Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Química e Ingeniería Química
Escuela Profesional de Ingeniería Química

Revestimiento de superficies scaffolds “espumas de Mg” con soluciones de colágeno para evaluar la velocidad de corrosión en un ambiente simulado de condiciones fisiológicas

TESIS

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico

AUTOR

Ana Maria ANGULO SOTELO

Mario Dayvid CARBAJAL CCOYLLO

ASESOR

Dra. María Verónica CARRANZA OROPEZA

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Angulo, A. & Carbajal, M. (2023). *Revestimiento de superficies scaffolds "espumas de Mg" con soluciones de colágeno para evaluar la velocidad de corrosión en un ambiente simulado de condiciones fisiológicas*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Ingeniería Química]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Mario Dayvid Carbajal Ccoyllo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70562805
Datos de autor 2	
Nombres y apellidos	Ana Maria Angulo Sotelo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	77225477
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	María Verónica Carranza Oropeza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10727849
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-2379-1637
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Raúl Germán Pizarro Cabrera
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25459442
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Julio Javier Armijo Carranza
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09240586

Datos de investigación	
Línea de investigación	No aplica
Grupo de investigación	Nuevo Materiales y Biotecnología - REQMEDAM
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Tesis de Pregrado. C19070351-PCONFIG.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Universidad de Ingeniería y Tecnología País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Barranco Jirón: Medrano Silva 165 Latitud: -12.1351351 Longitud: -77.0221296
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Enero 2020 – Junio 2023
URL de disciplinas OCDE	Ingeniería de materiales https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.05.01

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)
FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA
"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los suscritos Miembros del Jurado Evaluador de Sustentación de Tesis, nombrados por la Dirección de la Escuela Profesional de Ingeniería Química, bajo la Presidencia del **Ing. Raúl German Pizarro Cabrera**, el **Mg. Julio Javier Armijo Carranza** (Miembro Revisor) y la **Dra. María Verónica Carranza Oropeza** (Asesora), habiendo presentado para el efecto la Tesis titulada: **"REVESTIMIENTO DE SUPERFICIES SCAFFOLDS "ESPUMAS DE MG" CON SOLUCIONES DE COLÁGENO PARA EVALUAR LA VELOCIDAD DE CORROSIÓN EN UN AMBIENTE SIMULADO DE CONDICIONES FISIOLÓGICAS"**, después de sustentar de manera presencial y **habiendo aprobado la Tesis** elaborada por la Bachiller en Ingeniería Química**: ANA MARIA ANGULO SOTELO,** para optar el Título Profesional de **INGENIERO QUÍMICO,** el Jurado Evaluador acuerda calificarlo con la **NOTA** de:

Dieciocho ..... 18 .....
(LETRAS) (NÚMEROS)

Lima, 11 de julio del 2023

Ing. Raúl German Pizarro Cabrera
Presidente de Jurado Evaluador

Mg. Julio Javier Armijo Carranza
Docente Revisor

Dra. María Verónica Carranza Oropeza
Asesora de Tesis

UNMSM
Firmado digitalmente por PALOMINO INFANTE Ruben Alfredo FAU 20148092282 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 12.07.2023 17:16:46 -05:00

Dr. Rubén Alfredo Palomino Infante
Director de la EPIQ

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)
FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA
"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los suscritos Miembros del Jurado Evaluador de Sustentación de Tesis, nombrados por la Dirección de la Escuela Profesional de Ingeniería Química, bajo la Presidencia del **Ing. Raúl German Pizarro Cabrera**, el **Mg. Julio Javier Armijo Carranza** (Miembro Revisor) y la **Dra. María Verónica Carranza Oropeza** (Asesora), habiendo presentado para el efecto la Tesis titulada: **"REVESTIMIENTO DE SUPERFICIES SCAFFOLDS "ESPUMAS DE MG" CON SOLUCIONES DE COLÁGENO PARA EVALUAR LA VELOCIDAD DE CORROSIÓN EN UN AMBIENTE SIMULADO DE CONDICIONES FISIOLÓGICAS"**, después de sustentar de manera presencial y **habiendo aprobado la Tesis** elaborada por el Bachiller en Ingeniería Química**: MARIO DAYVID CARBAJAL CCOYLLO,** para optar el Título Profesional de **INGENIERO QUÍMICO,** el Jurado Evaluador acuerda calificarlo con la **NOTA** de:

Dieciocho ..... 18 .....
(LETRAS) (NÚMEROS)

Lima, 11 de julio del 2023

Ing. Raúl German Pizarro Cabrera
Presidente de Jurado Evaluador

Mg. Julio Javier Armijo Carranza
Docente Revisor

Dra. María Verónica Carranza Oropeza
Asesora de Tesis

UNMSM
Firmado digitalmente por PALOMINO INFANTE Ruben Alfredo FAU 20148092282 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 12.07.2023 17:19:15 -05:00

Dr. Rubén Alfredo Palomino Infante
Director de la EPIQ

INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

1. Facultad: **Química e Ingeniería Química**
2. Escuela Profesional: **Ingeniería Química**
3. Autoridad académica que emite el informe de originalidad: **Director de la Escuela Profesional de Ingeniería Química**
4. Apellidos y Nombres de la autoridad académica: **Dr. Rubén Alfredo Palomino Infante**
5. Operador del programa informático de similitudes: **Dr. Rubén Alfredo Palomino Infante**
6. Documento evaluado: **Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico.**
7. Autores del documento: **Ana María Angulo Sotelo y Mario Dayvid Carbajal Ccoyllo**
8. Fecha de recepción del documento: **14 junio del 2023**
9. Fecha de aplicación del programa informático de similitudes: **20 de junio del 2023**
10. Software utilizado: **Turnitin**
11. Configuración del programa detector de similitudes

- Excluye textos entrecomillados
- Excluye bibliografía
- Excluye cadenas menores a 40 palabras
- Otros criterios(especificar)

12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: **7 %**
13. Fuentes originales de las similitudes encontradas: **FUENTES DE INTERNET, PUBLICACIONES.**
14. Observaciones
15. Calificación de originalidad
    - *Documento cumple criterios de originalidad, sin observaciones*
16. Fecha del informe: **20 de junio del 2023**

UNMSM

Firmado digitalmente por PALOMINO INFANTE Ruben Alfredo FAU 20148092282 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 20.06.2023 16:20:13 -05:00

Dr. Rubén Alfredo Palomino Infante
Director

AGRADECIMIENTOS

A nuestros asesores, PhD. María Verónica Carranza Oropeza y PhD. Gloria Patricia Fernández Morales, por el tiempo, las enseñanzas, la dedicación y la paciencia invertida en nuestras personas en la realización de esta tesis.

Particularmente a las siguientes personas:

- Al Mg. Eder Clidio Vicuña Galindo, por su asesoría en el planteamiento e interpretación del análisis estadístico.
- Al PhD. Francisco Tarazona Vazques director del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Ingeniería y Tecnología-UTEC por facilitarnos los laboratorios de ensayo.
- Al laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad de Ingeniería y Tecnología-UTEC, por las facilidades para llevar a cabo los análisis de espectroscopia de absorción atómica (AA).
- Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la universidad Nacional Mayor de San Marcos por el apoyo económico para la adquisición de materiales necesarios para el ejecución de la tesis a través de la subvención financiera para el desarrollo de proyectos de investigación PCONFIG 2019, código del proyecto: C19070351.

DEDICATORIA

Nuestra tesis la dedicamos a nuestros padres, quienes han sido siempre el motor que impulsan nuestros sueños y esperanzas, quienes estuvieron siempre a nuestro lado en los días y noches más difíciles durante nuestras horas de estudio y que siempre han sido nuestros mejores guías de vida.

Gracias por ser quienes son y por creer en nosotros.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS 2

DEDICATORIA 3

LISTA DE TABLAS 9

LISTA DE FIGURAS 12

1. RESUMEN 18

2. INTRODUCCIÓN 19

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 21

5. JUSTIFICACIONES 27

6. FORMULACIÓN DE PROBLEMAS 28

6.1. Problema General 28

6.2. Problemas Específicos 28

7. OBJETIVOS 29

7.1. Objetivo General 29

7.2. Objetivos Específicos 29

8. HIPÓTESIS Y DESCRIPCIÓN DE VARIABLES 30

8.1. Hipótesis 30

8.2. Variables 30

8.3. Operacionalización de Variables 32

9. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN 33

10. ESTADO DEL ARTE 39

11. PRINCIPIOS TEÓRICOS 43

11.1. Fundamentos del tejido óseo 43

11.2. Magnesio y sus aleaciones 49

11.3. Corrosión del magnesio y sus aleaciones 58

11.4. Efectos del hidrógeno en el cuerpo humano 64

11.5. Biocorrosión y soluciones para simulación de condiciones fisiológicas 65

11.6. Modificación superficial de las aleaciones de magnesio 70

11.8. Método de evolución de hidrógeno (HE) 79

11.9. Otros métodos de evaluación de corrosión 81

11.10. Análisis de caracterización de recubrimientos 85

12. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL 90

12.1. Materiales, insumos y equipamientos 90

13. RESULTADOS Y DISCUSIONES 112

13.1. Preparación de las muestras de “espumas de magnesio” 112

13.2. Recolección del volumen de hidrógeno evolucionado 114

13.3. Concentraciones de magnesio en la solución SBF obtenidas mediante EAA 129

13.4. Velocidad de corrosión CR (mm/año) experimental de magnesio 130

13.5. Análisis de espectroscopia de absorción atómica 132

13.6. Comparación de concentraciones de Mg obtenidas mediante AA y determinadas experimentalmente 136

13.8. Caracterización de la superficie de los *scaffolds* “espumas de magnesio” 141

13.8.1. Imágenes SEM de superficies con medio de activación superficial alcalina 141

13.8.2. Análisis (EDS) para muestras con activación superficial alcalina 142

13.8.3. Imágenes SEM de superficies con medio de activación superficial fluorhídrica 145

13.8.4. Análisis por espectroscopía de energía dispersiva (EDS) para muestras con activación superficial fluorhídrica 147

13.9. Caracterización de la superficie revestida de los *scaffolds* “espumas de magnesio” después de la evaluación de la corrosión 150

13.9.1. Imágenes SEM de superficies con medio de activación superficial alcalina 150

13.9.2. Análisis (EDS) en medio de activación superficial alcalino 151

13.9.3. Imágenes SEM de superficies con medio de activación superficial fluorhídrica 154

13.9.4. Análisis (EDS) en medio de activación superficial fluorhídrica 156

13.10. Análisis estadístico 162

13.10.1. ANOVA para tasas de corrosión obtenidos experimentalmente 162

14. CONCLUSIONES 166

15. RECOMENDACIONES 167

16. REFERENCIAS 168

17. APENDICES 186

A. Determinación de la solución madre de colágeno 186

B. Determinación del área superficial de cada muestra 187

C. Registro de datos de pH en función de la temperatura para las muestras estudiadas 188

D. Obtención de las concentraciones experimentales de magnesio en la solución SBF y cálculo de las velocidades de corrosión. 200

D.1. Cálculo de ppm experimental de magnesio en la solución SBF 200

D.2. Cálculo de la velocidad de corrosión CR (mm/año) experimental 202

E. Análisis de espectroscopia de absorción atómica para la determinación de la concentración de magnesio en la solución SBF. 204

18. ANEXOS 208

A. El equilibrio dinámico de absorción y excreción de magnesio en el cuerpo humano 208

B. Principales propiedades mecánicas del hueso y algunos biomateriales. 209

C. Diagrama Pourbaix (potencial – pH) del magnesio 210

D. Protocolo para la preparación de la solución líquido corporal simulado (SBF) 212

E. Resumen de ventajas y limitaciones de experimentos *in vitro* de la evaluación de la corrosión. 215

F. Condiciones estándar de operación para la absorción atómica del magnesio (en base a Analytical methods for atomic absorption spectroscopy). 219

G. Obtención de concentraciones (ppm) en espectrofotómetro de absorción atómica- AA 220

H. Certificado de análisis de Colágeno Tipo I 222

I. Serie de normas ISO 10933 para evaluar la seguridad biológica de los dispositivos médicos. 223

J. Resumen de las ventajas y desventajas, y aplicaciones de biomateriales 224

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. *Operacionalización de las variables de investigación*.....32

Tabla 2. *Propiedades mecánicas del hueso.* 45

Tabla 3. *Clasificación de biomateriales.*.....48

Tabla 4. *Principales biomateriales metálicos usados.*.....49

Tabla 5. *Composición química de magnesio AZ31 en % en peso*.....52

Tabla 6. *Tabla de potenciales estándar de reducción.*.....54

Tabla 7. *Composición aproximada de soluciones estándar electrolíticas para simulación de las condiciones fisiológicas*.....66

Tabla 8. *Concentraciones de iones (mM) de SBF y del plasma sanguíneo.* 68

Tabla 9. *Clasificación de los métodos de evaluación de la corrosión según Kirkland et al. (2012).* 82

Tabla 10. *Nomenclatura de muestras.* 107

Tabla 11, *Diseño experimental.* 107

Tabla 12. *Diseño de experimento factorial 2x3.* 108

Tabla 13. *Diseño factorial (2x3) empleado para evaluar los efectos del medio de activación superficial y concentración sobre las tasas de corrosión en cada tratamiento.*.....111

Tabla 14. *Pesos iniciales y áreas superficiales de magnesio de cada muestra.*.....114

Tabla 15. *Volúmenes de hidrógeno evolucionado en muestras con activación superficial alcalino y revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w).*.....115

Tabla 16. *Volúmenes de hidrógeno desplazado en muestras con activación superficial fluorhídrico y revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w).* 119

Tabla 17. *Resumen global de volúmenes de hidrógeno evolucionado con activación superficial alcalino y fluorhídrico y revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w).*.....123

Tabla 18. *Registro de datos de temperatura, volumen de hidrógeno evolucionado, volumen final de SBF y ppm experimental de magnesio.*.....129

Tabla 19. *Velocidad de corrosión experimental CR de magnesio a partir de volumen de hidrógeno evolucionado y área superficial expuesta a corrosión.*.....131

Tabla 20. *Parámetros calculados para la dilución de las muestras.*.....132

Tabla 21. *Concentración de magnesio obtenida mediante AA luego de la inmersión en solución SBF.*.....135

Tabla 22. *Tabla comparativa de la concentración de Mg obtenida experimentalmente y mediante el uso de equipo de AA.*.....136

Tabla 23. *Velocidad de corrosión CR a partir de AA.*.....138

Tabla 24. *Tabla comparativa CR de Mg obtenida experimentalmente y mediante el uso de equipo de AA.*.....139

Tabla 25. *Análisis ANOVA*.....165

Tabla 26. *Datos para la determinación de la concentración madre de colágeno*.....186

Tabla 27. *Medida de pH y temperatura en muestras con activación alcalino y sin revestimiento de colágeno.*.....188

Tabla 28. *Medida de pH y temperatura en muestras con activación alcalino revestidas con colágeno al 16% (w/w).*.....190

Tabla 29. *Medida de pH y temperatura en muestras con activación alcalino revestidas con colágeno al 64% (w/w).*.....192

Tabla 30. *Medias de pH en muestras con activación alcalino y activación fluorhídrica sin revestimiento de colágeno.*.....194

Tabla 31. *Medias de pH en muestras con activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 16% (w/w).*.....196

Tabla 32. *Medias de pH en muestras con activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 64% (w/w).* 198

Tabla 33. *Principales propiedades mecánicas de biomateriales.* 209

Tabla 34. *Reactivos para la preparación de SBF (pH 7.40, 1L).* 213

Tabla 35. *Resumen de ventajas y limitaciones de experimentos in vitro de la evaluación de la corrosión.* 215

Tabla 36. *Resumen de condiciones estándar de operación según Analytical methods for atomic absorption spectroscopy.* 219

Tabla 37. *Procedimientos para evaluación de la seguridad biológica de dispositivos médicos.* 223

Tabla 38. *Resumen general de las ventajas y desventajas de los biomateriales clasificados por su composición química.* 224

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. *Estructura organizacional jerárquica del hueso.* 43

Figura 2. *Esquema del modelo conceptual de 4 fases para la curación de fracturas óseas.* ...47

Figura 3. *Representación esquemática de algunas fases de las aleaciones de Mg-Al.* 56

Figura 4. *Microestructura de la aleación AZ31 según Briceño et al. (2013).* 57

Figura 5. *Representación esquemática de etapas implicadas en el proceso de corrosión del magnesio.* 59

Figura 6. *Representación esquemática de corrosión galvánica externa e interna según Song and Atrens (1999).* 62

Figura 7. *Proceso de biocorrosión del magnesio puro en solución de SBF según Saad et al. (2016).* 69

Figura 8. *Secuencia de aminoácido típica en una molécula de colágeno.* 78

Figura 9. *Representación esquemática del montaje para la recolección de gas hidrógeno por el método volumétrico según Song et al. (2001).* 80

Figura 10. *Representación esquemática del espectrómetro de absorción atómica de un haz (Analytical methods for atomic absorption spectroscopy, s/f).* 86

Figura 11. *Representación de curva de calibración con un estándar (Analytical methods for atomic absorption spectroscopy, s/f).* 86

Figura 12. *Espectrómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000.* 87

Figura 13. *Microscópio electrónico de barrido FEI Quanta 200.* 89

Figura 14. *Representación de la toma de imágenes de una muestra de AZ31.* 89

Figura 15. *Activación superficial del scaffold "espumas de magnesio" en medio alcalino a) Limpieza de las muestras en baño ultrasónico. b) Inmersión en solución $KOH_{(ac)}$ 5M a ebullición*

en plancha de calefacción) Secado de muestras inmersas en $KOH_{(ac)}$ 5M en campana extractora......95

Figura 16. *Activación superficial del scaffold "espumas de magnesio" en medio acido a) Espuma de Mg encubada en solución $HF_{(ac)}$ al 40% (w/w). b) Secado de muestras $HF_{(ac)}$ al 40% (w/w) en campana extractora.*.....96

Figura 17. *Revestimiento de superficies de scaffold "espumas de magnesio" con colágeno a) Inmersión del scaffold de magnesio en solución de colágeno. b) Secado luego de la inmersión en solución de colágeno del scaffold de magnesio.* 98

Figura 18. *Aleación AZ31 dentro de embudo.* 99

Figura 19. *Inmersión de la muestra dentro de la solución de SBF.*.....100

Figura 20. *Sistema acondicionado para la captura del volumen de hidrógeno evolucionado.*101

Figura 21. *Digestión química y filtrado de la solución SBF.* 104

Figura 22. *Muestras originales de scaffolds "espumas de magnesio".*.....112

Figura 23. *Muestras de espumas AZ31 cortadas en 12 unidades para las pruebas de estudio.* 113

Figura 24. *Evolución de hidrógeno (ml/cm^2) para las aleaciones AZ31 con activación superficial alcalina revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w), sumergidas en SBF.*.....118

Figura 25. *Evolución de hidrógeno (ml/cm^2) para las aleaciones AZ31 con activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w), sumergidas en SBF.* 122

Figura 26. *Evolución de hidrógeno (ml/cm^2) para las aleaciones AZ31 con activación superficial alcalina y fluorhídrica revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w), sumergidas en SBF.* 125

Figura 27. *Medidas de pH para las aleaciones AZ31 con activación superficial alcalina y fluorhídrica revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w), sumergidas en SBF por 24h*.....126

Figura 28. *Espumas de Mg con activación superficial alcalina y sin revestimiento de colágeno antes de iniciar la corrosión*.....128

Figura 29. *Espumas de Mg con activación superficial alcalina y sin revestimiento de colágeno al finalizar la corrosión.* 128

Figura 30. *Curva de calibración de magnesio Absorbancia Vs Concentración (ppm).* 135

Figura 31. *Gráfica comparativa de concentraciones determinada experimental y obtenida mediante AA.* 138

Figura 32. *Gráfica comparativa de velocidades de corrosión promedio, determinada experimentalmente y obtenida a partir de AA.*.....141

Figura 33. *Imágenes SEM del aspecto del revestimiento de colágeno en superficies con activación superficial antes de sumergir en la solución SBF a) Revestimiento de 0%(w/w) de colágeno b) Revestimiento de 16%(w/w) colágeno c) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno* .142

Figura 34. *Medio de activación alcalina con revestimiento de 0%(w/w) de colágeno*.....143

Figura 35. *Medio de activación alcalina con revestimiento de 16%(w/w) de colágeno*.....144

Figura 36. *Medio de activación alcalina con revestimiento de 64%(w/w) de colágeno*.....145

Figura 37. *Imágenes SEM del aspecto del revestimiento de colágeno en superficies con medio de activación superficial fluorhídrica antes de sumergir en la solución SBF a) Revestimiento de 0%(w/w) de colágeno b) Revestimiento de 16%(w/w) colágeno c) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno- 50x d) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno- 200x* 146

Figura 38. *Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 0%(w/w) de colágeno.* 147

Figura 39. *Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 16%(w/w) de colágeno.* 148

Figura 40. *Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 64%(w/w) de colágeno.* 149

Figura 41. *Imágenes SEM del aspecto del revestimiento de colágeno en superficies con medio de activación superficial alcalino después de sumergir en la solución SBF a) Revestimiento de 0%(w/w) de colágeno b) Revestimiento de 16% (w/w) colágeno c) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno* 150

Figura 42. *Medio de activación alcalina con revestimiento de 0%(w/w) de colágeno*.....152

Figura 43. *Medio de activación alcalina con revestimiento de 16%(w/w) de colágeno*.....153

Figura 44. *Medio de activación alcalina con revestimiento de 64%(w/w) de colágeno*.....154

Figura 45. *Imágenes SEM del aspecto del revestimiento de colágeno en superficies con medio de activación superficial fluorhídrica después de sumergir en la solución SBF a) Revestimiento de 0%(w/w) de colágeno b) Revestimiento de 16%(w/w) colágeno c) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno.*.....155

Figura 46. *Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 0%(w/w) de colágeno.* 157

Figura 47. *Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 16%(w/w) de colágeno.* 158

Figura 48. *Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 64%(w/w) de colágeno.* 159

Figura 49. *Imágenes SEM de la superficie revestida de los scaffolds "espumas de Magnesio" antes y después de la* 160

Figura 50. *Diagrama de efectos principales.* 163

Figura 51. *Diagrama de efectos por interacciones.* 164

Figura 52. *Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.* 165

Figura 53. *Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación alcalino y sin revestimiento de colágeno.*.....189

Figura 54. *Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación alcalino revestidas con colágeno al 16% (w/w).* 191

Figura 55. *Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación alcalino revestidas con colágeno al 64% (w/w).* 193

Figura 56. *Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación superficial fluorhídrica sin revestimiento de colágeno.* 195

Figura 57. *Gráfica comparativa de valores de pH entre la activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 16% (w/w).* 197

Figura 58. *Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 64% (w/w).*.....199

Figura 59. *Esquema del equilibrio dinámico de absorción y excreción de magnesio en el cuerpo humano. Esquema del equilibrio dinámico de absorción y excreción de magnesio en el cuerpo humano.*.....208

Figura 60. *Diagrama de Pourbaix del magnesio según Atrens et al. (2017).* 210

Figura 61. *Representación gráfica de la preparación de la solución de SBF.* 213

Figura 62. *Resumen de las propiedades y aplicaciones de implantes ortopédicos a base de algunos biomateriales.* 226

Figura 63. *Representación gráfica del tiempo vs la fuerza mecánica que explica la relación entre la duración de regeneración ósea y la mantención de la integridad mecánica del implante de magnesio según Zhao et al.(2017)* …… *235*

INDICE DE ABREVIATURAS

SBF: Fluido corporal simulado

CR: Velocidad de corrosión

SEM/EDS: Microscopía electrónica de barrido con análisis atómico

EAA: Espectroscopía de absorción atómica

DRX: Difracción por Rayos X

XPS: espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

ICP-MS: Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente.

ICP-OES: Espectroscopía de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo

EIS: Espectrosocopia de impedancia electroquímica.

PDP: Potenciometria de polarización lineal.

CV: Coeficiente de variación

1. RESUMEN

En el campo innovador de los nuevos materiales, los *scaffolds* "espumas de magnesio" particularmente las aleaciones AZ31 se han vuelto una alternativa sumamente oportuna en situaciones donde se requiere la utilización de implantes ortopédicos. Sus funciones de biocompatibilidad, biodegradabilidad, propiedades mecánicas y promoción de la regeneración ósea hacen que este dispositivo temporal sea adecuado para evitar una nueva intervención quirúrgica como también dolencias e incomodidad. De lo anterior, el objetivo principal del estudio es revestir las superficies de *scaffold* “espumas de magnesio” con distintas concentraciones de soluciones de colágeno para evaluar la velocidad de biocorrosión en un ambiente simulado de condiciones fisiológicas. Primero, las aleaciones de magnesio AZ31 fueron modificadas superficialmente mediante: activación alcalina y activación fluorhídrica, y posterior inmersión en concentraciones de colágeno al 16% (w/w) y 64% (w/w), para luego evaluar la velocidad de corrosión mediante el método de evolución de hidrógeno, en un medio fisiológico simulado (SBF). Segundo, los resultados se caracterizaron mediante espectroscopía de absorción atómica (AA) y microscopía electrónica de barrido con análisis atómico (SEM/EDS), y para análisis estadístico se utilizó el método ANOVA. Los ensayos demostraron que los *scaffolds* con activación alcalina y sin revestimiento 0% (w/w), se corroen mas que los revestidos al 16% (w/w) y minimamente para 64%(w/w) de colageno, 7.92 ± 0.25, 2.51 ± 0.02 y 1.93 ± 0.07 mm/año respectivamente. Y para los *scaffolds* con activación fluorhidrica y sin revestimiento 0% (w/w) se corroen mas que los revestiods al 16% (w/w) y minimamente para 64% (w/w) de colageno, 2.35 ± 0.39, 1.22 ± 0.02 y 0.89 ± 0.22 mm/año respectivamente. También se demuestra a través del análisis ANOVA que hay un efecto significativo de la concentración de colágeno sobre la velocidad de corrosión que, a la vez, dicho efecto está modulado por el tipo de activación superficial utilizado.
Palabras clave: *scaffolds*, magnesio, colágeno, corrosión, ambiente fisiológico simulado.

2. INTRODUCCIÓN

La ingeniería biomédica es una disciplina de vanguardia innovadora en soluciones, que, crean productos que están orientados a mejorar la calidad de vida de las personas, centrándose en avances que integran tanto las ciencias básicas, las ingenierías (mecánica, eléctrica, química y computacional) y las ciencias de los materiales con la biología. De esta forma constituye un gran espacio en el mundo académico, cuyas investigaciones están relacionadas a las mejoras con respecto a problemas relacionados con fallas en los implantes ortopédicos y prótesis, diagnóstico sobre órganos, reparaciones de lesiones, rehabilitaciones y terapias, e inclusive mejoras en equipos técnicos de última tecnología (Coates y Takafumi, 2019; Gindis y Kaebisch, 2020).

El uso de nuevos materiales y biomateriales, activación superficiales y metodologías de revestimientos son algunas alternativas para la eliminación y/o disminución de probabilidad de falla de un implante ortopédico cuyo objetivo es el restablecimiento de la unidad anatómica dañada a causa de situaciones desfavorables. El titanio es el material más utilizado en los implantes ortopédicos a lo largo del tiempo, no obstante, su uso ha sido discutido por sus fallas como aflojamientos luego de las implantaciones y los productos de corrosión que comprometen a tejidos conexos. A raíz de ello, se plantea al magnesio como sustituto del titanio como material de implante ortopédico por sus cualidades mecánicas, químicas y biológicas; muchos investigadores han realizado estudios que lo avalan desde hace décadas (Ma y Niu, 2019; Yang et al., 2020; Xiong et al., 2019; Wang et al., 2019; Yazdimamaghani et al., 2017; Zhao et al., 2017; Zhao y Zhu, 2014; Abdal-hay et al., 2014; Hu et al., 2014; Li et al., 2016; Gu et al., 2009; Ghali et al., 2004).

El desafío en sí sobre el uso del magnesio como material para implante ortopédico es la vulnerable tasa de corrosión, más aún si es llevado a un ambiente de condiciones fisiológicas donde sería mucho más susceptible a mayor degradación. La presente investigación se basa en una serie de procedimientos desde activación superficiales en las muestras de aleaciones de magnesio (denominadas para esta investigación como scaffolds “espumas de magnesio”), revestimiento con soluciones de colágeno hasta las pruebas de evolución de hidrógeno. La data obtenida de los procedimientos mencionados permitió calcular la tasa de corrosión, la cual fue evaluada a través de un diseño factorial identificando a los factores más significativos en la tasa de corrosión. Se evaluaron los resultados de las tasas de corrosión mediante comparaciones entre las muestras revestidas y no revestidas, muestras con activación superficial alcalina o fluorhídrica a escala laboratorio y a partir de ello conocer el comportamiento de dichas muestras. La finalidad de este proceso, es de aportar al conocimiento del magnesio para su mejor uso en implantes biomédicos.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad los implantes ortopédicos para osteointegración son ampliamente usados en las prácticas quirúrgicas para la regeneración del tejido perdido. La regeneración del tejido óseo es de hecho uno de los principales campos que trata la ortopedia cuando se requiere reparar una fractura debido a enfermedades, traumas por accidentes o una no correcta unión celular después del implante. Para tener un alcance de lo significativo que son los problemas por fracturas, en los Estados Unidos se estima que aproximadamente en un año ocurren 600 000 fracturas por unión retardada (5 a 10% de los casos totales de fracturas en general) y 100 000 casos de no unión. Además de un fallo en la estabilización del implante, existen otros factores que llevan a una deficiencia en la recuperación del paciente como las características propias de éste junto con su estilo de vida, como por ejemplo enfermedades metabólicas sistemáticas crónicas, diabetes, medicamentos, poco cumplimiento con las rehabilitaciones, infecciones (Bishop et al., 2012).En China donde más de 3.5 millones de accidentes ocurren cada año, el 70% requiere de reparación ósea y por consiguiente, esto sugiere que se está demandando una enorme cantidad de implantes óseos adecuados que aún no puede ser cubierta por la baja disponibilidad de biomateriales para el tejido óseo (Yang et al., 2020; Gao et al., 2017).

Por muchos años, los pacientes antes de una operación quirúrgica no han tenido variedad de opciones de material ortopédico, teniendo que optar por los implantes clásicos que corresponden a los metales y sus aleaciones; en el caso de los implantes no metálicos (cerámicas, polímeros, componentes de carbón, etc.), estos no fueron ampliamente utilizados por su inherente bio-incompatibilidad, exceptuando a los polímeros y derivados que son opciones preferidas para scaffolds porosos en la ingeniería de tejidos (Stewart et al., 2019; Turnbull et al., 2018). Con respecto a los implantes metálicos y sus aleaciones, definitivamente tienen un

extenso historial de aplicación, la trayectoria del uso de estos mismos ha contribuido esencialmente a que se mejoren técnicas y/o métodos de cirugías y activación superficiales para reparación ósea, el uso y posterior reemplazo de opciones de implantes que abrieron paso a nuevos descubrimientos prometedores para el campo de los biomateriales y la bioingeniería en general (Markatos et al., 2016; Abdel-Hady y Niinomi, 2013).

Las investigaciones científicas de Mohamed (2016), Stewart et al., (2019) y Kumar et al., (2020) son algunas de las muchas investigaciones que hacen referencias históricas a tres metales en particular como materiales para implantes ortopédicos: acero inoxidable, cobalto, titanio (en su forma Ti-6Al-4V).

En primera instancia los implantes metálicos suelen ser mucho más rígidos comparados con los huesos naturales, lo cual lleva a una fuente importante de resorción ósea y eventual falla de dichos implantes (Wang et al., 2016). Según García et al. (2004) cuando se ha producido una falla se hace necesario remover ese implante, esta remoción se da fundamentalmente debido a patologías cutáneas y de aflojamiento reticular. El aflojamiento reticular de la prótesis es la principal complicación de la cirugía protésica, cuya incidencia de ocurrencia va incrementando con el paso del tiempo. En la mayoría de los casos, las causas pueden explicarse por factores mecánicos y/o estructurales, relacionados con el diseño y materiales de la prótesis, explicando el progresivo aumento de revisiones que se les tiene que realizar a los implantes con el paso de los años (Carter et al., 1998). Dentro de las patologías cutáneas están involucradas los eczemas (40-47%), dermatosis ampollosas (11%), reacciones inflamatorias (13%) donde el periodo de aparición es variable entre el primer día y los 15 años, cuya media de aparición se produce entre el segundo y tercer año; los implantes que se han relacionado con la aparición de lesiones

cutáneas son los de osteosíntesis: tornillos (25%), placas y tornillo-placas (29%), cerclajes (2%), clavos (10%), pero también los de sustitución articular (35%).

Otra causante de remoción es el aparente inexplicable dolor e incomodidad que muchas veces hace necesario una segunda intervención quirúrgica. Según Reith et al. (2015) indica que del total de personas atendidas para realizárseles una segunda intervención quirúrgica: el 31% fue por dolor, 31% por función disminuida y 68% por recomendación del cirujano. Y aunque existen varios estudios que han intentado cuantificar los costos de los procedimientos y los beneficios para el paciente, solo se cuenta con cifras aproximadas sin indicaciones establecidas (Bonafede et al., 2013; Stewart et al., 2019).

Anteriormente se ha mencionado sobre la pobre integración ósea que presentan algunos implantes, hecho común en los implantes metálicos, según Stewart et al., (2019) y Manrique-Moreno et al., (2011). En el cuerpo humano, la mayoría de los materiales metálicos experimentan una disolución química y/o electroquímica (Manam et al., 2017), causante de una alta probabilidad de corrosión debido a la pérdida de electrones y, a su vez, es causante de muchos casos de inflamación y aflojamiento en los implantes (Kumar et al., 2020). Además, si a esta corrosión se le adicionan las tensiones fisiológicas con las que estará en constante interacción, ocasionaría una falla prematura basada en el agrietamiento por corrosión bajo tensión de los implantes metálicos.

En las investigaciones de García et al. (2004) se mencionaron algunos ejemplos particulares de limitaciones de implantes metálicos, explicando consecuentemente desde la permanente falla del 316L acero inoxidable, que fue reportado por su baja resistencia a la fatiga y/o riesgo de sufrir deformación plástica, luego las aleaciones de cobalto reemplazaron la aplicación del acero inoxidable por un tiempo y después fueron inhabilitadas debido a que

liberaban iones carcinógenos en el organismo, para finalmente conocer a las aleaciones de titanio; el contraste del uso de las aleaciones de titanio repercute en que forman capas de óxido de titanio y por abrasión se liberan partículas de desechos en los tejidos de alrededor, ocasionando aflojamiento aséptico repentino a largo plazo.

Ante ello, la medicina ortopédica se ha convertido en un área que busca exhaustivamente alternativas para mejorar las condiciones de vida durante la fase de recuperación de los pacientes que fueron sometidos a intervenciones quirúrgicas de implante óseo. Pues en estos últimos años se está creando una alta demanda de implantes óseos, estimando que 2.8 millones de casos de reparación ósea son llevados a cabo anualmente en todo el mundo y se espera que para el 2023 el mercado mundial de implantes óseos alcance un valor aproximadamente de 75 billones de dólares (Yang et al., 2020).

Por ejemplo, si se proporciona estabilidad a las fracturas óseas, estos dispositivos (dependiendo de sus características como composición, tamaño de poro, propiedades mecánicas, biodegradabilidad) ayudarán de manera indirecta en los aspectos biológicos de regeneración ósea al disminuir el esfuerzo de corte no deseado. También en los casos de los reemplazos articulares sin cemento, que minimizan el micromovimiento en la interfaz hueso-implante y movimientos no deseados entre superficies óseas opuestas en la fusión espinal, mejoran la formación y remodelación ósea (Kienapfel et al., 1999; Subramani et al., 2018). Sin embargo, tener un correcto aspecto mecánico no siempre implica que habrá resultados totalmente positivos con la parte biológica. En el caso de titanio y sus aleaciones, estas poseen resistencia a la corrosión (no a largo plazo) y resistencia a la fatiga, compatibilidad con el organismo y de peso ligero. A pesar de ello, fallan con respecto a la estimulación activa de la osteointegración a nivel celular, por lo que necesita de procedimientos alternos de activación

superficiales para mejorar la eficiencia de este implante (Kumar et al., 2020), adicionalmente de los problemas de fallas por corrosión que pueden causar síntomas en el organismo. Se entiende que los implantes ortopédicos convencionales no presentan mucha compatibilidad con respecto a la regeneración y crecimiento del tejido óseo a pesar de tener adecuadas características mecánicas (García et al., 2004).

En consecuencia, surge como alternativa un nuevo material con propiedades similares al hueso humano en base a una aleación de magnesio (biomaterial) que posee ventajas tanto mecánicas como biológicas. La elección del uso de las aleaciones de magnesio se sustenta en que, a pesar de ser un material metálico, el magnesio propiamente es esencial para el organismo y paralelamente presenta ventajas como baja densidad (1.74 g/cm3) similar a la del hueso natural (1.75 g/cm3) y un módulo de Young (45 GPa) también similar al del hueso natural (40-57 GPa) Staiger et al., (2006), Chen et al., (2018) y Yang et al., (2020). Según Chen et al., (2018) indican que este biomaterial es biodegradable, induce la osteogénesis, es antibacterial y tiene un efecto antitumoral, mientras que Briceño et al. (2014) señalan que las aleaciones de magnesio se degradan rápidamente, y el magnesio puede ser absorbido por el cuerpo y eliminado posteriormente.

A pesar de tener características muy prometedoras, es un hecho que este biomaterial al estar compuesto casi en su totalidad por magnesio presenta una inherente alta tasa de corrosión en soluciones acuosas que promueven la alta reactividad química debido a diferencia de potenciales (Abdal-hay et al., 2013), y que en consecuencia produzcan situaciones negativas como pérdida de integridad mecánica antes de la restauración completa del hueso. Asimismo, durante la degradación del magnesio se genera hidrógeno, lo que puede dar lugar a abultamientos y necrosis del tejido circundante (Briceño et al., 2014).

En la presente investigación se estudió el comportamiento a la resistencia a la corrosión de las aleaciones de magnesio AZ31 recubiertas con soluciones de colágeno a diferentes concentraciones y tratadas superficialmente mediante dos técnicas diferentes. Esto con un enfoque hacia su potencial uso en aplicaciones biomédicas para osteointegración.

5. JUSTIFICACIONES

La ingeniería de tejidos se ha convertido en los últimos años en una importante alternativa para superar las dificultades con las que se enfrentan los ortopedistas para tratar de forma satisfactoria las enfermedades que afectan a huesos y el cartílago articular (Kumar et al., 2020). Entre tanto, la ingeniería de tejidos necesita de materiales que cumplan un rol biológico compatible integralmente; es por ello que se da la propuesta de revestir los materiales con potencial de implante (como los scaffolds “espumas de magnesio”) de suma importancia ya que se busca que estos materiales cumplan su papel de ser biocompatibles, biodegradables y bioabsorbibles generando el menor impacto negativo posible en los pacientes implantados (Kumar et al., 2020).

La investigación se desarrolló con la finalidad de buscar alternativas tecnológicas para el sector biomédico, dirigidas a las áreas de biomateriales e ingeniería de rehabilitación. Así mismo las espumas de magnesio al ser un biomaterial que viene en auge y todo lo que se investigue en torno a él aporta al conocimiento y avance del sector de los implantes biomédicos bioabsorbibles. Además, porque al controlar la degradación del material, se potencia el uso del mismo, lo que redunda en ventajas tanto económicas como sociales, al evitar segundas cirugías y menor riesgo para el paciente. También al usarse una espuma de magnesio, se promueve la interacción del material con los fluidos corporales, en consecuencia, promueve el crecimiento celular, y por tanto la del hueso.

Así mismo de generar aporte científico y tecnológico mediante la publicación de nuestra investigaciones y pruebas experimentales en revistas científicas y presente tesis. Generar nuevas interrelaciones académicas con otras universidades, como también la interacción con otros profesionales de distintas disciplinas de la ingeniería y las ciencias básicas.

6. FORMULACIÓN DE PROBLEMAS

6.1. Problema General

¿Cómo revestir las superficies de *scaffolds* "espumas de Mg" con distintas soluciones de colágeno para evaluar la velocidad de biocorrosión en un ambiente simulado de condiciones fisiológicas?

6.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es el método más adecuado para la activación superficial de las superficies de *scaffolds* "espumas de Mg" en la disminución de la tasa de biocorrosión?
- ¿Cuáles son las concentraciones de soluciones colágeno que se utilizarán para revestir las superficies de *scaffolds* "espumas de Mg" para la disminución de la tasa de biocorrosión?
- ¿Cómo evaluar la biocorrosión de los *scaffolds* "espumas de Mg" revestidas con las soluciones de colágeno?
- ¿Cómo se interpreta el efecto de la relación entre el método de activación superficial de los *scaffolds* "espumas de Mg" y el revestimiento de las mismas con soluciones de colágeno sobre la velocidad de biocorrosión?

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivo General

Revestir las superficies de *scaffolds* “espumas de Mg” con distintas concentraciones de solución de colágeno para evaluar la velocidad de biocorrosión en un ambiente simulado de condiciones fisiológicas.

7.2. Objetivos Específicos

- Evaluar y comparar el método más adecuado para la activación superficial de las superficies de *scaffolds* “espumas de Mg” en la disminución de la tasa de biocorrosión.
- Definir dos concentraciones de soluciones colágeno que se utilizarán para revestir las superficies de *scaffolds* “espumas de Mg” y comparar su eficiencia en la disminución de la tasa de biocorrosión.
- Evaluar el comportamiento de la biocorrosión de los *scaffolds* “espumas de Mg” mediante el método de evolución de hidrógeno en un ambiente simulado de condiciones fisiológicas.
- Correlacionar el método de activación superficial superficial de los *scaffolds* “espumas de Mg” y el revestimiento de las mismas con soluciones de colágeno a través del análisis estadístico para interpretar el efecto sobre la tasa de biocorrosión.

8. HIPÓTESIS Y DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

8.1. Hipótesis

8.1.1. Hipótesis General

El revestimiento de las superficies de *scaffolds* “espumas de Mg” con distintas concentraciones de solución de colágeno disminuye la velocidad de biocorrosión en un ambiente simulado de condiciones fisiológicas.

8.1.2. Hipótesis Específicas

- Los métodos de activación superficial de las superficies de *scaffolds* “espumas de Mg” con ácido fluorhídrico (HF) e hidróxido de potasio (KOH) disminuyen la tasa de biocorrosión.
- Una mayor concentración de colágeno en la superficie de los *scaffolds* “espumas de Mg” disminuye la velocidad de biocorrosión.
- El método de evolución de hidrógeno es adecuado para evaluar la velocidad de biocorrosión de los *scaffolds* “espumas de Mg” revestidos con colágeno en un ambiente simulado de condiciones fisiológicas.
- El análisis estadístico ANOVA factorial permite determinar la relación entre el método de activación superficial de los *scaffolds* “espumas de Mg” y el revestimiento de las mismas con soluciones sobre la tasa de biocorrosión de los *scaffolds* “espumas de Mg” revestidos con colágeno.

8.2. Variables

8.2.1. Variables Continuas

- Aleación de Mg AZ31.

- Colágeno como biopolímero de revestimiento.

8.2.2. Variables Independientes de Estudio

- Soluciones de colágeno al 16% w/w y 64% w/w.
- Medios de activación superficiales: Alcalino (con hidróxido de potasio 5M), fluorhídrico (ácido fluorhídrico 40% w/w).

8.2.3. Variables Independientes Fijas

- Temperatura de SBF: Entre 37 ± 1°C.
- Tiempo de inmersión en solución de colágeno: un minuto.
- Tiempo de secado: quince minutos.
- pH: 7.4 ± 0.3

8.2.4. Variables Dependientes

- Tasa de corrosión (CR).
- Morfología superficial observada en el microscopio electrónico de barrido (MEB/EDS).

8.3. Operacionalización de Variables

Tabla 1

Operacionalización de las variables de investigación

Variables	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Categorías o Dimensiones	Indicador
Soluciones de colágeno	Variable Independiente	Sustancia química utilizada para revestir las superficies del *scaffold* de Mg	Revestimiento	% concentración (w/w)
Activaciones superficiales (alcalino – fluorhídrico)	Variable Independiente	Procedimiento para la modificación superficial de los *scaffolds* de Mg	Activación de la superficie del *scaffold* de Mg	-Soluciones alcalinas - Soluciones ácidas
Tasa de corrosión	Variable Dependiente	Método para medir la pérdida de masa de una muestra expuesta a un ambiente simulado de condiciones fisiológicas	Desgaste superficial	Tasa de corrosión (mm/año)

9. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

- **El cuerpo humano y el hueso**

El cuerpo humano y el hueso están extraordinariamente conformados por diferentes estructuras con funciones únicas, divididas en tejidos y órganos presentes en el organismo; donde una de las principales estructuras sumamente indispensable para la motricidad es el sistema óseo. Este sistema presenta una estructura compleja basada en células, proteínas, minerales, macromoléculas adicionales y agua, que al mismo tiempo es común para cualquier hueso localizado en el organismo.

El hueso es declarado un material sumamente inteligente porque al ser un tejido dinámico - altamente vascularizado, presenta grandes cualidades como tener capacidad única de recuperación y remodelación sin dejar rastro de incidente alguno, capacidad rápida para movilizar almacenamientos minerales dependiendo de la demanda metabólica y sin dejar de lado sus principales funciones de movilidad y protección de órganos (Sommerfeldt y Rubin, 2001). El esqueleto de una persona adulta está conformado por dos tipos de estructuras: hueso esponjoso (aproximadamente el 20% del esqueleto) cuya porosidad es alta (50-90%) y hueso compacto o cortical (conforma el 80% restante del esqueleto) cuya estructura está constituida solo hasta 10% de porosidad (Sikavitsas et al., 2001). Cabe resaltar que una de las propiedades más sobresalientes del hueso es su constitución matricial, compuesta de una parte mineral (en base a hidroxiapatita que representa el 65-70% de la matriz) y una parte orgánica (el 25-30% restante de la matriz) donde se encuentran diferentes proteínas con determinadas funciones, haciendo mención principalmente al colágeno que provee la estructura y calcificación de la matriz (Salgado et al., 2004). Para entender el funcionamiento y conformación del hueso, es de interés conocer la funcionalidad de tres células específicas que son las que confieren los resultados de

elaboración, mantenimiento y resorción del hueso: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos (Mackie, 2003).

Ocurren diferentes formas y situaciones que hacen necesario el uso de implantes ortopédicos para reconstrucción de la estructura ósea, cuyo proceso de activación superficial - curación es realmente complejo por los aspectos biológicos y químicos que involucran (Ghiasi et al., 2017). La necesidad proviene cuando existe una separación mayor a 1 mm entre las dos estructuras formadas por la fractura ósea y por ello se recurre a los implantes ortopédicos (García, 2015). En este caso debe darse como paso inicial la selección del material; cuyo éxito de este material no solo estará basado en las propiedades químicas y físicas, sino también de la biocompatibilidad de este con el organismo y la capacidad de recuperación del paciente luego de la cirugía de implantación (Manivasagam et al., 2010).

Los implantes biomédicos, en especial los implantes porosos, la morfología y el tamaño de los poros es un aspecto clave para controlar la función mecánica del implante óseo durante y después del proceso de regeneración del tejido (Mohamed, 2016). Según (Abdel-Hady Gepreel y Niinomi, 2013) señalan que las propiedades mecánicas de las espumas metálicas se pueden alterar y optimizar controlando con precisión la porosidad, el tamaño, la morfología y la distribución de los poros durante su fabricación. La mayoría de los métodos empleados para la fabricación de espumas metálicas generan una estructura celular aleatoria que conlleva en muchos casos a que las propiedades del material sean impredecibles. A raíz de lo mencionado, es necesario el desarrollo de espumas metálicas con una estructura y porosidad controlada.

Las espumas metálicas para implantes presentan un bajo modulo elástico y dependiendo de la porosidad es posible adaptarlo a un valor cercano al módulo del hueso reduciendo los problemas de apantallamiento por esfuerzos, muy comunes en implantes óseos compactos.

Dentro del desarrollo de nuevas aleaciones de magnesio con estructura porosa, se presentan propiedades potenciales para su uso como implantes ortopédicos, ya que es posible lograr una mejor fijación a través del crecimiento del tejido óseo dentro de la matriz porosa (Abdel-Hady Gepreel y Niinomi, 2013).

La ingeniería de tejidos de esta manera, busca entender la formación y regeneración de tejidos para inducir nuevos tejidos funcionales (Kneser et al., 2002). Encaminándose a este nuevo propósito de la ingeniería de tejidos, los implantes clásicos quedan fuera de lugar, de otro modo se les tiene que aplicar procedimientos alternos para mejorar sus propiedades (Kumar et al., 2020). Debido a ello, se introducen a los "*scaffolds*" (denominados también como matrices temporales para crecimiento óseo) que proporcionan a las células óseas un entorno de tejido específico y diseño estructural estable. En los *scaffolds* se tiene en cuenta la selección de un material adecuado cuyas propiedades macro y microestructurales son las de mayor importancia, porque no solo considera la supervivencia celular, crecimiento, propagación y reorganización; también influye en su expresión genética y preservación (Salgado et al., 2004).

El magnesio en la medicina según Witte (2010), narra que el magnesio se informó por primera vez para su aplicación médica en 1878 como ligaduras, el médico Edward C. Huse usó cables de magnesio para detener los vasos sanguíneos de tres pacientes en 1878 y observó que la corrosión del magnesio *in vivo* era más lenta y el período de degradación dependía del tamaño del alambre de magnesio. Sin embargo, el alambre de magnesio puro era demasiado frágil para anudarlo fácilmente; por lo tanto, algunos elementos fueron aleados en magnesio para aumentar su ductilidad. En 1900, el médico Erwin Payr introdujo la idea de usar placas y láminas de magnesio en las articulaciones de los animales para recuperar o preservar el movimiento articular. Las láminas de magnesio se implantaron en la articulación de la rodilla de perros y

conejos, y luego los materiales se habían corroído completamente después de 18 días o pocas semanas, dependiendo de su grosor.

De acuerdo con Chen et al. (2018), desde finales del siglo pasado, una nueva ronda de estudio sobre magnesio y sus aleaciones como materiales biodegradables han mostrado notables progresos. En 2013, la empresa Biotronic en Alemania obtuvo la marca CE1 en un *stent* coronario de aleación de Mg biodegradable y dirigió el desarrollo de *stents* coronarios metálicos biodegradables. En el mismo año la empresa Syntellix Co. en Alemania obtuvo la marca CE en un tornillo de aleación de Mg biodegradable después del ensayo clínico para tratar la cirugía de hallux valgas. En diciembre de 2016, MAGNEZIX continuó dejando su marca: con 25,000 implantes MAGNEZIX®, se colocaron más implantes en el mercado en solo 12 meses que en los últimos 2.5 años. Según Lee et al. (2016), en 2015, el Ministerio de Seguridad Alimentaria y Farmacéutica de Corea del Sur anunció la aprobación del tornillo metálico biodegradable K-MET para la osteosíntesis o la fijación de un hueso roto fabricado en U&I Corporation. Se reportaron 53 casos de fracturas de manos y muñecas fijadas con tornillo de aleación de MgCaZn. Por último, Zhao et al., (2016) hace referencia que en China se utilizó un tornillo de Mg puro para la cirugía de preservación de la cadera con implantación de injerto óseo vascularizado y han finalizado más de 100 casos de ensayos clínicos.

A partir de todas las menciones descritas, el magnesio biodegradable y sus aleaciones muestran un gran potencial para ser utilizados como una nueva clase de biomateriales para implantación y están atrayendo mucha atención debido a sus características de biodegradación

[1] CE son siglas conocidas como el Marcado de Conformidad, aduciendo que un producto cumple con las normas europeas.

(Zhao et al., 2017), anti inflamación (Peng et al., 2013), antitumoral (Wang et al., 2014), antibacterial (Robinson et al., 2010) inductividad de osteogénesis (Zhai et al., 2014) y algunas otras propiedades biofuncionales (Zeng et al., 2013).

Aunque el magnesio ha sido declarado como un biomaterial viable para implantes ortopédicos, su aplicación está supeditada a la necesidad de controlar su resistencia a la corrosión, lo que ha disparado el número de estudios realizados en los últimos años y los cuales abarcan diversas técnicas (Dorozhkin, 2014; Thormann et al., 2015, Narayanan et al., 2015;). Entre las alternativas abordadas, se destacan el desarrollo de nuevas aleaciones de magnesio (Sanchez et al., 2015; Witte et al., 2005; Nam, 2014), el recubrimiento y la modificación superficial de las aleaciones de magnesio (Poinern et al., 2013; Zeng et al., 2016).

- **Recubrimientos en biomateriales**

En el caso particular de aplicación de recubrimientos, que presentan alta compatibilidad entre su superficie y el fluido biológico, se pueden generar películas de tipo inorgánico que generalmente están compuestas de óxidos cerámicos (Abdal-Hay et al., 2014; Song et al., 2008) así como de naturaleza orgánica, entre las que se han investigado diferentes polímeros para recubrir la superficie del magnesio y sus aleaciones, entre los que se destacan: PLA (ácido poliláctico) (Shi et al., 2015), PLGA (ácido poliglicolico) (Ostrowski et al., 2013; Zhang et al., 2016), PCL (policaprolactona) (Ostrowski et al., 2013; Tian et al., 2016), CHI (quitosano) (Abdal-Hay et al., 2014; Bai et al., 2012). Dichos polímeros usualmente son depositados mediante técnicas como sol-gel, *spin coating* o *dipcoating*, *electrospray*, *layer-by-layer* (LbL) (Niu et al., 2016; Aegerter y Mennig, 2014; Chen y McCarthy, 1997).

Por otro lado, se encuentran los recubrimientos orgánicos empleados en conjunto con los recubrimientos inorgánicos formados sobre la superficie del magnesio para formar un sistema

dúplex, constituidos principalmente por sistemas multicapas, surgiendo como una alternativa versátil bien sea para corregir alguna falencia en alguna de las capas o para funcionalizar la superficie mediante el aporte de diferentes características brindadas por cada una de las capas (Shi et al., 2015; Bakhsheshi-Rad et al., 2016).

- **Biopolímeros**

Dentro de las investigaciones más recientes en el campo de los polímeros para aplicaciones biomédicas, se encuentran los microgeles inteligentes, los cuales tienen la capacidad de responder a señales biológicas en vivo o estimuladores remotos. Los microgeles son partículas coloidales con redes polimérica entrecruzadas y dimensiones en un rango desde decenas de nanómetros a micrómetros, y que en nanomedicina pueden llegar a crear sistemas de microgeles compuestos con partículas de DNA o proteínas (Wang et al., 2019).

