection. *HeartRhythm Case Reports*, 6(6), 304-307.
- [133] Kashin O. A., Krukovskii K. V. y Lotkov, A. I. (2018). Opportunities and prospects for the use of porous silicon to create a polymer-free drug coating on intravascular stents. En *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2051, No. 1). AIP Publishing.
- [134] Suzuki, T., Tokuda, Y. y Kobayashi, H. (2017). The development of yellow nail syndrome after the implantation of a permanent cardiac pacemaker. *Internal Medicine*, 56(19), 2667-2669.
- [135] Budinski, K. G. (1991). Tribological properties of titanium alloys. *Wear* 151(2), 203-217.
- [136] Fukuda, A., Takemoto, M., Saito, T., Fujibayashi, S., Neo, M., Yamaguchi, S., Kizuki, T., Matsushita, T., Niinomi, M., Kokubo, T. y Nakamura, T. (2011). Bone bonding bioactivity of Ti metal and Ti–Zr–Nb–Ta alloys with Ca ions incorporated on their surfaces by simple chemical and heat treatments. *Acta Biomaterialia*, 7(3), 1379-1386.
- [137] Wu, G., Huang, C., Li, H., Ke, Y., Fang, G. Y., He, J. Z., Wang, S. H. y Chunlin, D. (2014). Controlling the biological activity and mechanical properties of sol–gel synthesized PEG–CaO–SiO₂–P₂O₅ hybrid materials for bone tissue engineering. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 4(12), 1047-1053.
- [138] Zhao, L., Chu, P. K., Zhang, Y., & Wu, Z. (2009). Antibacterial coatings on titanium implants. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 91(1), 470-480.
- [139] Zhang, L. C. y Chen, L. Y. (2019). A review on biomedical titanium alloys: recent progress and prospect. *Advanced Engineering Materials*, 21(4), 1801215.
- [140] Wang, Y., Yu, H., Chen, C. y Zhao, Z. (2015). Review of the biocompatibility of micro-arc oxidation coated titanium alloys. *Materials & Design*, 85, 640-652.

- [141] Browne, M., y Gregson, P. J. (1994). Surface modification of titanium alloy implants. *Biomaterials*, 15(11), 894-898.
- [142] Bloyce, A., Qi, P. Y., Dong, H. y Bell, T. (1998). Surface modification of titanium alloys for combined improvements in corrosion and wear resistance. *Surface and Coatings Technology*, 107(2-3), 125-132.
- [143] Lausmaa, J. (2001). Mechanical, Thermal, Chemical and Electrochemical Surface Treatment of Titanium. En D. M. Brunette, P. Tengvall, M. Textor y P. Thomsen (Eds.), *Titanium in medicine: material science, surface science, engineering, biological responses and medical applications* (pp. 231-266). Berlin: Springer.
- [144] Zhao, L., Yang, P., Wang, J. G. y Zhang, L. C. (2014). Impacts of surface roughness and loading conditions on cyclic direct shear behaviors of an artificial frozen silt–structure interface. *Cold Regions Science and Technology*, 106, 183-193.
- [145] Zhang, W., Huo, W. T., Lu, J. W., Hu, J. J., Zhang, L. C. y Zhang, Y. S. (2018). Significantly improved corrosion properties of ultrafine-grained pure Mg processed by sliding friction treatment. *Jom*, 70, 2596-2602.
- [146] Sutherland, D. S., Forshaw, P. D., Allen, G. C., Brown, I. T. y Williams, K. R. (1993). Surface analysis of titanium implants. *Biomaterials*, 14(12), 893-899.
- [147] Lausmaa, J., Kasemo, B. y Mattsson, H. (1990). Surface spectroscopic characterization of titanium implant materials. *Applied Surface Science*, 44(2), 133-146.
- [148] Henry, P. J., Laney, W. R., Jemt, T., Harris, D., Krogh, P. H., Polizzi, G., Zarb, G. A. y Herrmann, I. (1996). Osseointegrated implants for single-tooth replacement: a prospective 5-year multicenter study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 11(4).
- [149] Kern, M., y Thompson, V. P. (1994). Effects of sandblasting and silica-coating procedures on pure titanium. *Journal of Dentistry*, 22(5), 300-306.
- [150] Baleani, M., Viceconti, M. y Toni, A. (2000). The effect of sandblasting treatment on endurance properties of titanium alloy hip prostheses. *Artificial Organs*, 24(4), 296-299.

- [151] Siddiqi, A., Duncan, W. J., De Silva, R. K. y Zafar, S. (2016). One-piece zirconia ceramic versus titanium implants in the jaw and femur of a sheep model: a pilot study. *BioMed Research International*, 2016.
- [152] Thomas, M., Lindley, T., Rugg, D. y Jackson, M. (2012). The effect of shot peening on the microstructure and properties of a near-alpha titanium alloy following high temperature exposure. *Acta Materialia*, 60(13-14), 5040-5048.
- [153] Ortiz, A. L., Tian, J. W., Shaw, L. L. y Liaw, P. K. (2010). Experimental study of the microstructure and stress state of shot peened and surface mechanical attrition treated nickel alloys. *Scripta Materialia*, 62(3), 129-132.
- [154] Hadzima, B., Pastorek, F., Borko, K., Fintová, S., Kajánek, D., Bagherifard, S., Gholami-Kermanshahi, M., Trško, L., Pastorková, J. y Brezina, J. (2019). Effect of phosphating time on protection properties of hurealite coating: Differences between ground and shot peened HSLA steel surface. *Surface and Coatings Technology*, 375, 608-620.
- [155] Lindemann, J., Buque, C. y Appel, F. (2006). Effect of shot peening on fatigue performance of a lamellar titanium aluminide alloy. *Acta Materialia*, 54(4), 1155-1164.
- [156] Lee, H., Mall, S. y Allen, W. Y. (2006). Fretting fatigue behavior of shot-peened Ti-6Al-4V under seawater environment. *Materials Science and Engineering: A*, 420(1-2), 72-78.
- [157] Aparicio, C., Gil, F. J., Fonseca, C., Barbosa, M. y Planell, J. A. (2003). Corrosion behaviour of commercially pure titanium shot blasted with different materials and sizes of shot particles for dental implant applications. *Biomaterials*, 24(2), 263-273.
- [158] Fridrici, V., Fouvry, S. y Kapsa, P. (2001). Effect of shot peening on the fretting wear of Ti-6Al-4V. *Wear*, 250(1-12), 642-649.
- [159] Liu, Y. C., Lin, G. S., Wang, J. Y., Cheng, C. S., Yang, Y. C., Lee, B. S. y Tung, K. L. (2018). Synthesis and characterization of porous hydroxyapatite coatings deposited on titanium by flame spraying. *Surface and Coatings Technology*, 349, 357-363.
- [160] Förg, A., Myrell, A., Killinger, A. y Gadow, R. (2019). Suspension and coating characterization of high velocity suspension flame sprayed (HVSFS) mixed titanium oxide-titanium carbide coatings. *Surface and Coatings Technology*, 371, 90-96.

- [161] Chen, L. Y., Xu, T., Wang, H., Sang, P., Lu, S., Wang, Z. X., Chen, S. y Zhang, L. C. (2019). Phase interaction induced texture in a plasma sprayed-remelted NiCrBSi coating during solidification: An electron backscatter diffraction study. *Surface and Coatings Technology*, 358, 467-480.
- [162] Kuo, T. Y., Chin, W. H., Chien, C. S. y Hsieh, Y. H. (2019). Mechanical and biological properties of graded porous tantalum coatings deposited on titanium alloy implants by vacuum plasma spraying. *Surface and Coatings Technology*, 372, 399-409.
- [163] Melero, H., Fargas, G., Garcia-Giralt, N., Fernández, J. y Guilemany, J. M. (2014). Mechanical performance of bioceramic coatings obtained by high-velocity oxy-fuel spray for biomedical purposes. *Surface and Coatings Technology*, 242, 92-99.
- [164] Kim, H. M., Miyaji, F., Kokubo, T. y Nakamura, T. (1997). Effect of heat treatment on apatite-forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 8, 341-347.
- [165] Furlong, R. J. y Osborn, J. F. (1991). Fixation of hip prostheses by hydroxyapatite ceramic coatings. *The Journal of Bone & Joint Surgery British*, 73(5), 741-745.
- [166] Geesink, R. G. T. (1989). Experimental and clinical experience with hydroxyapatite-coated hip implants. *Orthopedics*, 12(9), 1239-1242.
- [167] Nonami, T., y Tsutsumi, S. (1999). Study of diopside ceramics for biomaterials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 10(8), 475-479.
- [168] Liu, X. y Ding, C. (2002). Morphology of apatite formed on surface of wollastonite coating soaked in simulate body fluid. *Materials Letters*, 57(3), 652-655.
- [169] Kurzweg, H., Heimann, R. B., Troczynski, T. y Wayman, M. L. (1998). Development of plasma-sprayed bioceramic coatings with bond coats based on titania and zirconia. *Biomaterials*, 19(16), 1507-1511.
- [170] Aronsson, B. O., Lausmaa, J. y Kasemo, B. (1997). Glow discharge plasma treatment for surface cleaning and modification of metallic biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 35(1), 49-73.

- [171] Chu, P. K., Chen, J. Y., Wang, L. P. y Huang, N. (2002). Plasma-surface modification of biomaterials. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 36(5-6), 143-206.
- [172] Favia, P. y d'Agostino, R. (1998). Plasma treatments and plasma deposition of polymers for biomedical applications. *Surface and Coatings Technology*, 98(1-3), 1102-1106.
- [173] Kilpadi, D. V. y Lemons, J. E. (1994). Surface energy characterization of unalloyed titanium implants. *Journal of Biomedical Materials Research*, 28(12), 1419-1425.
- [174] Czarnowska, E., Wierzchon, T., Maranda-Niedbala, A. y Karczarewicz, E. (2000). Improvement of titanium alloy for biomedical applications by nitriding and carbonitriding processes under glow discharge conditions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 11, 73-81.
- [175] Puleo, D. A., Kissling, R. A. y Sheu, M. S. (2002). A technique to immobilize bioactive proteins, including bone morphogenetic protein-4 (BMP-4), on titanium alloy. *Biomaterials*, 23(9), 2079-2087.
- [176] Ou, K. L., Shih, Y. H., Huang, C. F., Chen, C. C. y Liu, C. M. (2008). Preparation of bioactive amorphous-like titanium oxide layer on titanium by plasma oxidation treatment. *Applied Surface Science*, 255(5), 2046-2051.
- [177] Rossi, S., Fedrizzi, L., Bacci, T. y Pradelli, G. (2003). Corrosion behaviour of glow discharge nitrided titanium alloys. *Corrosion Science*, 45(3), 511-529.
- [178] Lamolle, S. F., Monjo, M., Rubert, M., Haugen, H. J., Lyngstadaas, S. P. y Ellingsen, J. E. (2009). The effect of hydrofluoric acid treatment of titanium surface on nanostructural and chemical changes and the growth of MC3T3-E1 cells. *Biomaterials*, 30(5), 736-742.
- [179] Guo, J., Padilla, R. J., Ambrose, W., De Kok, I. J. y Cooper, L. F. (2007). The effect of hydrofluoric acid treatment of TiO₂ grit blasted titanium implants on adherent osteoblast gene expression in vitro and in vivo. *Biomaterials*, 28(36), 5418-5425.
- [180] Ban, S., Iwaya, Y., Kono, H. y Sato, H. (2006). Surface modification of titanium by etching in concentrated sulfuric acid. *Dental Materials*, 22(12), 1115-1120.

- [181] Takeuchi, M., Abe, Y., Yoshida, Y., Nakayama, Y., Okazaki, M. y Akagawa, Y. (2003). Acid pretreatment of titanium implants. *Biomaterials*, 24(10), 1821-1827.
- [182] Cho, S. A. y Park, K. T. (2003). The removal torque of titanium screw inserted in rabbit tibia treated by dual acid etching. *Biomaterials*, 24(20), 3611-3617.
- [183] Schwartz, Z., Martin, J. Y., Dean, D. D., Simpson, J., Cochran, D. L. y Boyan, B. D. (1996). Effect of titanium surface roughness on chondrocyte proliferation, matrix production, and differentiation depends on the state of cell maturation. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 30(2), 145-155.
- [184] Wen, H. B., Liu, Q., De Wijn, J. R., De Groot, K. y Cui, F. Z. (1998). Preparation of bioactive microporous titanium surface by a new two-step chemical treatment. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 9, 121-128.
- [185] Wen, H. B., De Wijn, J. R., Cui, F. Z. y De Groot, K. (1998). Preparation of bioactive Ti6Al4V surfaces by a simple method. *Biomaterials*, 19(1-3), 215-221.
- [186] Kim, H. M., Miyaji, F., Kokubo, T. y Nakamura, T. (1996). Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 32(3), 409-417.
- [187] Lee, B. H., Do Kim, Y., Shin, J. H. y Hwan Lee, K. (2002). Surface modification by alkali and heat treatments in titanium alloys. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 61(3), 466-473.
- [188] Nishiguchi, S., Nakamura, T., Kobayashi, M., Kim, H.-M., Miyaji, F. y Kokubo, T. (1999). The effect of heat treatment on bone-bonding ability of alkali-treated titanium. *Biomaterials*, 20(5), 491-500.
- [189] Jonášová, L., Müller, F. A., Helebrant, A., Strnad, J. y Greil, P. (2002). Hydroxyapatite formation on alkali-treated titanium with different content of Na⁺ in the surface layer. *Biomaterials*, 23(15), 3095-3101.

- [190] Jonášová, L., Müller, F. A., Helebrant, A., Strnad, J. y Greil, P. (2004). Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium. *Biomaterials*, 25(7-8), 1187-1194.
- [191] Oji, M. O., Wood, J. V. y Downes, S. (1999). Effects of surface-treated cpTi and Ti6Al4V alloy on the initial attachment of human osteoblast cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 10, 869-872.
- [192] Sul, Y. T., Johansson, C. B., Kang, Y., Jeon, D. G. y Albrektsson, T. (2002). Bone reactions to oxidized titanium implants with electrochemical anion sulphuric acid and phosphoric acid incorporation. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 4(2), 78-87.
- [193] Lee, T. M., Chang, E. y Yang, C. Y. (2000). A comparison of the surface characteristics and ion release of Ti6Al4V and heat-treated Ti6Al4V. *Journal of Biomedical Materials research*, 50(4), 499-511.
- [194] Sittig, C., Textor, M., Spencer, N. D., Wieland, M. y Vallotton, P. H. (1999). Surface characterization. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 10(1), 35-46.
- [195] Karthega, M., Nagarajan, S. y Rajendran, N. (2010). In vitro studies of hydrogen peroxide treated titanium for biomedical applications. *Electrochimica Acta*, 55(6), 2201-2209.
- [196] Karthega, M. y Rajendran, N. (2010). Hydrogen peroxide treatment on Ti-6Al-4V alloy: a promising surface modification technique for orthopaedic application. *Applied Surface Science*, 256(7), 2176-2183.
- [197] Khodaei, M. y Kelishadi, S. H. (2018). The effect of different oxidizing ions on hydrogen peroxide treatment of titanium dental implant. *Surface and Coatings Technology*, 353, 158-162.
- [198] Wang, X. X., Hayakawa, S., Tsuru, K. y Osaka, A. (2002). Bioactive titania gel layers formed by chemical treatment of Ti substrate with a H₂O₂/HCl solution. *Biomaterials*, 23(5), 1353-1357.
- [199] Fushimi, K., Stratmann, M. y Hassel, A. W. (2006). Electropolishing of NiTi shape memory alloys in methanolic H₂SO₄. *Electrochimica Acta*, 52(3), 1290-1295.

- [200] Barnes, P., Savva, A., Dixon, K., Bull, H., Rill, L., Karsann, D., Croft, S., Schimpf, J. y Xiong, H. (2018). Electropolishing valve metals with a sulfuric acid-methanol electrolyte at low temperature. *Surface and Coatings Technology*, 347, 150-156.
- [201] Larsson, C., Thomsen, P., Aronsson, B. O., Rodahl, M., Lausmaa, J., Kasemo, B. y Ericson, L. E. (1996). Bone response to surface-modified titanium implants: studies on the early tissue response to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses. *Biomaterials*, 17(6), 605-616.
- [202] Zaraska, L., Gawlak, K., Gurgul, M., Gilek, D., Koziel, M., Socha, R. P. y Sulka, G. D. (2019). Morphology of nanoporous anodic films formed on tin during anodic oxidation in less commonly used acidic and alkaline electrolytes. *Surface and Coatings Technology*, 362, 191-199.
- [203] Lu, H. B., Zhang, L. C., Gebert, A. y Schultz, L. (2008). Pitting corrosion of Cu–Zr metallic glasses in hydrochloric acid solutions. *Journal of Alloys and Compounds*, 462(1-2), 60-67.
- [204] Wang, J., Ma, Y., Guan, J. y Zhang, D. (2018). Characterizations of anodic oxide films formed on Ti6Al4V in the silicate electrolyte with sodium polyacrylate as an additive. *Surface and Coatings Technology*, 338, 14-21.
- [205] Guan, L., Li, Y., Wang, G., Zhang, Y. y Zhang, L. C. (2018). pH dependent passivation behavior of niobium in acid fluoride-containing solutions. *Electrochimica Acta*, 285, 172-184.
- [206] Yetim, A. F. (2010). Investigation of wear behavior of titanium oxide films, produced by anodic oxidation, on commercially pure titanium in vacuum conditions. *Surface and Coatings Technology* 205(6), 1757-1763.
- [207] Zhu, X., Kim, K. H. y Jeong, Y. (2001). Anodic oxide films containing Ca and P of titanium biomaterial. *Biomaterials*, 22(16), 2199-2206.
- [208] Song, H. J., Kim, M. K., Jung, G. C., Vang, M. S. y Park, Y. J. (2007). The effects of spark anodizing treatment of pure titanium metals and titanium alloys on corrosion characteristics. *Surface and Coatings Technology*, 201(21), 8738-8745.

- [209] Yang, B., Uchida, M., Kim, H. M., Zhang, X. y Kokubo, T. (2004). Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. *Biomaterials*, 25(6), 1003-1010.
- [210] Diamanti, M. V. y Pedferri, M. P. (2007). Effect of anodic oxidation parameters on the titanium oxides formation. *Corrosion Science*, 49(2), 939-948.
- [211] Wang, X. X., Yan, W., Hayakawa, S., Tsuru, K. y Osaka, A. (2003). Apatite deposition on thermally and anodically oxidized titanium surfaces in a simulated body fluid. *Biomaterials*, 24(25), 4631-4637.
- [212] Leinenbach, C. y Eifler, D. (2009). Influence of oxidation treatment on fatigue and fatigue-induced damage of commercially pure titanium. *Acta Biomaterialia*, 5(7), 2810-2819.
- [213] Ishizawa, H. y Ogino, M. (1995). Formation and characterization of anodic titanium oxide films containing Ca and P. *Journal of Biomedical Materials Research*, 29(1), 65-72.
- [214] Parcharoen, Y., Kajitvichyanukul, P., Sirivisoot, S. y Termsuksawad, P. (2014). Hydroxyapatite electrodeposition on anodized titanium nanotubes for orthopedic applications. *Applied Surface Science*, 311, 54-61.
- [215] Colner, W. H., Feinleib, M. y Reding, J. N. (1953). Electroplating on titanium. *Journal of The Electrochemical Society*, 100(11), 485.
- [216] Zhang, Y. Y., Jie, T. A. O., Pang, Y. C., Wei, W. A. N. G. y Tao, W. A. N. G. (2006). Electrochemical deposition of hydroxyapatite coatings on titanium. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 16(3), 633-637.
- [217] Diamanti, M. V., Pozzi, P., Randone, F., Del Curto, B. y Pedferri, M. (2016). Robust anodic colouring of titanium: Effect of electrolyte and colour durability. *Materials & Design*, 90, 1085-1091.
- [218] Delplancke, J. L., Degrez, M., Fontana, A. y Winand, R. (1982). Self-colour anodizing of titanium. *Surface Technology*, 16(2), 153-162.
- [219] Hosseini, M. G., Sajjadi, S. A. S. y Momeni, M. M. (2007). Electrodeposition of platinum metal on titanium and anodised titanium from P salt: application to electro-oxidation of glycerol. *Surface Engineering*, 23(6), 419-424.

- [220] Abbott, A. P. y McKenzie, K J. (2006). Application of ionic liquids to the electrodeposition of metals. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 8(37), 4265-4279.
- [221] Baraka, A. M., Hamed, H. A. y Shaarawy, H. H. (2002). Electrodeposition of rhodium metal on titanium substrates. *Anti-Corrosion Methods and Materials*, 49(4), 277-282.
- [222] Diniz, P. H. G. D., de Almeida, L. F., Harding, D. P. y de Araújo, M. C. U. (2012). Flow-batch analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 35, 39-49.
- [223] Domínguez, M. A., Grünhut, M., Pistonesi, M. F., Di Nezio, M. S. y Centurión, M. E. (2012). Automatic flow-batch system for cold vapor atomic absorption spectroscopy determination of mercury in honey from Argentina using online sample treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(19), 4812-4817.
- [224] Belén, F., Vallese, F. D., Leist, L. G., Ferrão, M. F., de Araújo Gomes, A. y Pistonesi, M. F. (2020). Computer-vision based second-order (kinetic-color) data generation: arsenic quantitation in natural waters. *Microchemical Journal*, 157, 104916.
- [225] Vallese, F. D., Belén, F., Messina, P. V., de Araújo Gomes, A. y Pistonesi, M. F. (2021). Exploiting a gradient kinetics and color histogram in a single picture to second order digital imaging data acquisition with MCR-ALS for the arsenic quantification in water. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 342, 130079.
- [226] Pistonesi, D. B., Belén, F., Centurion, M. E., Sica, M. G., Ruso, J. M. y Messina, P. V. (2023). {111}-Faceted silver nanoplates: An automated and customized design for functionality. *ChemNanoMat*, 9(12), e202300354.
- [227] Konovalenko, I., Maruschak, P. y Prentkovskis, O. (2018). Automated method for fractographic analysis of shape and size of dimples on fracture surface of high-strength titanium alloys. *Metals*, 8, 161. <https://doi.org/10.3390/met8030161>
- [228] Campbell, A., Murray, P., Yakushina, E., Marshall, S. y Ion, W. (2017). Automated microstructural analysis of titanium alloys using digital image processing. En *IOP conference series: materials science and engineering* (Vol. 179, No. 1, p. 012011). IOP Publishing.

- [229] Ducato, A., Fratini, L., La Cascia, M. y Mazzola, G. (2013). An automated visual inspection system for the classification of the phases of ti-6al-4v titanium alloy. En: R. Wilson, E. Hancock, A. Bors, y W. Smith, (Eds.), *Computer Analysis of Images and Patterns: 15th International Conference, CAIP 2013, Proceedings, Part II Lecture Notes in Computer Science*, (Vol. 8048, pp. 362-369). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-40246-3_45
- [230] Raikar, S., Heilig, M., Mamidanna, A. y Hildreth, O. J. (2021). Self-terminating etching process for automated support removal and surface finishing of additively manufactured Ti-6Al-4 V. *Additive Manufacturing*, 37, 101694.

Capítulo 2

Objetivos

2.1. Objetivo general

La presente propuesta se enfoca en el desarrollo y caracterización de nuevas modificaciones superficiales en la aleación Ti-6Al-4V basándose en recubrimientos nanoestructurados de TiO₂ que le proporcionen mejoras y le otorguen nuevas propiedades, con el fin de perfeccionar su rendimiento multifuncional. Se pretende optimizar la superficie de la aleación a fin de mejorar su interacción con el tejido huésped y al mismo tiempo reducir la liberación de residuos potencialmente tóxicos generados debido a su desgaste natural.

2.2. Objetivos específicos

Desarrollar y caracterizar un recubrimiento nanoporoso bioinspirado de TiO₂ específicamente para la aleación Ti-6Al-4V. Este recubrimiento está diseñado para exhibir propiedades ópticas en la región del infrarrojo cercano. Su capacidad para generar sistemas fotodinámicos lo hace particularmente adecuado para su aplicación en implantes ortopédicos, ofreciendo nuevas posibilidades en términos de funcionalidad y compatibilidad biomédica.

Diseñar un recubrimiento para la aleación Ti-6Al-4V, teniendo en cuenta las propiedades del titanio y del óxido de titanio nanoporoso bioinspirado. Enriquecer el recubrimiento mediante la inclusión de nanopartículas metálicas con morfologías específicas, mejorando las propiedades del recubrimiento y otorgándole nuevas.

Diseñar e implementar un sistema automatizado que permita de controlar de manera precisa los principales parámetros durante el proceso de anodizado electroquímico de la aleación Ti-6Al-4V. Este sistema debe controlar el estado inicial de la aleación (prepulido mecánico) y garantizar la obtención reproducible de recubrimientos nanoporosos específicos de TiO₂. Su implementación facilita la producción eficiente y consistente de estos recubrimientos, lo que es fundamental para aplicaciones industriales y de investigación.

Desarrollar una metodología innovadora que sea simple, efectiva, económicamente viable y que no requiera pretratamiento para la cuantificación simultánea de aluminio y vanadio liberados de la aleación Ti-6Al-4V en medios biológicos simulados. Esta metodología es crucial para evaluar la biocompatibilidad y seguridad de la aleación en aplicaciones biomédicas.

Capítulo 3

**Recubrimiento bioinspirado sobre
aleaciones Ti-6Al-4V**

3.1. Introducción

El titanio y las aleaciones a base de titanio, como se ha destacado en el Capítulo 1, son actualmente los biomateriales más utilizados en aplicaciones ortopédicas como sustitutos óseos debido a su excelente biocompatibilidad y propiedades mecánicas. Además, como también se ha mencionado el titanio, específicamente el TiO_2 , posee excelentes propiedades fotocatalíticas que le otorga gran cantidad de aplicaciones y lo hacen adecuado para terapias fotodinámicas y fototérmicas. Sin embargo, su desventaja es que el efecto fotocatalítico global está limitado por la radiación ultravioleta (UV) (275 - 390 nm) que induce efectos secundarios en los tejidos sanos y una penetración superficial. Por otro lado, la radiación infrarroja cercana (NIR) (700 -1300 nm) presenta una mayor profundidad de penetración en los tejidos debido a su mínima refracción y atenuación por biomoléculas endógenas y cromóforos, y no induce efectos secundarios en los tejidos sanos. Por lo tanto, su uso como fuente de radiación en fototerapias ha atraído una atención significativa entre la comunidad médica [1-3]. Hasta la fecha, existe una gran cantidad de artículos y revisiones publicados que han resumido principalmente los desarrollos de materiales sensibles a la radiación NIR y sus potenciales habilidades clínicas [3, 4]. En lo que respecta a las enfermedades óseas, estudios actualizados han revelado que las fototerapias asistidas por radiación NIR pueden aportar soluciones más precisas y menos invasivas para los tumores óseos, pero también para las infecciones de implantes, las inflamaciones osteocondrales e incluso para inducir la regeneración tisular [5-7]. Por lo tanto, se han propuesto muchos estudios para ampliar la respuesta óptica de los biomateriales de titanio en la región ultravioleta-visible (UV-VIS) y NIR dopándolos con elementos metálicos [8], no metálicos [9] y de tierras raras [10], o mediante la inducción de una configuración estructurada periódicamente [11, 12]. Dotar a los implantes ortopédicos de titanio de propiedades ópticas activadas por NIR sería un valor añadido a las características ya positivas que posee este material para su uso en implantes.

3.2. Objetivo

En este capítulo se presenta una modificación superficial de la aleación Ti-6Al-4V que le confiere propiedades ópticas NIR tras el desarrollo de un recubrimiento nanoporoso bioinspirado de TiO_2 y de esta manera se posibilite el desarrollo de nuevos diseños fotodinámicos que puedan ser utilizados como implantes ortopédicos funcionales.

3.3. Experimental

3.3.1. Reactivos y materiales

Para la modificación superficial se emplearon láminas de Ti-6Al-4V (1000 μm de espesor Ti 89,754 %; Al 6,01 %; V 4,06 %; C 0,01 %; N <0,01 %; O 0,08 %; Fe 0,04 %; H 0,00 6%, Otros <0,04 %) compradas a Roberto Cordes SA, ácido fluorhídrico (HF, 48 % m/v, Sigma - Aldrich), ácido ortofosfórico (H_3PO_4 , 85 %, Merck), acetona (AC, 99 %, Sigma - Aldrich) y etanol (EtOH, 96 %, Carl Roth). Todos los experimentos se realizaron empleando agua Milli-Q (MQ, 18,3 $\text{M}\Omega\text{ cm}^{-1}$).

3.3.2. Anodizado de las láminas de Ti-6Al-4V

Las láminas de Ti-6Al-4V se cortaron en discos de 10 mm de diámetro y 1 mm de espesor que luego fueron esmerilados con papel abrasivo SiC grado P180, P240, P400, P600, P800, P1000, P1500, P2000 y pulidos mecánicamente con pasta de diamante de 3 μm (grano 8000, Leader Products). Posteriormente, los discos se desengrasaron mediante sonicación en AC, EtOH y agua MQ durante 20 min, en secuencia. Los recubrimientos de TiO_2 anódico se obtuvieron electroquímicamente usando una celda de polipropileno termostatazada que contenía una solución de H_3PO_4 1M y 0,3 % m/v de HF como electrolito soporte, una barra de grafito como cátodo y discos Ti-6Al-4V pulidos como ánodo; la distancia de separación constante se mantuvo en 10 mm. A continuación, el sistema se conectó a una fuente de alimentación de corriente continua de precisión y se realizó el anodizado de los discos aplicando 5, 7 y 10 V bajo agitación magnética a 25 ° C durante 90 min. Se enjuagaron los discos de Ti-6Al-4V anodizado (α -Ti-6Al-4V) con agua MQ y se secaron en una corriente de nitrógeno. Finalmente, los discos se sometieron a tratamiento térmico, según fue necesario, durante 1 h, en atmósfera de aire, en un horno de calcinación.

3.3.3. Caracterización microestructural

Se tomaron imágenes superficiales de los discos α -Ti-6Al-4V empleando un microscopio digital Andonstar, modelo A1 y se procesaron con Matlab® 2010a (Mathworks Inc.) mediante la aplicación de la interfaz gratuita "Imagens gui". Para todas las imágenes, se definieron tres regiones de interés (ROI) y luego se utilizaron para construir histogramas de frecuencia de niveles de color estándar. En la Figura 3.1 se presenta a modo de ejemplo un disco de α -Ti-6Al-4V con sus respectivas ROI.



Figura 3.1. Disco de α -Ti-6Al-4V con los ROI.

Para la caracterización morfológica, se utilizó un microscopio electrónico de barrido por emisión de campo de alta resolución (HR-SEM) ZEISS ULTRA PLUS, acoplado a un espectrofotómetro de dispersión de energía de rayos X (EDX) que permite el microanálisis químico elemental. Las imágenes se adquirieron con detectores de electrones secundarios operados a un voltaje de aceleración de 3,00 kV y a una distancia de trabajo de resolución de 2,1 nm. La compensación local de la carga se logró inyectando nitrógeno gaseoso. Los diámetros medios de los nanoporos, la relación de aspecto, el grosor de la pared, las distancias entre los orificios, el diámetro de Feret (DF), el ángulo de Feret (Fang), la redondez (R), la circularidad (C) y los gráficos de superficie 3D se adquirieron mediante procesamiento digitalizado de imágenes utilizando el programa gratuito Image J [13].

El análisis topográfico se realizó a temperatura ambiente (TA, 23 ± 1 °C) utilizando un microscopio de fuerza atómica (AFM, Innova, Bruker) operado en el modo de toque utilizando puntas de silicio sin recubrimiento con una longitud de voladizo de 125 μm , constante de resorte de 40 N m^{-1} y frecuencia resonante de 60-90 kHz. Todas las imágenes se tomaron con una resolución de 1024×1024 píxeles con un tamaño de escaneo de 1×1 ; 2×2 ; 3×3 ; 5×5 ; 50×50 y 100×100 μm . Para mejorar la calidad de la imagen, las micrografías se filtraron realizando una transformada de Fourier discreta para eliminar el ruido de alta y baja frecuencia.

El análisis cristalino de los recubrimientos α -Ti-6Al-4V antes y después del tratamiento térmico a 500 °C y 800 °C se realizó mediante la técnica de difracción de rayos X de incidencia rasante (GIXRD) mediante un difractómetro PANalytical Empyrean 3 equipado con un tubo de rayos X de cerámica (Cu Long Fine Focus) configurado a 45 kV y 40 mA, y un detector PIXcel3D. El difractómetro estaba equipado con un espejo de enfoque de rayos X que aumenta la intensidad del haz incidente, elimina el Cu K β y produce un haz incidente con una altura de 0,7 mm con respecto a la posición de los discos. La divergencia axial del haz incidente se controló con una

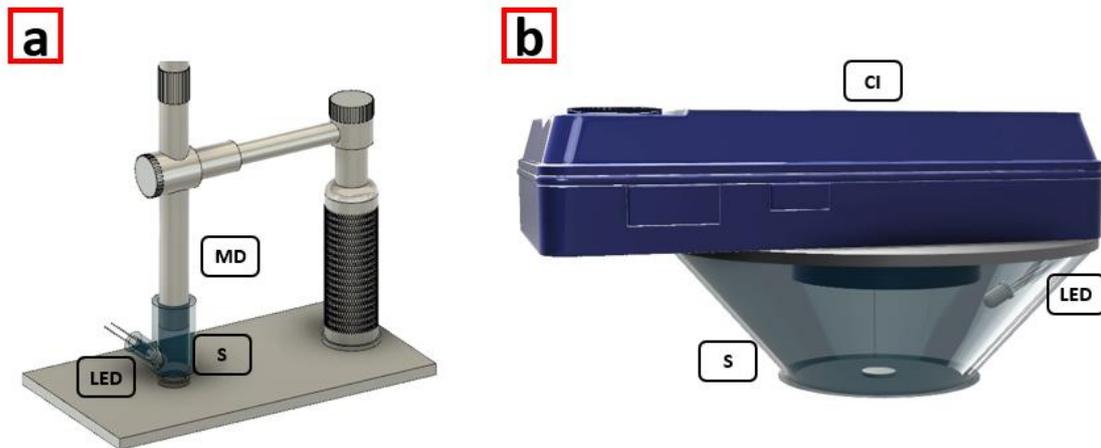
ranura sollar de $0,02^\circ$ y el ancho axial con una máscara de 10 mm. El haz difractado se controló con un colimador de placa paralela de $0,18^\circ$. Las mediciones a temperatura ambiente se realizaron utilizando una plataforma Euleriana de tres ejes y se registraron para valores de ω en el rango de $0,5 \leq \omega \leq 5^\circ$. Las mediciones de GIXRD al cambiar la temperatura, $25^\circ\text{C} \leq T \leq 600^\circ\text{C}$, se llevaron a cabo utilizando una cámara de horno de alta temperatura Anton Paar HTK 1200 N. Los discos se colocaron en un soporte de alúmina y se calentó en rampas a 300, 400, 500 y 600 $^\circ\text{C}$ a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$. Antes de las mediciones, la temperatura de la cámara del horno se mantuvo constante durante 1 h. En ambos casos, los discos se montaron horizontalmente y antes de las mediciones se alinearon la posición de la muestra (z) y el ángulo omega (ω). Posteriormente, se registraron escaneos de 2θ en el rango angular de $20^\circ \leq 2\theta \leq 70^\circ$ manteniendo ω constante en 2° , con un tamaño de paso de $0,013^\circ$ y un tiempo de conteo de 1 s. Se utilizaron las tarjetas del Joint Committee on Powder Diffraction Standards n° 44-1294 (α -Ti), 75-1752 (TiO_2 , rutilo) y 21-1272 (TiO_2 , anatasa) como referencias.

3.3.4. Medidas ópticas

Las medidas de reflectancia difusiva se realizaron utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Nicolet® IS50 FT-IR, en modo reflectancia y absorbancia con un rango espectral entre 16000 y 4000 cm^{-1} (625 - 2500 nm), con reflectores de infrarrojo cercano (CaF_2/KBr) y detectores ($\text{InGaAs}/\text{KBr-DLaTGS}$). Los espectros se registraron en diferentes ángulos de incidencia de radiación sobre los discos (30 , 45 , 60 y 90°) y utilizando el software integrado, a una resolución espectral de 4 cm^{-1} e integrando 32 escaneos. Todas las mediciones se llevaron a cabo a TA empleando un soporte home-made de ácido poliláctico (PLA, filamento de impresión 3D) para cada ángulo de radiación de incidencia, impreso en Adonis 3D, modelo Hellbot, y utilizando un disco de teflón como blanco. El análisis de espectroscopía de fluorescencia molecular se realizó utilizando un espectrofluorímetro Shimadzu RF-6000, en modo de fluorescencia 3D con un rango espectral entre 200 y 900 nm para las longitudes de onda de excitación y emisión. Los espectros se registraron utilizando el software integrado, a 5 nm de resolución espectral y una velocidad de barrido de 12000 nm min^{-1} . Para las mediciones se diseñaron e imprimieron celdas en PLA, lo que permitió colocar los discos en ángulos de 30 , 45 y 60° con respecto a la radiación incidente, reflejándola hacia el detector. Todas las mediciones se llevaron a cabo a TA.

Se registraron imágenes visibles variando el ángulo de incidencia de la radiación (30 , 45 , 60 y 90°). Para la obtención de las imágenes se diseñó e imprimió un soporte en PLA para cada ángulo

(Figura 3.2a). Los discos se colocaron en la parte inferior del soporte (S), el microscopio digital Andonstar (MD) se ubicó en la parte superior y, un LED blanco frío se colocó en la abertura lateral del soporte [14]. A continuación, las imágenes obtenidas se procesaron como se describe en la Sección 3.2.3. Las imágenes infrarrojas de los discos α -Ti-6Al-4V se adquirieron con una cámara digital Canon, modelo Powershot ELPH 190IS (CI); las imágenes se capturaron habiendo removido previamente el filtro infrarrojo de la cámara. Se montó un sistema home-made (S) (Figura 3.2b) que permitió eliminar la perturbación de la luz externa. Se utilizó un LED infrarrojo emisor, IR383, $\lambda=940$ nm, controlando el flujo radiante espectral, [15] $\Phi_{\lambda}= 2,4-450$ W nm⁻¹, mediante el empleo de una fuente regulable Uni-T, modelo UTP3313TFL a TA. Las imágenes se compararon en términos de irradiancia espectral (E_{λ}), la cual represente el flujo en radianes emitido a una longitud de onda específica y que alcanza un punto por el área diferencial que lo rodea [15]. El área total del disco metálico, 78,5 mm², se consideró para el cálculo de E_{940} .



3.3.5. Medidas de ángulo de contacto estático y dinámico

El ángulo de contacto estático y dinámico entre la superficie de los discos y una gota de agua se midió utilizando un sistema que fue adaptado en el laboratorio (Figura 3.3) a TA. La configuración utilizada incluye un portamuestras (PM), impreso en 3D, en el que los discos se colocaron a la misma altura que el microscopio digital (MD). Además, en la parte superior del portamuestras se conectó un tubo de Tygon de 1,02 mm de diámetro para formar la gota. El otro extremo del tubo se conectó a una jeringa que estaba ubicada en una bomba de jeringa, Thermometric 612 Syringe Pump 2, (BJ) para asegurar la reproducibilidad de las gotas en todas las medidas. Se depositó un volumen de gota máximo de 230 μ l sobre el disco para adquirir la

imagen mediante el microscopio digital (microscopio digital Andonstar) antes de los análisis del ángulo de contacto estático. Las mediciones dinámicas se realizaron mediante el método de avance y retroceso [16] empleando la bomba de jeringa, para esto se formó una gota de agua de 230 μL y se reabsorbió inmediatamente a una velocidad de 10 $\mu\text{L s}^{-1}$ durante 4 ciclos, y se grabó un video con el microscopio digital. Estos videos fueron procesados usando el programa Free Video to JPG Converter obteniendo un cuadro (imagen) por segundo. Todas las imágenes se procesaron con el software ImageJ [13] y las mediciones de ángulos de contacto (AC) se realizaron con una precisión de ± 1 utilizando el módulo disponible Drop Snake y LB-ADSA [17].