Gracias a sus propiedades químicas, físicas y biológicas, los péptidos han emergido como una nueva clase de biomateriales desde hace aproximadamente una década, donde se puede dar lugar a aplicaciones como purificación de proteínas con biomoléculas, liberación controlada de medicamentos, ingeniería de tejidos e ingeniería de biosuperficies. Entre los péptidos investigados se encuentran: poli-aminoácidos, polipéptidos tipo elastina, polímeros derivados a partir de la seda, entre otros (Chow et al., 2008).

Específicamente en *scaffolds* basados en espumas de magnesio para uso en ingeniería de tejidos, se han realizado varios estudios sobre recubrimientos de biopolímeros tales como policaprolactona (PCL), policaprolactona-vidrio bioactivo (PCL-BaG), gelatina-vidrio bioactivo/policaprolactona-vidrio bioactivo (Gel-BaG/PCL-BaG), los cuales han sido usados a fin de disminuir la tasa de degradación de las aleaciones de magnesio (Mostafa et al., 2017).

10. ESTADO DEL ARTE

A lo largo del tiempo, se han realizado diversos estudios sobre recubrimientos para diferentes superficies con fines de mejora continua, ya sean aleaciones de metales o *scaffolds* a base de polímeros sintéticos o biopolímeros, y mejoras en las características o propiedades que pueden conferir estos recubrimientos cuando se utiliza colágeno u otro polímero. Algunos de ellos son:

Lee y Kim (2011) llevaron a cabo estudios de recubrimientos de colágeno a diferentes concentraciones de solución (0.5, 2, 4 wt%) sobre una superficie *scaffold* (tamaño de poro 300 ± 20 μm) hecha del polímero sintético PCL y β-TCP para observar sus efectos. Donde se observó que la concentración de colágeno mejora las propiedades como inducción a alta hidrofilicidad, mejoramiento de la habilidad de absorción de agua y promoción de una inicial adhesión celular sin comprometer las propiedades mecánicas de la superficie del *scaffold*. Además, para finalizar el proceso de revestimiento, el *scaffold* tuvo que ser sumergido en 50 mM de solución EDC en 95% etanol para que pueda realizarse el proceso de *cross-linking*, ya que la gran limitación que presenta el colágeno es su rápida tasa de biodegradación en aplicaciones *in vitro* e *in vivo*. Esta técnica ha mostrado tener éxito en la disminución de la tasa de biodegradación, por lo que es aprovechado para mantener la integridad estructural del material a recubrir.

Zhao y Zhu (2014), dieron alcance de cómo las moléculas de colágeno interactuaban con un metal en fase sólido en la interfase, así como la posterior adhesión celular. Realizaron pruebas de recubrimiento de la superficie de Mg (AZ31) con colágeno y Mg puro, las soluciones de este biopolímero fueron preparadas a concentraciones de 10, 50, 100 y 200 μg/m, respectivamente. Ejecutaron pruebas para medir los efectos de la concentración del colágeno, pH, espesor de la superficie; también se midieron la adhesión y proliferación celular. Se concluye que la

concentración influye en la estructura y conformación de la capa de revestimiento de colágeno, donde en Mg puro a concentraciones menores de 50 µl/mg no se observaba ni estructura uniforme ni fibras, caso contrario con el AZ31 que si mostraron formación de largas fibras y a la concentración de 200 µg/ml ya había una estructura de red multicapas. Además, las estructuras se condicionan también con el pH y el aumento del tiempo de ensamblaje; los materiales que mostraron una superficie áspera mostraron una fuerte habilidad de absorción de colágeno. Discutieron que lo ideal sería que los implantes ortopédicos no sólo deberían estimular el crecimiento celular óseo, sino también apoyar el ensamblaje de monómeros de colágeno a fibras nativas en la interface del implante óseo.

Se realizaron estudios para demostrar la influencia positiva de recubrimientos de colágeno tipo I con diferentes contenidos de estroncio (Sr) sobre aleaciones de magnesio-zirconio (Mg-Zr). Los resultados indican que el recubrimiento de colágeno con contenido de Sr al 5%(w/w) (considerando que se llevaron a cabo recubrimientos solo al 2%(w/w) y 5%(w/w)) mejoró significativamente la actividad inductora ósea en experimentos *in vivo* e *in vitro*, y que básicamente si se controla el contenido de estroncio se puede mejorar la formación ósea y la actividad de mineralización. Se discute también que es necesaria una mayor optimización y modificación de las características superficiales de las aleaciones de magnesio con la finalidad de que sean más adecuadas para las aplicaciones médicas tanto biológicamente y fisicoquímicamente (Mushahary et al., 2014).

Es viable estudiar las interacciones entre la fibroína de seda y colágeno mediante mediciones viscosimétricas, preparando un compuesto 3D hecho de la mezcla de estos nanocompuestos. Para la optimización y mejoramiento tanto de propiedades mecánicas como químicas de biomateriales, los polímeros naturales pueden ser mezclados, dando lugar a un

nuevo biomaterial que represente las ventajas de cada nanocompuesto y compense las desventajas entre ellas. En las mediciones viscosimétricas, se llegó a la conclusión de que una mezcla de dos biopolímeros es miscible en todas las composiciones. En cuanto a las propiedades mecánicas, la adición de colágeno a la fibroína de seda disminuye la fuerza de tensión y aumenta la elasticidad. Sin embargo, esta espuma a base de la mezcla de fibroína de seda/colágeno tiene suficiente integridad mecánica para resistir durante la implantación y carga *in vivo*. Por último, las propiedades mecánicas dependen del contenido de agua en el espécimen e incluso de la humedad relativa del ambiente en el laboratorio (Sionkowska et al., 2016).

Xiong et al., (2018) realizaron experimentos de inmersión y mediciones electroquímicas en muestras de aleación Mg-1Ca para revestimiento con películas de fibroína de seda desarrollada con Ca, Sr/P (denominada también como seda Ca, Sr/P), con la finalidad de evaluar la propiedad de resistencia a la corrosión, osteocompatibilidad, mantenimiento de la integridad mecánica y estimulación de formación de hueso. De las tres muestras de aleaciones de Mg-1Ca (sin recubrir, recubierto con seda Ca/P, recubierto con seda Ca, Sr/P) se observó que las mediciones de ángulos de contacto aumentaron, siendo los valores 19.5 ± 0.6°, 32.0 ± 0.1° y 37.1 ± 0,6° respectivamente, evidenciando la disminución de la hidrofilicidad. Luego en las pruebas de inmersión en solución de Hank de 10 a 30 días, se reveló que luego de 30 días la muestra sin recubrir mostraba corrosión más severa que las otras. Las mediciones electroquímicas confirmaron que los componentes de las películas actuaron como una barrera efectiva para retrasar la corrosión significativa del sustrato.

La realización de un revestimiento directo es un gran desafío ya que enlaces químicos fuertes no pueden ser formados entre materiales inorgánicos y orgánicos fácilmente, por lo que es necesario métodos de activación superficial para modificar la superficie de una aleación de

MgZnCa (98 wt%) antes de ser revestido con fibroína de seda; los métodos de activación superficial estudiados fueron: activación por vacío de ozono-ultravioleta (VUV/O_3) y activación de plasma de O_2. La activación VUV/O_3 mejora la hidrofilicidad de la superficie de aleación de MgZnCa (limpieza con remoción de contaminantes orgánicos); en los experimentos *in vitro*, el valor de la variación se pH se mostró mucho más estable en las muestras activadas con VUV/O_3 (7.98 a 8.04) en los primeros 30 días (fin del periodo de degradación), mientras que en la muestra sin activación el pH aumentó significativamente de 7.40 a 9.06 e inclusive siguió aumentando luego del mismo lapso de tiempo especificado, lo que indica la pobre resistencia a la degradación de la aleación de Mg; con respecto a la activación de plasma de O_2 el rango fue ligeramente más grande que el rango obtenido por activación VUV/O_3. En experimentos *in vivo*, la fibroína de seda revistiendo a la aleación de MgZnCa manifestó una tasa de degradación mucho más lenta (1/18 veces) que la aleación de MgZnCa sin activación superficial por aproximadamente unos 180 días sin causar inflamación (Wang, 2019).

11. PRINCIPIOS TEÓRICOS

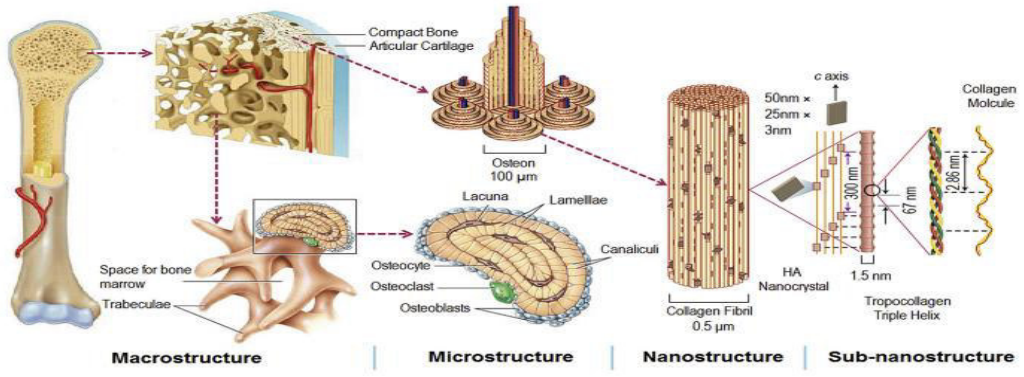
11.1. Fundamentos del tejido óseo

11.1.1. Estructura organizacional jerárquica del hueso

Se observa en la **Figura 1** los niveles macroestructurales, donde el hueso es dividido en hueso compacto (determinado para osteocitos, vasos sanguíneos, cavidades de erosión, etc.) y hueso trabecular (donde hay más espacios denominados poros). Luego, en el nivel microestructural encontramos el componente básico del hueso compacto denominado osteonas, y por el lado del hueso trabecular está una red porosa donde desempeñan sus funciones las principales células óseas. En nivel nanoestructural, se encuentra la fibrilla de colágeno formada por colágeno tipo I e hidroxiapatita, donde la fibra de colágeno es tanto para el hueso compacto como para el hueso trabecular un elemento de construcción universal. Por último, el nivel subnanoestructural lo conforma la molécula de colágeno con su estructura triple hélice (Wang et al., 2016).

Figura 1

Estructura organizacional jerárquica del hueso.



Nota. Imagen extraída de la investigación de X. Wang et al. (2016) “Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone *scaffolds* and orthopaedic implants: A review”.

11.1.2. Principales tipos de células óseas

García (2015) describe el origen y las funciones de cada una de ellas: Empieza con los osteoblastos, que provienen de células progenitoras mesenquimales no hematopoyéticas de la médula; son células encargadas tanto de la formación del tejido óseo como la producción de proteínas como el colágeno tipo I y osteocalcina, que en conjunto conforman la matriz ósea. Están ubicados en una membrana que actúa como envoltura de la parte externa de los huesos medianos y grandes, e incluso la membrana endosteal (que se desarrolla internamente en la pared del canal medular).

Luego, llega un punto en el que la matriz ósea se mineraliza y los osteoblastos al culminar sus funciones se convierten en osteocitos. Los osteocitos tienen la importante función de mantención constante del equilibrio entre las fracciones minerales y orgánicas del hueso (por medio de sus canales), además de favorecer el intercambio de materiales entre fluidos, tejidos y la matriz, haciendo que el hueso se mantenga como un tejido vivo.

Finalmente menciona a los osteoclastos cuya principal intervención es en la reabsorción ósea, son células de tamaño grande (20 a 100 µm de diámetro) y polinuclear. Estas células provienen de células pluripotenciales de la médula ósea y a la vez son altamente reconocidas por dar origen a células del sistema inmune (como macrófagos, monocitos, etc.); los osteoclastos mediante las integrinas, que son proteínas para la unión celular, se unen a la superficie del hueso y disminuyen el pH del medio local. El objetivo de esta disminución local del pH es el incremento de la solubilidad de los cristales de

hidroxiapatita, para que una vez que la fase mineral haya sido eliminada, los componentes orgánicos de la matriz sean hidrolizados por medio de un proceso denominado digestión proteolítica.

11.1.3. Propiedades mecánicas del hueso

Las propiedades mecánicas varían en cuanto a unidad anatómica, calidad del hueso y edad, por lo que dentro de las propiedades biomecánicas del hueso (resistencia, rigidez, fatiga y fluencia) se debe considerar de mayor relevancia el módulo elástico y resistencia del hueso, ambos son anisotrópicos.

En el caso del hueso compacto, este es más fuerte y más rígido cuando se le aplican cargas longitudinales a lo largo del eje diafisiario[2] que cuando se le carga en dirección transverso radial. Por otro lado, el hueso trabecular depende tanto de la porosidad y la disposición arquitectónica de las trabéculas individuales (Wang et al., 2016).

Tabla 2

Propiedades mecánicas del hueso.

Propiedad	Hueso cortical longitudinal	Hueso cortical transversal	Hueso medular
Resistencia a la tracción (MPa)	80 – 151	51 – 56	10 – 20
Resistencia a la compresión (MPa)	130 – 220	100 – 130	10 – 12

[2] La diáfisis es la porción cilíndrica intermedia de los huesos largos comprendida entre los dos extremos o epífisis, formada por una capa de tejido óseo compacto.

Módulo de Young (GPa)	17 – 20	6 – 13	0.1 – 0.5

Nota. La información usada le pertenece a García (2015) de su investigación doctoral "Biomateriales metálicos endoprotésicos: biocompatibilidad y biodegradación".

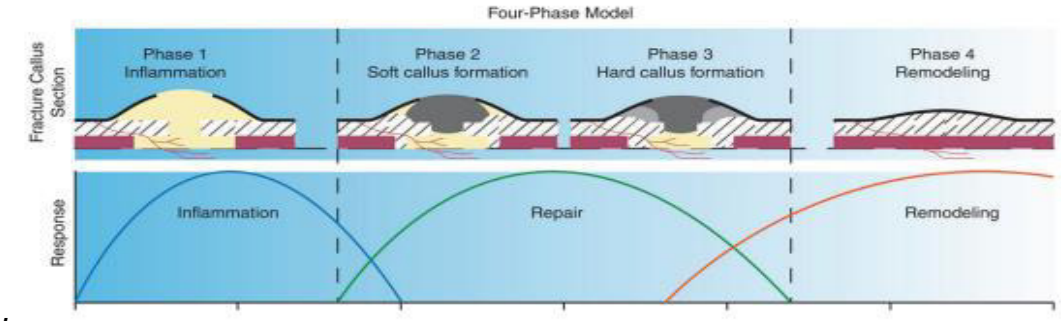
11.1.4. Mecanismo de curación de la estructura ósea

La curación de una fractura empieza con una fase inflamación, donde el volumen del tejido local aumenta mediante la inflamación, mientras se forma un hematoma que actúa como un *scaffold* temporal para diferenciación en el tejido fibroso, cartílago y hueso. Luego, comienza el proceso de angiogénesis y la matriz de colágeno se depositará, como resultado se tiene la formación del callo blando. Sin embargo, el callo blando aún no es lo suficientemente fuerte para que provea un adecuado soporte mecánico (Jiang y Liu, 2016). Después el callo blando se mineraliza y se convierte en callo duro. La etapa final es la fase más lenta porque consiste en la recuperación y remodelación del hueso fracturado.

Durante todo el proceso de curación del hueso, la interacción de varios factores de crecimiento biológicos influye en la formación del nuevo hueso a través de procesos celulares como la proliferación celular, migración, diferenciación, etc. (Ghiasi et al., 2017). En la **Figura 2** se observa un esquema que enfoca la sección donde está la fractura con las fases de curación y sus respectivas respuestas a cada fase.

Figura 2

Esquema del modelo conceptual de 4 fases para la curación de fracturas óseas.



Nota. El esquema está basado en la investigación de Pivonka y Dunstan (2012) de la investigación "*Role of mathematical modeling in bone fracture healing*".

El tiempo de una fractura en curarse toma de tres a seis meses (Jiang y Liu, 2016; Wang et al., 2019), por lo que tener una mejor comprensión del mecanismo de curación del hueso ayuda al diseño de mejores biomateriales que provean tanto el soporte mecánico como la baja inducción de respuesta inflamatoria (Jiang y Liu, 2016).

Según Masaeli et al. (2019) no existe un consenso entre autores que declare un concepto universal de biomaterial y, en términos generales, la moderna definición de biomateriales indica que son cualquier material natural o artificial (distinto de los fármacos) que pueda interactuar con tejidos vivos y que desempeña al menos una "función particular" sin producir un efecto negativo (ver **Tabla 3**).

Tabla 3

Clasificación de biomateriales.

Base de clasificación	Clase de biomaterial
Composición química	Metálico, polimérico, cerámico, compuesto
Origen	Natural, sintético, híbrido (semisintético)
Dimensiones	Macrométrico, mincrométrico, nanométrico
Interacción con tejidos vivos	Bioinerte, bioactivo
Biodegradabilidad	Bioestable, biodegradable
Integridad estructural	Poroso, no poroso
Objetivo de aplicación	Diagnóstico, terapéutico, preventivo, restaurativo, regenerativo
Lugar de aplicación	Extracorporal, intracorporal
Duración del contacto con el cuerpo	Limitado (≤1 d), prolongado (>1 d y <30 d), permanente (>30 d)

Los biomateriales metálicos son uno de los primeros materiales biológicos desarrollados para el uso humano, Kumar et al. (2020) y Zaroog et al. (2019) coinciden en que estos materiales son muy importantes en el campo de la ingeniería de tejidos por su alta resistencia mecánica y tenacidad, excelente resistencia a la fatiga, son moldeables, tienen adecuada biocompatibilidad y promueven la regeneración del hueso. Pese a lo antes mencionado, las desventajas de estos dispositivos metálicos es que normalmente se

recurre a una segunda cirugía para su remoción del cuerpo (por no ser biodegradable). En la **Tabla 4** se reportan los biomateriales metálicos empleados actualmente:

Tabla 4

Principales biomateriales metálicos usados.

Biomaterial	Ventajas	Desventajas	Principales usos
Acero inoxidable	• Bajo costo • Disponibilidad	• Alto módulo elasticidad	• Prótesis de cadera (clavos, tornillos, placas)
Aleaciones de cobalto	• Resistencia al desgaste, corrosión y fatiga	• Alto módulo elasticidad • Menor disponibilidad	• Articulaciones (cadera, rodilla)
Titanio y sus aleaciones	• Biocompatibilidad • Bajo módulo de elasticidad • Resistencia a la fatiga y corrosión	• Baja resistencia al desgaste	• Implantes dentales y articulaciones como vástago (cadera, rodilla; clavos, placas, tornillos)
Magnesio y sus aleaciones	• Biodegradabilidad	• Rápida cinética de biocorrosión	• Clavos, placas, tornillos

Nota. Recopilado del artículo de investigación de García (2015) en “Biomateriales metálicos endoprotésico: biocompatibilidad y biodegradación”.

11.2. Magnesio y sus aleaciones

11.2.1. Magnesio como mineral en el organismo humano

Magnesio es el cuarto mineral más frecuente en el cuerpo humano, actúa como un elemento esencial tanto para la construcción del hueso como para el tejido blando (Yang et al., 2020). Procede de alimentos y suplementos dietarios, estos son distribuidos a través

del cuerpo para que favorezcan a los procesos de los sistemas circulatorio, muscular, esquelético, nervioso y el transporte global de energía. Cavallo y Flores (2017) indican que existe absorción de magnesio a nivel intestinal a través del gradiente electroquímico sin estar controlado por regulaciones hormonales, también gran cantidad de magnesio es adsorbido en las superficies de los huesos sirviendo a manera de reserva y, por otra parte, una cantidad de magnesio ingresa a las células según lo requerido; lo demás de magnesio queda en el plasma sanguíneo y espacio intersticial. La característica más significativa del magnesio es la de su participación en procesos celulares importantes actuando como un cofactor enzimático, entre estos procesos tenemos: síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, desfosforilazción del ATP, mantenimiento del potencial de membrana celular (debido a la regulación ejercida sobre el flujo de sodio, potasio y calcio), e influencia en el acoplamiento de la excitación y contracción del músculo esquelético (Naroo et al., 2013; Schweigel and Martens, 2000).

Según Yang et al. (2020), un adulto saludable almacena entre aproximadamente 21 – 28 gramos de magnesio para que no exista alteraciones de las funciones regulares y la cantidad diaria recomendada de magnesio para un adulto saludable es de 250 – 350 mg.

La alteración de interés sobre el magnesio es la hipermagnesemia, Watson et al. (2012, como se citó en Cavallo y Flores, 2017) la define como la concentración de magnesio que excede el valor de 1.2 mmol/l, entre los síntomas se tiene: empezando por los síntomas leves presentados como son debilidad, mareos, náusea, vómitos, letargo y enrojecimiento; luego, cuando se exceden concentraciones de aproximadamente 2.0 mmol/l aparecen los síntomas musculares y si existe un aumento progresivo de la concentración ya puede presentarse alteraciones cardiacas, disfunción ventilatoria y hasta

paro cardiaco (aproximadamente a concentración de 7.5 mmol/l). Sin embargo, esta alteración puede tratarse con medicamentos para revertir el cuadro sintomático, entre ellos están los diuréticos, medicamentos administrados vía intravenosa y en los casos extremos la diálisis.

En el **ANEXO A** se muestra un esquema del equilibrio dinámico de absorción y excreción de magnesio en el cuerpo humano. Por lo que un exceso de iones magnesio son permitidos mientras sean transportados a través del sistema circulatorio y luego excretados por la orina, evitando causar efectos adversos.

11.2.2. Nomenclatura de las aleaciones de magnesio

Las aleaciones de magnesio siguen los lineamientos de la Sociedad Americana para el Ensayo de Materiales (AMS – International), que cubre tanto las composiciones químicas como durezas.

Las dos primeras letras designadas identifican a los dos elementos principales aleantes que están en mayor cantidad, son ordenadas en forma decreciente según porcentajes o alfabéticamente si algunos elementos se encuentran en igual proporción. Los códigos van de la siguiente forma: A-aluminio, Z-zinc. Luego de las letras se colocan los enteros más cercanos correspondientes a los porcentajes, en el orden respectivo. Hay casos donde se coloca una última letra, que indica variación alguna en la composición química de la aleación. En la **Tabla 5** se muestra la composición química establecida por la norma ASTM B94-94, extraída de Briceño et al. (2013) que corresponde a la aleación de magnesio AZ31.

Tabla 5

Composición química de magnesio AZ31 en % en peso.

Aleación	Al	Zn	Mn	Nd	Gd	Zr	Mg
AZ31	2.5 – 3.5	0.7 – 1.3	0.2 – 1.0	-	-	-	Balance

11.2.3. El magnesio como biomaterial para implantes

Los biomateriales de magnesio son considerados como la nueva generación de materiales biodegradables que tienen un potencial prometedor en las aplicaciones ortopédicas como implantes temporales óseos (Zhao y Zhu, 2014). Las investigaciones se basan en temas como la mejora de las propiedades mecánicas del magnesio, resistencia a la corrosión, la influencia de los elementos de aleación en la formación de fases protectoras que retarden la corrosión, comprensión de la interfaz e interacción de las aleaciones de magnesio y su entorno biológico *in vitro* e *in vivo* (Witte et al., 2008).

Los aspectos que avalan al magnesio como un biomaterial destacado son explicados en los siguientes puntos:

Las propiedades físicas y mecánicas que incluyen a la densidad (aproximadamente 1.74 – 2.0 g/cm^3) y módulo elástico (aproximadamente 41 – 45 GPa) son cercanos a los del hueso cortical natural, por lo que puede evadir el efecto de protección contra el estrés (Zhao y Zhu, 2014). La resistencia a la tracción del magnesio y de sus aleaciones es de 165 – 200 MPa, valores cercanos a las el hueso cortical que está en el rango de 50-150 MPa (Hernández, 2017) (para comparaciones de las propiedades mecánicas ir al **ANEXO B)**.

La biodegradabilidad es una de las ventajas más relevantes de los implantes a base de magnesio en comparación con otros implantes metálicos, esto es a raíz de su potencial estándar (-2.38 V) ya que con ese potencial bajo, cuando se corroe mediante vía acuosa se produce la formación de hidróxido de magnesio $Mg(OH)_2$. Adicionalmente los productos intermedios de corrosión son absorbidos o metabolizados en la forma de Mg^{+2} cuando reacciona con los iones Cl^- en los fluidos del cuerpo o digestado por macrófagos. Y el punto más importante de todos es que muchas investigaciones han reportado que hay una estimulación positiva de la formación de nuevo hueso (D. Zhao et al., 2017).

Según Yazdimamaghani et al. (2017), los implantes de magnesio tienen potencial en la osteoconductividad y bioactividad al incrementar la formación de hueso y disminuir el tiempo de curación del tejido óseo.

11.2.4. Problemas y factores que presenta el magnesio al ser utilizado como biomaterial

Uno de los puntos es que tienen un potencial electronegativo alto (ver **Tabla 6**), de esa forma pueden degradarse mediante reacciones electroquímicas en medios acuosos, produciendo hidróxido de magnesio $Mg(OH)_2$ y gas hidrógeno H_2. Siendo así la situación, especialmente en un ambiente de condiciones fisiológicas, las aleaciones de magnesio presentarán una tasa de degradación rápida debido a que el hidróxido de magnesio rápidamente pasa a convertirse en cloruro de magnesio soluble (Tang et al., 2013).

Tabla 6

Tabla de potenciales estándar de reducción.

Semireacción	Eº (V)
$Li^{+}_{(aq)} + e^{-} \rightarrow Li_{(s)}$	-3,05
$Na^{+}_{(aq)} + e^{-} \rightarrow Na_{(s)}$	-2.71
$Mg^{2+}_{(aq)} + 2e^{-} \rightarrow Mg_{(s)}$	**-2.38**
$Be^{2+}_{(aq)} + 2e^{-} \rightarrow Be_{(s)}$	-1,85
$Al^{3+}_{(aq)} + 3e^{-} \rightarrow Al_{(s)}$	-1,68
$Ti^{2+}_{(aq)} + 2e^{-} \rightarrow Ti_{(s)}$	-1,63
$Ti^{3+}_{(aq)} + 3e^{-} \rightarrow Ti_{(s)}$	−1,21
$Mn^{2+}_{(aq)} + 2e^{-} \rightarrow Mn_{(s)}$	-1,18
$Zn^{2+}_{(aq)} + 2e^{-} \rightarrow Zn_{(s)}$	-0,76
$Cr^{3+}_{(aq)} + 3e^{-} \rightarrow Cr_{(s)}$	−0,74
$Fe^{2+}_{(aq)} + 2e^{-} \rightarrow Fe_{(s)}$	−0,44

Nota. Recopilado del artículo de investigación de García (2015) en “Biomateriales metálicos endoprotésico: biocompatibilidad y biodegradación”.

La generación de grandes cantidades de gas hidrógeno provoca su acumulación en los alrededores del tejido y como consecuencia ralentiza el proceso de curación; un cambio en pH alcalino afecta la viabilidad celular[3] y también lo que conduce a la corrosión por picadura es el colapso o la baja protección del hidróxido de magnesio (Chen et al., 2019).

Se tiene en cuenta que para que el magnesio sea utilizado como implante óseo debe ser necesariamente mediante una aleación, inclusive estudios del siglo anterior como

[3] La viabilidad celular hace referencia a la proporción de células vivas y funcionales existentes en una población celular.

los de McBride (1938, como se citó en García, 2015) ya indicaban que el magnesio puro generaba una cantidad de volumen de gas considerable y que no tenía una vía de salida al exterior, a la vez en la superficie del implante se apreciaba una capa de carbonatos y fosfatos de magnesio.

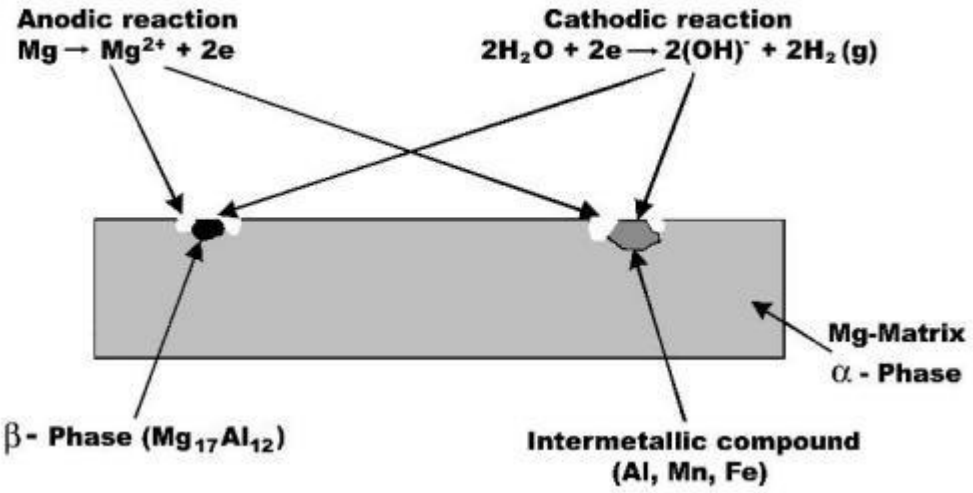
Según Cheng et al. (2016) y Hornberger et al. (2012), hay estudios que corroboran el efecto de la presencia de impurezas o fases secundarias enriquecidas con elementos de aleación en la microestrucura, estas debilitan la resistencia a la degradación de los materiales a base de magnesio porque al representar sitios catódicos activos, provocan una corrosión microgalvánica local acelerada, teniendo en cuenta que comúnmente las aleaciones de magnesio tienen una fuerte tendencia a la corrosión localizada.

11.2.5. Aleación AZ31

La aleación AZ31 posee una microestructura que en gran proporción está conformada por fase α o también equivalente a solución sólida a base de magnesio y pueden contener fase β o también equivalente al intermetálico $Mg_{17}Al_{12}$; en algunos casos adicionalmente pueden encontrarse inclusiones generalmente del sistema Mn-Al (Esmaily et al., 2017; Moreno, 2020).

Figura 3

Representación esquemática de algunas fases de las aleaciones de Mg-Al.



Nota. Imagen extraída de la investigación de Ghali et al. (2004) denominada "General and localized corrosion of magnesium alloys: A critical review".

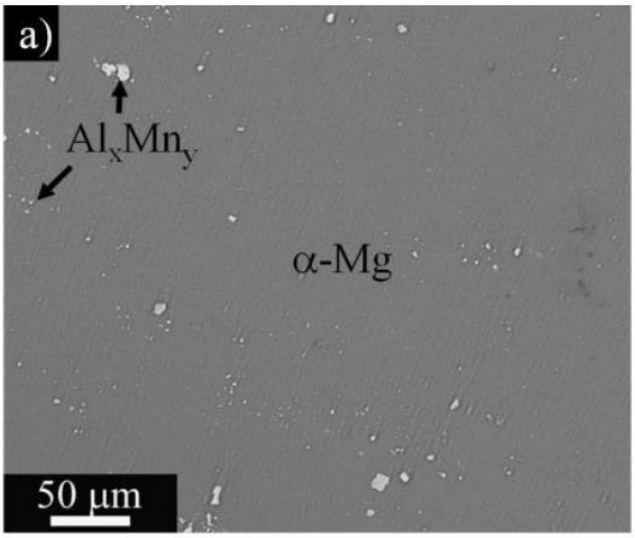
El aluminio es un elemento de aleación muy eficaz cuando se trata de alearse con Mg, incrementa la resistencia mecánica de la aleación a través del endurecimiento por solución sólida y por precipitación, aumenta la colabilidad[4] durante el procesamiento y mejora la ductibilidad; también mejora resistencia a la corrosión ya que se comporta como un elemento pasivante.Muchos investigadores han estudiado su potencial uso como implantes biodegradables en las aleaciones como AZ31, AZ91 (F. Witte et al., 2005; Y. W. Song et al., 2008; Ma y Niu, 2019; Alvarez-Lopez et al., 2010). Dentro de la aleación, el aluminio puede encontrarse en solución sólida en la matriz α o en forma de precipitado en

[4] La colabilidad es la capacidad de un metal o aleación líquida de llenar completamente un molde de dimensiones estandarizadas.

la fase β ($Mg_{17}Al_{12}$). Si el contenido de aluminio es superior al 2%, las segundas fases principales son $Mg_{17}Al_{12}$ o Mg_4Al_3, donde $Mg_{17}Al_{12}$ se puede distribuir a lo largo de los límites de grano en forma de red continúa haciendo que se mejore las propiedades mecánicas y a la vez la resistencia a la corrosión de la aleación con el magnesio (Hu et al., 2014; Moreno, 2020). Sin embargo, según Briceño et al. (2013), la aleación AZ31 está constituida por una matriz α-Mg y la presencia de inclusiones del tipo Al_xMn_y, en la **Figura 3** se muestra una micrografía electrónica de barrido de esta aleación base.

Figura 4

Microestructura de la aleación AZ31 según Briceño et al. (2013).



En el caso del zinc, este es uno de los oligoelementos importantes en el cuerpo humano y un cofactor de enzimas opcionales en huesos y cartílagos, cabe resaltar que el magnesio y zinc tienen buena biocompatibilidad. El zinc también puede aumentar la respuesta de endurecimiento por envejecimiento, ya que produce compuestos intermetálicos y refina el tamaño de grano, es decir, disminuye el tamaño de grano,

limitando la plasticidad (J. Chen et al., 2018). Se puede encontrar en solución sólida en α y si posiblemente en β (Moreno, 2020).

La composición base de la aleación AZ31, la cual ha sido objeto de estudio en la presente investigación (Briceño et al., 2013) se encuentra en la **Tabla 5.**

11.3. Corrosión del magnesio y sus aleaciones

Los principales motivos por los que el magnesio y sus aleaciones presentan poca resistencia a la corrosión son: la corrosión galvánica interna causada por impurezas o fases secundarias, el potencial electronegativo alto del magnesio que posibilita la continuación de la corrosión así exista ausencia de oxígeno, y que en consecuencia permite la predominancia de la reducción catódica del agua; por último, las débiles películas superficiales formadas como son el óxido o hidróxido que cubren de forma incompleta la superficie del magnesio, además de ser solubles en la mayoría de los ambientes acuosos (Esmaily et al., 2017; Song y Atrens, 2000).

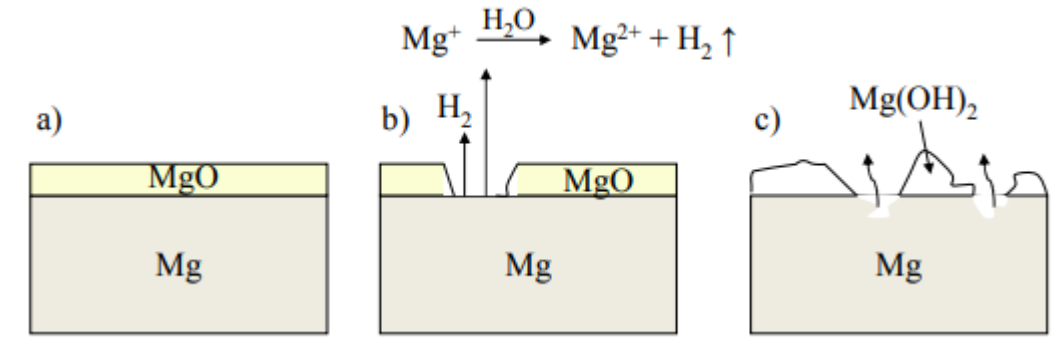
Naturalmente, el magnesio tiende a formar capas pasivantes que tratan de retardar el proceso de corrosión restringiendo el flujo de salida de cationes y a la vez bloquean el flujo de entrada de aniones u oxidantes dañinos (Hu et al., 2014), empero, la pasivación del magnesio puede ser destruida por aniones como los cloruros (inclusive en pequeñas cantidades), sulfatos y nitratos. Por otro lado, la presencia de oxidantes como los fosfatos, cromatos y algunos otros tienen la capacidad de formar una capa protectora que retarda el proceso de corrosión; incluimos a los fluoruros que forman fluoruro de magnesio insoluble y a consecuencia de ello tiende a pasivarse (Ghali et al., 2004).

11.3.1. Mecanismo de degradación de magnesio

La disolución del magnesio en ambientes acuosos proviene de una reacción electroquímica con agua para que se produzca hidróxido de magnesio e hidrógeno gaseoso, dicho mecanismo es independiente a la concentración de oxígeno, no obstante, el oxígeno toma consideración importante en una corrosión atmosférica (Hu et al., 2014; Atrens et al., 2017; Casajús, 2010).

Figura 5

Representación esquemática de etapas implicadas en el proceso de corrosión del magnesio.



Nota. Imagen extraída de la investigación de Casajús (2010) denominada “Mejora del comportamiento a la corrosión de aleaciones de Mg mediante recubrimientos protectores realizados por proyección térmica y láser”.

a) Existe una película superficial parcialmente protectora durante la corrosión del magnesio que está en equilibrio con el potencial aplicado; después de que la superficie inicial del magnesio se haya corroído, la película está presente en estado estacionario con la solución. Dichas películas se caracterizan por ser porosas, pobremente unidas y no homogéneas (Chen et al., 2011).

b) La corrosión del magnesio se produce en las roturas de la película superficial parcialmente protectora, donde el Mg^{+} es un intermedio reactivo capaz de separar químicamente el agua.

En este punto se describen las reacciones que se llevan a cabo: En general, la corrosión convierte el magnesio metálico a un ion Mg^{+2} estable, la cual se aprecia en la siguiente reacción total:

$$Mg + 2H_2O \rightarrow Mg^{+2} + 2(OH^-) + H_2 \rightarrow Mg(OH)_2 + H_2 \qquad (4)$$

La ecuación (4) muestra que por cada átomo de magnesio corroído se produce una molécula de hidrógeno, esta ecuación es muy usada para la medición del hidrógeno evolucionado (Song et al., 2001).

Luego se tiene a la reacción parcial anódica total del magnesio:

$$Mg \rightarrow Mg^{2+} + 2e^- \qquad (5)$$

La ecuación (6) está equilibrado por la reacción catódica total, que en una solución neutra o alcalina es evolución de hidrógeno:

$$2H_2O + 2e^- \rightarrow H_2 + 2(OH^-) \qquad (6)$$

Asumiendo que Mg+ es la especie intermedia en la reacción parcial anódica general, en tal caso, los componentes de la reacción anódica general son los que se mencionan a continuación:

$$Mg \rightarrow Mg^{+} + e^- \qquad (7)$$

$$kMg^{+} \rightarrow kMg^{2+} + ke^- \qquad (8)$$

$$(1-k)Mg^{+} + (1-k)H_2O + (1-k)OH^- \rightarrow (1-K)Mg(OH)_2 + \frac{1}{2}(1-k)H_2 \qquad (9)$$

En la ecuación (7) se da la primera transferencia de electrones, luego en la ecuación (8) muestra que una fracción k del Mg^{+} acepta un segundo electrón o una fracción reacciona químicamente con agua que es mencionada en la ecuación (9).

Se tiene una fracción (1-k) de la reacción por la que no se transfiere ningún electrón electroquímicamente y que no es posible medirlo, este argumento implica que cualquier medición electroquímica de la tasa de corrosión del magnesio (Pi) mide una velocidad de corrosión menor que la velocidad de corrosión total medida por otro método, por ejemplo, el de pérdida de peso (Pw), lo que haría la siguiente expresión válida:

$$Pw/2 < Pi < Pw$$

Atrens et al. (2015) y Song (2015) hacen discusiones sobre dicha parte de la reacción de corrosión general que no puede ser medida.

Según Casajús (2010) al no estar definido una reacción general de la corrosión de las aleaciones del magnesio, puede esperarse que sea similar al del magnesio puro.

Para tener una mejor comprensión de la estabilidad de las especies producidas por las reacciones en el proceso de corrosión, el **Apéndice C** proporciona una explicación del diagrama de Pourbaix para el magnesio.

11.3.2. Tipos de corrosión en los implantes de magnesio

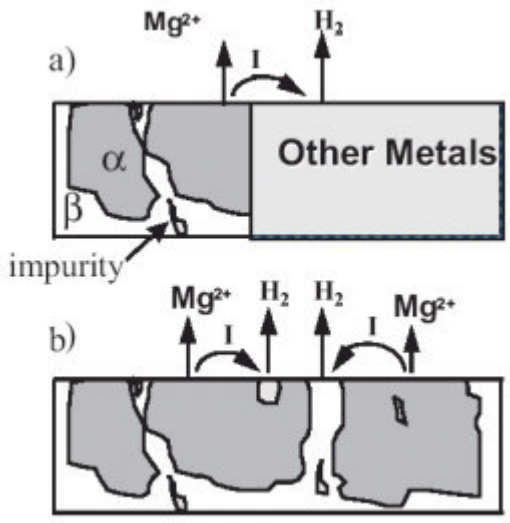
Como en muchos metales y aleaciones, el magnesio depende de la película natural de su superficie para controlar su corrosión, y esta a su vez está muy influenciada por factores metalúrgicos (aleaciones e impurezas, composición de fase y microestructura) y medioambientales (Hu et al., 2014).

11.3.2.1. Corrosión galvánica

La corrosión galvánica ocurre cuando hay una diferencia de potencial por la presencia de diferentes metales en contacto dentro de una solución corrosiva o conductora, donde el metal más activo se vuelve anódico y se corroe, y el metal menos activo es protegido. El magnesio y sus aleaciones son altamente susceptibles a este tipo de corrosión por el bajo potencial estándar presentado (ver **Tabla 6**). Adicionalmente, puede llevarse a cabo la corrosión galvánica entre dos fases diferentes: corrosión galvánica externa y corrosión galvánica interna (Hu et al., 2014).

Figura 6

Representación esquemática de corrosión galvánica externa e interna según Song y Atrens (1999).



Nota. a) Corrosión galvánica externa. b) Corrosión galvánica interna.

Según Ghali et al. (2004), la corrosión galvánica puede empezar como una corrosión generalizada que puede cambiar a corrosión localizada, esto depende la distribución de fase metálica y morfología, temperatura, etc.

11.3.2.2. Corrosión por picadura

Es una corrosión normalmente asociada la rotura de la pasividad (Ghali et al., 2004).

Una aleación de magnesio como el AZ31 sometido a soluciones de fluidos fisiológicos compuestos de iones sulfatos, fosfatos, carbonatos y sobre todo cloruros provocan una corrosión acelerada generando $Mg(OH)_2$, el cual se deposita como una capa sobre la superficie. Ante una inminente preponderancia de iones cloruro el $Mg(OH)_2$ se transforma en $MgCl_2$ más soluble ($Mg(OH)_2 + 2Cl^- \rightarrow MgCl_2$ ...(10)), creando una superficie más reactiva y a la vez un nuevo punto propenso a ataques, la cual es reconocida como corrosión por picadura (Cavallo y Flores, 2017).

La corrosión por picadura tiene un aumento a raíz de la formación de micro pares galvánicos dentro de la microestructura de la aleación (más aún que tenga un alto contenido de aluminio). Al encontrarse una alta concentración de aluminio hay una tendencia de incremento de la fase $Al_{12}Mg_{17}$ (se precipita en los bordes de grano) que estimula la tendencia a una corrosión por picadura; las picaduras formadas suelen ser porosas y llegan a expandirse lateralmente y profundamente, llegando a generar corrosión generalizada y localizada (Xin et al., 2011).

11.3.2.3. Corrosión filiforme

La corrosión filiforme es un tipo de corrosión que normalmente ocurre bajo los recubrimientos protectores y capas anodizadas, causada por una celda de corrosión activa en movimiento a través de una superficie metálica, donde la cabeza viene a ser el ánodo y la cola el cátodo (Hu et al., 2014).

Según Ghali et al. (2004), la extensión de este tipo de corrosión no está sujeta a la presencia de oxígeno disuelto en el ambiente, ya que se alimenta de principalmente de la evolución de hidrógeno que ocurre en la cabeza del filamento y fuera de los filamentos. Además, la polarización anódica tiende a aumentar la corrosión filiforme a expensas de la picadura. La corrosión filiforme sí ha sido observada en la aleación AZ31 sin recubrir mientras que en una aleación de AZ31 recubierta por deposición se observó corrosión generalizada, los productos de corrosión generados en ambos casos fueron diferentes y esto puede marcar una diferencia en el comportamiento de la corrosión (A. Yamamoto et al., 2001, como se citó en Ghali et al. 2004).

11.4. Efectos del hidrógeno en el cuerpo humano

Durante el proceso de corrosión del magnesio se generan subproductos que no necesariamente actúan a favor del implante colocado, refiriéndonos en este punto específico al hidrógeno (también el otro punto no favorable son los iones OH^-). Según la ecuación (4) por cada átomo de magnesio corroído se genera una molécula de hidrógeno, es decir, que la tasa de corrosión del magnesio determina la evolución de hidrógeno. Si la degradación es muy rápida, se producen grandes cantidades de hidrógeno que se acumulan en forma de burbujas de gas subcutáneas en los alrededores de la fractura, los cuales retardan el proceso de curación de la región de la fractura, conllevando a que se

forme necrosis de tejidos y provocando mucha incomodidad al paciente (G. Song y Song, 2007). McBride (1938, como se citó en García, 2015) concluyó que mientras que la tasa de corrosión sea baja, el organismo de un individuo podría ser capaz de absorber el gas hidrógeno desprendido al mismo tiempo en la que se genera, mientras que investigaciones experimentales desarrolladas de Witte et al. (2005) no reportaron efectos adversos relacionados a las burbujas de gas, desaparecen después de dos a tres semanas luego de la primera semana de aparición después de la cirugía.

11.5. Biocorrosión y soluciones para simulación de condiciones fisiológicas

El término biocorrosión infiere la alta complejidad que existe en las interacciones entre la corrosión del magnesio y el entorno biológico, cuyo campo de investigación aún en exploración y mayor desarrollo, aplica una serie de enfoques experimentales para estudios de la corrosión como técnicas convencionales (pruebas de inmersión, evolución de hidrógeno, electroquímica), análisis de superficies (morfología) y análisis de soluciones para liberación de metales, como también aplica enfoques investigativos al correlacionar resultados con el comportamiento *in vivo* (Esmaily et al., 2017). Desde este punto, este texto de investigación adoptará el término para referirse a las pruebas experimentales realizadas y resultados obtenidos al respecto.

11.5.1. Soluciones para simulación de condiciones fisiológicas

Para el estudio del comportamiento de la biocorrosión en condiciones dinámicas y las propiedades protectoras de las películas de productos de las aleaciones bajo condiciones fisiológicas, se utilizan los compuestos denominados fluidos simulados. Se han venido usando muchos tipos de fluidos corporales simulados para diferentes investigaciones de la biodegradación del magnesio y sus aleaciones, aun así, no hay un

acuerdo universal del ambiente más adecuado para simular las condiciones *in vivo* (Esmaily et al., 2017).

Las evaluaciones con estos fluidos simulados consisten en el ataque a la superficie de la muestra y la estabilidad del producto de corrosión formado para cada sistema de aleación, luego de que se hayan realizado primeramente pruebas de inmersión (para revestimiento) y métodos de caracterización de superficie (Mena-Morcillo y Veleva, 2020).

La importancia de los fluidos simulados recae en su composición, la cual impacta significativamente, la estabilidad de la capa de los productos de corrosión formados en el sustrato (Wang et al., 2018). Se tienen múltiples opciones para la elección del entorno químico a simular, que a veces son elegidos a conveniencia de la prueba experimental (Mena-Morcillo y Veleva, 2020; Han et al., 2018; Tang et al., 2013).

La composición de los fluidos simulados es presentada en la siguiente **Tabla 7** comparativa en unidades de g/L.

Tabla 7

Composición aproximada de soluciones estándar electrolíticas para simulación de las condiciones fisiológicas.

Solución	Solución Salina (NS)	Solución de Hank (HS)	Fluido Corporal Simulado (SBF)	Solución de Ringer (RS)	Solución Salina Tamponada de Fosfato (PBS)
NaCl	9.00	8.00	8.00	8.36	8.00
$NaHCO_3$	-	0.35	0.35	-	-
Na_2CO_3	-	-	-	-	-
KCl	-	0.30	0.22	0.30	0.20
$Na_2HPO_4.12H_2O$	-	-	-	-	2.89

$K_2HPO_4.3H_2O$	-	0.12	0.23	-	-
KH_2PO_4	-	0.06	0.06	-	0.20
$MgSO_4.7H_2O$	-	0.10	-	-	-
$MgCl_2.6H_2O$	-	0.10	0.31	-	-
$CaCl_2$	-	0.14	0.29	0.15	-
Na_2SO_4	-	-	0.07	-	-

Nota. Las concentraciones indicadas son aproximadas y recopiladas de las investigaciones de Mena-Morcillo y Veleva (2020), Wang et al. (2018) en “Degradation of AZ31 and AZ91 magnesium alloys in different physiological media: Effect of surface layer stability on electrochemical behaviour” y “Electrochemical noise analysis on the pit corrosion susceptibility of biodegradable AZ31 magnesium alloy in four types of simulated body solutions”, respectivamente.

De las investigaciones de Wang et al. (2018) y Han et al. (2018), referidas a las relaciones entre tasas de corrosión de las aleaciones de AZ31 y las soluciones que simulan las condiciones fisiológicas, concuerdan en que dependiendo del tipo de solución electrolítica se obtienen diferentes tasas de corrosión y diferentes tendencias de corrosión local de las aleaciones de magnesio. Las tendencias de las tasas de corrosión van de mayor a menor de la siguiente manera: NS > RS > HS > PBS > SBF.

11.5.2. Líquido corporal simulado (SBF) como solución de simulación de condiciones fisiológicas

La solución del líquido corporal simulado (SBF) es muy usada porque representa de la manera más cercana las condiciones fisiológicas ambientales internas del cuerpo humano. Se sustenta en concentraciones de iones casi iguales a las contenidas en el plasma sanguíneo humano (ver **Tabla 8**), está taponado a un pH de 7.40 con tris hidroximetil aminometano 50 mM y ácido clorhídrico 45 mM a 36.5 °C (Kokubo y Takadama, 2006). En el **ANEXO D** se muestra en detalle el procedimiento de preparación de SBF.

Tabla 8

Concentraciones de iones (mM) de SBF y del plasma sanguíneo.

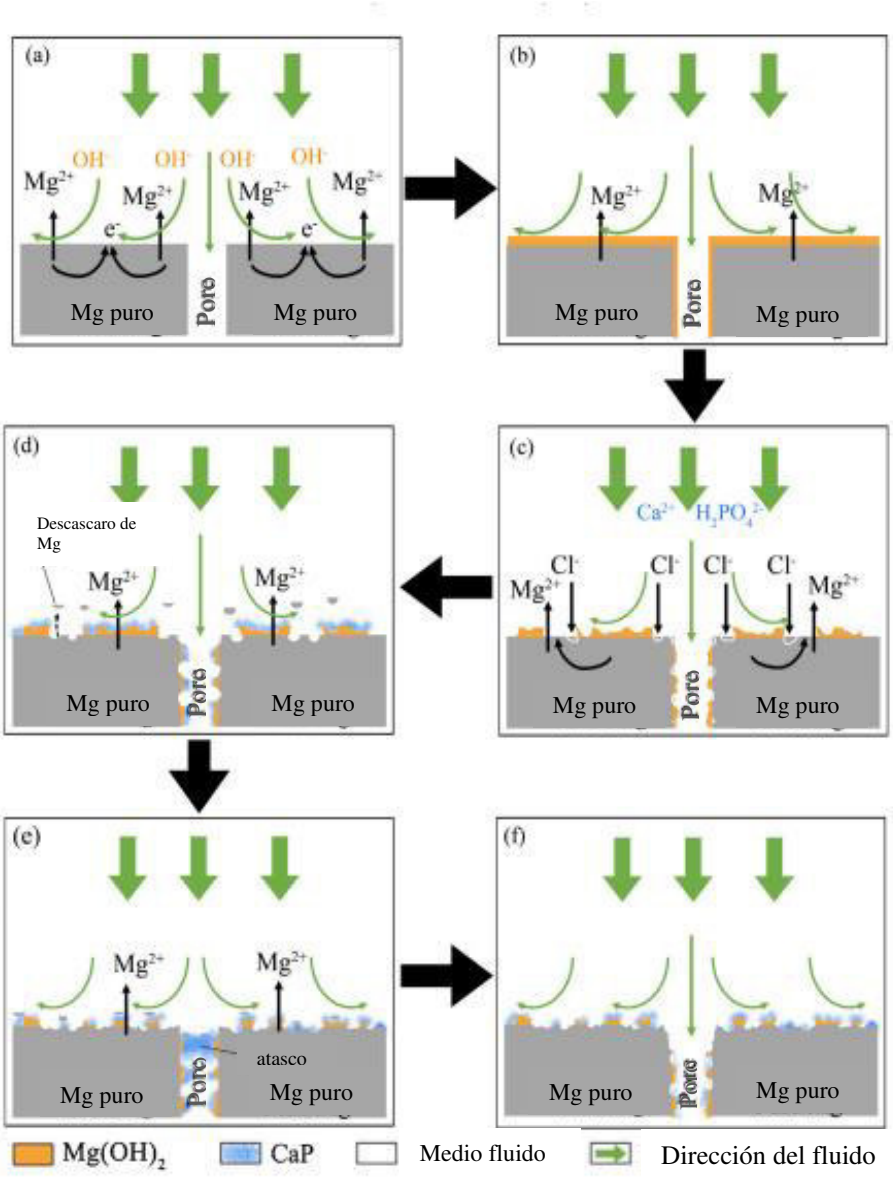
Ion	Fluido corporal simulado	Plasma sanguíneo
Na^+	142.0	142.0
K^+	5.0	5.0
Mg^{2+}	1.5	1.5
Ca^{2+}	2.5	2.5
Cl^-	148.8	103.0
HCO_3^-	4.2	27.0

HPO_4^{2-}	1.0	1.0
SO_4^{2-}	0.5	0.5

Nota. Las concentraciones indicadas fueron recopiladas del artículo de investigación de Kokubo y Takadama (2006) en "*How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?*"

Figura 7

Proceso de biocorrosión del magnesio puro en solución de SBF según Saad et al. (2016).



a) Cuando las muestras están en contacto con la solución SBF, el proceso de degradación ocurre a través de la oxidación del magnesio para formar iones Mg^{2+} y la reducción del agua para formar iones OH^- y gas H_2.
b) Los dos iones reaccionan y forman una capa de $Mg(OH)_2$.
c) Con el tiempo, la capa se llega a dañar por el ambiente agresivo que contiene iones Cl^-, así como por la fuerza mecánica del flujo de SBF.
d) La formación de la capa de $Mg(OH)_2$ facilitará la precipitación de calcio y fósforo (CaP), no obstante, la acción sinérgica de los iones Cl^- y el flujo de fluidos dará como resultado que la capa se desprenda y ello finalmente causará aparición de poros.
e) Se produce obstrucción y se manifiesta como el aumento en la presión de succión y en el cambio de flujo de fluido.
f) El proceso continuo de degradación y el esfuerzo cortante creado por el flujo de fluido eventualmente hace que los poros se liberen de cualquier obstrucción.