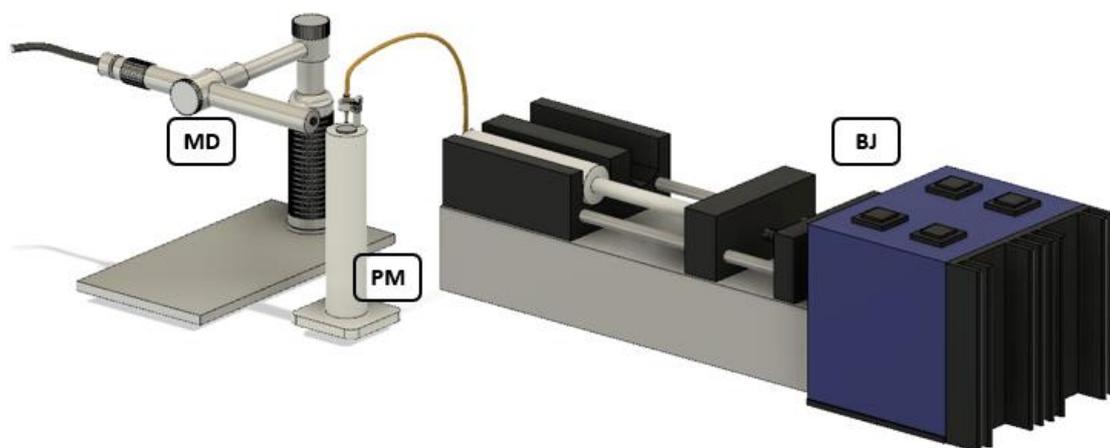


Figura 3.3. Sistema para obtener las imágenes de las interfaces líquido/sólido/gas. (a) Soporte para los discos y microscopio y (b) soporte para los discos, microscopio y bomba de jeringa.

3.4. Resultados y discusión

3.4.1. Recubrimiento de nanoestructura

La capa de óxido, el espaciado, el espesor y las subcapas de óxido formadas térmicamente de nanotubos (NTs) de TiO_2 electrodepositados son una consecuencia directa del voltaje aplicado, la composición del electrolito, la temperatura y el tiempo de anodización [12]. En función de ellos, se puede establecer la utilidad y activación de los materiales constituyentes de las matrices electrodepositadas para lograr la característica deseada. Con base en estos argumentos y teniendo en cuenta que la intención era obtener una organización que conservara la distribución regular de poros en los recubrimientos anodizados de TiO_2 , pero sin la formación de NTs, de modo de mejorar la adherencia celular, controlar el espesor del recubrimiento y aumentar la estabilidad del mismo, se ha reducido el potencial aplicado a 5 V para disminuir el espesor de la capa de óxido y de la pared de nanotubos. El tiempo de anodizado se mantuvo durante de 90 min para lograr una estructura ordenada [12] y la temperatura se fijó en 25 ± 2 $^\circ\text{C}$, para conseguir una formación de óxido retardada y para ralentizar la velocidad de disolución. La distancia entre

los nanotubos puede ampliarse con un aumento de la concentración de electrolito, por lo tanto, para disminuir dicho parámetro, se ha utilizado un electrolito mixto que consiste en H_3PO_4 1 M y HF 0,3% m/v como fuente de iones fluoruros (F) [12]. De acuerdo con Tesler et al. y Gravina et al. [12, 18] el uso de las condiciones de trabajo anteriores no dio como resultado una disposición de nanotubos, sino que se obtuvo un recubrimiento de óxido de titanio nanoporoso (Figura 3.4).

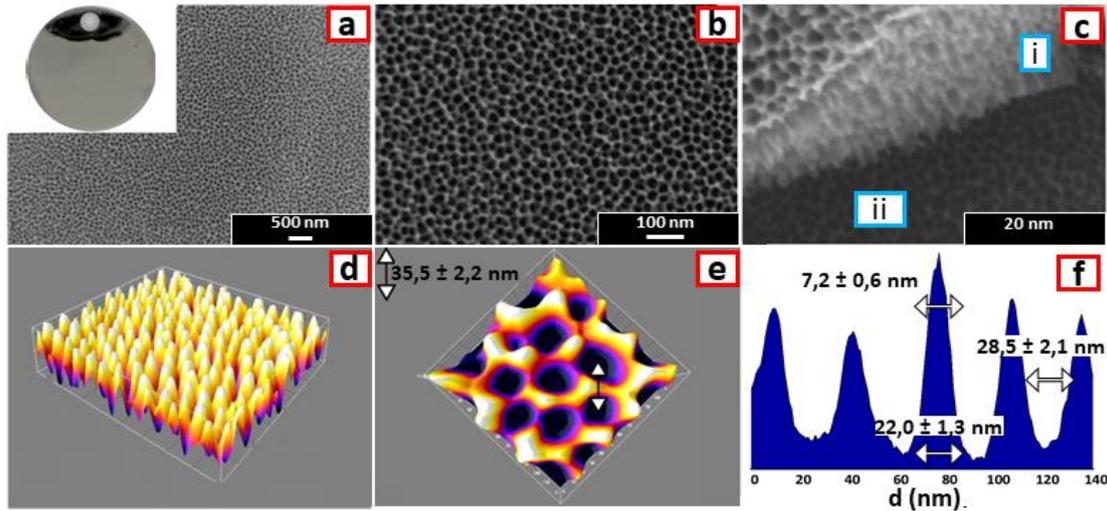


Figura 3.4. (a) Microfotografía HR-SEM de superficie de TiO_2 anodizado. (b) Microfotografías HR-SEM de aumento de la superficie de TiO_2 anodizado. (c) Corte transversal de la superficie anodizada de TiO_2 ; (i) sección transversal de la capa de óxido y (ii) fondo de la superficie. (d) Gráfico de superficie 3D coloreado invertida construida a partir de una microfotografía HR-SEM. (e) Gráfico de superficie en 3D de la superficie de TiO_2 anodizado que muestra la matriz de empaquetamiento hexagonal de nanoporos. (f) Parámetros estructurales medidos a partir de microfotografías HR-SEM.

Si bien la obtención de un recubrimiento NTs no es el objetivo de este capítulo, se confirmó que después de mantener todos los demás factores constantes la presencia de NTs estaba muy restringida a la aplicación de un potencial de trabajo superior a 7 V. La forma y homogeneidad de los NTs aumentaron, como se esperaba, en función de dicho parámetro, lo que se puede apreciar en las imágenes HR-SEM de la Figura 3.5a y b.

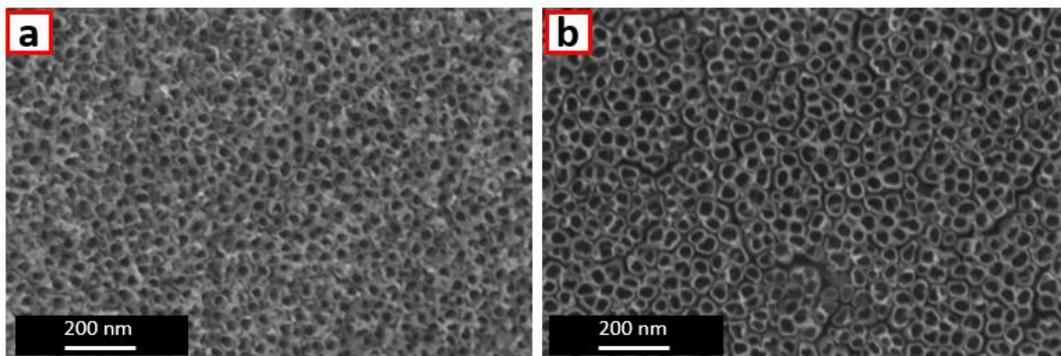


Figura 3.5. (a) Microfotografía HR-SEM de un disco de Ti-6Al-4V anodizado a 7V. (b) Microfotografía de un disco de Ti-6Al-4V anodizado a 10V.

Según Shah, UH et al. [19], el mecanismo de formación de los NTs de TiO₂ a potenciales por debajo de 8 V procede a lo largo de las siguientes ecuaciones:



El crecimiento de los NTs está sujeto a una competencia entre los procesos de oxidación asistida en la interfaz metal/óxido (Ec. 3.1-3.4) y la disolución de la capa de óxido debido a iones fluoruros en la interfaz óxido/electrolito (Ec. 3.5-3.6). A la aplicación de ≈ 4 V de potencial de trabajo, se produce la migración de especies F⁻ hacia los sitios activos de TiO₂²⁺ y la formación de [TiF₆]²⁻ soluble; en tales condiciones, las estructuras revelaron la formación de poros localizados. En vista del mecanismo propuesto por los autores, [19] en el potencial de anodización de trabajo utilizado, 5 V, existe un balance entre la migración de especies F⁻ y la formación de [TiF₆]²⁻ en la superficie. Este balance estaría favoreciendo la formación de una estructura porosa pero no el crecimiento de NTs. A potencial de trabajo superior a 6 V, el mismo mecanismo propone que existe un aumento de la actividad iónica dentro de la estructura nanoporosa que concuerda con el inicio del crecimiento de los NTs y con los resultados observados luego de la aplicación de un potencial activo de 7 V. El microanálisis elemental de la superficie de anodización de 5 V, demostró una cantidad detectable de fluor (correspondiente a la especie [TiF₆]²⁻) en lugar de oxígeno (TiO₂²⁺). Por otro lado, como se observa en la Tabla 3.1, la señal de F va disminuyendo a medida que se aumenta el potencial aplicado (5, 7 y 10 V), observándose que a 10 V la señal ya no es detectable y validando la hipótesis planteada.

Tabla 3.1. Porcentajes de cada elemento en la superficie de anodización a 5, 7 y 10 V mediante el microanálisis elemental.

Elemento	Porcentaje en peso	Porcentaje atómico
5 V		
Fluor	5,62	12,66
Aluminio	4,65	7,37
Silicio	0,08	0,12

Capítulo 3: Recubrimiento bioinspirado sobre aleaciones Ti-6Al-4V

Titanio	86,23	76,98
Vanadio	3,41	2,87
7 V		
Oxígeno	10,61	25,12
Fluor	3,56	7,11
Silicio	0,02	0,03
Titanio	85,04	67,28
Vanadio	0,03	0,02
10 V		
Silicio	0,05	0,08
Titanio	98,99	99,18
Vanadio	0,07	0,07
Cobre	0,89	0,67

Se evaluó la uniformidad de la superficie nanoporosa de α -Ti-6Al-4V empleado imágenes de microscopio digital y luego se confirmó mediante el análisis de imágenes microscópicas electrónicas de barrido de alta resolución (HR-SEM) (Figuras 3.4b-3.4d). La imagen del disco α -Ti-6Al-4V (Figura 3.1) fue procesada, seleccionando tres regiones de interés a partir de las cuales se construyeron histogramas de frecuencia de los niveles de color estándar utilizando el software Matlab® 2010a (Mathworks Inc.) con la interfaz "Imagens_gui" [20] (Figura 3.6). Los histogramas de frecuencia de los niveles de color estándar de tres regiones de interés seleccionadas presentaron casi la misma configuración, lo que sugiere la ausencia perturbaciones macroscópicas observables.

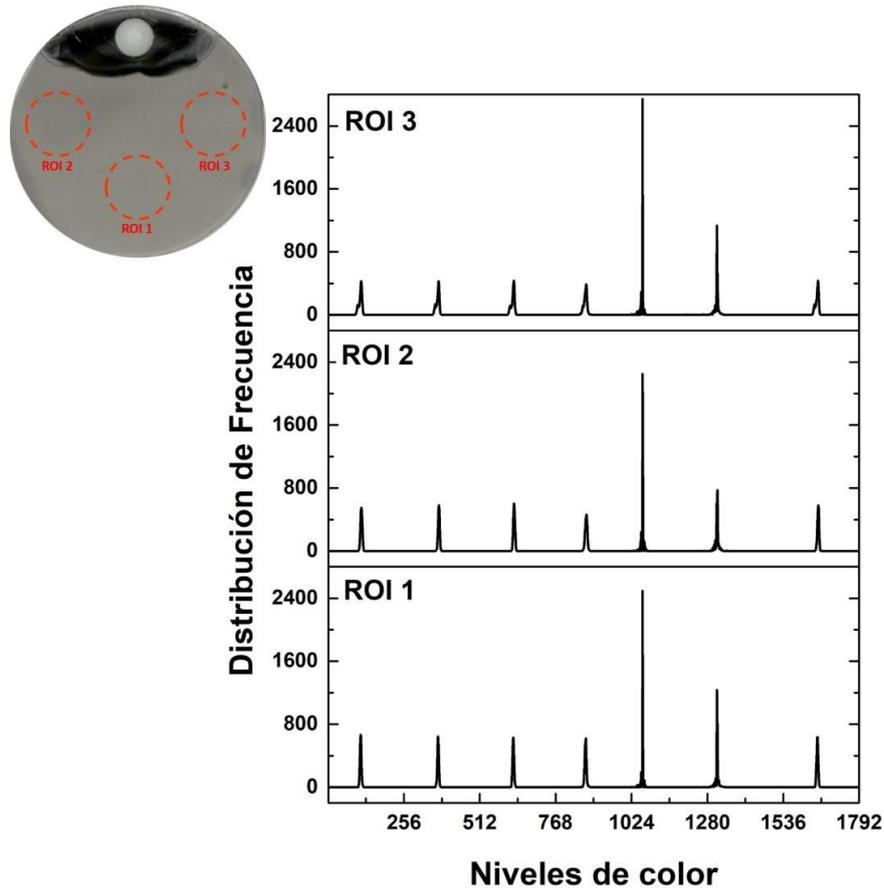


Figura 3.6. Histogramas de frecuencia de niveles de color estándar de las tres regiones de interés informadas en la Figura 3.1.

Analizando las microfotografías HR-SEM (Figuras 3.4b y c) tampoco se observan interrupciones en la superficie a nanoescala. En consecuencia, se verificó un patrón de distribución uniforme y regular a lo largo de niveles macro y nanoescala, lo que demuestra la consistencia de las condiciones de reacción. La capa de óxido presenta una nanoestructura porosa homogénea (Figura 3.4b) que se dispone unidireccional y normal a la superficie metálica con un espesor de aproximadamente $133,6 \pm 20,3$ nm, se observa que la estructura porosa se replica en varios niveles, desde la parte superior hasta la inferior (Figura 3.4c). La forma y el tamaño de la estructura con nanoporos se interpretaron en términos de su diámetro de Feret, ángulo de Feret, redondez y circularidad. Se observaron desviaciones de la circularidad, lo que significa que la forma de los poros se puede aproximar como una elipse con una relación de aspecto de diámetro menor/mayor de $R = 0,8 \pm 0,1$ con $31,1 \pm 12,8$ nm en su diámetro mayor. Para un análisis profundo de la superficie nanoestructurada y la organización de nanoporos, se construyeron patrones de superficie 3D de colores invertidos a partir de imágenes HR-SEM (Figura 3.4d). Los resultados mostraron que la disposición replicaba las matrices de

protuberancias cónicas con casquete esférico de estructuras biológicas presentes en algunas alas de insectos, como cigarras [21, 22]. Precisamente, el recubrimiento con nanoporos muestra una organización con una distancia de centro a centro de aproximadamente $35,5 \pm 2,2$ nm (Figuras 3.4f y g) imitando en su forma negativa las matrices verticales ordenadas hexagonales que las cigarras (*Psaltoda claripennis* y *Cicadetta oldfieldi*) tienen en la superficie de sus alas [22, 23]. Las barreras entre poros de TiO₂ son de aproximadamente $7,2 \pm 0,6$ nm y de $22,0 \pm 1,2$ nm en su parte superior y en su diámetro basal respectivamente (Figura 3.4f) mientras que los poros son de $28,5 \pm 2,1$ su parte superior y $15,2 \pm 0,9$ nm en su distancia basal, lo que da lugar a una relación entre el espaciado y el diámetro basal de $\approx 1,88$, similar al reportado para las cigarras [21]. En la Figura 3.7 se presenta el análisis estadístico. Por lo tanto, la estructura de TiO₂ electrodepositado en Ti-6Al-4V es comparable a la estructura negativa del ala de cigarra y mantiene tanto la forma como la dimensionalidad en una estructura penetrable y de alta densidad.

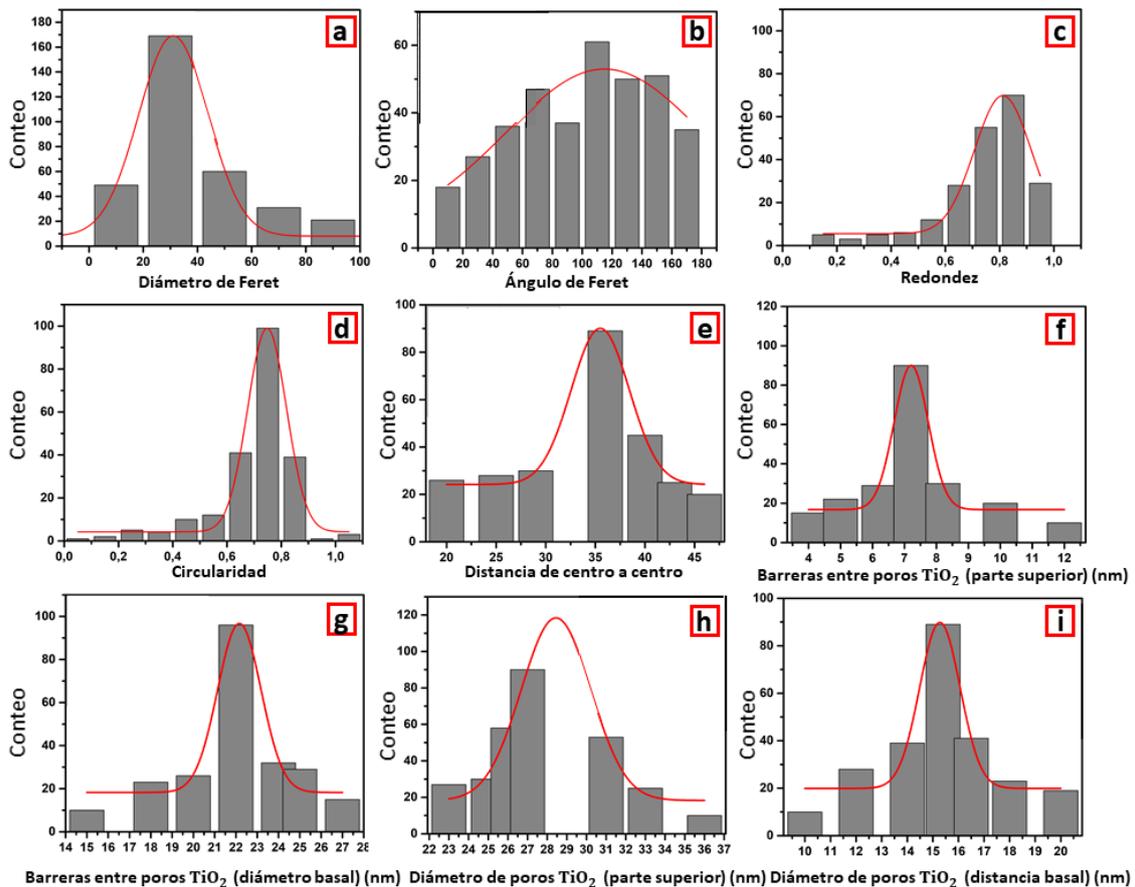


Figura 3.7. Histogramas de frecuencia determinados tras la inspección de microfotografías HR-SEM de α -Ti-6Al-4V anodizado a 5V de: (a) diámetro de Feret, (b) ángulo de Feret, (c) redondez, (d) circularidad, (e) distancia entre centros de los nanoporos, (f) distancia de barreras entre vacíos de la estructura nanoporosa de TiO₂ (parte superior), (g) distancia de barreras entre vacíos de la estructura nanoporosa de TiO₂ (diámetro basal), (h) diámetro de vacíos de TiO₂ (parte superior) y (i) diámetro de vacíos de TiO₂ (distancia basal).

La topografía biomórfica fue analizada por AFM confirmando diferencias no significativas entre las regiones superficiales y una superficie uniforme con nanoporos (Figuras 3.8a y b). Además, se utilizaron imágenes de AFM para determinar con precisión la altura promedio de los nanoporos que resultan de un valor de $S_z = 20,0 \pm 0,5$ nm. Simultáneamente, se realizó el análisis de la textura de la superficie y los parámetros de amplitud 3D fueron calculados [24], los resultados se presentan en la Figura 3.8c. Se puede observar que a medida que el área topográfica de la superficie analizada se reduce de $1,06 \times 10^4$ hasta $1,08 \mu\text{m}^2$, la profundidad del valle más profundo, S_v , la altura del pico más alto, S_p y la altura máxima, S_t , variaron de micrómetros a nanómetros, lo que muestra que hay una característica de superficie de múltiples escalas. La rugosidad multiescala es una concepción habitual en superficies naturales, observada a lo largo de las alas de las cigarras [25] e incluso en la MEC [26, 27]. Esta rugosidad de múltiples escalas resultó en funciones precisas a través de una comunicación bioquímica y biofísica dinámica entre las células y el microambiente en evolución [28, 29]. También se puede observar una disminución en los valores de la altura media de la superficie, S_a , y la altura cuadrática media, S_q , después de una reducción del área topográfica inspeccionada de $1,06 \times 10^4$ hasta $1,08 \mu\text{m}^2$ (Figura 3.8c). Los picos más altos y los valles más profundos promediados sobre la superficie total están dados por S_q y, por lo tanto, siempre es mayor que el S_a equivalente medido para la misma área. Sin embargo, la diferencia entre S_a y S_q es menor en la estructura con nanoporos en comparación con la superficie a una microescala; las diferencias son aproximadamente un 11% en lugar de un 21%, lo que sustenta una superficie homogénea de valles y picos a nanoescala. La simetría de la superficie se interpretó en términos de asimetría, se obtuvo un valor de $S_{sk} = -0,14$ después de la inspección de la superficie con nanoporos, lo que indica que existe una distribución casi simétrica de alturas de picos y valles con una pequeña desviación hacia valles más profundos. De manera consistente, el coeficiente de curtosis fue siempre inferior a 3 con respecto a una curva de distribución platicurtoica con pocos picos altos y valles bajos [30].

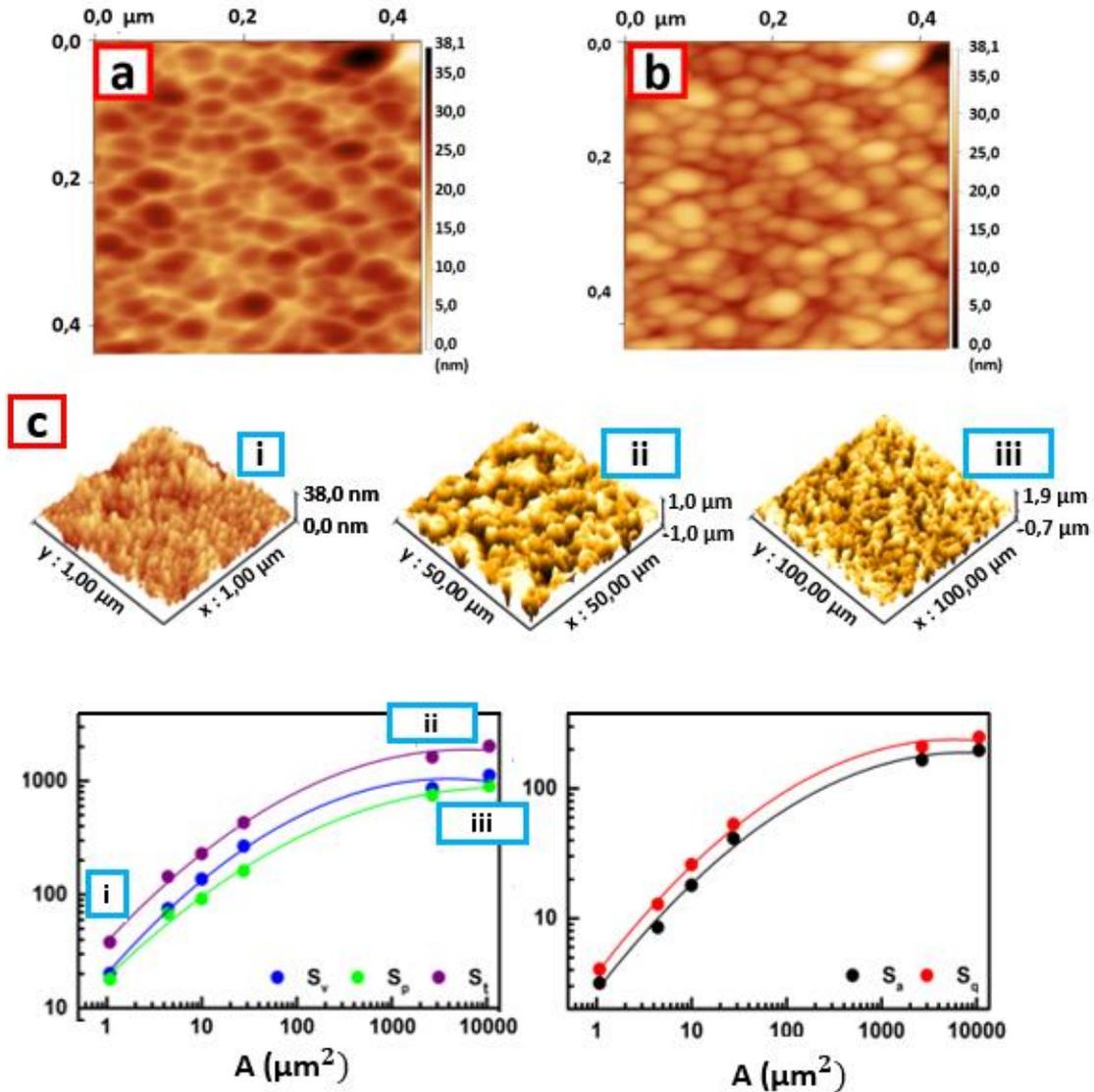


Figura 3.8. Imágenes microscópicas de fuerza atómica (AFM) de una estructura con nanoporos de α -Ti-6Al-4V (a) y su réplica con colores invertidos (b). (c) Parámetros de amplitud 3D en función del área de la superficie inspeccionada (A). S_a : altura media aritmética, rugosidad superficial media; S_q : altura cuadrática media de la superficie; S_v : profundo del valle más profundo; S_p : altura del pico más alto; $S_t = S_v + S_p$: altura máxima entre el valle más profundo y el pico más alto.

Además de los parámetros topográficos, la microestructura cristalina es determinante para las características superficiales. La oxidación de la aleación de titanio, como se ha mencionado, es una reacción espontánea con valores muy negativos de la energía libre de Gibbs, de TA a 1227°C los principales productos de oxidación son TiO_2 [31]. Para realizar un análisis preciso de la superficie, se utilizó una configuración de difracción de rayos X de incidencia rasante, el ángulo del haz incidente (ω) se reguló de 0,1° a 5° y la temperatura se varió de TA a 600 °C, los resultados se muestran en la Figura 3.9. A 25 °C, el disco de Ti-6Al-4V exhibe los picos característicos de la

fase α con algunos retenidos de fase β [32] (Figura 3.9a). En condiciones similares, el disco anodizado también exhibe los picos característicos de la fase α , indicando, de acuerdo con los datos de la literatura [12], que el recubrimiento de TiO_2 formado es amorfo (Figura 3.9b y c). Por lo tanto, para obtener fases cristalinas en los recubrimientos electrodepositados, es necesario aplicar un tratamiento térmico adecuado. El disco de Ti-6Al-4V y el disco de α -Ti-6Al-4V se sometieron a un tratamiento térmico desde TA a 600 °C (Figuras 3.9a y b). A temperaturas inferiores a 500 °C, la XRD de ambas muestras no muestra diferencias con respecto a la fase α del disco de Ti-6Al-4V. Los picos incipientes asignados al rutilo aparecen a 500 °C y continúan aumentando en intensidad de 600 °C a 800 °C donde se logró la conversión masiva a la fase de rutilo (Figura 3.10a y b). En general, la fase amorfa de TiO_2 cristaliza como fase anatasa en $T \geq 300$ °C, y luego se transforma en rutilo a aproximadamente 610 °C [33].

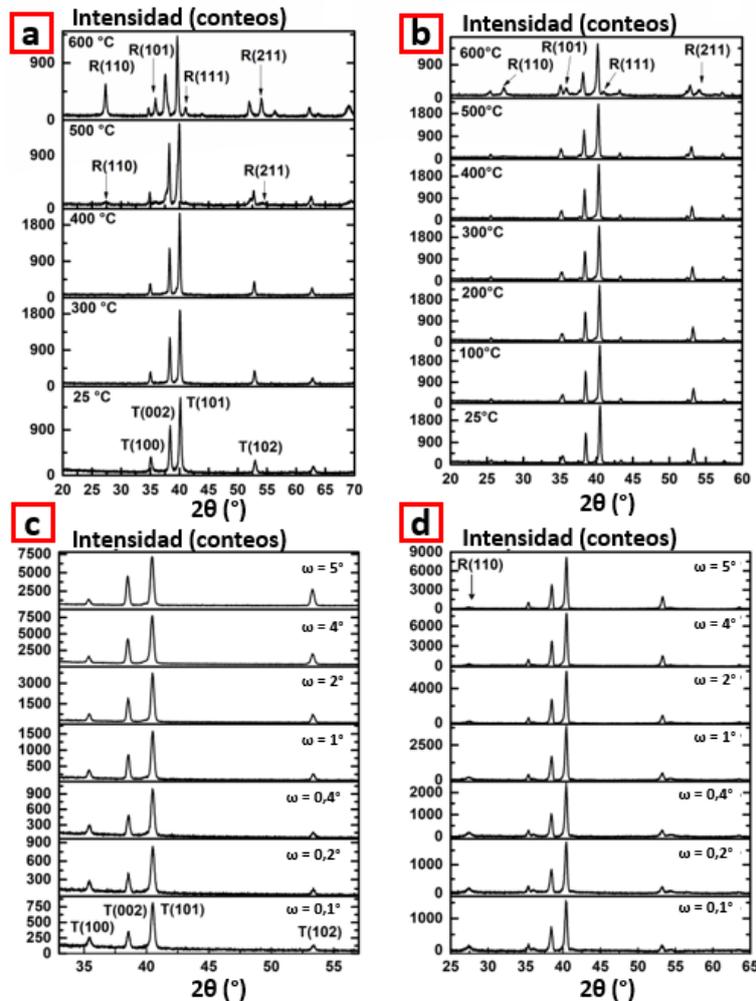


Figura 3.9. Oxidación térmica de (a) disco de Ti-6Al-4V y (b) discos de α -Ti-6Al-4V; GIXRD medido a $\omega = 2^\circ$ constante. GIXRD de (c) muestra como anodizada a 25 °C y después de tratamiento térmico a (d) 500 °C medido a una distancia de penetración de superficie diferente, z (ω). Tarjetas JCPDS n° 44-1294 (T, α -Ti) y 75-1752 (R, rutilo) se utilizaron como referencia.

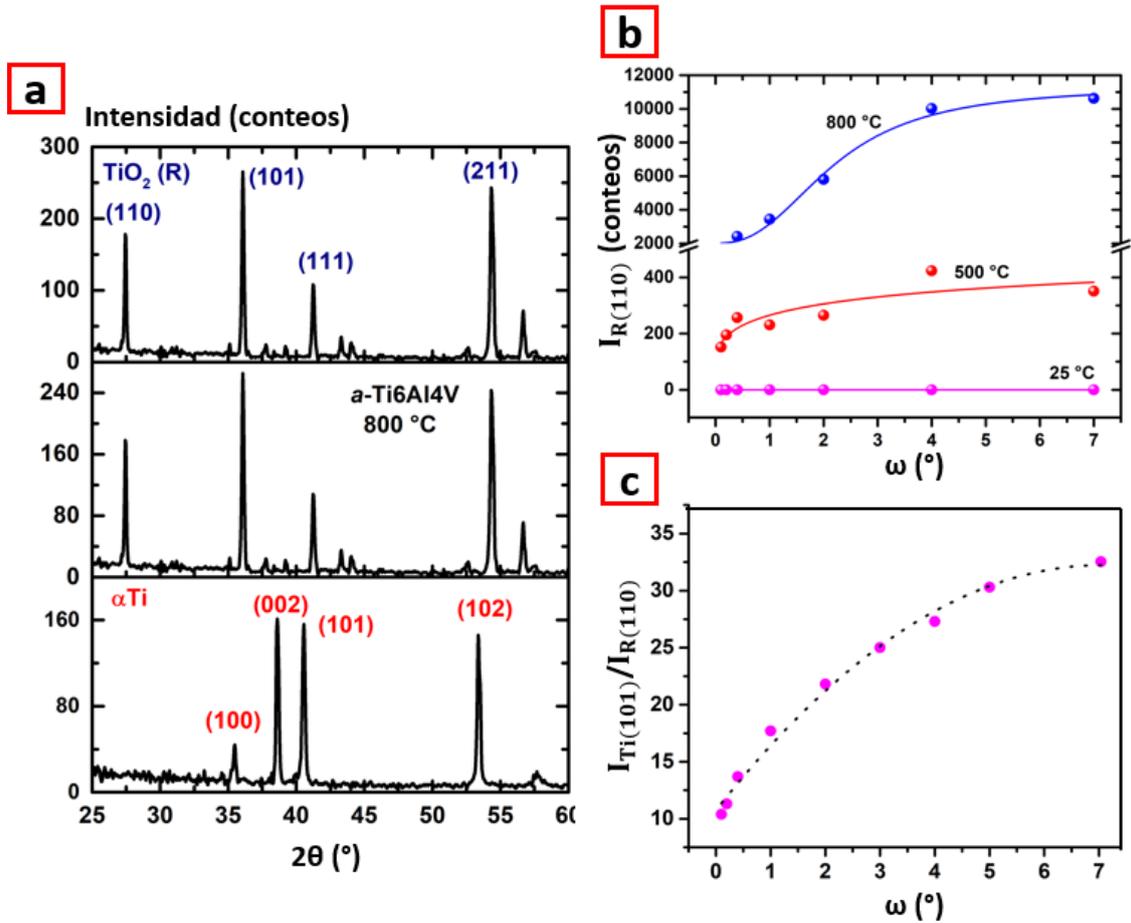


Figura 3.10. (a) DRX de un disco de α -Ti-6Al-4V con tratamiento térmico a 800°C. (b) Variación de la intensidad característica $(hkl) = (110)$ del rutilo con ω a lo largo de las mediciones GDRX de un disco de α -Ti-6Al-4V anodizado a TA y después del tratamiento térmico a 500°C y 800°C. (c) Variación del pico de intensidad característico de α -Ti $(hkl) = (101)$ y TiO₂ rutilo $(hkl) = (110)$ con ω a lo largo de las mediciones GDRX de un disco de Ti-6Al-4V con tratamiento térmico a 500°C. Se utilizaron como referencia las tarjetas estándar (JCPDS) n° 44-1294 (α -Ti), 75-1752 (TiO₂, rutilo) y 21-1272 (TiO₂, anatasa).

Como se observó en las Figuras 3.9a y b, la transformación en rutilo se produjo a la temperatura adecuada, sin embargo, no se detectaron picos de anatasa ni otras fases cristalinas de Ti. Además, a 600°C, se obtienen picos de mayor intensidad de la fase de rutilo después de la oxidación térmica del disco de aleación de Ti en comparación con la contraparte recubierta de superficie nanoporosa con una relación $I_{R(110)}^{Ti-6Al-4V} / I_{R(110)}^{\alpha-Ti-6Al-4V} = 1,75$ mostrando algún tipo de protección a este proceso en la última muestra. Se realizó una evaluación profunda de la oxidación térmica α -Ti-6Al-4V mediante la regulación de ω de 0,1° a 5,0°; los resultados se muestran en las Figuras 3.9c y d. En medidas de GIXRD, ω es un factor crucial ya que cambia la profundidad de penetración $x(\omega)$ de los rayos x en el material. Esta profundidad de penetración depende formalmente tanto del ángulo de incidencia ω y el ángulo de salida ω_F , dónde

$\omega_F = 2\theta_{hkl} - \omega$ y $2\theta_{hkl}$ es el ángulo asociado con la reflexión de Bragg (hkl) [34]. Dado que, para un material inorgánico, $\omega_F > 10^\circ$ la profundidad de penetración $x(\omega)$ puede, a efectos prácticos, considerarse independiente de ω_F y se puede despreciar la absorción correspondiente a lo largo del camino de salida [34]. A $\omega < 0,4^\circ$ la información estructural contenida en el difractograma proviene principalmente de la capa superficial, $x(\omega) < 5$ nm [35]. El análisis de GIXRD del disco anodizado a temperatura ambiente (Figura 3.9c) muestra, en cada ω analizado, los picos característicos de la fase α del titanio, ratificando que la capa superficial es amorfa. La muestra sometida a tratamiento térmico a 500°C y trabajando a $\omega = 0,1^\circ$ (Figura 3.9d) muestra los picos distintivos de la forma alotrópica de TiO_2 rutilo, esta observación se mantuvo hasta $\omega = 1^\circ$ donde $x(\omega) \approx 50$ nm, una vez más no se observaron picos con respecto a la anatasa. A $\omega > 1^\circ$, los picos de rutilo casi desaparecieron y la intensidad de los picos de la fase α del titanio aumentaron. Por lo tanto, a medida se avanza desde la superficie hasta el interior, predomina la fase rutilo hasta $x(\omega) > 50$ nm donde prevalecen los picos de la fase α del titanio (Figura 3.10c). Con base en los datos publicados en la literatura, la aparición de picos de rutilo se puede atribuir a la oxidación térmica del sustrato de metal Ti en la interfaz de Ti metálico/óxido y no a la superficie de recubrimiento electrodepositada [12]. En el disco anodizado, la interfaz Ti metálico/óxido es de aproximadamente $133,6 \pm 20,3$ nm de la superficie que corresponde a $\omega \approx 4^\circ$ donde el pico de rutilo casi ha desaparecido (Figura 3.9d). Se demostró que, en las condiciones experimentales propuestas, no se produjo la transformación a anatasa, y que las fases de rutilo se restringen a la superficie del recubrimiento anodizado y no a la interfase Ti metálico/óxido, manteniendo la superficie metálica intacta frente a la oxidación térmica hasta 800°C .

3.4.2. Humectabilidad

Una humectabilidad precisa es un requisito previo para asegurar la respuesta biológica deseada de un material implantable, por lo tanto, representa un punto esencial en la evaluación de los recubrimientos nanoporosos diseñados. En comparación con el disco de Ti-6Al-4V pulido (Figura 3.11a) el disco anodizado a temperatura ambiente exhibe propiedades altamente hidrofóbicas con un ángulo de contacto estático con el agua θ (AC) de aproximadamente 131° (Figura 3.11b). Las superficies tratadas térmicamente, por el contrario, muestran comportamientos hidrofílicos (Figuras 3.11c-e) con un marcado efecto asociado a la temperatura del tratamiento (Figura 3.11f) y al aumento de la fracción de fase rutilo (Figura 3.9).

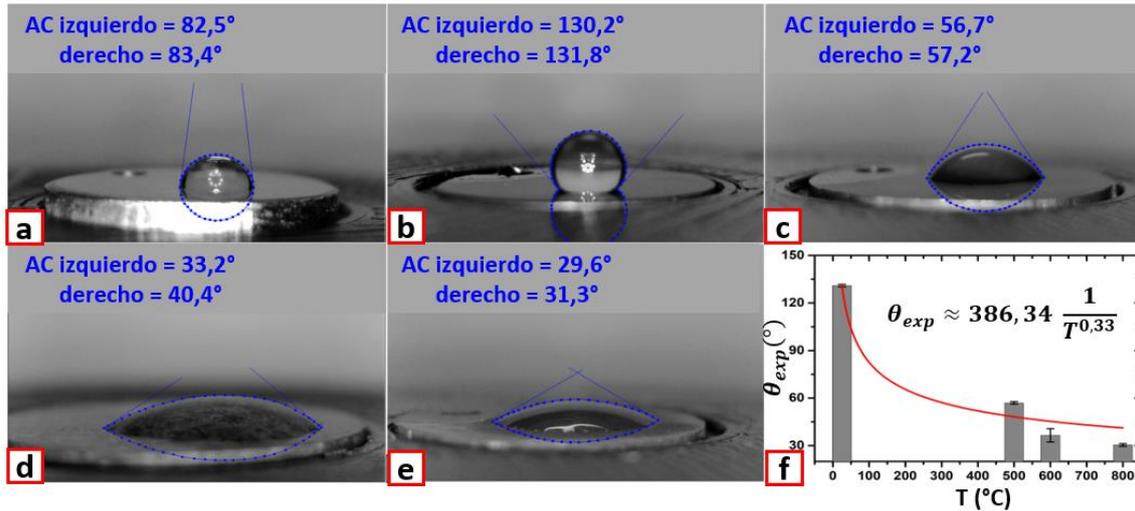


Figura 3.11. Ángulo de contacto de agua estático θ (AC) medido para (a) Ti-6Al-4V sin recubrimiento, (b) superficie anodizada a temperatura ambiente y superficies anodizadas sometidas a tratamiento térmico a (c) 500 °C, (d) 600 °C y 800 °C. (f) Dependencia de la temperatura de la superficie con tratamiento térmico con el ángulo de contacto estático experimental del agua.

La humectación de una superficie sólida está determinada sinérgicamente por su naturaleza química y sus características topográficas que se conjugan para lograr un rendimiento energético de superficie preciso [36, 37]. La microestructura en este trabajo mostró picos y valles altos y bajos (Figura 3.8) por lo tanto, se aplicaron los dos modelos de gotas de humectación esencial en una superficie sólida rugosa según el modelo de Young [38] para superficies lisas. La teoría de Wenzel [39, 40] que describe que las gotas de agua se infiltrarán completamente en estructuras rugosas y presentarán un "efecto de fijación" y, lo contrario, según la teoría de Cassie-Baxter [41], indicando un aumento de AC cuando hay microestructuras en la superficie, porque el aire puede quedar atrapado en los huecos para formar una capa de aire y sostener las gotas de agua. El AC de Wenzel (θ_w) y de Cassie-Baxter (θ_c) están representados por las siguientes ecuaciones [16]:

$$\cos \theta_w = r \times \cos \theta_Y \quad (3.7)$$

$$\cos \theta_c = -1 + \Phi_s(\cos \theta_Y + 1) \quad (3.8)$$

donde r y Φ_s en cada ecuación se definen como la relación del área de la superficie estructurada a la superficie plana correspondiente y la relación del área de la superficie real al área de la superficie proyectada respectivamente; θ_Y es el AC de una superficie lisa según el modelo de Young [38]. Teniendo en cuenta las dimensiones geométricas de las ranuras de la superficie, las Ec. (3.7) y (3.8) se pueden reescribir de la siguiente manera [36]:

$$\cos \theta_W = \frac{a+b+4h/\sqrt{3}}{a+b} \cos \theta_Y \quad (3.9)$$

$$\cos \theta_C = -1 + (\cos \theta_Y + 1) \frac{a}{a+b} \quad (3.10)$$

donde, para este trabajo, “a” es el espesor de las barreras entre poros de TiO₂, “b” y “c” son los lados de ancho superior e inferior de los nanoporos respectivamente y “h” es la profundidad de los nanoporos. Los datos geométricos de la superficie, determinados en la sección 3.1, y el AC experimental medido para el Ti-6Al-4V pulido, considerado como $\theta_Y = 82,9^\circ$, se utilizaron para calcular los valores teóricos de $\theta_W = 76,3^\circ$ y $\theta_C = 140,5^\circ$ usando las Ec. (3.9) y (3.10). Los resultados experimentales de AC muestran un $\theta_{Exp} = 131^\circ$ para superficie anodizada y 56,9, 36,5 y 30,4° después del tratamiento térmico de los discos anodizados a 500 °C, 600 °C y 800 °C respectivamente (Figura 3.11). Por lo tanto, el estado de humectación de la superficie como anodizado en TA podría ser similar a la condición de Cassie-Baxter y las estructuras podrían atrapar aire fácilmente cuando las gotas de agua entran en contacto con los nanoporos. Sin embargo, para la muestra en $T \geq 500^\circ\text{C}$, el valor experimental de AC es consistente con el modelo de Wenzel. En la sección anterior se demostró que a 500 °C la superficie con nanoporos es químicamente consistente con la fase alotrópica de rutilo TiO₂ y que la fracción de rutilo aumenta monótonamente con la temperatura del tratamiento (Figura 3.9). Existe información contradictoria en la literatura sobre el efecto de cristalinidad sobre el comportamiento de humectación de las superficies de TiO₂. Por ejemplo, Gravina et al. [18] informaron un aumento de AC al pasar de estructuras amorfas a nanotubos de TiO₂ cristalizados en anatasa, mientras que Shirolkar y colaboradores [42] mostraron una reducción del AC de las capas delgadas de TiO₂ anatasa pura y amorfa pulverizada con magnetrón. Teniendo en cuenta la naturaleza heteropolar de la superficie de TiO₂ y el dipolo de la molécula de agua, está claro que las fuerzas electrostáticas de Van der Waals tendrían una contribución significativa a la energía de interacción. Específicamente para las interacciones rutilo/agua y anatasa/agua, el calor de la humectación de la superficie del agua es de aproximadamente 550 mJ m⁻² [43] y 520 mJ m⁻² [44] respectivamente, lo que explica el aumento del carácter hidrófilo y la reducción del AC junto con la cristalización superficial. Ciertamente, se sabe que el TiO₂ es una de las sustancias más polares, y nuestra superficie amorfa con nanoporos, químicamente hablando, tiene una naturaleza hidrófila [18, 37]. De hecho, se ha determinado que las moléculas de agua más cercanas a la superficie del TiO₂ son quimiadsorbidas, donde los cationes de la superficie se convierten en grupos -OH estables mediante la neutralización de su carga eléctrica. Dado que los grupos -OH están polarizados por la carga superficial, se comportan como sitios ácidos de Brønsted y atraen multicapas fisiadsorbidas de aproximadamente 50-300 capas de agua [45]. La obtención de

superficies hidrofóbicas, como en este caso, incluso en presencia de compuestos químicamente hidrofílicos, resalta el efecto de un diseño propiamente nanotopográfico más que la composición química. El tratamiento térmico disminuyó el AC en más de 70° , se supone que la temperatura aumenta la distancia entre los nanoporos ofreciendo más espacio para la penetración de líquidos según el modelo de Wenzel.

Además, se analizó el comportamiento de humectación en términos de ángulo de contacto dinámico medido en función del tamaño de la gota de agua [16], los resultados se muestran en la Figura 3.12. Avanzando (θ_A) y retrocediendo (θ_R) los ángulos de contacto se miden mediante el método dinámico inyectando y extrayendo agua a una velocidad constante de una gota que tiene un volumen inicial de casi 23 mm^3 . El sistema hidrofóbico recubierto con nanoporos muestra valores de histéresis ($\Delta\theta = \theta_A - \theta_R$) altos análogos a su contraparte hidrofílica. En consecuencia, se afirmó que el comportamiento de la gota en la superficie con nanoporos no se puede modelar completamente de acuerdo con el régimen de Cassie-Baxter, con aire completamente atrapado en las texturas de la superficie y la gota asentada en la interfaz compuesta sólido-aire, porque esta situación es tipificada por ángulos de contacto altos, pero valores de histéresis bajos (ángulos descendentes) [46]. Por lo tanto, las mediciones sugieren la ocurrencia de un llamado estado de impregnación de Cassie, descrito como un estado intermedio entre los regímenes de Wenzel y Cassie-Baxter [47], con agua llenando la microtextura pero no los nanoporos. Este hecho está respaldado por los mapas topográficos nano/microestructurados de AFM obtenidos y la rugosidad de la superficie a múltiples escalas previamente observada (Figura 3.9).

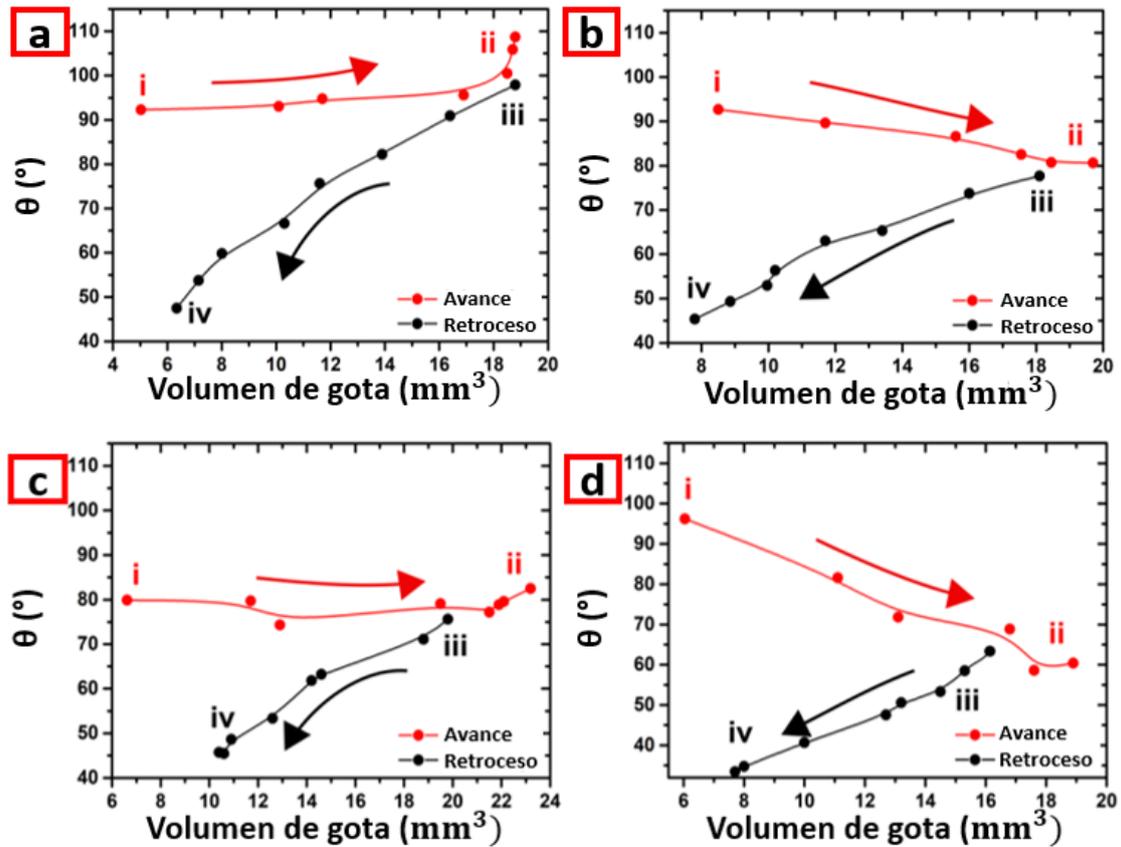


Figura 3.12. Ángulo de contacto dinámico del agua frente al volumen de gota de (a) Ti-6Al-4V sin recubrimiento, (b) disco anodizado a temperatura ambiente, (c) disco con tratamiento térmico a 500 °C y (d) 800 °C. La evolución de avance y retroceso se señalan con flechas rojas y negras, respectivamente.

3.4.3. Análisis de bandas prohibidas, reflectancia NIR y fluorescencia espontánea amplificada

En la sección 3.4.1. se han establecido las condiciones experimentales para la preparación de un recubrimiento nanoporoso de TiO₂ amorfo con una organización topográfica específica. Estas características son determinantes a la hora de definir las propiedades finales del material, como se muestra en la Sección 3.4.2. Además, se ha establecido que la geometría de las matrices nanotubulares de TiO₂ tienen un papel clave en la definición de sus características ópticas como su capacidad de reflectancia o absorbancia [12]. Debido a su alto índice de reflexión ($\approx 2,49^{12}$), las capas delgadas de TiO₂ amorfo muestran una gran diferencia en la reflexión entre las regiones espectrales de interferencia constructiva y destructiva [48]. De esta manera, las nanoestructuras han demostrado una mejora en la captura de luz y en la respuesta en las regiones UV-VIS y NIR [11, 12]. Cuando se dispone de una modulación periódica del índice de refracción 3D, como en la estructura desarrollada, la interferencia de las ondas de luz conduce a una atenuación

completa de la banda donde la luz es totalmente reflejada [49]. En la Figura 3.13a se muestra la reflectancia espectral difusa del disco de Ti-6Al-4V anodizado. Presenta una banda de reflexión estrecha de aproximadamente el 40 % de reflexión en el rojo visible, mientras que algunas otras bandas pequeñas y anchas emergen en las regiones NIR y del infrarrojo de onda corta (SWIR). Dichas señales de reflexión, no están presentes en la superficie del disco de Ti-6Al-4V sin anodizar o en la muestra con tratamiento térmico, lo que indica que están asociados exclusivamente a la matriz de nanoporos de TiO₂ amorfo. Como se mencionó previamente, a TA, los procesos de oxidación forman una fina capa de óxido sobre la superficie de la aleación de titanio, por lo que ambas superficies de las muestras están basadas en TiO₂ [31]. Las frecuencias donde ocurren las líneas de absorción, así como sus intensidades relativas, dependen principalmente de la estructura electrónica y molecular de la muestra. En total acuerdo y teniendo en cuenta que ambas superficies son molecularmente análogas, la absorción de superficies anodizadas y sin anodizar fue similar (Figura 3.13b).

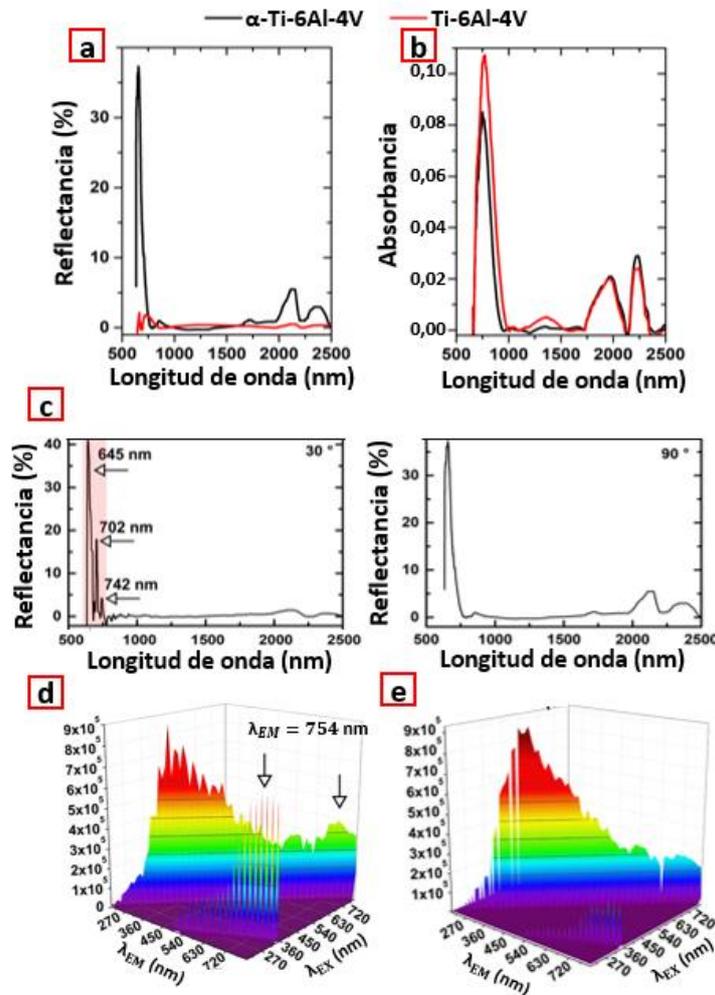


Figura 3.13. (a) Reflectancia difusa y (b) absorbancia registrada después de una radiación incidente a 90 ° y TA de una estructura nanoporosa α -Ti-6Al-4V y Ti-6Al-4V. (c) Reflectancia difusa de la estructura con nanoporos registrada a 90 y 30° de radiación incidente. Patrones de fluorescencia 3D de (d) disco α -Ti-6Al-4V y (e) disco de Ti-6Al-4V.

Este resultado, una vez más, confirma que la reflectancia es consecuencia de la estructura de nanoporos y no de las sustancias químicas. De acuerdo con la ley de Bragg, la banda prohibida de un cristal fotónico de ópalo en un cierto plano cristalino cambiará a longitudes de onda más bajas al aumentar el ángulo de radiación incidente [50]. La dependencia del ángulo de las bandas prohibidas medidas para una muestra de α -Ti-6Al-4V se observa en la Figura 3.13c. Los resultados revelaron un ligero desplazamiento de las bandas NIR (630 a 645 nm) cuando el ángulo disminuyó de 90° a 30° y expuso un patrón de interferencia de Fabry-Pérot [51] con bandas a 645, 702 y 742 nm. Z. Zhang y H Wu [11] reportaron absorciones inusuales en la región visible y en el infrarrojo cercano para materiales fotónicos basados en TiO_2 . Los autores atribuyeron este efecto a dos mecanismos superpuestos: (i) primero a una disminución de la velocidad de luz debido a la interacción con un medio reflectante más alto, lo que da como resultado una mayor reflectividad y contribuye al aumento del tiempo de interacción entre la luz y el medio de muestra, mejorando la eficiencia de los procesos de dispersión y una mejora adicional del confinamiento de la luz y (ii) en segundo lugar, la nanoestructura jerárquica exclusiva actuó como un resonador de Fabry-Pérot, induciendo fuertes efectos de tamaño finito y características de oscilación específicas. Se cree que se produce un mecanismo similar tras la interacción de la radiación con la superficie nanoporosa generada. Sin embargo, se sabe que los nano objetos fotónicos suelen observarse en estructuras mucho mayores de dimensiones micrométricas [11, 50, 51]. Aquí, las estructuras son más pequeñas que la longitud de onda y además son muy finas (135 nm), por lo que es poco probable que se produzcan tales efectos. No obstante, está claro que la presencia de la estructura nanométrica distorsiona fuertemente la onda plana incidente y que dispersan la luz en diferentes direcciones por encima de ellas.

Las propiedades generales de un metamaterial se deducen de su celda unitaria y de su estructura electrónica [52], en este caso, la esencia de la absorción de la luz del TiO_2 fue similar tanto en el recubrimiento de α -Ti-6Al-4V nanoporoso como en el Ti-6Al-4V sin recubrimiento (Figura 3.13b). Sin embargo, sus patrones de fluorescencia en 3D son claramente diferentes (Figuras 3.13d y e). El Ti-6Al-4V (Figura 3.13e) presenta una alta emisión en $\lambda_{EM} = 390$ nm asociada a la emisión en el borde de banda de su fina capa de TiO_2 (≈ 387 nm [53]) y a los excitones autoatrapados localizados en el octaedro de TiO_6 y en las vacantes de oxígeno [53]. Las bandas de emisión de menor intensidad a longitudes de onda mayores, 427 nm, 504 nm y 526 nm, se identificaron como emisiones de estado superficial y, de acuerdo con la bibliografía, se atribuyeron a la recombinación casi libre en el borde de banda de absorción, al estado de trampa superficial cerca del borde de banda de absorción, a la banda de trampa profunda muy por debajo del borde de banda y a una permutación de estos efectos [53]. Se obtuvo una amplia

distribución de tamaños debido al solapamiento de las emisiones de recombinación cuasi libre y de trampa superficial. La emisión a 387 nm se considera una emisión excitónica, mientras que los estados superficiales suelen estar localizados dentro de la banda prohibida del semiconductor y pueden atrapar los electrones del estado excitado y dar lugar a emisiones de mayor longitud de onda. Las bandas de baja intensidad a 754 nm pueden asociarse a la desexcitación desde niveles vibrónicos inferiores en las vacantes de oxígeno al estado básico de la red de TiO₂ [53]. Estas bandas están claramente exacerbadas en la estructura nanoporosa, lo que implica una mayor eficiencia en la transferencia de energía (Figura 3.13d). Comparando los patrones de reflectancia y fluorescencia, es evidente que la emisión de fluorescencia espontánea amplificada se encuentra justo en la frecuencia roja de la banda prohibida de la estructura de TiO₂ nanoporosa. Resultados similares fueron obtenidos por Zhou et al. [50], los autores afirmaron que los cambios típicos en la densidad de estados afectan a la radiación de los emisores a través del efecto Purcell [54].

La reflectancia espectral puede considerarse la "huella digital" de los objetos coloreados; se realizó una evaluación más detallada comparando las cualidades espectrales y geométricas. Se cuantificó el color utilizando el espacio orientado a la matiz o tono (HSV), que es una representación alternativa del color derivada de los valores de intensidad del rojo, verde y azul del espacio de color RGB. De manera general, H, matiz o componente del matiz, es una representación numérica del color asociada a un cambio en la longitud de onda dominante del espectro observado [55].

H =

$$\left(\frac{G-B}{\max_{channel}-\min_{channel}} + 0 \right) / 6 ; \text{if } \max = R^{(*)} \quad (3.11)$$

$$\left(\frac{B-R}{\max_{channel}-\min_{channel}} + 2 \right) / 6 ; \text{if } \max = G \quad (3.12)$$

$$\left(\frac{R-G}{\max_{channel}-\min_{channel}} + 4 \right) / 6 ; \text{if } \max = B \quad (3.13)$$

(*) si H es menor que 0 entonces suma 1 a H

El componente H fue seleccionado debido a que mantiene su precisión después de las variaciones de las condiciones operativas que se asemejan a las concentraciones de la muestra, el espesor, la iluminación y la respuesta espectral del detector [55]. Su uso se ha reportado con frecuencia en el análisis de sensores ópticos y plasmónicos de bitonalidad [56, 57], cristal líquido termocrómico [58] y a lo largo de la monitorización de la degradación de cristales fotónicos [59].

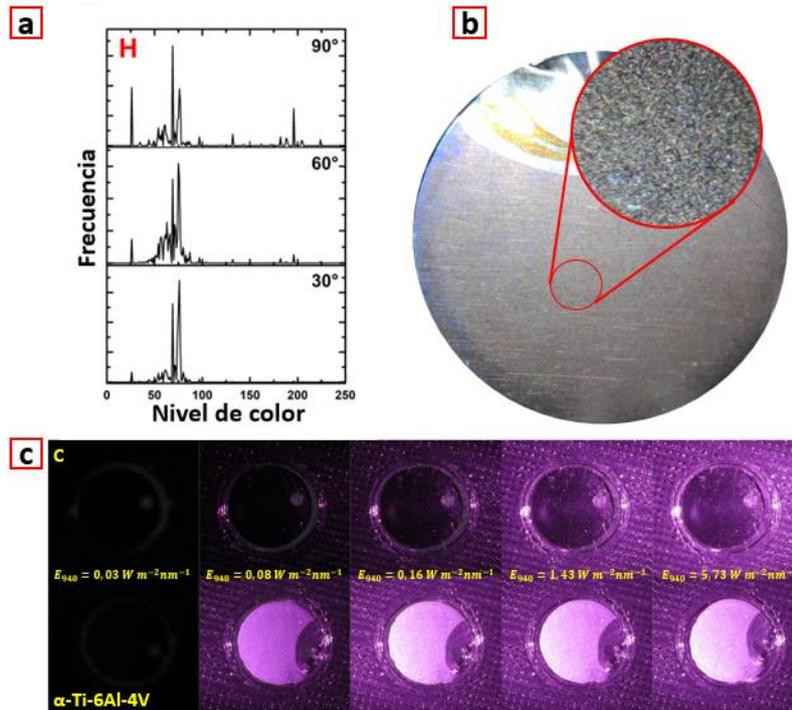


Figura 3.14. (a) Histograma de saturación, H, registrado a 90, 60 y 30° de radiación incidente sobre el disco de Ti-6Al-4V anodizado a temperatura ambiente. (b) Microfotografía óptica del disco de Ti-6Al-4V anodizado registrada a temperatura ambiente y a 60° de radiación incidente. (c) Microfotografías ópticas del Ti-6Al-4V anodizado tras la irradiación NIR, $\lambda = 940$ nm, en función de la irradiancia espectral, E_λ ; el Ti-6Al-4V sin anodizar se utilizó como control (C).

Los resultados obtenidos muestran que existe una clara variación de H con el ángulo de incidencia de la radiación (Figura 3.14a) que se correlaciona bien con el espectro de reflectancia y con el efecto de tamaño de sub-longitud de onda de las unidades constituyentes del material (Figura 3.13c). También, tras la inspección microscópica de la muestra anodizada, se observa que su color es el resultado de un proceso de mezcla aditiva de colores que surge de bandas de múltiples colores (Figura 3.14b). Esta observación puede explicarse considerando la superficie nanoporosa del material y la presencia de poros de aire (Figura 3.4c). Dado que existe una variación continua del espesor entre el poro y el espesor de la capa superior, la imagen presenta un aspecto multicolor brillante tras una observación con microscopía óptica (Figura 3.14b). Macroscópicamente, estas bandas multicolores estrechamente yuxtapuestas se combinan aditivamente para formar una apariencia plateada (Figura 3.1). En la naturaleza pueden observarse estructuras comparables; en estos sistemas, los principios del color estructural se describen como basados en la incorporación organizada de una serie de periodicidades [60]. Las propiedades reflectantes NIR de la superficie nanorecubierta se confirmaron tras la aplicación de una fuente de radiación $\lambda = 940$ nm y la regulación de la irradiancia espectral, se compararon el disco de control y el disco anodizado y se muestran en la Figura 3.14c. Se observa que en todos los valores probados de E_λ , el disco de Ti6-Al-4V sin recubrimiento muestra un

comportamiento similar al de la base no reflectante sobre la que se soportaba, mientras que el disco α -Ti-6Al-4V demuestra un aspecto brillante incluso tras la aplicación de valores de radiancia espectral muy bajos, $E_{\lambda} \approx 0,08 \text{ W m}^{-2} \text{ nm}^{-1}$. Estos resultados validaron, en total acuerdo con los espectros NIR y de fluorescencia, la característica reflectante de las superficies nanoporosas diseñadas.

3.5. Conclusiones

A lo largo del presente capítulo se ha estudiado la generación de un recubrimiento nanoestructurado electrodepositado verticalmente alineado de TiO_2 amorfo sobre aleaciones de Ti-6Al-4V. Tras un cuidadoso control de los factores de anodización, como voltaje aplicado, composición del electrolito, temperatura y tiempo de anodización, se obtuvo una matriz periódica biomórfica de poros de tamaño nanométrico. Los análisis demuestran que, como consecuencia de su particular y bien definida morfología superficial, el recubrimiento confiere a la aleación una superficie que exhibe estabilidad frente a la oxidación térmica, rugosidad multiescala, comportamiento hidrofóbico y características electroópticas únicas. Se confirmó que a lo largo de la oxidación térmica del Ti-6Al-4V recubierto, la transformación de fase favorecida corresponde únicamente al rutilo. El proceso se limita a la superficie y no a la interfaz Ti/óxido metálico como se indica en la literatura, dejando la superficie de la aleación inalterada hasta 800 °C. Los nanorecubrimientos también presentan un comportamiento de humectación hidrofóbica según el régimen de Cassie-Baxter, con el agua cubriendo las microtexturas pero no los nanoporos. El comportamiento hidrofóbico, incluso en presencia de compuestos químicamente hidrofílicos, pone de relieve el efecto de un diseño nanotopográfico adecuado en lugar de la composición química de los materiales. Por último, pero no por ello menos importante, la estructura metálico-dieléctrica de celdas unitarias de tamaño inferior a la longitud de onda y dispuestas periódicamente demostró una respuesta electro-óptica peculiar. El recubrimiento nanoporoso amorfo actuó como nanorreflectores NIR para una amplia gama de ángulos de incidencia de la radiación, de 30° a 90°, e indujo emisiones espontáneas de fluorescencia que pueden utilizarse en plataformas teranósticas multifuncionales para la obtención de imágenes y el tratamiento fototérmico. Las propiedades mencionadas podrían aprovecharse para construir nuevos diseños fotodinámicos aplicados a implantes ortopédicos funcionales.

3.6. Bibliografía

- [1] Qi, S., Lu, L., Zhou, F., Chen, Y., Xu, M., Chen, L., Yu, X., Chen, W. R. y Zhang, Z. (2020) Neutrophil infiltration and whole-cell vaccine elicited by N-dihydrogalactochitosan combined with NIR phototherapy to enhance antitumor immune response and T cell immune memory. *Theranostics*, 10(4), 1814.
- [2] Wang, M., Song, J., Zhou, F., Hoover, A. R., Murray, C., Zhou, B., Wang, L., Qu, J. y Chen, W. R. (2019). Nir-triggered phototherapy and immunotherapy via an antigen-capturing nanoplatforM for metastatic cancer treatment. *Advanced Science*, 6(10), 1802157.
- [3] Zhang, R., Duan, Y. y Liu, B. (2019). Recent advances of AIE dots in NIR imaging and phototherapy. *Nanoscale*, 11(41), 19241-19250.
- [4] Xue, Y., Li, J., Yang, G., Liu, Z., Zhou, H. y Zhang, W. (2019). Multistep consolidated phototherapy mediated by a NIR-activated photosensitizer. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11(37), 33628-33636.
- [5] Li, Y., Liu, X., Li, B., Zheng, Y., Han, Y., Chen, D. F., Yeung, K. W. K., Cui, Z., Liang, Y. y Li, Z. (2020). Near-infrared light triggered phototherapy and immunotherapy for elimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm infection on bone implant. *ACS Nano*, 14(7), 8157-8170.
- [6] Padalhin, A. R. (2021). Brief retrospect on the use of photobiomodulation (PBM) therapy for augmented bone regeneration (ABR). *Medical Lasers, Engineering, Basic Research, and Clinical Application*, 10(1), 15-21.
- [7] Yin, J., Pan, S., Guo, X., Gao, Y., Zhu, D., Yang, Q., Gao, J., Zhang, C. y Chen, Y. (2021). Nb 2 C MXene-functionalized scaffolds enables osteosarcoma phototherapy and angiogenesis/osteogenesis of bone defects. *Nano-micro Letters*, 13(1), 1-18.
- [8] Mercado, C., Seeley, Z., Bandyopadhyay, A., Bose, S. y McHale, J. L. (2011). Photoluminescence of dense nanocrystalline titanium dioxide thin films: Effect of doping and thickness and relation to gas sensing. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 3(7), 2281-2288.

- [9] Warkhade, S. K., Gaikwad, G., Zodape, S. P., Pratap, U., Maldhure, A. V. y Wankhade, A. V. (2017). Low temperature synthesis of pure anatase carbon doped titanium dioxide: An efficient visible light active photocatalyst. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 63, 18-24.
- [10] Qu, Z., Shen, J., Li, Q., Xu, F., Wang, F., Zhang, X. y Fan, C. (2020). Near-IR emissive rare-earth nanoparticles for guided surgery. *Theranostics*, 10(6), 2631.
- [11] Zhang, Z. y Wu, H. (2014). Multiple band light trapping in ultraviolet, visible and near infrared regions with TiO₂ based photonic materials. *Chemical Communications*, 50(91), 14179-14182.
- [12] Tesler, A. B., Altomare, M. y Schmuki, P. (2020). Morphology and optical properties of highly ordered TiO₂ nanotubes grown in NH₄F/o-H₃PO₄ electrolytes in view of light-harvesting and catalytic applications. *ACS Applied Nano Materials*, 3(11), 10646-10658.
- [13] Schneider, C. A., Rasband, W. S. y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*, 9(7), 671-675.
- [14] Kon, T. y Kusano, T. (2014). White LED with excellent rendering of daylight spectrum: Ideal for replacing standard lighting sources. *Optik & Photonik*, 9(4), 62-65.
- [15] Choudhury, A. K. R. (2014). Characteristics of light sources. *Principles of Colour and Appearance Measurement*, 1-52.
- [16] Ahmad, I. y Kan, C. W. (2016). A review on development and applications of bio-inspired superhydrophobic textiles. *Materials*, 9(11), 892.
- [17] Stalder, A. F., Kulik, G., Sage, D., Barbieri, L. y Hoffmann, P. (2006). A snake-based approach to accurate determination of both contact points and contact angles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 286(1-3), 92-103.
- [18] Gravina, A. N., Rubert, A. A., Bertuola, M. y Fernández Lorenzo de Mele, M. (2019). Bioactivity enhancement of cerium-containing titanium oxide nanotubes. Relationship between surface reactivity and nanostructuring process. *Surface and Coatings Technology*, 378, 124968.

- [19] Shah, U. H., Deen, K. M., Asgar, H., Rahman, Z. y Haider, W. (2017). Understanding the mechanism of TiO₂ nanotubes formation at low potentials ($\leq 8V$) through electrochemical methods. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 807, 228-234.
- [20] Belén, F., Vallese, F. D., Leist, L. G. T., Ferrão, M. F., Gomes, A. d. A. y Pistonesi, M. F. (2020). Computer-vision based second-order (kinetic-color) data generation: arsenic quantitation in natural waters. *Microchemical Journal*, 157, 104916.
- [21] Watson, G. S., Watson, J. A., Hu, S., Brown, C. L., Cribb, B. y Myhra, S. (2010). Micro and nanostructures found on insect wings—designs for minimising adhesion and friction. *International Journal of Nanomanufacturing*, 5(1-2), 112-128.
- [22] Wang, Z., Li, B., Feng, X., Jiao, Z., Zhang, J., Niu, S., Han, Z. y Ren, L. (2020). Rapid fabrication of bio-inspired antireflection film replicating from cicada wings. *Journal of Bionic Engineering*, 17(1), 34-44.
- [23] Huang, Y. F., Jen, Y. J., Chen, L. C., Chen, K. H. y Chattopadhyay, S. (2015). Design for approaching cicada-wing reflectance in low- and high-index biomimetic nanostructures. *ACS Nano*, 9(1), 301-311.
- [24] Saurí, J., Suñé-Negre, J. M., Díaz-Marcos, J., Vilana, J., Millán, D., Ticó, J. R., Miñarro, M., Pérez-Lozano, P. y García-Montoya, E. (2015). Relationships between surface free energy, surface texture parameters and controlled drug release in hydrophilic matrices. *International Journal of Pharmaceutics*, 478(1), 328-340.
- [25] Hasan, J., Jain, S., Padmarajan, R., Purighalla, S., Sambandamurthy, V. K. y Chatterjee, K. (2018). Multi-scale surface topography to minimize adherence and viability of nosocomial drug-resistant bacteria. *Materials & Design*, 140, 332-344.
- [26] Liu, Y., Luo, D. y Wang, T. (2016). Hierarchical structures of bone and bioinspired bone tissue engineering. *Small*, 12(34), 4611-4632.
- [27] Reznikov, N., Shahar, R. y Weiner, S. (2014). Bone hierarchical structure in three dimensions. *Acta biomaterialia*, 10(9), 3815-3826.
- [28] Zhu, L., Luo, D. y Liu, Y. (2020). Effect of the nano/microscale structure of biomaterial scaffolds on bone regeneration. *International Journal of Oral Science*, 12(1), 6.

- [29] Fraulob, M., Vayron, R., Le Cann, S., Lecuelle, B., Hériveaux, Y., Albin Lomami, H., Flouzat Lachaniette, C. H. y Haiat, G. (2020). Quantitative ultrasound assessment of the influence of roughness and healing time on osseointegration phenomena. *Scientific Reports*, 10(1), 21962.
- [30] Gadelmawla, E. S., Koura, M. M., Maksoud, T. M. A., Elewa, I. M. y Soliman, H. H. (2002). Roughness parameters. *Journal of Materials Processing Technology*, 123(1), 133-145.
- [31] Ma, K., Zhang, R., Sun, J. y Liu, C. (2020). Oxidation Mechanism of Biomedical Titanium Alloy Surface and Experiment. *International Journal of Corrosion*, 2020, 1678615.
- [32] Pederson, R. (2002). Microstructure and phase transformation of Ti-6Al-4V. [Tesis doctoral, Luleå Tekniska Universitet]. <https://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:ltu:diva-18361>
- [33] Wu, S., Luo, X., Long, Y. y Xu, B. (2019). Exploring the phase transformation mechanism of titanium dioxide by high temperature in situ method. En *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, (Vol. 493, No. 1, p. 012010). IOP Publishing.
- [34] Simeone, D., Baldinozzi, G., Gosset, D., Le Caer, S. y Bézar, J.-F. (2013). Grazing incidence X-ray diffraction for the study of polycrystalline layers. *Thin Solid Films*, 530, 9-13.
- [35] Basu, J. K. (2014). Grazing incidence X-ray scattering and diffraction. *Resonance*, 19(12), 1158-1176.
- [36] Zhang, X., Wan, Y., Ren, B., Wang, H., Yu, M., Liu, A. y Liu, Z. (2020). Preparation of superhydrophobic surface on titanium alloy via micro-milling, anodic oxidation and fluorination. *Micromachines*, 11(3), 316.
- [37] Liu, G., Du, K. y Wang, K. (2016). Surface wettability of TiO₂ nanotube arrays prepared by electrochemical anodization. *Applied Surface Science*, 388, 313-320.
- [38] Young, T. (1805). III. An essay on the cohesion of fluids. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London*, 95, 65-87.
- [39] Wenzel, R. N. (1949). Surface roughness and contact angle. *The Journal of Physical Chemistry*, 53(9), 1466-1467.

- [40] Wenzel, R. N. (1936). Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Industrial & Engineering Chemistry*, 28(8), 988-994.
- [41] Cassie, A. y Baxter, S. (1944). Wettability of porous surfaces. *Transactions of The Faraday Society*, 40, 546-551.
- [42] Shirolkar, M. M., Phase, D., Sathe, V., Rodríguez-Carvajal, J., Choudhary, R. J. y Kulkarni, S. K. (2011). Relation between crystallinity and chemical nature of surface on wettability: A study on pulsed laser deposited TiO₂ thin films. *Journal of Applied Physics*, 109(12), 123512.
- [43] Healey, F., Chessick, J., Zettlemyer, A. y Young, G. (1954). The heats of immersional wetting of rutile and graphon in organic liquids. *The Journal of Physical Chemistry*, 58(10), 887-890.
- [44] Stevens, N., Priest, C., Sedev, R. y Ralston, J. (2003). Wettability of photoresponsive titanium dioxide surfaces. *Langmuir*, 19(8), 3272-3275.
- [45] Arai, Y. (1996). Chemistry of powder production. (Vol. 6, p. 290), Springer Science & Business Media.
- [46] De Gennes, P. G., Brochard-Wyart, F. y Quéré, D. (2013). Capillarity and wetting phenomena: drops, bubbles, pearls, waves. Springer Science & Business Media.
- [47] Nagayama, G. y Zhang, D. (2020). Intermediate wetting state at nano/microstructured surfaces. *Soft Matter*, 16(14), 3514-3521.
- [48] Studer, F. J. y Cusano, D. A. (1953). Titanium dioxide films as selective reflectors of the near-infrared. *Journal of the Optical Society of America*, 43(6), 522-525.
- [49] Li, J., Liang, G., Zhu, X. y Yang, S. (2012). Exploiting nanoroughness on holographically patterned three-dimensional photonic crystals. *Advanced Functional Materials*, 22(14), 2980-2986.
- [50] Zhou, X., Li, M., Wang, K., Li, H., Li, Y., Li, C., Yan, Y., Zhao, Y. y Song, Y. (2018). Strong photonic-band-gap effect on the spontaneous emission in 3D lead halide perovskite photonic crystals. *ChemPhysChem*, 19(16), 2101-2106.

- [51] Yu, H., Wang, Y., Ma, J., Zheng, Z., Luo, Z. y Zheng, Y. (2018). Fabry-Perot interferometric high-temperature sensing up to 1200° C based on a silica glass photonic crystal fiber. *Sensors*, 18(1), 273.
- [52] Jeong, H., Nguyen, T. T. y Lim, S. (2018). Subwavelength metamaterial unit cell for low-frequency electromagnetic absorber applications. *Scientific Reports*, 8(1), 16774.
- [53] Mathew, S., Kumar Prasad, A., Benoy, T., Rakesh, P., Hari, M., Libish, T., Radhakrishnan, P., Nampoori, V. y Vallabhan, C. (2012). UV-visible photoluminescence of TiO₂ nanoparticles prepared by hydrothermal method. *Journal of Fluorescence*, 22(6), 1563-1569.
- [54] Morozov, K. M., Ivanov, K. A., de Sa Pereira, D., Menelaou, C., Monkman, A. P., Pozina, G. y Kaliteevski, M. A. (2019). Revising of the Purcell effect in periodic metal-dielectric structures: the role of absorption. *Scientific Reports*, 9(1), 9604.
- [55] Cantrell, K., Erenas, M., de Orbe-Payá, I. y Capitán-Vallvey, L. (2010). Use of the hue parameter of the hue, saturation, value color space as a quantitative analytical parameter for bitonal optical sensors. *Analytical Chemistry*, 82(2), 531-542.
- [56] Hakonen, A. y Beves, J. E. (2018). Hue parameter fluorescence identification of edible oils with a smartphone. *ACS Sensors*, 3(10), 2061-2065.
- [57] Reinhard, I., Miller, K., Diepenheim, G., Cantrell, K. y Hall, W. P. (2020). Nanoparticle design rules for colorimetric plasmonic sensors. *ACS Applied Nano Materials*, 3(5), 4342-4350.
- [58] Moller, S., Resagk, C. y Cierpka, C. (2020). On the application of neural networks for temperature field measurements using thermochromic liquid crystals. *Experiments in Fluids*, 61(4), 1-21.
- [59] Liu, Y., Wang, H., Ho, J., Ng, R. C., Ng, R. J., Hall-Chen, V. H., Koay, E. H., Dong, Z., Liu, H. y Qiu, C.-W. (2019). Structural color three-dimensional printing by shrinking photonic crystals. *Nature Communications*, 10(1), 1-8.
- [60] Mouchet, S. R., Luke, S., McDonald, L. T. y Vukusic, P. (2020). Optical costs and benefits of disorder in biological photonic crystals. *Faraday Discussions*, 223(0), 9-48.