11.6. Modificación superficial de las aleaciones de magnesio

La modificación superficial es un método ampliamente utilizado primordialmente para mejorar la resistencia a la corrosión de las aleaciones de magnesio, desempeñando el papel de barrera protectora, mientras se conservan los atributos del material, más aún si éstas son desarrolladas con el propósito de implante médico (Xiong et al., 2019; Wang et al., 2012; Chen et al., 2019; García, 2015). Ya que las propiedades superficiales de los implantes tienen un rol determinante en las interacciones biológicas, la modificación superficial es una forma de modulares efectos secundarios inseguros que pudiesen ocurrir en la biodegradación de los implantes (Kumar et al., 2020).

Los métodos de modificación superficial tales como activación superficial y recubrimientos sobre materiales a base de magnesio han demostrado ser eficientes para controlar la velocidad de degradación (Gu et al., 2009; P. Xiong et al., 2019; P. Xiong et al., 2018; J. Wang et al., 2012).

Wang et al. (2012) clasifica a los métodos de modificación superficial en tres categorías: modificación química, modificación física y combinación de estos dos métodos. En la modificación química se remueven las capas pasivantes (como el óxido nativo) que no protegen totalmente contra la corrosión, haciendo que la nueva capa producida se adhiera firmemente a la superficie del sustrato debido a la unión química entre ambos. En cambio, cuando mencionamos modificación física, se refiere a que no hay formación de enlaces químicos entre la superficie exterior y el sustrato. Los recubrimientos físicos inducen a la modificación estructural de los compuestos completos a través de técnicas de procesamiento físico o nuevas fases adhesivas tales como componentes inorgánicos y polímeros.

Entre ambos métodos, los métodos de modificación química presentan estudios diversos con resultados prometedores, donde destacan principalmente la activación alcalina y la activación fluorhídrica (J. Wang et al., 2012).

11.6.1. Medio de activación alcalina

La activación alcalina, también denominada como tratamiento de pasivación simple, proporciona protección durante la fase inicial del proceso de biocorrosión y se lleva a cabo sumergiendo las muestras de aleaciones de magnesio en una solución de NaOH u otras soluciones alcalinas como Na_2HPO_4 y Na_2CO_3 (Gu et al., 2009); empero, la protección mencionada es limitada debido a sustancias hidrofílicas como los cloruros y

sulfatos que promueven el proceso de biocorrosión al corromper rápidamente la película pasiva (Hornberger et al., 2012).

En las aleaciones de magnesio, la activación alcalina reduce la reactividad superficial de los sustratos por la formación de capas pasivantes en forma de $Mg(OH)_2$, $MgCO_3$ y MgO. Las películas formadas a escala nanométrica que presentan diferente rugosidad superficial otorgan varias propiedades de resistencia a la biocorrosión, esto se atribuye a diferentes números de sitios de ataque de degradación en la superficie (Wang et al., 2012).

Se tienen diversos estudios de aplicación de la activación alcalina:

En el estudio de Gray-Munro y Strong (2009), utilizaron la pasivación mediante inmersión en una solución de NaOH a muestras de AZ31, seguida de tratamiento térmico con la finalidad de reducir el proceso de corrosión en el siguiente procedimiento que consistía en la inmersión en solución SBF. El recubrimiento formado contenía fosfato de calcio y era mayoritariamente amorfo, también se apreció pequeña cantidad de hidroxiapatita cristalizado. Los resultados infieren que la nucleación y crecimiento de hidroxiapatita fueron catalizados por la disolución de magnesio de la muestra de AZ31. Los resultados de análisis de microscopía electrónica de barrido mostraron que para recubrimientos de espesores menores a 3 µm había muchas grietas por corrosión, mientras que para recubrimiento más gruesos (debido a mayor tiempo de inmersión) mostraron grietas por deshidratación.

En la investigación Rastegari y Salahinejad (2019), se aplicaron tratamientos individuales y combinados de recubrimiento nanocompuesto alcalino (NaOH) y quitosano / vidrio bioactivo (SiO_2-CaO-MgO) sobre superficies de aleación Ti-6Al-4V con el objetivo

de investigar y mejorar aplicaciones de cada tratamiento de superficie, donde se encontró que mejora la capacidad de formación de apatita, la resistencia a la corrosión, y citocompatibilidad, además se observó que los parámetros utilizados para los tratamientos superficiales proporcionaron morfologías homogéneas y libres de grietas.

Aunque la activación alcalina es mayoritariamente utilizada como un procedimiento previo a los procesos de recubrimientos, Chen et al. (2011) llevó a cabo la activación alcalina como un segundo revestimiento con NaOH a 80°C durante 60 min con la finalidad de desarrollar un componente de hidroxiapatita dentro del recubrimiento primario y así mejorar la resistencia a la corrosión del sustrato de magnesio.

En algunas ocasiones, incluyen la activación alcalina dentro de la activación fluorhídrica, como en la investigación de (Xiong et al., 2019), donde las muestras se sumergen en una solución de NaOH (5 M) durante 3 horas y luego son enjuagadas con agua desionizada, para luego ser sumergidas en una solución de HF (40%) durante 6 horas a 60°C. Esta metodología concluyó ser efectiva en la disminución de la tasa de biocorrosión.

11.6.2. Medio de activación fluorhídrica

La activación fluorhídrica, también denominado como decapado ácido, es una de las formas de modificación superficial más prometedoras para su aplicación en implantes ortopédicos debido a su simple proceso químico, relativo bajo costo, facilidad para formarse uniformemente en implantes con formas complejas y, sobre todo, el efecto positivo en la proliferación de osteoblastos (Wang et al., 2012; Hernández, 2017). Es un método efectivo para la limpieza de contaminantes en la superficie del sustrato y mejora

la resistencia a la corrosión, inclusive muestra dicha mejora en la fase inicial de curación (Li et al., 2016; Da Conceicao et al., 2010; Yan et al., 2010).

El flúor esencialmente es adecuado para las aplicaciones esqueléticas por ser un componente natural del esqueleto y dientes humanos (Zheng et al., 2002). Con la activación fluorhídrica, el magnesio y sus aleaciones son conducidas a sustitución de la película de óxido de magnesio original por una capa más delgada y homogénea de MgF_2 cuya resistencia a la polarización es mayor. La nueva capa formada es menos soluble en agua (normalmente con elementos alcalinotérreos se forman fluoruros insolubles) (Hernández, 2017; Li et al., 2016), tiene alta densidad y la liberación de iones flúor es inocua (Wang et al., 2012).

Se tienen dos métodos de activación fluorhídrica, una es de un solo paso que consiste del uso directo de ácido fluorhídrico (Da Conceicao et al., 2010; Yan et al., 2010; Hernández, 2017). Y el otro método es de dos pasos, donde primero la muestra es sometida a inmersión en NaOH en caliente para luego aplicar la inmersión en HF (Thomann et al., 2010; Xiong et al., 2018; Xiong et al., 2019). El procedimiento de recubrimiento se lleva a cabo generalmente con procesos de inmersión del sustrato de aleaciones de magnesio en ácido fluorhídrico al 40% o al 48% (Hornberger et al., 2012; Hernández, 2017; García, 2015).

Se tienen diversos estudios de aplicación de la activación fluorhídrica:

En la investigación de Carboneras et al. (2011) se usó la activación fluorhídrica de un solo paso a temperatura ambiente por 24 horas, formando un recubrimiento de MgF_2 que resultó ser efectivo en la resistencia a la corrosión de implantes de magnesio degradables como la aleación AZ31. La activación fluorhídrica de un solo paso también

fue utilizada en la investigación de Yan et al. (2010), donde demostró que el recubrimiento formado de MgF_2 sobre la superficie de la aleación AZ31B mantuvo la integridad mecánica de la aleación y definitivamente mostró mejor resistencia a la biocorrosión que la muestra sin recubrimiento, ya que ambas muestras fueron sometidas a inmersión de SBF por 45 días.

La activación fluorhídrica de dos pasos, como se ha mencionado anteriormente involucra un tratamiento primario de la aleación de magnesio con NaOH para formar una capa de $Mg(OH)_2$, seguida de una segunda inmersión en HF donde se genera la capa de MgF_2 (proviene de la reacción: $Mg(OH)_2 + 2HF \rightarrow MgF_2 + 2H_2O$) (Li et al., 2016). Este procedimiento fue utilizado en la investigación de Witte et al. (2010), cuyo objeto de estudio fue una aleación de magnesio con tierras raras (LAE442) in vivo; un grupo de conejos que tenían implantes tratados con activación fluorhídrica mostraron bajas tasas de corrosión y también ausencia de cavidades subcutáneas de gas luego de las cuatro semanas de implantación. No obstante, el revestimiento de no es permanente, y luego de la ruptura de dicho revestimiento se produjo corrosión por picadura.

En la investigación de Seitz et al. (2011, como se citó en Hornberger et al., 2012) se destacó que puede haber un efecto protector contra la corrosión de los recubrimientos de MgF_2 dependiente de la composición de la aleación. En este caso, se trabajó con una aleación de Mg-Li-Al-Nd recubierta cuyo proceso de corrosión se retrasó hasta los 20 días posteriores de la prueba de corrosión. Por otro lado, la aleación de Mg-Nd recubierta no tuvo un efecto significativo en la tasa de degradación; el otro punto observable de las muestras recubiertas en general, fueron las finas grietas formadas en los recubrimientos de activación fluorhídrica.

Por último, la investigación de Da Conceicao et al. (2010) menciona que la activación fluorhídrica es un pretratamiento interesante para recubrimientos poliméricos ya que elimina impurezas y mejora la adherencia superficial. También menciona algunas investigaciones que emplearon HF a concentraciones más bajas de lo especificado (40% a 48%) como pretratamiento de las superficies de las aleaciones de magnesio.

11.7. Colágeno como biopolímero (composición y estructura química, método de inmersión)

El colágeno es un grupo de proteínas cuya estructura molecular característica es fibrilar (Jiang y Liu, 2016), se encuentra de forma abundante como una proteína estructural en el cuerpo (Li et al., 2018) y principalmente desempeña la función de componente principal de la matriz extracelular (ECM). La forma en que genera el hueso es mediante cultivo de células, ya que el colágeno es el mayor constituyente de la matriz orgánica (aproximadamente 90%) y a la vez representa el 32% de la composición volumétrica del hueso (Zaroog et al., 2019; Xiong et al., 2018).

Cumple elementalmente propiedades mecánicas y no solo es base de los huesos y dentina, también es de los tendones y ligamentos; cabe mencionar que es componente principal de la piel, córnea, vasos sanguíneos, cartílago y otros tejidos extracelulares (Li et al., 2018).

Dentro de las propiedades mecánicas que provee el colágeno son las de baja elasticidad y poca resistencia mecánica (Jiang y Liu, 2016), aunque relativamente estable (debido a la unión por formación de enlaces cruzados covalentes o también denominado *cross-linking*). Sin embargo, la jerarquía estructural basada en el autoensamblaje fibrilar del colágeno proporciona la resiliencia mecánica y la dureza necesarias para que los

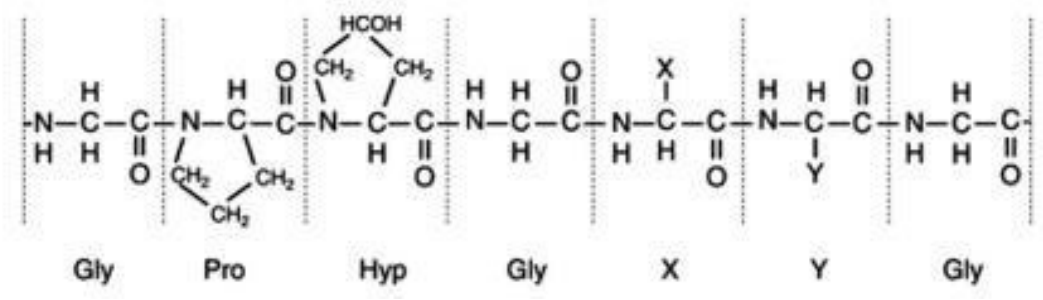
tejidos funcionen eficientemente (Li et al., 2018). Según Wagermaier y Fratzl (2016), las moléculas de colágeno forman espontáneamente fibrillas *in vitro* a pH neutro a 37 °C.

Y, por otro lado, el colágeno presenta propiedades de biodegradación, biocompatibilidad y no citotoxicidad, fácilmente modificable para producir materiales según se desee utilizando sus grupos funcionales, compatible con polímeros sintéticos (Wagermaier y Fratzl, 2016). Es por ello que el colágeno es considerado como alternativa a los materiales sintéticos (Zaroog et al., 2019).

Las investigaciones han identificado alrededor de 29 tipos de colágeno, entre ellos se tiene al colágeno tipo I (triple hélice) que es el tipo más abundante (Jiang y Liu, 2016). Está compuesta por tres cadenas polipeptídicas, cada uno de los cuales contiene una secuencia de aminoácidos Gly-X-Y, donde generalmente X e Y suelen ser prolina e hidroxiprolina respectivamente (ver **Figura 8**) (Wagermaier y Fratzl, 2016; Loureiro dos Santos, 2017; Sorushanova et al., 2017). La similitud entre los tipos de colágeno reside en que todos contienen tres cadenas polipeptídicas en una estructura de triple hélice, la distinción está restringida a la longitud de la hélice y al número y naturaleza de los carbohidratos que se unen a la triple hélice (Loureiro dos Santos, 2017).

Figura 8

Secuencia de aminoácido típica en una molécula de colágeno.



Nota. Recopilado de Wagermaier y Fratzl (2016) del artículo "*Collagen*".

11.7.1. Colágeno como recubrimiento de superficies de aleaciones de magnesio

La mejora en la disminución de la velocidad de biocorrosión del magnesio usando biopolímeros es muy recomendada por investigadores como Wong et al. (2010), Chan et al. (2013) y Xiong et al. (2018). En el caso del colágeno, se ha hecho de uso en muchas investigaciones el colágeno tipo I no solo por ser el más abundante, sino por las propiedades físicas que provee y brindar soporte para la adhesión celular (Zhao y Zhu, 2014), estas características pueden ser mejoradas con el entrecruzamiento de enlaces, lo cual es muy conveniente para superficies porosas o con poca área superficial que son recubiertas con películas de colágeno (Reddy et al., 2015).

Se tienen mayores investigaciones del colágeno con respecto a la eficiencia de mineralización y estabilidad de implantes de aleaciones de magnesio, que con respecto a su influencia en la disminución de la velocidad de biocorrosión (Mousavi et al., 2019; Mushahary et al., 2016; Li et al., 2018). Mediante la presente investigación, se pretende estudiar mediante inmersión de muestras de *scaffolds* espumas de magnesio en

soluciones de colágeno el comportamiento de dichas muestras bajo ambientes fisiológicos corrosivos.

11.8. Método de evolución de hidrógeno (HE)

Es un método teórico y experimental, simple de configurar y operar para la evaluación rápida y monitoreo del comportamiento de la corrosión del magnesio y sus aleaciones, basado en los siguientes puntos (Song et al., 2001):

a) La cantidad de hidrógeno generado es equivalente a la cantidad de magnesio disuelto (ver ecuación (6).
b) La colección de hidrógeno evolucionado puede proporcionar la tasa de corrosión instantánea y el comportamiento de corrosión cambiante del magnesio y sus aleaciones.
c) Introduce pequeños errores técnicos y experimentales.

Entonces, teóricamente a partir de la velocidad en la que es producido el hidrógeno evolucionado en la superficie puede determinarse la velocidad de corrosión o biocorrosión instantánea en condiciones de circuito abierto. La colección del hidrógeno evolucionado se ha usado en estudios de determinación de la densidad de corriente de corrosión en ausencia de una polarización externa como también se han realizado evaluaciones de evolución de hidrógeno de aleaciones de magnesio luego de polarizaciones catódicas y anódicas (Esmaily et al., 2017).

Para las aleaciones de magnesio, no es relevante la compleja interacción entre los microconstituyentes de la aleación a corroer, ya que preferencialmente se corroe siempre la fase α de la matriz mientras que los otros constituyentes toman la posición de

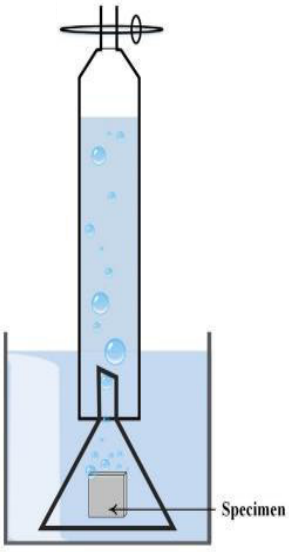
cátodo o actúan como barrera contra la corrosión y sobre el mecanismo de corrosión, es el mismo al del magnesio puro (Song et al., 2001).

Según el estudio de Song et al. (2001), la reacción de la ecuación (6), solo describe el proceso de desprendimiento de hidrógeno resultante de la disolución de magnesio elemental en la matriz de fase α de la aleación, el error teórico medido de dicho desprendimiento de hidrógeno para la estimación de la tasa de corrosión y biocorrosión puede ser usado también para estimar la tasa de corrosión de las aleaciones de magnesio ya que la diferencia entre estos errores es insignificante. Es decir, que es permisible medir la tasa de evolución de hidrógeno porque es un indicador confiable de la tasa de corrosión de la aleación de magnesio.

La evolución de hidrógeno es un método volumétrico que consiste en insertar en una bureta invertida la muestra objetivo a corroer (ver **Figura 9**), luego el gas hidrógeno que se está produciendo como resultado de la reacción de corrosión se acumula en forma de burbujas, que eventualmente se desprenden de la superficie y son colectadas en la parte superior de la bureta al realizar un desplazamiento de la solución contenida en ella. Después, se observa el nivel del electrolito dentro de la bureta durante rangos de tiempos establecidos por el analizador, de esta forma se evalúa el volumen de hidrógeno desprendido.

Figura 9

Representación esquemática del montaje para la recolección de gas hidrógeno por el método volumétrico según Song et al. (2001).



Según Kirkland et al. (2012), el método volumétrico no es la mejor opción para el estudio de aleaciones que presenten alta resistencia a la corrosión o tiempo experimentales cortos debido a que de esa manera no se produciría hidrógeno gaseoso suficiente para decir que es una medición confiable de gas recolectado.

11.9. Otros métodos de evaluación de corrosión

Existen diferentes métodos disponibles para medir la tasa de corrosión, los cuales se clasifican según Kirkland et al. (2012) en polarizados y no polarizados (ver **Tabla 9**). La diferencia entre ambos métodos reside en que los polarizados tienen una fuerza impulsora denominada polarización electroquímica, mientras los no polarizados no cuentan con ello.

Tabla 9

Clasificación de los métodos de evaluación de la corrosión según Kirkland et al. (2012).

Métodos experimentales no polarizados	Métodos experimentales polarizados
Pérdida de masa	Polarización potenciodinámica
Evolución de hidrógeno	Espectroscopía de impedancia electrónica
Monitoreo de pH	

Debe tenerse en cuenta que una correcta interpretación de los datos que se relacionan con la corrosión está fuertemente influenciada de los parámetros de configuración experimental que deben comprenderse y controlarse adecuadamente.

11.9.1. Pérdida de masa (ML)

Es un método básico que se usa como un estándar contra el cual es comparado para determinar la precisión de las tasas de corrosión obtenidas por otros métodos. Este método clásico presenta algunas deficiencias como: la tasa de pérdida de masa es primeramente un resultado promedio de una muestra corroída en un cierto periodo de tiempo, esto significa que no se conoce cuándo o cómo cambia la velocidad de corrosión durante este intervalo de tiempo y que se han perdido detalles importantes sobre el proceso de corrosión. Otra deficiencia es que, para obtener precisión de la medición de pérdida de masa ocasionada por el proceso de corrosión, todos los productos de corrosión adheridos a la superficie de muestra corroída deben ser eliminadas completamente, lo cual es muy complicado ya que se combinan esfuerzos por mantener

la integridad de la muestra durante la eliminación de los productos de corrosión y el de eliminar completamente dichos productos, trayendo como consecuencia una eliminación incompleta. En adición, algunas veces las áreas no corroídas debajo de los productos de corrosión son eliminadas en este proceso de limpieza y es de esta forma que algunos errores experimentales son introducidos en la tasa final de pérdida de masa (Song et al., 2001).

La prueba experimental de pérdida de masa requiere de normalmente solo una muestra, un medio de corrosión y una microbalanza precisa. Lo siguiente es colocar la muestra en el medio de corrosión durante un periodo de tiempo, luego de culminado este tiempo la muestra es retirada, se limpia con una solución como el ácido crómico diluido (muy utilizado para eliminar productos de corrosión como el $Mg(OH)_2$) y se mide el cambio de masa resultante (Kirkland et al., 2012).

11.9.2. Monitoreo de pH

Mientras ocurre el proceso de corrosión del magnesio, se da la liberación de iones $(OH)^-$ y esto resulta en un aumento del pH de la superficie local inicialmente hasta lograr el aumento del pH en toda la solución. Para la predicción de la tasa de corrosión general basada en el aumento relativo del pH se puede utilizar una estimación de la reacción catódica. No obstante, este método presenta dos principales desventajas: el pH general que se mide puede no ser un valor representativo del pH en la superficie de la muestra y esta puede llegar a variar en muchas unidades de pH, el segundo inconveniente es que este método se aplica a cambios de pH crecientes, lo cual excedería el rango fisiológico (7.4 – 7.6) y por tanto no sería recomendable este método para determinar la tasa de biocorrosión del magnesio y sus aleaciones, además de que tendría un impacto negativo

en las capas de $Mg(OH)_2$ o CaP que se formen sobre la superficie de la muestra (Kirkland et al., 2012).

11.9.3. Polarización potenciodinámica (PDP)

Este método proporciona información sobre el potencial de corrosión, reacciones anódicas y catódicas, y también información cinética de la densidad de corriente de corrosión en un momento dado. La ventaja de la polarización potenciodinámica es que posibilita la cuantificación de las velocidades relativas de las reacciones anódicas y catódicas en una gama de potenciales; esta información es sumamente importante cuando se necesita profundizar en los aspectos mecánicos de la biocorrosión de las aleaciones de magnesio, mientras se investiga la selección de aleación y establece una base de ingeniería para el diseño. Generalmente las pruebas de polarización potenciodinámica son precedidas por un intervalo de tiempo establecido de exposición donde se registra el potencial de circuito abierto (OCP), este primer procedimiento permite que el material se estabilice con el electrolito y alcanza un potencial casi constante, luego de la estabilización el voltaje se barre a una velocidad controlada (ej.: 1 mV.s-1) entre diferentes potenciales previamente establecidos a través de la regulación de corriente que fluye entre el electrodo de trabajo (Mg) y el contraelectrodo (metal inerte), después el voltaje inicial se establece nominalmente para iniciar en valores más negativos (Kirkland et al., 2012).

11.9.4. Espectroscopía de impedancia electrónica (EIS)

La espectroscopía de impedancia electrónica es una técnica utilizada para la caracterización de las superficies de muestras mediante la respuesta de frecuencia de la polarización de la corriente alterna. Es decir, utiliza un rango de voltajes de polarización

de baja magnitud que van desde un voltaje anódico pico a un voltaje catódico pico utilizando un espectro de frecuencias de voltaje, se obtienen valores tanto de resistencia como capacitancia para cada frecuencia. La información obtenida sirve para interpretar los fenómenos y propiedades de una superficie metálica, donde la impedancia de una superficie (sujeta a polarización) tiene una relación directamente proporcional a la resistencia a la corrosión e inversamente proporcional a la velocidad de corrosión por defecto (Kirkland et al., 2012).

Esta técnica es de naturaleza no destructiva a comparación de la PDP cuando se trata del magnesio en SBF, por lo que es posible tomar varias mediciones sobre una misma muestra sin tener que nuevamente pulir la superficie de la muestra luego de cada escaneo y también monitorear en tiempo real. Lo que hace a esta técnica muy beneficiosa es la capacidad de detección de capas individuales en la superficie de magnesio, por lo que cuando es usado en periodos más largos puede detectar la formación de una capa de corrosión o pasivación como fosfato de calcio en la superficie de magnesio y a la vez cuantificar la contribución de cada capa a la protección de la superficie de magnesio (Lasia, 2014).

En el **ANEXO E** se encuentra una tabla resumen detallado de las ventajas y limitaciones de los experimentos *in vitro* para la evaluación de la corrosión.

11.10. Análisis de caracterización de recubrimientos

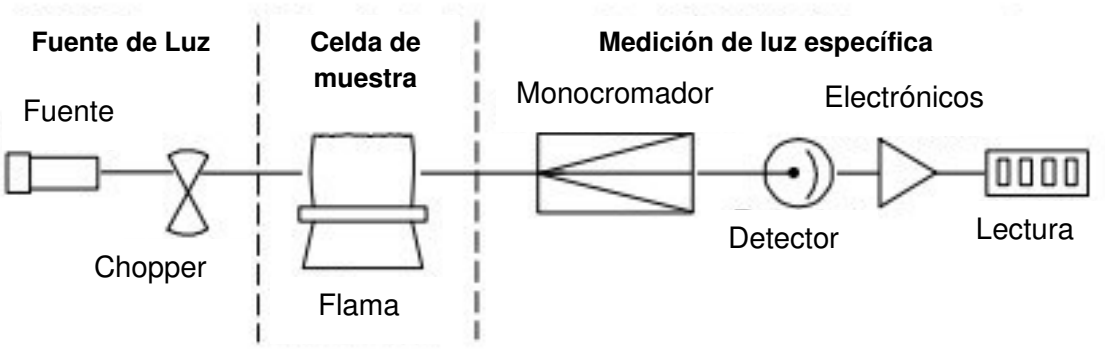
11.10.1. Espectroscopía de absorción atómica

La espectroscopía de absorción atómica es una técnica analítica cuantitativa para la determinación de concentración de elementos. El alcance de medición es hasta partes por billón de un gramo de muestra y se basa en el principio de la absorción de luz con

una energía específica por parte de un átomo en estado fundamental, haciendo que experimente una excitación a un estado de mayor energía (Alhawdar, 2014).

Figura 10

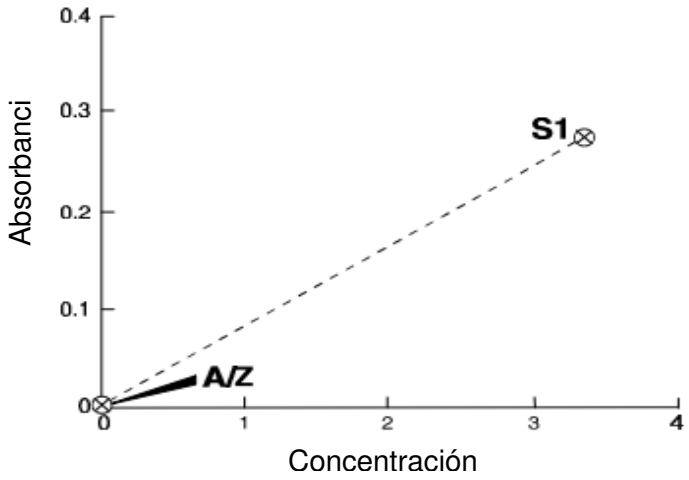
Representación esquemática del espectrómetro de absorción atómica de un haz (Analytical methods for atomic absorption spectroscopy, s/f).



En la calibración del instrumento, se hace uso de curvas de calibración donde establecen relación tanto la concentración como la absorbancia. Estas mediciones cuantitativas se basan en la ecuación de la Ley de Beer ($C = kA$), que como es notorio no tiene un comportamiento linear, sobre todo cuando se trabajan con altas concentraciones.

Figura 11

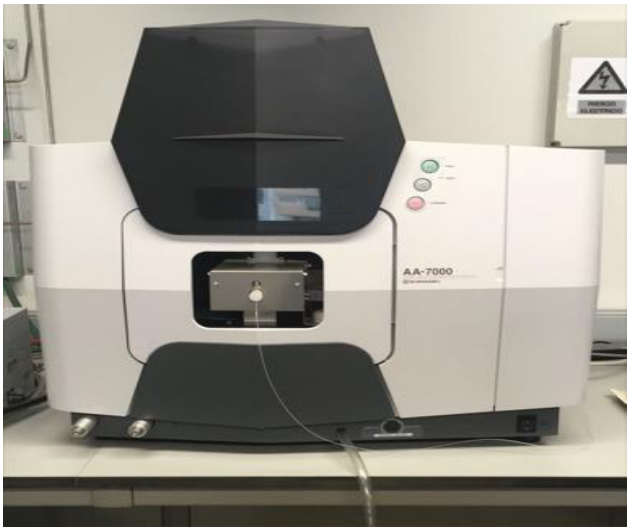
Representación de curva de calibración con un estándar (Analytical methods for atomic absorption spectroscopy, s/f).



En el **ANEXO F** se encuentran las condiciones estándar de operación para la realización de la prueba de absorción atómica para el magnesio.

Figura 12

Espectrómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000.



11.10.2. Microscopía electrónica de barrido y análisis elemental (SEM/EDS)

La microscopía electrónica de barrido es una técnica de caracterización de la morfología de las superficies antes y después del proceso de corrosión. Para este estudio

especifico permite realizar un análisis cuantitativo de diferentes morfologías, aspectos de una superficie corroída, además de la estimación de la rugosidad de la superficie, caracterizando las picaduras de corrosión (su dimensión y forma), localizando la corrosión y determinando la morfología de los productos de corrosión como los óxidos formados a partir de ella (Garbacz y Królikowski, 2019). Esta técnica es ampliamente útil en las caracterizaciones ya que requiere poca cantidad de muestra y no se destruye la muestra para el análisis (ATRIA Innovation, 2020).

La aplicación se basa en el escaneo de la superficie de una muestra con un haz de electrones enfocados, este haz de electrones interacciona con la muestra de tal forma que produce distintas señales que son colectadas por detectores, luego la información obtenida de los detectores se transforma en una imagen de alta resolución de la superficie de la muestra (ATRIA *Innovation*, 2020). El haz de electrones enfocados se le aplica un voltaje de aceleración con un rango de 30 keV a menos y de dicho voltaje depende el cómo se realiza la interacción del haz de electrones con la superficie de muestra (Garbacz and Królikowski, 2019).

Por otro lado, el detector de rayos X (EDS) capta la energía que proviene de los rayos X generados en la superficie, son característicos de cada elemento de la muestra y ello provee información sobre la composición elemental. Lo resaltante de este detector EDS es que puede aplicarse en un punto específico de la superficie de muestra o en un área, y cuando es aplicado en un área se puede visualizar un mapa con diferentes elementos que están presentes en dicha área seleccionada de la muestra, dichos elementos del área son representados con un color diferente. El detector EDS brinda

información semicuantitativa de la composición de superficie de muestra (Nanakoudis, 2019; ATRIA *Innovation*, 2020).

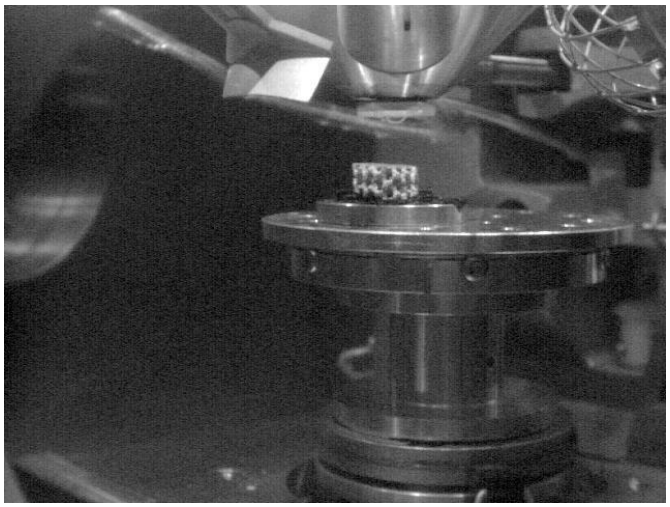
Figura 13

Microscópio electrónico de barrido FEI Quanta 200.



Figura 14

Representación de la toma de imágenes de una muestra de AZ31.



Nota. Imagen tomada del equipo Prima E Termo Fisher,UNMSM.

12. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La ejecución experimental y la etapa inicial de la caracterización se desarrollaron en los laboratorios de análisis instrumental y química experimental de la Universidad de Ingeniería y Tecnología-UTEC. La etapa final de caracterización (MEB/EDS) se llevó en la sala de Microscopia Electronica y Aplicaciones en el Peru S.A.C.

12.1. Materiales, insumos y equipamientos

Los materiales, insumos y equipamientos de laboratorio necesarios para la realización de los experimentos son listados a seguir y el número de estos depende de cada ensayo a realizarse.

Materiales

- Vasos de precipitados de 600 ml
- Vasos de precipitados de 400 ml
- Soportes universales
- Pinzas de 3 uñas
- Nueces sujetadoras
- Bureta de 50 ml
- Embudo de 40 mm de diámetro
- Hilo de pescar
- Probetas de 100 ml
- Matraz volumétrico de 100 mL
- Micropipeta de 0-100 uL
- Micropipeta de 0-500 uL
- Pipetas Pasteur

- Recipientes de plástico de 100 ml
- Recipientes de plástico de 1000 ml

Equipos

- Plancha de agitación y calentamiento (IKA MAG HS 7, provisto por UTEC)
- Potenciómetro (HANNA HI 8424, provisto por UTEC)
- Termocuplas (Control Company CC4371, provisto por UTEC)
- Espectrofotómetro de absorción atómica-AA (Shimadzu AA-7000, provisto por UTEC)
- Microscopía electrónica de barrido-SEM/EDS (FEI Quanta 200, Microscopia Electronica y Aplicaciones en el Peru S.A.C.) y (Prima E Termo Fisher,UNMSM).
- Balanza analítica (OAHUS-AX224, provisto por UTEC)
- Ultrasonido (Ultrasonic Cleaner-Lab Companion Ucp-20, provisto por UTEC)

Reactivos

Los reactivos químicos utilizados fueron de grado analítico y se utilizaron sin purificación adicional

- SBF (Solución de fluido corporal simulado fue preparado en el laboratorio de Química experimental de la Universidad de Ingeniería y Tecnología bajo protocolo (Kukubo,2003), ver **ANEXO D**.
- $HCl_{(ac)}$ 1 M (p.a. Emsure Acs, Iso, Reag. Ph Eur, provista por Merck Peruana S.A)
- $KOH_{(ac)}$ 1 M (Lentejas p.a. Emsure®, provista por Merck Peruana S.A)
- Acetona (Emparta ACS, provista por Merck Peruana S.A)
- Etanol Absoluto (Emsure Reag. Ph Eur, provista por Merck Peruana S.A)
- Colágeno tipo I (Sigma Aldriech, USA)
- Agua destilada (Obtenida mediante sistema de destilación de laboratorio, UTEC)

- Agua Ultrapura (Sistema de purificación de agua ultrapura, Suministrada por UNMSM)
- Solución buffer 7.01(Certipur, provista por Merck Peruana S.A)
- Solución buffer 4.01(Certipur, provista por Merck Peruana S.A)

12.2. Desarrollo Experimental

Constituido por 6 etapas, las cuales se describen a continuación de modo secuencial:

i) Preparación de las muestras de espumas de Mg

ii) Activación superficial: a) en medio alcalino y b) con ácido fluorhídrico

iii) Revestimiento con distintas concentraciones de colágeno

iv) Evaluación de la corrosión mediante el método de evolución de hidrógeno

v) Caracterización y análisis de datos de análisis de corrosión: a) Determinación de la concentración experimental de magnesio en solución SBF, b) Evaluación de la corrosión experimental de la aleación AZ31, c) Análisis de espectroscopía de absorción atómica de la solución de SBF, d) Caracterización de la superficie revestida de los *scaffolds* "espumas de magnesio" mediante MEB / EDS.

vi) Análisis estadístico de los datos obtenidos en la parte experimental.

12.2.1. Preparación de las muestras de espumas de Mg

Los *scaffolds* AZ31 son aleaciones de magnesio cuya composición es de aproximadamente 3% Al y 1% Zn, las muestras fueron elaborados en la facultad de Ingeniería Industrial por el Grupo de Investigación sobre Nuevos Materiales de la Universidad Pontificie Bolivariana de Colombia. Estas muestras son de forma cilíndrica con

dimensiones 7 mm de diámetro y 60 mm de altura, cuentan con un porcentaje de porosidad de 75 ± 2% y un área superficial especifica de 0.04354 cm^2/mg.

- **Corte de los *scaffold* de magnesio**

Cada una de las muestras fueron cortadas haciendo uso de una cortadora manual de disco, para obtener 12 muestras con dimensiones 7 mm de diámetro y 10 mm de altura, aproximadamente.

Luego de cortadas las 12 muestras se pesaron haciendo uso de la balanza analítica y pinza de plástico. Se registró la masa y se agruparon en réplicas de masas similares para los ensayos posteriores.

- **Determinación área superficial de cada muestra**

La determinación del área superficial para cada una de la muestra se realizó con la siguiente ecuación:

$$Área\ superficial\ (cm^2) = As\ x\ mi \quad (11)$$

Donde:

As(cm^2/mg): Área superficial específica 0.04354 cm^2/mg.

mi(mg): Masa de cada una de las muestras.

- **Limpieza de la *s*uperficie del *scaffold* "*e*spumas de magnesio"**

Siguiendo la metodología de Wen et al. (2009) y Xiong et al. (2019), indica que el paso inicial consiste en sumergir las aleaciones de magnesio en un baño ultrasónico (Ver **Figura 15 a)**) a condiciones de temperatura de 40°C y un tiempo de 10 minutos primero en acetona y luego en etanol absoluto químicamente puro, para limpiar y desengrasar

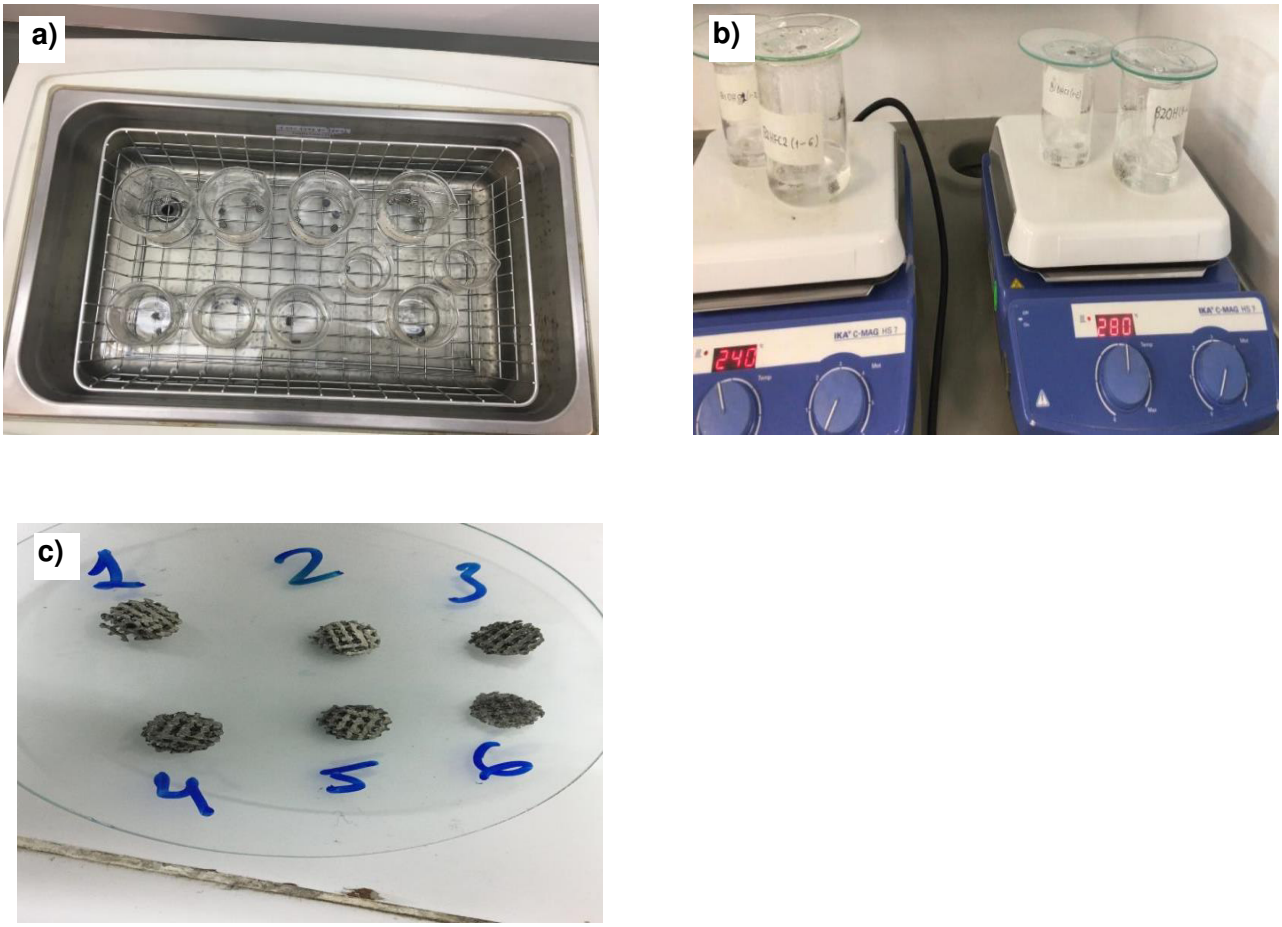
dichas superficies. Luego para remover los residuos de acetona y etanol de la superficie de las muestras, se realizó una última limpieza con agua destilada en baño ultrasónico a las mismas condiciones previamente mencionadas. Teniendo ya las muestras libres de impurezas se colocaron dentro de una campana extractora para asegurar un mejor secado durante 1 hora a temperatura ambiente y posterior almacenamiento en un desecador.

12.2.2. Activación superficial del *scaffold* "espumas de magnesio" en una solución de $KOH_{(ac)}$ 5M en ebullición

Este procedimiento se llevó a cabo según Xiong et al. (2018), en donde las muestras de *scaffolds* "espumas de magnesio" ya limpias fueron inmersas en solución de $KOH_{(ac)}$ 5 M en ebullición durante 15 minutos (ver **Figura 15 b)**), luego secadas con aire frío dentro de una campana extractora durante 1 hora (Ver **Figura 15 c)**) y finalmente almacenadas durante 7 días dentro de un desecador a condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa de 25 ± 3°C y 73 ± 5% respectivamente.

Figura 15

Activación superficial del scaffold "espumas de magnesio" en medio alcalino a) Limpieza de las muestras en baño ultrasónico. b) Inmersión en solución $KOH_{(ac)}$ 5M a ebullición en plancha de calefacción) Secado de muestras inmersas en $KOH_{(ac)}$ 5M en campana extractora.



12.2.3. Activación superficial del *scaffold* "espumas de magnesio" en una solución $HF_{(ac)}$ al 40% (w/w)

Estos tratamientos de activación superficial, ampliamente utilizados en la industria como un paso previo a la aplicación de recubrimientos orgánicos, aumentan de manera significativa la adhesión interfacial mediante el aumento de la energía libre de la superficie, la rugosidad superficial y cambios en la física y la química de la superficie (Vakili et al., 2015).

Se utilizó una concentración al 40%(w/w) de HF(ac) tomando como referencia a (Xiong et al., 2019), (Y. Song et al., 2009) quienes realizaron activación superficial en aleaciones de magnesio similares a la utilizada en este trabajo pero con distinta porosidad y geometria. Con el uso de esta concentración de $HF_{(ac)}$ se promueve la formación MgF_2 a traves de las siguientes ecuaciones químicas:

$$Mg + 2OH^- = Mg(OH)_2$$

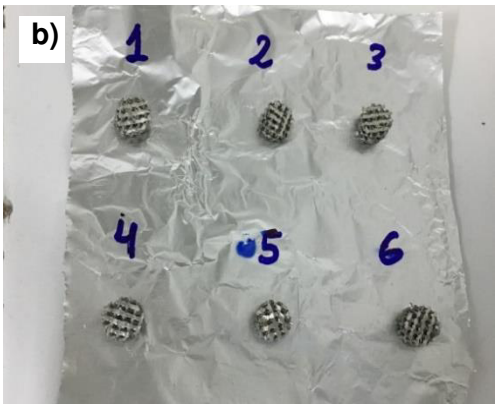
$$Mg(OH)_2 + 2HF = MgF_2 + H_2O$$

En un grupo de seis, el 50% de las muestras ya tratadas con $KOH_{(ac)}$ 5 M fueron inmersas en solución preparada de $HF_{(ac)}$ al 40% (w/w) y luego encubadas en baño María a 60°C durante 30 minutos (ver **Figura 16 a)**). Seguidamente las muestras fueron secadas con aire frío dentro de una campana extractora (ver **Figura 16 b)**) encendida durante 1 hora y finalmente almacenadas dentro de un desecador durante 7 días.

Figura 16

Activación superficial del scaffold "espumas de magnesio" en medio acido a) Espuma de Mg encubada en solución $HF_{(ac)}$ al 40% (w/w). b) Secado de muestras $HF_{(ac)}$ al 40% (w/w) en campana extractora.





12.2.4. Revestimiento de superficies de scaffold "espumas de magnesio" con colágeno al 0% (w/w), 16% (w/w) y 64% (w/w)

Se decidió utilizar las concentraciones de colágeno al 0% (w/w) ,16% (w/w) y al 64% (w/w) por acuerdo grupal y tomando como referencia a (Kim et al., 2019) quien utiliza una aleación similar a la utilizada en el presente trabajo pero en concentraciones de colágeno en menor proporción. Asi mismo, se utilizó estas concentraciones para comparar el efecto sobre la velocidad de corrosión, es decir, incrementando cuatro veces la concentración de colágeno se podría ver si habrá algún efecto significativo en la reducción de la velocidad de corrosión.

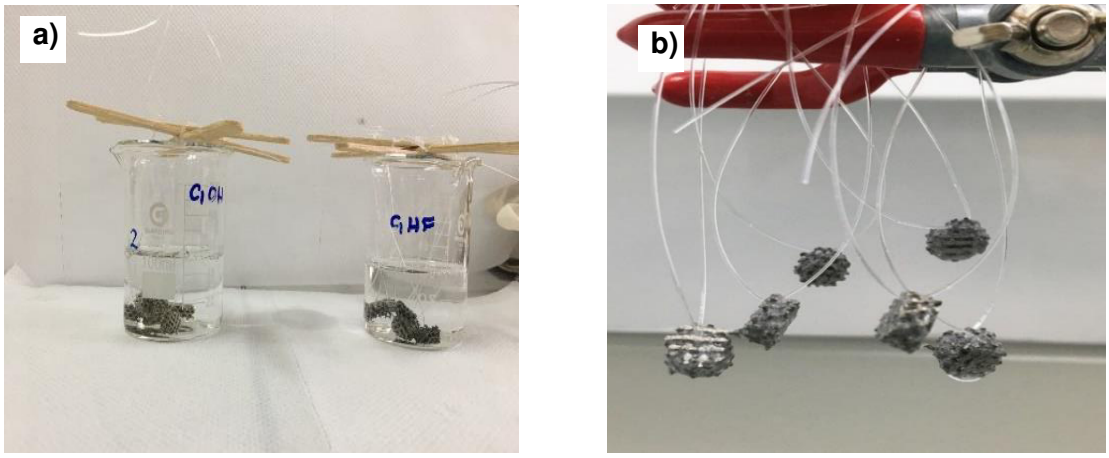
La solución concentrada de colágeno 80%(w/w) utilizado fue de tipo I de cola de ratón, (Sigma Aldrich, USA) a partir de la cual se prepararon las siguientes soluciones 0% (w/w) ,16% (w/w) y al 64% (w/w), haciendo uso de la ecuación siguiente:

$$C_1V_1 = C_2V_2 \qquad (12)$$

En el **APENDICE A** se muestra en detalle los cálculos realizados. Ya preparada las distintas concentraciones de colágeno, se sumergieron dentro de estas concentraciones las distintas muestras de alecciones de magnesio por un tiempo de 1 minuto (ver **Figura 17 a)**), luego se dejó secar por un tiempo de 15 minutos (ver **Figura 17 b)**) a condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa de 25 ± 3°C y 73 ± 5% respectivamente, para cada muestra se realizaron tres repeticiones.

Figura 17

Revestimiento de superficies de scaffold "espumas de magnesio" con colágeno a) Inmersión del scaffold de magnesio en solución de colágeno. b) Secado luego de la inmersión en solución de colágeno del scaffold de magnesio.

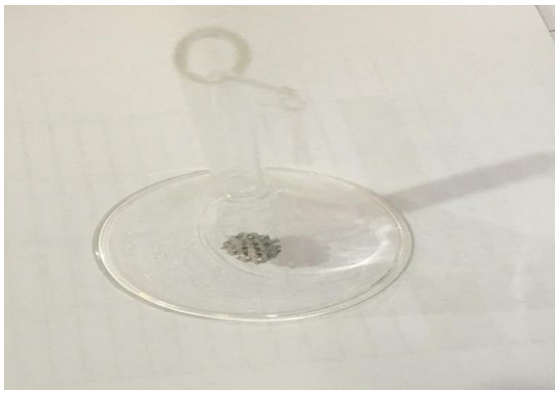


12.2.5. Método de evolución de volumen de hidrógeno

Para evaluar la velocidad de corrosión de las espumas de magnesio AZ31 se tomó como referencia a Song et al. (2013), Atrens et al. (2018) y Zainal Abidin et al. (2011). La metodología utilizada por ellos fue adaptada al sistema en estudio en la cual cada muestra fue inmersa en solución de fluido corporal simulado (SBF) por un tiempo de 24h. La temperatura fisiológica con la cual se trabajó fue 37 ± 1°C, mientras que la presión atmosférica se mantuvo constante a 760 mmHg. Se reguló el pH de la solución SBF haciendo uso de HCl 1M y NaOH 1M con el propósito que se mantenga el pH fisiológico de 7.4± 0.3. Para iniciar con el ensayo de evolución de hidrógeno primeramente se armó el siguiente sistema (ver **Figura 18**).

Figura 18

Aleación AZ31 dentro de embudo.



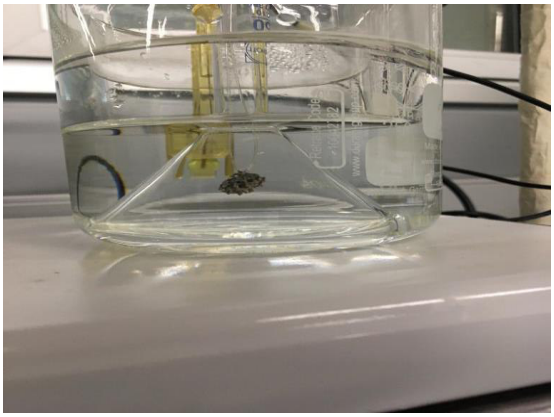
Como se observa, la muestra se coloca dentro de un embudo con la finalidad de que el hidrógeno evolucionado se difunda con una mejor orientación hacia la bureta en donde se almacenará el hidrogeno luego de 24h de estar inmerso en SBF.

En la **Figura 19** se muestra parte del sistema montado, es decir, ya se estableció la conexión entre bureta y la parte superior del embudo, también se visualiza como la muestra

se encuentra suspendida a la mitad de altura del embudo para que el hidrógeno evolucionado no se difunda por la base y haya pérdidas.

Figura 19

Inmersión de la muestra dentro de la solución de SBF.



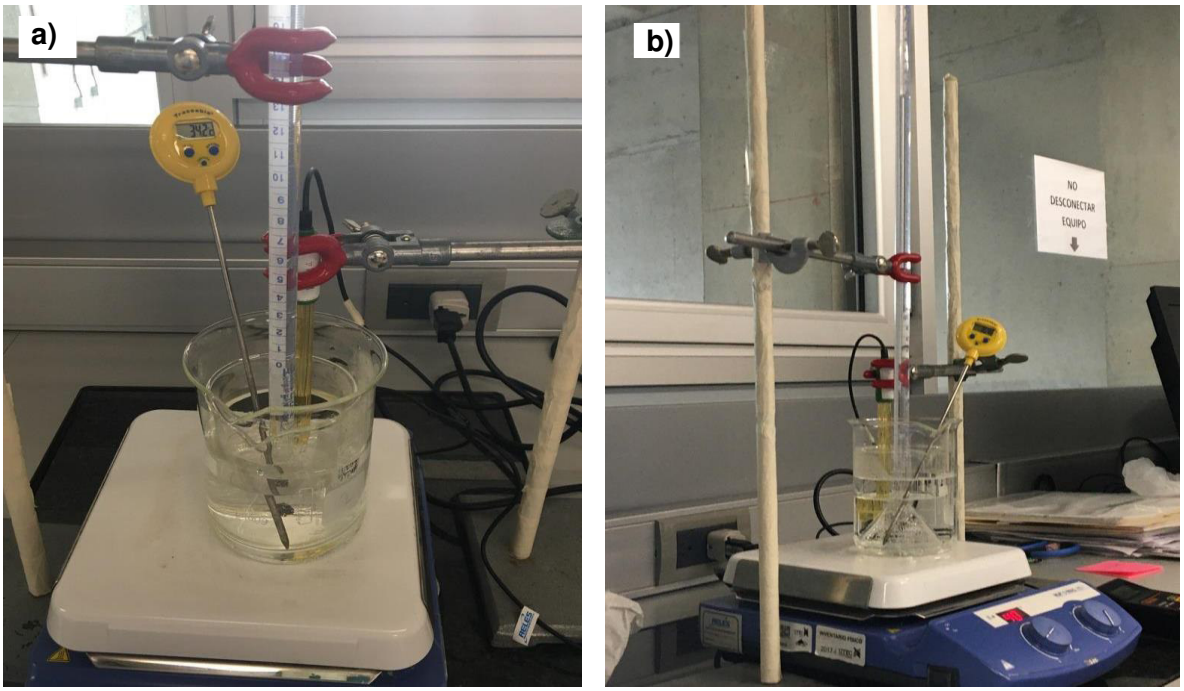
En la **Figura 20 a)** ya se muestra el sistema embudo-bureta y solución SBF. A este sistema se le implementó un potenciómetro para el monitoreo de las medidas de pH y también una termocupla para el control de la temperatura, ambas mediciones fueron registradas cada hora para asegurar que las pruebas se lleven a cabo simulando las condiciones fisiológicas normales internas del cuerpo humano.