Capítulo 4

**Respuesta NIR mejorada de
recubrimientos de Ti-6Al-4V activados**

4.1. Introducción

En el Capítulo 3 se han detallado las ventajas del empleo de la radiación NIR como fuente de radiación en fototerapias, administrándola para el tratamiento avanzado de curación asistida [1-4]. En diversos estudios se han observado altos rendimientos debido a su elevada capacidad de penetración y su eficaz transmitancia a través del medio biológico, así como a su mínimo daño a los tejidos sanos, su alta precisión espacial/temporal y sus propiedades de fácil control a distancia. Estudios actuales han revelado que las fototerapias asistidas por radiación NIR representan una opción prometedora para el tratamiento para patologías óseas [5, 6], por ejemplo, ofrecen soluciones precisas y menos invasivas para las complicaciones durante la etapa de curación de fracturas [7]. Además, se ha demostrado que la radiación NIR presenta una extraordinaria actividad antioxidante y excelentes efectos antiinflamatorios, disminuyendo las citoquinas inflamatorias y reduciendo las proteasas catabólicas, lo que podría aliviar eficazmente los síntomas clínicos de la osteoartritis [8]. Simultáneamente, se ha demostrado científicamente la osteogénesis térmica NIR [9, 10] *in vitro* e *in vivo*, así como su capacidad para tratar infecciones asociadas a implantes [11]. Por lo tanto, el estudio de materiales sensibles a la radiación NIR en terapias relacionadas con el tejido óseo es un área científica muy auspiciosa en la que la creación de nuevos materiales se ha visto cada vez más favorecida por el rápido desarrollo de la nanotecnología. En esta línea de trabajo, se ha desarrollado un recubrimiento electroformado de TiO₂ nanoporoso sobre la aleación Ti-6Al-4V [12], estructura que presenta periódicamente poros del tamaño de sub-longitudes de onda que muestran una mayor reflectividad NIR (Capítulo 3). Por otro lado, se han logrado sintetizar nanopartículas de plata con morfología de prisma (p-AgNPs) que presentan un espectro de resonancia plasmónica superficial localizada (LSPR) en la región NIR [13].

4.2. Objetivo

En el presente capítulo, se presenta el diseño de un recubrimiento con capacidades específicas de absorción y reflexión de luz en la región NIR para la aleación Ti-6Al-4V. En este diseño se aprovechan las propiedades del titanio/aleaciones a base de titanio que lo convierten en el material más utilizado en ortopedia y las propiedades fotocatalíticas del TiO₂ que lo hacen adecuado para terapias fotodinámicas y fototérmicas. Además, se emplean p-AgNps como "sensibilizador plasmónico" que permite la conversión fototérmica por activación NIR del recubrimiento de TiO₂ nanoporoso desarrollado, generando un efecto sinérgico entre el recubrimiento nanoporoso y las p-AgNPs. De esta manera, se logra construir una plataforma

metálica versátil sensible a la luz NIR que puede satisfacer la demanda de implantes ortopédicos personalizados.

4.3. Experimental

4.3.1. Materiales

La síntesis de p-AgNPs se llevó a cabo en solución acuosa, según la metodología propuesta por Pistonesi et al. [13]. La preparación de los recubrimientos de TiO₂ nanoporosos se llevó a cabo utilizando láminas de Ti-6Al-4V (1000 µm de espesor Ti 89,754 %; Al 6,01 %; V 4,06 %; C 0,01 %; N <0,01 %; O 0,08 %; Fe 0,04 %; H 0,006 %, Otros <0,04 %) adquiridas a Roberto Cordes S.A., ácido fluorhídrico (HF, 48 % m/v, Sigma -Aldrich), ácido ortofosfórico (H₃PO₄, 85 % m/v, Merck), acetona (AC, 99 %, Sigma - Aldrich) y etanol (EtOH, 96 %, Carl Roth). Todos los reactivos utilizados eran de grado analítico y todas las soluciones se prepararon con agua MQ (18,3 MΩ cm⁻¹), obtenida mediante un sistema de purificación de agua MQ, Merck.

4.3.2. Nanopartículas de plata sobre la superficie nanoporosa de la aleación de titanio

Se mecanizaron discos de Ti-6Al-4V de 10 mm de diámetro y se esmerilaron sucesivamente con papel abrasivo SiC de grado P180, P240, P400, P600, P800, P1000, P1500 y P2000, y se pulieron mecánicamente con pasta de diamante de 3 µm (grano 8000, Leader Products). Por último, las muestras se desengrasaron por sonicación en AC, EtOH y agua MQ durante 20 min, consecutivamente. Los recubrimientos anódicos de TiO₂ (α-Ti-6Al-4V) se obtuvieron electroquímicamente de acuerdo con el desarrollo presentado en el capítulo previo. La deposición de nanopartículas de plata en superficies de aleaciones de titanio nanoporosas (α-Ti-6Al-4V/p-AgNPs) se realizó sobre la base de dos procedimientos diferentes: (i) los discos con el recubrimiento de TiO₂ anodizado electroquímicamente se colocaron en una celda de reacción en donde se sintetizaron p-AgNPs siguiendo un procedimiento previamente optimizado [13] y se dejaron en la oscuridad durante 3, 7 y 11 h (procedimiento de deposición *in situ*), (ii) por otro lado, se prepararon 10 mL de p-AgNPs (14 µg mL⁻¹) y se concentraron (80 µg mL⁻¹) en un sistema centrífugo-evaporador (Thermo Scientific Speed Vac SPD11V) a una temperatura de 35 °C. A continuación, se sumergieron discos de α-Ti-6Al-4V en 2 mL de p-AgNPs (80 µg mL⁻¹) durante 3, 7 y 11 h en oscuridad (procedimiento de deposición *ex situ*).

4.3.3. Caracterización microestructural

Para la caracterización de las superficies de α -Ti-6Al-4V y α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs, se empleó un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo de alta resolución (HR-SEM) ZEISS ULTRA PLUS, acoplado a un espectrofotómetro de rayos X de energía dispersiva (EDX) que permite el microanálisis químico elemental. Las imágenes se adquirieron con un detector de electrones secundarios operado a un voltaje de aceleración de 3,00 kV y a una resolución de distancia de trabajo de 2,1 nm.

4.3.4. Medidas ópticas

Los patrones de reflectancia difusa se llevaron a cabo utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Nicolet® IS50 FT-IR provisto de reflectores de infrarrojo cercano (CaF_2/KBr) y detectores ($\text{InGaAs}/\text{KBr-DLaTGS}$). Las mediciones se realizaron en modo de reflectancia con un rango espectral entre 16000 y 4000 cm^{-1} (625-2500 nm). Los espectros se registraron a 90° de la radiación incidente sobre los discos y utilizando el software integrado, con una resolución espectral de 4 cm^{-1} e integrando 32 barridos. Todas las mediciones se llevaron a cabo a TA empleando un portamuestras de PLA fabricado a medida para cada ángulo de radiación incidente, impreso en la impresora 3D Adonis, modelo Hellbot, y utilizando un disco de teflón como blanco. Se realizaron análisis de espectroscopía de fluorescencia molecular utilizando un espectrofluorímetro Shimadzu RF-6000, en modo de fluorescencia 3D con un rango espectral entre 200 y 900 nm para las longitudes de onda de excitación y emisión. Los espectros se registraron utilizando el software integrado, con una resolución espectral de 5 nm y una velocidad de barrido de 12000 nm min^{-1} . Para las mediciones se utilizaron cubetas "home-made" impresas en PLA (Figura 4.1), las cuales permitían colocar los discos en ángulos de 30, 45 y 60° respecto a la radiación incidente, de manera que estos reflejaran la radiación hacia el detector. Las mediciones UV-VIS de los discos se realizaron a TA con un espectrofotómetro UV-Visible Evolution 220, Thermo Scientific provisto de un accesorio de esfera integradora. Los espectros se registraron en el modo de absorbancia con un rango espectral entre 220 y 1100 nm, los datos se adquirieron con una velocidad de barrido de 1200 nm min^{-1} tras la calibración con el patrón de reflectancia difusa Spectralon.



Figura 4.1. Soporte de PLA para medidas de fluorescencia 3D a 45°.

Las imágenes infrarrojas de las superficies de α -Ti-6Al-4V y α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs se adquirieron con una cámara digital Canon, modelo Powershot ELPH 190IS, sin el filtro de infrarrojos. Se montó un sistema a medida, que permitió situar los discos en un lugar cerrado, eliminando la perturbación de la luz externa de acuerdo con lo presentado en el Capítulo 3 [12]. Los discos se iluminaron utilizando un LED emisor de infrarrojos, IR383, $\lambda = 940$ nm, controlando el flujo radiante espectral, [14] $\Phi_\lambda = (1,01-38,14) \times 10^{-3} \text{ mW nm}^{-1}$, mediante la aplicación de una fuente Uni-T regulable, modelo UTP3313TFL a TA. Las imágenes se compararon en términos de irradiancia espectral, E_λ , [14], se consideró toda el área del disco metálico, $78,5 \text{ mm}^2$, para el cálculo de E_{940} .

4.3.5. Aumento de la temperatura

Para llevar a cabo los experimentos fototérmicos se empleó un láser NIR 904 nm de fisioterapia (LB-904, SEAKIT) a una frecuencia de emisión de 2000 Hz (densidad de flujo radiante láser, irradiancia, $E = 83,3 \text{ mW cm}^{-2}$). Los discos Ti-6Al-4V, α -Ti-6Al-4V y α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs se colocaron sobre soportes de 12 mm de diámetro. El láser se ajustó de modo que el punto pudiera coincidir con el centro del disco. Las imágenes termográficas de evolución temporal se registraron utilizando una cámara digital de imágenes térmicas (CEM High Performance High Resolution Thermal Imagers DT-9873B, CEM Instruments).

4.3.6. Medidas de ángulo de contacto estático

El ángulo de contacto estático entre la superficie de los discos y una gota de agua se midió utilizando el sistema descrito en el capítulo previo a TA [12]. Se depositó un volumen máximo de gota de 2,0 μL sobre el disco para adquirir la imagen mediante el microscopio digital (Microscopio digital Andonstar) antes de los análisis estáticos del ángulo de contacto. Todas las imágenes se procesaron utilizando el software ImageJ [15] y las mediciones de los AC se realizaron con una precisión de $\pm 1^\circ$ utilizando el módulo Drop Snake y LB-ADSA disponible [16].

4.4. Resultados y discusión

4.4.1. Propiedades optoelectrónicas de las superficies α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs

Optimizar las propiedades fotofísicas de un material es crucial para generar diseños con funcionalidad electro-óptica. En este sentido, se han propuesto dos estrategias para incorporar p-AgNPs [13] en superficies de α -Ti-6Al-4V [12]: (i) deposición *in situ* y (ii) *ex situ* tras la inmersión de discos de α -Ti-6Al-4V en medios de reacción de p-AgNPs o en dispersiones de p-AgNPs respectivamente durante 3, 7 y 11 h. Teniendo en cuenta que la reflectancia NIR es el punto clave de la respuesta electro-óptica de las superficies de la aleación de titanio nanorecubiertas previamente desarrolladas (Capítulo 3), la eficacia de las estrategias de síntesis, fue evaluada analizando la reflectancia espectral difusa NIR de las muestras de α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs. Los resultados se presentan en las Figuras 4.2a y b. Se observó una amplia señal de reflexión centrada en 1200 nm junto con varias bandas de mayor intensidad en las regiones del infrarrojo medio (1720, 2137 y 2316 nm) que se asociaron al efecto de la radiación sobre el conjunto de nanoporos de TiO_2 [12]. No se observaron diferencias estadísticas significativas tras la inmersión de los discos α -Ti-6Al-4V en la dispersión de las p-AgNPs previamente sintetizadas (Figura 4.2a). Por el contrario, tras 7 h de inmersión en el medio de reacción de las p-AgNPs, se aprecian incrementos de las señales a las longitudes de onda del infrarrojo cercano y medio (MIR) (Figura 4.2b). Sin embargo, no se observan diferencias al aumentar el tiempo de exposición hasta las 11 h de tratamiento. La reflectancia difusa es una herramienta útil para analizar las estructuras plasmónicas, como demostró Victor Ovchinnikov [17]. El autor informó que la posición de la longitud de onda del plasmón de resonancia superficial localizado se correlaciona claramente con la de reflectancia difusa. Teniendo en cuenta que las p-AgNPs tienen un LSRP en el rango de 700 - 1300 nm, [13] el aumento de la intensidad de las señales NIR y MIR observadas en la Figura 4.2b podría atribuirse a la oscilación coherente de los electrones de conducción de las p-AgNPs

Capítulo 4: Respuesta NIR mejorada de recubrimientos de Ti-6Al-4V activados

in situ sintetizadas sobre el disco nanoestructurado, α -Ti-6Al-4V. De este modo, la radiación emitida por las p-AgNPs debería ser reflejada por el disco de titanio dentro de los nanoporos, aumentando la intensidad de las bandas de reflexión. La Figura 4.3a muestra los resultados de reflexión de las superficies α -Ti-6Al-4V y α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs tras la aplicación de una fuente de radiación de $\lambda = 940$ nm y la regulación de la radiancia espectral, como control se utilizan discos pulidos de Ti-6Al-4V. Como era de esperar, tanto las superficies α -Ti-6Al-4V como α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs muestran un aspecto brillante en comparación con el disco de Ti-6Al-4V pulido no reflectante en la región NIR, [12] además, se observa un efecto superior de las superficies α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs. Los discos de α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs presentan una distribución uniforme y mejoran la reflectividad a lo largo de toda la superficie, mientras que en el caso de los discos de α -Ti-6Al-4V las propiedades de reflexión se pierden a medida que se aleja de la fuente de luz. Para corroborar el efecto de las p-AgNPs anisotrópicas, se utilizaron como segundo control discos de α -Ti-6Al-4V sumergidos en medio de reacción de AgNPs esféricas (e-AgNPs) durante 7 h, observando una menor reflectividad en los discos α -Ti-6Al-4V/e-AgNPs que en los discos α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs (Figura 4.3a). Utilizando el software ImageJ, se procedió a calcular la luminancia de los discos anodizados y control tras la aplicación de la fuente radiante de longitud de onda (λ) de 940 nm. La luminancia representa el brillo general percibido en la imagen y se determina como el valor promedio de la intensidad de la luz reflejada por cada disco en su totalidad. Estos resultados se muestran en la Figura 4.3b. Los datos obtenidos confirman las observaciones previas, donde los discos anodizados exhiben valores notablemente superiores de luminancia en comparación con el disco de control sin anodizar. Específicamente, el disco compuesto de α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs muestra los valores más elevados de luminancia en todas las intensidades de radiancia espectral analizadas.

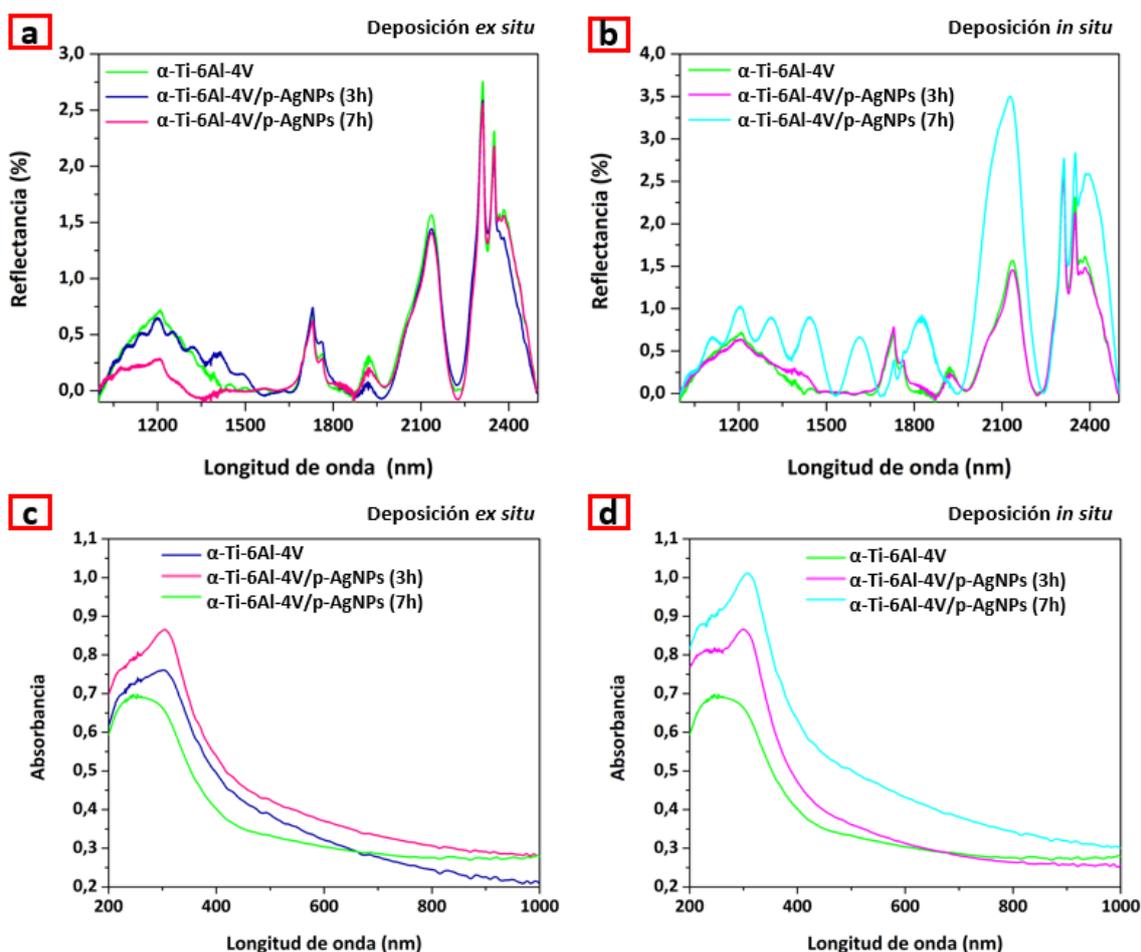


Figura 4.2. Reflectancia difusa NIR de α -Ti-6Al-4V tras inmersión en: (a) dispersiones de p-AgNPs presintetizadas *ex situ* y (b) medios de reacción de p-AgNPs *in situ*; las medidas se registraron tras una radiación incidente a 90° y TA. Absorbancia de α -Ti-6Al-4V tras inmersión en: (c) dispersiones de p-AgNPs presintetizadas *ex situ* o (d) medios de reacción de p-AgNPs *in situ*.

Olivieri et al. [18] describieron una superficie plasmónica que produce reflectancia controlada eléctricamente, en la que se consigue una alta sensibilidad a partir del plasmón superficial confinado. Las absorciones plasmónicas pueden conducir a la generación de un electrón caliente con energía suficiente para superar la barrera de Schottky en la interfaz metal/semiconductor [19]. En este caso, combinando la resonancia plasmónica superficial localizada LSPR en las p-AgNPs excitadas ópticamente en el NIR, los electrones de valencia del TiO_2 superan la barrera energética o la atraviesan para convertirse en electrones de conducción, lo que revela un incremento de la reflexión en tales condiciones. En consecuencia, se ha analizado el comportamiento de absorción espectral de los materiales ensayados. Las Figuras 4.2c y d, muestran una fuerte absorción por debajo de una longitud de onda de unos 300 nm de los discos α -Ti-6Al-4V que está asociada con la banda prohibida del TiO_2 [20]. Se perciben desplazamientos hacia longitudes de onda mayores e intensificación de las señales en los discos α -Ti-6Al-4V/p-

AgNPs depositadas *in situ*. La intensidad máxima se observa tras sumergir el disco α -Ti-6Al-4V en la reacción de p-AgNPs durante 7 h, en total acuerdo con los resultados de reflexión difusa (Figura 4.2b).

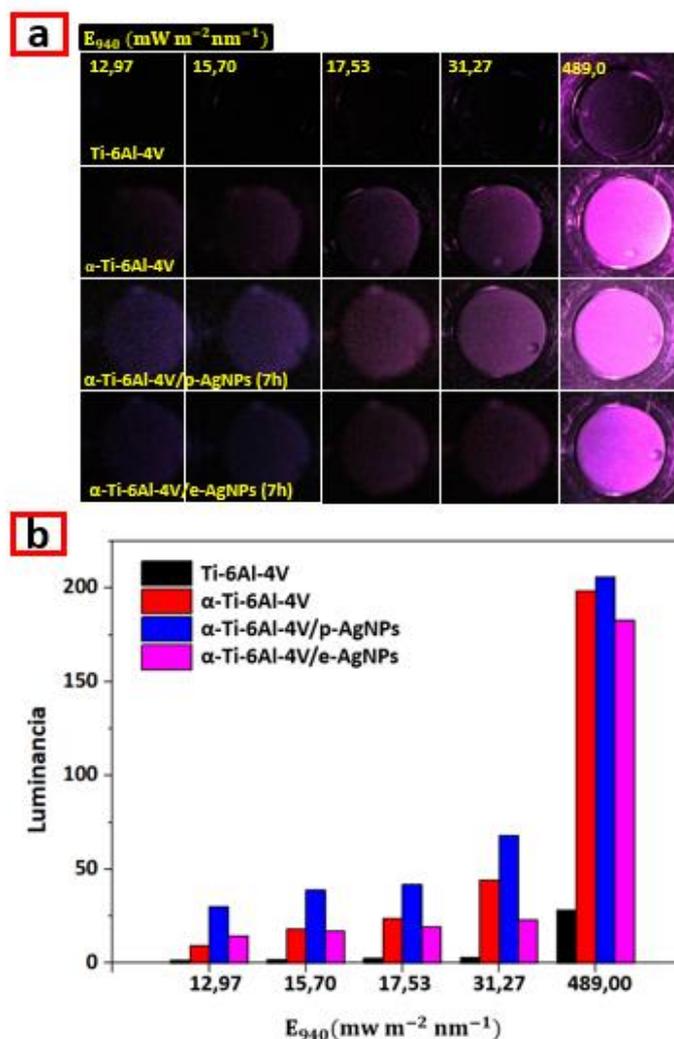


Figura 4.3. (a) Imágenes ópticas de α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs (depositadas *in situ*, 7h) tras irradiación NIR, $\lambda = 940$ nm, en función de la irradiancia espectral, E_{λ} ; Ti-6Al-4V, α -Ti-6Al-4V y α -Ti-6Al-4V/e-AgNPs se utilizaron como controles. (b) Luminancia de los discos Ti-6Al-4V, α -Ti-6Al-4V, α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs (sintetizadas, 7h) y α -Ti-6Al-4V/e-AgNPs (depositadas *in situ*, 7h) tras irradiación NIR, $\lambda = 940$ nm, en función de la irradiancia espectral, E_{λ} .

Mosquera et al. [21], demostraron un aumento en los valores del coeficiente de absorción y un desplazamiento de las bandas NIR hacia la zona roja en las estructuras de TiO_2 que contenían Ag. Los autores explicaron estos fenómenos como un efecto combinado de la formación de grupos más grandes de AgNPs junto con su resonancia plasmónica superficial originada por la aglomeración de AgNPs. Un análisis de las superficies de α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs después de la inmersión de los discos α -Ti-6Al-4V durante 7 h en medios de reacción de p-AgNPs se llevó a

cabo empleando microscopía electrónica de barrido de alta resolución (HR-SEM) pudiendo correlacionar las características electro-ópticas con sus propiedades morfológicas (Figura 4.4). En la Figura 4.4a se muestra la superficie electrorecubierta de TiO₂ nanoporoso, α -Ti-6Al-4V [12]. Los materiales híbridos α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs denotan una ligera modificación del sustrato α -Ti-6Al-4V tras la fijación de las p-AgNPs (Figuras 4.4b-d). La estructura porosa se conserva con un aumento del tamaño de los poros (Figura 4.4c). Esto se puede observar en las reconstrucciones 3D de las superficies de los discos α -Ti-6Al-4V y α -Ti-6Al-4V/p AgNPs (Figuras 4.4e y f). Las AgNPs anisotrópicas se depositan homogéneamente sobre la superficie de TiO₂ (Figuras 4.4b y d). La presencia de pequeños clusters de p-AgNPs fijados sobre el sustrato se corroboró a partir de mediciones EDX coincidiendo con las interpretaciones de banda prohibida reportadas previamente por Mosquera et al. [21].

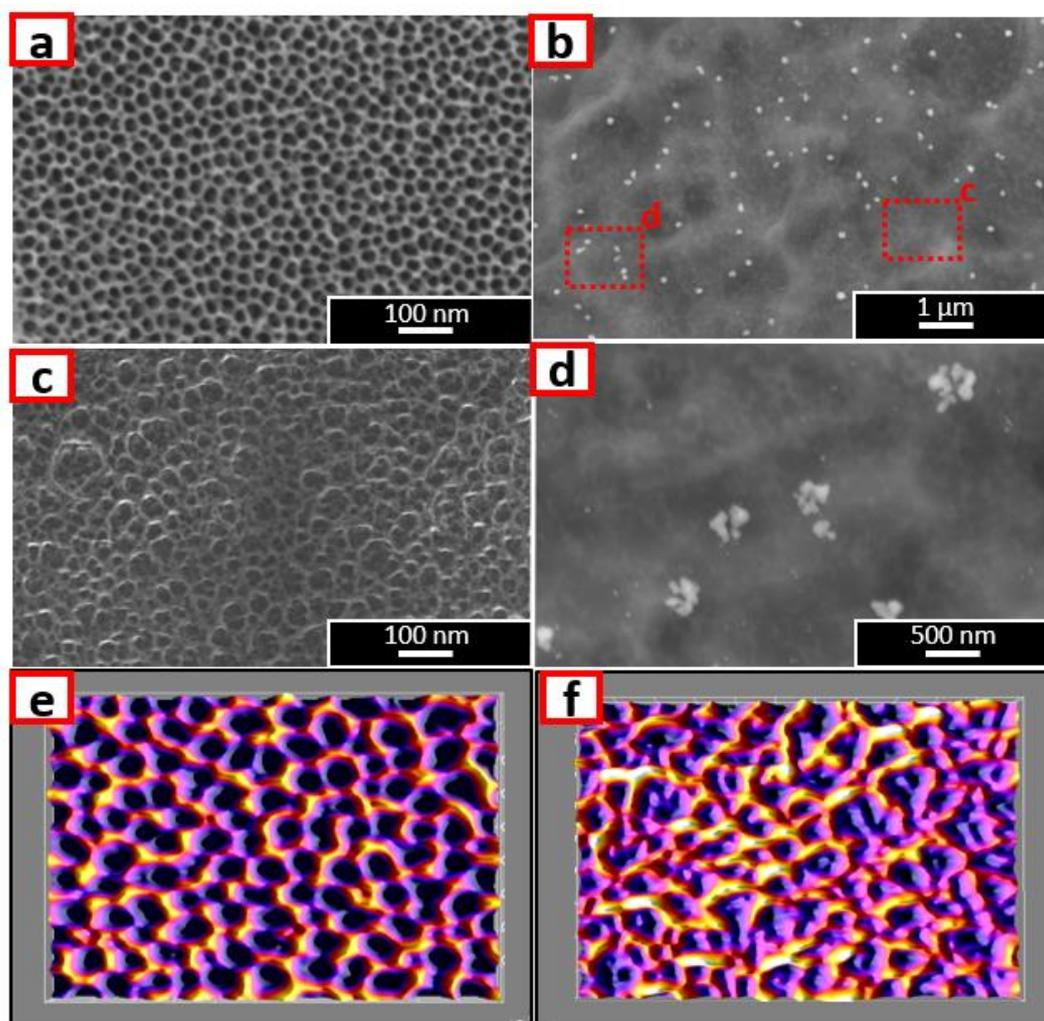


Figura 4.4. (a) Microfotografía HR-SEM de la superficie anodizada de TiO₂ (α -Ti-6Al-4V) [12]. (b) Microfotografía HR-SEM de la superficie anodizada de TiO₂ después de la deposición de las nanopartículas (α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs). Microfotografías HR-SEM de (c) sustrato α -Ti-6Al-4V y (d) p-AgNPs depositadas. (e) Gráfico 3D de la superficie del sustrato α -Ti-6Al-4V. (f) Gráfico 3D de la superficie del sustrato α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs que muestra el arreglo de nanoporos tras la inmersión durante 7 h en medio de reacción de AgNPs.

La recombinación radiativa de electrones y huecos fotogenerados (e^-/h^+) y la alteración de la densidad local de estados (LDoS) debida a la interacción entre p-AgNPs y α -Ti-6Al-4V deberían modular las emisiones de fluorescencia de la superficie híbrida [22]. Los espectros de fotoluminiscencia (FL) en 3D (Figura 4.5) se utilizan para corroborar la eficiencia del atrapamiento, desplazamiento y transferencia de carga. El disco α -Ti-6Al-4V (Figuras 4.5a-c) presenta la banda de emisión de alta intensidad característica en $\lambda_{EM} \approx 300$ nm asociada a la banda de emisión del borde de su fina capa de TiO_2 y a los excitones autoatrapados localizados en los octaedros de TiO_2 y en las vacancias de oxígeno [23].

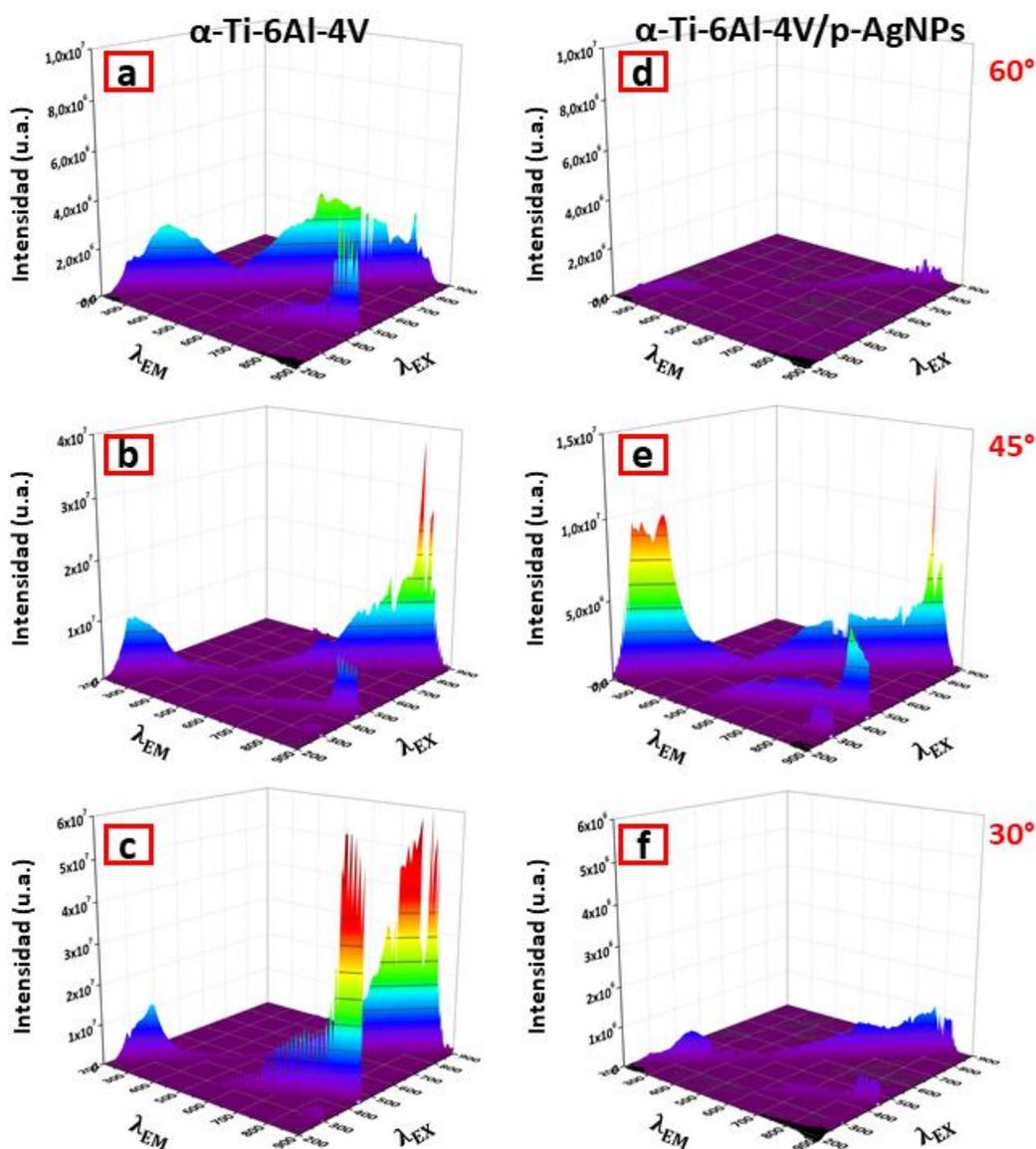


Figura 4.5. Patrones FL 3D registrados a 60, 45 y 30° de radiación incidente de las superficies α -Ti-6Al-4V (a, b, c) y α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs (d, e, f). Las bandas indicadas con flechas se expresaron como ($\lambda_{EM} / \lambda_{EX}$).

Las bandas de emisión de menor intensidad a longitudes de onda mayores se identifican como emisiones de estado superficial, atribuidas a la recombinación casi libre en el borde de banda de absorción del TiO₂, al estado de trampa superficial cerca del borde de banda de absorción, a la banda de trampa profunda muy por debajo del borde de banda, y a la permutación de estos efectos [23]. Una característica distintiva de la nanoestructura original α -Ti-6Al-4V, que actúa como un resonador Fabry-Pérot, es la inducción de oscilaciones específicas a ≈ 800 nm que responden a la disminución del ángulo de radiación incidente [12]. El ensamblaje jerárquico nanométrico se conservó tras la deposición *in situ* de nanopartículas de plata (Figura 4.4) de esta forma las p-AgNPs no alteran el comportamiento del resonador Fabry-Pérot. Sin embargo, las p-AgNPs suprimen eficazmente las bandas FL debido a la separación de cargas entre TiO₂ y Ag (Figuras 4.5d-f). Según la bibliografía, [24, 25] la disminución de la intensidad del FL está relacionada con la rápida separación de los electrones y huecos foto-generados debido a la diferencia en los niveles de energía de las bandas de conducción y de valencia en la estructura bifásica de las p-AgNPs/TiO₂ y a la salida de electrones que migran a los clusters de p-AgNPs que evitan la recombinación directa [25]. Este efecto es de menor intensidad cuando la radiación entra a 45°, en tales condiciones las p-AgNPs afectan exclusivamente a las bandas asociadas a la desexcitación de los niveles vibrónicos inferiores, en la región NIR (≈ 800 nm), mientras que no a la emisión del borde de banda de la capa de TiO₂ (Figura 4.5e).

4.4.2. Conversión fototérmica NIR

Las disminuciones en la brecha de banda óptica de las superficies α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs, así como la mayor densidad de estados en la banda de conducción son coherentes con el comportamiento dopante superficial de las p-AgNPs. En tales condiciones, los electrones proceden de un donante p-AgNPs en las superficies α -Ti-6Al-4V y su activación requiere la iluminación por radiación [26], como se confirma mediante el examen de los patrones FL (Figura 4.5). A continuación, se analizó la capacidad de conversión fototérmica para validar la capacidad de captación de radiación NIR. Se puede apreciar que, de acuerdo con la información expuesta en las secciones anteriores, las superficies de α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs obtenidas mediante inmersión de discos de α -Ti-6Al-4V en medios de reacción de p-AgNPs (depositadas *in situ*) experimentan un incremento de temperatura que aumenta a medida que se extiende el tiempo de irradiación con el láser NIR. En contraste, no se aprecia efecto alguno sobre discos de Ti-6Al-4V, α -Ti-6Al-4V o α -Ti-6Al-4V-p-AgNPs depositadas *ex situ*. Los resultados obtenidos son comparables a los obtenidos con dispersiones de p-AgNPs de la misma concentración ($14 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Figura 4.6).

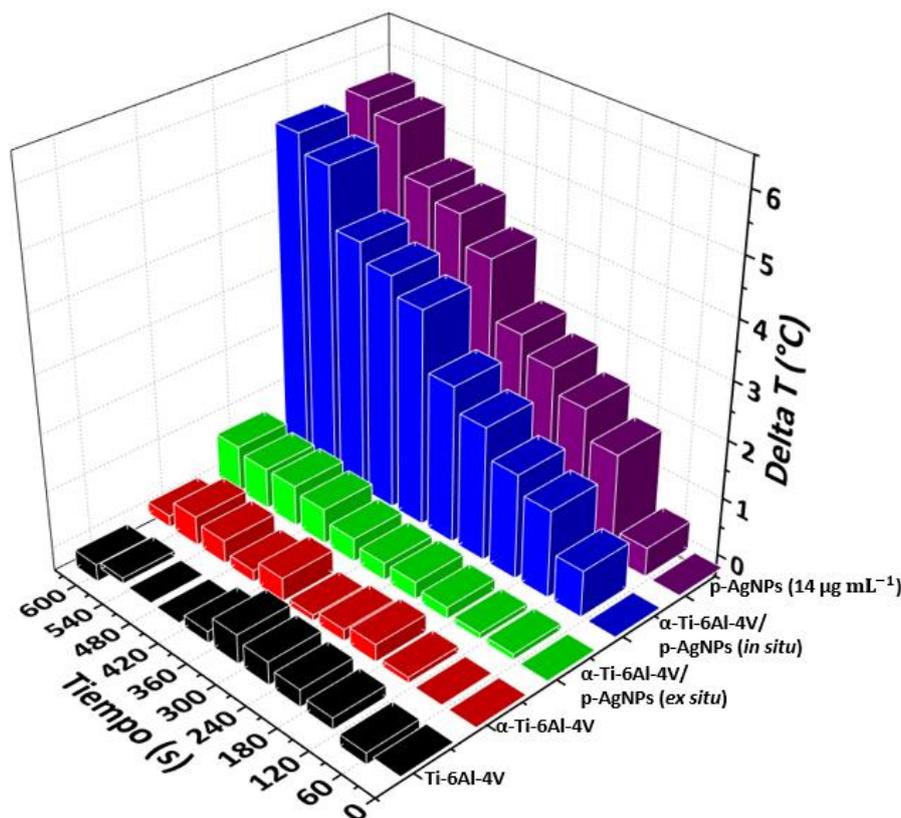


Figura 4.6. Variación de la temperatura en el centro de los discos Ti-6Al-4V, α -Ti-6Al-4V, α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs (ex situ) y α -Ti-6Al-4V/p-AgNPs (in situ), y dispersión de p-AgNPs (14 $\mu\text{g mL}^{-1}$) durante 600 s de irradiación laser NIR a 904 nm ($E = 83,3 \text{ mW cm}^{-2}$) respecto a la temperatura inicial.

De esta manera se puede confirmar que el recubrimiento nanoporoso desarrollado dopado con p-AgNPs tiene la capacidad de convertir la energía electromagnética NIR en energía térmica. Por lo tanto, estas nanoestructuras pueden ser utilizadas en terapias fototérmicas asistidas con radiación NIR (904 nm), siendo un material de buena eficiencia fototérmica, baja toxicidad y alta biocompatibilidad [27 - 29]. Asimismo, las propiedades únicas de la nanoestructura y su efecto fototérmico abren una ventana prometedora para el tratamiento antimicrobiano que podría darse provocando estrés físico en las bacterias y daños en sus membranas, concluyendo en la muerte bacteriana [30].

4.4.4. Ángulo de contacto estático

En el Capítulo 3 se ha demostrado que el recubrimiento nanoporoso desarrollado presenta un comportamiento de humectación hidrofóbico según el régimen de Cassie-Baxter, incluso en presencia de compuestos químicamente hidrofílicos [12]. Tras la incorporación de las p-AgNPs, las características de humectación de las superficies mostraron un ángulo de contacto menor,

lo que evidencia un mayor carácter hidrofílico en comparación con el Ti-6Al-4V pulido original (Figura 4.7).

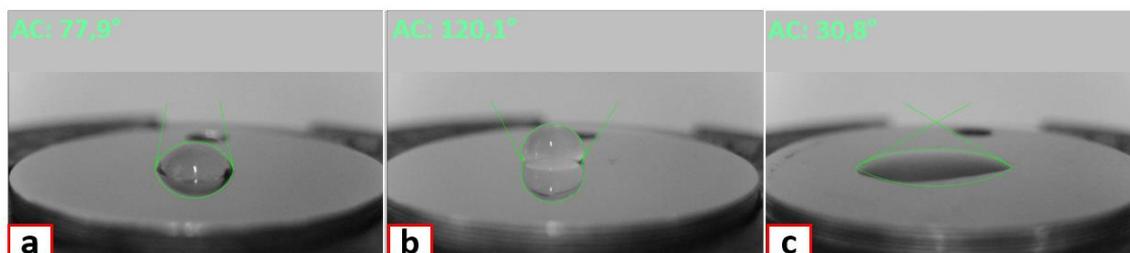


Figura 4.7. Ángulo de contacto estático con el agua medido para (a) Ti-6Al-4V, (b) α -Ti-6Al-4V, (c) α -Ti-6Al-4V/p-AgNP ($14 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Es sabido que este ángulo, caracteriza la hidrofiliidad de la superficie. Los ángulos de contacto con el agua inferiores a 90° designan a las superficies como hidrófilas e indican que la humectación de la superficie es favorable, y que el fluido se extenderá sobre un área amplia de la superficie, mientras que las superficies con ángulos de contacto con el agua superiores a 90° se consideran hidrófobas y, en general, significa que la humectación de la superficie es desfavorable [31, 32]. En cuanto a la respuesta biológica a los cambios en la humectabilidad de las superficies biomédicas Gittens et al. resumen varios estudios que sugieren un efecto estimulante general de una mayor hidrofiliidad de la superficie sobre la integración del tejido duro y blando con el implante, lo que produce una cicatrización acelerada y una osteointegración temprana. La humectabilidad de la superficie puede afectar a cuatro aspectos principales del sistema biológico: (1) adhesión de proteínas y otras macromoléculas a la superficie (acondicionamiento), (2) interacciones de células de tejidos duros y blandos con las superficies preacondicionadas, (3) adhesión bacteriana y posterior formación de biofilms, y (4) tasa de osteointegración en la clínica (in vivo) [33]. En contacto con sangre y fluidos biológicos, las superficies hidrófilas favorecen la adsorción de proteínas y mejoran la adhesión celular. Por el contrario, las superficies hidrófobas pueden desnaturar parcialmente las proteínas, haciendo que los sitios de unión celular sean menos accesibles, lo que se traduce en una menor adhesión celular [34]. Por lo mencionado los nanorecubrimientos de TiO_2 dopados con p-AgNPs tenderían a ser beneficiosos en la adsorción de proteínas y adhesión celular. En cuanto al efecto antimicrobiano es conocido que la hidrofilia de las superficies tiende a favorecer la adhesión bacteriana, sin embargo, no es posible obtener una conclusión sin antes realizar un estudio de la actividad antibacteriana ya que como se ha mencionado las propiedades únicas que presenta la nanoestructura y la capacidad de conversión fototérmica NIR podrían generar un eficiente efecto antibacteriano.

4.5. Conclusiones

En el presente capítulo se ha aplicado el concepto de "sensibilizador plasmónico", mediante la deposición de nanopartículas de plata en forma de prisma (p-AgNPs) sobre el recubrimiento de TiO₂ nanoporoso generado sobre la aleación Ti-6Al-4V (α -Ti-6AL-4V). En primer lugar, se han establecido las condiciones de reacción para alcanzar la máxima capacidad de foto-conversión bajo irradiación NIR. Se ha demostrado que una matriz ordenada nanoporosa de TiO₂ es un sustrato noble para la inmovilización simple y eficiente de nanopartículas de plata anisotrópicas que presentan espectros de extinción de resonancia plasmónica superficial localizada NIR. La morfología de la estructura nanoporosa en el recubrimiento de TiO₂ anodizado no mostró diferencias estadísticamente significativas tras la generación in situ de p-AgNPs, mientras que sus propiedades optoelectrónicas mejoraron. Se puede demostrar que la radiación emitida debido a la oscilación colectiva de los electrones libres en la superficie de las p-AgNPs puede ser reflejada por los sustratos de titanio dentro de los nanoporos, aumentando las señales de reflexión del infrarrojo cercano/medio y mejorando la capacidad de reflexión de la superficie. La recombinación de electrones y huecos fotogenerados, interpretada en términos de patrones de emisión de fotoluminiscencia 3D, validó el intercambio de bandas de conducción y de valencia en la estructura α -Ti-Al-4V/p-AgNPs. Por otro lado, se ha evaluado la eficacia de las propiedades electro-ópticas, consecuencia de la inserción de p-AgNPs sobre superficies de α -Ti-Al-4V, en su capacidad de captación y reflexión de radiación NIR. Las superficies híbridas α -Ti-Al-4V/p-AgNPs mostraron una buena eficiencia de conversión fototérmica que generó un incremento de temperatura comparable al de la dispersión acuosa de p-AgNPs de concentración equivalente. Los resultados indican que existe una sinergia de interacción entre α -Ti-Al-4V y p-AgNPs, mejorando la capacidad de absorción y reflexión NIR y una elevada capacidad de conversión fototérmica.

4.6. Bibliografía

- [1] Long, K., Lv, W., Wang, Z., Zhang, Y., Chen, K., Fan, N., Li, F., Zhang, Y. y Wang, W. (2023). Near-infrared light-triggered prodrug photolysis by one-step energy transfer. *Nature Communications*, 14(1), 8112.
- [2] Peng, J., Zhao, J., Tang, Q., Wang, J., Song, W., Lu, X., Huang, X., Chen, G., Zheng, W., Zhang, L., Han, Y., Yan, C., Wan, Q. y Chen, L. (2022). Low intensity near-infrared light promotes bone regeneration via circadian clock protein cryptochrome 1. *International Journal of Oral Science*, 14(1), 53.
- [3] Walski, T., Grzeszczuk-Kuć, K., Gałęcka, K., Trochanowska-Pauk, N., Bohara, R., Czernski, A., Szułdryński, K., Królikowski, W., Detyna, J. y Komorowska, M. (2022). Near-infrared photobiomodulation of blood reversibly inhibits platelet reactivity and reduces hemolysis. *Scientific Reports*, 12(1), 4042.
- [4] Yu, Y., Yang, X., Reghu, S., Kaul, S. C., Wadhwa, R. y Miyako, E. (2020). Photothermogenetic inhibition of cancer stemness by near-infrared-light-activatable nanocomplexes. *Nature Communications*, 11(1), 4117.
- [5] Wan, Z., Zhang, P., Lv, L. y Zhou, Y. (2020). NIR light-assisted phototherapies for bone-related diseases and bone tissue regeneration: A systematic review. *Theranostics*, 10(25), 11837.
- [6] Feng, Q., Zhou, X. y He, C. (2024). NIR light-facilitated bone tissue engineering. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 16(1), e1925.
- [7] Quirk, B. J., Sannagowdara, K., Buchmann, E. V., Jensen, E. S., Gregg, D. C. y Whelan, H. T. (2016). Effect of near-infrared light on in vitro cellular ATP production of osteoblasts and fibroblasts and on fracture healing with intramedullary fixation. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 7(4), 234-241.
- [8] Shi, G., Jiang, H., Yang, F., Lin, Z., Li, M., Guo, J., Liao, X., Lin, Y., Cai, X. y Li, D. (2023). NIR-responsive molybdenum (Mo)-based nanoclusters enhance ROS scavenging for osteoarthritis therapy. *Pharmacological Research*, 192, 106768.

Capítulo 4: Respuesta NIR mejorada de recubrimientos de Ti-6Al-4V activados

- [9] Wang, S., Wang, F., Zhao, X., Yang, F., Xu, Y., Yan, F., Xia, D. y Liu, Y. (2022). The effect of near-infrared light-assisted photothermal therapy combined with polymer materials on promoting bone regeneration: A systematic review. *Materials & Design*, 217, 110621.
- [10] Li, C., Geng, X., Chu, D., Li, J., Zhang, J., Jin, L. y Li, Z. (2022). NIR-responsive composite nanofibers provide oxygen and mineral elements to promote osteogenesis. *Materials & Design*, 224, 111285.
- [11] Zhang, G., Yang, Y., Shi, J., Yao, X., Chen, W., Wei, X., Zhang, X. y Chu, P. K. (2021). Near-infrared light II-assisted rapid biofilm elimination platform for bone implants at mild temperature. *Biomaterials*, 269, 120634.
- [12] Belén, F., Gravina, A. N., Pistonesi, M. F., Ruso, J. M., García, N. A., Prado, F. D. y Messina, P. V. (2022). NIR-Reflective and Hydrophobic Bio-Inspired Nano-Holed Configurations on Titanium Alloy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(4), 5843-5855.
- [13] Pistonesi, D. B., Belén, F., Centurion, M. E., Sica, M. G., Ruso, J. M. y Messina, P. V. (2023). {111}-Faceted Silver Nanoplates: An Automated and Customized Design for Functionality. *ChemNanoMat*, 9(12), e202300354.
- [14] Choudhury, A. K. R. (2014). Characteristics of light sources. *Principles of Colour and Appearance Measurement*, 1-52.
- [15] Schneider, C. A., Rasband, W. S. y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671-675.
- [16] Stalder, A. F., Kulik, G., Sage, D., Barbieri, L. y Hoffmann, P. (2006). A snake-based approach to accurate determination of both contact points and contact angles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 286(1-3), 92-103.
- [17] Ovchinnikov, V. (2015). Reflection from disordered silver nanoparticles on multilayer substrate. *Sensors & Transducers*, 193(10), 170.
- [18] Olivieri, A., Chen, C., Hassan, S. A., Lisicka-Skrzek, E., Tait, R. N. y Berini, P. (2015). Plasmonic nanostructured metal-oxide-semiconductor reflection modulators. *Nano letters*, 15(4), 2304-2311.
- [19] Mishra, A. K., Singh, P., Zala, D., Shaikh, N., Vemuri, S. K., Suthar, J., Shah, V., Mukhopadhyay, I. y Ray, A. (2023). Plasmonic solar energy harvesting by ZnO nanostructures and their

Capítulo 4: Respuesta NIR mejorada de recubrimientos de Ti-6Al-4V activados

composite interfaces: a review on fundamentals, recent advances, and applications. *Energy Technology*, 11(7), 2201393.

- [20] Ruso, J. M., Verdinelli, V., Hassan, N., Pieroni, O. y Messina, P. V. (2013). Enhancing CaP biomimetic growth on TiO₂ cuboids nanoparticles via highly reactive facets. *Langmuir*, 29(7), 2350-2358.
- [21] Mosquera, A. A., Albella, J. M., Navarro, V., Bhattacharyya, D. y Endrino, J. L. (2016). Effect of silver on the phase transition and wettability of titanium oxide films. *Scientific Reports*, 6(1), 1-14.
- [22] Shokry, A., Khalil, M. M. A., Ibrahim, H., Soliman, M. y Ebrahim, S. (2019). Highly luminescent ternary nanocomposite of polyaniline, silver nanoparticles and graphene oxide quantum dots. *Scientific Reports*, 9(1), 16984.
- [23] Mathew, S., Kumar Prasad, A., Benoy, T., Rakesh, P. P., Hari, M., Libish, T. M., Radhakrishnan, P., Nampoore V. P. N. y Vallabhan, C. P. G. (2012). UV-visible photoluminescence of TiO₂ nanoparticles prepared by hydrothermal method. *Journal of Fluorescence*, 22, 1563-1569.
- [24] Fukuhara, D., Joseph, M. T., Loumissi, T., Zhang, C., Itoi, T., Zhang, H. y Izumi, Y. (2021). Local Silver Site Temperature Critically Reflected Partial and Complete Photooxidation of Ethanol Using Ag–TiO₂ as Revealed by Extended X-ray Absorption Fine Structure Debye–Waller Factor. *The Journal of Physical Chemistry C*, 125(27), 14689-14701.
- [25] Kumar, D. P., Reddy, N. L., Karthik, M., Neppolian, B., Madhavan, J. y Shankar, M. V. (2016). Solar light sensitized p-Ag₂O/n-TiO₂ nanotubes heterojunction photocatalysts for enhanced hydrogen production in aqueous-glycerol solution. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 154, 78-87.
- [26] Zhang, H., Kulkarni, V., Prodan, E., Nordlander, P. y Govorov, A. O. (2014). Theory of quantum plasmon resonances in doped semiconductor nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry C*, 118(29), 16035-16042.
- [27] Yu, N., Hu, Y., Wang, X., Liu, G., Wang, Z., Liu, Z., Tian, Q., Zhu, M., Shi, X. y Chen, Z. (2017). Dynamically tuning near-infrared-induced photothermal performances of TiO₂ nanocrystals by Nb doping for imaging-guided photothermal therapy of tumors. *Nanoscale*, 9(26), 9148-9159.

Capítulo 4: Respuesta NIR mejorada de recubrimientos de Ti-6Al-4V activados

- [28] Ou, G., Li, Z., Li, D., Cheng, L., Liu, Z. y Wu, H. (2016). Photothermal therapy by using titanium oxide nanoparticles. *Nano Research*, 9, 1236-1243.
- [29] Li, J., Zhang, W., Ji, W., Wang, J., Wang, N., Wu, W., Wu, Q., Hou, X., Hu, W. y Li, L. (2021). Near infrared photothermal conversion materials: Mechanism, preparation, and photothermal cancer therapy applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 9(38), 7909-7926.
- [30] Ding, Y., Yuan, Z., Hu, J. W., Xu, K., Wang, H., Liu, P. y Cai, K. Y. (2022). Surface modification of titanium implants with micro–nano-topography and NIR photothermal property for treating bacterial infection and promoting osseointegration. *Rare Metals*, 41, 673–688. <https://doi.org/10.1007/s12598-021-01830-0>
- [31] Rupp, F., Gittens, R. A., Scheideler, L., Marmur, A., Boyan, B. D., Schwartz, Z. y Geis-Gerstorfer, J. (2014). A review on the wettability of dental implant surfaces I: theoretical and experimental aspects. *Acta Biomaterialia*, 10(7), 2894-2906.
- [32] Yuan, Y. y Lee, T. R. (2013). Contact angle and wetting properties. En *Surface Science Techniques* (pp. 3-34). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- [33] Gittens, R. A., Scheideler, L., Rupp, F., Hyzy, S. L., Geis-Gerstorfer, J., Schwartz, Z. y Boyan, B. D. (2014). A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects. *Acta Biomaterialia*, 10(7), 2907-2918.
- [34] Strnad, G., Chirila, N., Petrovan, C. y Russu, O. (2016). Contact angle measurement on medical implant titanium based biomaterials. *Procedia Technology*, 22, 946-953.

Capítulo 5

Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

5.1. Introducción

En capítulos previos se han detallado varias técnicas de modificación superficial que son empleadas con el fin de mejorar las propiedades de los biomateriales, específicamente del titanio y aleaciones a base de titanio, empleados como implantes ortopédicos y también para otorgarle mayor biocompatibilidad. El TiO_2 es ampliamente utilizado para fabricar recubrimientos estables, protectores y porosos debido a su bajo costo, baja toxicidad y alta actividad fotocatalítica. El anodizado electroquímico es una de las técnicas comúnmente utilizada para fabricar diversas superficies nanotopográficas controladas [1]. En el Capítulo 3 se ha presentado el desarrollo de un recubrimiento de TiO_2 en la aleación de Ti-6Al-4V, en donde controlando los principales factores que afectan al anodizado electroquímico se ha logrado desarrollar un recubrimiento que tiene una estructura nanoporosa que le confiere a la aleación propiedades ópticas NIR y de hidrofobicidad entre otras [2]. Antes del proceso electroquímico, debe realizarse un pretratamiento, que consiste en un pulido adecuado para obtener materiales con superficies reproducibles. En los capítulos anteriores se ha visto que, en el proceso de anodización, el material de titanio se conecta al ánodo de la celda electroquímica donde se oxida dentro de una solución electrolítica ácida, utilizando un material inerte (grafito o platino) como cátodo. Además, se ha explicado que, controlando los factores que afectan al anodizado electroquímico es posible obtener estructuras de TiO_2 específicas, y utilizando electrolitos que contienen iones fluoruro generar dichas estructuras con nanotubos o nanoporos que le confieren al metal nuevas y mejores propiedades [2, 3]. Mediante el empleo de esta técnica, se genera una capa de óxido compuesta principalmente TiO_2 , conjuntamente con los otros metales de la aleación. En el caso de la aleación estudiada en esta tesis, también presenta óxidos de Al y V. Aunque esta capa presenta una alta resistividad al circuito eléctrico formado por el electrolito y la parte metálica, su espesor aumenta continuamente mientras el campo eléctrico sea lo suficientemente fuerte como para conducir los iones a través de la película de óxido. El espesor final de la capa de óxido es aproximadamente proporcional al potencial aplicado [2, 4]. Estas capas confieren al titanio y a las aleaciones a base titanio mejoras como una mayor dureza, mejores propiedades mecánicas, mayor resistencia a la corrosión e incluso mayor biocompatibilidad [5-9]. Las morfologías de las capas de óxido generadas en el proceso electroquímico dependen de su espesor (normalmente el aumento de la rugosidad va asociado al aumento del espesor) y de las topografías de los sustratos subyacentes. Las capas de óxido generadas sobre titanio y aleaciones a base de titanio mediante anodizado electroquímico muestran morfologías superficiales y microestructuras complejas [5]. El anodizado electroquímico genera cambios de color en las aleaciones, siendo una propiedad atractiva para

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

monitorear las variaciones de las capas de óxido que se producen en función del tiempo [10, 11]. Además, según estudios previos, existe una relación entre el progreso del proceso de anodizado y las curvas específicas de densidad de corriente-tiempo. Una alternativa innovadora para controlar las variables físicas y químicas del proceso y obtener así materiales con recubrimientos superficiales reproducibles es automatizar el proceso de anodizado electroquímico, incluyendo el control del pretratamiento (pulido). De este modo, se controlarían los parámetros del proceso que alteran la cinética de crecimiento, la microestructura y la formación de nanoestructuras en las superficies de los sustratos que influyen en las propiedades físicas y químicas de la capa de óxido.

5.2. Objetivo

En este capítulo se presenta el desarrollo de un sistema automatizado para el control de los principales parámetros que influyen en el anodizado electroquímico del titanio y aleaciones a base de titanio (tiempo, voltaje, concentración de electrolito y temperatura), permitiendo la generación de capas superficiales de óxido con variaciones en su microestructura y características morfológicas. Simultáneamente, se pretende monitorear la cinética del anodizado electroquímico en tiempo real mediante curvas corriente tiempo y se emplea un sensor óptico para el registro de imágenes digitales. El sistema también verificará si el pulido mecánico (pretratamiento manual) de la aleación es adecuado para proceder a la etapa de anodizado. Asimismo, el sistema permite desarrollar de forma homogénea y reproducible el recubrimiento nanoporoso específico de TiO_2 sobre aleaciones Ti-6Al-4V, previamente desarrollado y presentado en el Capítulo 3.

5.3. Experimental

5.3.1. Reactivos y materiales

Los reactivos utilizados fueron de grado analítico y las soluciones se prepararon utilizando agua MQ ($18,3 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). Ácido fluorhídrico (HF, 48 %, Sigma - Aldrich), ácido ortofosfórico (H_3PO_4 , 85 %, Merck), acetona (AC, 99 %, Sigma - Aldrich) y etanol (EtOH, 96 %, Carl Roth) se han utilizado tal como se recibieron. Las láminas Ti-6Al-4V (1000 μm espesor; Ti 89.754 %; Al 6,01 %; V 4,06 %; C 0,01 %; N < 0,01 %; O 0,08 %; Fe 0,04 %; H 0,006 %, otros < 0,04 %) se adquirió a Roberto Cordes S.A.

5.3.2. Sistema automatizado

En bibliografía se han documentado trabajos en los cuales nanoestructuras de TiO_2 con características específicas han sido generadas sobre titanio y aleaciones a base de titanio empleando un dispositivo que consiste en una celda electroquímica de polipropileno con una barra de grafito usada como cátodo y un disco de titanio como ánodo [2]. La distancia entre los dos electrodos es constante en 10 mm. La celda tiene una tapa a rosca también de polipropileno con un orificio para colocar la barra de grafito en el interior de la celda y otro para colocar un alambre de titanio que funciona como punto de contacto del disco de titanio. El alambre se conecta mediante un cable cocodrilo-banana a la fuente que proporciona el voltaje, estableciendo la conexión entre el disco de titanio y la alimentación [12] (Figura 5.1). La principal desventaja que presenta esta metodología es que no se efectúa ningún control del pulido mecánico de los discos ni tampoco se monitorea el proceso para garantizar la reproducibilidad del proceso electroquímico.



Figura 5.1. Dispositivo para anodizado electroquímico.

El sistema automatizado presentado en la Figura 5.2 está comprendido por: una celda de reacción de polipropileno (CR) con una ventana de acrílico (VA) y un módulo de control de temperatura; un brazo robótico de polipropileno (BR) con una barra de grafito como cátodo y un soporte (SD) para un disco pulido de Ti-6Al-4V como ánodo. Ambos electrodos conectados a la fuente de voltaje variable y separados por una distancia constante de 10 mm. Además, una barra magnética en el interior de la CR es utilizada para llevar a cabo la agitación. El controlador de temperatura digital desarrollado consiste en tres componentes, un serpentín de PVC, a través del cual circula agua de refrigeración a partir de una micro bomba; una resistencia eléctrica envainada y un sensor de temperatura, todos colocados dentro de la CR. El BR tiene la

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

posibilidad de realizar movimientos rotacionales y verticales precisos para colocar los electrodos dentro de la CR y los discos de Ti-6Al-4V en frente de la ventana para la detección con imágenes digitales del pulido mecánico y del anodizado electroquímico usando un microscopio digital (MD). El prototipo desarrollado opera con iluminación controlada a través de un arreglo de LEDs acoplado al MD. Un amperímetro “lab-made” (A) registra la corriente que circula en el proceso de anodizado. Todas las partes mencionadas que conforman al prototipo se encuentran sobre una base estructural (BE) de PLA, la que incluye también una serie de sensores, actuadores y mecanismos esenciales para las operaciones del sistema a través de un microcontrolador comercial.

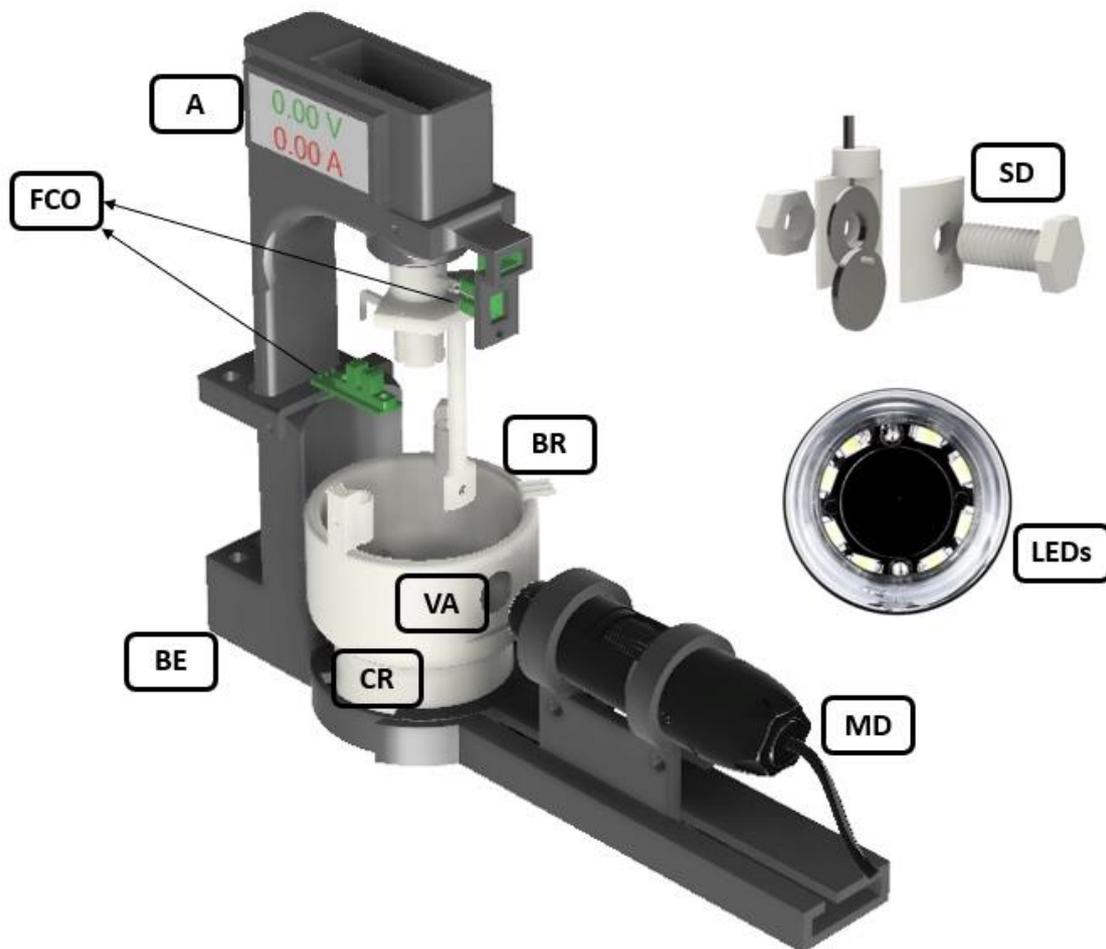


Figura 5.2. Prototipo del sistema automatizado. A: amperímetro; FCO: final de carrera óptico; BR: brazo robótico; SD: soporte para disco; MD: microscopio digital; VA: ventana de acrílico; CR: cámara de reacción; BE: base estructural; LEDs.

5.3.2.1. Electrónica

La electrónica del sistema automatizado (SA) (diagrama de bloques, Figura 5.3) se encargó de controlar y conducir las señales, así como de medir las variables. Se utilizó un microcontrolador comercial (Arduino Mega 2560) para controlar el funcionamiento general del sistema. Una rutina de código desarrollada se empleó para controlar las señales de entrada del final de carrera óptico (FCO) y las señales de salida al servomotor y al controlador del motor paso a paso. El motor paso a paso y el servomotor fueron utilizados para ejecutar los movimientos verticales y de rotación del BR, respectivamente. Esto, combinado con el FCO en cada dirección, permite un control preciso y reproducible de la altura y la posición de los electrodos. El controlador del motor paso a paso (Módulo ULN2003) es el circuito que proporciona la señal de control al motor paso a paso. En cuanto a los interruptores ópticos, fue utilizado uno para el movimiento de rotación (FCO ϕ) y otro para el movimiento de altura (FCO z). El módulo de control de temperatura (W1209 Digital) mantiene la temperatura de la solución a un valor predeterminado ($\pm 0,1$ °C), controlando la resistencia de calentamiento mediante un relé. La resistencia calefactora se alimentó con + 9 V mediante un regulador reductor de voltaje (LM2596), para garantizar un calentamiento preciso. Además, se utilizó una micro bomba peristáltica (micro bomba dosificadora DC 12 V) para recircular agua de refrigeración a través del serpentín de PVC para disminuir la temperatura de la solución. El módulo regulador de temperatura, la resistencia y la micro bomba peristáltica son alimentados con una fuente comercial (S-240-12, 12V 20A). Una fuente de voltaje regulable (UNI-T UTP3315, 0-30V 0-5A) se utilizó para alimentar el cátodo y el ánodo, y el amperímetro está conectado en serie para medir la corriente que circula a través del sistema. Para el registro de los videos se empleó un microscopio digital (NSDIMI, USB 2 Mpx, zoom 230X) colocado en frente de la VA. Un agitador magnético a 200 rpm fue usado para garantizar una agitación reproducible. A su vez, para desalojar las soluciones de la CR se empleó otra micro bomba peristáltica.

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

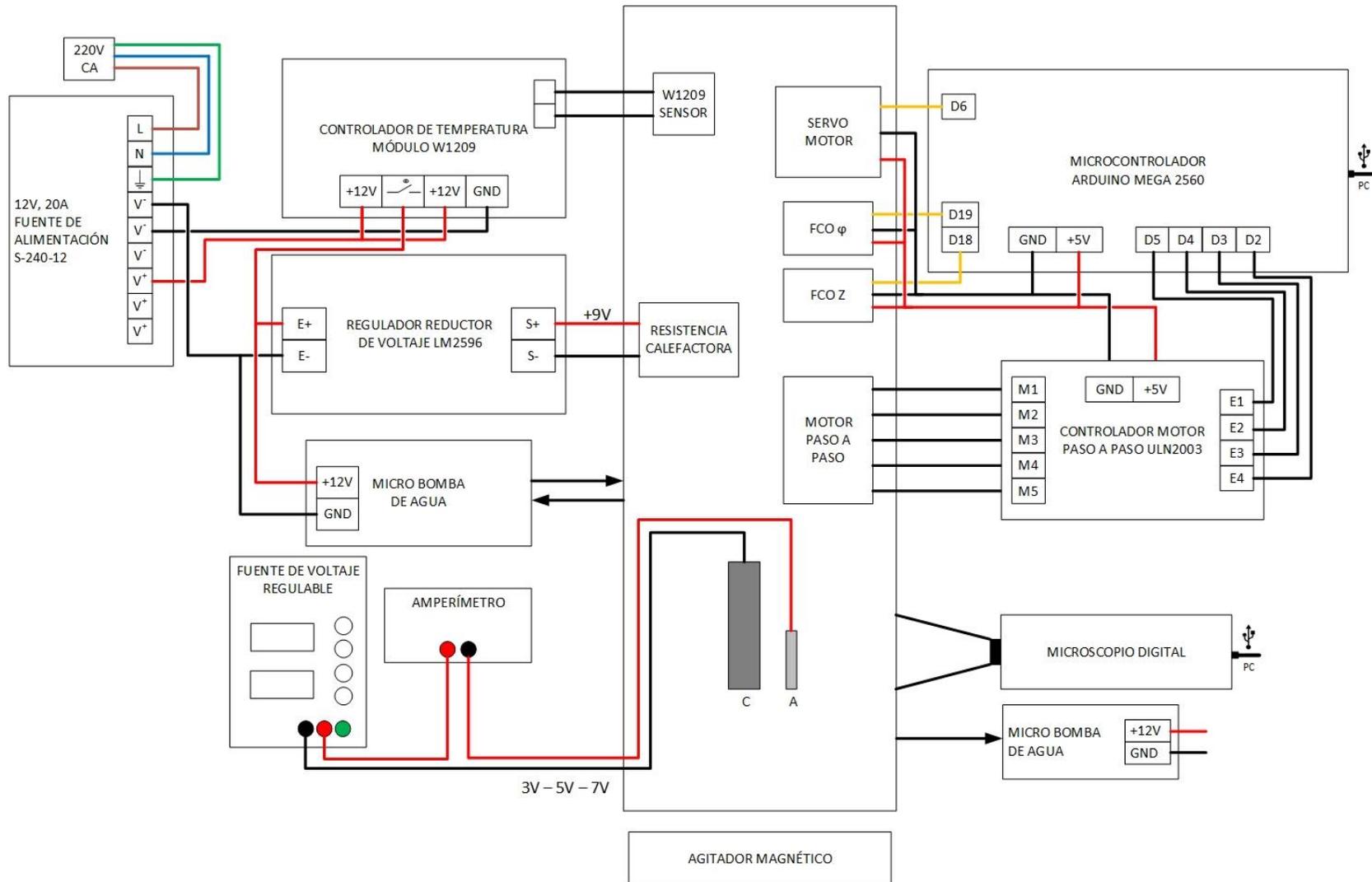


Figura 5.3. Diagrama de bloques de la electrónica del sistema automatizado.

5.3.2.2. Procedimiento

En primer lugar, discos de 10 mm de diámetro y 1 mm de espesor son cortados mecánicamente a partir de la lámina de Ti-6Al-4V. A continuación, los discos son esmerilados sucesivamente con papel de lija de SiC de grado P180, P240, P400, P600, P800, P1000, P1500 y P2000, y son pulidos mecánicamente con pasta de diamante de 3 μm (grano 8000, Leader Products). Por último, son desengrasados por sonicación en AC, EtOH y agua MQ durante 10 min, en secuencia.

Posteriormente, el disco pulido mecánicamente es colocado en el SD del sistema diseñado. Se activa el motor paso a paso para mover el SD y colocar el disco frente a la VA para grabar imágenes digitales de la superficie del disco con el MD. A partir del análisis superficial de las imágenes obtenidas, se verifica si el pulido es adecuado para proseguir con el proceso de anodizado. Una vez verificado el pulido adecuado, se activa el motor paso a paso para elevar el soporte y retirar el disco de la CR. Posteriormente, se llena la CR con la solución electrolítica a utilizar y se ajustan en el sistema la temperatura y el voltaje a aplicar. Seguidamente, se encienden el agitador magnético y la micro bomba de recirculación de agua. Después, una vez que la solución electrolítica alcanza la temperatura deseada, el motor paso a paso se activa nuevamente y el disco es colocado en posición dentro de la CR. Inmediatamente cuando el disco alcanza su posición frente a la VA, se comienza a registrar el video y se mide la corriente que circula entre los electrodos. Estos registros se realizan automáticamente durante 100 min. Una vez finalizado el proceso de anodizado, se activa el sistema para retirar los electrodos de la CR y se prosigue a la etapa de limpieza para su posterior análisis.

5.3.3. Diseño de experimento del anodizado electroquímico

Se uso el software estadístico Design Expert versión 10 (Stat-Ease Inc., USA) para diseñar y analizar los efectos de los principales parámetros (temperatura, voltaje y concentración de HF) de anodizado electroquímico que influyen en las características de la capa de TiO_2 generada, utilizando como respuesta el valor medio de la corriente de estado estacionario.

Se utilizó un diseño experimental Box-Behnken (BBD) de tres factores y tres niveles para correlacionar las interacciones entre las variables y la respuesta. Cada factor se analizó en los tres niveles: bajo (-1), alto (+1) y punto central (0). Basándose en el diseño BBD, se realizaron quince experimentos, incluyendo tres réplicas del punto central y un conjunto de puntos en el punto medio de cada extremo del cubo multidimensional, para obtener resultados precisos. Las

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

Tablas 5.1 y 5.2 muestran los niveles de los tres factores y las ejecuciones del BBD, respectivamente.

Tabla 5.2. Niveles de los factores en el diseño Box Behnken.

Variable	Factor	Nivel codificado		
		-1	0	+1
A	Temperatura (°C)	15,0	25,0	35,0
B	Voltaje (V)	3,0	5,0	7,0
C	Concentración HF (%)	0,10	0,30	0,50

Tabla 5.3. Diseño Box Behnken con valores experimentales.

Experimento	Nivel codificado			Nivel experimental		
	A	B	C	Temperatura (°C)	Voltaje (V)	Concentración HF (%)
E1	-1	+1	0	15,0	7,0	0,30
E2	+1	-1	0	35,0	3,0	0,30
E3	0	+1	+1	25,0	7,0	0,50
E4	0	0	0	25,0	5,0	0,30
E5	0	+1	-1	25,0	7,0	0,10
E6	+1	+1	0	35,0	7,0	0,30
E7	+1	0	-1	35,0	5,0	0,10
E8	+1	0	+1	35,0	5,0	0,50
E9	0	0	0	25,0	5,0	0,30
E10	-1	0	-1	15,0	5,0	0,10
E11	0	0	0	25,0	5,0	0,30
E12	-1	0	+1	15,0	5,0	0,50
E13	0	-1	-1	25,0	3,0	0,10
E14	0	-1	+1	25,0	3,0	0,50
E15	-1	-1	0	15,0	3,0	0,30

5.3.4. Medidas de corriente del anodizado electroquímico

Como se mencionó en las secciones anteriores se empleó un amperímetro para realizar las mediciones de la corriente que circula a través del sistema durante el proceso de anodizado. Es ampliamente conocido que los valores de corriente en este proceso experimentan las mayores variaciones en los momentos iniciales. Por este motivo, se registraron los valores cada segundo durante el primer minuto de la reacción y luego cada 30 s hasta el final del proceso electroquímico, con el objetivo de obtener la máxima cantidad de información posible sobre esta variable.

5.3.5. Imágenes digitales

Como se ha mencionado anteriormente, la reproducibilidad de los tratamientos superficiales, en concreto el anodizado electroquímico, es un factor indispensable que debe ser controlado para asegurar la formación de las estructuras deseadas en los recubrimientos. El sistema automatizado desarrollado permite realizar el anodizado electroquímico de forma reproducible ya que, se controlan los principales parámetros que influyen en el mismo. Por otro lado, en el momento de iniciar el tratamiento se debe asegurar que los discos tengan similares características superficiales. Por esta razón, al momento de iniciar la reacción, los discos previamente pulidos se colocan en el SD y se toma una imagen con el MD a partir de la cual es posible observar si el pulido es adecuado y también con la cual se construyen histogramas de frecuencias de niveles de color estándar permitiendo evaluar la condición inicial de cada disco. Para construir los histogramas de frecuencias se utilizó el software Matlab® 2010a (Mathworks Inc.) con la interfaz gratuita "Imagens_gui". Para todas las imágenes, se definió una región de interés (ROI) circular (Figura 5.4), manteniendo un tamaño y coordenadas constantes. Estas ROI se utilizaron a continuación para obtener los histogramas. Además, para obtener un parámetro cuantitativo y poder discretizar si las superficies pulidas del disco son reproducibles, se utilizó el software gratuito Image J® para realizar un estudio de textura de las imágenes, en el que se calculó el valor de entropía de la imagen previamente convertida a escala de grises en la ROI establecida. Se realizó un análisis jerárquico de clusters (AJC) en Matlab® con los valores de entropía superficial de cada disco para determinar la clasificación de los discos. Si a partir del análisis de las imágenes se determina que el pulido del disco no es correcto, se sustituye o se vuelve a pulir. Una vez comprobado que el pulido es correcto, se inicia el anodizado electroquímico como se detalla en la Sección 5.3.2.2. Se graban videos superficiales de los discos durante 100 min mientras transcurre el anodizado. Se utilizó el software Free Video to JPG

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

Converter para procesar los videos y se obtuvo un fotograma por minuto (100 fotogramas por video). A continuación, se realizó el análisis de los datos de imagen con Matlab® del mismo modo que se ha descrito anteriormente para cada fotograma. Además, se empleó el MD para capturar imágenes de cada disco tras concluir la reacción. Estas imágenes se procesaron con el software Image J®, primero convirtiéndolas a escala de grises, luego seleccionando un ROI en cada una y calculando el valor medio del histograma en esta región para obtener un parámetro cuantitativo que facilitó el análisis del estado final de anodización en cada experimento.



Figura 5.4. Imagen de la superficie de un disco colocado en el SD tomada con el MD y el ROI seleccionado.

5.3.5.1. Coeficiente de correlación de Pearson

El grupo de investigación ha estudiado y caracterizado ampliamente la estructura del recubrimiento de óxido producido bajo las condiciones correspondientes al punto central del diseño experimental BBD propuesto (5,0 V, 25,0 °C y 0,30 % m/v HF). Bajo estas condiciones se ha obtenido una nanoestructura específica que le confiere propiedades y características únicas al implante, generando así nuevas oportunidades para la aplicación de fototerapia con radiaciones no invasivas como la radiación NIR [2]. Se calculó el coeficiente de Pearson para cada histograma utilizando Matlab®, tomando como referencia óptima el último fotograma correspondiente al punto central, para determinar la factibilidad de generar la capa de óxido deseada en cada experimento y, de ser así, en qué tiempo se alcanzaría esta condición.

5.4. Resultados y discusión

5.4.1. Control del pulido mecánico

El control preciso del pulido mecánico es crucial a la hora de iniciar un tratamiento superficial. Garantizar unas características superficiales uniformes en cada disco y entre los distintos discos es primordial, ya que mantiene la principal ventaja que ofrece el sistema automatizado: la reproducibilidad del tratamiento. Por lo tanto, a pesar de controlar todos los parámetros que influyen en el anodizado electroquímico, si no se controla cuidadosamente el pulido mecánico, los discos pueden presentar características y propiedades no deseadas derivadas de sus condiciones iniciales. La Figura 5.5(i) muestra imágenes tomadas con el MD de 6 discos pulidos mecánicamente antes del tratamiento electroquímico y un gráfico de superficie 3D coloreado construido a partir de cada imagen (Figura 5.5(ii) e (iii)), y la Figura 5.6 los histogramas de frecuencias construidos a partir de estas imágenes, respectivamente. Como se observa en la Figura 5.5, se puede determinar que los discos *a*, *b* y *d* presentan características similares mientras que el disco *c* tiene una imperfección notoria y los discos *e* y *f* tienen marcas de pulido. Analizando la Figura 5.6, se puede visualizar una distribución similar en los histogramas de los discos *a*, *b* y *d*. Además, la Tabla 5.3 presenta los valores de entropía calculados para cada imagen, mientras que la Figura 5.7 muestra el AJC realizado a partir de los valores de entropía superficial. Este análisis valida las observaciones realizadas en las Figuras 5.5 y 5.6, ya que se puede observar que los discos *a*, *b* y *d* presentan valores similares, mientras que los discos *c*, *e* y *f* muestran diferencias. La Figura 5.7 muestra que los discos *b* y *d* se agrupan en primer lugar, después el *a* y por último el *e*, mientras que los discos *c* y *f* forman otro grupo. Estas agrupaciones confirman lo dicho anteriormente de que los discos *a*, *b* y *d* son similares entre sí. Analizando el AJC, el disco *e* podría ser considerado o no como parte del grupo de discos para anodizar, sin embargo, teniendo en cuenta todas las observaciones se decidió que los discos con un pulido aceptable eran los discos *a*, *b* y *d*, mientras que el disco *c* fue descartado y los discos *e* y *f* fueron pulidos nuevamente.