El calor suministrado a todo el sistema fue a través de una plancha de calentamiento, pero para evitar cambios bruscos de temperatura se acondicionó un baño María entre el vaso de precipitado de 600mL y el vaso de 400mL.

Luego de finalizada la implementación del sistema (ver **Figura 30 b)**), y asegurando que la temperatura de la solución SBF sea de 37 °C ± 1 y el pH de 7.4 ± 0.3 se inicia con la medición y registro del volumen evolucionado de hidrógeno, lo cual fue visualizado en la bureta cada hora durante 24h.

Figura 20

Sistema acondicionado para la captura del volumen de hidrógeno evolucionado.



12.2.6. Determinación de la concentración experimental de magnesio en solución SBF

Para el magnesio, la reacción de corrosión está representada por la ecuación (13). Así la evolución de 1 mol de hidrógeno gaseoso corresponde directamente a la disolución de 1mol de Mg. En teoría, medir el volumen de gas H_2 producido es equivalente a medir la pérdida de masa de Mg (Kirkland et al., 2012).

$$Mg + 2H_2O = Mg^{2+} + 2(OH)^{-} + H_2 \qquad (13)$$

Según Kirkland et al. (2012) el cálculo experimental de la masa de magnesio disuelta en SBF se obtiene haciendo uso de la ecuación (14), básicamente se parte de la ley de los gases ideales que rige el volumen de H_2 evolucionado.

$$PV = RTn \qquad (14)$$

En donde:

T(K): La temperatura fisiológica.

P(mmHg): Presión atmosférica.

V(L): volumen de hidrógeno evolucionado.

n(mol): número de moles de hidrógeno evolucionado.

R(mmHg.L/mol.K): Constante universal de los gases ideales.

Realizado los despejes adecuados a la ecuación (14) para la determinación de la masa de Mg en la solución SBF.

$$m(mg) = \frac{P(mmHg).V(L).M\left(\frac{g}{mol}\right)}{R\left(\frac{mmHg.L}{mol.K}.\right).T(K)} x1000 \qquad (15)$$

Ya determinada la masa de Mg en la solución SBF se determinó la concentración experimental, mediante la ecuación (16).

$$ppm\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{Masa\ de\ Mg(mg)}{Volumen\ de\ solucion\ SBF\ (L)} \qquad (16)$$

12.2.7. Evaluación de la corrosión experimental de la aleación AZ31

Para la evaluación de la velocidad de corrosión se tomó como referencia a Xiong et al. (2018) y el ASTM G31-72, en donde se detalla el procedimiento y cálculo de los ensayos de corrosión por inmersión de metales, para este propósito se utilizó la siguiente ecuación:

$$\mathrm{CR(mm/año)} = \frac{t \times W}{A x T x \rho} x10 \qquad (17)$$

En donde:

t(h): es 365x24h

W(g): Masa de magnesio perdida

A(cm^2): Área superficial expuesta a la corrosión

T(h): Tiempo de inmersión

ρ(g/cm^3): Densidad de la aleación de magnesio AZ31

12.2.8. Análisis de espectroscopía de absorción atómica de la solución de SBF

Se aplicó el método de espectroscopia de absorción atómica para el análisis de la solución de SBF luego del ensayo del volumen de hidrógeno evolucionado durante 24h. Se

realizó este análisis para poder cuantificar la cantidad de magnesio que hay en dicha solución y relacionarla con el volumen de hidrógeno desprendido durante la corrosión.

El análisis en espectroscopia de absorción atómica siguió las siguientes etapas:

- **Digestión química de solución SBF luego del ensayo de corrosión**

  Se inicia con la digestión de la solución SBF que contiene al magnesio disuelto añadiendo HCl químicamente puro, se añade tantas gotas sea necesario hasta llegar a un a pH menor o igual a 1.00 (Fishman y Downs, 1966). Posteriormente filtrar la solución ya digestada en un papel filtro de 0.45 µm, para retener los contaminantes sólidos en suspensión (ver **Figura 21**).

Figura 21

Digestión química y filtrado de la solución SBF.



- **Dilución de las muestras para las lecturas en el espectrofotómetro de absorción atómica**

  Se preparan disoluciones de tal forma que las concentraciones resultantes puedan ser detectadas adecuadamente en el espectrofotómetro de absorción atómica. Para lo

cual se extrae una determinada cantidad de SBF del proceso de corrosión con ayuda de una micropipeta y se vierten una fiola de volumen conocido y finalmente se afora con agua destilada. La concentración final deseada se calculó utilizando la ecuación *(12)*:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

C_1: ppm experimental.

V_1: Volumen a extraer de la solución inicial de SBF.

C_2: Concentración final deseada. (Para esta concentración se debe elegir un punto que se encuentre dentro de la curva de calibración ver **Tabla 20**).

V_2: Volumen final de aforo.

- **Preparación de curva de calibración**

  Se construyó a partir de una solución estándar de magnesio de concentración conocida y certificada de 1000 ppm. A partir de esta solución estándar y mediante diluciones se obtuvieron los puntos para la curva de calibración con las siguientes concentraciones (0.1- 0.2 - 0.3 - 0.4 - 0.5- 0.6 ppm), estas fueron establecidas tomando como referencia a Nalatambi (2009), en donde se realizó la determinación de metales (Ag, Mg, Au y Cu) en agua utilizando la técnica de espectroscopía de absorción atómica.

12.2.9. Caracterización de la superficie revestida de los *scaffolds* "espumas de magnesio" mediante MEB / EDS

La caracterización de las superficies revestidas de los *scaffolds* "espumas de magnesio" se realiza usando un microscopio electrónico de barrido (SEM) modelos Prisma E de la marca Termo Fisher con detector de microanálisis (EDS) y el Quanta200 FEI. Las micrografías deben ser de la superficie de las muestras de *scaffold* antes y después de ser sometidas al ensayo de corrosión para obtener data comparativa. Además, un análisis

químico - elemental por Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS) acoplado al sistema del SEM debe realizarse a fin de conocer más detalles de la composición y/o cambios en la composición de la superficie del *scaffold*.

12.2.10. Análisis estadístico

- **Minitab 18**

Minitab es un programa de computadora diseñado para ejecutar funciones estadísticas básicas y avanzadas, la cual posee herramientas estadísticas que permiten acceder a un mejor conocimiento de la información contenida en los datos mediante metodologías y procesos de recogida, análisis e interpretación.

- **Diseño de experimento factorial**

El diseño factorial a utilizar en el estudio es de 2x3 y consiste en seis tratamientos con dos réplicas como se visualiza en la **Tabla 10**, obteniendo aleatoriamente 12 corridas experimentales como se muestras en la **Tabla 12**.

Se eligió este tipo de experimento para probar que efecto tiene las distintas concentraciones de colágeno (C_0=0%, C_1=16% y C_2=64%), los medios de activación superficial (alcalino (OH) y fluorhídrico (HF)) y la interacción de ambos sobre las velocidades de corrosión y la morfología superficial que son nuestras variables de respuesta a fin de encontrar el mejor desempeño del proceso.

Tabla 10

Nomenclatura de muestras.

Muestra	Nomenclatura de muestras
M_1OHC_0 M_2OHC_0	Réplica de muestras 1 y 2 con activación superficial alcalino (OH) 5M de KOH y sin revestimiento de colágeno (C_0).
M_1OHC_1 M_2OHC_1	Réplica de muestras 1 y 2 muestra con activación superficial alcalino (OH) 5M de KOH y revestida con colágeno al 16% (w/w).
M_1OHC_2 M_2OHC_2	Réplica de muestras 1 y 2 muestra con activación superficial alcalino (OH) 5M de KOH y revestida con colágeno al 64% (w/w).
M_1HFC_0 M_2HFC_0	Replica de muestras 1 y 2 muestra con activación superficial fluorhídrico al $HF_{(ac)}$ al 40%(w/w) sin revestimiento de colágeno.
M_1HFC_1 M_2HFC_1	Réplica de muestras 1 y 2 muestra con activación superficial fluorhídrico $HF_{(ac)}$ al 40% (w/w), revestida con colágeno al 16% (w/w)
M_1HFC_2 M_2HFC_2	Réplica de muestras 1 y 2 muestra con activación superficial fluorhídrico $HF_{(ac)}$ al 40% (w/w), revestida con colágeno al 64% (w/w)

Tabla 11

Diseño experimental.

Niveles del factor B (concentración)	Niveles del factor A (activación superficial)	
	OH	HF
C_0=0%	M_1OHC_0	M_1HFC_0
	M_2OHC_0	M_2HFC_0
C_1=16%	M_1OHC_1	M_1HFC_1
	M_2OHC_1	M_2HFC_1
C_2=64%	M_1OHC_2	M_1HFC_2
	M_2OHC_2	M_2HFC_2

Tabla 12

Diseño de experimento factorial 2x3.

Tratamiento	pH	Temperatura SBF (°C)	Tiempo de inmersión (min)	Tiempo de secado (min)	Medio de activación superficial	Porcentaje de colágeno aplicado
1	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	64
2	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	64
3	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	0
4	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	16
5	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	64
6	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	16
7	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	16
8	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	0
9	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	64
10	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	0
11	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	0
12	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	16

- **ANOVA**

Un análisis de varianza (ANOVA) prueba la hipótesis de que las medias de dos o más poblaciones son iguales. Los ANOVA evalúan la importancia de uno o más factores al comparar las medias de la variable de respuesta en los diferentes niveles de los factores. La hipótesis nula establece que todas las medias de la población (medias de los niveles de los factores) son iguales mientras que la hipótesis alternativa establece que al menos una es diferente.

Se utilizó el programa Minitab 18 para el análisis de varianza donde se verifica la significancia de las variables de estudio. Las variables independientes con valor de

probabilidad p del estadístico F (prob > F) menores al nivel de significancia (α =0,05) serán consideradas dentro de los efectos significativos.

Se utilizan las pruebas de Kolmogorov Smirnov (1933) y Shapiro-Wilks (1965) para verificar el supuesto de distribución normal, mientras que la prueba de Levene (Levene, 1960) se utiliza para verificar el supuesto de homocedasticidad. Y finalmente la prueba de Durbin-Watson para evaluar la independencia de los datos.

El cumplimiento de los supuestos mencionados anteriormente son requisitos para un correcto análisis por el método ANOVA.

Para interpretar adecuadamente la interacción entre factores se realizan contrastes, analizando los efectos simples de concentración en cada nivel de activacion superficial y los contrastes de interacción comparando pares de efectos simples. Se considera significativo un p-value <0.05.

- **Análisis ANOVA para las tasas de corrosión obtenidas experimentalmente**

Esta ANOVA de dos factores puso a prueba las siguientes hipótesis:

1. Que el efecto principal del factor “Medio de activación superficial” sobre la variable dependiente CR es nulo, es decir, que la media de CR será la misma en un medio de activación alcalino y ácido.

   H0: Efecto de activación superficial (A) =0

   Hi: Efecto de activación superficial (A) $\neq$0

   Cada una de las activaciones superficiales sea esta alcalina o ácida tiene un efecto en la tasa de corrosión.

2. Que el efecto principal del factor “Concentración” sobre la variable dependiente CR es nulo, es decir, que la media de CR será la misma a concentraciones de 0%(w/w), 16%(w/w) y 64%(w/w) de colágeno.

   H0: Efecto de concentración de colágeno (B) =0

   Hi: Efecto de concentración de colágeno (B) $\neq 0$

   Cada una de las concentraciones (0%,16%y 64%) de colágeno tiene un efecto en la tasa de corrosión.

3. Que no se produce interacción significativa entre los valores “Medio de activación superficial” y “Concentración”, es decir, que se espera que el efecto del factor medio de activación superficial sobre CR sea el mismo en las distintas concentraciones, y similarmente que el efecto del factor concentración sobre CR será el mismo en las distintas concentraciones.

   H0: Efecto de activación superficial y concentración de colágeno (AB)=0

   Hi: Efecto de activación superficial y concentración de colágeno (AB) $\neq 0$

   La interacción de la activación superficial y las distintas concentraciones de colágeno si tienen un efecto en la tasa de corrosión.

Tabla 13

Diseño factorial (2x3) empleado para evaluar los efectos del medio de activación superficial y concentración sobre las tasas de corrosión en cada tratamiento.

Tratamiento	pH	Temperatura SBF (°C)	Tiempo de Inmersión (min)	Tiempo de secado (min)	Medio de Activación superficial	Porcentaje de colágeno aplicado	n
1	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	0	2
2	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	16	2
3	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	OH	64	2
4	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	0	2
5	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	16	2
6	7.4 ± 0.3	37 ± 1	1	15	HF	64	2

n=número de muestras ensayadas

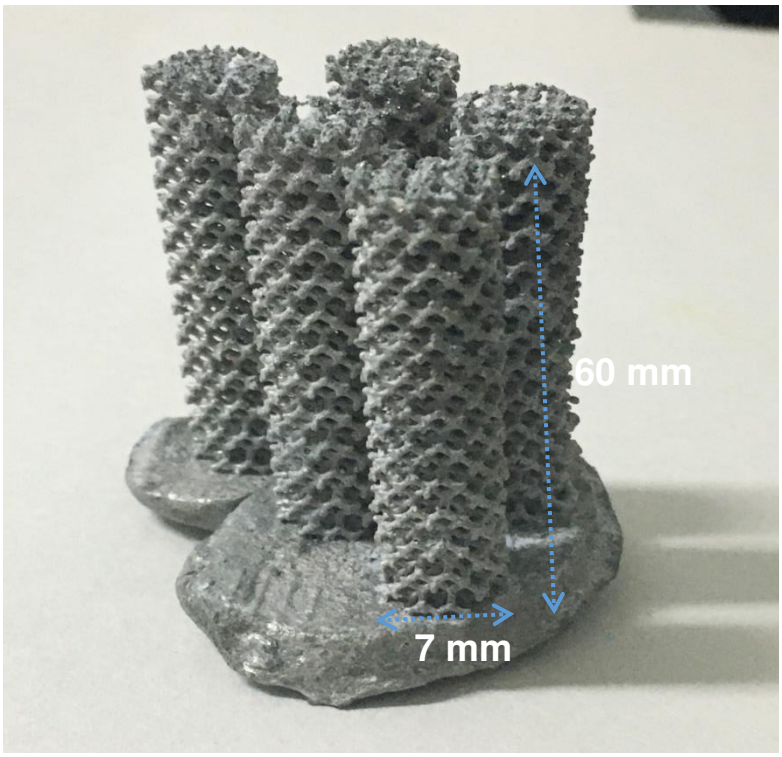
13. RESULTADOS Y DISCUSIONES

13.1. Preparación de las muestras de “espumas de magnesio”

Los *scaffolds* AZ31 “espumas de magnesio” que fueron proporcionados por la Universidad Pontificia Bolivariana, dentro del marco de un proyecto de investigacion en colaboracion con la Facultat de Química e Ingeniería Química. En la **Figura 22** se muestran las espumas suministradas y sus dimensiones.

Figura 22

Muestras originales de scaffolds “espumas de magnesio”.

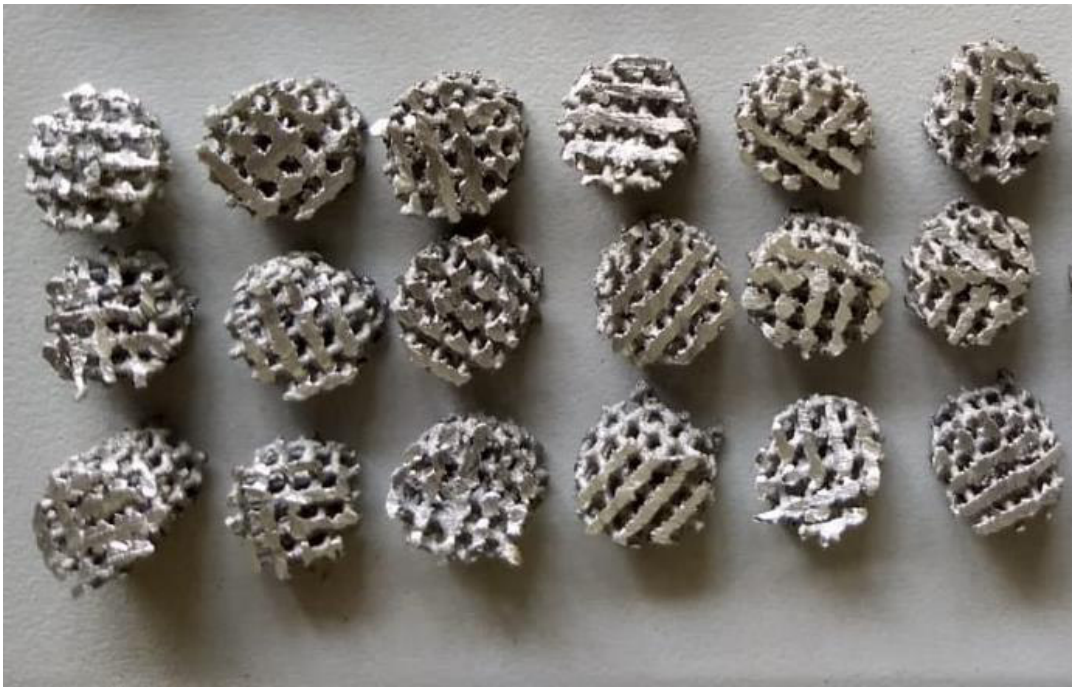


La **Figuras 23** muestra los cortes aproximados (7mm x 10mm de diámetro y altura respectivamente) realizados sobre las espumas de magnesio AZ31, estas fueron

aproximados dado que estas no presentan una superficie homogénea debido a la naturaleza porosa propia del material, lo cual no permite que se realicen cortes con las dimensiones exactas antes definidas, como consecuencia las masas de cada una de ellas presentan diferencias y se logra evidenciar al realizar los cálculos de las áreas superficiales de cada una de ellas.

Figura 23

Muestras de espumas AZ31 cortadas en 12 unidades para las pruebas de estudio.



- **Peso de cada muestra y área superficial**

De acuerdo a la **Tabla 14** el área superficial de cada una de ellas fue ligeramente variable y esto debido a que las masas no fueron similares, por lo que se agrupó aquellas muestras de pesos similares para las réplicas de cada tratamiento.

Tabla 14

Pesos iniciales y áreas superficiales de magnesio de cada muestra.

Muestra	Pesos de magnesio inicial (mg)	Pesos de magnesio inicial promedio (g)	Área superficial de *scaffold* (cm^2)	Área superficial de *scaffold* promedio (cm^2)
M_1OHC_0	155.8	0.0145 ± 0.0010	6.784	6.436 ± 0.006
M_2OHC_0	139.8		6.087	
M_1OHC_1	193.5	0.0205 ± 0.0010	8.425	8.922 ± 0.009
M_2OHC_1	216.3		9.418	
M_1OHC_2	190.4	0.0183 ± 0.0010	8.290	7.988 ± 0.008
M_2OHC_2	176.5		7.685	
M_1HFC_0	115.7	0.0138 ± 0.0010	5.035	6.027 ± 0.012
M_2HFC_0	161.2		7.019	
M_1HFC_1	188.2	0.0190 ± 0.0000	8.194	8.275 ± 0.000
M_2HFC_1	191.9		8.355	
M_1HFC_2	191.0	0.0167 ± 0.0020	8.704	7.498 ± 0.014
M_2HFC_2	144.5		6.292	

Para conocer más detalles de cálculos en determinación de área superficial ir al **APÉNDICE B**.

13.2. Metodo del volumen de hidrógeno evolucionado

La técnica de volumen de hidrógeno evolucionado o evolución de hidrógeno ha sido utilizada ampliamente en el análisis a la degradación del magnesio y sus aleaciones, dada su alta reactividad. Si bien es importante el uso de técnicas complementarias, la disponibilidad de tiempo, equipos y material de prueba no ha permitido en este trabajo abordar más allá que la realizada. No obstante, la técnica usada se convierte en un punto de

partida para una futura comparación con otras técnicas como la PDP y la EIS de muestras recubiertas con los mismos porcentajes de colágeno.

La **Tabla 15** muestra los datos recopilados en pares de réplicas de los volúmenes de hidrógeno evolucionados en cada hora y por un tiempo total de 24h sumergidas en la solución SBF.

Tabla 15

Volúmenes de hidrógeno evolucionado en muestras con activación superficial alcalino y revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w).

Tiempo	**Volumen de hidrógeno evolucionado (ml/cm^2)**					
(h)	**M_1OHC_0**	**M_2OHC_0**	**M_1OHC_1**	**M_2OHC_1**	**M_1OHC_2**	**M_2OHC_2**
1	0.16	0.30	0.11	0.08	0.06	0.05
2	0.44	0.62	0.19	0.18	0.11	0.12
3	0.65	0.62	0.26	0.27	0.17	0.18
4	0.80	0.92	0.34	0.33	0.22	0.23
5	0.93	1.15	0.43	0.40	0.28	0.30
6	1.06	1.38	0.47	0.46	0.33	0.35
7	1.14	1.57	0.55	0.55	0.36	0.39
8	1.24	1.83	0.61	0.61	0.39	0.44
9	1.40	1.95	0.66	0.65	0.40	0.47
10	1.58	2.13	0.69	0.69	0.42	0.47
11	1.71	2.29	0.72	0.74	0.45	0.49
12	1.89	2.46	0.77	0.78	0.49	0.53
13	2.06	2.60	0.80	0.83	0.52	0.57
14	2.22	2.82	0.84	0.87	0.56	0.61
15	2.37	2.93	0.88	0.91	0.60	0.65
16	2.51	2.98	0.93	0.96	0.63	0.68
17	2.62	3.20	0.95	1.00	0.64	0.72

18	2.74	3.34	0.98	1.04	0.66	0.76
19	2.89	3.49	1.01	1.07	0.69	0.81
20	3.01	3.62	1.04	1.11	0.74	0.85
21	3.15	3.73	1.08	1.14	0.76	0.89
22	3.34	3.85	1.10	1.19	0.80	0.91
23	3.41	3.96	1.14	1.22	0.84	0.98
24	3.52	4.16	1.19	1.24	0.87	1.00

La **Figura 24** muestra la evolución de hidrógeno sobre las aleaciones AZ31 con activación superficial alcalina con y sin revestimiento de colágeno sumergidas en solución SBF por un tiempo de 24h. Al ser inmersas a la solución SBF, las muestras mostraron una leve liberación de H_2 que se incrementó al transcurrir las horas y con mayor intensidad en las muestras no revestidas. Así mismo se observó generación de H_2 desde puntos específicos sobre la superficie, que podrían ser coincidentes con puntos que no lograron ser revestidos.

Se observa que el revestimiento con colágeno disminuye la liberación de hidrógeno evolucionado respecto a la muestra que no tiene revestimiento. En el caso de las muestras revestidas con colágeno al 64%(w/w) muestran un mejor desempeño respecto a la revestida con 16%(w/w) de colágeno y a la muestra sin revestimiento ya que hay una reducción en la cantidad de H_2 evolucionado, indicando que existe una reacción favorable al medio agresivo (solución SBF), y que el revestimiento sí protege a la aleación.

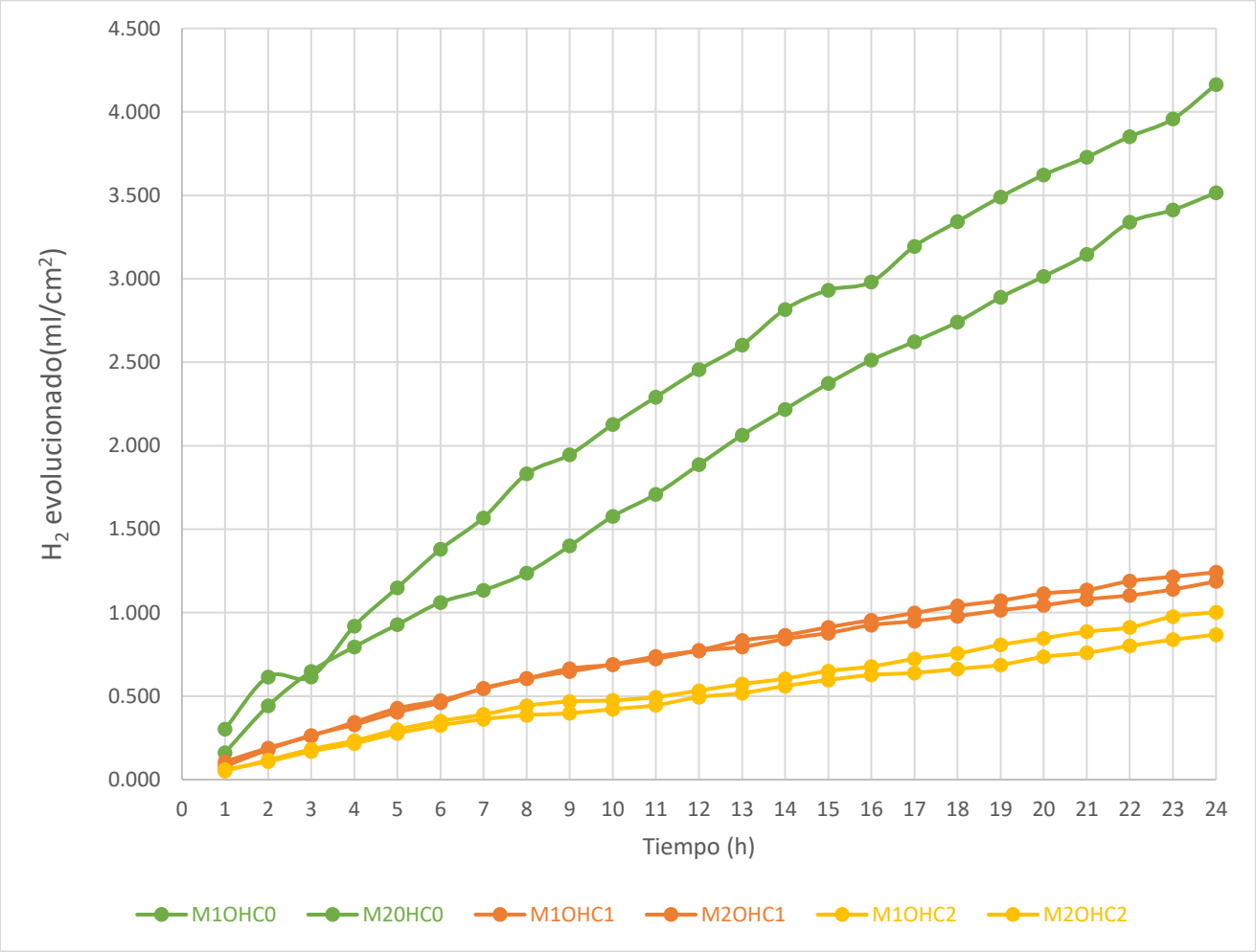
También se puede observar que las réplicas de muestras con tratamientos similares siguen una misma tendencia lineal con ligeras desviaciones respecto a las muestras sin revestimiento de colágeno.

Otro hecho que se observa es el comportamiento del pH a una temperatura de 37°C ± 1, este se incrementa y es más variable en aquellas muestras sin revestimiento y

concentración de colágeno menor, es decir, se tuvo que regular pH con soluciones de KOH 1M y HCL 1M en intervalos de tiempo más cortos. Todo ello es coherente con lo consignado en la bibliografía en donde se sugiere que en aquellas muestras sin revestimiento habrá una mayor liberación de H_2 y como consecuencia una mayor alcalinización de la solución SBF ya que esta sigue un comportamiento descrito en la ecuación *(13)* (Yang y Zhang, 2009; Xiong et al., 2018;). Esto se puede observar en las **Figura 53**, **Figura 54** y **Figura 55** del **APENDICE C**

Figura 24

Evolución de hidrógeno (ml/cm^2) para las aleaciones AZ31 con activación superficial alcalina revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w), sumergidas en SBF.



La **Tabla 16** muestra los datos recopilados en pares de réplicas de los volúmenes de hidrógeno evolucionados en cada hora y por un tiempo total de 24h sumergidas en la solución SBF.

Tabla 16

Volúmenes de hidrógeno desplazado en muestras con activación superficial fluorhídrico y revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w).

Tiempo	Volumen de hidrógeno evolucionado (ml/cm^2)					
(h)	M_1HFC_0	M_2HFC_0	M_1HFC_1	M_2HFC_1	M_1HFC_2	M_2HFC_2
1	0.08	0.03	0.03	0.02	0.01	0.02
2	0.21	0.09	0.04	0.08	0.02	0.04
3	0.28	0.13	0.07	0.13	0.04	0.06
4	0.38	0.16	0.10	0.16	0.05	0.10
5	0.40	0.18	0.13	0.19	0.07	0.11
6	0.42	0.20	0.17	0.23	0.09	0.14
7	0.46	0.24	0.19	0.25	0.10	0.15
8	0.52	0.27	0.23	0.29	0.12	0.17
9	0.56	0.30	0.27	0.29	0.15	0.17
10	0.58	0.33	0.32	0.32	0.17	0.17
11	0.66	0.41	0.35	0.32	0.20	0.18
12	0.70	0.47	0.38	0.33	0.21	0.21
13	0.75	0.54	0.43	0.35	0.24	0.21
14	0.76	0.60	0.46	0.36	0.26	0.23
15	0.79	0.66	0.48	0.39	0.28	0.23
16	0.83	0.71	0.51	0.40	0.30	0.23
17	0.87	0.74	0.53	0.41	0.32	0.26
18	0.89	0.78	0.56	0.45	0.34	0.28
19	0.93	0.83	0.58	0.48	0.36	0.30
20	0.97	0.88	0.61	0.50	0.39	0.32
21	1.03	0.94	0.64	0.53	0.42	0.34
22	1.07	1.05	0.67	0.54	0.45	0.36
23	1.09	1.08	0.70	0.55	0.47	0.38
24	1.14	1.14	0.71	0.57	0.48	0.39

La **Figura 25** muestra los resultados de los ensayos de evolución de hidrógeno para las aleaciones AZ31 con y sin revestimiento de colágeno y activadas fluorhídricamente. Se puede apreciar que, en el caso de las muestras sin revestimientos alcanzaron los niveles más altos de liberación de H_2 generando volúmenes alrededor de 1.14 ml/cm^2. Por otro lado, las muestras que generaron menor evolución de hidrógeno fueron $MOHC_1$ y $MOHC_2$, es decir, aquellas muestras a las cuales solo se les realizó el tratamiento alcalino, generando volúmenes alrededor 2 y 3 veces menores que la muestra no revestida, respectivamente, para tiempos de inmersión de 24 horas totales de ensayo.

Al estar inmersas en SBF, se pudo apreciar poca liberación de H_2 que se incrementó muy lentamente al transcurrir las horas, esta liberación H_2 fue más notoria en aquellas muestras que no fueron revestidas. Así mismo se observó generación de H_2 desde puntos específicos sobre la superficie, que podrían ser coincidentes con puntos que no lograron ser revestidos.

Para el caso de las muestras revestidas con colágeno al 64%(w/w) estas muestran un mejor desempeño respecto a la revestida con 16%(w/w) de colágeno y la muestra sin revestimiento ya que hay una liberación de H_2 mucho más lenta, indicando que existe una resistencia favorable al medio agresivo (solución SBF), y que el revestimiento estaría protegiendo a la aleación.

También se puede observar que las réplicas de muestras con tratamientos similares siguen una misma tendencia lineal con ligeras desviaciones respecto a las muestras sin revestimiento de colágeno.

Otro hecho que se observa es el comportamiento del pH a una temperatura de 37°C ± 1, en este grupo de muestras esta se incrementa muy ligeramente en aquellas muestras

sin revestimiento y concentración de colágeno menor, por lo que la regulación pH con soluciones de KOH 1M y HCL 1M se realizó en intervalos de tiempo más largos e inclusive no se realizó esta regulación para aquellas muestras con una concentración más alta de colágeno, es decir, permanecieron estables durante todo el proceso. Esto coincide con lo reportado por otros autores Liu et al. (2015), en donde se sugiere que en aquellas muestras que han sufrido un proceso de modificación superficial fluorhídrico tienen un comportamiento más estable frente a un medio agresivo fisiológico. Este comportamiento del pH a lo largo de 24h de inmersión y a una temperatura 37°C ± 1 en solución SBF se puede observar en las **Figura 56**, **Figura 57**, **Figura 58** del **APENDICE C**.

Figura 25

Evolución de hidrógeno (ml/cm^2) para las aleaciones AZ31 con activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w), sumergidas en SBF.

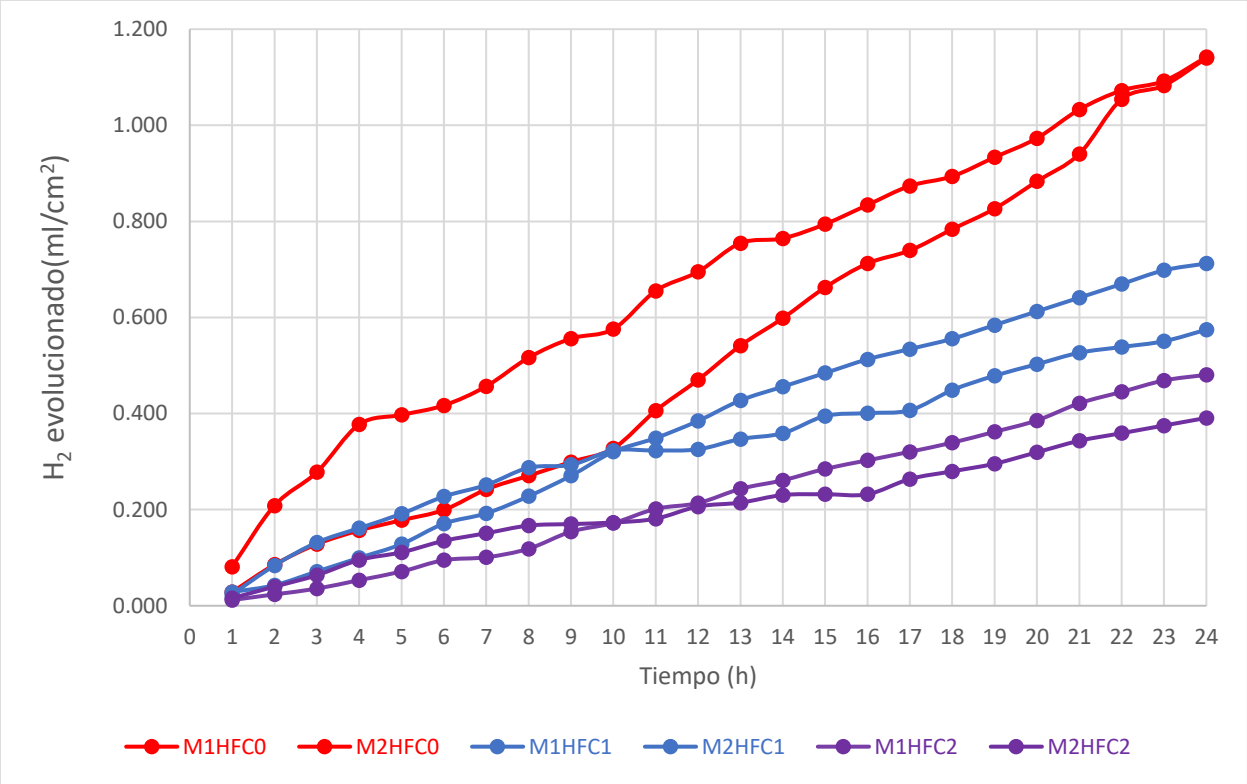


Tabla 17

Resumen global de volúmenes de hidrógeno evolucionado con activación superficial alcalino y fluorhídrico y revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w).

Tiempo de Inmersión (h)	Volumen de hidrógeno evolucionado (ml/cm^2)											
	HR=79% T=21.8ºC	HR=79% T=21.87ºC	HR=84% T=24.50ºC	HR=76% T=24.00ºC	HR=79% T=22.4ºC	HR=68% T=22.10ºC	HR=71% T=24.75ºC	HR=71% T=22.9ºC	HR=77.7 % T=22.97ºC	HR=76.6 % T=23.8ºC	HR=72.6 % T=22.65ºC	HR=73.5 % T=23.20ºC
	M_1OHC_0	M_2OHC_0	M_1OHC_1	M_2OHC_1	M_1OHC_2	M_2OHC_2	M_1HFC_0	M_2HFC_0	M_1HFC_1	M_2HFC_1	M_1HFC_2	M_2HFC_2
1	0.16	0.30	0.11	0.08	0.06	0.05	0.08	0.03	0.03	0.02	0.01	0.02
2	0.44	0.62	0.19	0.18	0.11	0.12	0.21	0.09	0.04	0.08	0.02	0.04
3	0.65	0.62	0.26	0.27	0.17	0.18	0.28	0.13	0.07	0.13	0.04	0.06
4	0.80	0.92	0.34	0.33	0.22	0.23	0.38	0.16	0.10	0.16	0.05	0.10
5	0.93	1.15	0.43	0.40	0.28	0.30	0.40	0.18	0.13	0.19	0.07	0.11
6	1.06	1.38	0.47	0.46	0.33	0.35	0.42	0.20	0.17	0.23	0.09	0.14
7	1.14	1.57	0.55	0.55	0.36	0.39	0.46	0.24	0.19	0.25	0.10	0.15
8	1.24	1.83	0.61	0.61	0.39	0.44	0.52	0.27	0.23	0.29	0.12	0.17
9	1.40	1.95	0.66	0.65	0.40	0.47	0.56	0.30	0.27	0.29	0.15	0.17
10	1.58	2.13	0.69	0.69	0.42	0.47	0.58	0.33	0.32	0.32	0.17	0.17
11	1.71	2.29	0.72	0.74	0.45	0.49	0.66	0.41	0.35	0.32	0.20	0.18
12	1.89	2.46	0.77	0.78	0.49	0.53	0.70	0.47	0.38	0.33	0.21	0.21
13	2.06	2.60	0.80	0.83	0.52	0.57	0.75	0.54	0.43	0.35	0.24	0.21
14	2.22	2.82	0.84	0.87	0.56	0.61	0.76	0.60	0.46	0.36	0.26	0.23

15	2.37	2.93	0.88	0.91	0.60	0.65	0.79	0.66	0.48	0.39	0.28	0.23
16	2.51	2.98	0.93	0.96	0.63	0.68	0.83	0.71	0.51	0.40	0.30	0.23
17	2.62	3.20	0.95	1.00	0.64	0.72	0.87	0.74	0.53	0.41	0.32	0.26
18	2.74	3.34	0.98	1.04	0.66	0.76	0.89	0.78	0.56	0.45	0.34	0.28
19	2.89	3.49	1.01	1.07	0.69	0.81	0.93	0.83	0.58	0.48	0.36	0.30
20	3.01	3.62	1.04	1.11	0.74	0.85	0.97	0.88	0.61	0.50	0.39	0.32
21	3.15	3.73	1.08	1.14	0.76	0.89	1.03	0.94	0.64	0.53	0.42	0.34
22	3.34	3.85	1.10	1.19	0.80	0.91	1.07	1.05	0.67	0.54	0.45	0.36
23	3.41	3.96	1.14	1.22	0.84	0.98	1.09	1.08	0.70	0.55	0.47	0.38
24	3.52	4.16	1.19	1.24	0.87	1.00	1.14	1.14	0.71	0.57	0.48	0.39

La **Figura 26** y **Figura 27** presentan la variación en el volumen de evolución de hidrógeno y el valor de pH durante el periodo de inmersión de todos los grupos experimentales respectivamente.

Figura 26

Evolución de hidrógeno (ml/cm^2) para las aleaciones AZ31 con activación superficial alcalina y fluorhídrica revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w), sumergidas en SBF.

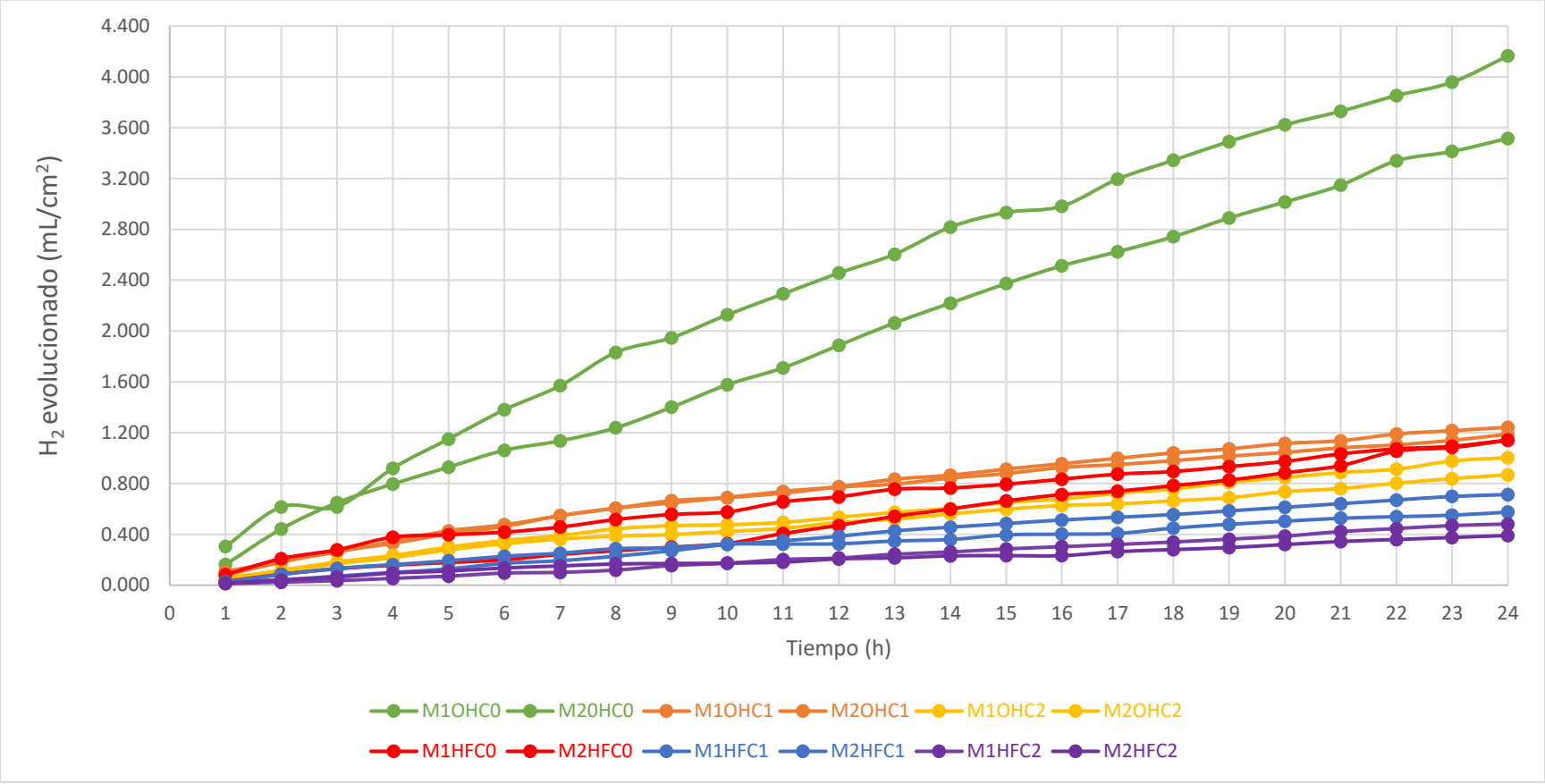
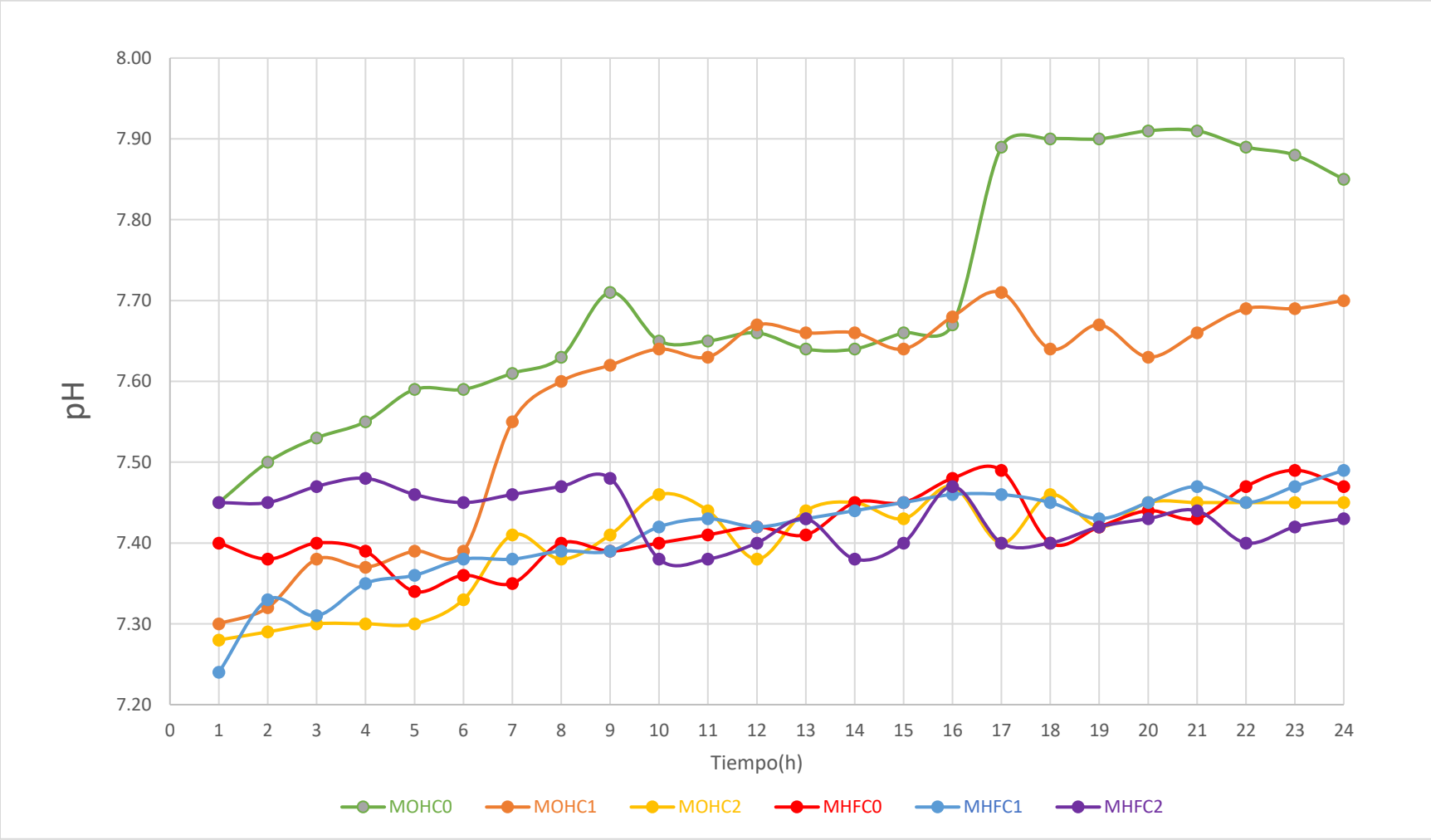


Figura 27

Medidas de pH para las aleaciones AZ31 con activación superficial alcalina y fluorhídrica revestidas con colágeno al 0% (w/w),16% (w/w) y 64% (w/w), sumergidas en SBF por 24h.



Sumergidas durante un día, las muestras revestidas con colágeno al 64%(w/w) y que tuvieron una activación superficial fluorhídrica apenas liberaban hidrógeno y este fue en promedio 0.44mL/cm^2. Este comportamiento se notó de igual manera en aquellas muestras con activación superficial alcalina y revestidas con colágeno al 64%(w/w) pero la liberación de H_2 fue ligeramente mayor y este fue en promedio 0.94 ml/cm^2. Sin embargo, las muestras sin revestimiento, pero con activación superficial alcalina libero H_2 rápidamente y este fue en promedio fue 3.84ml/cm^2 durante el tiempo de inmersión y fue significativamente menor en las muestras sin revestimiento, pero con activación superficial fluorhídrica que en promedio fue 1.14 ml/cm^2.

Mientras tanto, como se muestra en **Figura 27**, el resultado de los valores de pH estuvo de acuerdo con la variación del volumen de hidrogeno evolucionado. Cuando finalizó la inmersión, el valor de pH para $MOHC_0$ fue de aproximadamente 7.85, mientras que en $MHFC_2$ se aproximó a 7,43. Combinando los resultados de volumen de evolución de hidrógeno y los valores de pH, reveló que las muestras que estaban con activación superficial fluorhídrica y revestidas con colágeno al 64%(w/w) la corrosión fue mínima, mientras que las muestras con activación superficial alcalina y sin revestimiento se degradó rápidamente (ver **Figura 29**), por lo que liberó hidrógeno rápidamente y fue acompañado por valores crecientes de pH durante el tiempo de inmersión, también se observó que partes pequeñas de la aleación de magnesio AZ31 se desprendían de su superficie, visualizándose estas como puntos de color plateado tal como se muestran en la **Figura 29** éstas comparadas con las muestras de la **Figura 28**.

Por lo tanto, estos resultados indicaron que el revestimiento de colágeno a una concentración alta sobre una muestra con activación superficial fluorhídrica retrasó con éxito la degradación de la aleación AZ31.

Figura 28

Espumas de Mg con activación superficial alcalina y sin revestimiento de colágeno antes de iniciar la corrosión.

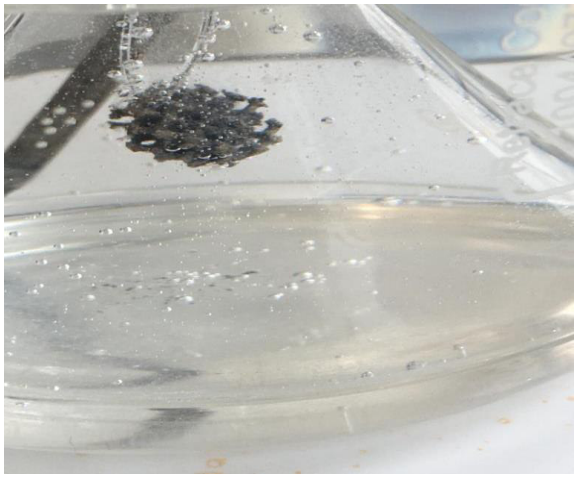


Figura 29

Espumas de Mg con activación superficial alcalina y sin revestimiento de colágeno al finalizar la corrosión.





13.3. Concentraciones de magnesio en la solución SBF obtenidas mediante EAA

Tabla 18

Registro de datos de temperatura, volumen de hidrógeno evolucionado, volumen final de SBF y ppm experimental de magnesio.

Muestra	Volumen de hidrógeno evolucionado (mL)	Volumen de hidrógeno evolucionado promedio (mL)	Masa de Mg experimental disuelta en SBF (mg)	Volumen de solución SBF (L)	Concentración de magnesio experimental ppm
M_1OHC_0	23.85	24.60 ± 0.75	22.76	0.117	194.51
M_2OHC_0	25.35		24.19	0.129	187.51
M_1OHC_1	10.01	10.86 ± 0.84	9.56	0.142	67.32
M_2OHC_1	11.70		11.18	0.144	77.64
M_1OHC_2	7.20	7.46 ± 0.23	6.87	0.129	53.24
M_2OHC_2	7.71		7.37	0.132	55.80
M_1HFC_0	5.75	6.88 ± 1.12	5.50	0.193	28.48
M_2HFC_0	8.00		7.64	0.130	58.79
M_1HFC_1	5.00	4.90 ± 0.10	4.77	0.131	36.40
M_2HFC_1	4.80		4.58	0.137	33.46
M_1HFC_2	4.05	3.26 ± 0.79	3.86	0.121	31.93
M_2HFC_2	2.46		2.35	0.150	15.65

De acuerdo a la **Tabla 18** se puede ver que la masa de Mg disuelta (mg) en la solución SBF disminuye significativamente en la medida que esta tenga una activación superficial fluorhídrica y esté revestida con una mayor concentración de solución de colágeno. Así mismo, al volumen de hidrógeno evolucionado (mL) de las distintas muestras se le calculó la desviacion estándar de la media. Cuanto menor sea este valor, menor incertidumbre se tendrá en la medida tomada (Taylor, 2018) , sin embargo, a pesar de haber reducido al máximo los errores sistemáticos, verificando los equipos con patrónes de

referencia y controlando minuciosamente la temperatura de fluido corporal simulado, el pH fisiológico, los tiempos de inmersión y secado del revestimiento de colágeno, no estamos ajenos a la presencia de los errores aleatorios. Así, para reducir este error se realizó el ensayo por duplicado, lo ideal sería trabajar con más réplicas, lo cual hubiese reducido aún más el error estándar de la media pero para el presente trabajo se realizaron solo ensayos por duplicado, debido al alto costo, tiempo de fabricación y tiempo de importación de estas aleaciones.

Los cálculos detallados para la determinación de la concentración experimental de Mg en solución SBF se muestran en más detalle en el **APENDICE D**.

Para realizar los cálculos del desviacion estandar de la media se utilizó la acuacion (22) indicada en el **APENDICE K**.

13.4. Velocidad de corrosión CR (mm/año) experimental de magnesio

Haciendo uso de la ecuación (17), se calculó la velocidad de corrosión experimental como se visualiza en la **Tabla 19**, en donde se observa cómo se libera un mayor volumen de hidrógeno evolucionado con aquellas muestras sin revestimiento y en una menor concentración de colágeno, la cual también está relacionada al tratamiento que recibió cada muestra, es decir, aquellas muestras con un tratamiento alcalino liberan más hidrógeno en comparación con aquellas que recibieron un tratamiento fluorhídrico. Así mismo, en los resultados de velocidad de corrosión se observa notablemente la influencia positiva de la activación superficial como un medio que en realidad se hace necesario para una adecuada funcionalización de la superficie de la aleación de magnesio y para controlar el proceso de revestimiento con colágeno. Lo mencionado coincide con las investigaciones presentadas por Chen et al. (2011) y Hornberger et al. (2012).

Tabla 19

Velocidad de corrosión experimental CR de magnesio a partir de volumen de hidrógeno evolucionado y área superficial expuesta a corrosión.