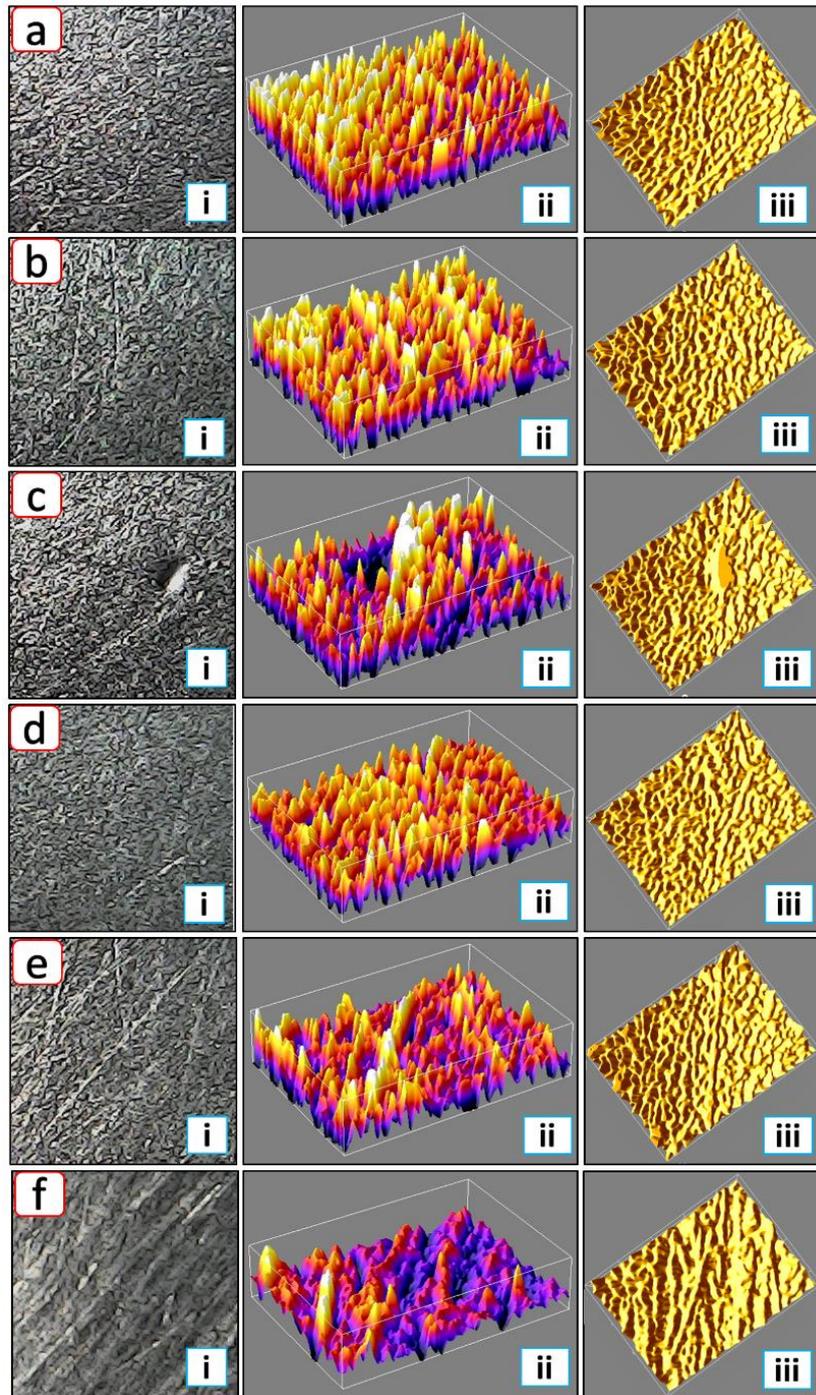


Figura 5.5. Discos pulidos mecánicamente (a-f); i: imágenes superficiales tomadas con el MD y (ii) e (iii): gráficos de superficie 3D coloreados construidos a partir de las imágenes.

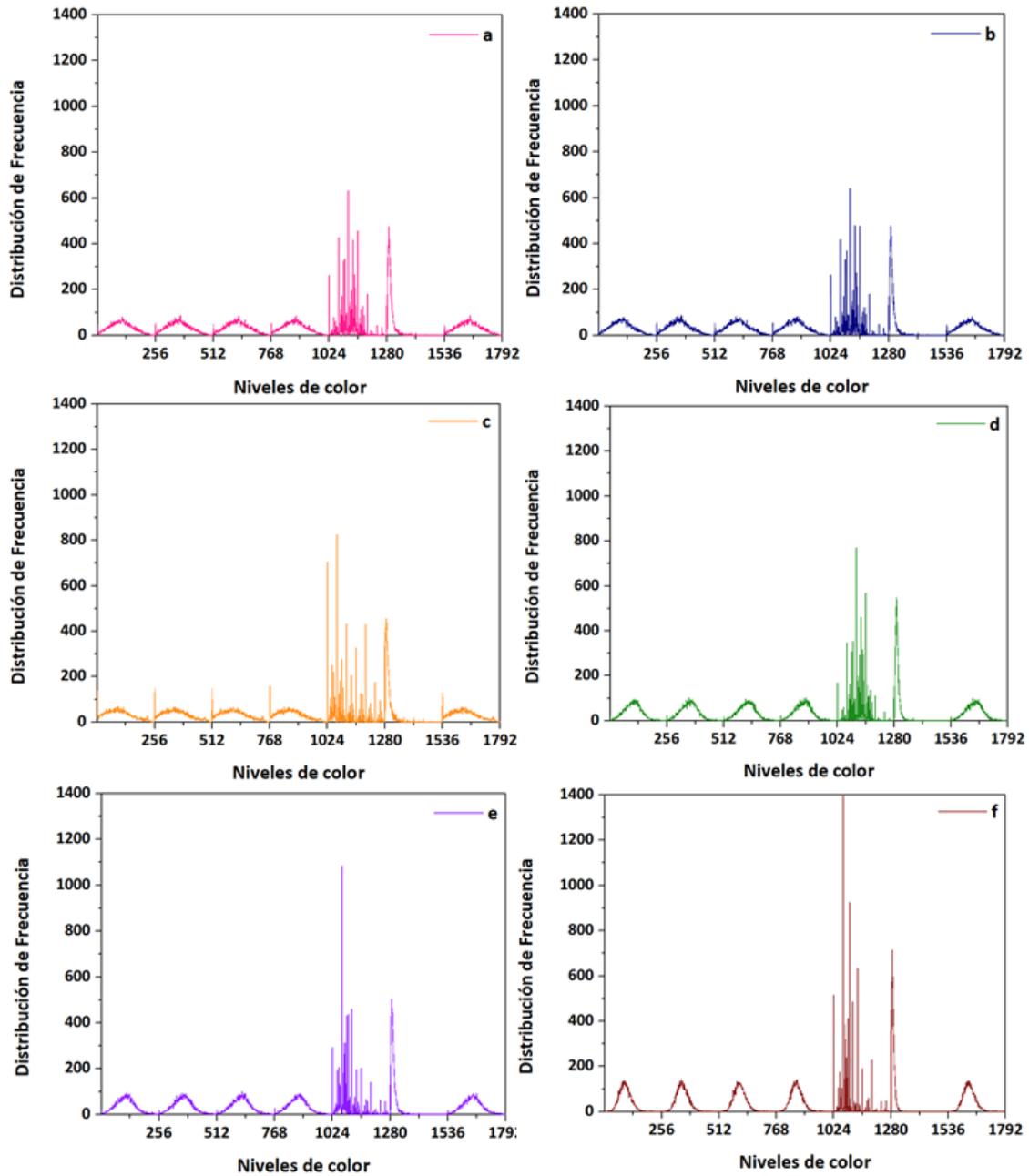


Figura 5.6. Histogramas de frecuencia de los niveles de color de las superficies de los discos pulidos mecánicamente.

Tabla 5.4. Entropía superficial de los discos pulidos mecánicamente.

Disco	Entropía
a	9,255
b	9,202
c	8,023
d	9,162

e	9,512
f	8,649

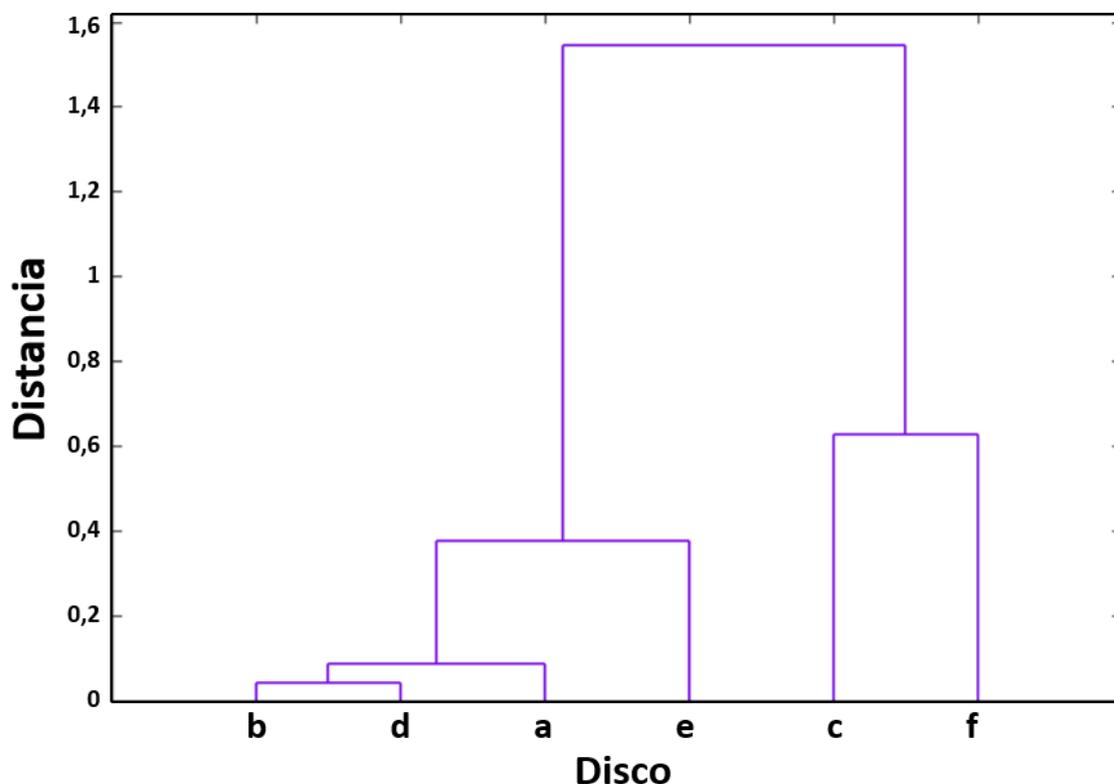


Figura 5.7. Análisis Jerárquico de Clúster de los valores de entropía superficial de los discos pulidos.

5.4.2. Corriente de anodizado electroquímico

Las Figuras 5.8 y 5.9 muestran las curvas de corriente-tiempo de anodizado de los experimentos realizados, donde se observa la curva típica del óxido anódico poroso anodizado a voltaje constante [13-17]. La Figura 5.8 muestra desde el tiempo inicial hasta el final de la reacción a los 6000 s mientras que la Figura 5.9 muestra desde el inicio hasta los 10 s permitiendo apreciar las variaciones iniciales.

En todos los experimentos en los que la concentración de HF fue del 0,30 % o superior, se observó un comportamiento que puede dividirse en tres etapas, la primera, que dura un período de tiempo muy corto, se observa en un decaimiento exponencial de la corriente, una segunda etapa, que consiste en un pequeño aumento de la corriente y una tercera en donde se alcanza un estado cuasi estacionario que se mantiene hasta el final de la reacción. Estas tres etapas han sido explicadas por Regonini et al. [18, 19], quienes sostienen que la conductividad de la capa

de óxido superficial está compuesta por dos componentes: uno electrónico y otro iónico. Por lo tanto, la densidad de corriente resultante a través de la capa de óxido se debe a la contribución de estos dos componentes.

En la primera etapa, al comienzo del tratamiento, se forma una capa de óxido que actúa como una barrera de alta resistencia que genera el decaimiento exponencial de la corriente. A continuación, en la segunda etapa, los iones presentes en la solución se desplazan a través de la capa de óxido generando una formación de poros inducida por los iones F^- que conduce a una disminución de la resistencia de la capa de óxido y, en consecuencia, a un aumento de la corriente. Finalmente, en la tercera etapa se alcanza un equilibrio entre los procesos de formación de la capa de óxido y desintegración de la misma debido a los iones F^- , lo que provoca que la corriente alcance un valor prácticamente constante. Por otro lado, en los experimentos en los que la concentración de HF en el electrolito es del 0,10 %, no se logra detectar la segunda etapa y sólo se observa una primera etapa de decaimiento exponencial de la corriente seguida de la etapa cuasi estacionaria [20, 21].

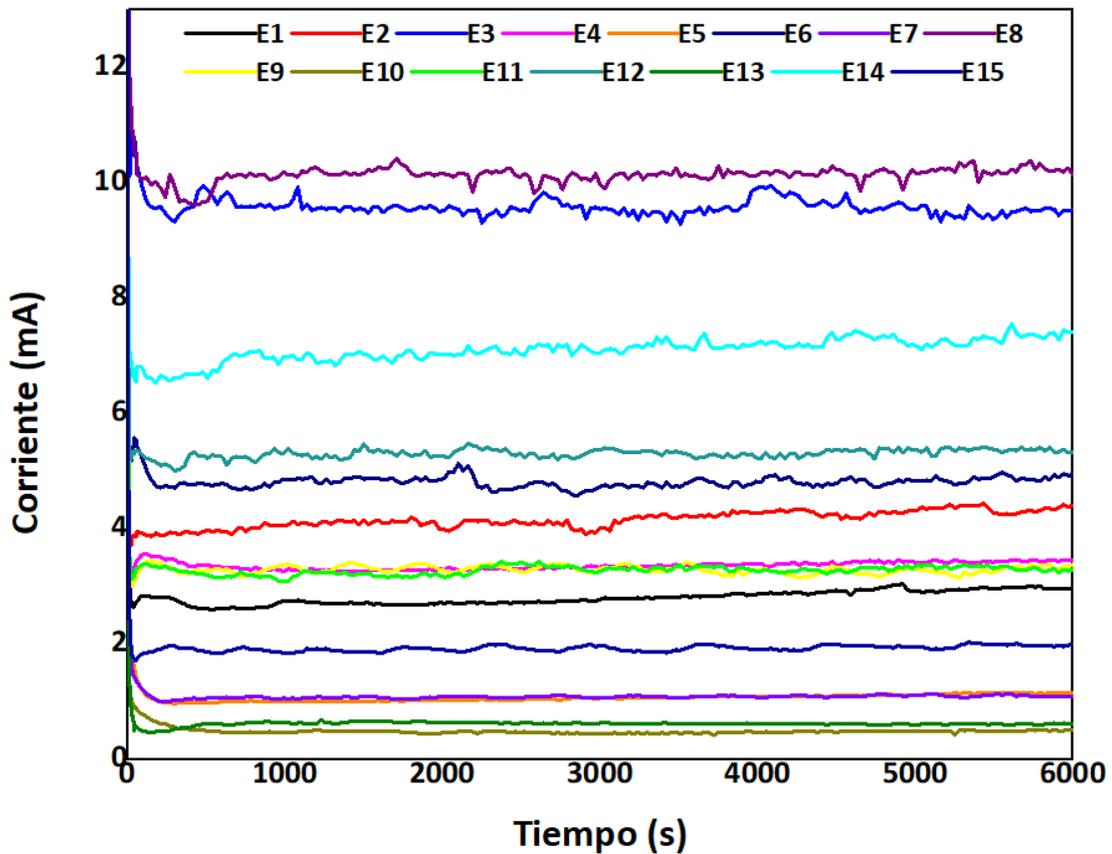


Figura 5.8. Corriente total de anodizado frente al tiempo total. Experimento 1-15 (E1-15).

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

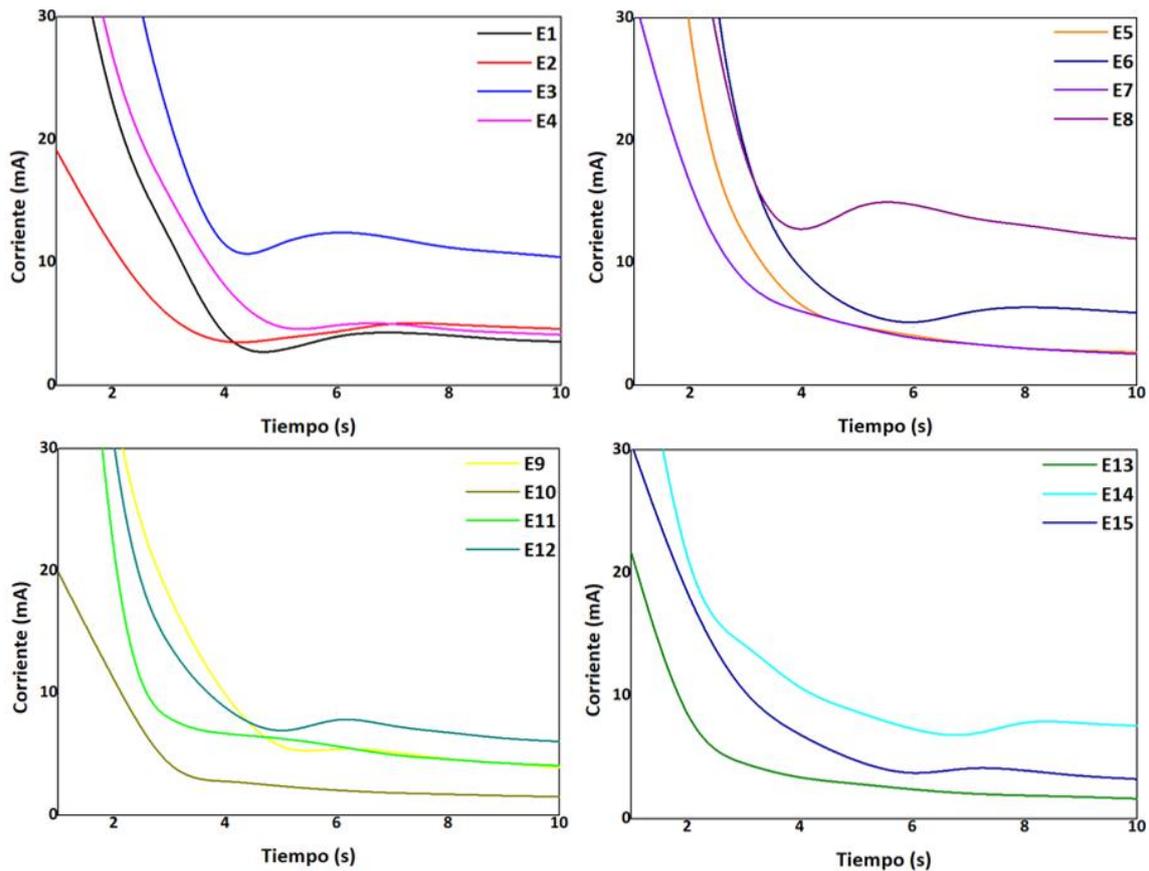


Figura 5.9. Corriente total de anodizado frente al tiempo inicial. Experimento 1-15 (E1-15).

Zhang et al. [13] han demostrado que existe una relación entre la corriente iónica de estado estacionario (corriente predominante) y la longitud de los nanotubos obtenidos (espesor de la capa de óxido), observando que los nanotubos aumentan su longitud a medida que aumenta la corriente. Por lo tanto, se ha utilizado el valor medio de la corriente de estado estacionario como medida relacionada con el espesor de la capa de óxido en cada una de las corridas como variable respuesta del diseño experimental propuesto para analizar el efecto de los parámetros estudiados (voltaje, concentración de HF en el electrolito y temperatura) sobre dicha capa de óxido. En la Tabla 5.4 se muestran los valores medios de la corriente en estado estacionario para cada experimento.

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

Tabla 5.4. Corriente total de anodizado en cada experimento.

Experimento	Corriente (mA)	Experimento	Corriente (mA)	Experimento	Corriente (mA)
1	2,80	6	4,81	11	3,28
2	4,16	7	1,09	12	5,30
3	9,57	8	10,13	13	0,62
4	3,36	9	3,29	14	7,10
5	1,07	10	0,49	15	1,92

Los datos presentados en las Tablas 5.2 y 5.4 se analizaron con el programa estadístico Design Expert versión 10. Empleando un análisis estadístico de la varianza (ANOVA) basado en el BBD, el valor F del modelo obtenido de 202,24 implica que el modelo es significativo y el valor $p < 0,05$ indica que los términos del modelo que son significativos son A , B , C , AC , BC y C^2 . Se utilizó un modelo de ecuaciones polinómicas de segundo orden para identificar el vínculo entre los tres componentes (A , B y C) y la respuesta, como se ilustra en la ecuación siguiente:

$$Y = 3,37 + 1,21 A + 0,56 B + 3,60 C + 1,06 AC + 0,51 BC + 1,05 C^2 \quad (5.1)$$

$$Y = 1,768 - 0,038 A - 0,101 B - 17,217 C + 0,529 AC + 1,263 BC + 26,174 C^2 \quad (5.2)$$

La Ec. (5.1) está en términos de factores codificados y la Ec. (5.2) está en términos de factores reales. En ambas ecuaciones Y representa la corriente y A , B y C representan la temperatura, el voltaje y la concentración de HF respectivamente. Analizando los resultados, se puede determinar que en los experimentos examinados y, en los rangos estudiados, el valor de la corriente de estado cuasi estacionario, y consecuentemente la longitud de los nanotubos formados, se ve afectado principalmente por la concentración de HF en la solución electrolítica, esta variable tiene un gran impacto que se observa en las Ec. (5.1) y (5.2) con una dominancia en los términos de primer y segundo orden. Por otro lado, la temperatura y el voltaje aplicado tienen una influencia significativa en la respuesta, pero menor que la concentración de HF.

Una vez determinado el efecto de cada variable sobre la corriente se realizó una optimización. Para esta optimización se estableció como valor óptimo de corriente de estado cuasi estacionario un valor en el rango comprendido entre 3,28 - 3,36 mA. Esta determinación se basó en trabajos previos, específicamente en el estudio presentado en el Capítulo 3, donde se caracterizó la capa de óxido generada. Se obtuvieron resultados alentadores utilizando una

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

concentración de HF del 0,30 %, una temperatura de 25,0 °C y un voltaje de 5,0 V [2]. Por lo tanto, se buscó obtener una estructura de TiO₂ con estas mismas características. Los valores de corriente de estado cuasi estacionario para estas condiciones fueron 3,28, 3,29 y 3,36 mA para cada una de las tres réplicas, respectivamente. Al mismo tiempo, como criterio de optimización, se estableció que cada uno de los tres factores analizados debía tomar un valor dentro del rango estudiado. Para los criterios establecidos se han encontrado 100 soluciones que los satisfacen con una deseabilidad de 1,0 en todos los casos. Los criterios y las soluciones de la optimización se detallan en las Tablas 5.5 y 5.6.

Tabla 5.5. Criterios de optimización.

Variable	Objetivo	Límite inferior	Límite superior
A: Temperatura (°C)	En rango	15,0	35,0
B: Voltaje (V)	En rango	3,0	7,0
C: HF concentración (%)	En rango	0,10	0,50
Corriente (mA)	En rango	3,28	3,36

Tabla 5.6. Soluciones de la optimización.

Solución	Temperatura (°C)	Voltaje (V)	Concentración HF (%)	Corriente (mA)	Desirabilidad
1	23,4	3,2	0,33	3,28	1,0
2	17,3	3,5	0,39	3,30	1,0
3	15,8	4,5	0,38	3,34	1,0
4	31,1	3,5	0,28	3,35	1,0
5	22,1	4,8	0,32	3,35	1,0
6	17,1	3,9	0,38	3,34	1,0
7	34,4	4,4	0,25	3,30	1,0
8	17,4	6,5	0,33	3,30	1,0
9	20,3	6,8	0,30	3,28	1,0
10	16,1	6,9	0,33	3,35	1,0
11	32,9	3,3	0,27	3,31	1,0
12	21,4	3,4	0,35	3,30	1,0
13	32,3	6,6	0,24	3,34	1,0

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

14	28,4	3,9	0,29	3,34	1,0
15	33,1	4,0	0,26	3,35	1,0
16	24,5	6,8	0,28	3,35	1,0
17	22,1	4,2	0,33	3,35	1,0
18	29,2	6,1	0,26	3,30	1,0
19	32,3	4,3	0,26	3,30	1,0
20	26,5	3,1	0,32	3,35	1,0
21	16,3	6,1	0,35	3,35	1,0
22	19,0	6,5	0,32	3,35	1,0
23	24,8	3,7	0,32	3,34	1,0
24	31,7	5,2	0,26	3,34	1,0
25	32,6	3,7	0,27	3,29	1,0
26	23,7	3,6	0,33	3,36	1,0
27	29,0	5,5	0,27	3,30	1,0
28	17,9	6,8	0,32	3,30	1,0
29	17,0	5,9	0,34	3,29	1,0
30	17,3	3,7	0,39	3,34	1,0
31	21,2	3,9	0,35	3,36	1,0
32	30,2	5,0	0,27	3,35	1,0
33	21,4	6,1	0,30	3,29	1,0
34	32,5	6,6	0,24	3,29	1,0
35	23,4	3,7	0,33	3,28	1,0
36	16,8	6,3	0,33	3,28	1,0
37	21,5	5,1	0,32	3,28	1,0
38	23,2	3,3	0,34	3,28	1,0
39	32,9	3,3	0,27	3,34	1,0
40	32,1	3,3	0,28	3,34	1,0
41	24,0	3,6	0,33	3,30	1,0
42	33,7	4,0	0,26	3,31	1,0
43	18,9	4,3	0,36	3,34	1,0
44	19,0	5,3	0,34	3,35	1,0
45	19,9	6,7	0,31	3,34	1,0
46	28,5	3,4	0,30	3,29	1,0

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

47	29,4	3,7	0,29	3,35	1,0
48	16,2	6,0	0,35	3,34	1,0
49	19,4	6,4	0,31	3,34	1,0
50	18,9	6,4	0,32	3,34	1,0
51	18,0	3,3	0,39	3,29	1,0
52	16,6	4,7	0,37	3,29	1,0
53	15,9	5,0	0,37	3,35	1,0
54	24,0	3,2	0,34	3,35	1,0
55	25,6	3,2	0,32	3,30	1,0
56	29,7	3,1	0,30	3,35	1,0
57	23,9	3,2	0,33	3,31	1,0
58	18,9	6,8	0,31	3,30	1,0
59	27,8	5,2	0,28	3,30	1,0
60	19,7	6,7	0,31	3,34	1,0
61	15,9	6,1	0,35	3,34	1,0
62	25,9	6,8	0,27	3,30	1,0
63	22,8	6,6	0,29	3,35	1,0
64	22,7	6,5	0,29	3,34	1,0
65	19,5	5,2	0,33	3,29	1,0
66	18,7	4,2	0,36	3,34	1,0
67	17,9	3,5	0,38	3,29	1,0
68	24,9	3,6	0,32	3,30	1,0
69	33,1	3,1	0,27	3,30	1,0
70	33,8	4,1	0,26	3,34	1,0
71	31,9	6,5	0,24	3,29	1,0
72	32,6	3,5	0,27	3,36	1,0
73	26,9	6,5	0,26	3,30	1,0
74	33,3	5,6	0,25	3,34	1,0
75	16,0	5,1	0,37	3,30	1,0
76	34,0	4,5	0,25	3,28	1,0
77	22,5	6,9	0,29	3,35	1,0
78	24,8	5,0	0,30	3,35	1,0
79	24,0	6,7	0,28	3,35	1,0

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

80	24,7	5,6	0,29	3,30	1,0
81	30,9	5,2	0,26	3,33	1,0
82	19,4	4,3	0,36	3,36	1,0
83	20,7	5,2	0,32	3,30	1,0
84	33,0	6,8	0,23	3,29	1,0
85	24,3	6,7	0,28	3,34	1,0
86	32,6	4,3	0,26	3,31	1,0
87	17,9	5,2	0,35	3,28	1,0
88	23,0	6,5	0,29	3,28	1,0
89	16,6	5,9	0,34	3,29	1,0
90	22,3	3,3	0,35	3,35	1,0
91	25,8	3,6	0,32	3,34	1,0
92	30,5	3,3	0,29	3,30	1,0
93	32,1	6,4	0,24	3,29	1,0
94	31,0	4,4	0,27	3,29	1,0
95	23,0	4,4	0,32	3,34	1,0
96	24,6	3,1	0,33	3,29	1,0
97	32,7	4,8	0,25	3,29	1,0
98	16,1	6,3	0,34	3,34	1,0
99	16,2	3,5	0,40	3,34	1,0
100	15,6	5,5	0,36	3,34	1,0

5.4.3. Procesamiento de imágenes digitales

Es conocido que el titanio y sus aleaciones se oxidan espontáneamente al estar expuestos al aire, formando una capa muy delgada de TiO_2 en su superficie, con un grosor aproximado de entre 5 y 20 nm [22, 23]. Esta capa es prácticamente transparente. Si esta capa de óxido aumenta su espesor, se produce un cambio en el brillo y color de la aleación, que varían en función del espesor y rugosidad de la capa de óxido superficial [24, 25]. Los colores se generan mediante un fenómeno de interferencia multionda que ocurre entre la luz reflejada por la interfaz aire/óxido y la luz transmitida a través de esta interfaz. Esta luz realiza una o múltiples reflexiones en el interior de la capa de óxido antes de ser transmitida nuevamente a través de la interfaz. La interferencia es destructiva para algunas longitudes de onda de la región visible, lo que provoca la coloración del material. La condición de interferencia destructiva depende de

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

la diferencia de camino óptico entre los haces de luz, que varía con el espesor de la capa de óxido, el índice de refracción del óxido y la dirección de la luz incidente [26]. Como se ha mencionado previamente, la formación de la capa superficial de TiO_2 durante el proceso de anodizado de la aleación Ti-6Al-4V está directamente influenciada por los factores analizados en este capítulo. Estos factores tienen un impacto directo en la generación y las características de la nanoestructura formada. A su vez, su espesor y rugosidad confiere una coloración específica a la aleación. Por ello, además de las mediciones de corriente a lo largo de la reacción, se ha considerado de suma importancia realizar mediciones de la coloración superficial mediante el registro con videos digitales, los cuales son posteriormente discretizados en fotogramas.

Se construyeron histogramas de frecuencias de los distintos espacios de color para analizar la variación de color de cada experimento durante los 100 min de la reacción. Finalmente, se decidió seleccionar el espacio de color Tono, Saturación y Valor (en inglés HSV), ya que son los niveles en los que las variaciones de color son más notables. La Figura 5.10 muestra, a modo de ejemplo, un gráfico 3D que muestra esta evolución para E4 y la Figura 5.11 muestra la tendencia de la evolución de este experimento. Para trazar la tendencia, se obtuvo el valor máximo de frecuencia de cada fotograma en estos niveles seleccionados (HS) y se trazó en función del tiempo ajustando los datos con un polinomio de grado 4.

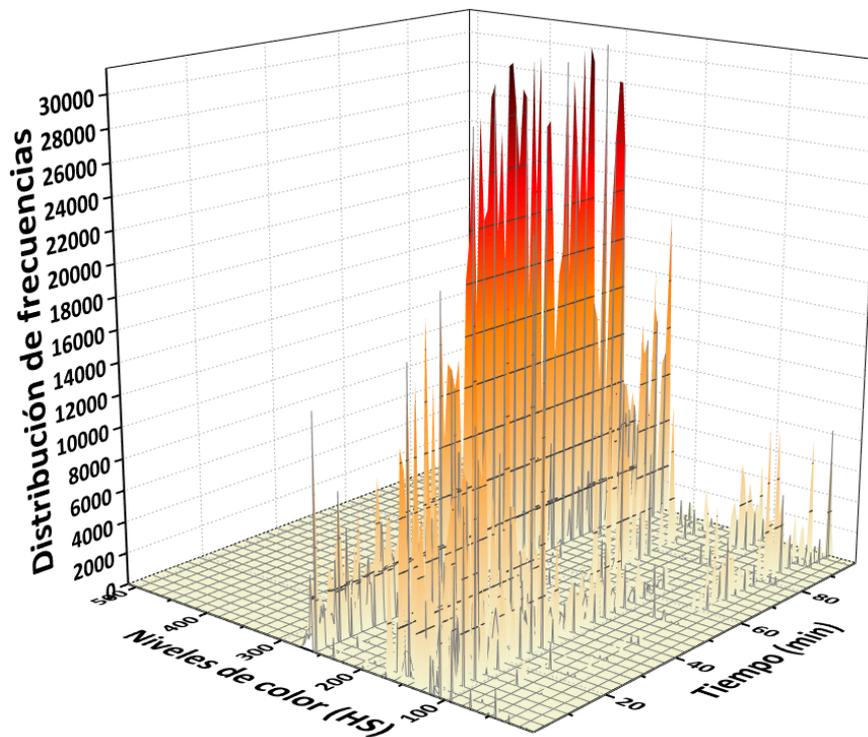


Figura 5.10. Histograma de frecuencias del nivel de color estándar HS para el experimento 4.

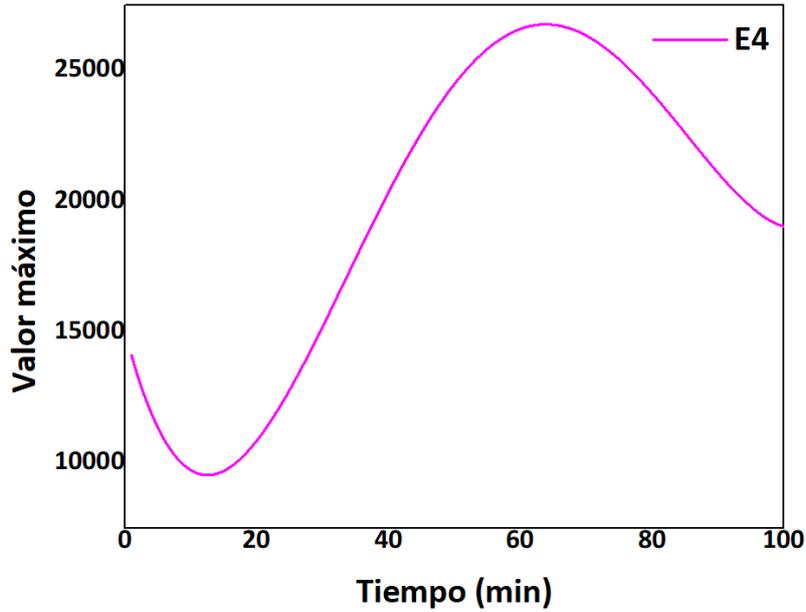


Figura 5.11. Tendencia de la evolución del color en los niveles HS para el experimento 4.

Se puede observar que el tono y la saturación tienen un valor inicial que disminuye hasta alcanzar un mínimo, esto se debe a que inicialmente el disco de Ti-6Al-4V está pulido mecánicamente lo que refleja la iluminación, pero, al comenzar la reacción, se forma una capa de óxido opaco. Después de alcanzar el mínimo, los valores de HS comienzan a aumentar hasta alcanzar sus máximos a los 60 min, para luego disminuir ligeramente hasta el final de la reacción. Este comportamiento puede atribuirse a la formación de la capa de TiO_2 que al principio es delgada y, a medida que se oxida, aumenta su espesor y la formación de la nanoestructura le confiere rugosidad lo que genera un aumento de los valores de tono y saturación.

La coloración superficial, como se ha mencionado, depende de las características, especialmente del espesor y rugosidad de la capa de óxido generada. De esta forma, se pretende obtener información sobre la variación del color de las superficies de los discos a medida que avanza la reacción y tener una idea de lo cerca que se encuentra este parámetro de la condición establecida como óptima [2]. Para obtener esta información se utilizó el coeficiente de Pearson. La Figura 5.12 presenta las curvas del coeficiente de Pearson en función del tiempo de reacción. Se observa que los tres experimentos correspondientes a la condición óptima central (E4, E9 y E11) alcanzan un valor constante y cercano a 1 aproximadamente a los 50 min. Esto sugiere que, a partir de este punto, es probable que la capa de óxido generada no experimente mayores modificaciones. Los experimentos con menor concentración de HF (E5, E7, E10 y E13) a lo largo de toda la reacción presentan valores del coeficiente de Pearson inferiores a 0,6. Como se ha

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

mencionado en los resultados previos, por la baja corriente que circula la capa de óxido generada es muy delgada, presentando una gran diferencia en la coloración con respecto a la condición óptima. En los demás experimentos se puede observar que en cierto tiempo el coeficiente de Pearson toma valores superiores a 0,8, lo que nos da un indicio de que la capa de óxido es similar a la de la condición óptima.

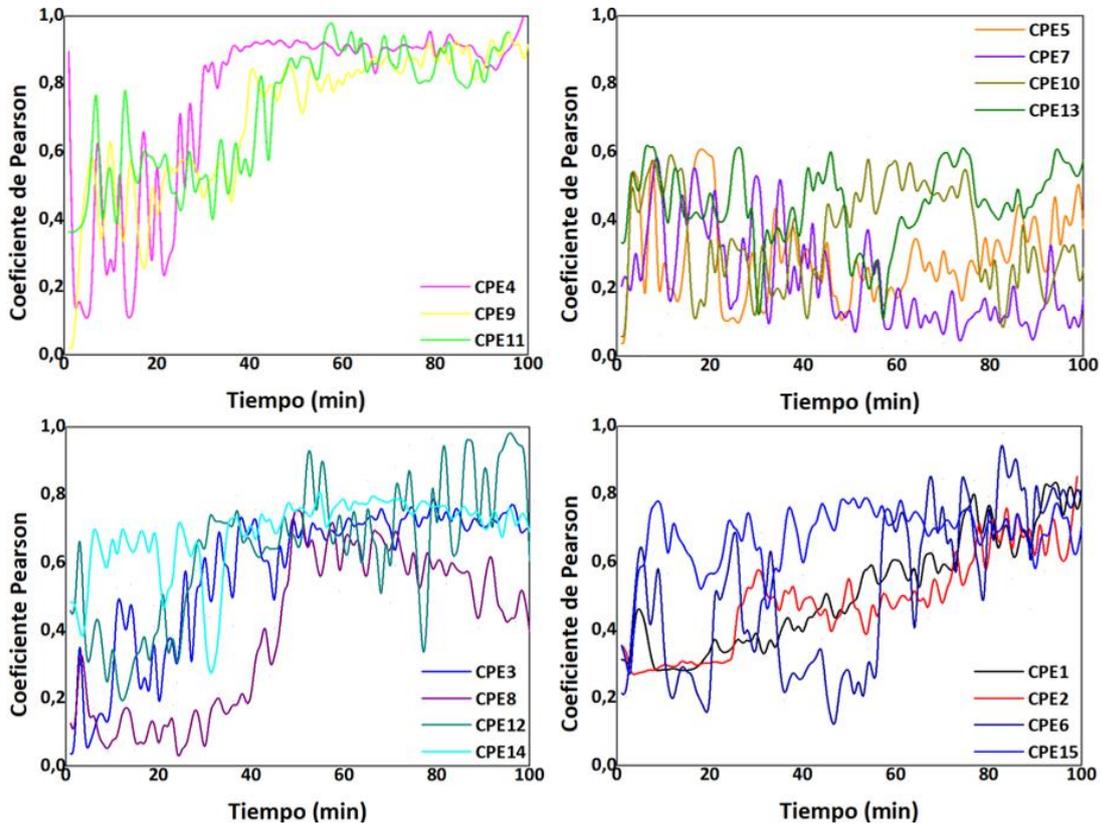


Figura 5.11. Coeficiente de Pearson vs. tiempo para cada experimento.