Muestra	Volumen de hidrógeno evolucionado promedio (mL)	Área superficial promedio (cm^2)	V_H promedio (mL/cm^2)	CR (mm/año)	CR Promedio (mm/año)
M_1OHC_0	24.60 ± 0.75	6.436 ± 0.006	3.84±0.14	7.25	7.92 ± 0.25
M_2OHC_0				8.59	
M_1OHC_1	10.86 ± 0.84	8.922 ± 0.009	1.22±0.11	2.45	2.51 ± 0.20
M_2OHC_1				2.56	
M_1OHC_2	7.46 ± 0.23	7.988 ± 0.008	0.94±0.04	1.79	1.93 ± 0.07
M_2OHC_2				2.07	
M_1HFC_0	6.88 ± 1.12	6.027 ± 0.012	1.14±0.20	2.35	2.35 ± 0.39
M_2HFC_0				2.35	
M_1HFC_1	4.90 ± 0.10	8.275 ± 0.000	0.59±0.01	1.26	1.22 ± 0.02
M_2HFC_1				1.18	
M_1HFC_2	3.26 ± 0.79	7.498 ± 0.014	0.43±0.11	0.96	0.89 ± 0.22
M_2HFC_2				0.81	

Para el volumen de hidrogeno evoliucionado (mL), al ser una medida directa, se calcula el error estándar de la media, caso contrario para el área superficial (cm^2), volumen de hidrógeno por área superficial V_H (mL/cm^2) y CR al ser medidas indirectas se calcula el error asociado haciendo uso de la teoria de propagación de errores y tomando como referencia a (Taylor, 2018) , quien en su trabajo detalla como obtener el error asociado a una medida indirecta a partir de errores asociados a medidas directas, ver **APENDICE K.**

Al relacionar el volumen de hidrógeno evolucionado y el área superfical, la cual se muestra en la cuarta columna de la tabla 19, en donde trabajando bajo la misma área superficial

aproximada el efecto del tratamiento supercial y el incremento de la concentración de colágeno hacen efecto en la disminución de la velocidad de corrosión. A través de la teoría de propagación de errores se conoció la propagación del error o imprecisión debido a la naturaleza técnica de la medida y la precisión de los instrumentos de medida, la cual se expresa en un intervalo de confianza que indica la variabilidad en V_H , en donde los valores para cada una de las muestras son cercanas a cero, lo cual permite evaluar la calidad y confiabilidad de los datos obtenidos.

Los cálculos detallados para la velocidad de corrosión experimental de Mg en solución SBF se muestran en más detalle en el **APENDICE D**.

13.5. Análisis de espectroscopia de absorción atómica

Haciendo uso de la ecuación (12), se realizaron las diluciones correspondientes para cada muestra para su posterior lectura en EAA.

La **Tabla 20** registra los parámetros para realizar las diluciones en donde en la segunda columna se muestra las concentraciones a las cuales se deben diluir las muestras para poder ser detectadas en el espectrofotómetro de absorción atómica.

Tabla 20

Parámetros calculados para la dilución de las muestras.

Muestra	C_2 (ppm) Concentración de magnesio deseado	V_2(mL) Volumen de aforo	V_1 (µL) Volumen a extraer de solución SBF	V_1 (µL) extraído con micropipeta
M_1OHC_0	0.2	100	102.82	103.00
M_2OHC_0	0.2	100	106.66	107.00
M_1OHC_1	0.2	100	297.10	297.00
M_2OHC_1	0.2	100	257.61	258.00
M_1OHC_2	0.1	100	187.81	188.00

M_2OHC_2	0.1	100	179.21	179.00
M_1HFC_0	0.1	100	351.18	351.00
M_2HFC_0	0.1	100	170.10	170.00
M_1HFC_1	0.1	100	274.71	275.00
M_2HFC_1	0.1	100	298.88	299.00
M_1HFC_2	0.1	100	313.20	313.00
M_2HFC_2	0.1	100	638.87	639.00

Acorde a la **Tabla 20**, la cuarta columna muestra el volumen que se debería extraer con la micropipeta, pero se debe tener en cuenta que esa extracción depende del intervalo de volumen de extracción que tenga el instrumento, en este caso se trabajó con dos micropipetas que tenían un intervalo de extracción 20µL -200µL y 100µL-1000µL; y finalmente en la quinta columna se muestra las cantidades exactas de extracción de volumen con las cuales se realizó la dilución.

En esta etapa de extracción de alícuotas para dilución hay una diferencia entre lo calculado y lo extraído, no obstante, al ser mínima no influye significativamente en los cálculos desarrollados, simplemente se trata de que los valores sean lo más cercanos posible y que depende de la exactitud del que maneja el instrumento.

13.5.1. Curva de calibración

En la curva de calibración de la **Figura 30** se observa la linealidad entre la absorbancia y la concentración, esto se puede corroborar mediante el coeficiente de correlación (r=0.9988) el cual es un indicativo que a una determinada señal de absorbancia será equivalente a un valor de concentración.

Durante la realización de la curva de calibración se tuvo mucho cuidado al extraer las alícuotas, esta acción fue dificultosa debido a los pequeños volúmenes a extraer en el rango de uL, pese a ello se logró un valor de correlación cercano a 1.000.

Figura 30

Curva de calibración de magnesio Absorbancia Vs Concentración (ppm).

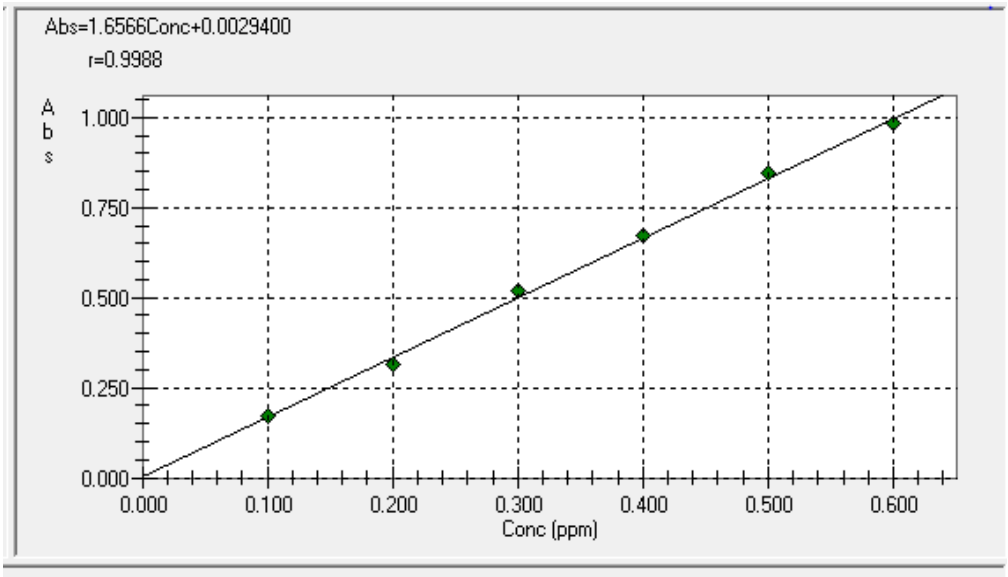


Tabla 21

Concentración de magnesio obtenida mediante AA luego de la inmersión en solución SBF.

N°	Muestra	Concentración de magnesio obtenida (C_2) mediante absorción atómica (ppm)	Concentración de magnesio en 100ml (C_1) ppm
1	M_1OHC_0	0.2127	206.50
2	M_2OHC_0	0.2026	189.35
3	M_1OHC_1	0.2936	98.86
4	M_2OHC_1	0.2920	113.18
5	M_1OHC_2	0.2097	111.54
6	M_2OHC_2	0.1848	103.24
7	M_1HFC_0	0.2062	58.75
8	M_2HFC_0	0.1178	69.29
9	M_1HFC_1	0.2234	81.24
10	M_2HFC_1	0.2445	81.77

11	M_1HFC_2	0.2441	77.99
12	M_2HFC_2	0.3818	59.75

Para más detalles de los cálculos de C_1 y C_2 ver **APENDICE E.**

Los datos obtenidos de la tercera columna de la **Tabla 22**, fueron obtenidos luego de realizar lecturas en el espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000 y se muestran en el **ANEXO F**.

El detalle de los cálculos para la obtención de la concentración de corroboración se explica en detalle en el **APENDICE E**.

13.6. Comparación de concentraciones de Mg obtenidas mediante AA y determinadas experimentalmente

De la **Tabla 19** y la **Tabla 21** se extrajeron los datos de concentración ppm para su comparación el cual se encuentran en la **Tabla 22**.

Tabla 22

Tabla comparativa de la concentración de Mg obtenida experimentalmente y mediante el uso de equipo de AA.

N°	Muestra	Concentración de Mg determinada experimentalmente(ppm)	Concentración de Mg obtenida mediante AA (ppm)
1	M_1OHC_0	194.51	206.50
2	M_2OHC_0	187.51	189.35
3	M_1OHC_1	67.32	98.86
4	M_2OHC_1	77.64	113.18
5	M_1OHC_2	53.24	111.54
6	M_2OHC_2	55.80	103.24
7	M_1HFC_0	28.48	58.75

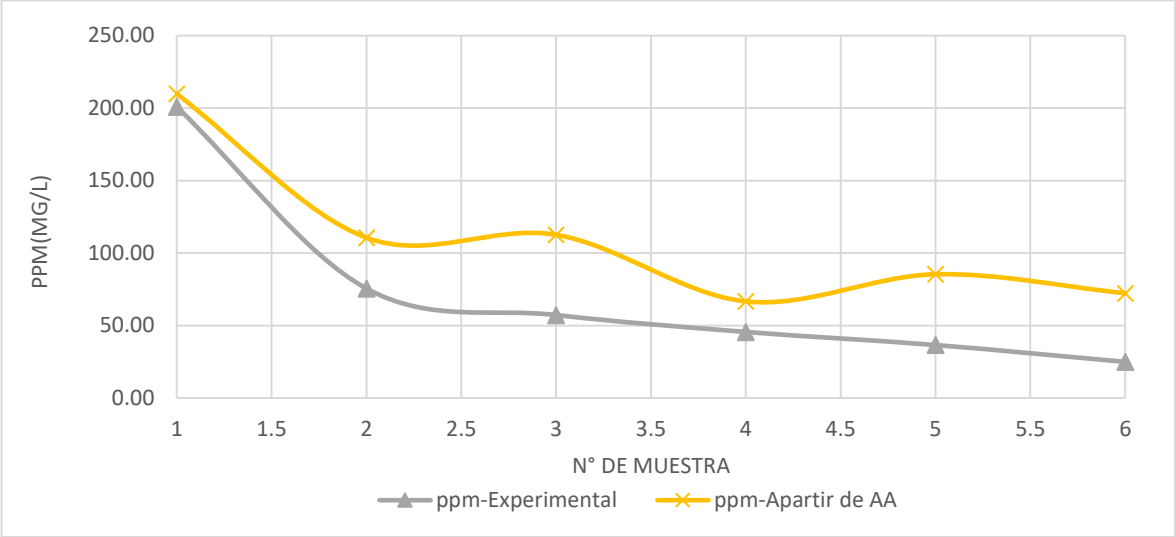
8	M_2HFC_0	58.79	69.29
9	M_1HFC_1	36.40	81.24
10	M_2HFC_1	33.46	81.77
11	M_1HFC_2	31.93	77.99
12	M_2HFC_2	15.65	59.75

De la **Tabla 22** y **Figura 31** se puede observar que no hay mucha diferencia en aquellas concentraciones en donde la liberación de hidrógeno evolucionado fue mayor y esto debido a que se utilizó una mayor cantidad de muestra, lo cual facilitó una mejor detección del equipo de AA. Caso contario a las muestras en donde hubo una menor liberación de hidrógeno donde la diferencia entre concentraciones fue mucho mayor y esto se basa a la poca cantidad de muestra utilizada pero que fue necesaria para la interpolación en la curva de calibración construida, además de algunos interferentes propios de la muestra lo cual no facilitó una detección óptima en el equipo de AA, pese a seguir la metodología estandarizada (EPA 200.8).

De la **Figura 31** se puede ver una tendencia a la baja en la concentración de magnesio presente en la solución SBF, esto cuando se usa una mayor concentración de colágeno y se utiliza un tratamiento fluorhídrico, tanto para las concentraciones experimentales y obtenidas mediante AA. Cabe mencionar que hay una desviación de la concentración obtenida en AA respecto las experimentales por lo antes mencionado.

Figura 31

Gráfica comparativa de concentraciones determinada experimental y obtenida mediante AA.



13.6.1. Velocidades de corrosión, CR, a partir de AA

La **Tabla 23** muestra las velocidades de corrosión calculadas a partir de las concentraciones obtenidas mediante la técnica de AA.

Tabla 23

Velocidad de corrosión CR a partir de AA.

N°	Muestra	Volumen de hidrógeno evolucionado (mL)	V_H (mL/cm^2)	CR (mm/año)
1	M_1OHC_0	25.43	3.75	7.73
2	M_2OHC_0	25.92	4.26	8.78
3	M_1OHC_1	14.71	1.75	3.60
4	M_2OHC_1	17.09	1.81	3.74
5	M_1OHC_2	15.09	1.82	3.75
6	M_2OHC_2	14.23	1.85	3.82

7	M_1HFC_0	11.85	2.35	4.85
8	M_2HFC_0	9.40	1.34	2.76
9	M_1HFC_1	11.17	1.36	2.81
10	M_2HFC_1	11.75	1.41	2.90
11	M_1HFC_2	9.90	1.14	2.35
12	M_2HFC_2	9.41	1.50	3.09

El desarrollo de los cálculos para la obtención de CR de corroboración se explica con mayor detalle en el **APENDICE E**.

13.7. Comparación de velocidades de corrosión CR determinadas experimentalmente y obtenidas a partir de AA

De la **Tabla 19** y la **Tabla 23** se extrajeron los datos de velocidad de corrosión para su comparación y se encuentran en la **Tabla 24**.

Tabla 24

Tabla comparativa CR de Mg obtenida experimentalmente y mediante el uso de equipo de AA.

N°	Muestra	CR Experimental (mm/año)	CR Experimental promedio (mm/año)	CR obtenido a partir de AA (mm/año)	CR obtenido a partir de AA promedio (mm/año)
1	M_1OHC_0	7.25	7.92	7.73	8.26
2	M_2OHC_0	8.59		8.78	
3	M_1OHC_1	2.45	2.51	3.60	3.67
4	M_2OHC_1	2.56		3.74	
5	M_1OHC_2	1.79	1.93	3.75	3.79
6	M_2OHC_2	2.07		3.82	
7	M_1HFC_0	2.35	2.35	4.85	3.81
8	M_2HFC_0	2.35		2.76	

9	M_1HFC_1	1.26	1.22	2.81	2.86
10	M_2HFC_1	1.18		2.90	
11	M_1HFC_2	0.96	0.89	2.35	2.72
12	M_2HFC_2	0.81		3.09	

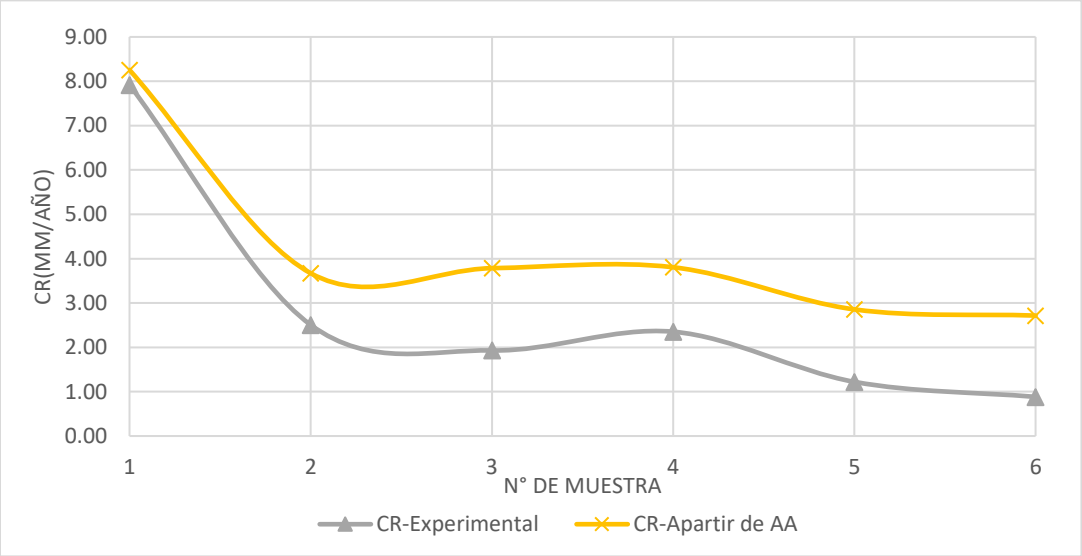
De la **Tabla 24** y la **Figura 32** se realiza una comparación de la CR determinada experimentalmente y obtenida a partir de AA, en ambos casos hay una tendencia hacia la disminución en cuanto haya revestimientos con una mayor concentración de colágeno.

Se puede ver también de la **Figura 32** un revestimiento de colágeno al 64%(w/w) sobre un tratamiento alcalino en promedio tiene un mejor efecto sobre aquella que solo tiene un revestimiento fluorhídrico como se puede visualizar en los valores promedio de CR experimental en cada caso 1.93 mm/año y 2.35 mm/año, respectivamente.

También se puede observar que en promedio un tratamiento fluorhídrico con una concentración de colágeno al 64%(w/w) tiene un mejor efecto sobre CR ya que su valor disminuye considerablemente, es decir, disminuye de un 7.92 mm/año (tratamiento alcalino sin revestimiento) a: 2.05 mm/año (tratamiento alcalino con revestimiento al 16%(w/w) de colágeno), 1.93 mm/año (tratamiento alcalino con revestimiento al 64%(w/w) de colágeno), 2.35 mm/año (tratamiento fluorhídrico sin revestimiento), 1.22 mm/año (tratamiento fluorhídrico con revestimiento al 16%(w/w) de colágeno) y 0.885 mm/año (tratamiento fluorhídrico con revestimiento al 64%(w/w) de colágeno).

Figura 32

Gráfica comparativa de velocidades de corrosión promedio, determinada experimentalmente y obtenida a partir de AA.



13.8. Caracterización de la superficie de los *scaffolds* "espumas de magnesio"

A continuación, se exponen los resultados de los estudios en distintos aumentos SEM y EDS realizados en la superficie de las aleaciones de magnesio antes de la evaluación de la corrosión con y sin revestimiento de colágeno y siguiendo los tratamientos fluorhídrico y alcalino.

13.8.1. Imágenes SEM de superficies con medio de activación superficial alcalina

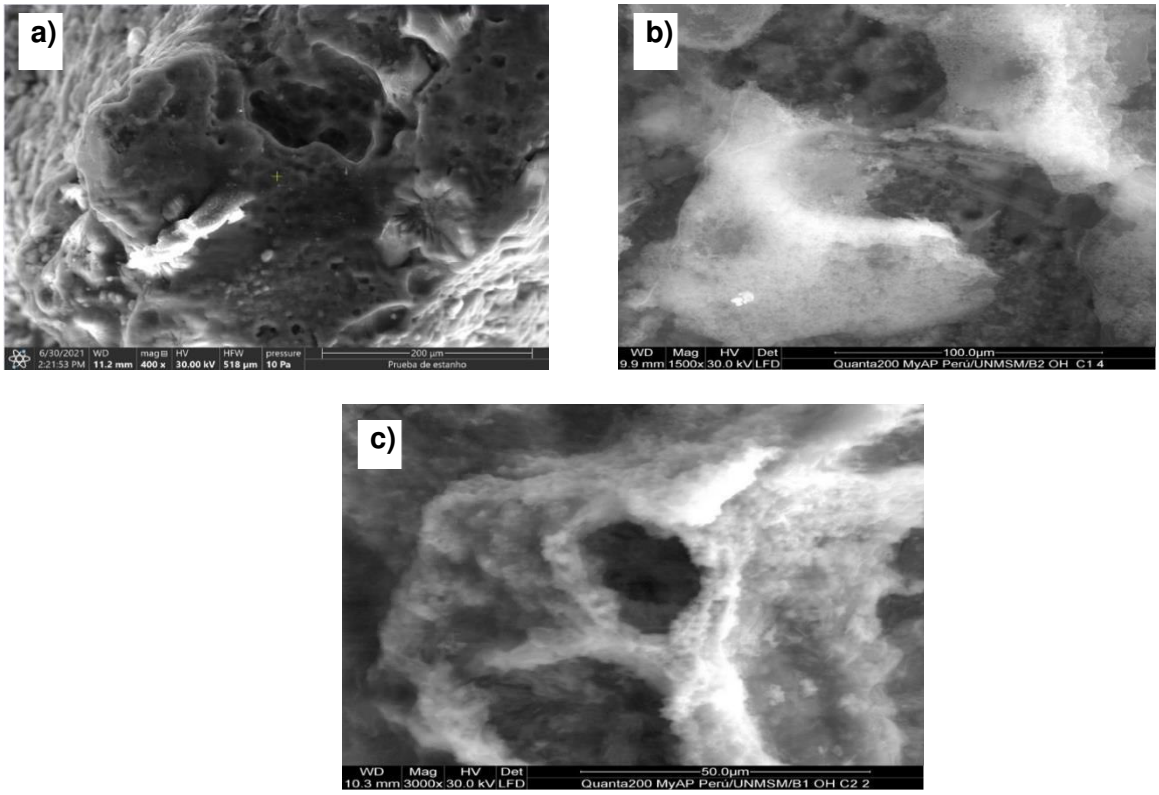
En la **Figura 33** se observa la superficie de la aleación AZ31 con activación superficial alcalina y con revestimiento de colágeno al 16%(w/w) y 64%(w/w) y sin revestimiento antes de ser inmersas en la solución SBF.

De la **Figura 33** b) y c) tienen un aspecto blanco rugoso con una mayor densidad, espesor y más compacto con pequeñas fibras no uniformes sobre la superficie de la espuma.

Por otro lado, la muestra que no tiene recubrimiento de colágeno sobre la aleación AZ31 no presenta estas características (**Figura 33** a)).

Figura 33

Imágenes SEM del aspecto del revestimiento de colágeno en superficies con activación superficial antes de sumergir en la solución SBF a) Revestimiento de 0%(w/w) de colágeno b) Revestimiento de 16%(w/w) colágeno c) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno



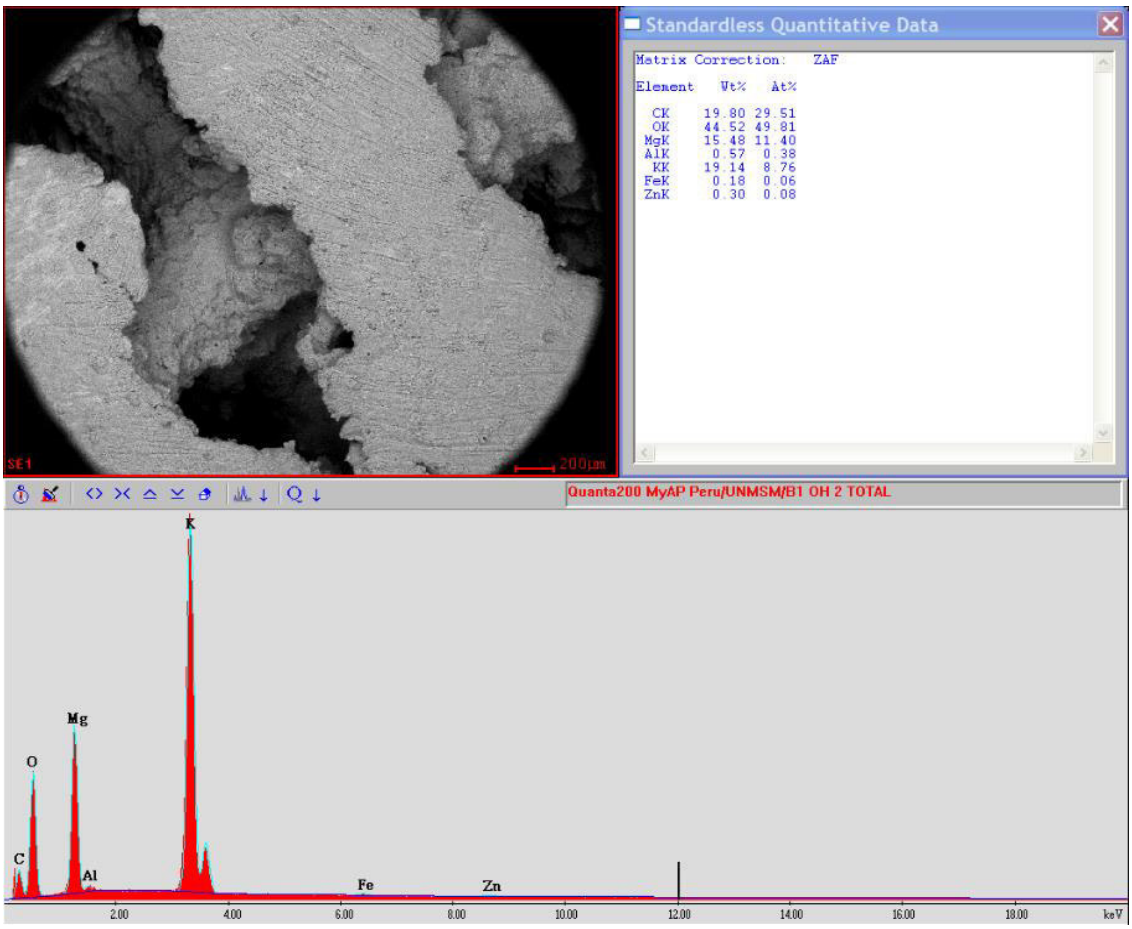
13.8.2. Análisis (EDS) para muestras con activación superficial alcalina

La **Figura 34** expone los resultados del estudio EDS expresado en porcentaje atómico y los elementos presentes en la superficie para la muestra con activación superficial alcalina y sin revestimiento de colágeno antes de la inmersión en SBF, los elementos más abundantes fueron Mg (15.48%), O (44.52%) y K (19.14%). En base a este resultado, se

sugiere que el compuesto presente es $Mg(OH)_2$. La presencia de K obedece a que esta fue inmersa en una solución de K(OH) y los otros elementos Al, Fe, Zn son propios de la aleación AZ31.

Figura 34

Medio de activación alcalina con revestimiento de 0%(w/w) de colágeno.

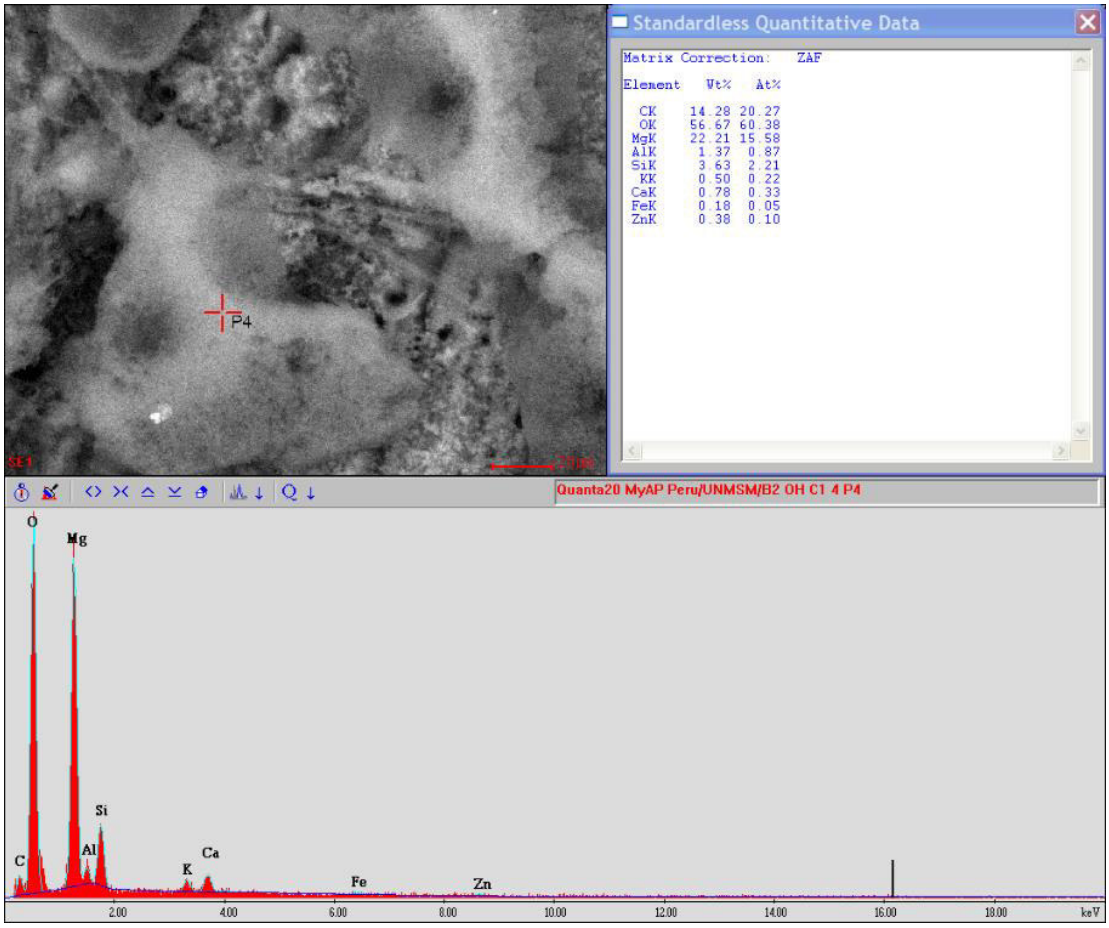


La **Figura 35** muestra los resultados del EDS para la muestra con activación superficial alcalina y con revestimiento de colágeno al 16%(w/w) antes de la inmersión en SBF, los elementos más abundantes fueron O (56.67%), Mg (22.21%) y C (14.28%). En base

a este resultado, se sugiere que el compuesto formado es $Mg(OH)_2$, como también la presencia de los elementos C,O y Ca serían un indicador de la presencia de colágeno.

Figura 35

Medio de activación alcalina con revestimiento de 16%(w/w) de colágeno.

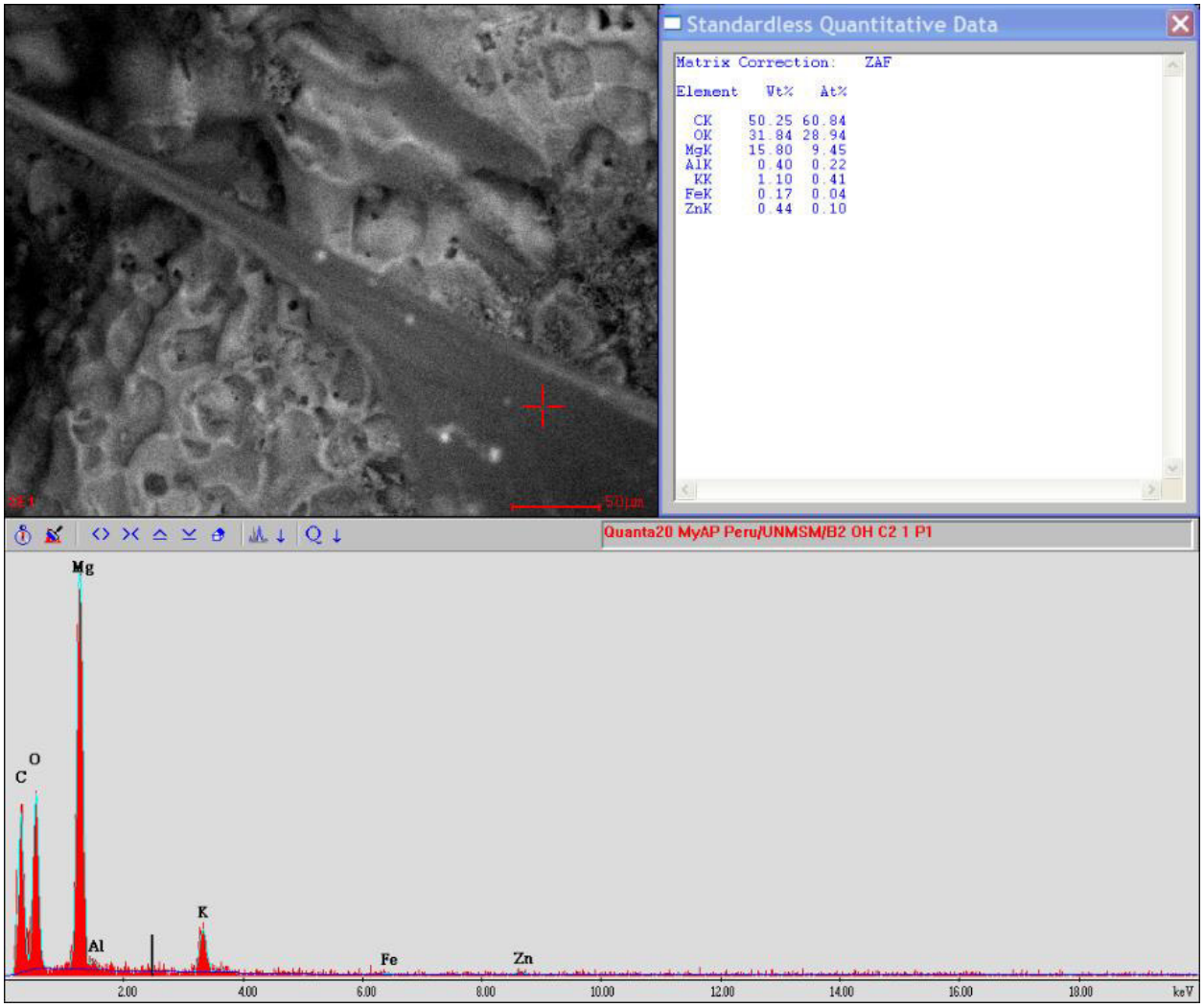


La **Figura 36** muestra los resultados del EDS para la muestra con activación superficial alcalina y con revestimiento de colágeno al 64%(w/w) antes de la inmersión en SBF, los elementos más abundantes fueron C (50.25%), O (31.84%) y Mg (15.80%) se visualiza un incremento notable de C respecto al análisis EDS de las **Figuras 34** y **35**. Este

incremento de C probablemente se deba al aumento en la concentración de colágeno sobre la superficie AZ31.

Figura 36

Medio de activación alcalina con revestimiento de 64%(w/w) de colágeno.



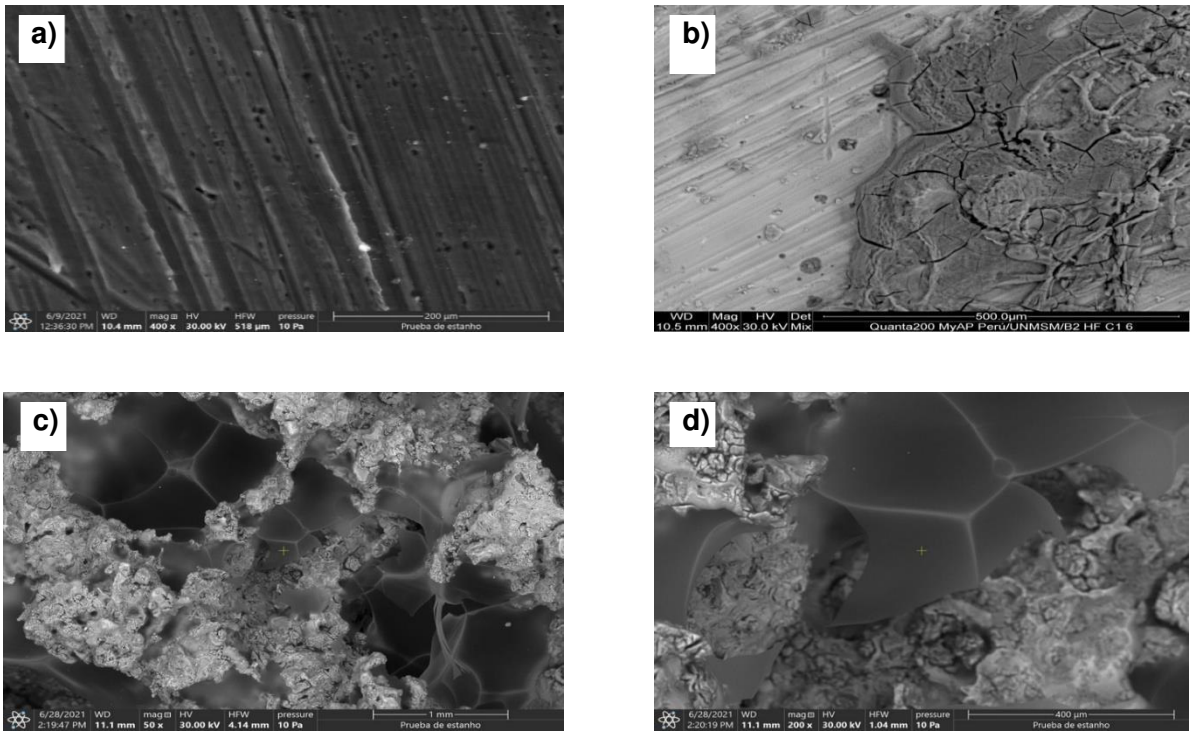
13.8.3. Imágenes SEM de superficies con medio de activación superficial fluorhídrica

La **Figura 37** muestra las imágenes SEM de la superficie AZ31 con activación superficial fluorhídrica, sin revestimiento y con revestimiento de colágeno al 16%(w/w) y

64%(w/w). Se puede ver en a) líneas longitudinales que fueron producto del corte realizado sobre la aleación y ningún tipo de revestimiento. En b) se visualiza también las líneas de corte, pero con un revestimiento sobre su superficie. En c) y d) se muestra fibras o películas recubriendo la superficie de AZ31.

Figura 37

Imágenes SEM del aspecto del revestimiento de colágeno en superficies con medio de activación superficial fluorhídrica antes de sumergir en la solución SBF a) Revestimiento de 0%(w/w) de colágeno b) Revestimiento de 16%(w/w) colágeno c) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno- 50x d) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno- 200x

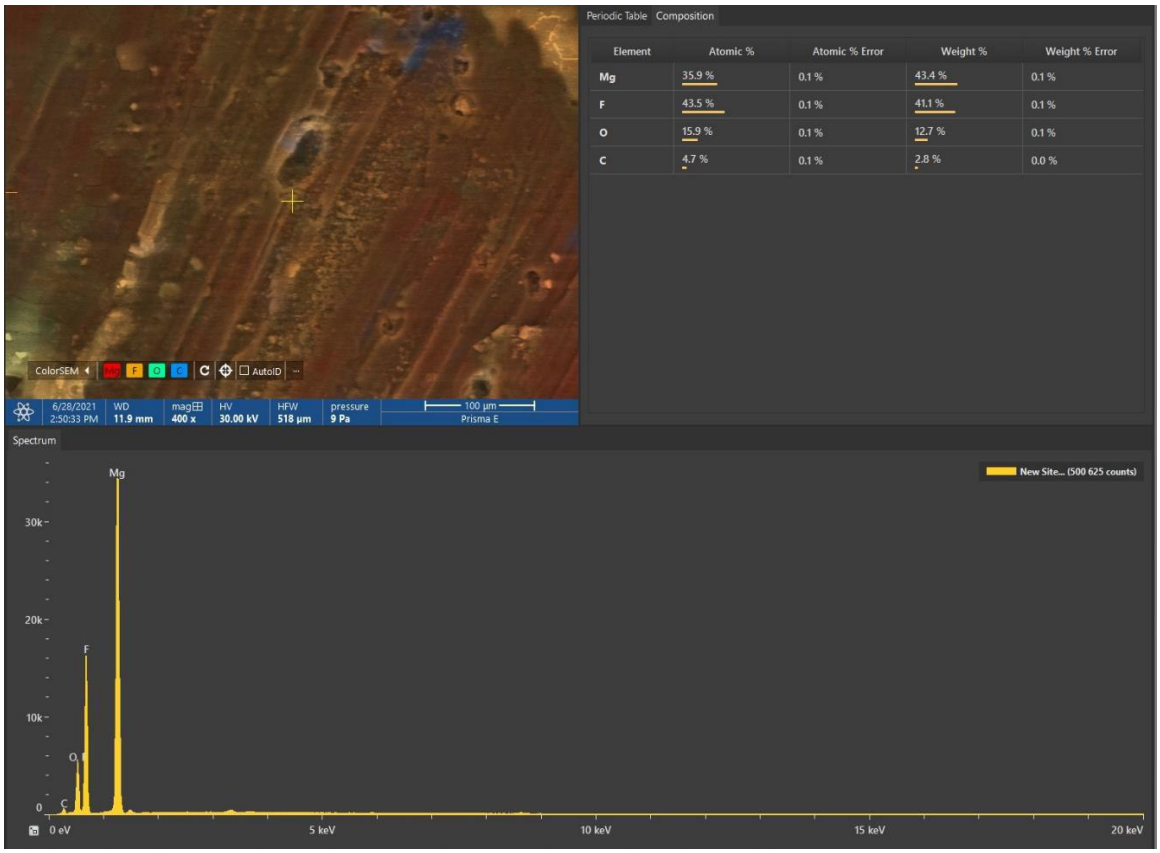


13.8.4. Análisis por espectroscopía de energía dispersiva (EDS) para muestras con activación superficial fluorhídrica

En la **Figura 38** muestra el análisis EDS de AZ31 sin revestimiento en donde los elementos más abundantes fueron Mg (35.9%), F (43.5%) y O (15.9%). Es conocido que el $Mg(OH)_2$ reacciona con el HF para formar MgF_2, por una reacción de desplazamiento, con lo que se confirmaría la presencia del MgF_2 el cual es insoluble, formando así una barrera sobre los sustratos tal como lo muestra Xiong et al. (2018).

Figura 38

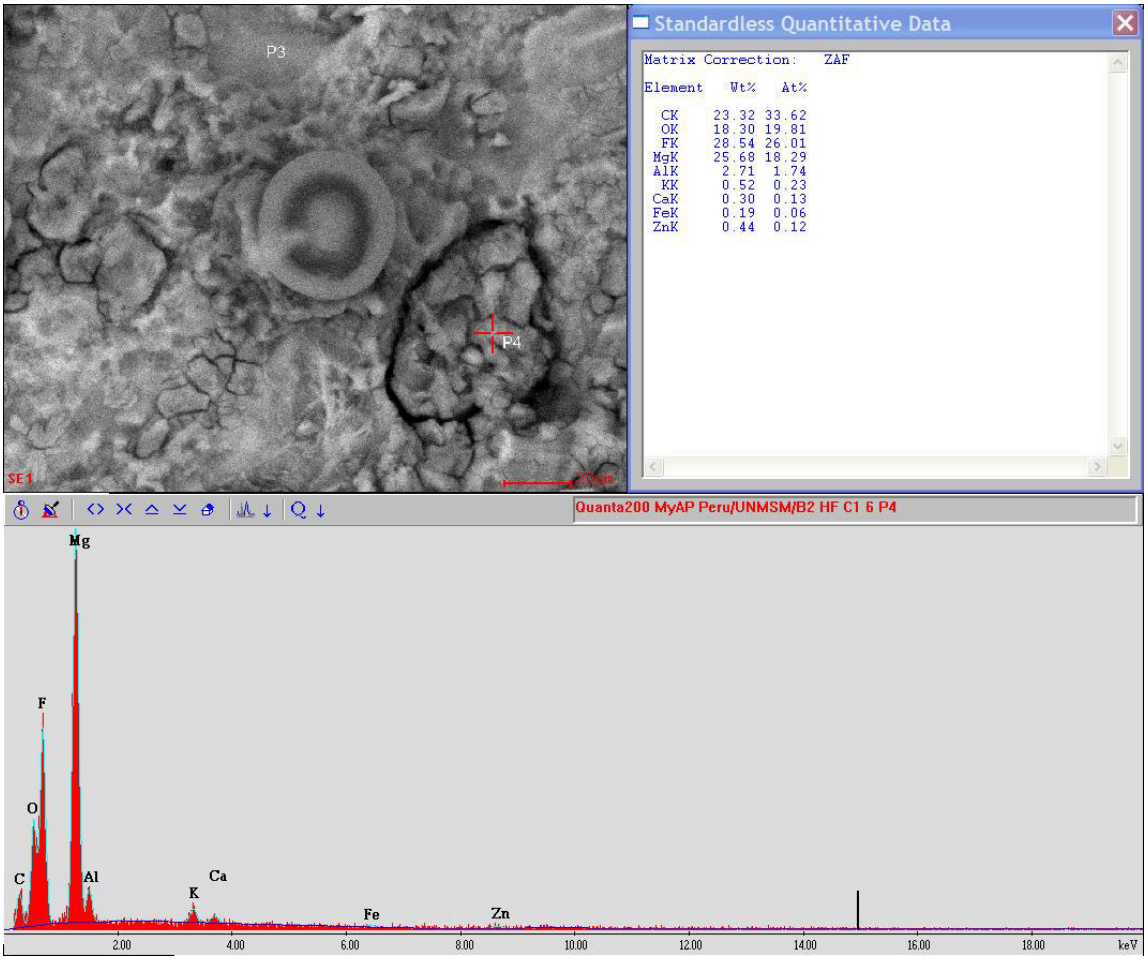
Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 0%(w/w) de colágeno.



En la **Figura 39** muestra el análisis EDS de AZ31 con revestimiento de colágeno al 16%(w/w) y tratamiento fluorhídrico. En donde el elemento más abundante fue el F (28.54%) seguido de Mg (25.68%), C (23.32%) y O (18.30%). La presencia de C y O indican la presencia de colágeno lo cual se puede ver también en la imagen SEM de la **Figura 35**.

Figura 39

Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 16%(w/w) de colágeno.

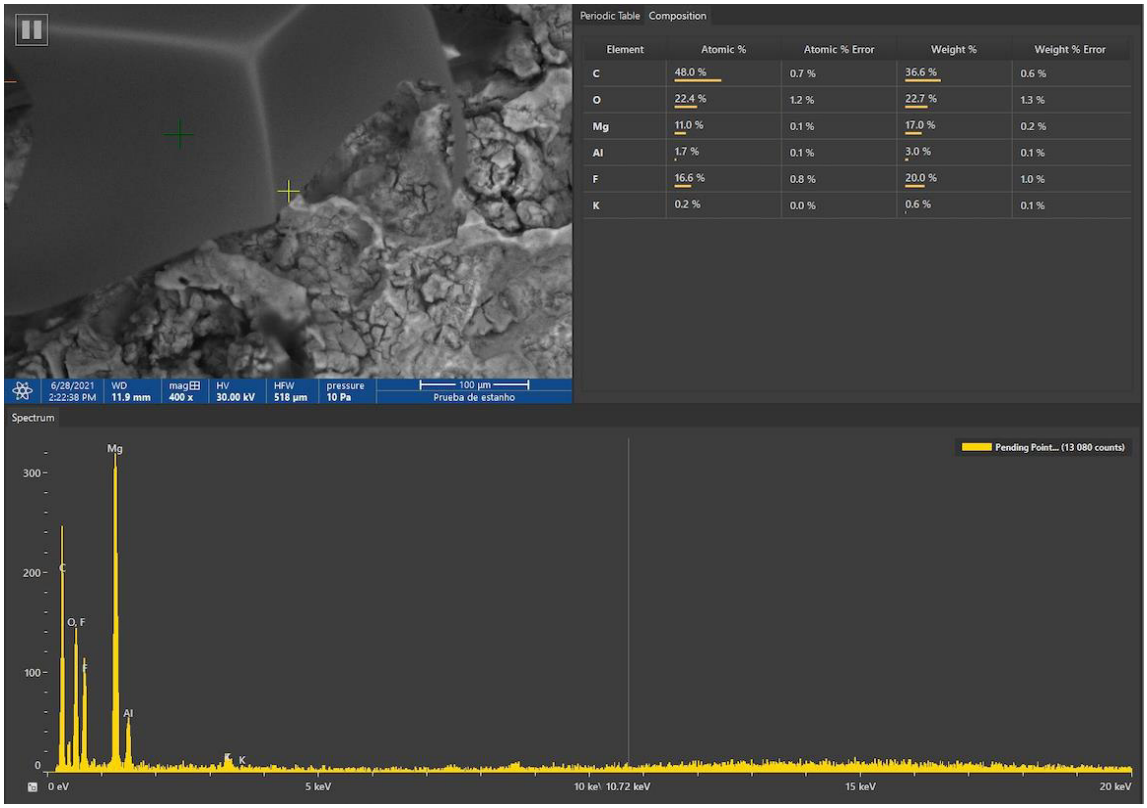


En la **Figura 40** muestra el análisis EDS de AZ31 con revestimiento de colágeno al 64%(w/w) y tratamiento fluorhídrico. En donde el elemento más abundante fue el C (48.0%) y este incrementó su valor respecto a las **Figuras 38** y **39**. Los otros elementos abundantes

fueron O (22.4%), Mg (11.0%) y F (16.6%). La presencia de C y O indican la presencia de colágeno lo cual se puede ver también en la imagen SEM de la **Figura 37** c) y d). Xiong et al. (2019) en sus estudios de revestimientos de compuestos orgánicos sobre alecciones de Mg reporta datos de análisis EDS similares.

Figura 40

Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 64%(w/w) de colágeno.



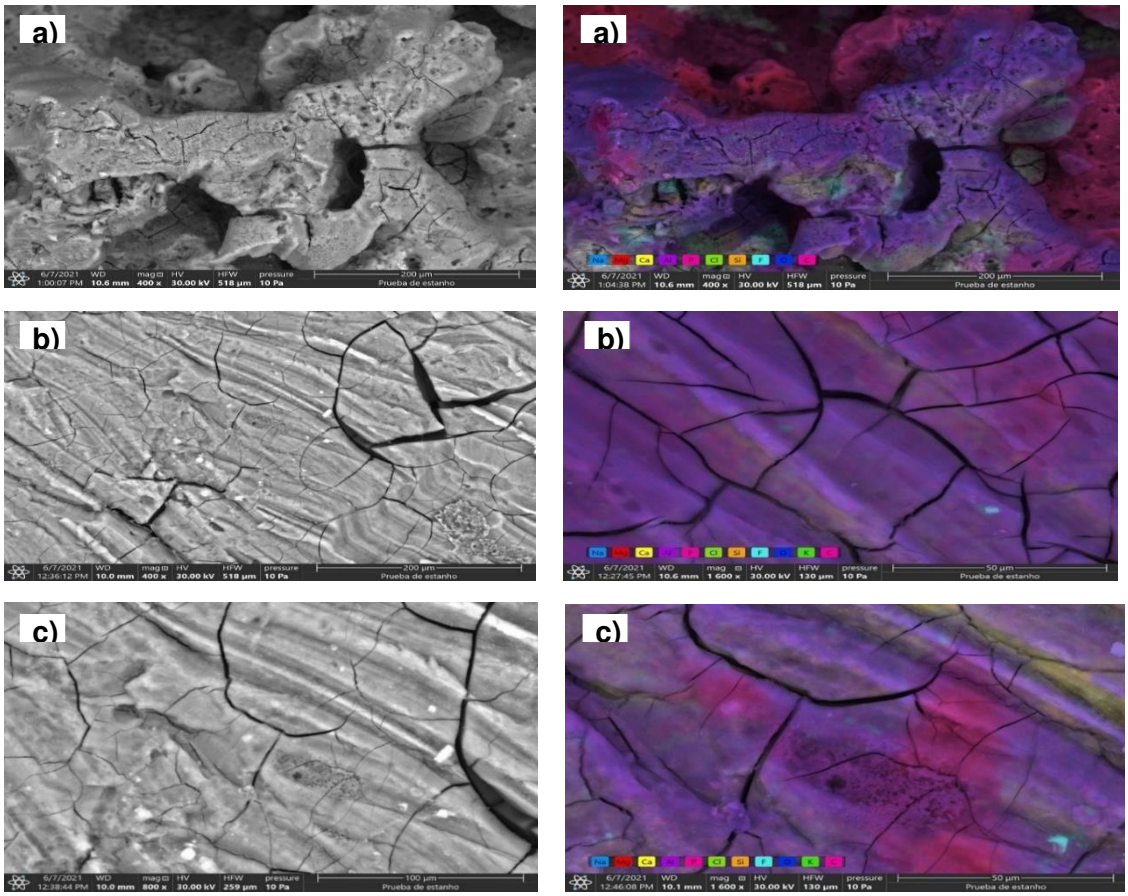
13.9. Caracterización de la superficie revestida de los *scaffolds* "espumas de magnesio" después de la evaluación de la corrosión

13.9.1. Imágenes SEM de superficies con medio de activación superficial alcalina

La **Figura 41** muestra las imágenes SEM de la superficie AZ31 con activación superficial alcalina, sin revestimiento y con revestimiento de colágeno al 16%(w/w) y 64%(w/w) después de una inmersión de 24h en SBF. Se puede ver que en todos los casos que las películas superficiales presentan fisuras profundas. Algunos investigadores atribuyen la fractura de la superficie a la contracción volumétrica que se produce como consecuencia de la deshidratación de la superficie (Song et al., 2009).

Figura 41

Imágenes SEM del aspecto del revestimiento de colágeno en superficies con medio de activación superficial alcalino después de sumergir en la solución SBF a) Revestimiento de 0%(w/w) de colágeno b) Revestimiento de 16% (w/w) colágeno c) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno



13.9.2. Análisis (EDS) en medio de activación superficial alcalino

Las **Figuras 42**, **43** y **44** son muestras que fueron inmersas en solución SBF por 24 horas y luego analizadas por EDS. Así mismo en las 3 figuras aparecen nuevos elementos químicos (Na, Ca, P, Cl, Si, F, K) en donde la combinación de estas sugiere la presencia de los productos de corrosión (CO_3^{2-}, PO_4^{3-}, HPO_4^{2-}).

De la **Figura 43** y **44** se pude ver una reducción del porcentaje atómico de C (8.8% y 8.7%) respecto al análisis EDS de las **Figuras 35** y **36** C (20.3%, 60.84%), lo cual implicó una reducción de las películas de la superficie.

Figura 42

Medio de activación alcalina con revestimiento de 0%(w/w) de colágeno.

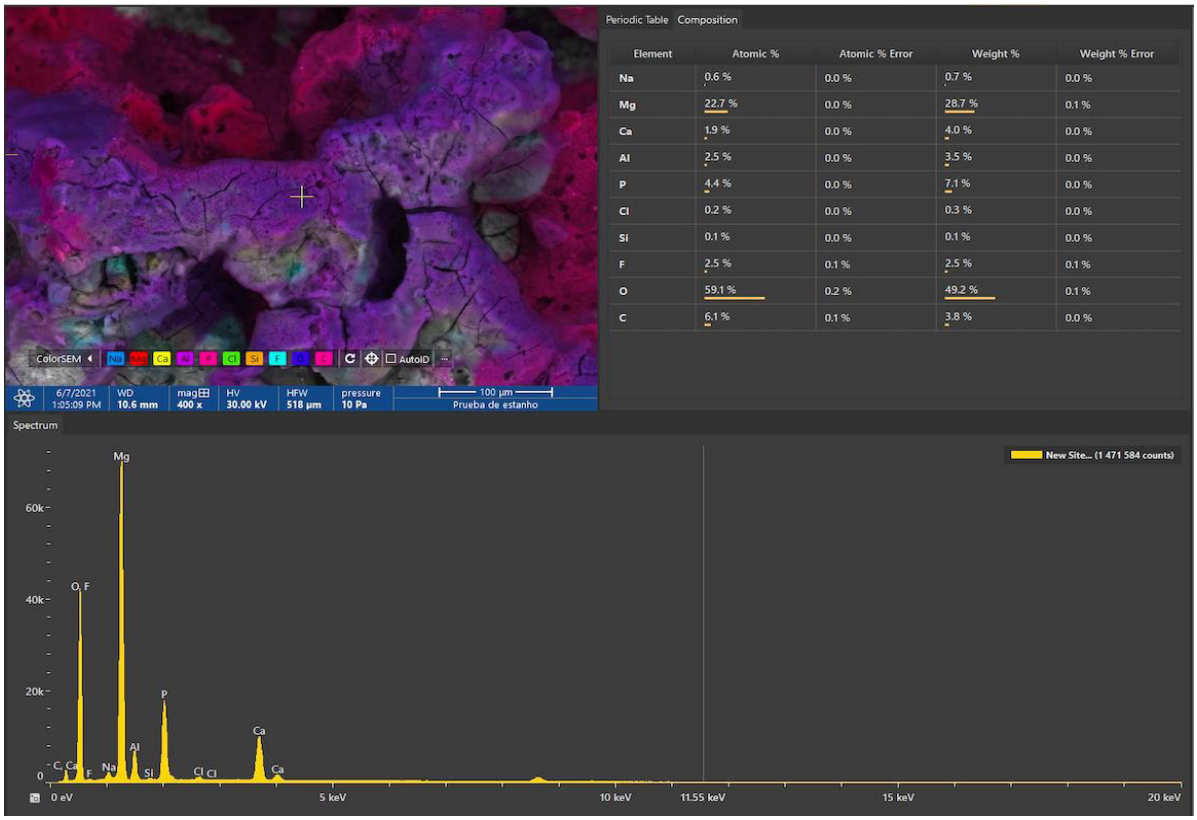


Figura 43

Medio de activación alcalina con revestimiento de 16%(w/w) de colágeno.

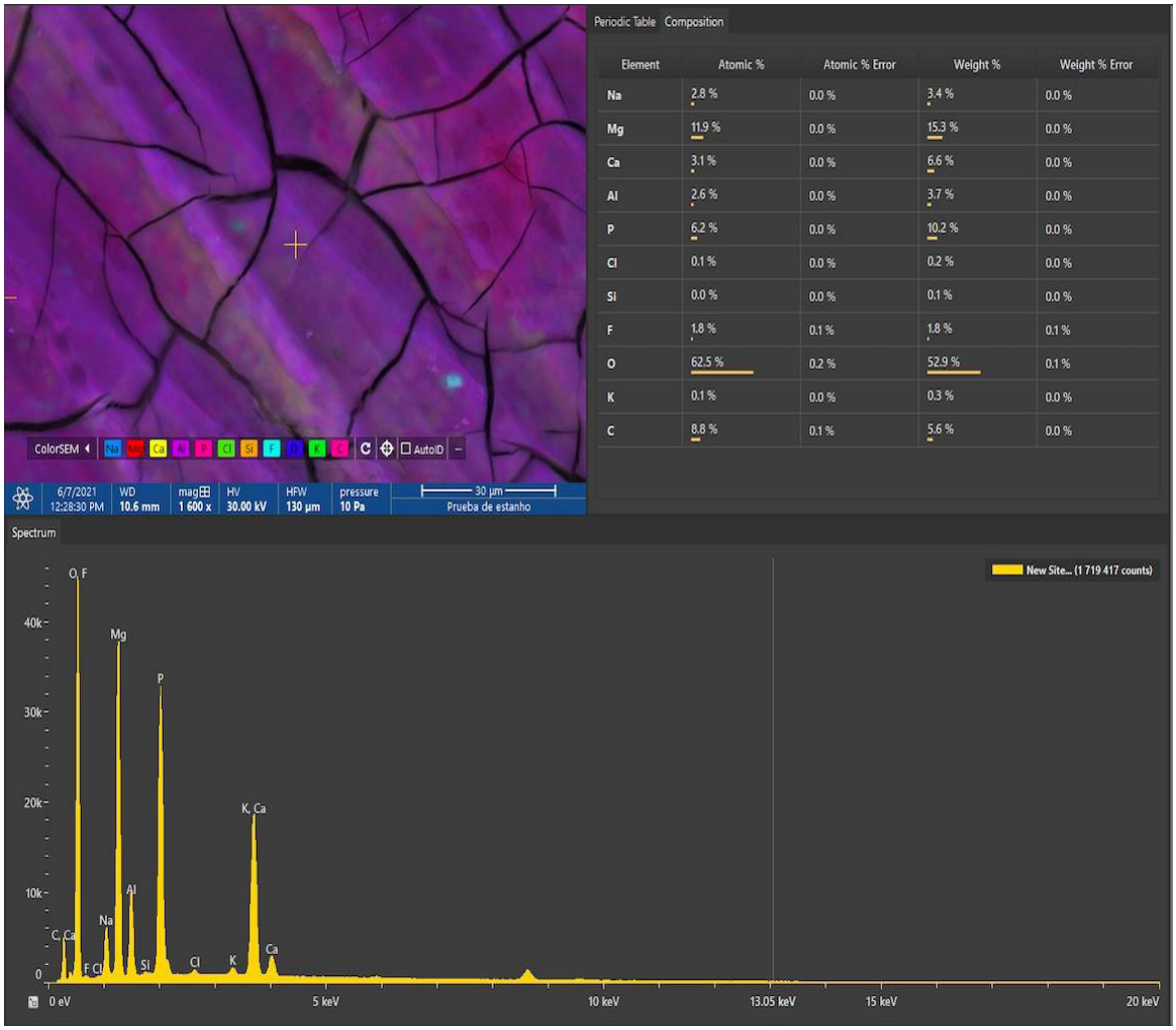
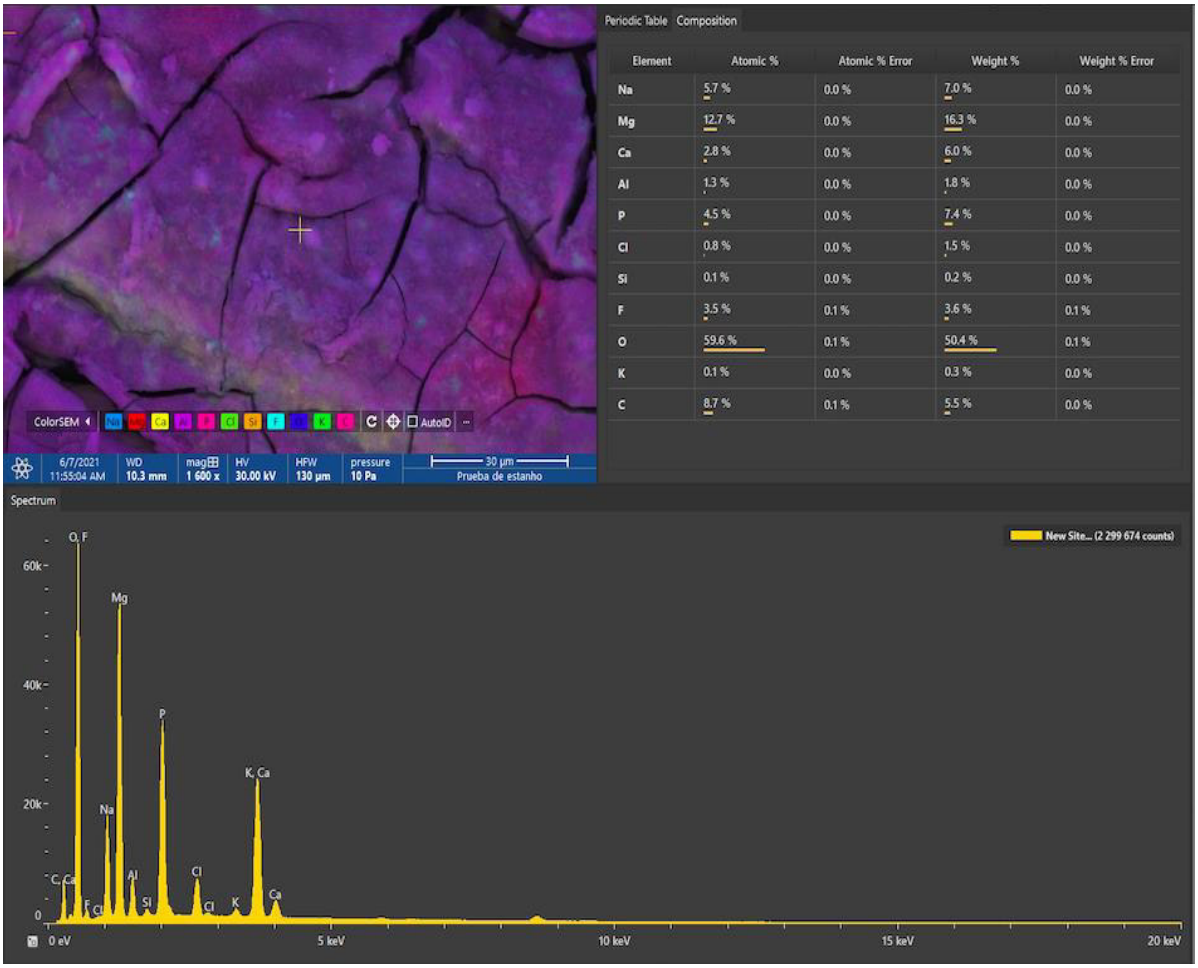


Figura 44

Medio de activación alcalina con revestimiento de 64%(w/w) de colágeno.



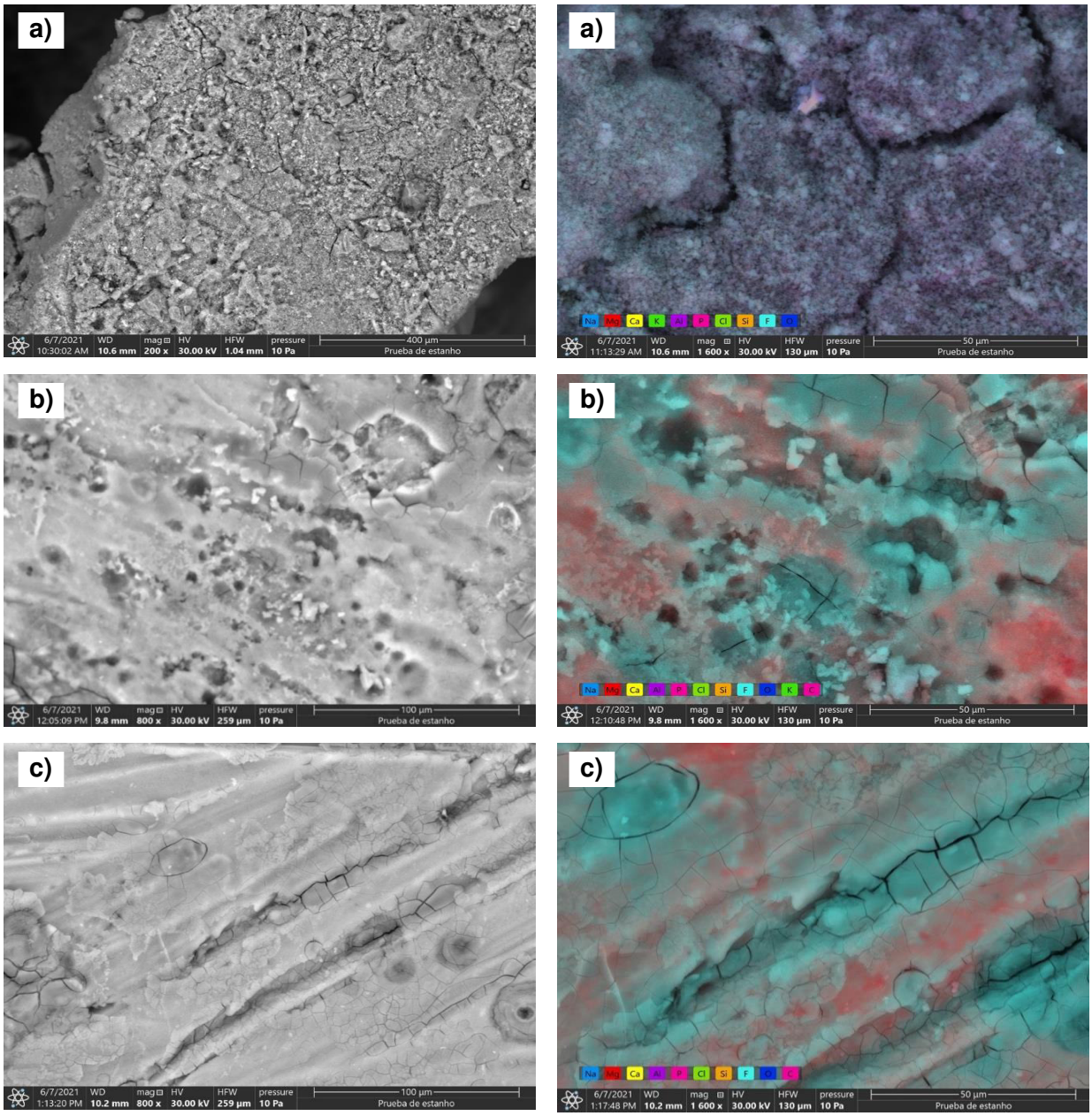
13.9.3. Imágenes SEM de superficies con medio de activación superficial fluorhídrica

La **Figura 45** muestra las imágenes SEM de la superficie AZ31 con activación superficial fluorhídrica, sin revestimiento y con revestimiento de colágeno al 16%(w/w) y 64%(w/w) después de una inmersión de 24h en SBF. Se puede ver que en todos los casos

que las películas superficiales presentan fisuras no tan pronunciadas ni profundas respecto a la **Figura 41**.

Figura 45

Imágenes SEM del aspecto del revestimiento de colágeno en superficies con medio de activación superficial fluorhídrica después de sumergir en la solución SBF a) Revestimiento



de 0%(w/w) de colágeno b) Revestimiento de 16%(w/w) colágeno c) Revestimiento de 64%(w/w) colágeno.

13.9.4. Análisis (EDS) en medio de activación superficial fluorhídrica

De las **Figuras 46**, **47** y **48** son muestras con tratamiento fluorhídrico con y sin revestimiento de colágeno que fueron inmersas en solución SBF por 24 horas y luego analizadas por EDS. A la vez en las 3 figuras aparecen nuevos elementos químicos (Na, Ca, P, Cl, Si, F, K) en donde la combinación de estas sugiere la presencia de los productos de corrosión (CO_3^{2-}, PO_4^{3-}, HPO_4^{2-}).

De las **Figuras 47** y **48** se pude ver una reducción del porcentaje atómico de C (3.1% y 3.0%) respecto al análisis EDS de las **Figuras 39** y **40** C (33.62%, 48.0%), lo cual implicó una reducción de las películas de la superficie.

Figura 46

Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 0%(w/w) de colágeno.

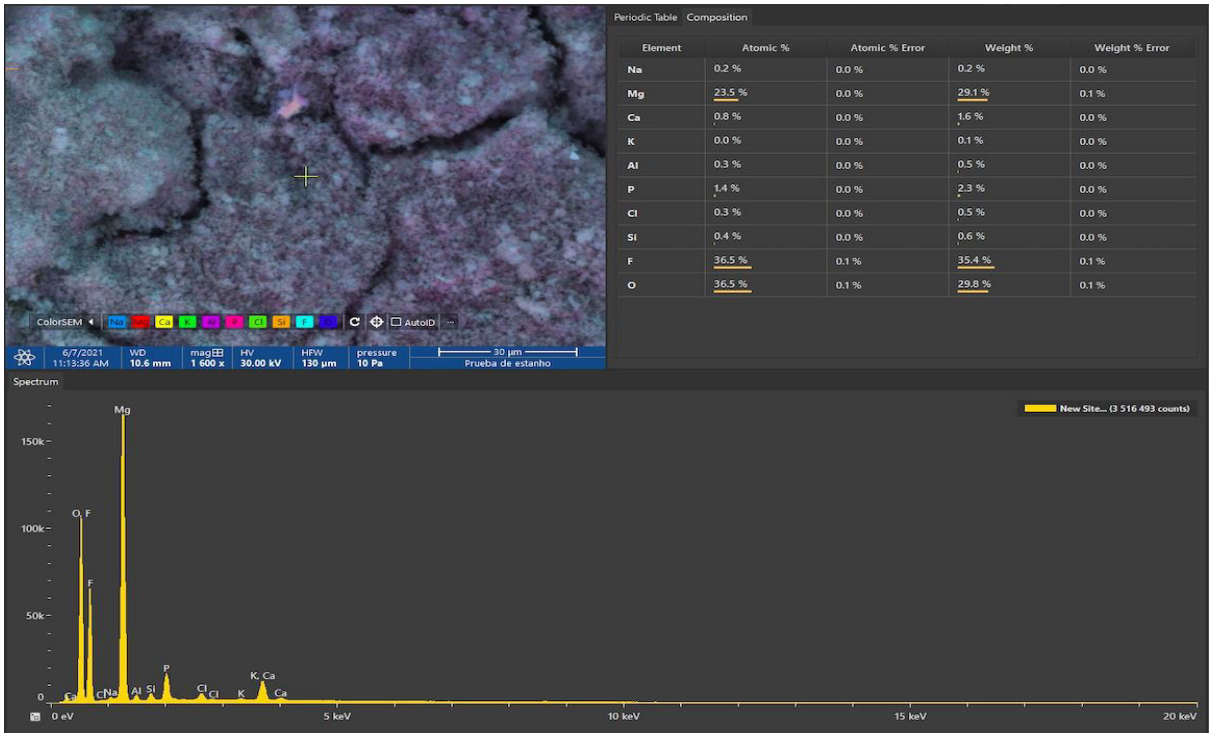


Figura 47

Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 16%(w/w) de colágeno.

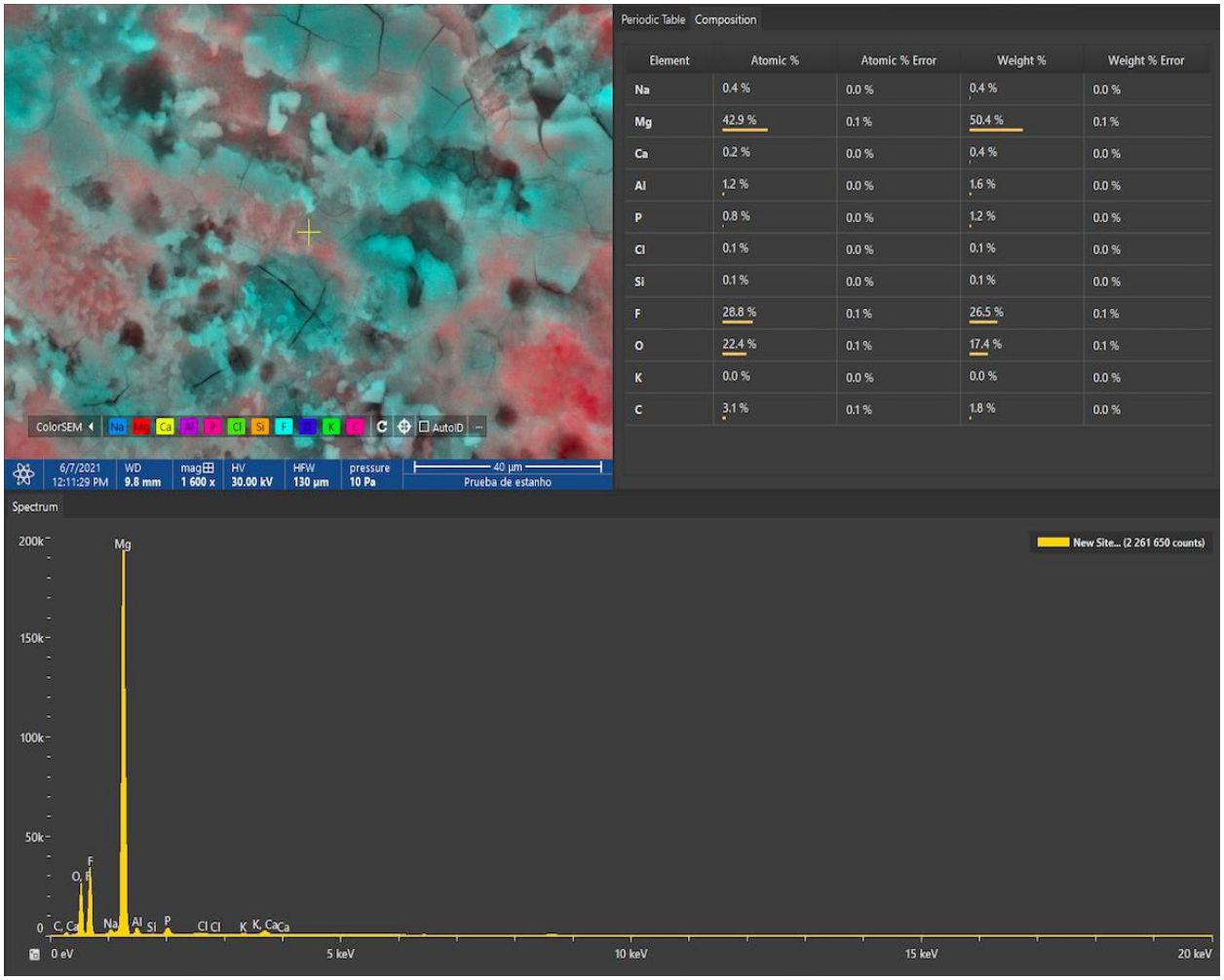


Figura 48

Medio de activación fluorhídrica con revestimiento de 64%(w/w) de colágeno.

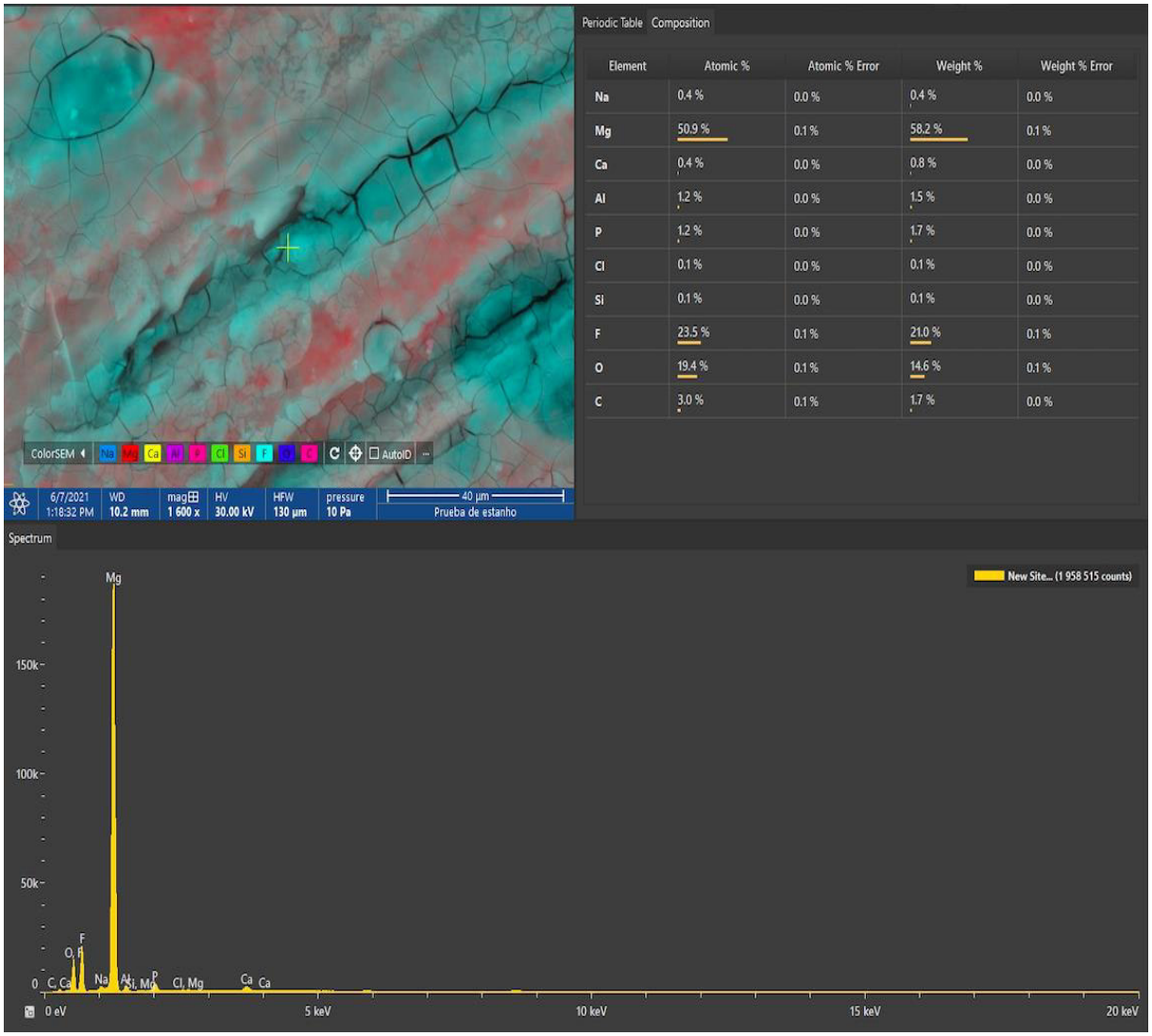
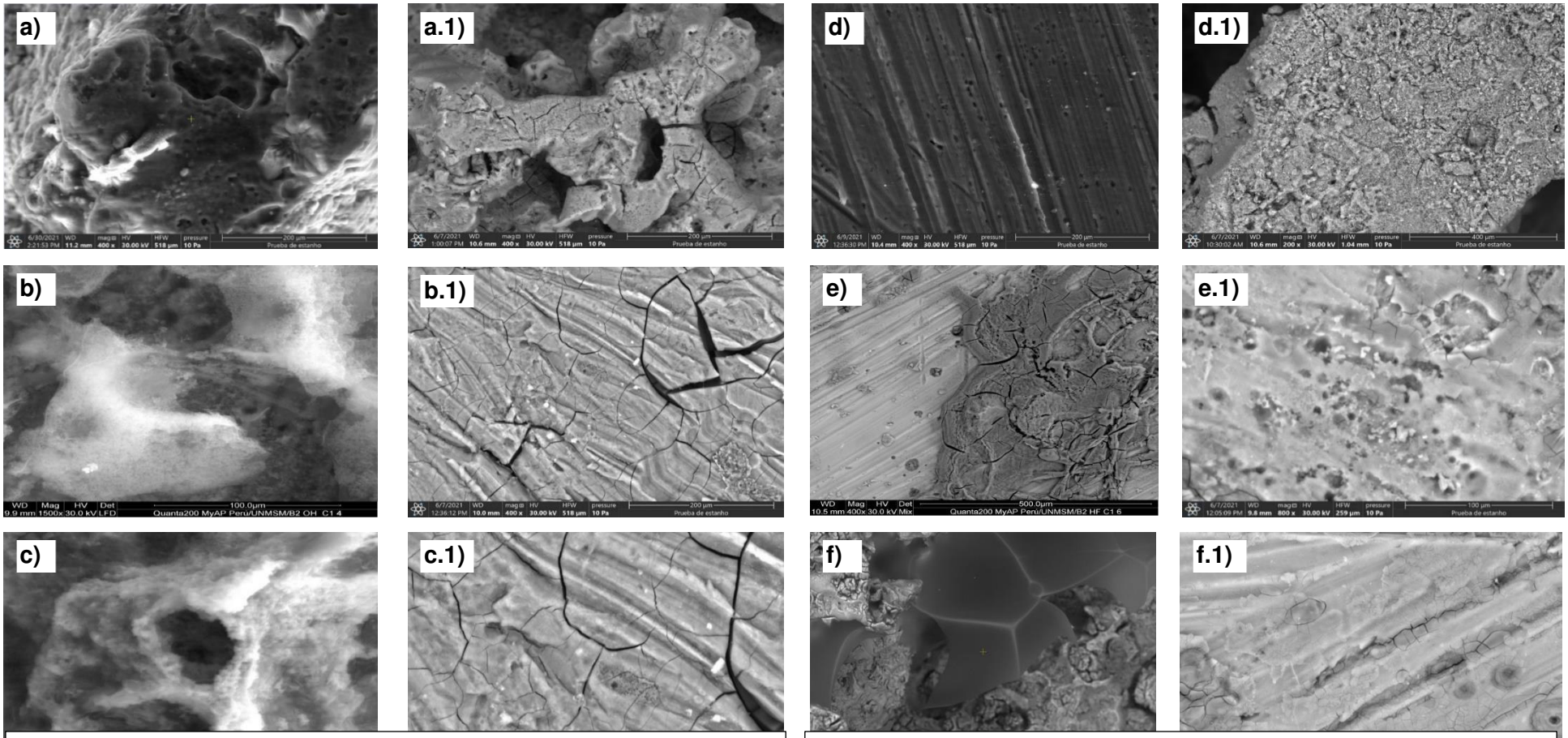


Figura 49

Imágenes SEM de la superficie revestida de los scaffolds "espumas de Magnesio" antes y después de la evaluación de la corrosión.



Las **figura**s **a), b), c)** tienen activación alcalina y revestidas con colágeno al 0%(w/w) ,16%(w/w) y 64%(w/w) respectivamente antes de la evaluación de corrosión.

Las **figura**s **a.1), b.1), c.1)** tienen activación alcalina y revestidas con colágeno al 0%(w/w) ,16%(w/w) y 64%(w/w) respectivamente después de la evaluación de corrosión.

Las **figura**s **d), e), f)** tienen activación fluorhídrica y revestidas con colágeno al 0%(w/w) ,16%(w/w) y 64%(w/w) respectivamente antes de la evaluación de corrosión.

Las **figura**s **d.1), e.1), f.1)** tienen activación fluorhídrica y revestidas con colágeno al 0%(w/w) ,16%(w/w) y 64%(w/w) respectivamente después de la evaluación de corrosión.

La **Figura 49** muestra imágenes SEM de la superficie de la aleación AZ31 antes y después de la evaluación de la corrosión.

Si bien se ha llevado a cabo el estudio enfocado en la velocidad de corrosión basado en tipo de activación superficial y concentración de colágeno para revestimiento, se tiene presente el efecto que producen estos cambios sobre las propiedades como adherencia, estabilidad, permeabilidad y comportamiento antibacterial, los cuales podrían ser motivo para otros estudios posteriores. A saber de la adherencia y estabilidad físicamente estos pueden ser evaluados mediante prueba de rayados o scratch test (Wang et al., 2019), lo cual hace complicado la aplicación en las muestras muy porosas como los *scaffold* basados en esponjas de Mg preparados con la aleación AZ31, por lo que teóricamente podemos basarnos en los enlaces químicos formados producto de la interacción del colágeno con el metal, formando un complejo que permita la fijación y estabilidad de ambos. En cuanto a la permeabilidad, autores como Lee y Kim (2011), Zhao y Zhu (2014) mencionan que el colágeno como revestimiento es capaz de inducir la hidrofilicidad y mejorar la adsorción de agua sin alterar las propiedades mecánicas. En el caso del comportamiento antibacterial, se evalúa la citotoxicidad celular principalmente como también pruebas de proliferación celular, donde se ha demostrado la alta capacidad que tiene el colágeno para la promoción de nuevas células óseas, hay biocompatibilidad con el medio, donde se ha probado inclusive en experimentos in vivo que se obtiene una respuesta positiva en la regeneración del tejido óseo como la mineralización de osteoblastos (Mushahary et al., 2016; Wang et al., 2019).

13.10. Análisis estadístico

13.10.1. ANOVA para tasas de corrosión obtenidos experimentalmente

El ANOVA de dos vías detectó efectos principales de la concentración de colágeno y medio de activación, así como una interacción entre ambos factores, sobre CR:

1. Hay un efecto principal del factor “Concentración” ($F=104.04$; $p<0.05$), estos valores son mostrados en la **Tabla 25**, indicando que la media de CR de los recubrimientos obtenidos después de sumergir las muestras en soluciones de colágeno 16%(w/w) y 64%(w/w) son significativos.
2. Hay un efecto principal del factor “Medio de activación” ($F=130.73$; $p<0.05$) estos valores son mostrados en la **Tabla 25**, lo cual significa que el valor medio de la variable CR se modifica dependiendo del medio de activación superficial que se utilice.
3. La concentración de colágeno utilizada y medio de activación superficial no deben considerarse aisladamente, ya que existe un efecto de interacción significativo entre ellos ($F=40.67$; $p<0.05$) estos valores son mostrados en la **Tabla 25**, sugiriendo que el efecto de las distintas concentraciones de colágeno utilizadas sobre CR no es mismo en los distintos medios de activación superficial estudiadas.

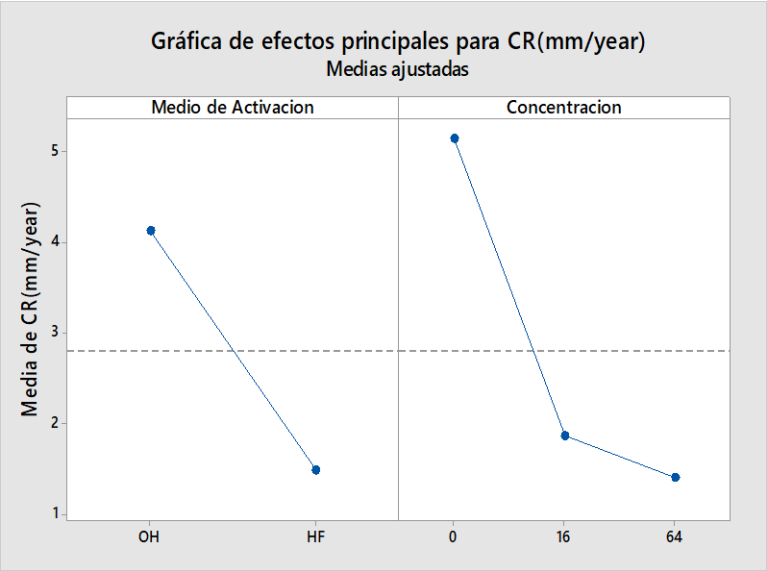
La **Figura 50** muestra el diagrama de efectos principales (medio de activación superficial y concentración) sobre CR.

En el caso del medio de activación superficial, se observa que se consigue una menor CR utilizando un método de activación superficial fluorhídrico. Respecto a las concentraciones, una concentración de colágeno al 64%(w/w) tiene un mayor efecto

sobre CR, ya que el valor de este último disminuye considerablemente respecto una menor concentración.

Figura 50

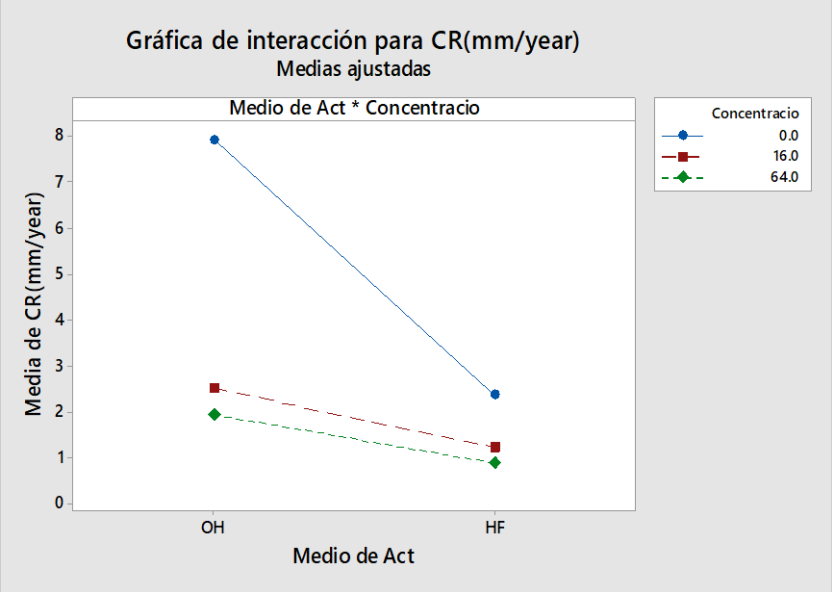
Diagrama de efectos principales.



En la **Figura 51** se muestra que la interacción medio de activación superficial fluorhídrica y concentración de colágeno al 64%(w/w) logra una mayor reducción de la CR. La proximidad o cruce de las líneas indica que hay interacción en estos factores.

Figura 51

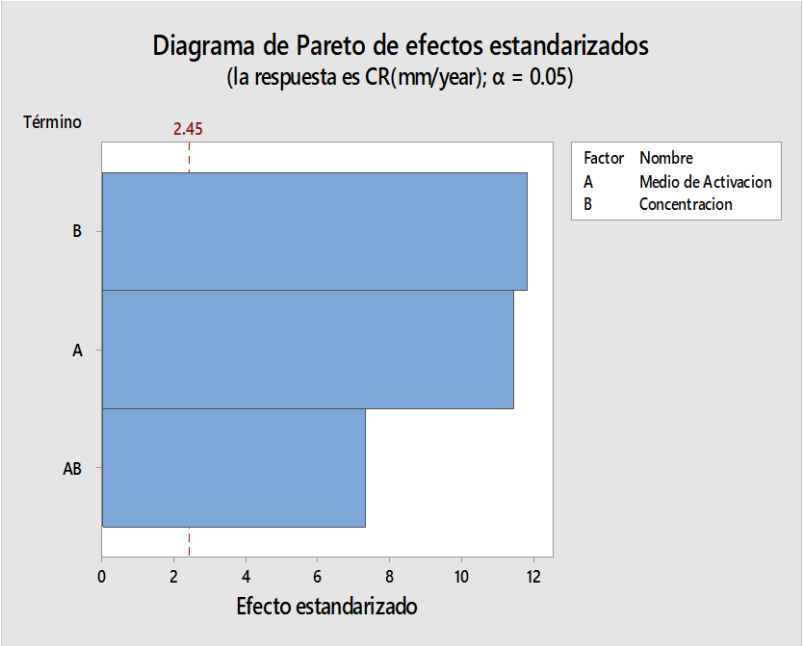
Diagrama de efectos por interacciones.



En la **Figura 51** se puede ver que el factor medio de activación superficial, concentración e interacción de los dos factores anteriores son significativos ya que estos cruzan la línea de corte de color rojo de valor 2.45, con un intervalo de confianza de 95% ($p<0.05$). También nos indica que el efecto más significativo es la aplicación del revestimiento de colágeno en sus distintas concentraciones, seguido del medio de activación superficial.

Figura 52

Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.



La **Tabla 25** muestra el análisis ANOVA extraídos del programa Minitab para la interpretación de los resultados.

Tabla 25

Análisis ANOVA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Medio de Activación	1	20.7954	20.7954	130.73	0.000
Concentración	2	33.0993	16.5496	104.04	0.000
Interacciones de 2 términos	2	12.9377	6.4688	40.67	0.000
Medio de Activación*Concentración	2	12.9377	6.4688	40.67	0.000
Error	6	0.9544	0.1591		
Total	11	67.7868			

Nota. Extraído de Minitab 18

14. CONCLUSIONES

Los resultados de la morfología superficial realizados indican que se formó un recubrimiento de colágeno, sobre la superficie de la esponja de Mg, mostrado en los ensayos de composición realizados por el SEM/EDS, el cual mejoró la resistencia a la corrosión de la aleación en la solución de SBF.

La activación superficial en HF al 40 w/w% resulta viable en la generación de recubrimientos altamente protectores frente a la degradación del magnesio en medio fisiológico, debiendo ser considerado para futuras aplicaciones del magnesio como implante metálico temporal. Este sencillo tratamiento de conversión química confieren al recubrimiento buenas propiedades protectoras en el medio fisiológico.

Las condiciones óptimas para la disminución de la corrosión hasta en un 87% respecto a muestras no revestidas con colageno es realizar una modificacion superficial fluorhídrica y posterior revestimiento con colágeno a una concentración de 64%(w/w), pH=7.4 ± 0.3, tiempo de inmersión de 1 min, tiempo de secado de 15 min y temperatura de 37 ± 1°C.

. Los ensayos demostraron que los *scaffolds* con activación alcalina y sin revestimiento 0% (w/w), se corroen mas que los revestidos al 16% (w/w) y minimamente para 64%(w/w) de colageno, 7.92 ± 0.25, 2.51 ± 0.02 y 1.93 ± 0.07 mm/año respectivamente. Y para los *scaffolds* con activación fluorhidrica y sin revestimiento 0% (w/w) se corroen mas que los revestiods al 16% (w/w) y minimamente para 64% (w/w) de colageno, 2.35 ± 0.39, 1.22 ± 0.02 y 0.89 ± 0.22 mm/año respectivamente.

El análisis estadístico reveló que las distintas concentraciones de colágeno tienen un efecto significativo en la reducción de la velocidad de corrosión, seguido de la activación superficial.

15. RECOMENDACIONES

Estudiar el revestimiento de colágeno y los productos de corrosión, por otros métodos complementarios como XPS (La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X) o DRX (Difracción por rayos X). Así mismo cuantificar la concentración de Mg en la solución SBF mediante técnicas complementarias ICP-MS/ICP-OES.

Realizar ensayos de corrosión durante periodos de inmersión más prolongados, a fin de determinar si el recubrimiento tiene la durabilidad necesaria para la aplicación.

Realizar ensayos en condiciones dinámicas, de manera de simular más adecuadamente la renovación de fluidos en las cercanías del implante.

Se puede contemplar como línea futura el estudio de trazas tanto del recubrimiento como del sustrato metálico a nivel sistémico en órganos distantes del material implantado, derivadas del proceso de biodegradación en órganos como bazo, riñón o hígado.

Realizar ensayos con metodos electroquimicos como la PDP (Polarización potenciodinámica) y la EIS (Espectroscopia de impedancia electroquímica) de muestras recubiertas con los mismos porcentajes de colágeno para una futura comparación con el metodo de evolución de hidrógeno utilizado.

16. REFERENCIAS

Abdal-hay, A., Barakat, N. A. M., & Lim, J. K. (2013). Influence of electrospinning and dip-coating techniques on the degradation and cytocompatibility of Mg-based alloy. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, *420*, 37–45.

Abdal-hay, A., Dewidar, M., Lim, J., & Lim, J. K. (2014). Enhanced biocorrosion resistance of surface modified magnesium alloys using inorganic/organic composite layer for biomedical applications. *Ceramics International*, *40*(1), 2237–2247.

Abdel-Hady Gepreel, M., & Niinomi, M. (2013). Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *20*, 407–415.

Aegerter, M. A., & Mennig, M. (Eds.). (2014). *Sol-Gel Technologies for Glass Producers and Users*. Springer.

Alvarez-Lopez, M., Pereda, M. D., del Valle, J. A., Fernandez-Lorenzo, M., Garcia-Alonso, M. C., Ruano, O. A., & Escudero, M. L. (2010). Corrosion behaviour of AZ31 magnesium alloy with different grain sizes in simulated biological fluids. *Acta Biomaterialia*, *6*(5), 1763–1771.

Analytical methods for atomic absorption spectroscopy. (s/f). Lasalle.edu. Recuperado el 11 de marzo de 2022, de http://www1.lasalle.edu/~prushan/Intrumental%20Analysis_files/AA-Perkin%20Elmer%20guide%20to%20all!.pdf

ASM specialty handbook: Magnesium and magnesium alloys - ASM international. (s/f). Asminternational.org. Recuperado el 26 de febrero de 2022, de https://www.asminternational.org/handbooks//journal_content/56/10192/06770G/PUBLICATION

Atrens, A., Song, G.-L., Liu, M., Shi, Z., Cao, F., & Dargusch, M. S. (2015). Review of recent developments in the field of magnesium corrosion: Recent developments in mg corrosion. *Advanced Engineering Materials*, *17*(4), 400–453. https://doi.org/10.1002/adem.201400434

Bai, K., Zhang, Y., Fu, Z., Zhang, C., Cui, X., Meng, E., Guan, S., & Hu, J. (2012). Fabrication of chitosan/magnesium phosphate composite coating and the *in vitro* degradation properties of coated magnesium alloy. *Materials Letters*, *73*, 59–61.

Bakhsheshi-Rad, H. R., Hamzah, E., Ebrahimi-Kahrizsangi, R., Daroonparvar, M., & Medraj, M. (2016). Fabrication and characterization of hydrophobic microarc oxidation/poly-lactic acid duplex coating on biodegradable Mg–Ca alloy for corrosion protection. *Vacuum*, *125*, 185–188.

Barcak, E. A., Beebe, M. J., & Weinlein, J. C. (2018). The role of implant removal in orthopedic trauma. *The Orthopedic Clinics of North America*, *49*(1), 45–53.

Bishop, J. A., Palanca, A. A., Bellino, M. J., & Lowenberg, D. W. (2012). Assessment of compromised fracture healing. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, *20*(5), 273–282.

Bodelón, Ó. G. (2015). *Biomateriales metálicos endoprotésicos: biocompatibilidad y biodegradación* [Universidad Complutense de Madrid]. https://eprints.ucm.es/id/eprint/32993/

Bonafede, M., Espindle, D., & Bower, A. G. (2013). The direct and indirect costs of long bone fractures in a working age US population. *Journal of Medical Economics*, *16*(1), 169–178.

Carboneras, M., García-Alonso, M. C., & Escudero, M. L. (2011). Biodegradation kinetics of modified magnesium-based materials in cell culture medium. *Corrosion Science*, *53*(4), 1433–1439. https://doi.org/10.1016/j.corsci.2011.01.014

Carter, D. R., Beaupré, G. S., Giori, N. J., & Helms, J. A. (1998). Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, *355S*(355 Suppl), S41-55.

Cavallo, M. S., & Flores, M. L. (2017). *Recubrimientos biodegradables para AZ91D, evaluación del desempeño en fluido fisiológico simulado*. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

Cram101 Reseñas de libros de texto. (2010). *Guía de estudio para estadística aplicada y probabilidad para ingenieros por Montgomery, Douglas C., ISBN 9780470053041.* Cram101.

Chan Hee Park, Hem Raj Pant, Cheol Sang Kim (2013). Effect on corrosion behavior of collagen film/fiber coated AZ31 magnesium alloy. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures.* Vol. 8, No. 3, July - September 2013, p. 1227 – 1234.

Chen, J., Tan, L., Yu, X., Etim, I. P., Ibrahim, M., & Yang, K. (2018). Mechanical properties of magnesium alloys for medical application: A review. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *87*, 68–79.

Chen, W., & McCarthy, T. J. (1997). Layer-by-layer deposition: A tool for polymer surface modification. *Macromolecules*, *30*(1), 78–86.

Chen, X. B., Birbilis, N., & Abbott, T. B. (2011). Review of corrosion-resistant conversion coatings for magnesium and its alloys. *Corrosion*, *67*(3), 035005-1-035005–035016. https://doi.org/10.5006/1.3563639

Chen, X.-B., Birbilis, N., & Abbott, T. B. (2011). A simple route towards a hydroxyapatite–Mg(OH)2 conversion coating for magnesium. *Corrosion Science*, *53*(6), 2263–2268. https://doi.org/10.1016/j.corsci.2011.03.008

Chen, Y., Dou, J., Yu, H., & Chen, C. (2019). Degradable magnesium-based alloys for biomedical applications: The role of critical alloying elements. *Journal of Biomaterials Applications*, *33*(10), 1348–1372.

Cheng, M.-Q., Wahafu, T., Jiang, G.-F., Liu, W., Qiao, Y.-Q., Peng, X.-C., Cheng, T., Zhang, X.-L., He, G., & Liu, X.-Y. (2016). A novel open-porous magnesium *scaffold* with controllable microstructures and properties for bone regeneration. *Scientific Reports*, *6*(1), 24134. https://doi.org/10.1038/srep24134

Chow, D., Nunalee, M. L., Lim, D. W., Simnick, A. J., & Chilkoti, A. (2008). Peptide-based biopolymers in biomedicine and biotechnology. *Materials Science & Engineering. R, Reports: A Review Journal*, *62*(4), 125–155.

Coates, J., & Takafumi, A. (2019). Biomedical Engineering. En *Careers in Biomedical Engineering* (pp. 37–65). Elsevier.*corrosion_fatigue*. (s/f). Slb.com. Recuperado el 5 de marzo de 2022, de https://glossary.oilfield.slb.com/es/terms/c/corrosion_fatigue

da Conceicao, T. F., Scharnagl, N., Blawert, C., Dietzel, W., & Kainer, K. U. (2010). Surface modification of magnesium alloy AZ31 by hydrofluoric acid treatment and its effect on the corrosion behaviour. *Thin Solid Films*, *518*(18), 5209–5218. https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.04.114

Dorozhkin, S. V. (2014). Calcium orthophosphate coatings on magnesium and its biodegradable alloys. *Acta Biomaterialia*, *10*(7), 2919–2934.

Eddy Jai Poinern, G., Brundavanam, S., & Fawcett, D. (2013). Biomedical magnesium alloys: A review of material properties, surface modifications and potential as a biodegradable orthopaedic implant. *American Journal of Biomedical Engineering*, *2*(6), 218–240.

Escudero Rincón, M. L., & García Alonso, M. C. (2015). *Biomateriales metálicos endoprotésicos: biocompatibilidad y biodegradación*. Universidad Complutense de Madrid.

Esmaily, M., Svensson, J. E., Fajardo, S., Birbilis, N., Frankel, G. S., Virtanen, S., Arrabal, R., Thomas, S., & Johansson, L. G. (2017). Fundamentals and advances in magnesium alloy corrosion. *Progress in Materials Science*, *89*, 92–193. https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2017.04.011

Gao, C., Peng, S., Feng, P., & Shuai, C. (2017). Bone biomaterials and interactions with stem cells. *Bone Research*, *5*, 17059.

Garbacz, H., & Królikowski, A. (2019). Corrosion resistance of nanocrystalline titanium. En H. Garbacz, I. P. Semenova, S. Zherebtsov, & M. Motyka (Eds.), *Nanocrystalline Titanium* (pp. 145–173). Elsevier.

Ghali, E., Dietzel, W., & Kainer, K.-U. (2004). General and localized corrosion of magnesium alloys: A critical review. *Journal of materials engineering and performance*, *13*(1), 7–23. https://doi.org/10.1361/10599490417533

Ghiasi, M. S., Chen, J., Vaziri, A., Rodriguez, E. K., & Nazarian, A. (2017). Bone fracture healing in mechanobiological modeling: A review of principles and methods. *Bone Reports*, *6*, 87–100.

Gindis, E. J., & Kaebisch, R. C. (2020). Spotlight On: biomedical engineering. En *Up and Running with AutoCAD® 2020* (pp. 445–447). Elsevier.

Gray-Munro, J. E., & Strong, M. (2009). The mechanism of deposition of calcium phosphate coatings from solution onto magnesium alloy AZ31. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, *90*(2), 339–350. https://doi.org/10.1002/jbm.a.32107

Gu, X. N., Zheng, W., Cheng, Y., & Zheng, Y. F. (2009). A study on alkaline heat treated Mg-Ca alloy for the control of the biocorrosion rate. *Acta Biomaterialia*, *5*(7), 2790–2799. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.01.048

Han, L., Li, X., Bai, J., Xue, F., Zheng, Y., & Chu, C. (2018). Effects of flow velocity and different corrosion media on the *in vitro* bio-corrosion behaviors of AZ31 magnesium alloy. *Materials Chemistry and Physics*, *217*, 300–307.

Hornberger, H., Virtanen, S., & Boccaccini, A. R. (2012). Biomedical coatings on magnesium alloys - a review. *Acta Biomaterialia*, *8*(7), 2442–2455. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.04.012

Hu, H., Nie, X., & Ma, Y. (2014). Corrosion and surface treatment of magnesium alloys. En *Magnesium Alloys - Properties in Solid and Liquid States*. InTech.

Jiang, W., & Liu, H. (2016). Nanocomposites for bone repair and osteointegration with soft tissues. En *Nanocomposites for Musculoskeletal Tissue Regeneration* (pp. 241–257). Elsevier.

Kang, K. W., Electrónico De Barrido, M., Dispersiva, E., & Introducción, E. (s/f). *SERVICIO DE MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO Y MICROANÁLISIS DEL LIMF - FACULTAD DE INGENIERÍA -UNLP*. Core.ac.uk. Recuperado el 13 de marzo de 2022, de https://core.ac.uk/download/pdf/296368737.pdf

Kienapfel, H., Sprey, C., Wilke, A., & Griss, P. (1999). Implant fixation by bone ingrowth. *The Journal of Arthroplasty*, *14*(3), 355–368.

Kim, H., Yang, G. H., & Kim, G. (2019). Three-dimensional gelatin/PVA *scaffold* with nanofibrillated collagen surface for applications in hard-tissue regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, *135*, 21–28.

Kirkland, N. T., Birbilis, N., & Staiger, M. P. (2012). Assessing the corrosion of biodegradable magnesium implants: a critical review of current methodologies and their limitations. *Acta Biomaterialia*, *8*(3), 925–936.

Kneser, U., Schaefer, D. J., Munder, B., Klemt, C., Andree, C., & Stark, G. B. (2002). Tissue engineering of bone. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies: MITAT: Official Journal of the Society for Minimally Invasive Therapy*, *11*(3), 107–116.

Kokubo, T., & Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting *in vivo* bone bioactivity? *Biomaterials*, *27*(15), 2907–2915.

Kumar, S., Nehra, M., Kedia, D., Dilbaghi, N., Tankeshwar, K., & Kim, K.-H. (2020). Nanotechnology-based biomaterials for orthopaedic applications: Recent advances and future prospects. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, *106*(110154), 110154.

Lasia, A. (2014). *Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications*. Springer New York.

Lee, H., & Kim, G. (2011a). Three-dimensional plotted PCL/β-TCP scaffolds coated with a collagen layer: preparation, physical properties and *in vitro* evaluation for bone tissue regeneration. *Journal of materials chemistry*, *21*(17), 6305.

Lee, H., & Kim, G. (2011b). Three-dimensional plotted PCL/β-TCP *scaffolds* coated with a collagen layer: preparation, physical properties and *in vitro* evaluation for bone tissue regeneration. *Journal of Materials Chemistry*, *21*(17), 6305–6312.

Lee, J.-W., Han, H.-S., Han, K.-J., Park, J., Jeon, H., Ok, M.-R., Seok, H.-K., Ahn, J.-P., Lee, K. E., Lee, D.-H., Yang, S.-J., Cho, S.-Y., Cha, P.-R., Kwon, H., Nam, T.-H., Han, J. H. L., Rho, H.-J., Lee, K.-S., Kim, Y.-C., & Mantovani, D. (2016). Long-term clinical study and multiscale

analysis of *in vivo* biodegradation mechanism of Mg alloy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *113*(3), 716–721.