Por otro lado, en la Figura 5.13 se muestran las imágenes tomadas de cada disco una vez finalizada la reacción, junto con una imagen de un disco que no ha sido anodizado. Se observa que los discos E5, E7, E10 y E13 presentan una coloración diferente a la de los discos de los demás experimentos. Esta diferencia de coloración se debe a que estos discos tienen una alta reflexión de la luz mientras que los otros tienen una superficie opaca. Los discos correspondientes a los cuatro experimentos mencionados presentan una capa de óxido muy fina y prácticamente transparente. Además, la Tabla 5.7 presenta los valores medios del histograma para cada una de las imágenes, se percibe que los discos E4, E9 y E11 (réplicas) presentan valores muy similares entre sí, los discos E1, E2, E3, E6, E8, E12, E14 y E15 tienen valores cercanos a los anteriores y los discos E5, E7, E10 y E13 tienen valores muy diferentes validando lo afirmado anteriormente. Estos resultados concuerdan con los discutidos en la

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

Sección 5.4.2 donde se determinó que la corriente, y consecuentemente la longitud de los nanotubos de TiO₂ generados, se ven afectados principalmente por la concentración de HF en la solución electrolítica y que los experimentos mencionados son aquellos en las que la concentración de HF es la más baja (0,10 %) y por lo tanto corresponden con los menores valores de corriente.

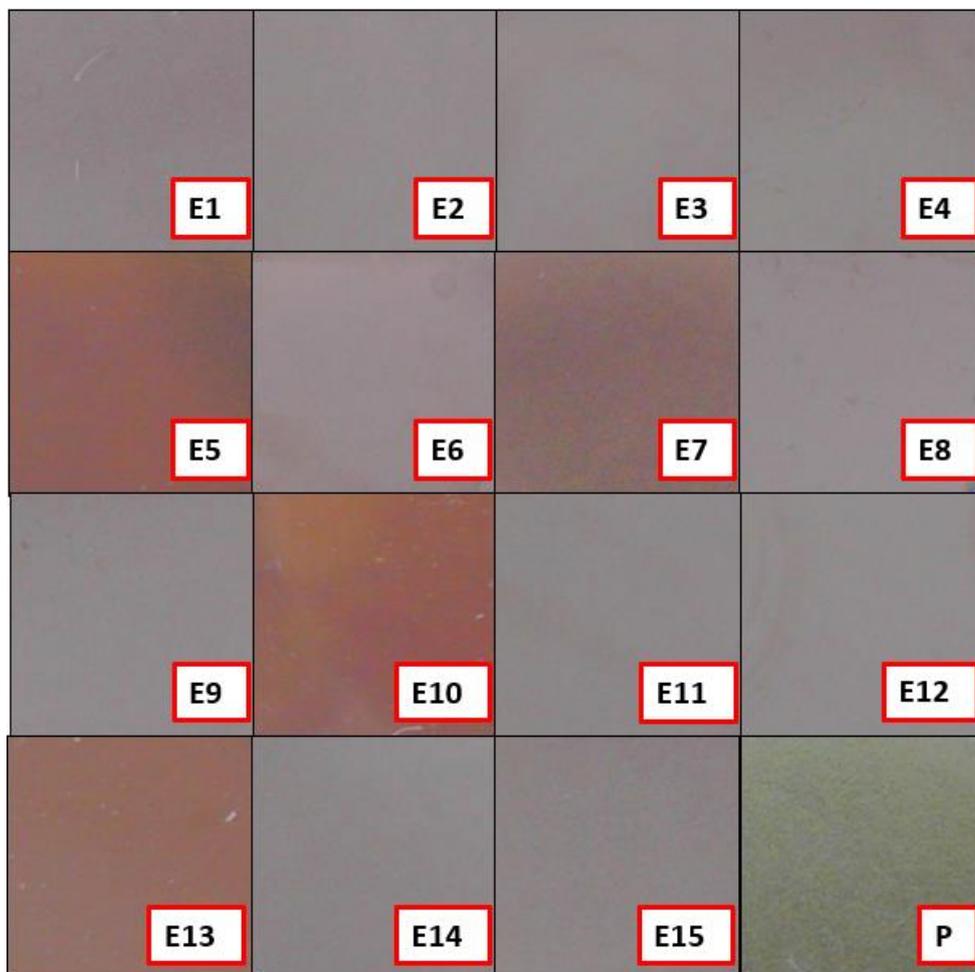


Figura 5.13. (E1 - 15) Imagen superficial de los discos anodizados en todos los experimentos y (P) de un disco pulido sin anodizar.

Tabla 5.7. Valor medio del histograma de los discos anodizados en todos los experimentos.

Experimento	Valor medio	Desvío estándar
E1	134,194	2,005
E2	141,868	1,215
E3	141,0,21	1,630
E4	139,324	1,706
E5	108,819	1,599

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

E6	142,399	1,324
E7	113,132	2,530
E8	143,899	1,551
E9	139,192	1,644
E10	108,040	1,990
E11	138,684	1,387
E12	141,734	1,317
E13	117,023	2,030
E14	135,247	1,589
E15	134,091	1,910

5.5. Conclusiones

En este capítulo se presenta el desarrollo de un sistema automatizado para realizar y analizar el anodizado electroquímico de aleaciones Ti-6Al-4V. El sistema consta de componentes clave: una celda de reacción de polipropileno con una ventana acrílica, un microscopio digital para registrar la reacción, un sistema microcontrolado para el ajuste preciso de la temperatura y un brazo robótico de polipropileno con una varilla de grafito (cátodo) y un soporte para discos de Ti-6Al-4V (ánodo). El brazo realiza movimientos verticales y giratorios para colocar con precisión los electrodos, controlados por un motor paso a paso y un servomotor respectivamente, que garantizan la precisión mediante finales de carrera ópticos. Además, el sistema cuenta con iluminación controlada por un arreglo de LED acoplado al microscopio, está alimentado por una fuente de voltaje variable y dispone de un amperímetro para medir la corriente que circula. Tras una cuidadosa optimización de los factores más importantes del proceso, como la concentración de HF en la solución electrolítica/temperatura/voltaje aplicado, y analizando las medidas de la corriente circulante y las imágenes de la superficie a lo largo del proceso, se confirmó que los tres factores afectan a la formación de la capa de óxido superficial y que el más significativo es la concentración de HF en el electrolito. Como se observa en la Figura 5.14, el prototipo permite la detección de imágenes para controlar el pulido mecánico y la detección dual (eléctrica/imágenes) para el proceso de anodizado electroquímico de aleaciones Ti-6Al-4V. Mediante el control de importantes factores de anodización, se obtienen capas de óxido de mayor calidad con superficies homogéneas, mejorando también la reproducibilidad del proceso. De esta forma, es posible obtener nanoestructuras específicas como las desarrolladas y

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

estudiadas en los capítulos previos [2], como un recubrimiento biomórfico nanoporoso de TiO_2 sobre la aleación Ti-6Al-4V con propiedades de reflectancia NIR e hidrofóbicas. Este sistema representa un gran avance en la aplicación de esta técnica de modificación superficial proporcionando mejoras en estos biomateriales. El prototipo automatizado propuesto presenta las tendencias de los equipos modernos, que se centran en la simplificación y la miniaturización, y está totalmente controlado por un microcontrolador.

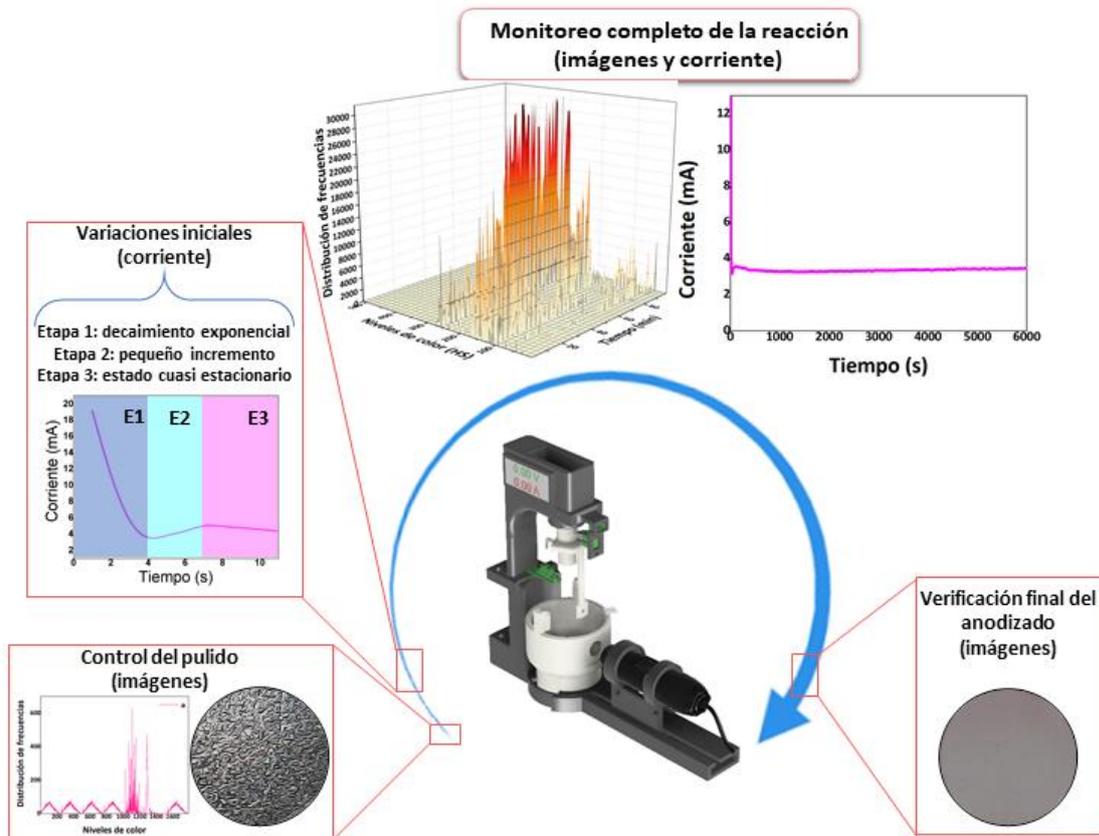


Figura 5.14. Prototipo automatizado.

5.6. Bibliografía

- [1] Zaraska, L., Gawlak, K., Gurgul, M., Gilek, D., Kozieł, M., Socha, R. P. y Sulka, G. D. (2019). Morphology of nanoporous anodic films formed on tin during anodic oxidation in less commonly used acidic and alkaline electrolytes. *Surface and Coatings Technology*, 362, 191-199.
- [2] Belén, F., Gravina, A. N., Pistonesi, M. F., Ruso, J. M., García, N. A., Prado, F. D. y Messina, P. V. (2022). NIR-Reflective and hydrophobic bio-inspired nano-holed configurations on titanium alloy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(4), 5843-5855.
- [3] Parcharoen, Y., Kajitvichyanukul, P., Sirivisoot, S. y Termsuksawad, P. (2014). Hydroxyapatite electrodeposition on anodized titanium nanotubes for orthopedic applications. *Applied Surface Science*, 311, 54-61.
- [4] Ying, C., Hai-Chang, J., Li-Jian, R., Li, X. y Xin-Qing, Z. (2011). Mechanical behavior in NiTiNb shape memory alloys with low Nb content. *Intermetallics*, 19(2), 217-220.
- [5] Song, H. J., Kim, M. K., Jung, G. C., Vang, M. S. y Park, Y. J. (2007). The effects of spark anodizing treatment of pure titanium metals and titanium alloys on corrosion characteristics. *Surface and Coatings Technology*, 201(21), 8738-8745.
- [6] Yang, B., Uchida, M., Kim, H. M., Zhang, X. y Kokubo, T. (2004). Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. *Biomaterials*, 25(6), 1003-1010.
- [7] Diamanti, M. V. y Pedferri, M. P. (2007). Effect of anodic oxidation parameters on the titanium oxides formation. *Corrosion Science*, 49(2), 939-948.
- [8] Wang, X. X., Yan, W., Hayakawa, S., Tsuru, K. y Osaka, A. (2003). Apatite deposition on thermally and anodically oxidized titanium surfaces in a simulated body fluid. *Biomaterials*, 24(25), 4631-4637.
- [9] Leinenbach, C. y Eifler, D. (2009). Influence of oxidation treatment on fatigue and fatigue-induced damage of commercially pure titanium" *Acta Biomaterialia*, 5(7), 2810-2819.
- [10] Diamanti, M. V., Pozzi, P., Randone, F., Del Curto, B. y Pedferri, M. (2016). Robust anodic colouring of titanium: Effect of electrolyte and colour durability. *Materials & Design*, 90, 1085-1091.

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

- [11] Delplancke, J. L., Degrez, M., Fontana, A. y Winand, R. (1982). Self-colour anodizing of titanium. *Surface Technology*, 16(2), 153-162.
- [12] Gravina, A. N., Rubert, A. A., Bertuola, M. y de Mele, M. F. L. (2019). Bioactivity enhancement of cerium-containing titanium oxide nanotubes. Relationship between surface reactivity and nanostructuring process. *Surface and Coatings Technology*, 378, 124968.
- [13] Zhang, Y., Fan, H., Ding, X., Yan, Q., Wang, L. y Ma, W. (2015). Simulation of anodizing current-time curves and morphology evolution of TiO₂ nanotubes anodized in electrolytes with different NH₄F concentrations. *Electrochimica Acta*, 176, 1083-1091.
- [14] Lee, W. y Park, S. J. (2014). Porous anodic aluminum oxide: Anodization and templated synthesis of functional nanostructures. *Chemical Reviews*, 114(15), 7487-7556.
- [15] Roy, P., Berger, S. y Schmuki, P. (2011). TiO₂ nanotubes: Synthesis and applications. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(13), 2904-2939.
- [16] Zhu, X. F., Song, Y., Liu, L., Wang, C. Y., Zheng, J., Jia, H. B. y Wang, X. L. (2009). Electronic currents and the formation of nanopores in porous anodic alumina. *Nanotechnology*, 20(47), 475303.
- [17] Zhu, X.F., Han, H., Song, Y., Ma, H.T., Qi, W.X., Lu, C. y Xu, C. (2012). Forming efficiency of porous anodic oxide and formation mechanism of nanopores. *Acta Physica Sinica*, 61(22), 228202.
- [18] Regonini, D., Bowen, C. R., Jaroenworarluck, A. y Stevens, R. (2013). A review of growth mechanism, structure and crystallinity of anodized TiO₂ nanotubes. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 74(12), 377-406.
- [19] Regonini, D., Satka, A., Allsopp, D. W. E., Jaroenworarluck, A., Stevens, R. y Bowen, C. R. (2009). Anodised titania nanotubes prepared in a glycerol/NaF electrolyte. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 9(7), 4410-4416.
- [20] Zhang, S. Y., Yu, D. L., Li, D. D., Song, Y., Che, J. F., You, S. Y. y Zhu, X. F. (2014). Forming process of anodic TiO₂ nanotubes under a preformed compact surface layer. *Journal of The Electrochemical Society*, 161(10), E135-E141.

Capítulo 5: Sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico

- [21] Chong, B., Yu, D., Jin, R., Wang, Y., Li, D., Song, Y., Gao, M. Q. y Zhu, X. (2015). Theoretical derivation of anodizing current and comparison between fitted curves and measured curves under different conditions. *Nanotechnology*, 26(14), 145603.
- [22] Wang, R. R. y Fenton, A. (1996). Titanium for prosthodontic applications: a review of the literature. *Quintessence International*, 27(6), 401-408.
- [23] Nakajima, H. y Okabe, T. (1996). Titanium in dentistry development and research in the USA. *Dental Materials Journal*, 15(2), 77-90.
- [24] Stavenga, D. G. (2014). Thin film and multilayer optics cause structural colors of many insects and birds. *Materials Today: Proceedings*, 1, 109-121.
- [25] Wang, T., Wang, L., Lu, Q. y Fan, Z. (2019). Changes in the esthetic, physical, and biological properties of a titanium alloy abutment treated by anodic oxidation. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 121(1), 156-165.
- [26] Charrière, R., Lacaille, G., Pedefferri, M. P., Faucheu, J. y Delafosse, D. (2015). Characterization of the gonioapparent character of colored anodized titanium surfaces. *Color Research & Application*, 40(5), 483-490.

Capítulo 6

Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

6.1. Introducción

A lo largo de esta tesis se ha resaltado la amplia cantidad de aplicaciones médicas de los biomateriales metálicos, en particular del titanio y aleaciones a base de titanio como el Ti-6Al-4V, tales como en implantes dentales y ortopédicos [1-5]. También se ha destacado la posibilidad de mejorar las propiedades de estos materiales mediante diversas técnicas de modificación superficial. Además, se ha abordado la importancia de la respuesta biológica a los implantes ortopédicos metálicos para garantizar su rendimiento clínico. En este contexto, la biointegración y la liberación de residuos se destacan como dos desafíos cruciales que requieren ser abordados. La exposición de los implantes metálicos a los fluidos corporales altamente agresivos induce procesos de corrosión que afectan negativamente a la biocompatibilidad y la integridad mecánica de las prótesis. Las aleaciones de titanio, como se ha mencionado, presentan una elevada resistencia a la corrosión debido a la capa protectora de óxido que se forma espontáneamente en sus superficies [6 - 10]. La estructura y el espesor de esta capa de óxido dependen de la composición de los implantes de titanio, de su microestructura y del tiempo de implantación [11, 12]. Se compone principalmente del TiO_2 , termodinámicamente estable, que contiene pequeñas cantidades de subóxidos como óxido de titanio (TiO) y trióxido de dititanio (Ti_2O_3), así como elementos de aleación oxidados [7, 13 - 15]. La aleación de Ti-6Al-4V, como vimos en capítulos previos, presenta el inconveniente de una baja resistencia al desgaste, pudiendo sufrir corrosión electroquímica que reduce su integridad estructural y la liberación de productos de degradación, potencialmente tóxicos para el tejido huésped [16]. Los iones de aluminio y vanadio liberados de los implantes en el entorno biológico circundante, así como en los órganos, pueden ocasionar problemas de salud a largo plazo, como neuropatía periférica, osteomalacia y enfermedad de Alzheimer [17, 18]. Por lo tanto, resulta fundamental cuantificar su presencia.

Para la cuantificación de los elementos metálicos liberados de los implantes ortopédicos, como el CP-Ti y sus aleaciones, en un fluido biológico simulado, se utilizan con frecuencia técnicas como la espectrometría de absorción atómica (AAS), la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y la espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). Sin embargo, tienen un costo elevado y requieren un tratamiento complejo de la muestra [19 - 21].

Los polifenoles (catequina, quercetina, rutina y morina, entre otros) se han identificado desde hace tiempo como potenciales agentes quelantes de metales debido a su gran afinidad. La quercetina en particular es un flavonoide que se ha utilizado en la formación de complejos con

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

iones de aluminio y vanadio provocando un desplazamiento batocrómico hacia las longitudes de onda visibles, lo que lo convierte en un polifenol con potencial para la determinación simultánea de ambos metales [22, 23]. En base a una búsqueda bibliográfica, no se han encontrado procedimientos sencillos, eficaces, libres de pretratamiento y de bajo costo para la detección simultánea de aluminio y vanadio, debido a la competencia entre metales por el ligando y a su interacción con los medios biológicos.

Por otro lado, la bibliografía indica que se han utilizado técnicas de selección de variables para mejorar la capacidad de predicción de los métodos espectroscópicos de calibración. La tendencia en química analítica a buscar procesar datos espectroscópicos de alta dimensión continúa representando un desafío considerable para desarrollar modelos de calibración multivariante robustos y parsimoniosos. En la literatura, se pueden encontrar varios métodos de calibración multivariante. En este contexto, el algoritmo de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS, por sus siglas en inglés) ha sido ampliamente utilizado en el análisis de conjuntos de datos de alta dimensión, como los datos espectroscópicos, y ha logrado resultados satisfactorios en diversas aplicaciones [24 - 29].

6.2. Objetivo

El desarrollo de un método que permita la cuantificación simultánea de aluminio y vanadio en matrices biológicas complejas se considera un reto y es el objetivo de este capítulo. Se presenta una metodología que combina, de forma conjunta, la espectroscopía UV-VIS mediante la formación de complejos metal-quercetina y el procesamiento de datos con diferentes herramientas quimiométricas, incluyendo PLS, Algoritmo de Proyecciones Sucesivas por intervalos acoplado a Mínimos Cuadrados Parciales (iSPA-PLS) y Resolución de Curvas Multivariantes - Mínimos Cuadrados Alternos (MCR-ALS).

6.3. Experimental

6.3.1. Reactivos y materiales

Todos los reactivos utilizados en este estudio fueron de grado analítico y las soluciones fueron preparadas diariamente utilizando agua MQ ($18,3 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). Las soluciones patrón de aluminio (III) y vanadio (III) ($50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) se prepararon disolviendo una cantidad adecuada de cloruro de aluminio (AlCl_3 , Merck) y cloruro de vanadio (VCl_3 , Sigma - Aldrich) en solución de Hank (HS) [30] para simular el fluido corporal. Se utilizó quercetina (Sigma - Aldrich) para obtener una solución

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

madre ($800,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) en metanol (MeOH, 70,0 %, Aberkon Química) y por dilución de ésta se preparó la solución estándar de quercetina ($400,0 \mu\text{g mL}^{-1}$). Como medio de reacción se utilizó una proporción 4:1 de una mezcla entre una solución tampón de acetato de sodio ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, 1,0M, Anedra)/ácido acético (CH_3COOH , 1,0M, Mallinckrodt) de pH 4,0 y una solución de cloruro de sodio (NaCl) / fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4) (0,86M, Biopack / 0,005M, Cicarelli). Las láminas Ti-6Al-4V (1000 μm de espesor, Ti 89,754 %, Al 6,01 %, V 4,06 %, C 0,01 %, N <0,01 %, O 0,08 %, Fe 0,04 %, H 0,006 % y otros <0,04 %) fueron adquiridas a Roberto Cordes S.A. Estas láminas fueron cortadas en discos de 1 mm de espesor y 10 mm de diámetro y posteriormente sometidas a un tratamiento de anodizado electroquímico para obtener los discos de α -Ti-6Al-4V [31].

6.3.2. Preparación de testigos y muestras

Teniendo en cuenta las concentraciones (0 - 0,30 ppm) comunicadas por Lori et al. [32], se empleó el programa estadístico Design Expert versión 10 (Stat-Ease Inc., EE.UU.) para realizar un diseño de experimento y determinar las concentraciones de cada metal en las mezclas. Se realizó un diseño categórico multinivel con dos factores (concentración de aluminio y concentración de vanadio) y cinco niveles para cada factor (0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50 y 2,00 ppm). Basándose en el diseño, se realizaron treinta y seis ensayos.

Para la preparación de los testigos, se añadió un volumen de 2000 μL de la solución reguladora de ácido acético/acetato de sodio, a continuación, se adicionaron 500 μL de solución para controlar la fuerza iónica (NaCl/ NaH_2PO_4). Luego se añadieron alícuotas de las soluciones patrón de aluminio (III) y vanadio (III), obteniéndose un conjunto de soluciones, con diferente concentración de cada metal. Posteriormente, se añadieron 90 μL de la solución patrón de quercetina y se llevó a un volumen final de 3000 μL con agua MQ. Por último, se realizaron espectros de absorción molecular en el intervalo de 330 a 550 nm utilizando un espectrofotómetro de absorción molecular ultravioleta-visible Agilent, modelo Cary 50, una cubeta de cuarzo de 1 cm. Todas las mediciones se realizaron a TA ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$). Los registros se hicieron por triplicado y se emplearon en la construcción de modelos quimiométricos.

Se empleó Ti-6Al-4V comercial de grado quirúrgico para aplicar el nuevo método de detección de residuos de aluminio y vanadio en HS. Los discos de α -Ti-6Al-4V se sumergieron en 20 mL de HS y se tomó una alícuota de 100 μL de la solución después de 12 semanas. Este procedimiento se basó en los resultados obtenidos por Lori et al. [24] para determinar los residuos de aluminio y vanadio liberados, utilizando el método previamente descrito. El mismo procedimiento se llevó

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

a cabo para un disco sin tratamiento (Ti-6Al-4V, control). Por otro lado, para validar los resultados obtenidos por el método desarrollado se realizaron medidas de los residuos de ambos metales liberados en el HS mediante un espectrómetro de emisión óptica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, ICPE-9000, Japón), utilizando las longitudes de onda de 396,153 nm y 290,880 nm para determinar aluminio y vanadio, respectivamente, y tres réplicas para cada metal. El ICP-OES está equipado con un nebulizador coaxial para la introducción de la muestra y una cámara ciclónica. La potencia de radiofrecuencia operativa es de 1,2 kW, y los caudales de gas plasma, gas auxiliar y gas portador son de 10 L min⁻¹; 0,6 L min⁻¹ y 0,7 L min⁻¹ respectivamente.

6.3.3. Procedimiento quimiométrico

Preprocesamiento de datos

Dado que los espectros UV-VIS presentaban variaciones sistemáticas en la línea de base, se aplicaron distintos métodos de preprocesamiento para superar estos inconvenientes: corrección del desplazamiento de la línea de base (OFF) y primera derivada de Savitzky-Golay con polinomio de segundo orden y ventana de 15 puntos (SGD).

Algoritmos de primer orden

Para la construcción de los modelos de calibración destinados a cuantificar el contenido de aluminio y vanadio, se seleccionaron 25 testigos para el conjunto de calibración y 8 para el conjunto de predicción, empleando el algoritmo SPXY (partición del conjunto de muestras basada en las distancias x-y conjuntas). Los modelos se desarrollaron utilizando únicamente al conjunto de calibración, y la validación del modelo se realizó mediante una validación cruzada completa utilizando el método leave-one-out. El conjunto de predicción se utilizó exclusivamente para evaluar la capacidad predictiva de los modelos resultantes. A continuación, se centró la media de los datos y se construyeron modelos multivariados mediante el algoritmo PLS. Este algoritmo se aplicó tanto a espectros completos como a intervalos seleccionados de variables específicas basadas en el método iSPA-PLS.

El algoritmo MCR-ALS también se empleó para estimar la concentración de aluminio y vanadio. En este contexto, las matrices se aumentaron por columnas, con los primeros 25 espectros designados para las muestras de calibración y los últimos 8 espectros correspondientes a las muestras de predicción. Antes de aplicar el algoritmo, los espectros puros de aluminio, vanadio

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

y quercetina se sometieron a procesos de preprocesamiento y normalización para facilitar su uso en la fase inicial de estimación del modelo MCR-ALS.

La determinación del número de componentes principales en cada modelo se llevó a cabo mediante descomposición de valor singular (SVD). Las matrices que contenían los espectros puros de aluminio, vanadio y quercetina se incorporaron como estimaciones iniciales. Los modelos MCR-ALS, que abarcan tanto las matrices de datos sin procesar como aquellas con corrección de la línea de base mediante desplazamiento, se optimizaron utilizando restricciones de no negatividad y correlación en el modo de concentración, así como de no negatividad en el modo espectral. Para los datos derivados, sólo se optimizó el modo de concentración, con restricciones de no negatividad y correlación.

En todos los modelos, el criterio de convergencia adoptado se fijó en 0,1, y el número máximo de iteraciones en 5000. Como paso final de la evaluación, los perfiles recuperados por MCR-ALS se compararon en términos de correlación con los perfiles puros utilizados en la fase inicial de estimación.

Para evaluar la calidad del modelo se utilizaron varios parámetros, como el error cuadrático medio de validación cruzada (RMSECV), el error cuadrático medio de predicción (RMSEP), el coeficiente de corrección de validación cruzada (r_{cv}), el coeficiente de predicción (r_{pred}), la relación entre el rendimiento y la desviación de la predicción (RPD), el límite de cuantificación (LOQ), el límite de detección (LOD), el error relativo de predicción (REP) y la región elíptica de confianza conjunta (EJCR). El cálculo de estas métricas siguió las Ec. (6.1) a (6.9).

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{n_{cv}} - \frac{\sum_{i=1}^{n_{cv}} (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=1}^{n_{cv}} (y_i - \bar{y}_i)^2}} \quad (6.1)$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{n_p} - \frac{\sum_{j=1}^{n_p} (\hat{y}_j - y_j)^2}{\sum_{j=1}^{n_p} (y_j - \bar{y}_j)^2}} \quad (6.2)$$

$$r_{cv} = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=1}^{n_{cv}} (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=1}^{n_{cv}} (y_i - \bar{y}_i)^2}} \quad (6.3)$$

$$r_{pred} = \sqrt{1 - \frac{\sum_{j=1}^{n_p} (\hat{y}_j - y_j)^2}{\sum_{j=1}^{n_p} (y_j - \bar{y}_j)^2}} \quad (6.4)$$

$$RPD_{pred} = \frac{Sd_{pred}}{RMSEP} \quad (6.5)$$

$$LoQ = 10 \times Sd \quad (6.6)$$

$$LoD = 3.3 \times Sd \quad (6.7)$$

$$REP = \left(\frac{RMSEP}{\frac{1}{n_p} \sum_{i=1}^{n_p} y_i} \right) \times 100 \quad (6.8)$$

$$EJCR = n_p(y - b)^2 + 2(x - a)(y - b) \sum_{n=1}^{n_p} c_{nx} + (x - a)^2 \sum_{n=1}^{n_p} c_{nx} = 2S_{y/x}^2 F_{\alpha, n_p - 2} \quad (6.9)$$

En donde n_{cv} y n_p representan el número de muestras que componen los conjuntos de calibración y predicción, respectivamente, \hat{y}_i e \hat{y}_j son los valores predichos por el modelo, mientras que \bar{y}_i e \bar{y}_j representan los valores de referencia. Sd y Sd_{pred} corresponden a las desviaciones estándar de las predicciones para las muestras de los conjuntos de validación cruzada y predicción, respectivamente. "a" y "b" son los valores estimados para la pendiente y el intercepto de la regresión de las concentraciones predichas frente a las concentraciones nominales del analito. c_{nx} es la concentración de la muestra n-ésima utilizada como referencia y situada en el eje x del análisis de regresión $S_{y/x}^2$ es la varianza residual, F es el valor crítico, α representa el nivel de confianza y $n_p - 2$ corresponde a los grados de libertad. Todos los procedimientos quimiométricos se llevaron a cabo utilizando el software Matlab. Los algoritmos para la partición del conjunto de datos (SPXY) y la construcción de los modelos de regresión PLS e iSPA-PLS se desarrollaron internamente en el laboratorio.

6.4. Resultados y discusión

6.4.1. Efecto del pH y procedimientos de pretratamiento

Para evaluar el efecto del pH en la reacción, se realizaron estudios con varios valores de pH utilizando diferentes soluciones tampón. A valores de pH superiores a 5,0 se observó un precipitado de aluminio (III) en el medio y a valores de pH iguales o inferiores a 3,0 no fue posible la formación del complejo vanadio-quercetina. Por lo mencionado, se decidió utilizar una solución tampón de ácido acético/acetato sódico a pH 4,0.

En la Figura 6.1 se representan los espectros de todas las muestras en el intervalo de 330 a 550 nm. En la Figura 6.1a, la línea roja representa el espectro medio de la solución de quercetina antes de formar el complejo con aluminio y vanadio; las líneas verde y azul representan, respectivamente, los espectros medios de los complejos de quercetina-aluminio y quercetina-vanadio puros por separado. Las líneas negras, a su vez, indican las mezclas de los complejos aluminio-quercetina y vanadio-quercetina. Es posible observar una reducción significativa de la intensidad de la banda asociada a la quercetina a 364 nm, resultado de la disminución de la

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

concentración de quercetina libre en la solución. Además, en la Figura 6.1a se aprecia la aparición de una banda correspondiente a los complejos de aluminio y vanadio entre 400 y 550 nm. Los espectros sin preprocesar mostrados en la Figura 6.1a exhiben una leve desviación sistemática con respecto a la línea de base. Para corregir estas desviaciones, se realizaron correcciones a la línea de base y se aplicó la técnica de suavizado de la primera derivada de Savitzky-Golay, utilizando un polinomio de segundo orden y una ventana de 15 puntos, tal como se ilustra en las Figuras 6.1b y c.

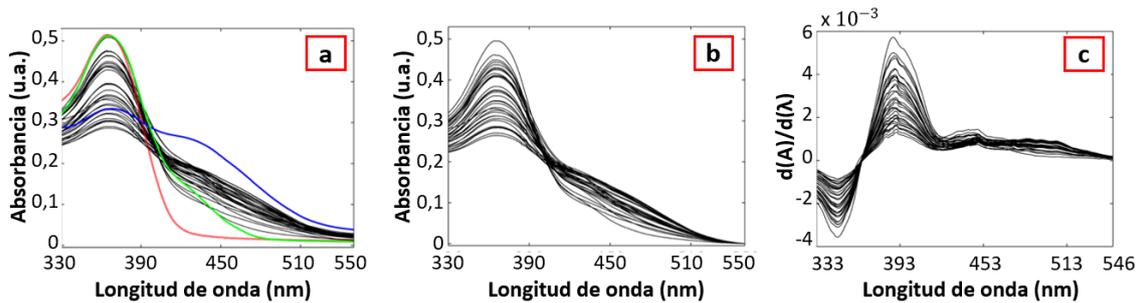


Figura 6.1. Espectros UV-VIS de las muestras. (a) Espectro sin procesar con el perfil espectral de la quercetina no acomplexada representado por la línea roja, la línea verde aluminio-quercetina y la línea azul vanadio-quercetina. Espectro preprocesado con (b) corrección de la línea de base y (c) filtro derivado de Savitzsky-Golay con polinomio de segundo orden y ventana de 15 puntos.

6.4.2. Determinación de la concentración de aluminio y vanadio

Los espectros, tanto sin preprocesar como preprocesados, se utilizaron para desarrollar modelos de regresión PLS, *i*SPA-PLS y MCR-ALS con el fin de determinar las concentraciones de aluminio y vanadio. Como se muestra en la Figura 6.1, las bandas espectrales de los complejos quercetina-aluminio y quercetina-vanadio presentan un gran solapamiento, lo que impide su determinación simultánea sin el uso de algoritmos quimiométricos. Los resultados obtenidos mediante los algoritmos PLS e *i*SPA-PLS se presentan en la Tabla 6.1.

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

Tabla 6.5. Resumen de los resultados obtenidos por los algoritmos PLS para la cuantificación de aluminio y vanadio.

Preprocesamiento	Algoritmo	Intervalos seleccionados	RMSECV (ppm)	RMSEP (ppm)	r_{cv}	r_{pred}	RPD	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	REP (%)	LV
Aluminio											
Sin preprocesamiento	PLS	-	0,32	0,30	0,84	0,88	1,72	0,28	0,84	24,92	3
	<i>i</i> SPA-PLS	(15/1)	0,27	0,25	0,89	0,91	2,13	0,28	0,85	20,13	3
OFF	PLS	-	0,22	0,19	0,92	0,97	2,95	0,41	1,23	13,47	6
	<i>i</i> SPA-PLS	(23/3)	0,18	0,15	0,94	0,98	3,83	0,21	0,64	10,35	6
SGD	PLS	-	0,29	0,31	0,85	0,86	1,83	0,20	0,59	23,32	3
	<i>i</i> SPA-PLS	(15/4)	0,26	0,28	0,89	0,90	2,06	0,18	0,55	20,68	3
Vanadio											
Sin preprocesamiento	PLS	-	0,25	0,15	0,89	0,96	2,96	0,19	0,58	9,73	5
	<i>i</i> SPA-PLS	(10/3)	0,20	0,10	0,93	0,98	4,22	0,36	1,09	6,82	7
OFF	PLS	-	0,22	0,19	0,92	0,97	2,95	0,41	1,23	13,47	6
	<i>i</i> SPA-PLS	(20/2)	0,18	0,07	0,94	0,99	7,98	0,47	1,43	4,97	6
SGD	PLS	-	0,21	0,16	0,92	0,98	3,44	0,26	0,80	11,55	5
	<i>i</i> SPA-PLS	(7/2)	0,23	0,15	0,91	0,98	3,66	0,18	0,55	10,85	4

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

Analizando los resultados presentados en la Tabla 6.1, es evidente que la selección de rangos variables produjo los mejores resultados tanto para el aluminio como para el vanadio. Como se ha destacado, el método más eficaz para determinar la concentración de aluminio consistió en el uso de *i*SPA-PLS junto con espectros preprocesados que incluían la corrección de la línea de base. En este proceso, se emplearon seis variables latentes y se seleccionaron tres intervalos de los 23 disponibles, como se ilustra en la Figura 6.2a. Los intervalos de variables seleccionados por *i*SPA-PLS (368 a 377, 415 a 424 y 491 a 500 nm) dieron como resultado unos valores RMSEP de 0,15 ppm; r_{pred} de 0,98; RPD de 3,83; REP de 10,35 %; LOD de 0,21 ppm y LOQ de 0,64 ppm. La Figura 6.2b presenta gráficos que comparan los valores predichos con los valores de referencia para el conjunto de predicciones, demostrando que los datos están bien distribuidos a lo largo de la línea de referencia, lo que indica un modelo eficaz. Además, la precisión del modelo queda confirmada por el gráfico de elipse de confianza conjunta (Figura 6.2c), que incluye el punto ideal teórico ($a = 0$ y $b = 1$), lo que sugiere la ausencia de sesgo en el modelo construido.

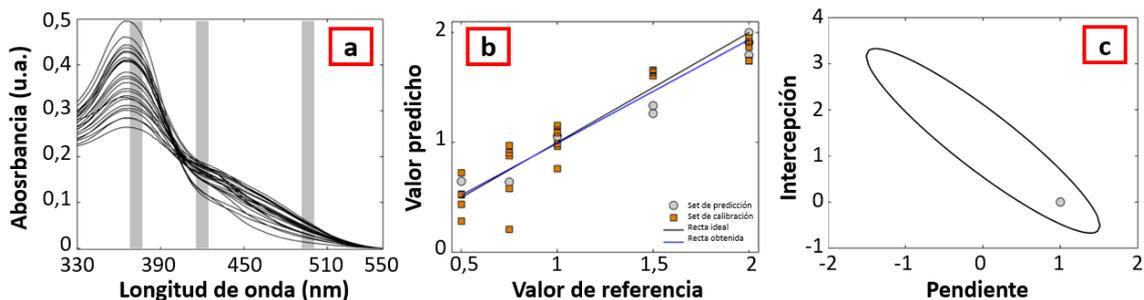


Figura 6.2. (a) intervalos seleccionados por el método *i*SPA-PLS para la determinación de aluminio cuando se utilizan espectros UV-VIS preprocesados con corrección de línea de base, (b) gráfico de los valores predichos en comparación con los valores de referencia para los conjuntos de calibración y los conjuntos de predicción y (c) elipse de confianza conjunta para el conjunto de predicción.

En lo que respecta a la determinación de la concentración de vanadio, también se obtuvo el mejor rendimiento mediante el uso de espectros con corrección de la línea de base. En este modelo se emplearon seis variables latentes y se seleccionaron dos intervalos de los veinte divididos previamente, como se ilustra en la Figura 6.3a. Los intervalos de las variables seleccionadas por *i*SPA-PLS (363 a 373 y 495 a 505 nm) dieron como resultado unos valores RMSEP de 0,07 ppm; r_{pred} de 0,99; RPD de 7,98; REP de 4,97%; LOD de 0,47 ppm y LOQ de 1,43 ppm. Los gráficos que comparan los valores de referencia con los valores predichos, así como la elipse de confianza conjunta para el conjunto de predicciones, pueden observarse en las Figuras 6.3b y c, respectivamente. Por otro lado, se evaluó la variabilidad interdía del método propuesto.

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

Se determinó el porcentaje de recuperación de mediciones de 1,00 ppm para ambos metales, obteniéndose un porcentaje de recuperación del 113 % para el vanadio y del 110 % para el aluminio.

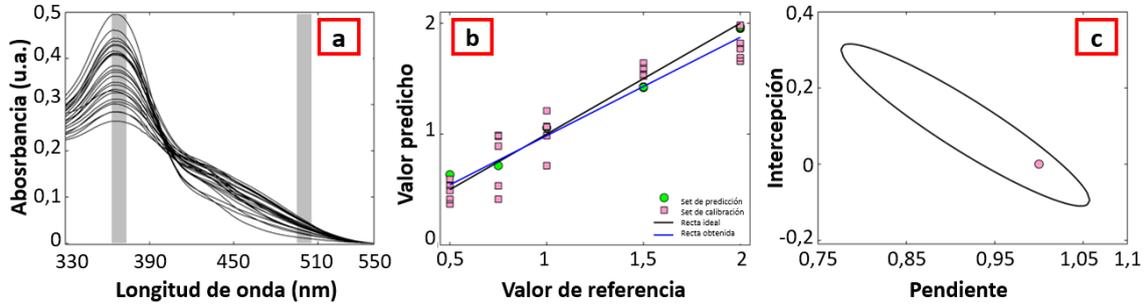


Figura 6.3. (a) intervalos seleccionados por el método *i*SPA-PLS para la determinación de vanadio cuando se utilizan espectros UV-VIS preprocesados con corrección de línea de base, (b) gráfico de los valores predichos en comparación con los valores de referencia para los conjuntos de calibración y los conjuntos de predicción y (c) elipse de confianza conjunta para el conjunto de predicción.