Li, L.-Y., Cui, L.-Y., Zeng, R.-C., Li, S.-Q., Chen, X.-B., Zheng, Y., & Kannan, M. B. (2018). Advances in functionalized polymer coatings on biodegradable magnesium alloys - A review. *Acta Biomaterialia*, *79*, 23–36.

Li, X., Liu, X., Wu, S., Yeung, K. W. K., Zheng, Y., & Chu, P. K. (2016). Design of magnesium alloys with controllable degradation for biomedical implants: From bulk to surface. *Acta Biomaterialia*, *45*, 2–30. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.09.005

Li, Y., Yang, C., Zhao, H., Qu, S., Li, X., & Li, Y. (2014). New developments of Ti-based alloys for biomedical applications. *Materials*, *7*(3), 1709–1800.

Loureiro dos Santos, L. A. (2017). Natural polymeric biomaterials: Processing and properties ☆. En *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier.

Ma, L., & Niu, J. (2019). *In vitro* biocorrosion and biocompatibility of AZ31 modified with magnesium phosphate coating by chemical deposition. *Surfaces and Interfaces*, *14*, 208–214.

Mackie, E. J. (2003). Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *35*(9), 1301–1305.

Manam, N. S., Harun, W. S. W., Shri, D. N. A., Ghani, S. A. C., Kurniawan, T., Ismail, M. H., & Ibrahim, M. H. I. (2017). Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review. *Journal of Alloys and Compounds*, *701*, 698–715.

Manivasagam, G., Dhinasekaran, D., & Rajamanickam, A. (2010). Biomedical Implants: Corrosion and its Prevention - A Review~!2009-12-22~!2010-01-20~!2010-05-25~! *Recent patents on corrosion science*, *2*(1), 40–54.

Manrique-Moreno, M., Villena, F., Sotomayor, C. P., Edwards, A. M., Muñoz, M. A., Garidel, P., & Suwalsky, M. (2011). Human cells and cell membrane molecular models are affected *in vitro* by the nonsteroidal anti-inflammatory drug ibuprofen. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1808*(11), 2656–2664.

Markatos, K., Tsoucalas, G., & Sgantzos, M. (2016). Hallmarks in the history of orthopaedic implants for trauma and joint replacement. *Acta Medico-Historica Adriatica: AMHA*, *14*(1), 161–176.

Martinez Sanchez, A. H., Luthringer, B. J. C., Feyerabend, F., & Willumeit, R. (2015). Mg and Mg alloys: how comparable are *in vitro* and *in vivo* corrosion rates? A review. *Acta Biomaterialia*, *13*, 16–31.

Masaeli, R., Zandsalimi, K., & Tayebi, L. (2019). Biomaterials evaluation: Conceptual refinements and practical reforms. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*, *53*(1), 120–127. https://doi.org/10.1177/2168479018774320

Md. Saad, A. P., Jasmawati, N., Harun, M. N., Abdul Kadir, M. R., Nur, H., Hermawan, H., & Syahrom, A. (2016). Dynamic degradation of porous magnesium under a simulated environment of human cancellous bone. *Corrosion science*, *112*, 495–506. https://doi.org/10.1016/j.corsci.2016.08.017

Mena-Morcillo, E., & Veleva, L. (2020). Degradation of AZ31 and AZ91 magnesium alloys in different physiological media: Effect of surface layer stability on electrochemical behaviour. *Journal of Magnesium and Alloys*, *8*(3), 667–675.

Microscopía electrónica de barrido (SEM), ¿para qué me sirve? (2020, agosto 24). ATRIA Innovation. https://www.atriainnovation.com/microscopia-electronica-de-barrido-sem-utilidades/

Mohamed, H. I. (2016). An Overview of orthopedic implants. *Mathews Journal of Orthopedics*, *1*(1), 1–2.

Moreno, J. (2020). *Aleaciones de Mg como potenciales implantes temporarios: modificación superficial para controlar la degradación. Estudio in vitro*. Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ingeniería; Argentina.

Mousavi, S., Khoshfetrat, A. B., Khatami, N., Ahmadian, M., & Rahbarghazi, R. (2019). Comparative study of collagen and gelatin in chitosan-based hydrogels for effective wound dressing: Physical properties and fibroblastic cell behavior. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *518*(4), 625–631. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.102

Mushahary, D., Wen, C., Kumar, J. M., Sravanthi, R., Hodgson, P., Pande, G., & Li, Y. (2014). Strontium content and collagen-I coating of Magnesium-Zirconia-Strontium implants influence osteogenesis and bone resorption. *Clinical Oral Implants Research*, *27*(2), e15-24. https://doi.org/10.1111/clr.12511

Nam, N. D. (2014). Corrosion behavior of Mg–5Al based magnesium alloy with 1 wt.% Sn, Mn and Zn additions in 3.5 wt.% NaCl solution. *Journal of magnesium and alloys*, *2*(2), 190–195.

Nanakoudis, A. (2019, noviembre 28). *EDX Analysis with SEM: How Does it Work?* Accelerating Microscopy. https://www.thermofisher.com/blog/microscopy/edx-analysis-with-sem-how-does-it-work/

Naroo, G., Ahmed, T., Nasim, B., & Skaf, O. (2013). Patient on ACS Pathway – Hypomagnesaemia a Contributory Factor to Myocardial Ischemia. En *Ischemic Heart Disease*. InTech.

Niu, B., Shi, P., Shanshan, E., Wei, D., Li, Q., & Chen, Y. (2016). Preparation and characterization of HA sol–gel coating on MAO coated AZ31 alloy. *Surface & coatings technology*, *286*, 42–48.

Ostrowski, N., Lee, B., Enick, N., Carlson, B., Kunjukunju, S., Roy, A., & Kumta, P. N. (2013). Corrosion protection and improved cytocompatibility of biodegradable polymeric layer-by-layer coatings on AZ31 magnesium alloys. *Acta Biomaterialia*, *9*(10), 8704–8713.

Pivonka, P., & Dunstan, C. R. (2012). Role of mathematical modeling in bone fracture healing. *BoneKEy Reports*, *1*, 221. https://doi.org/10.1038/bonekey.2012.221

Predko, P., Rajnovic, D., Grilli, M. L., Postolnyi, B. O., Zemcenkovs, V., Rijkuris, G., Pole, E., & Lisnanskis, M. (2021). Promising methods for corrosion protection of magnesium alloys in the case of Mg-Al, Mg-Mn-Ce and Mg-Zn-Zr: A recent progress review. *Metals*, *11*(7), 1133. https://doi.org/10.3390/met11071133

R. Baboian, S. Dean, H. Hack, G. Haynes, J. Scully, D. Sprowls. (1995). *"Corrosion Tests and Standards: Application and Interpretation"*. ASTM Manual Series: MNL 20.

Rastegari, S., & Salahinejad, E. (2019). Surface modification of Ti-6Al-4V alloy for osseointegration by alkaline treatment and chitosan-matrix glass-reinforced nanocomposite coating. *Carbohydrate Polymers*, *205*, 302–311.

Reddy, N., Reddy, R., & Jiang, Q. (2015). Crosslinking biopolymers for biomedical applications. Trends in Biotechnology, 33(6), 362–369. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.03.008

Reith, G., Schmitz-Greven, V., Hensel, K. O., Schneider, M. M., Tinschmann, T., Bouillon, B., & Probst, C. (2015). Metal implant removal: benefits and drawbacks--a patient survey. *BMC Surgery*, *15*(1), 96.

Richardson, J. J., Björnmalm, M., & Caruso, F. (2015). Multilayer assembly. Technology-driven layer-by-layer assembly of nanofilms. *Science (New York, N.Y.)*, *348*(6233), aaa2491.

Robinson, D. A., Griffith, R. W., Shechtman, D., Evans, R. B., & Conzemius, M. G. (2010). *In vitro* antibacterial properties of magnesium metal against Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. *Acta Biomaterialia*, *6*(5), 1869–1877.

Salgado, A. J., Coutinho, O. P., & Reis, R. L. (2004). Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromolecular Bioscience*, *4*(8), 743–765.

Schweigel, M. M. (2000). Magnesium transport in the gastrointestinal tract. *Frontiers in bioscience*, *5*(1), d666. https://doi.org/10.2741/schweigel

Shi, P., Niu, B., E, S., Chen, Y., & Li, Q. (2015). Preparation and characterization of PLA coating and PLA/MAO composite coatings on AZ31 magnesium alloy for improvement of corrosion resistance. *Surface & Coatings Technology*, *262*, 26–32.

Sikavitsas, V. I., Temenoff, J. S., & Mikos, A. G. (2001). Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*, *22*(19), 2581–2593.

Sionkowska, A., Lewandowska, K., Michalska, M., & Walczak, M. (2016). Characterization of silk fibroin 3D composites modified by collagen. *Journal of Molecular Liquids*, *215*, 323–327.

Sommerfeldt, D. W., & Rubin, C. T. (2001). Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. *European Spine Journal: Official Publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*, *10 Suppl 2*(0), S86-95.

Song, G., & Song, S. (2007). A possible biodegradable magnesium implant material. *Advanced Engineering Materials*, *9*(4), 298–302. https://doi.org/10.1002/adem.200600252

Song, G-L. (2011). Corrosion electrochemistry of magnesium (Mg) and its alloys. En Guang-Ling Song (Ed.), *Corrosion of Magnesium Alloys* (pp. 3–65). Elsevier.

Song, Guang-Ling, & Unocic, K. A. (s/f). *Corrosion Science98(2015)758-765 the anodic surface film and hydrogen evolution on Mg*. Osti.gov. Recuperado el 28 de febrero de 2022, de https://www.osti.gov/pages/servlets/purl/1201283

Song, Y. W., Shan, D. Y., & Han, E. H. (2008). Electrodeposition of hydroxyapatite coating on AZ91D magnesium alloy for biomaterial application. *Materials Letters*, *62*(17–18), 3276–3279.

Sorushanova, A., Coentro, J. Q., Pandit, A., Zeugolis, D. I., & Raghunath, M. (2017). 2.15 collagen: Materials analysis and implant uses ☆. En *Comprehensive Biomaterials II* (pp. 332–350). Elsevier.

Staiger, M. P., Pietak, A. M., Huadmai, J., & Dias, G. (2006). Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: a review. *Biomaterials*, *27*(9), 1728–1734.

Stewart, C., Akhavan, B., Wise, S. G., & Bilek, M. M. M. (2019). A review of biomimetic surface functionalization for bone-integrating orthopedic implants: Mechanisms, current approaches, and future directions. *Progress in Materials Science*, *106*(100588), 100588.

Subramani, K., Mathew, R. T., & Pachauri, P. (2018). Titanium surface modification techniques for dental implants—From microscale to nanoscale. En *Emerging Nanotechnologies in Dentistry* (pp. 99–124). Elsevier.

Vakili, H., Ramezanzadeh, B., & Amini, R. (2015). The corrosion performance and adhesion properties of the epoxy coating applied on the steel substrates treated by cerium-based

conversion coatings. Corrosion Science, 94, 466–475. https://doi.org/10.1016/j.corsci.2015.02.028

T S N, Park, I. S., & Lee, M. H. (Eds.). (2015). *Surface modification of magnesium and its alloys for biomedical applications: Modification and coating techniques*. Woodhead Publishing.

Tang, J., Wang, J., Xie, X., Zhang, P., Lai, Y., Li, Y., & Qin, L. (2013). Surface coating reduces degradation rate of magnesium alloy developed for orthopaedic applications. *Journal of Orthopaedic Translation*, *1*(1), 41–48. https://doi.org/10.1016/j.jot.2013.06.003

Thomann, M., Krause, C., Angrisani, N., Bormann, D., Hassel, T., Windhagen, H., & Meyer-Lindenberg, A. (2010). Influence of a magnesium-fluoride coating of magnesium-based implants (MgCa0.8) on degradation in a rabbit model. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, *93*(4), 1609–1619. https://doi.org/10.1002/jbm.a.32639

Thormann, U., Alt, V., Heimann, L., Gasquere, C., Heiss, C., Szalay, G., Franke, J., Schnettler, R., & Lips, K. S. (2015). The biocompatibility of degradable magnesium interference screws: an experimental study with sheep. *BioMed Research International*, *2015*, 943603.

Tian, P., Xu, D., & Liu, X. (2016). Mussel-inspired functionalization of PEO/PCL composite coating on a biodegradable AZ31 magnesium alloy. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, *141*, 327–337.

Turnbull, G., Clarke, J., Picard, F., Riches, P., Jia, L., Han, F., Li, B., & Shu, W. (2018). 3D bioactive composite *scaffolds* for bone tissue engineering. *Bioactive Materials*, *3*(3), 278–314.

Wagermaier, W., & Fratzl, P. (2016). Collagen. En *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier.

Waizy, H., Diekmann, J., Weizbauer, A., Reifenrath, J., Bartsch, I., Neubert, V., Schavan, R., & Windhagen, H. (2014). *In vivo* study of a biodegradable orthopedic screw (MgYREZr-alloy) in a rabbit model for up to 12 months. *Journal of Biomaterials Applications*, *28*(5), 667–675.

Wang, Changgang, Wu, L., Xue, F., Ma, R., Etim, I.-I. N., Hao, X., Dong, J., & Ke, W. (2018). Electrochemical noise analysis on the pit corrosion susceptibility of biodegradable AZ31 magnesium alloy in four types of simulated body solutions. *Journal of Materials Science & Technology*, *34*(10), 1876–1884. https://doi.org/10.1016/j.jmst.2018.01.015

Wang, Chenxi, Fang, H., Qi, X., Hang, C., Sun, Y., Peng, Z., Wei, W., & Wang, Y. (2019). Silk fibroin film-coated MgZnCa alloy with enhanced *in vitro* and *in vivo* performance prepared using surface activation. *Acta Biomaterialia*, *91*, 99–111.

Wang, J., Tang, J., Zhang, P., Li, Y., Wang, J., Lai, Y., & Qin, L. (2012). Surface modification of magnesium alloys developed for bioabsorbable orthopedic implants: a general review. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, *100*(6), 1691–1701.

Wang, X., Xu, S., Zhou, S., Xu, W., Leary, M., Choong, P., Qian, M., Brandt, M., & Xie, Y. M. (2016). Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone *scaffolds* and orthopaedic implants: A review. *Biomaterials*, *83*, 127–141.

Wang, Y., Guo, L., Dong, S., Cui, J., & Hao, J. (2019). Microgels in biomaterials and nanomedicines. *Advances in Colloid and Interface Science*, *266*, 1–20.

Witte, F., Fischer, J., Nellesen, J., Vogt, C., Vogt, J., Donath, T., & Beckmann, F. (2010). *In vivo* corrosion and corrosion protection of magnesium alloy LAE442. *Acta Biomaterialia*, *6*(5), 1792–1799. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.10.012

Witte, F., Kaese, V., Haferkamp, H., Switzer, E., Meyer-Lindenberg, A., Wirth, C. J., & Windhagen, H. (2005). *In vivo* corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials*, *26*(17), 3557–3563.

Witte, Frank. (2010). The history of biodegradable magnesium implants: a review. *Acta Biomaterialia*, *6*(5), 1680–1692.

Witte, Frank, Fischer, J., Nellesen, J., Crostack, H.-A., Kaese, V., Pisch, A., Beckmann, F., & Windhagen, H. (2006). *In vitro* and *in vivo* corrosion measurements of magnesium alloys. *Biomaterials*, *27*(7), 1013–1018.

Witte, Frank, Hort, N., Vogt, C., Cohen, S., Kainer, K. U., Willumeit, R., & Feyerabend, F. (2008). Degradable biomaterials based on magnesium corrosion. *Current Opinion in Solid State & Materials Science*, *12*(5–6), 63–72. https://doi.org/10.1016/j.cossms.2009.04.001

Wong, H. M., Yeung, K. W. K., Lam, K. O., Tam, V., Chu, P. K., Luk, K. D. K., & Cheung, K. M. C. (2010). A biodegradable polymer-based coating to control the performance of magnesium alloy orthopaedic implants. Biomaterials, 31(8), 2084–2096. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.111

Xin, Y., Hu, T., & Chu, P. K. (2011). *In vitro* studies of biomedical magnesium alloys in a simulated physiological environment: a review. *Acta Biomaterialia*, *7*(4), 1452–1459. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.12.004

Xiong, P., Jia, Z., Li, M., Zhou, W., Yan, J., Wu, Y., Cheng, Y., & Zheng, Y. (2018). Biomimetic Ca, Sr/P-doped silk fibroin films on Mg-1Ca alloy with dramatic corrosion resistance and osteogenic activities. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, *4*(9), 3163–3176.

Xiong, P., Yan, J., Wang, P., Jia, Z., Zhou, W., Yuan, W., Li, Y., Liu, Y., Cheng, Y., Chen, D., & Zheng, Y. (2019). A pH-sensitive self-healing coating for biodegradable magnesium implants. *Acta Biomaterialia*, *98*, 160–173. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.04.045

Xiong, R., Grant, A. M., Ma, R., Zhang, S., & Tsukruk, V. V. (2018). Naturally-derived biopolymer nanocomposites: Interfacial design, properties and emerging applications. *Materials Science & Engineering. R, Reports: A Review Journal*, *125*, 1–41.

Yan, T., Tan, L., Xiong, D., Liu, X., Zhang, B., & Yang, K. (2010). Fluoride treatment and *in vitro* corrosion behavior of an AZ31B magnesium alloy. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, *30*(5), 740–748. https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.03.007

Yang, Y., He, C., Dianyu E, Yang, W., Qi, F., Xie, D., Shen, L., Peng, S., & Shuai, C. (2020). Mg bone implant: Features, developments and perspectives. *Materials & Design*, *185*(108259), 108259.

Yazdimamaghani, M., Razavi, M., Vashaee, D., Moharamzadeh, K., Boccaccini, A. R., & Tayebi, L. (2017). Porous magnesium-based *scaffolds* for tissue engineering. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, *71*, 1253–1266. https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.11.027

Zaroog, O. S., Satgunam, M. A., & Wei, L. C. (2019). Biomaterials for bone tissue engineering: Properties and applications. En *Encyclopedia of Materials: Composites* (pp. 335–347). Elsevier.

Zeng, R.-C., Hu, Y., Zhang, F., Huang, Y.-D., Wang, Z.-L., Li, S.-Q., & Han, E.-H. (2016). Corrosion resistance of cerium-doped zinc calcium phosphate chemical conversion

coatings on AZ31 magnesium alloy. *Transactions of the Nonferrous Metals Society of China*, *26*(2), 472–483.

Zhang, D., Wu, X., Chen, J., & Lin, K. (2018). The development of collagen based composite *scaffolds* for bone regeneration. *Bioactive materials*, *3*(1), 129–138. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.08.004

Zhang, W., Chen, Y., Chen, M., Zhao, S., Mao, J., Qu, A., Li, W., Zhao, Y., Huang, N., & Wan, G. (2016). Strengthened corrosion control of poly (lactic acid) (PLA) and poly (ε-caprolactone) (PCL) polymer-coated magnesium by imbedded hydrophobic stearic acid (SA) thin layer. *Corrosion science*, *112*, 327–337.

Zhao, D., Huang, S., Lu, F., Wang, B., Yang, L., Qin, L., Yang, K., Li, Y., Li, W., Wang, W., Tian, S., Zhang, X., Gao, W., Wang, Z., Zhang, Y., Xie, X., Wang, J., & Li, J. (2016). Vascularized bone grafting fixed by biodegradable magnesium screw for treating osteonecrosis of the femoral head. *Biomaterials*, *81*, 84–92.

Zhao, D., Witte, F., Lu, F., Wang, J., Li, J., & Qin, L. (2017). Current status on clinical applications of magnesium-based orthopaedic implants: A review from clinical translational perspective. *Biomaterials*, *112*, 287–302.

Zhao, N., & Zhu, D. (2014). Collagen self-assembly on orthopedic magnesium biomaterials surface and subsequent bone cell attachment. *PloS One*, *9*(10), e110420.

Zheng, Y., Wu, J., Ng, J. C., Wang, G., & Lian, W. (2002). The absorption and excretion of fluoride and arsenic in humans. *Toxicology Letters*, *133*(1), 77–82. https://doi.org/10.1016/s0378-4274(02)00082-6

17. APENDICES

A. Determinación de la solución madre de colágeno

Tabla 26

Datos para la determinación de la concentración madre de colágeno

Masa de colágeno por vial (mg)	100
Concentración de ácido acético (mM)	20
Volumen de solución en vial (mL)	22
Masa moléculas de ácido acético (g/mol)	60.052

Los datos de la **Tabla 26** fueron obtenidos del certificado de análisis de la solución de colágeno tipo I la cual se puede ver en el **ANEXO H.**

Para el revestimiento de los distintos *scaffold* de magnesio se utilizaron distintas concentraciones (0% (w/w), 16% (w/w) y 64% (w/w)) las cuales representan porcentajes en peso de colágeno disuelto en 20mM de ácido acético. El procedimiento para la determinación de la concentración inicial o madre de colágeno se realizaron de la siguiente manera:

$$Masa\ de\ \text{ácido}\ acético\ (mg) = \frac{20\ mmol\ de\ \text{ácido}\ acético}{L\ de\ solución} x \frac{60.052 mg\ de\ \text{ácido}\ acético}{1 mmol\ de\ \text{ácido}\ acético} x\ 0.022\ L\ de\ solución$$

$$Masa\ de\ \text{ácido}\ acético\ (mg) = 26.423$$

$$\%\left(\frac{w}{w}\right) de\ colágeno\ (solución\ madre) = \left(\frac{masa\ de\ colágeno}{masa\ de\ colágeno + masa\ de\ ácido\ acético}\right) x100\%$$

$$\%\left(\frac{w}{w}\right) de\ colágeno\ (solución\ madre) = \left(\frac{100}{100 + 26.423}\right) x100\% \approx 80\%$$

B. Determinación del la porosidad de *scaffold*

La porosidad de las espumas de Mg se calculó a partir de su peso y medidas dimensionales de las espumas cilíndricas. Las ecuaciones utilizadas son las siguientes:

% Porosidad = (1 - densidad relativa de la espuma) x 100%

$$\text{Densidad de la espuma} = \frac{\text{Masa de espuma}}{\text{volumen de espuma}}$$

$$\text{Densidad relativa de la espuma} = \frac{\text{Densidad de espuma}}{\text{Densidad de magnesio}} x100\%$$

Mediante la cual la porosidad obtenida en la espuma de magnesio fue del 75% y la densidad relativa del 25%.

C. Determinación del área superficial de cada muestra

Haciendo uso de la ecuación (11) se calculó del área superficial de cada una de las muestras y los resultados se visualizan en la **Tabla 14**.

Área superficial especifica (cm^2/mg) = 0.04354

Masa de muestra M_1OHC_0 (mg) =155.8

Área superficial M_1OHC_0 **(cm^2) =0.04354 cm^2/mg x155.8mg**

Área superficial M_1OHC_0 (cm^2) =6.784

Este cálculo se repitió para las 12 muestras y se tabularon en la **Tabla 14**.

D. Registro de datos de pH en función de la temperatura para las muestras estudiadas

Tabla 27

Medida de pH y temperatura en muestras con activación alcalino y sin revestimiento de colágeno.

Tiempo (h)	Medida de pH y temperatura (°C)			
	M_1OHC_0		M_2OHC_0	
	T(°C)	pH	T(°C)	pH
1	36.50	7.30	38.40	7.28
2	37.10	7.31	36.40	7.40
3	36.40	7.32	38.30	7.38
4	37.60	7.34	37.10	7.43
5	36.80	7.36	36.50	7.50
6	36.50	7.40	37.40	7.51
7	36.50	7.42	37.80	7.54
8	35.90	7.32	36.80	7.41
9	37.80	7.32	37.00	7.34
10	37.80	7.35	37.10	7.39
11	37.60	7.39	36.10	7.47
12	37.80	7.42	38.50	7.52
13	37.70	7.45	36.40	7.60
14	36.80	7.50	36.40	7.64
15	37.40	7.42	36.40	7.65
16	36.30	7.59	37.20	7.61
17	35.50	7.77	37.10	7.64
18	36.60	7.59	37.00	7.64
19	38.80	7.57	37.50	7.67
20	37.90	7.65	37.60	7.60
21	38.60	7.67	37.30	7.60
22	37.20	7.62	37.90	7.65
23	37.00	7.65	36.70	7.53

24	36.70	7.71	36.00	7.56

Figura 53

Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación alcalino y sin revestimiento de colágeno.

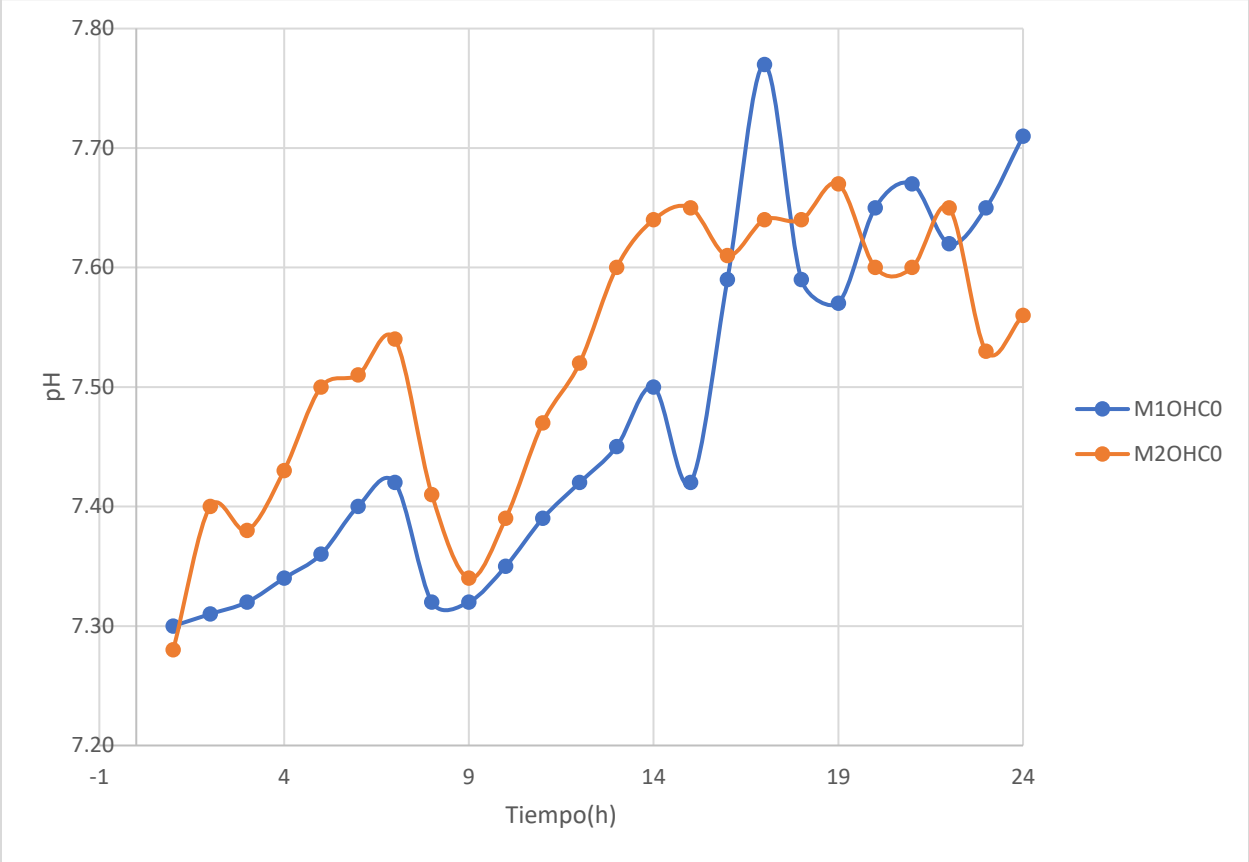


Tabla 28

Medida de pH y temperatura en muestras con activación alcalino revestidas con colágeno al 16% (w/w).

Tiempo (h)	Medida de pH y temperatura (°C)			
	M_1OHC_1		M_2OHC_1	
	T(°C)	pH	T(°C)	pH
1	37.50	7.30	36.80	7.43
2	37.50	7.32	36.90	7.46
3	36.40	7.38	37.40	7.46
4	37.00	7.37	37.20	7.49
5	36.70	7.39	36.80	7.51
6	37.20	7.39	37.00	7.53
7	37.80	7.55	37.10	7.55
8	37.10	7.60	36.60	7.57
9	37.10	7.62	36.20	7.61
10	36.60	7.64	37.10	7.61
11	36.80	7.63	36.80	7.61
12	36.60	7.67	36.10	7.64
13	37.00	7.66	36.20	7.55
14	37.50	7.66	37.40	7.56
15	37.30	7.64	36.70	7.57
16	37.00	7.68	37.10	7.67
17	37.30	7.71	35.10	7.55
18	36.60	7.64	37.10	7.55
19	35.50	7.67	37.20	7.55
20	37.20	7.63	37.00	7.57
21	37.00	7.66	35.30	7.63
22	36.10	7.69	37.10	7.59
23	36.40	7.69	35.60	7.64
24	36.00	7.70	36.80	7.65

Figura 54

Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación alcalino revestidas con colágeno al 16% (w/w).

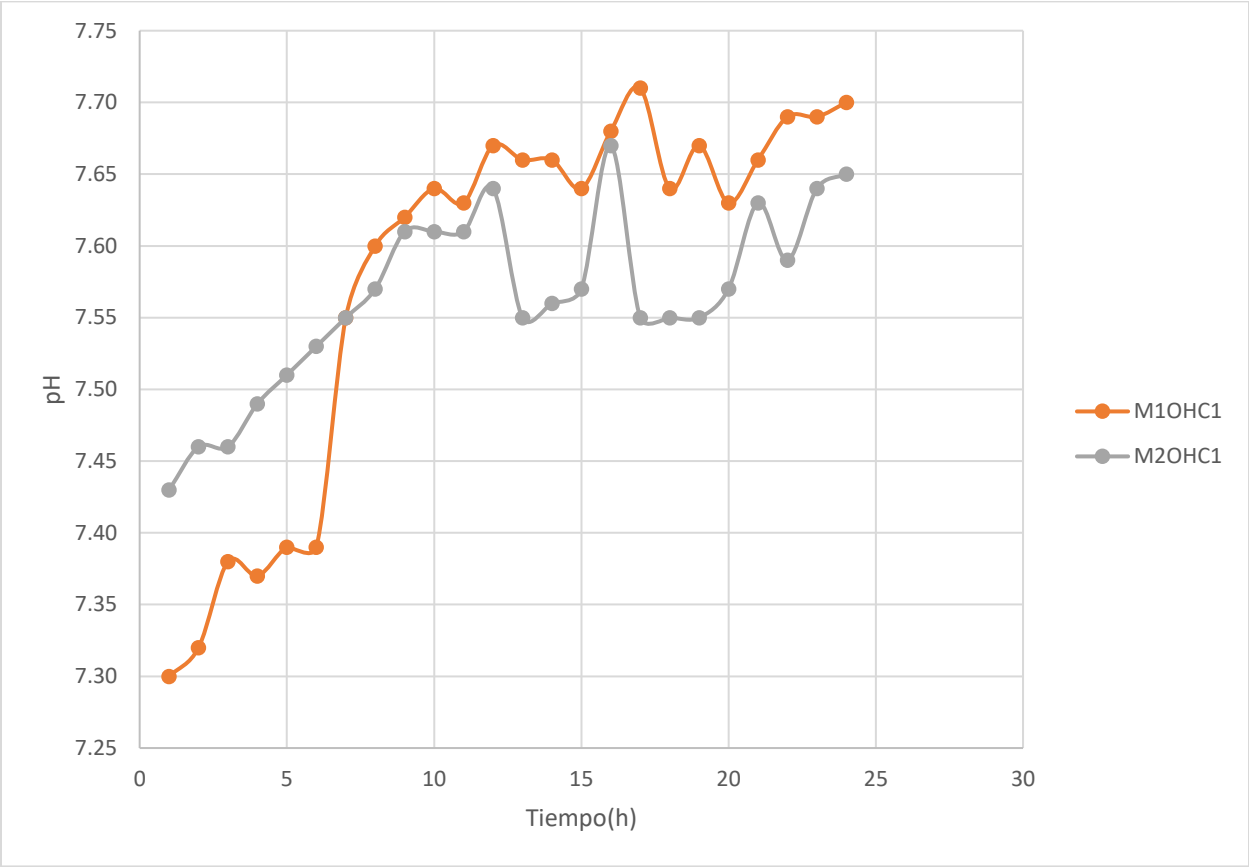


Tabla 29

Medida de pH y temperatura en muestras con activación alcalino revestidas con colágeno al 64% (w/w).

Tiempo (h)	Medida de pH y temperatura (°C)			
	M_1OHC_2		M_2OHC_2	
	T(°C)	pH	T(°C)	pH
1	36.80	7.28	36.70	7.28
2	37.10	7.29	37.20	7.28
3	37.70	7.30	36.70	7.31
4	37.50	7.30	36.70	7.32
5	37.40	7.30	37.00	7.33
6	37.30	7.33	37.00	7.34
7	35.10	7.41	36.10	7.37
8	36.90	7.38	37.00	7.35
9	37.20	7.41	36.90	7.43
10	35.00	7.46	36.60	7.44
11	35.90	7.44	36.00	7.47
12	39.20	7.38	36.90	7.50
13	37.60	7.44	36.90	7.50
14	37.10	7.45	34.80	7.50
15	38.30	7.43	36.10	7.50
16	37.40	7.47	37.70	7.50
17	37.90	7.40	36.90	7.63
18	36.20	7.46	37.50	7.70
19	38.00	7.42	35.60	7.65
20	37.10	7.45	38.00	7.69
21	37.10	7.45	36.90	7.71
22	37.30	7.45	36.80	7.72
23	37.90	7.45	36.70	7.71
24	37.80	7.45	37.40	7.74

Figura 55

Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación alcalino revestidas con colágeno al 64% (w/w).

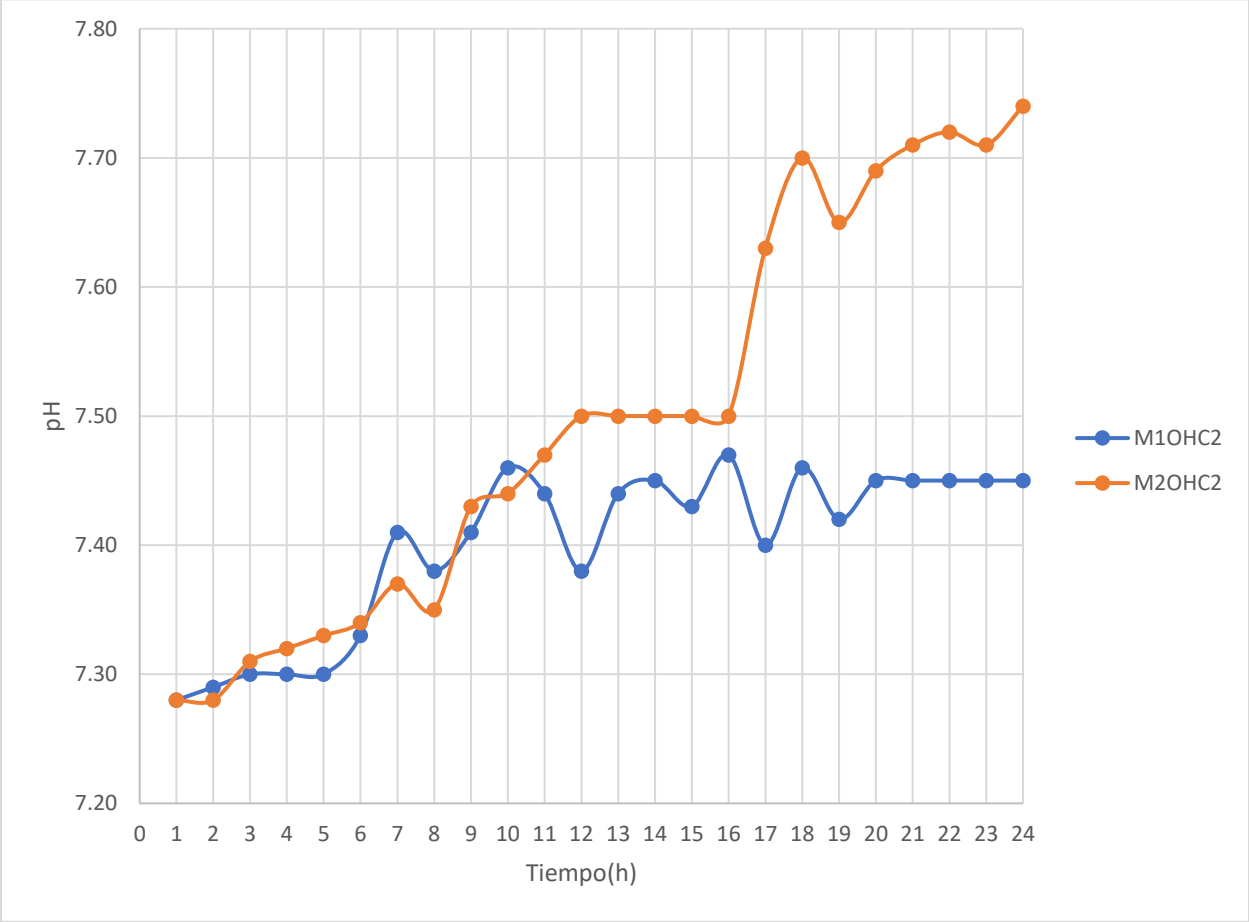


Tabla 30

Medias de pH en muestras con activación alcalino y activación fluorhídrica sin revestimiento de colágeno.

Tiempo (h)	Medida de pH y temperatura (°C)			
	M_1HFC_0		M_2HFC_0	
	T(°C)	pH	T(°C)	pH
1	36.50	7.40	37.40	7.41
2	37.20	7.38	37.00	7.50
3	36.50	7.40	36.60	7.53
4	36.80	7.39	36.50	7.55
5	36.50	7.34	35.90	7.59
6	36.30	7.36	36.30	7.59
7	37.10	7.35	36.90	7.61
8	36.10	7.40	36.80	7.63
9	36.80	7.39	36.30	7.51
10	36.50	7.40	36.90	7.52
11	36.50	7.41	37.00	7.53
12	36.60	7.42	37.50	7.49
13	37.40	7.41	35.60	7.57
14	36.20	7.45	35.70	7.58
15	36.00	7.45	37.60	7.54
16	36.10	7.48	36.90	7.56
17	36.00	7.49	36.90	7.59
18	37.30	7.40	36.40	7.61
19	37.30	7.42	36.40	7.61
20	36.60	7.44	37.00	7.61
21	37.30	7.43	37.00	7.61
22	36.40	7.47	37.90	7.59
23	36.10	7.49	36.90	7.61
24	36.50	7.47	36.80	7.62

Figura 56

Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación superficial fluorhídrica sin revestimiento de colágeno.

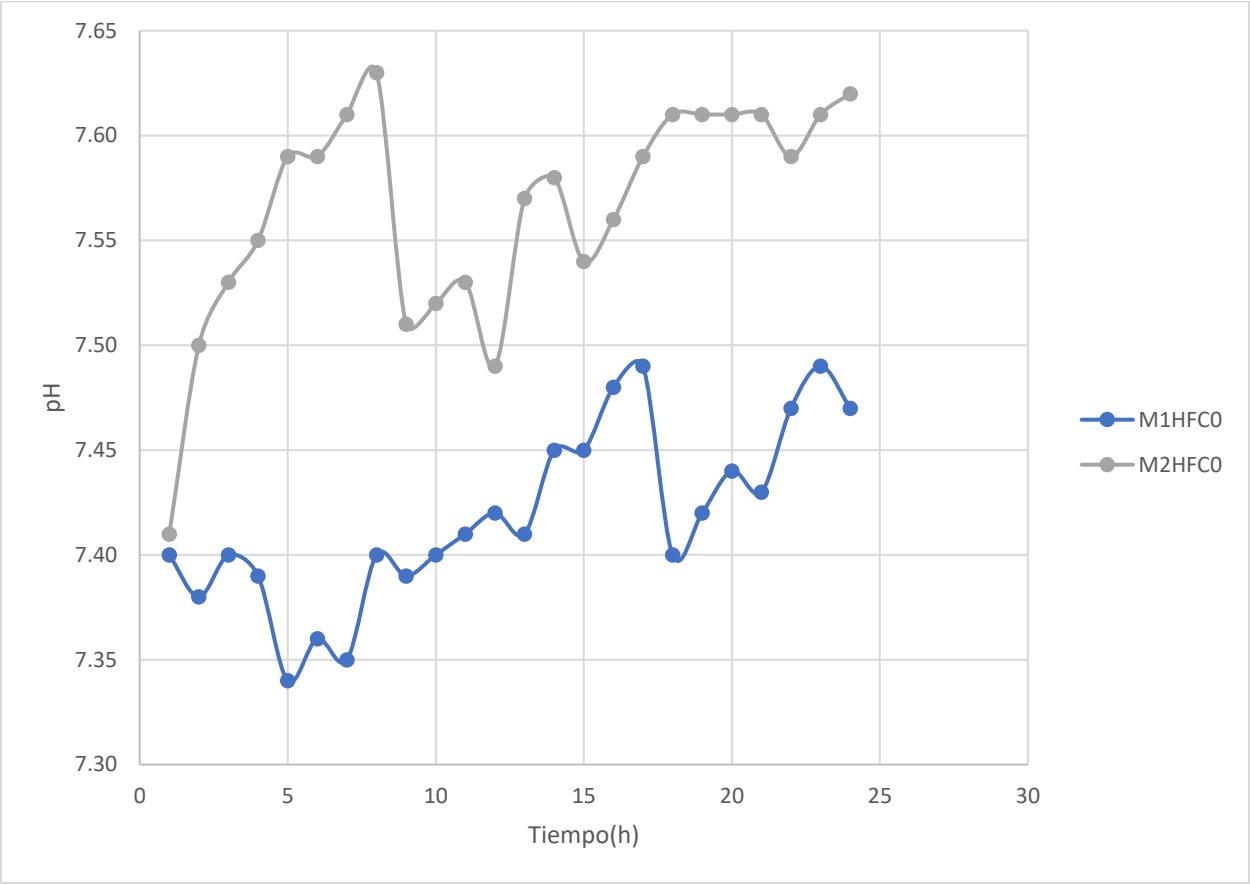


Tabla 31

Medias de pH en muestras con activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 16% (w/w).

Tiempo (h)	Medida de pH y temperatura (°C)			
	M_1HFC_1		M_2HFC_1	
	T(°C)	pH	T(°C)	pH
1	37.30	7.18	36.20	7.46
2	37.00	7.21	36.00	7.45
3	36.60	7.24	37.30	7.36
4	37.20	7.25	36.40	7.39
5	37.10	7.26	37.20	7.41
6	37.50	7.28	36.90	7.41
7	37.40	7.33	36.80	7.43
8	36.60	7.34	36.80	7.45
9	38.00	7.52	36.50	7.46
10	37.30	7.55	37.10	7.46
11	37.80	7.54	36.30	7.52
12	37.40	7.55	37.50	7.48
13	37.80	7.55	37.40	7.50
14	37.30	7.59	36.80	7.52
15	37.90	7.57	36.60	7.54
16	37.30	7.60	36.50	7.62
17	37.40	7.59	37.20	7.46
18	37.50	7.61	37.30	7.48
19	37.10	7.62	37.10	7.53
20	36.80	7.64	38.80	7.47
21	36.90	7.64	37.00	7.54
22	37.40	7.64	36.80	7.57
23	37.30	7.64	36.10	7.59
24	36.90	7.65	36.40	7.59

Figura 57

Gráfica comparativa de valores de pH entre la activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 16% (w/w).

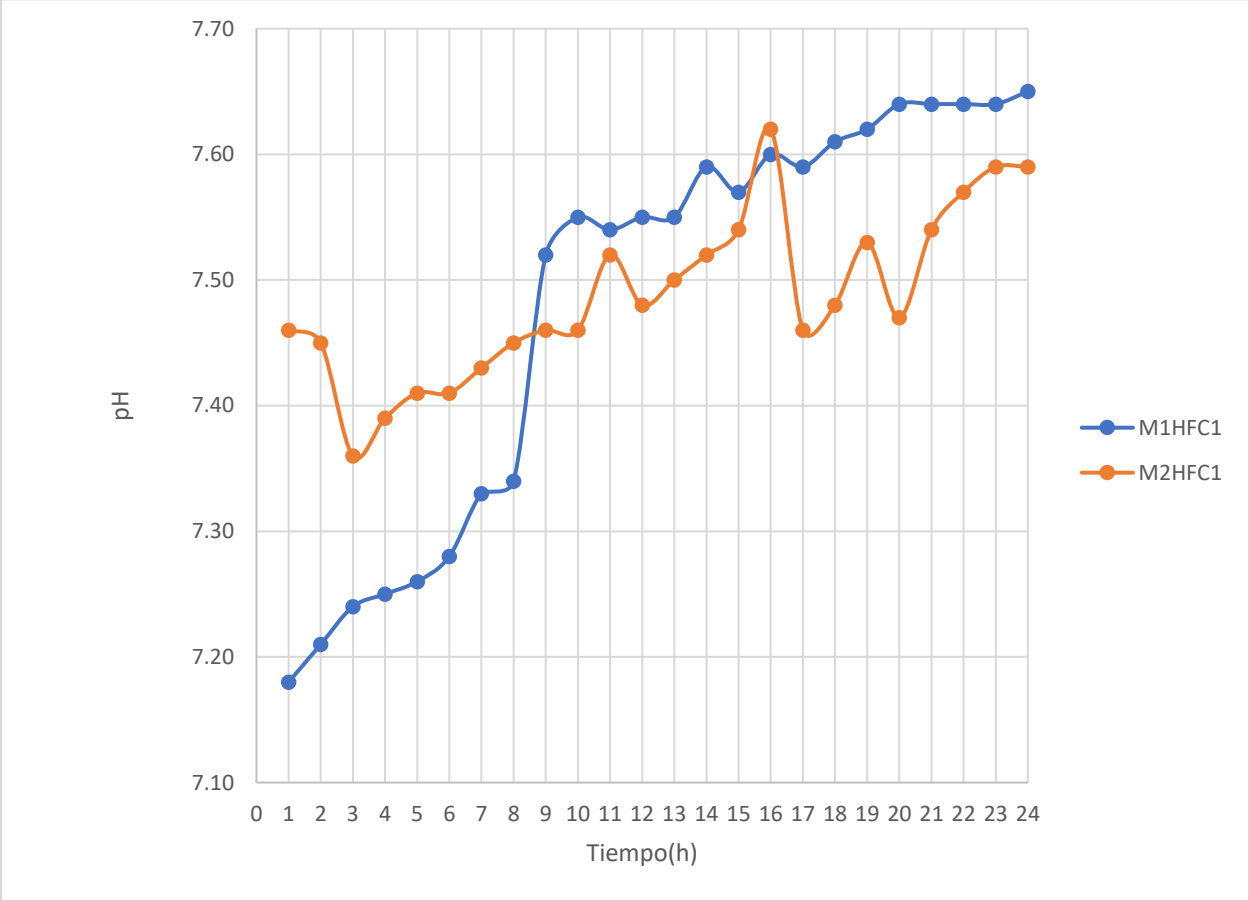


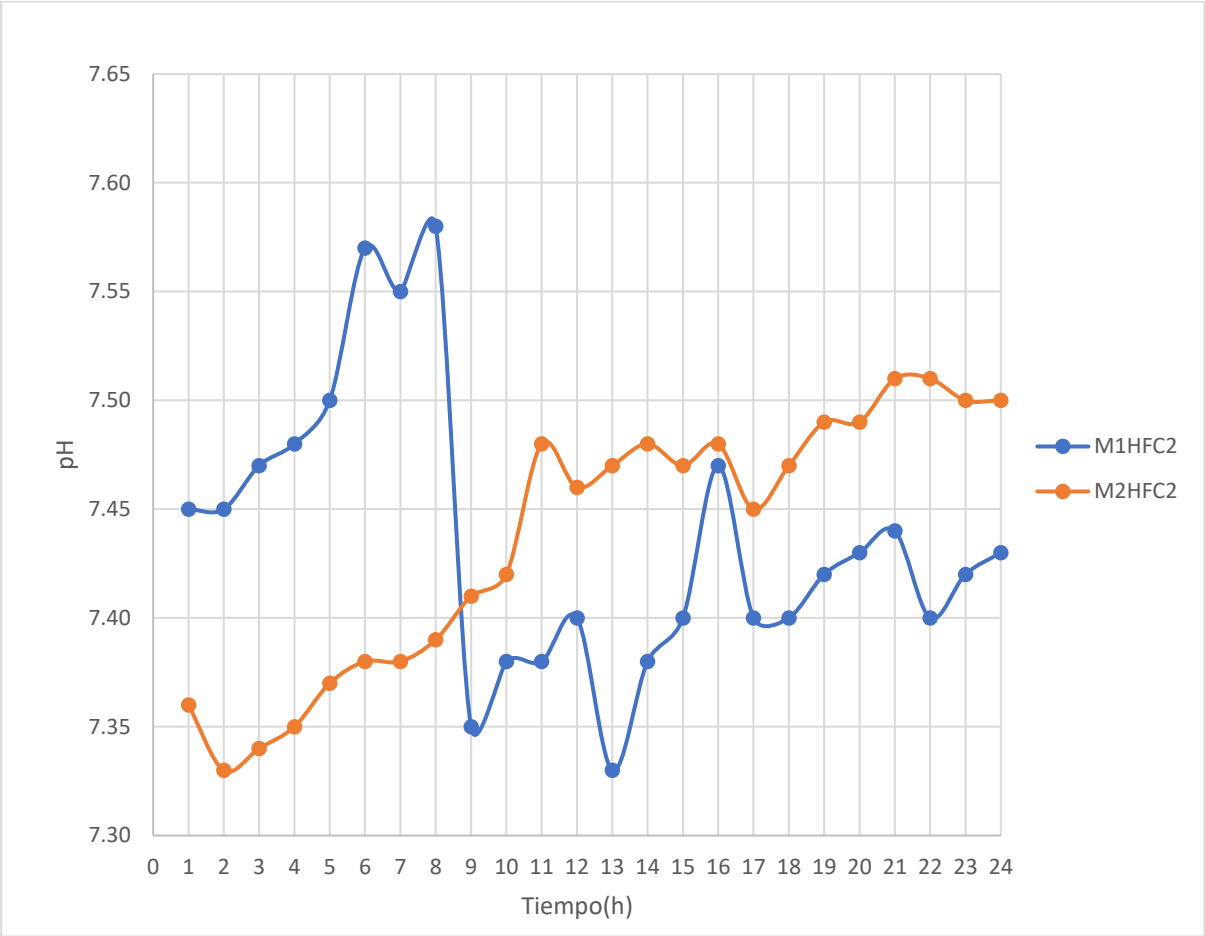
Tabla 32

Medias de pH en muestras con activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 64% (w/w).

Tiempo (h)	Medida de pH y temperatura (°C)			
	M_1HFC_2		M_2HFC_2	
	T(°C)	pH	T(°C)	pH
1	36.40	7.45	36.80	7.36
2	37.30	7.45	37.50	7.33
3	37.50	7.47	37.50	7.34
4	37.10	7.48	37.50	7.35
5	37.40	7.50	37.40	7.37
6	37.60	7.57	37.40	7.38
7	37.30	7.55	37.70	7.38
8	36.80	7.58	37.70	7.39
9	37.70	7.35	37.40	7.41
10	37.70	7.38	37.50	7.42
11	36.20	7.38	35.60	7.48
12	35.30	7.40	36.80	7.46
13	38.30	7.33	36.40	7.47
14	37.20	7.38	36.40	7.48
15	37.50	7.40	36.90	7.47
16	37.50	7.47	36.20	7.48
17	37.00	7.40	37.50	7.45
18	37.30	7.40	37.20	7.47
19	37.10	7.42	36.80	7.49
20	37.30	7.43	37.00	7.49
21	37.80	7.44	36.70	7.51
22	38.40	7.40	36.80	7.51
23	36.50	7.42	37.20	7.50
24	37.10	7.43	37.40	7.50

Figura 58

Gráfica comparativa de valores de pH entre las muestras con activación superficial fluorhídrica revestidas con colágeno al 64% (w/w).



E. Obtención de las concentraciones experimentales de magnesio en la solución SBF y cálculo de las velocidades de corrosión.

D.1. Cálculo de ppm experimental de magnesio en la solución SBF

Para el Mg, la reacción de corrosión está representada por la ecuación *(13)*. Así la evolución de 1 mol de hidrogeno gaseoso corresponde directamente a la disolución de 1 mol de Mg. En teoría, medir el volumen de gas H_2 producido es equivalente a medir la pérdida de masa de Mg (Kirkland et al., 2012).

$$Mg + 2H_2O = Mg^{2+} + 2(OH)^- + H_2 \qquad (13)$$

Se procede al cálculo experimental de la masa de magnesio disuelta en SBF para lo cual se hizo uso de la ley de los gases ideales, que rige el volumen de H_2 evolucionado. La ecuación *(14)* también fue utilizada por otros autores para los mismos propósitos (Kirkland et al., 2012).

$$PV = RTn \qquad (14)$$

En la ecuación *(14)* se dispone de la presión la cual se trabajó a nivel del mar, es decir, 760mmHg. La temperatura fisiológica de trabajo es de 37 ±1 °C. El volumen señalado en la ecuación *(14)* corresponde al hidrógeno evolucionado y acumulado en el interior de la bureta de 24h de inmersión en SBF.

La constante universal de los gases fue obtenida del manual del ingeniero químico y cuyo valor fue 62.4 (mmHg.L/mol.K).

De la ecuación *(13)* y haciendo uso de la ya mencionada equivalencia, se despeja convenientemente la masa de magnesio disuelta de la aleación de magnesio AZ31, quedando la ecuación*(15)* despejada para nuestro propósito de la siguiente forma:

$$m(mg) = \frac{P(mmHg).V(L).M\left(\frac{g}{mol}\right)}{R\left(\frac{mmHg.L}{mol.K}.\right).T(K)}x1000 \qquad (15)$$

En donde:

V(L): Volumen desprendido de hidrógeno

T(K): Temperatura fisiológica simulada

P(mmhg): Presión a nivel del mar

M(g/mol): Peso atómico de magnesio

R($\frac{mmHg.L}{mol.K}$): Constante universal de los gases ideales

Cálculo de masa (mg) para **M_1OHC_0**:

$$m(mg) = \frac{760(mmHg).0.02385(L).24.305\left(\frac{g}{mol}\right)}{62.4\left(\frac{mmHg.L}{mol.K}.\right).310.27(K)}x1000$$

$$m(mg) = 22.75$$

Haciendo uso de los datos de la **Tabla 18** para la temperatura y volumen de hidrógeno evolucionado reemplazándolas en la ecuación *(15)* se obtuvieron las masas (mg) de magnesio disuelta en la solución SBF. Estos mismos cálculos se realizaron para las demás muestras y los resultados se encuentran en la **Tabla 18**.

Con esta masa (mg) y en y el volumen de solución SBF se calcularon las concentraciones experimentales de magnesio (mg/L), las cuales se obtuvieron con la ecuación *(16)*.

$$ppm\ (\frac{mg}{L}) = \frac{Masa\ de\ Mg(mg)}{Volumen\ de\ solucion\ SBF\ (L)} \qquad (16)$$

Cálculo de ppm (mg/L) para **M_1OHC_0**:

$$ppm\ \left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{22.76mg}{0.117\ L} = 194.51$$

Este mismo procedimiento se realizó para las otras muestras y los resultados se encuentran tabulados en la **Tabla 18**.

D.2. Cálculo de la velocidad de corrosión CR (mm/año) experimental

Para el cálculo de la velocidad de corrosión se tomó como referencia a Xiong et al. (2018) quien estudió la velocidad corrosión de Mg y sus aleaciones en un fluido corporal simulado, así mismo seguimos las indicaciones del ASTM G31-72 en donde se detalla el procedimiento y cálculo de los ensayos de corrosión por inmersión de metales.

$$CR\ (\frac{mm}{año}) = \frac{tW}{AT\rho}\text{x}10 \qquad (17)$$

En donde:

t(h): es 365x24h

W(g): Masa de magnesio perdida

A(cm^2): Área superficial expuesta a la corrosión

T(h): Tiempo de inmersión

ρ(g/cm^3): Densidad de la aleación de magnesio AZ31

La aleación AZ31 fue inmersa por un tiempo de 24h, la densidad de esta aleación es 1.77(g/cm^3) y el factor t(h) es 365x24h. Por consiguiente:

$$CR\ (\frac{mm}{año}) = \frac{W(g)}{A(cm^2)x24hx1.77(\frac{g}{cm^3})} x \frac{1mm}{10^{-1}cm} x \frac{365x24h}{1año}$$

Reacomodando y reemplazando valores la ecuación (17) ésta quedaría expresada de la siguiente manera:

$$CR\ (\frac{mm}{año}) = 2.062 \frac{W(g)}{A(cm^2)} \qquad (18)$$

De la ecuación (13) se puede deducir que medir el volumen de gas H_2 producido es equivalente a medir la pérdida de masa de Mg (Kirkland et al., 2012), esto se puede corroborar al comparar los valores de la columna 3 con la columna 4 de la **Tabla 18**, en donde VH_2(ml) ≈ W(mg). En efecto, realizando el reemplazo correspondiente de la expresión VH_2(ml) ≈ W(mg) en la ecuación *(18)* se obtiene:

$$VH = \frac{VH_2(ml)}{A(cm^2)} \qquad (19)$$

$$CR\ \left(\frac{mm}{año}\right) = 2.062 \frac{VH_2(ml)}{A(cm^2)}$$

Resultando la ecuación *(20)* simplificada para el cálculo de la velocidad de corrosión:

$$\mathbf{CR(mm/año)\ = 2.062VH} \qquad (20)$$

Ejemplo de cálculo de la velocidad de corrosión para la muestra M_1OHC_0:

Los valores de volumen de hidrógeno evolucionado $A(cm^2)$ y área superficial expuesta $VH_2(ml)$ fueron tomados de la **Tabla 15** y **16** respectivamente.

$$VH = \frac{VH_2(ml)}{A(cm^2)} = \frac{23.85ml}{6.784cm^2} = 3.516\frac{ml}{cm^2}$$

Reemplazando el valor VH en la ecuación (20):

$$CR\ \left(\frac{mm}{año}\right) = 2.062\ x\ 3.516$$

$$CR\ \left(\frac{mm}{año}\right) = 7.25$$

Este mismo procedimiento se realizó para las otras muestras y los resultados de CR se encuentran en la **Tabla 19**.

F. Análisis de espectroscopia de absorción atómica para la determinación de la concentración de magnesio en la solución SBF.

Tomando como referencia las concentraciones experimentales y volumen de solución de la **Tabla 18** se realizaron las diluciones, esto con la finalidad de que las concentraciones resultantes puedan ser detectadas adecuadamente en el espectrofotómetro de absorción atómica.

Las diluciones se obtuvieron utilizando la siguiente ecuación *(12)*:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

C_1: ppm experimental de magnesio

V_1: Volumen a extraer de la solución inicial de SBF

C_2: Concentración final deseada. (Para esta concentración se debe elegir un punto que se encuentre dentro de la curva de calibración ver **Figura 30**)

V_2: Volumen final de aforo

Ejemplo de cálculo de la V_1 para la muestra M_1OHC_0:

C_1:194.51ppm

V_1: Volumen a extraer de la solución SBF

C_2: 0.2ppm

V_2: 100mL

$$V_1 = \frac{C_2 x V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{0.2ppm x 100mL}{194.51ppm} x \frac{1000\mu L}{1mL}$$

$$V_1 = 102.82\ \mu L$$

Para la extracción de este volumen se realizó con una micropipeta, previamente calibrada. Estos cálculos se repitieron para las demás muestras y se encuentran en la **Tabla 20**.

E.1. Obtención de concentraciones de magnesio ppm mediante el uso del equipo de absorción atómica (Shimadzu AA-7000)

Las concentraciones de magnesio fueron obtenidas luego de ser analizadas en el espectrofotómetro de absorción atómica (Shimadzu AA-7000), las cuales se muestran en la columna 3 de la **Tabla 21** y haciendo uso de la ecuación (12).

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

C_1: concentración deseada (ppm)

V_1: Volumen extraído de SBF en micropipeta

C_2: Concentración obtenida del equipo de absorción atómica

V_2: Volumen final aforado

Con las concentraciones obtenidas se calculó las concentraciones de corroboración. Los valores de V_1 y V_2 se utilizó de la **Tabla 20** y C_2 se encuentra en la **Tabla 21**.

Haciendo uso de la ecuación *(12)* se calculó la concentración C_1 partiendo de la concentración C_2.

Ejemplo de cálculo para la muestra M_1OHC_0:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

C_1: concentración deseada (ppm)

V_1: 103 µL

C_2: 0.2127(ppm); obtenida mediante absorción atómica

V_2: Volumen final aforado (100ml)

$$C_1 = \frac{C_2V_2}{V_1}$$

$$C_1 = \frac{0.2127ppmx100mL}{103\mu L} x \frac{1000\mu L}{1mL}$$

$$C_1 = 206.50\, ppm$$

Estos cálculos se repitieron para las demás muestras siguiendo el mismo procedimiento y se encuentran en la **Tabla 21**.

E.2. Evaluación de las velocidades de corrosión CR a partir de las concentraciones obtenidas en AA.

Ejemplo de cálculo de la para la muestra M_1OHC_0:

Haciendo uso de las concentraciones de magnesio obtenidas a través del equipo de AA y del volumen de la solución SBF que se encuentra en la **Tabla 22** y la **Tabla 18** respectivamente se calculó la masa de magnesio:

ppm(M_1OHC_0) = 206.50 mg/L

V(L) = 0.117

$$m(mg) = ppm\ x\ V(L)$$

Reemplazando los valores:

$$m(mg) = 206.50\ \frac{mg}{L}\ x\ 0.117L$$

$$m(mg) = 24.16$$

Este procedimiento se realizó para todas las muestras .

Del supuesto anteriormente mencionado VH_2(ml) ≈ W(mg), obtenemos todos los volúmenes de hidrogeno para cada muestra analizada.

Haciendo uso de la ecuación *(18)* se calculamos el valor de VH:

$$VH = \frac{VH_2(ml)}{A(cm^2)}$$

El área superficial se encuentra en la **Tabla 14** y el volumen de hidrogeno de la **Tabla 15.**

$$VH = \frac{23.85ml}{6.78cm^2}$$

$$VH = 3.52\ \frac{ml}{cm^2}$$

Finalmente reemplazando el valor de VH en la ecuación *(20)*:

$$\mathbf{CR(mm/año)\ = 2.062VH}$$

$$CR\ \left(\frac{mm}{año}\right) = 2.062x3.52$$

$$CR\ \left(\frac{mm}{año}\right) = 7.73$$

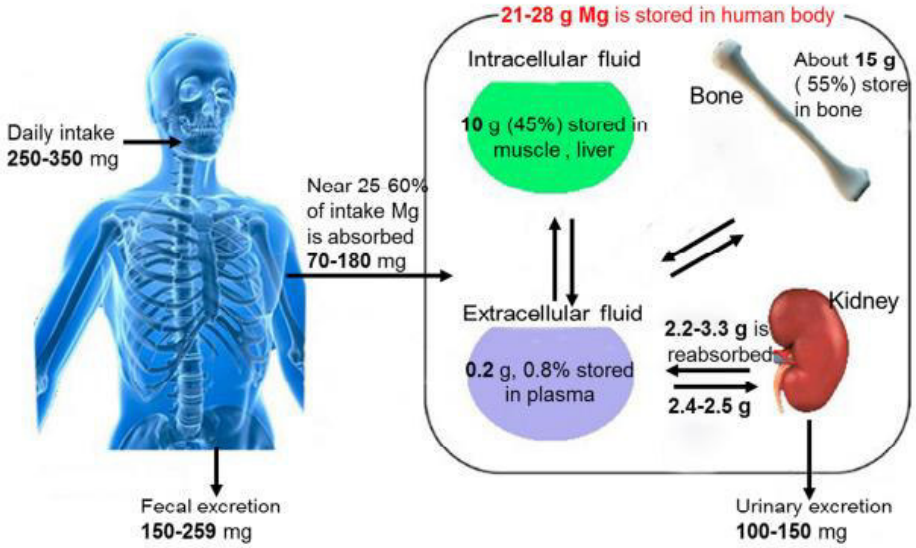
Estos cálculos se repitieron para las demás muestras siguiendo el mismo procedimiento y se encuentran en la **Tabla 23**.

18. ANEXOS

A. El equilibrio dinámico de absorción y excreción de magnesio en el cuerpo humano

Figura 59

Esquema del equilibrio dinámico de absorción y excreción de magnesio en el cuerpo humano.



Nota. Imagen recopilada de la investigación de Yang et al. (2020) en "*Mg bone implant: Features, developments and perspectives*".

B. Principales propiedades mecánicas del hueso y algunos biomateriales.

Tabla 33

Principales propiedades mecánicas de biomateriales.

Biomaterial	Densidad (g/cm^3)	Resistencia a la tracción (MPa)	Resistencia a la compresión (MPa)	Módulo de Young (GPa)	Tenacidad (MPa)
Hueso cortical	1.8 – 2.1	50 – 150	150 – 160	10 – 40	2 – 12
Hueso medular	-	10 – 20	20 – 25	0.2 – 0.5	-
Magnesio y aleaciones	1.79 – 2.0	165 – 220	100 – 165	40 – 45	-
Acero inoxidable	8.0	480 – 1000	170 – 300	190 – 210	20 – 100
Titanio y aleaciones	4.2 – 4.5	900 – 1200	450 – 1850	10 – 120	45 – 65
Cobalto y aleaciones	8.3 – 9.2	400 – 900	480 – 600	10 – 250	120 – 160
Alúmina	-	280 – 600	4500	60	3 – 6
Circonia	-	800 – 1500	2000	2	6 – 10
Hidroxiapatita	3.1	120	350 – 400	0 – 110	1
Vidrio cerámico	-	220	1100	20	2
UHMWPE	-	35 – 80	80	.2 – 4.8	0.7 – 1.6

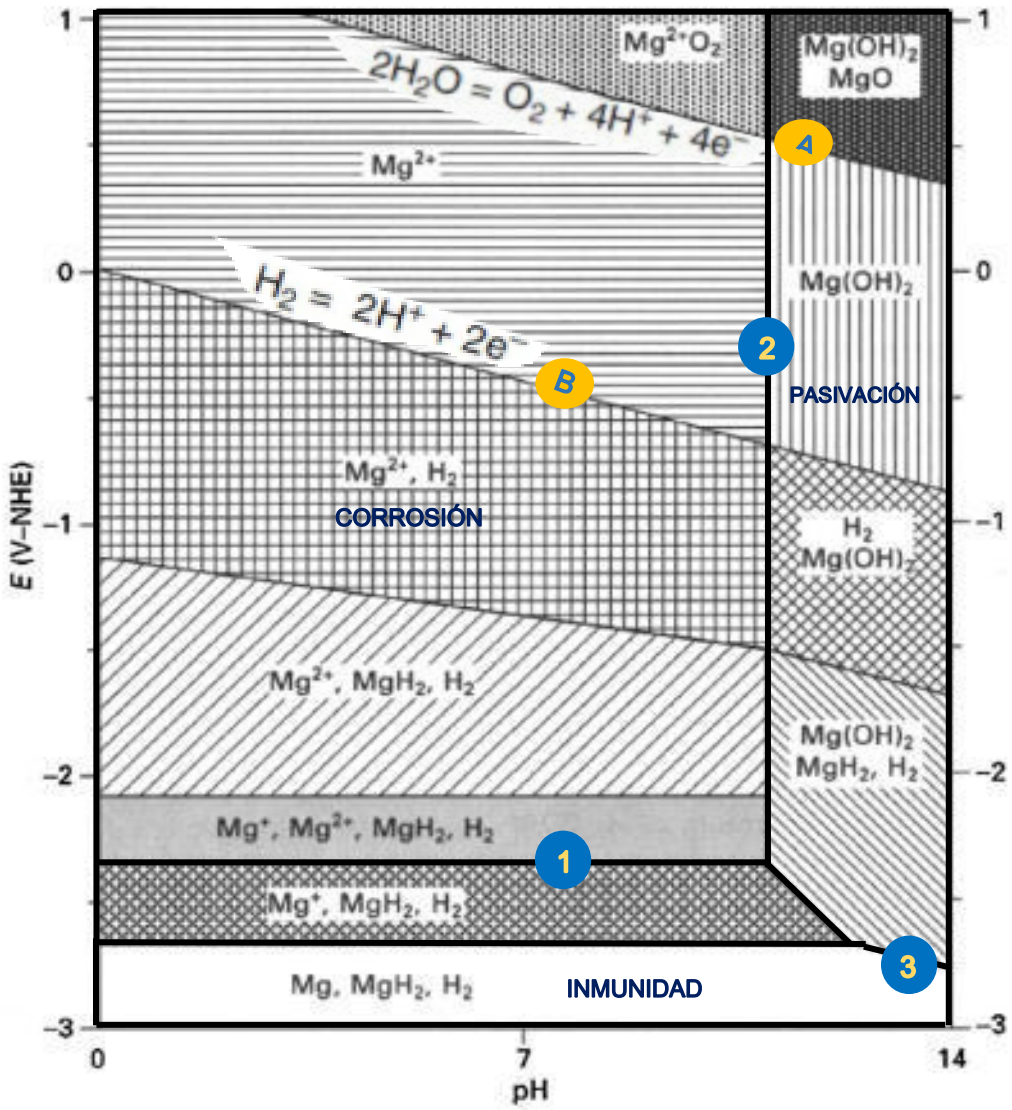
Nota. Recopilado y modificado de los artículos de investigación de García (2015) en "Biomateriales metálicos endoprotésico: biocompatibilidad y biodegradación" y Yang et al. (2020) en "Mg bone implant: Features, developments and perspectives".

C. Diagrama Pourbaix (potencial – pH) del magnesio

Este diagrama presenta los dominios del sistema Mg-H_2O a 25 °C y zonas de estabilidad de especies químicas.

Figura 60

Diagrama de Pourbaix del magnesio según Atrens et al. (2017).



Nota. Imagen modificada de Atrens et al. (2017), Predko et al. (2021) y Ghali et al. (2004).

En el diagrama, la región que está comprendida entre A y B es la región de estabilidad del agua. Existe desprendimiento de hidrógeno por debajo de la línea B, mientras que por encima de la línea A se desprende oxígeno. Luego están diferenciadas las regiones de corrosión (cationes disueltos como el Mg^{2+}), inmunidad (metales sin reaccionar como el Mg) y pasivación (productos de corrosión como $Mg(OH)_2$). Las reacciones que hacen la separación entre las fases del diagrama están representadas por 1, 2 y 3:

$$Mg + 2H_2O = Mg(OH)_2 + H_2 \quad \ldots(1)$$

$$Mg^{2+} + H_2O = MgO + 2H^+ \quad \ldots(2)$$

$$Mg = Mg^{2+} + 2e^- \quad \ldots(3)$$

Las películas estables que se forman son dependientes de los valores de pH y potencial. Por ejemplo, en el caso de hidróxido de magnesio, éste puede formar una película superficial que proporciona protección considerable frente a la corrosión. El magnesio y sus aleaciones, en ambientes neutros y alcalinos forman en su superficie una película que provee una considerable protección a la corrosión y mientras éste último procede, la superficie del metal experimenta un incremento local del pH por la formación de $Mg(OH)_2$. La protección que ofrece esta película está altamente condicionada a las condiciones de exposición (Hu et al., 2014).

D. Protocolo para la preparación de la solución líquido corporal simulado (SBF)

El protocolo sigue los siguientes pasos:

1. Se lavan todas las botellas y utensilios a utilizarse con solución de HCl 1N, detergente neutro y agua destilada e intercambiada con iones, luego secarlos.
2. Se ponen 500 ml de agua destilada e intercambiada con iones en una botella de polietileno de un litro y se cubre la botella con una luna de reloj.
3. Se revuelve el agua en la botella con un agitador magnético y se disuelven los reactivos uno por uno en el orden que se indica en la **Tabla 34**, la adición de cada reactivo es luego de observar que el anterior se haya disuelto completamente.
4. Se ajusta la temperatura de la solución en la botella a 36.5 °C con un baño de agua y se ajusta el pH de la solución a pH 7.40 agitando la solución y valorando la solución de HCl 1N (cuando se retira el electrodo de pH de la solución, se agrega el agua utilizada para lavar el electrodo a la solución).
5. Transferir la solución de la botella de polietileno a un matraz volumétrico de vidrio. Agregar el agua utilizada para lavar la botella de polietileno a la solución en el matraz.
6. Ajustar el volumen total de la solución a un litro agregando agua destilada y de intercambio iónico, y agitando el matraz a 20 °C.
7. Transferir la solución del matraz a una botella de polietileno o poliestireno, y almacenar la botella en un refrigerador a 5 – 10 °C (si se precipita alguna sustancia en la solución durante el almacenamiento, no usar esta solución como SBF y su contenedor nuevamente).

Tabla 34

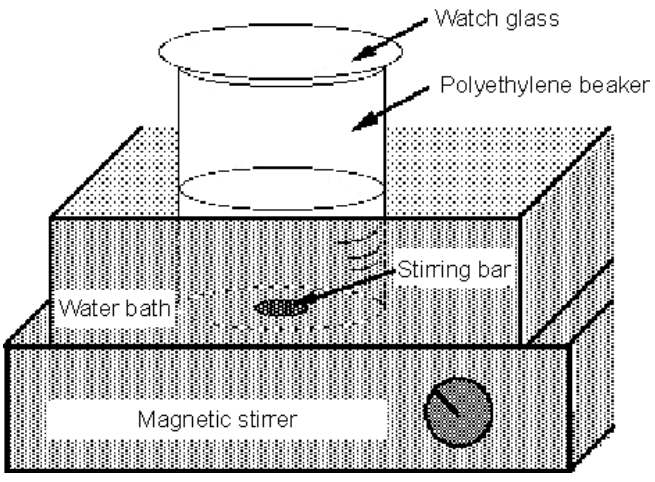
Reactivos para la preparación de SBF (pH 7.40, 1L).

Orden	Reactivo	Cantidad
1	NaCl	7.996 g
2	$NaHCO_3$	0.350 g
3	KCl	0.224 g
4	$K_2HPO_4.3H_2O$	0.228 g
5	$MgCl_2.6H_2O$	0.305 g
6	HCl (1M)	40 mL
Aproximadamente el 90% de la cantidad total de HCl que se añadirá		
7	$CaCl_2$	0.278 g
8	Na_2SO_4	0.071 g
9	$(CH_2OH)_3CNH_2$	6.057 g

Nota. Las concentraciones indicadas fueron recopiladas de la página web de la Escuela de Graduados de Ingeniería, Universidad de Kyoto. (s.f.). *Protocolo para preparar líquido corporal simulado (SBF)*. http://www.life.kyutech.ac.jp/~tmiya/SBF-e.html.

Figura 61

Representación gráfica de la preparación de la solución de SBF.



Nota. Imagen recopilada de la página web de la Escuela de Graduados de Ingeniería, Universidad de Kyoto. (s.f.). *Protocolo para preparar líquido corporal simulado (SBF)*. http://www.life.kyutech.ac.jp/~tmiya/SBF-e.html.

E. Ventajas y limitaciones de experimentos *in vitro* de la evaluación de la corrosión.

Tabla 35

Resumen de ventajas y limitaciones de experimentos in vitro de la evaluación de la corrosión.

Método	Ventajas	Limitaciones
Pérdida de masa	-Bajo costo. -Fácil control del entorno (puede colocarse en una incubadora). -Proporciona datos precisos y claramente definidos. -Es posible realizar experimentos de polarización concurrentes con una configuración adicional.	-No proporciona información sobre los mecanismos de corrosión. -Múltiples muestras necesarias para la precisión (variación entre muestras). -No hay información sobre el comportamiento de la corrosión dependiente del tiempo. -Importante relación área superficial/medio/electrolito (demasiado alta = aumento del pH). -Es posible que se necesiten múltiples cambios de solución. -El producto de corrosión afecta directamente los resultados y debe eliminarse.
Medición de evolución de hidrógeno	-Bajo costo. -Medición de la corrosión en tiempo real.	-Poca información sobre los mecanismos de corrosión. -Los experimentos con flujo son difíciles de medir (es decir, capturar H_2).

	-Permite calcular el grado de alcalinización (hasta un grado variable de precisión). -Resultados no son afectados por el producto de corrosión. -El H_2 puede ser un problema *in vivo*, por lo que su medición es crucial.	-Difícil de ejecutar experimentos de polarización concurrentes. -Gran cantidad de consideraciones durante la configuración/ejecución de la prueba que pueden afectar en gran medida los resultados y conducir a irreproducibilidad entre pruebas.
Monitoreo de pH	-Bajo costo. -Sencillo de realizar. -Se puede usar continuamente.	-Requiere un cambio de pH, lo cual normalmente se evita para las pruebas *in vitro*. -El pH alterado afectará aún más la corrosión, creando un entorno poco realista.
Polarización potenciodinámica	-La configuración/preparación de muestras es relativamente fácil. -Información sobre la velocidad de corrosión instantánea. -Aclara las diferencias termodinámicas (es decir, entre variables cambiantes). -Ilumina las diferencias entre aleaciones multifásicas (cambios en potencial y densidad de corriente).	-Requiere equipo especializado (potenciostato, celda, etc.) -Las aleaciones de Mg requieren un nuevo pulido ya que la superficie se altera físicamente, por lo que las pruebas son destructivas para la superficie. -La conversión a velocidad de corrosión requiere la suposición de corrosión generalizada. La velocidad medida es "instantánea", por lo que no refleja la naturaleza cambiante de la velocidad de corrosión con el tiempo.

	-Se puede utilizar para determinar el control anódico/catódico de las reacciones. -Se puede usar una sola muestra para varias ejecuciones si se vuelve a preparar.	-Revela poco sobre la contribución de capas/revestimientos individuales a la protección contra la corrosión. -La variación/error del investigador puede causar grandes diferencias en la densidad de corriente de corrosión determinada. -La corrosión causada por PDP puede alterar la superficie y los resultados durante el escaneo anódico. -Sensible a la velocidad de escaneo y otros parámetros.
Espectroscopía de impedancia electrónica	-La configuración/preparación de muestras es relativamente fácil. -Medición en tiempo real de la resistencia a la corrosión. -Puede lograr una medición continua en tiempo real. -No destructivo, por lo que una sola muestra se puede usar con el tiempo sin necesidad de volver a pulir. -Cuantifica la formación de cualquier capa superficial y el papel que desempeñan en la protección contra la corrosión a lo largo del tiempo.	-Requiere equipo especializado (potenciostato con capacidad de corriente alterna, celda, etc.) -No revela contribuciones anódicas/catódicas. -Susceptible a la corrosión que se produce con el tiempo (cambiando el área de superficie medida y, en consecuencia, los resultados). -La medición de baja frecuencia puede ser difícil para muestras que se corroen rápidamente. -La elección del circuito equivalente es crucial para un análisis apropiado y puede ser difícil.

	-Determina la descomposición de los recubrimientos en función del tiempo. -La ecuación de Stern-Geary se puede utilizar para obtener el valor icorr aproximado.

F. Condiciones estándar de operación para la absorción atómica del magnesio (en base a Analytical methods for atomic absorption spectroscopy).

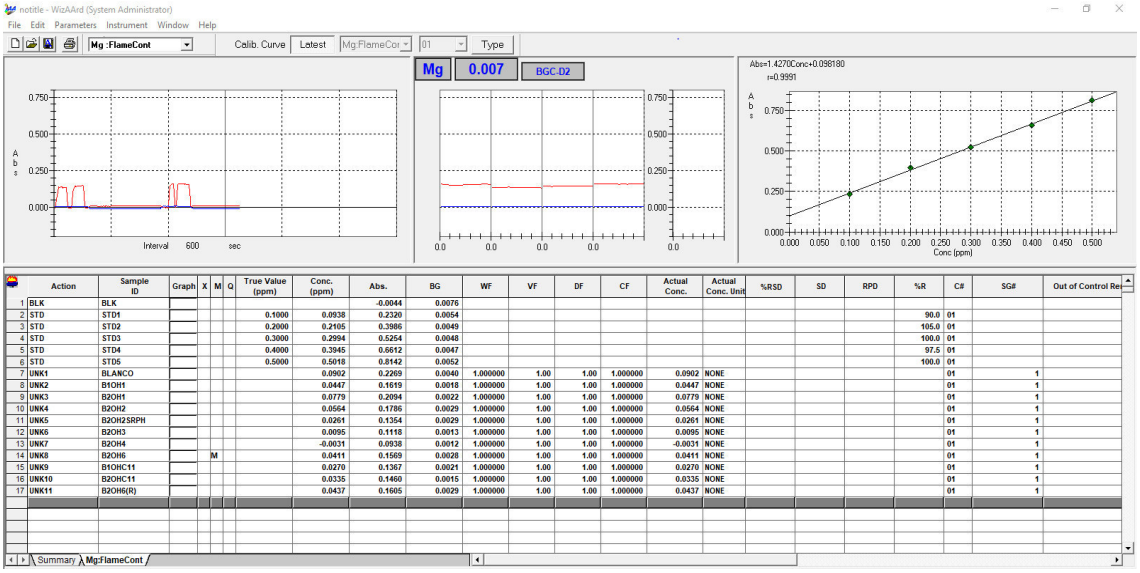
1. Flama recomendada: aire – acetileno, oxidante (magro, azul).
2. Datos obtenidos con un nebulizador estándar y spoiler de flujo. La operación con un nebulizador de alta sensibilidad o una perla de impacto generalmente proporcionará una mejora de sensibilidad de 2 a 3 veces.
3. Concentración característica con llama N_2O-C_2H_2 a 285,2 nm: 0,036 mg/L.
4. La solución estándar a utilizarse es magnesio (1000 mg/L), la cual se disuelve cuidadosamente a 1 litro con HCl al 1% (v/v).

Tabla 36

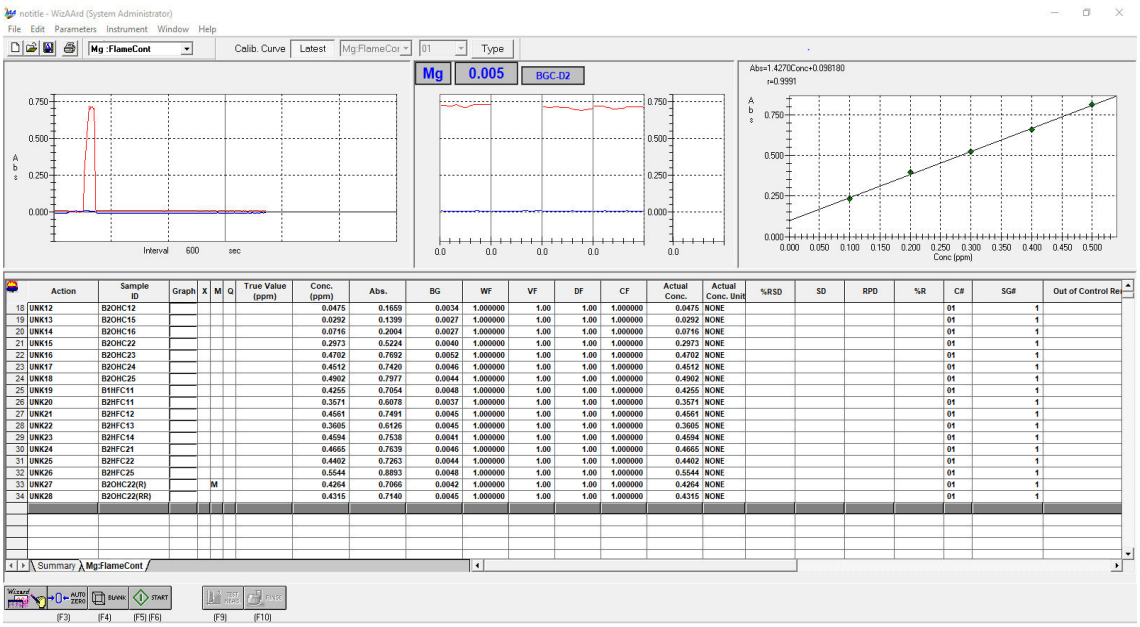
Resumen de condiciones estándar de operación según Analytical methods for atomic absorption spectroscopy.

Longitud de onda (nm)	Abertura (nm)	Ruido relativo	Concentración característica (sensibilidad) (mg/L)	Verificación de la concentración característica (mg/L)	Rango lineal (mg/L)
285.2	0.7	1.0	0.0078	0.30	0.50
202.6	0.7	3.9	0.19	9.0	10.0

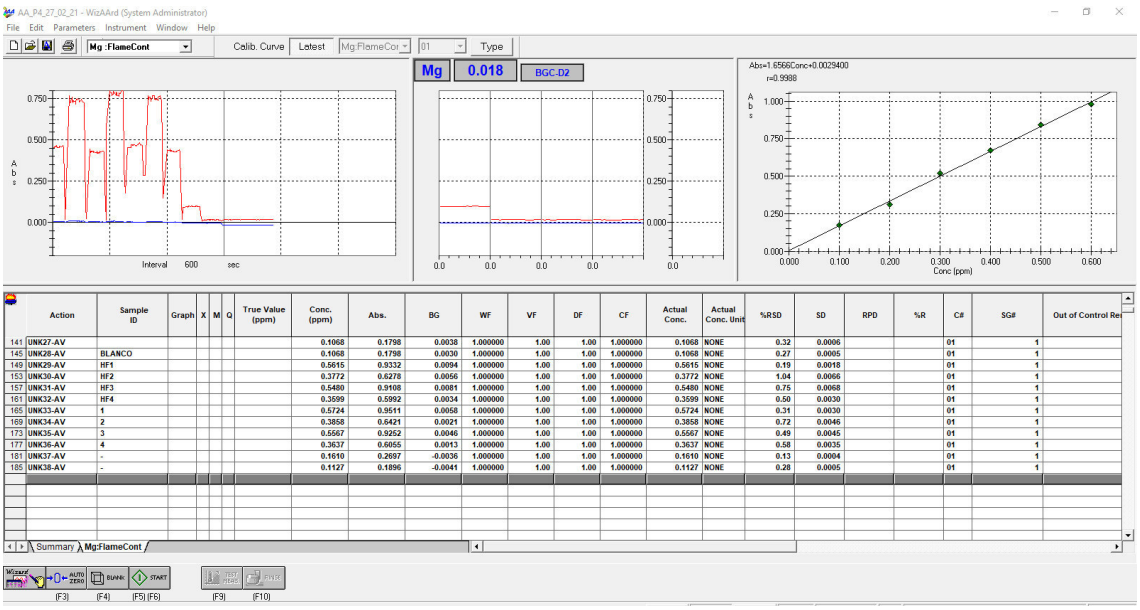
G. Obtención de concentraciones (ppm) en espectrofotómetro de absorción atómica-AA



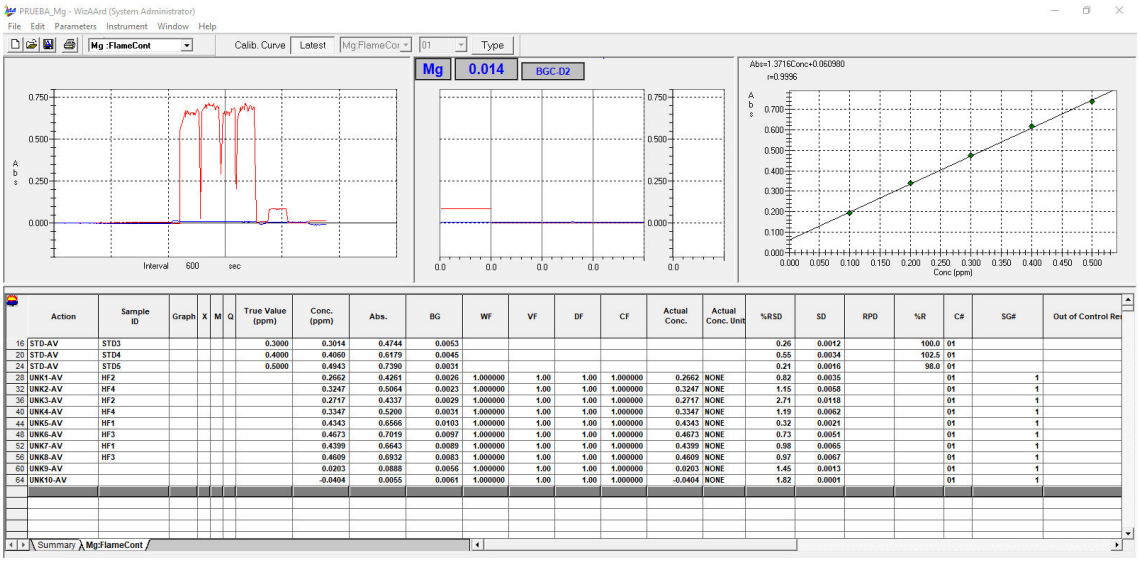
	Action	Sample ID	Graph	X	M	Q	True Value (ppm)	Conc. (ppm)	Abs.	BG	WF	VF	DF	CF	Actual Conc.	Actual Conc. Unit	%RSD	SD	RPD	%R	C#	SG#	Out of Control Re
1	BLK	BLK							-0.0044	0.0076													
2	STD	STD1					0.1000	0.0938	0.2320	0.0054										90.0	01		
3	STD	STD2					0.2000	0.2105	0.3986	0.0049										105.0	01		
4	STD	STD3					0.3000	0.2994	0.5254	0.0048										100.0	01		
5	STD	STD4					0.4000	0.3945	0.6612	0.0047										97.5	01		
6	STD	STD5					0.5000	0.5018	0.8142	0.0052										100.0	01		
7	UNK1	BLANCO						0.0902	0.2269	0.0040	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0902	NONE					01	1	
8	UNK2	B1OH1						0.0447	0.1619	0.0018	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0447	NONE					01	1	
9	UNK3	B2OH1						0.0779	0.2094	0.0022	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0779	NONE					01	1	
10	UNK4	B2OH2						0.0564	0.1786	0.0029	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0564	NONE					01	1	
11	UNK5	B2OH2SRPH						0.0261	0.1354	0.0029	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0261	NONE					01	1	
12	UNK6	B2OH3						0.0095	0.1118	0.0013	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0095	NONE					01	1	
13	UNK7	B2OH4						-0.0031	0.0938	0.0012	1.000000	1.00	1.00	1.000000	-0.0031	NONE					01	1	
14	UNK8	B2OH6			M			0.0411	0.1569	0.0028	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0411	NONE					01	1	
15	UNK9	B1OHC11						0.0270	0.1367	0.0021	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0270	NONE					01	1	
16	UNK10	B2OHC11						0.0335	0.1460	0.0015	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0335	NONE					01	1	
17	UNK11	B2OH6(R)						0.0437	0.1605	0.0029	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0437	NONE					01	1	



	Action	Sample ID	Graph	X	M	Q	True Value (ppm)	Conc. (ppm)	Abs.	BG	WF	VF	DF	CF	Actual Conc.	Actual Conc. Unit	%RSD	SD	RPD	%R	C#	SG#	Out of Control Re
18	UNK12	B2OHC12						0.0475	0.1659	0.0034	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0475	NONE					01	1	
19	UNK13	B2OHC15						0.0292	0.1399	0.0027	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0292	NONE					01	1	
20	UNK14	B2OHC16						0.0716	0.2004	0.0027	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0716	NONE					01	1	
21	UNK15	B2OHC22						0.2973	0.5224	0.0040	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.2973	NONE					01	1	
22	UNK16	B2OHC23						0.4702	0.7692	0.0052	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4702	NONE					01	1	
23	UNK17	B2OHC24						0.4512	0.7420	0.0046	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4512	NONE					01	1	
24	UNK18	B2OHC25						0.4902	0.7977	0.0044	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4902	NONE					01	1	
25	UNK19	B1HFC11						0.4255	0.7054	0.0048	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4255	NONE					01	1	
26	UNK20	B2HFC11						0.3571	0.6078	0.0037	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.3571	NONE					01	1	
27	UNK21	B2HFC12						0.4561	0.7491	0.0045	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4561	NONE					01	1	
28	UNK22	B2HFC13						0.3605	0.6126	0.0045	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.3605	NONE					01	1	
29	UNK23	B2HFC14						0.4594	0.7538	0.0041	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4594	NONE					01	1	
30	UNK24	B2HFC21						0.4665	0.7639	0.0046	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4665	NONE					01	1	
31	UNK25	B2HFC22						0.4402	0.7263	0.0044	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4402	NONE					01	1	
32	UNK26	B2HFC25						0.5544	0.8893	0.0048	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.5544	NONE					01	1	
33	UNK27	B2OHC22(R)			M			0.4264	0.7066	0.0042	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4264	NONE					01	1	
34	UNK28	B2OHC22(RR)						0.4315	0.7140	0.0045	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4315	NONE					01	1	



	Action	Sample ID	Graph	X	M	Q	True Value (ppm)	Conc. (ppm)	Abs.	BG	WF	VF	DF	CF	Actual Conc.	Actual Conc. Unit	%RSD	SD	RPD	%R	C#	SG#	Out of Control Re
141	UNK27-AV							0.1068	0.1798	0.0038	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.1068	NONE	0.32	0.0006			01	1	
145	UNK28-AV	BLANCO						0.1068	0.1798	0.0030	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.1068	NONE	0.27	0.0005			01	1	
149	UNK29-AV	HF1						0.5615	0.9332	0.0094	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.5615	NONE	0.19	0.0018			01	1	
153	UNK30-AV	HF2						0.3772	0.6278	0.0056	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.3772	NONE	1.04	0.0066			01	1	
157	UNK31-AV	HF3						0.5480	0.9108	0.0081	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.5480	NONE	0.75	0.0068			01	1	
161	UNK32-AV	HF4						0.3599	0.5992	0.0034	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.3599	NONE	0.50	0.0030			01	1	
165	UNK33-AV	1						0.5724	0.9511	0.0058	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.5724	NONE	0.31	0.0030			01	1	
169	UNK34-AV	2						0.3858	0.6421	0.0021	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.3858	NONE	0.72	0.0046			01	1	
173	UNK35-AV	3						0.5567	0.9252	0.0046	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.5567	NONE	0.49	0.0045			01	1	
177	UNK36-AV	4						0.3637	0.6055	0.0013	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.3637	NONE	0.58	0.0035			01	1	
181	UNK37-AV	-						0.1610	0.2697	-0.0036	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.1610	NONE	0.13	0.0004			01	1	
185	UNK38-AV	-						0.1127	0.1896	-0.0041	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.1127	NONE	0.28	0.0005			01	1	



	Action	Sample ID	Graph	X	M	Q	True Value (ppm)	Conc. (ppm)	Abs.	BG	WF	VF	DF	CF	Actual Conc.	Actual Conc. Unit	%RSD	SD	RPD	%R	C#	SG#	Out of Control Re
16	STD-AV	STD3					0.3000	0.3014	0.4744	0.0053							0.26	0.0012		100.0	01		
20	STD-AV	STD4					0.4000	0.4060	0.6179	0.0045							0.55	0.0034		102.5	01		
24	STD-AV	STD5					0.5000	0.4943	0.7390	0.0031							0.21	0.0016		98.0	01		
28	UNK1-AV	HF2						0.2662	0.4261	0.0026	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.2662	NONE	0.82	0.0035			01	1	
32	UNK2-AV	HF4						0.3247	0.5064	0.0023	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.3247	NONE	1.15	0.0058			01	1	
36	UNK3-AV	HF2						0.2717	0.4337	0.0029	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.2717	NONE	2.71	0.0118			01	1	
40	UNK4-AV	HF4						0.3347	0.5200	0.0031	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.3347	NONE	1.19	0.0062			01	1	
44	UNK5-AV	HF1						0.4343	0.6566	0.0103	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4343	NONE	0.32	0.0021			01	1	
48	UNK6-AV	HF3						0.4673	0.7019	0.0097	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4673	NONE	0.73	0.0051			01	1	
52	UNK7-AV	HF1						0.4399	0.6643	0.0089	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4399	NONE	0.98	0.0065			01	1	
56	UNK8-AV	HF3						0.4609	0.6932	0.0083	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.4609	NONE	0.97	0.0067			01	1	
60	UNK9-AV							0.0203	0.0888	0.0056	1.000000	1.00	1.00	1.000000	0.0203	NONE	1.45	0.0013			01	1	
64	UNK10-AV							-0.0404	0.0055	0.0061	1.000000	1.00	1.00	1.000000	-0.0404	NONE	1.82	0.0001			01	1	

H. Certificado de análisis de Colágeno Tipo I

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA
Tel: (800) 521-8956 (314) 771-5765 Fax: (800) 325-5052 (314) 771-5757
email: techservice@sial.com sigma-aldrich.com

Product Information

Collagen, Type I solution
from rat tail

Catalog Number **C3867**
Storage Temperature 2–8 °C

Product Description
Collagen is the major structural component of extracellular matrices found in connective tissues and internal organs, but is most prevalent in the dermis, tendons, and bones. It is classified into a number of structurally and genetically distinct types. Type I collagen is a heterodimer composed of two alpha$_1$(I) chains and one alpha$_2$(I) chain that spontaneously forms a triple helix scaffold at neutral pH and 37 °C. Collagen type I is an excellent substrate for the culture of hepatocytes, fibroblasts, spinal ganglion, muscle cells, Schwann cells, embryonic lung cells, epithelial cells, and a number of other cell lines. It has also been used in the study of growth, differentiation, migration of cell lines, and tissue morphogenesis during development.

This product is prepared from rat tail tendons by modification of a published procedure.[1] It is supplied as an aqueous solution in 20 mM acetic acid (~100 mg of protein per vial). Protein concentration was estimated by the biuret method.[2]

Vial contains: ~100 mg of protein

Volume per vial: 22–25 ml

Purity: >95% (SDS-PAGE)
SDS-PAGE shows the typical band pattern for type I collagen, with a doublet at apparent molecular masses of 115 kDa and 130 kDa, and another doublet at 215 kDa and 235 kDa (see Figure 1).

Sterilization: Sterilized by membrane filtration, sequentially through 0.45 and 0.22 micron filters. The product has been tested, and confirmed negative, for bacterial and fungal contamination. The sterility test was carried out according to the current BP, Ph Eur, and USP. The sample was also negative with respect to mycoplasma contamination.

Precautions and Disclaimer
This product is for R&D use only, not for drug, household, or other uses. Please consult the Safety Data Sheet for information regarding hazards and safe handling practices.

Storage/Stability
The product ships on wet ice and storage at 2–8 °C is recommended. During shipment, or if the storage temperature for this product goes slightly below the recommended range, the product may acquire a gel-like appearance. Under such circumstances, it is possible to warm the product gently, to no more than 45 °C, in order to reconstitute the product fully, before use.

Aliquots that have been diluted to a working concentration may be stored at 2–8 °C for up to 2 weeks. Do not freeze.

Procedure
Optimal conditions for attachment must be determined for each cell line and application.

1. An appropriate volume of the collagen solution should be diluted to a working concentration of 0.01% using sterile, tissue culture grade water.
2. Coat dishes with 6-10 µg/cm^2. Allow the protein to bind for several hours at room temperature or 37 °C, or overnight at 2–8 °C.
3. Remove excess fluid from the coated surface and allow it to dry overnight. If sterility has been compromised, the dried, coated surface can be sterilized easily by overnight exposure to UV light in a sterile tissue culture hood.
4. Rinse with sterile tissue culture grade water or a balanced salt solution before introducing cells and medium.

I. Serie de normas ISO 10933 para evaluar la seguridad biológica de los dispositivos médicos.

La Tabla 37 representada fue recopilada de la investigación "*Biomaterials Evaluation: Conceptual Refinements and Practical Reforms*" de Masaeli et al. (2019).

Tabla 37

Procedimientos para evaluación de la seguridad biológica de dispositivos médicos.

Serie ISO 10993 de estándares para la evaluación de dispositivos médicos de seguridad biológica	
Parte	**Título**
1	Evaluación y pruebas dentro de un proceso de gestión de riesgos
2	Requisitos de bienestar animal
3	Prueba de genotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad reproductiva
4	Selección de pruebas para interacciones con la sangre
5	Pruebas de citotoxicidad *in vitro*
6	Pruebas de efectos locales después de la implantación
7	Residuos de esterilización con óxido de etileno
8	Selección y calificación de materiales de referencia para pruebas biológicas
9	Marco para la identificación y cuantificación de posibles productos de degradación
10	Pruebas de irritación y sensibilización de la piel
11	Pruebas de toxicidad sistemática
12	Preparación de muestras y materiales de referencia
13	Identificación y cuantificación de productos de degradación de dispositivos médicos poliméricos
14	Identificación y cuantificación de productos de degradación de la cerámica
15	Identificación y cuantificación de productos de degradación de metales y aleaciones
16	Diseño de estudios toxicocinéticos para productos de degradación y lixiviables
17	Establecimiento de límites permisibles para sustancias lixiviables

18	Caracterización química de materiales
19	Caracterización fisicoquímica, morfológica y topográfica de materiales
20	Principios y métodos para pruebas inmunotoxicológicas de dispositivos médicos
22	Orientación sobre nanomateriales
33	Orientación sobre pruebas para evaluar genotoxicidad – Suplemento a la ISO 10993-3

J. Resumen de las ventajas y desventajas, y aplicaciones de biomateriales

Tabla 38

Resumen general de las ventajas y desventajas de los biomateriales clasificados por su composición química.

	Ventajas	Desventajas
Polímeros	• Los atributos de degradación se pueden controlar cambiando la constitución del polímero individual. • Propiedades físicas que pueden ser modificadas y pueden ser producidas en masa. • Excelente biodegradabilidad y biocompatibilidad sobre la mayoría de los metales y cerámicas.	• Malas propiedades mecánicas para resistir la carga mientras se degradan. • Cantidad limitada de polímero natural adecuado (quitosano, colágeno y queratina) para servir como material de implante. • Mecanismo de degradación impredecible (los polímeros que se erosionan en masa se degradan en toda la sección transversal y tienen una cinética de erosión no lineal con discontinuidades).
Metales	• Los elementos de la aleación (Mg, Fe, Zn) son fácilmente absorbidos por el cuerpo sin efectos secundarios dañinos. • Los materiales bioabsorbibles tienen una buena	• El ion metálico liberado por el metal biodegradable puede acumularse en el tejido y causar un riesgo potencial para la salud (efectos citotóxicos, genotóxicos e inmunológicos) lo que provoca una reducción de la biocompatibilidad.

	biodegradabilidad *in vivo* para favorecer la regeneración ósea. • Las aleaciones a base de magnesio pueden actuar como implantes "inteligentes" principalmente debido a su capacidad para estimular las respuestas celulares (aumento de la masa ósea y la aposición mineral) a nivel molecular en experimentos con animales.	• El implante a base de magnesio no tiene medios para controlar (falta de tecnología metalúrgica) la rápida degradabilidad y la alta tasa de corrosión antes de que sane la fractura. • La aleación a base de Zn tiene baja plasticidad y baja resistencia, por lo que no es adecuada para su uso como biomaterial para implantes.
Cerámicos	• Los iones de Si y Ca producidos por biovidrio mejoran el crecimiento y la diferenciación osteoblástica. • Las biocerámicas tienen alta resistencia a la compresión, buena osteoconducción e integración ósea, así como excelente angiogénesis. • La biocerámica es capaz de desencadenar una respuesta biológica específica al actuar como un vehículo local para iones activos en un estudio reciente.	• Dificultad para formar la forma deseada y es demasiado frágil. • La biocerámica tiene una tasa de biodegradación muy lenta (HA cristalina). • Las biocerámicas de silicato pueden inducir una serie de respuestas inmunitarias del huésped para causar inflamación crónica, formación de células gigantes de cuerpo extraño y fibrosis tisular que es dañina y dañina para la función del implante (falla en la regeneración del tejido).

Nota. Imagen recopilada de la investigación de Zaroog et al. (2019) "*Biomaterials for bone tissue engineering: Properties and applications*".

Figura 62

Resumen de las propiedades y aplicaciones de implantes ortopédicos a base de algunos biomateriales.

Material	Mechanical properties	Clinical applications
Natural bone	EM: 1–20 GPa; TS: 120–170 MPa; 0.2% YS: 110–200 MPa; Density: 1.8–2.01 g/cm^3; Elongation: 1.5%	–
A. Metallic and alloys		
Mg alloy	EM: 41–45 GPa; TS: 87–280 MPa; 0.2% YS: 20–246 MPa; Density: 1.74–2.0 g/cm^3; Elongation: 13%	Potential biodegradable implant materials for orthopaedic applications, such as fracture fixation
Ti alloy	EM: 110–117 GPa; TS: 240–1800 MPa; 0.2% YS: 170–1060 MPa; Density: 4.4–4.5 g/cm^3; Elongation: 10–25%	Commonly used in producing pins, posts, rods, bone plates, screws, expandable rib cages, and toe replacements
Stainless steel	EM: 189–205 GPa; TS: 490–1350 MPa; 0.2% YS: 200–700 MPa; Density: 7.9–8.1 g/cm^3; Elongation: 10–40%	Excellent material for long-term implant devices
Co-Cr alloy	EM: 230 GPa; TS: 900–1800 MPa; 0.2% YS: 500–1500 MPa; Density: 8.3–9.2 g/cm^3; Elongation: 10–50%	Excellent material choice for total joint replacements due to superior fatigue resistance
B. Non-metallic		
PLA	T/FM: 3.0 GPa; TS: 50–70 MPa; Elongation: 4.0%; MP: 150–162 °C	Excellent material used (i) to produce biodegradable screws, (ii) for fixation of pin, plates, and (iii) for suture anchors
PGA	T/FM: 6.5 GPa; Elongation: 15–20%; MP: 225–230 °C	Promising material as a porous scaffold, bioactive agent, and extracellular matrix component
UHMWPe	T/FM: 0.8–1.5 GPa; TS: 21–48 MPa; Elongation: 200–350%; MP: 141.2 °C	Most promising material as a bearing surface in total joint devices due to low coefficient of friction with metals
Aluminium oxide	T/FM: 0.4 GPa; TS: 490 MPa; CS: 3055–3413 MPa; MP: 2072 °C	Good choice as joint-replacement material due to low friction and wear
Zirconia	T/FM: 1.0 GPa; TS: 190 MPa; CS: 2000 MPa; MP: 2715 °C	Adequate for use as a prosthetic clinical material

EM- Elastic modulus, TS- Tensile strength, YS- Yield strength, T/FM- Tensile/Flexural modulus, CS- Compressive strength, MP- Melting point, PLA- Poly(lactic acid), PGA- Polyglycolide, UHMWPe- Ultra-high molecular weight polyethylene.

Nota. Imagen recopilada de la investigación de Kumar et al. (2020) "*Nanotechnology-based biomaterials for orthopaedic applications: Recent advances and future prospects*".

K. Estimacion del errores

K.1 Error estándar de la media

Tomando como referencia a (Taylor, 2018) en su libro Introduccion al análisis de error, el estudio de las incertidumbres en las mediciones físicas se calcula la desviación estandar de la media o error estándar de la media, haciendo uso de la siguiente ecuación:

$$\sigma_{\bar{x}} = \frac{\sigma_x}{\sqrt{N}} \qquad (21)$$

De donde σ_x es la desviación estándar y N cantidad de mediciones de la misma cantidad. Para finalmente obtener el valor de X representado por la siguiente ecuación:

$$X = \bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}} \qquad (22)$$

k.2 Teoria de propagación de errores

Para el calculo de errores de medidas indirectas se utilizo la formula general para la propagación de errores en donde f(x)=(x1,x2,x3,x4….xn).

$$\sigma_f^2 = \left(\frac{df}{dx_1}\right)^2 \sigma_{x_1}^2 + \left(\frac{df}{dx_2}\right)^2 \sigma_{x_2}^2 + \ldots\ldots\ldots + \left(\frac{df}{dx_N}\right)^2 \sigma_{x_N}^2 = \sum_{i=1}^{N} \left(\frac{df}{dx_i}\right)^2 \sigma_{x_i}^2 \qquad (23)$$

La expresión anterior se conoce como formula general de propagación de errores y nos permite obtener el error asociado a una medida indirecta a partir de errores asociados a medidas directas.

Tabla 38

Coeficiente de variación para el volumen de hidrógeno evolucionado

Muestra	Desviación estándar σ_x	Promedio de volumen de hidrógeno evolucionado $\overline{X}$
MOHC0	1.061	24.600
MOHC1	1.195	10.855
MOHC2	0.361	7.455
MHFC0	1.591	6.875
MHFC1	0.141	4.900
MHFC2	1.124	3.255

Tabla 39

Coeficiente de variación para el V_H (mL/cm^2)

Muestra	Desviación estándar σ_x	V_H promedio (mL/cm^2) $\overline{X}$
MOHC0	3.84	0.45
MOHC1	1.22	0.04
MOHC2	0.94	0.09
MHFC0	1.14	0.00
MHFC1	0.59	0.03
MHFC2	0.43	0.06

Figura 63

Representación gráfica del tiempo vs la fuerza mecánica que explica la relación entre la duración de regeneración ósea y la mantención de la integridad mecánica del implante de magnesio según Zhao et al. (2017)