Mediante el algoritmo MCR-ALS, los resultados más prometedores para la determinación del contenido de aluminio y vanadio se presentan en la Tabla 6.2. En la determinación del contenido de aluminio, el modelo MCR-ALS con corrección de línea de base registró valores RMSEC de 0,43 ppm; RMSEP de 0,26 ppm; RPD de 2,19 y REP de 18,16%. Para la determinación del contenido de vanadio, el modelo arrojó un resultado ligeramente superior en comparación con los resultados para la determinación del aluminio, posiblemente debido a que el perfil del complejo vanadio-quercetina tiene menos solapamiento con la quercetina que el complejo aluminio-quercetina, como se muestra en la Figura 6.4. Por lo tanto, MCR-ALS demostró una mayor eficiencia en la recuperación del perfil, resultando en valores de predicción para RMSEC en 0,40 ppm; RMSEP en 0,24 ppm; RPD en 2,29, y REP en 17,31 %.

Sin embargo, es importante destacar que, para considerarse adecuado, el valor RPD debe ser superior a 3 y el valor REP debe ser igual o inferior al 10 %. De este modo, se observa que todos los modelos MCR-ALS mostraron un rendimiento menos satisfactorio en comparación con los obtenidos con *i*SPA-PLS.

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

Tabla 6.6. Resumen de los resultados obtenidos por el algoritmo MCR-ALS para la cuantificación de aluminio y vanadio.

Preprocesamiento	RMSEC (ppm)	RMSEP (ppm)	r	r _{pred}	RPD	REP (%)
Aluminio						
Sin preprocesamiento	0,35	0,35	0,85	0,79	1,49	28,78
OFF	0,43	0,26	0,78	0,89	2,19	18,16
SGD	0,37	0,43	0,83	0,82	1,32	32,18
Vanadio						
Sin preprocesamiento	0,38	0,28	0,81	0,96	1,56	18,49
OFF	0,340	0,24	0,80	0,96	2,29	17,32
SGD	0,338	0,26	0,82	0,94	2,12	18,75

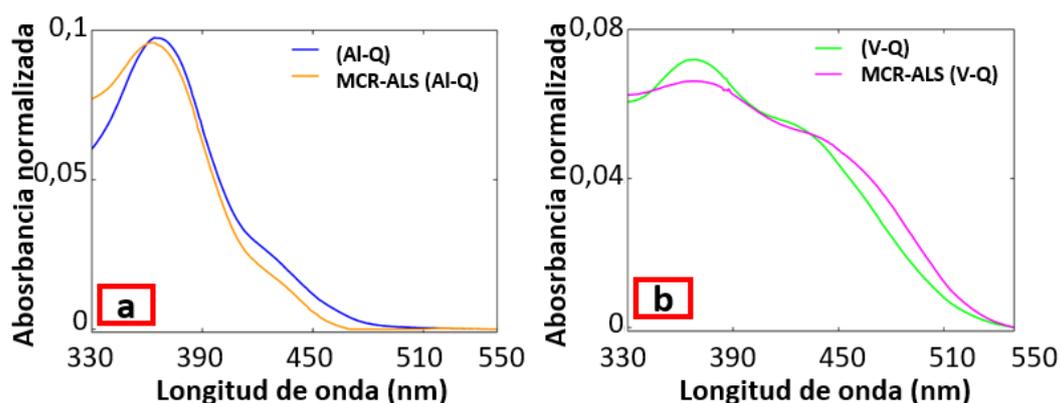


Figura 6.4. (a) Espectro del complejo aluminio-queretina y perfil estimado por MCR-ALS para el complejo aluminio-queretina. (b) Espectro del complejo vanadio-queretina y perfil predicho por MCR-ALS para el complejo vanadio-queretina.

6.4.3. Muestras

Como se menciona en la Sección 6.3.2, se llevaron a cabo mediciones después de 12 semanas de inmersión de los discos en HS, y se confirmó la presencia de residuos de aluminio y vanadio, como era de esperar según Lori et al. [24]. Para validar los resultados obtenidos, se realizaron medidas de los residuos de aluminio y vanadio liberados desde un disco α -Ti-6Al-4V y un disco control de Ti-6Al-4V en HS mediante ICP-OES. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 6.3.

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

Tabla 6.7. Comparación de los resultados obtenidos mediante el método desarrollado y el ICP-OES. La última columna muestra los resultados de la prueba t con datos apareados.

		Método desarrollado (ppm)	ICP-OES (ppm)	tcalc
α-Ti-6Al-4V	Aluminio	1,68 ± 0,02	1,52 ± 0,01	1,21
	Vanadio	1,79 ± 0,06	1,92 ± 0,14	0,28
Ti-6Al-4V	Aluminio	0,44 ± 0,05	0,39 ± 0,04	-0,39
	Vanadio	0,34 ± 0,07	0,30 ± 0,02	0,22
Valor t crítico 0,05; 2 = 4,303				

Como se observa, se registraron mayores concentraciones de aluminio y vanadio en la solución que contenía el disco α-Ti-6Al-4V que en la solución que contenía el disco Ti-6Al-4V. Según se ha informado la capa de óxido generada en la superficie de la aleación de Ti-6Al-4V se encuentra formada por una capa interna compacta y una capa externa porosa [33 - 36]. La capa interna se denomina capa barrera y es la principal responsable de la alta resistencia a la corrosión de la capa de óxido pasiva, mientras que la capa porosa de menor resistencia está asociada a la biocompatibilidad de las aleaciones [7, 10]. La capa interna contiene predominantemente TiO₂, mientras que la capa externa de TiO₂ está enriquecida con trióxido de dialuminio (Al₂O₃) y pentaóxido de divanadio (V₂O₅). Se sabe que la resistencia a la corrosión de la aleación del implante depende del grosor de la capa interna y de la porosidad de la capa externa. A medida que la capa interna es más gruesa y la capa externa es menos porosa, la resistencia a la corrosión es mayor [15]. Sin embargo, la capa porosa pronunciada garantiza la osteointegración cuando los implantes se incrustan en el cuerpo humano. Aunque la capa interna de la película de óxido actúa como barrera contra la disolución de iones [7, 37, 38], las aleaciones de los implantes pueden generar iones metálicos, que pueden inducir problemas de biocompatibilidad [6, 7, 39 - 42]. Los iones metálicos se liberan por disolución preferente de sus óxidos o por procesos de desgaste, lo que provoca la eliminación de fragmentos metálicos. La liberación de productos de corrosión depende de la velocidad de corrosión de la aleación y de la solubilidad de los óxidos formados. La corrosión de la aleación Ti-6Al-4V provoca la liberación de iones de aluminio y vanadio, que pueden causar reacciones inflamatorias graves, osteólisis y trastornos neurológicos. Algunos autores [40, 41] informaron de una liberación significativamente mayor de iones de vanadio, debido a la disolución del óxido de vanadio, que es fácilmente soluble [37]. Su disolución se ve especialmente favorecida por la presencia de iones cloruro en las soluciones fisiológicas [14, 41]. Wolner et al. también demostraron que el óxido de Al₂O₃ se disuelve

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

preferentemente a un potencial determinado, ya que el aluminio es pasivo sólo en una región potencial/pH muy estrecho, como indica el diagrama de Pourbaix para el aluminio en medio acuoso [43].

Además, la precisión del método propuesto, utilizando modelos *i*SPA-PLS, se comparó con los resultados obtenidos por el método de referencia, ICP-OES, mediante la prueba t, como se detalla en la Tabla 6.3. Para la ejecución de la prueba t, se consideraron intervalos de confianza conjuntos con 2 grados de libertad y un nivel de confianza del 95 % (valor t crítico 0,05; 2 = 4,30). Al comparar los valores t calculados para el contenido de aluminio y vanadio con el valor t crítico, se observa que ninguna de las muestras presenta diferencias estadísticamente significativas entre el método propuesto y el método de referencia, lo que pone de manifiesto la capacidad predictiva de los modelos con corrección de la línea de base mediante offset, acoplados con *i*SPA-PLS.

Comparado con otros métodos analíticos para la determinación de aluminio y vanadio (Tabla 6.4), el método desarrollado es el único que consigue la determinación simultánea de ambos analitos. Presenta un bajo costo y baja complejidad para la determinación respecto a otros métodos. Es factible de aplicar en muestras biológicas, por ejemplo, para determinar los residuos liberados de una aleación de Ti-6Al-4V de grado quirúrgico. Además, presenta un límite de detección adecuado para el tipo de muestra propuesto.

Tabla 6.8. Comparación de diferentes métodos para la cuantificación de aluminio y vanadio.

	Método analítico	Determinación simultánea	Costo	Complejidad	Muestra biológica	LOD (ppb)	Ref
V (III)/							
V (IV)/	IE-HPLC	No	Alto	Alta	Si	-	[44]
V (V)							
Al (III)	Voltametría	No	Bajo	Baja	Si	2,43	[45]
Al (III)	RP-HPLC	No	Alto	Alta	Si	0,05	[46]
Al (III)	Fluorescencia	No	Bajo	Baja	Si	0,28	[47]
Al (III)	FAAS	No	Alto	Alta	No	1,43	[48]
Al (III)	GFAAS	No	Alto	Alta	Si	0,06	[49]
V (IV)/						150/	
V (V)	HPLC-FAAS	No	Alto	Alta	No	180	[50]

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

V (IV)/ V (V)	LC-ICP-MS	No	Muy alto	Alta	Si	59,1/ 113,1	[51]
Al (III)/ V (III)	Método propuesto	Si	Bajo	Baja	Si	211/ 472	[52]

6.5. Conclusiones

En este capítulo se logró desarrollar una metodología rápida y de bajo costo para la determinación simultánea de aluminio y vanadio liberados de una aleación de Ti-6Al-4V de grado quirúrgico comercial en un fluido biológico simulado. Para el análisis quimiométrico se registraron los espectros de absorción molecular UV-VIS de los complejos entre ambos metales y la quercetina, el procesamiento de los datos se realizó utilizando PLS, *i*SPA-PLS y MCR-ALS. Los mejores resultados se obtuvieron con *i*SPA-PLS tanto para la determinación de aluminio como de vanadio en términos de capacidad predictiva, con valores REP de 10,35 y 4,97; respectivamente. Además, se obtuvieron valores LOQ y LOD de 0,64 ppm y 0,21 ppm, y de 1,43 ppm y 0,47 ppm para el aluminio y el vanadio. Cabe destacar que, en base a una extensa revisión bibliográfica, los estudios quimiométricos que se describieron en este capítulo de tesis son los primeros en presentar la metodología propuesta de una determinación no destructiva eficaz para la cuantificación de ambos metales en una matriz biológica simulada liberados a partir de materiales ortopédicos.

6.6. Bibliografía

- [1] Wang, W. y Poh, C. K. (2013). Titanium alloys in orthopaedics. *Titanium alloys-advances in properties control*, 15, 1-20. <https://doi.org/10.5772/55353>
- [2] Sáenz de Viteri, V. S. y Fuentes, E. (2013). Titanium and titanium alloys as biomaterials. *Tribology - fundamentals and advancements*, 1(5), 154-181. <https://doi.org/10.5772/55860>
- [3] Shah, F. A., Trobos, M., Thomsen, P. y Palmquist, A. (2016). Commercially pure titanium (cp-Ti) versus titanium alloy (Ti6Al4V) materials as bone anchored implants—Is one truly better than the other? *Materials Science and Engineering: C*, 62, 960-966. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.01.032>.
- [4] Quinn, J., McFadden, R., Chan, C. W. y Carson, L. (2020). Titanium for orthopedic applications: an overview of surface modification to improve biocompatibility and prevent bacterial biofilm formation. *IScience*, 23(11), 101745. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101745>
- [5] Kaur, M. y Singh, K. (2019). Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications. *Materials Science and Engineering: C*, 102, 844-862. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.064>
- [6] Geetha, M., Singh, A. K., Asokamani, R. y Gogia, A. K. (2009). Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. *Progress in Materials Science*, 54(3), 397-425.
- [7] Assis, S. L. D., Rogero, S. O., Antunes, R. A., Padilha, A. F. y Costa, I. (2005). A comparative study of the in vitro corrosion behavior and cytotoxicity of a superferritic stainless steel, a Ti-13Nb-13Zr alloy, and an austenitic stainless steel in Hank's solution. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 73(1), 109-116.
- [8] Oliveira, N. T., Ferreira, E. A., Duarte, L. T., Biaggio, S. R., Rocha-Filho, R. C. y Bocchi, N. (2006). Corrosion resistance of anodic oxides on the Ti-50Zr and Ti-13Nb-13Zr alloys. *Electrochimica Acta*, 51(10), 2068-2075.

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

- [9] Cvijović-Alagić, I., Cvijović, Z., Bajat, J. y Rakin, M. (2014). Composition and processing effects on the electrochemical characteristics of biomedical titanium alloys. *Corrosion Science*, 83, 245-254.
- [10] Assis, S. L. D. y Costa, I. (2007). Electrochemical evaluation of Ti-13Nb-13Zr, Ti-6Al-4V and Ti-6Al-7Nb alloys for biomedical application by long-term immersion tests. *Materials and Corrosion*, 58(5), 329-333.
- [11] Singh, R. y Dahotre, N. B. (2007). Corrosion degradation and prevention by surface modification of biometallic materials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(5), 725-751.
- [12] Shukla, A. K. y Balasubramaniam, R. (2006). Effect of surface treatment on electrochemical behavior of CP Ti, Ti-6Al-4V and Ti-13Nb-13Zr alloys in simulated human body fluid. *Corrosion Science*, 48(7), 1696-1720.
- [13] Sodhi, R. N. S., Weninger, A., Davies, J. E. y Sreenivas, K. (1991). X-ray photoelectron spectroscopic comparison of sputtered Ti, Ti6Al4V, and passivated bulk metals for use in cell culture techniques. *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, 9(3), 1329-1333.
- [14] Ask, M., Lausmaa, J. y Kasemo, B. (1989). Preparation and surface spectroscopic characterization of oxide films on Ti6Al4V. *Applied surface science*, 35(3), 283-301.
- [15] Sundararajan, T., Mudali, U. K., Nair, K. G. M., Rajeswari, S. y Subbaiyan, M. (1998). Surface characterization of electrochemically formed passive film on nitrogen ion implanted Ti6Al4V alloy. *Materials Transactions, JIM*, 39(7), 756-761.
- [16] Sansone, V., Pagani, D. y Melato, M. (2013). The effects on bone cells of metal ions released from orthopaedic implants. A review. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 10(1), 34. <https://doi.org/10.11138/ccmbm/2013.10.1.034>
- [17] Manivasagam, G., Dhinasekaran, D. y Rajamanickam, A. (2010). Biomedical implants: corrosion and its prevention - A review. *Recent Patents on Corrosion Science*, 2(1), 40-54. <https://doi.org/10.2174/1877610801002010040>
- [18] Siemers, C., Bäker, M., Brunke, F., Wolter, D. y Sibum, H. (2018). Aluminum-and vanadium-free titanium alloys for application in medical engineering. En F. H. Froes y M. Qian

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

(Eds.), *Titanium in Medical and Dental Applications* (pp. 477-492). Woodhead Publishing.

- [19] Dimić, I., Cvijović-Alagić, I., Rakin, M. y Bugarski, B. (2013). Analysis of metal ion release from biomedical implants. *Metallurgical & Materials Engineering*, 19(2), 167-176.
- [20] Trovo, P. L., Fregolente, L. G., Amaral, C. D. y Gonzalez, M. H. (2017). Determination of vanadium in water samples from Brazilian mineral spring (Ibirá Spa) using ICP-MS. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 8, 48-52. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2017.04.005>
- [21] Martín-Cameán, A., Jos, A., Puerto, M., Calleja, A., Iglesias-Linares, A., Solano, E. y Cameán, A. M. (2015). In vivo determination of aluminum, cobalt, chromium, copper, nickel, titanium and vanadium in oral mucosa cells from orthodontic patients with mini-implants by Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 32, 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2015.05.001>
- [22] Pełkal, A. y Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7, 1776-1782.
- [23] Roy, S., Banerjee, S. y Chakraborty, T. (2018). Vanadium quercetin complex attenuates mammary cancer by regulating the P53, Akt/mTOR pathway and downregulates cellular proliferation correlated with increased apoptotic events. *Biometals*, 31, 647-671.
- [24] Zhang, C. H., Yun, Y. H., Zhang, Z. M. y Liang, Y. Z. (2016). Simultaneous determination of neutral and uronic sugars based on UV-vis spectrometry combined with PLS. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87, 290-294. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.066>
- [25] Attia, K. A., Nassar, M. W., El-Zeiny, M. B. y Serag, A. (2017). Firefly algorithm versus genetic algorithm as powerful variable selection tools and their effect on different multivariate calibration models in spectroscopy: A comparative study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 170, 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.07.016>

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

- [26] Wold, S., Sjöström, M. y Eriksson, L. (2001). PLS-regression: a basic tool of chemometrics *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58(2), 109-130. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1)
- [27] Escandar, G. M., Damiani, P. C., Goicoechea, H. C. y Olivieri, A. C. (2006). A review of multivariate calibration methods applied to biomedical analysis. *Microchemical Journal*, 82(1), 29-42. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2005.07.001>
- [28] Kumar, K. (2021). *Partial Least Square (PLS) Analysis*. *Resonance*, 26(3), 429-442. <https://doi.org/10.1007/s12045-021-1140-1>
- [29] Abrantes, G., Almeida, V., Maia, A. J., Nascimento, R., Nascimento, C., Silva, Y., ... & Veras, G. (2023). Comparison between Variable-Selection Algorithms in PLS Regression with Near-Infrared Spectroscopy to Predict Selected Metals in Soil. *Molecules*, 28(19), 6959. <https://doi.org/10.3390/molecules28196959>
- [30] Waizy, H., Weizbauer, A., Modrejewski, C., Witte, F., Windhagen, H., Lucas, A., Kieke, M., Denkena, B., Behrens, P., Meyer-Lindenberg, A., Bach, F. W. y Thorey, F. (2012). In vitro corrosion of ZEK100 plates in Hank's Balanced Salt Solution. *Biomedical Engineering Online*, 11, 1-14. <https://doi.org/10.1186/1475-925X-11-12>
- [31] Belén, F., Gravina, A. N., Pistonesi, M. F., Ruso, J. M., García, N. A., Prado, F. D. y Messina, P. V. (2022). NIR-Reflective and Hydrophobic Bio-Inspired Nano-Holed Configurations on Titanium Alloy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(4), 5843-5855. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c22557>
- [32] Joseph, L. A., Israel, O. K. y Edet, E. J. (2009). Comparative evaluation of metal ions release from titanium and Ti-6Al-7Nb into bio-fluids. *Dental Research Journal*, 6(1), 7.
- [33] Cvijović-Alagić, I., Cvijović, Z., Bajat, J. y Rakin, M. (2016). Electrochemical behaviour of Ti-6Al-4V alloy with different microstructures in a simulated bio-environment. *Materials and Corrosion*, 67(10), 1075-1087.
- [34] Ghoneim, A. A., Mogoda, A. S., Awad, K. A. y Heikal, F. E. (2012). Electrochemical studies of titanium and its Ti-6Al-4V alloy in phosphoric acid solutions. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(7), 6539-6554.

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

- [35] Tamilselvi, S., Murugaraj, R. y Rajendran, N. (2007). Electrochemical impedance spectroscopic studies of titanium and its alloys in saline medium. *Materials and Corrosion*, 58(2), 113-120.
- [36] Costa, B. C., Tokuhara, C. K., Rocha, L. A., Oliveira, R. C., Lisboa-Filho, P. N. y Pessoa, J. C. (2019). Vanadium ionic species from degradation of Ti-6Al-4V metallic implants: In vitro cytotoxicity and speciation evaluation. *Materials Science and Engineering: C*, 96, 730-739.
- [37] Vasilescu, E., Drob, P., Raducanu, D., Cinca, I., Mareci, D., Calderón Moreno, J. C., Popa, M., Vasilescu, C. y Rosca, J. M. (2009). Effect of thermo-mechanical processing on the corrosion resistance of Ti6Al4V alloys in biofluids. *Corrosion Science*, 51(12), 2885-2896.
- [38] Alves, V. A., Reis, R. Q., Santos, I. C. B., Souza, D. G., Gonçalves, T. D. F., Pereira-da-Silva, M. A., Rossi, A. y Da Silva, L. A. (2009). In situ impedance spectroscopy study of the electrochemical corrosion of Ti and Ti-6Al-4V in simulated body fluid at 25 C and 37 C. *Corrosion Science*, 51(10), 2473-2482.
- [39] Choubey, A., Basu, B. y Balasubramaniam, R. (2005). Electrochemical behavior of Ti-based alloys in simulated human body fluid environment. *Trends in Biomaterials & Artificial Organs*, 18(2), 64-72.
- [40] Tamilselvi, S., Murugaraj, R. y Rajendran, N. (2007). Electrochemical impedance spectroscopic studies of titanium and its alloys in saline medium. *Materials and Corrosion*, 58(2), 113-120.
- [41] Metikos-Huković, M., Kwokal, A. y Piljac, J. (2003). The influence of niobium and vanadium on passivity of titanium-based implants in physiological solution. *Biomaterials*, 24(21), 3765-3775.
- [42] Mohan, L., Anandan, C. y Rajendran, N. (2015). Electrochemical behaviour and bioactivity of self-organized TiO₂ nanotube arrays on Ti-6Al-4V in Hanks' solution for biomedical applications. *Electrochimica Acta*, 155, 411-420.
- [43] Wolner, C., Nauer, G. E., Trummer, J., Putz, V. y Tschegg, S. (2006). Possible reasons for the unexpected bad biocompatibility of metal-on-metal hip implants. *Materials Science and Engineering: C*, 26(1), 34-40.

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

- [44] Boukhobza, I. y Crans, D. C. (2020). Application of HPLC to measure vanadium in environmental, biological and clinical matrices. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), 1198-1228. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.10.003>
- [45] Tang, Y., Sun, C., Yang, X., Yang, X. y Shen, R. F. (2013). Graphene modified glassy carbon electrode for determination of trace aluminium (III) in biological samples. *International Journal of Electrochemical Science*, 8(3), 4194-4205.
- [46] Lian, H. Z., Kang, Y. F., Yasin, A., Bi, S. P., Shao, D. L., Chen, Y. J., Dai, L. M. y Tian, L. C. (2003). Determination of aluminum in environmental and biological samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography via pre-column complexation with morin. *Journal of Chromatography A*, 993(1-2), 179-185. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00359-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00359-5)
- [47] Santarossa, D. G., Talio, M. C. y Fernández, L. P. (2016). Aluminium traces determination in biological and water samples using a novel extraction scheme combined with molecular fluorescence. *Microchemical Journal*, 129, 274-280. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.06.026>
- [48] Ulusoy, H. İ., Gürkan, R., Aksoy, Ü. y Akçay, M. (2011). Development of a cloud point extraction and preconcentration method for determination of trace aluminum in mineral waters by FAAS. *Microchemical Journal*, 99(1), 76-81.
- [49] Sun, M. y Wu, Q. (2010). Determination of ultra-trace aluminum in human albumin by cloud point extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Hazardous Materials*, 176(1-3), 901-905. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.121>.
- [50] Gáspár, A. y Posta, J. (1998). Rapid and simple chromatographic separation of V (V) and V (IV) using KH-phthalate and their determination by flame atomic absorption spectrometry. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 360, 179-183. <https://doi.org/10.1007/s002160050671>
- [51] Colina, M., Gardiner, P. H. E., Rivas, Z. y Troncone, F. (2005). Determination of vanadium species in sediment, mussel and fish muscle tissue samples by liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 538(1-2), 107-115. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.02.044>

Capítulo 6: Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada

- [52] Belén, F., Vallese, F. D., de Sousa Fernandes, D. D., de Araújo, A. S., de Araújo Gomes, A., Messina, P. V. y Pistonesi, M. F. (2024). Multivariate calibration strategies for the simultaneous quantification of aluminium and vanadium in Ti6Al4V alloys. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 246, 105071. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2024.105071>

Capítulo 7

Conclusiones generales

El presente trabajo de investigación ha abordado la tarea de desarrollar y caracterizar modificaciones superficiales en la aleación Ti-6Al-4V basándose en recubrimientos nanoestructurados de TiO₂. Estas modificaciones mejoran sus propiedades y le confieren nuevas capacidades, optimizando su rendimiento multifuncional.

Además, se ha desarrollado un sistema automatizado que permite realizar la técnica de anodizado electroquímico para generar los recubrimientos nanoestructurados de TiO₂ de manera reproducible controlando el prepulido de las superficies de Ti-6Al-4V. Este sistema controla, además, los principales parámetros que afectan a la capa superficial de óxido generada, y monitorea la reacción durante todo el proceso.

Por otro lado, se ha desarrollado un método innovador combinando la espectroscopia UV-VIS, a través de la formación de complejos metal-quercetina y técnicas quimiométricas para la cuantificación simultánea de aluminio y vanadio en medios biológicos simulados.

A continuación, se enuncian las observaciones más destacadas de este trabajo.

A través de la técnica de anodizado electroquímico, se ha logrado desarrollar un recubrimiento de TiO₂ sobre aleaciones de Ti-6Al-4V. Al controlar con precisión factores clave de anodización como el voltaje aplicado, composición del electrolito, temperatura y tiempo, se ha conseguido crear una estructura periódica biomórfica nanoporosa. Los análisis revelan que este recubrimiento confiere a la aleación una superficie única, caracterizada por su estabilidad ante la oxidación térmica, rugosidad multiescala, comportamiento hidrofóbico y propiedades electroópticas excepcionales. Durante la oxidación térmica del Ti-6Al-4V recubierto, se confirmó que la transformación de fase se limita exclusivamente al rutilo. Notablemente, este proceso afecta solo la superficie, sin impactar la interfaz Ti/óxido metálico, como se señala en la literatura, preservando así la integridad de la superficie de la aleación incluso a temperaturas de hasta 800 °C. Los nanorecubrimientos exhiben también un comportamiento hidrofóbico bajo el régimen de Cassie-Baxter, donde el agua llena las microtexturas pero evita los nanoporos. Adicionalmente, la estructura metálico-dieléctrica de celdas unitarias, con dimensiones inferiores a la longitud de onda y dispuestas periódicamente, muestra una respuesta electro-óptica distintiva. El recubrimiento nanoporoso actúa como nanorreflectores en el rango del infrarrojo cercano, induciendo emisiones espontáneas de fluorescencia molecular que pueden aprovecharse en plataformas teranósticas multifuncionales para imágenes y tratamientos fototérmicos. Estas propiedades presentan oportunidades significativas en la construcción de diseños fotodinámicos aplicados a implantes ortopédicos funcionales. En una segunda etapa, se han depositado nanopartículas de plata en forma de prisma, que presentan espectros de

resonancia plasmónica superficial localizada en la región NIR, sobre el recubrimiento de TiO₂ nanoporoso. Se logró demostrar que la capa nanoporosa desarrollada es un sustrato noble para la inmovilización simple y eficiente de las nanopartículas. Las nanopartículas son sintetizadas in situ sobre discos de la aleación de Ti-6Al-4V previamente anodizada, siguiendo una metodología desarrollada en el grupo de investigación, mejorando las propiedades optoelectrónicas del sustrato. Se han establecidos las condiciones para alcanzar la máxima capacidad de fotoconversión bajo irradiación NIR, demostrando que la radiación emitida en la superficie de las p-AgNPs puede ser reflejada por los sustratos de titanio dentro de los nanoporos, aumentando las señales de reflexión del infrarrojo cercano medio y mejorando la capacidad de reflexión de la superficie. Por otro lado, las superficies híbridas α -Ti-Al-4V/p-AgNPs mostraron una buena conversión fototérmica que generó un incremento de temperatura comparable al de la dispersión acuosa de p-AgNPs de concentración equivalente al ser irradiadas con radiación NIR. Los resultados indican que la interacción entre α -Ti-Al-4V y p-AgNPs mejoran las propiedades de reflexión de radiación NIR de las α -Ti-Al-4V y le confieren nuevas como la capacidad de conversión fototérmica, generando sustratos efectivos para el tratamiento antimicrobiano.

El sistema automatizado desarrollado emplea la fabricación aditiva y la mecatrónica para realizar y analizar el anodizado electroquímico de aleaciones Ti-6Al-4V. Tras una cuidadosa optimización de los factores más importantes del proceso, como la concentración de HF en la solución electrolítica, la temperatura y el voltaje aplicado, y analizando las medidas de la corriente que circula por el sistema y las imágenes de la superficie a lo largo del proceso, se confirmó que los tres factores afectan a la formación de la capa de óxido superficial y que el más significativo es la concentración de HF en el electrolito. El prototipo permite la detección de imágenes para controlar el pulido mecánico y la detección dual (eléctrica/imágenes) para el proceso de anodizado electroquímico de aleaciones Ti-6Al-4V. Mediante el control de importantes factores de anodización, se obtienen capas de óxido de mayor calidad con superficies homogéneas, mejorando también la reproducibilidad del proceso. De esta forma es posible obtener nanoestructuras específicas como las desarrolladas y estudiadas previamente, como un recubrimiento biomórfico de TiO₂ nanoporoso sobre aleación Ti6Al4V con propiedades de reflectancia NIR e hidrofóbicas. Este sistema representa un gran avance en la aplicación de esta técnica de modificación superficial proporcionando mejoras en estos biomateriales.

El método desarrollado que estudia la formación de complejos metal-quercetina mediante espectroscopía UV-VIS, y el procesamiento de datos mediante PLS, λ SPA-PLS y MCR-ALS tiene el potencial de ofrecer la determinación simultánea de manera simple, efectiva, económica y sin necesidad de pretratamiento, para los residuos de aluminio y vanadio liberados de una aleación

de Ti-6Al-4V de grado quirúrgico comercial en un fluido biológico simulado. Si bien es ampliamente conocido el empleo de métodos analíticos para la determinación individual de residuos de aluminio y vanadio, según revisión bibliográfica, es la primera vez que se combinan para la determinación simultánea de estos elementos metálicos en matrices biológicas simuladas.

Los resultados más destacados se lograron utilizando iSPA-PLS, tanto para la determinación de aluminio como de vanadio, en términos de capacidad predictiva. En virtud de lo expuesto, la metodología propuesta se presenta como una herramienta eficaz para identificar los iones de aluminio y vanadio liberados como residuos de la aleación de Ti-6Al-4V, ampliamente utilizada como material ortopédico. Este enfoque promete ser valioso en aplicaciones prácticas para la detección de estos elementos en medios biológicos simulados, ofreciendo una alternativa eficiente y económica para la determinación de la liberación de residuos de estos biometales. Asimismo, el desarrollo de este método es crucial para poder monitorear las posibles fallas de los implantes y problemas de salud que puedan ocasionarse.

Las modificaciones que se realizaron en la aleación Ti-6Al-4V ofrecen características morfológicas, topográficas y químicas apropiadas que las posicionan como material prometedor para su aplicación en implantes ortopédicos. Este avance representa un paso significativo hacia la mejora de la biocompatibilidad y el rendimiento funcional de los dispositivos ortopédicos, ofreciendo así soluciones innovadoras para la salud y calidad de vida de los pacientes.

Capítulo 8

Propuestas futuras

En este capítulo, se presentan diversas propuestas que podrían derivarse del trabajo realizado en esta tesis doctoral. La intención es ofrecer una perspectiva sobre posibles estudios futuros que amplíen, profundicen y complementen los hallazgos obtenidos. Estos trabajos a futuro no solo tienen el potencial de enriquecer el campo de estudio abordado, sino que también pueden contribuir al desarrollo de nuevas metodologías, teorías y aplicaciones prácticas.

En relación con los estudios presentados en los Capítulos 3 y 4, titulados "Recubrimiento bioinspirado sobre aleaciones Ti-6Al-4V" y "Respuesta NIR mejorada de recubrimientos de Ti-6Al-4V activados", se prevé realizar análisis adicionales para complementar la caracterización existente. Primero, se proponen estudios detallados sobre el recubrimiento nanoestructurado de TiO₂, que incluyen pruebas de corrosión para evaluar su biocompatibilidad, comportamiento en entornos biológicos y durabilidad. Además, se pretende llevar a cabo análisis para evaluar la respuesta del recubrimiento ante microorganismos patógenos, proteínas, células y otras unidades biológicas. Adicionalmente, se explorará el uso de técnicas avanzadas de caracterización, como la Microscopía Raman Confocal, para profundizar en las propiedades estructurales y composicionales del recubrimiento. Esto permitirá obtener información detallada sobre la cristalinidad, defectos, tensiones residuales, entre otros aspectos relevantes. Asimismo, se estudiará en detalle la interacción entre las nanopartículas de plata de morfología triangular y el recubrimiento nanoporoso de TiO₂, con el objetivo de comprender mejor su inserción y estabilidad en el recubrimiento.

Se propone mejorar el desarrollo del sistema automatizado presentado en el Capítulo 5, de manera que, mediante el intercambio de sus componentes, sea factible aplicar la técnica de oxidación anódica a piezas de diversos tamaños y geometrías. Además, se pretende aplicar modelos de calibración multivariada empleando las imágenes registradas durante todas las mediciones y correlacionarlas con los parámetros físicos y estructurales del recubrimiento obtenidos mediante técnicas como microscopía electrónica de barrido y microscopía de fuerza atómica. El objetivo es determinar parámetros como el espesor de la capa de óxido, la profundidad de los poros, el diámetro de los poros y su separación, entre otros, utilizando únicamente la información extraída de las imágenes.

Respecto al trabajo presentado en el Capítulo 6, "Determinación simultánea de aluminio y vanadio en aleaciones Ti-6Al-4V mediante espectroscopía UV-VIS y calibración multivariada", se propone aumentar el orden de los datos, pasando de un arreglo de dos vías a uno de tres vías, es decir, de primer orden a segundo orden. Para lograr esto, se propone la incorporación del pH del medio de reacción como una nueva variable, generando así un arreglo de datos de tres vías.

Con la incorporación del pH como una nueva variable, los datos experimentales ahora incluirán no solo las absorbancias medidas a múltiples longitudes de onda (espectros UV-VIS) para diversas concentraciones de aluminio y vanadio, sino también las variaciones de estas absorbancias en función del pH del medio de reacción. Así, las variables del nuevo arreglo de datos de tres vías serán: longitud de onda, concentración de los analitos (aluminio y vanadio) y pH. Este enfoque permitirá un mejor modelado de la interacción entre estos factores y potencialmente aumentará la precisión y robustez de los modelos de calibración multivariada.

Capítulo 9

Producción científica

9.1. Publicaciones en revistas científicas internacionales

9.1.1. Asociadas al trabajo de esta tesis

- [1] Belén F., Gravina A. N., Pistonesi M. F., Ruso J. M., García N. A., Prado F. D., y Messina P. V. (2022). NIR-Reflective and Hydrophobic Bio-Inspired Nano-Holed Configurations on Titanium Alloy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(4), 5843-5855. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c22557>
- [2] Belén F., Vallese F. D., de Sousa Fernandes D. D., de Araújo A. S., de Araújo Gomes A., Messina P. V., y Pistonesi M. F. (2024). Multivariate calibration strategies for the simultaneous quantification of aluminium and vanadium in Ti6Al4V alloys. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 246, 105071. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2024.105071>
- [3] Belén F., Gutiérrez J., de Oliveira Ramos R., Oliveira Brito N. M. S., Messina P. V. y Pistonesi M. F. Mechatronic system for electrochemical anodization based on computer vision and amperometry (MES-EA-CVA). Enviado para su publicación.
- [4] Pistonesi D. B., Belén F., Ruso J. M., Centurión M. E., Sica M. G., Pistonesi M. F. y Messina P. V. NIR - Plasmonic Photosensitization of Nano - Holed Titanium Alloys Surfaces through Silver Nanoplates Fixation. Enviado para su publicación.

9.1.2. General

- [1] Belén F., Vallese F. D., Leist L. G., Ferrão, M. F., de Araújo Gomes A., y Pistonesi, M. F. (2020). Computer-vision based second-order (kinetic-color) data generation: arsenic quantitation in natural waters. *Microchemical Journal*, 157, 104916. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104916>
- [2] Vallese F. D., Belén F., Messina P. V., de Araújo Gomes A., y Pistonesi M. F. (2021). Exploiting a gradient kinetics and color histogram in a single picture to second order digital imaging data acquisition with MCR-ALS for the arsenic quantification in water. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 342, 130079. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130079>

- [3] Pistonesi D. B., Belén F., Centurión M. E., Sica M. G., Ruso J. M., y Messina P. V. (2023). {111}-Faceted Silver Nanoplates: An Automated and Customized Design for Functionality. *ChemNanoMat*, 9(12), e202300354. <https://doi.org/10.1002/cnma.202300354>
- [4] Rivero P.S., Pistonesi D. B., Belén F., Centurión M.E., Benedini L. A., Rauschemberger B., y Messina P. V. Low Concentration Haematology Behaviour of NIR - sensitive Silver Nanoplates: Isotropic against Anisotropic Morphologies. Enviado para su publicación.

9.2. Capítulos de libro

9.2.1. General

- [1] Messina P. V., Pistonesi B. D., y Belén F. (2023). Nanophase ceramic particles in bone regenerative therapeutics: theranostic platforms for bone disorders. In *Inorganic Nanosystems* (pp. 437-471). Academic Press.

9.3. Patentes

Participante del grupo de inventores de un sistema automatizado de anodizado electroquímico con control óptico y amperométrico que se encuentra en trámite de patentamiento.

9.4. Presentaciones en reuniones científicas

9.4.1. Asociados al trabajo de esta tesis

- [1] Belén F., Vallese F. D., Gomes de Araujo A., Messina P. V., Pistonesi M. F. Cuantificación de aluminio y vanadio en muestras de implantes ortopédicos empleando espectroscopia UVVIS y MCR-ALS con restricción de correlación. XI Congreso Argentino de Química Analítica. 30/11/21 – 3/12/21, Corrientes, Corrientes.
- [2] Belén F., de Oliveira Ramos R., Brito de Oliveira N. M., Oliveira da Costa A., Messina P.V. y Pistonesi M. F. Optimización por calibración multivariada de la oxidación controlada de titanio y sus aleaciones por microscopía electrónica de barrido. XII Congreso Argentino de Química Analítica. 12 - 15/9/23, San Juan, San Juan, Argentina.

9.4.2. General

- [1] Belén F., Vallese F. D., Pistonesi M. F., de Araújo Gomes A.. Sistema automático “lab in a drop” para la determinación de arsénico en aguas naturales empleando videos digitales. XIX Encontro Nacional de Química Analítica e VII Congresso Iberoamericano de Química Analítica. 16 – 19/09/2018, Caldas Novas, Goias, Brasil.
- [2] Belén F., Vallese F. D., Flores Ferrão M., Pistonesi M. F., de Araújo Gomes A. Generación de datos de segundo orden basados en la visión computarizada. X Congreso Argentino de Química Analítica. 17 – 20/09/19, Santa Rosa, La Pampa.
- [3] Vallese F. D., Belén F., Messina P. V., de Araújo Gomes A., Pistonesi M. F. Sistema microfluídico con gradiente de concentración e histogramas de color en una imagen. Aplicación de datos de segundo orden con MCR-ALS para cuantificación de arsénico. XI Congreso Argentino de Química Analítica. 30/11/21 – 3/12/21, Corrientes, Corrientes.
- [4] de Lima C. V., Belén F., Vallese F., Rebouças J. S. y Pistonesi M. F. Empleo de derivados porfirínicos como sensores espectrofotométricos para la cuantificación de arsénico en aguas. XI Congreso Argentino de Química Analítica. 30/11/21 – 3/12/21, Corrientes, Corrientes.
- [5] Pistonesi B., Belén F., Messina P. V. Desarrollo de un sistema Flow-batch para la síntesis verde de nanopartículas de plata de morfología controlada. IIV Congreso Uruguayo de Química Analítica. 26 – 28/10/2022, Montevideo, Uruguay.
- [6] Pistonesi B., Belén F., Centurión M. E., Sica M. G. y Messina P. V. Estudio del comportamiento antibacteriano de AgNPs anisotrópicas. XXII Encuentro de Superficies y Materiales Nanoestructurados. 6 – 8/9/23, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.