



FRIEDRICH-ALEXANDER
UNIVERSITÄT
ERLANGEN-NÜRNBERG

I N T E R M A

Nanopartículas de vidrio bioactivo dopado con Zinc y recubrimientos de quitosano/vidrio bioactivo sobre implantes de titanio para evitar infección y promover osteointegración

Agustín Agostini

(DNI: 43.107.545; Legajo: 16255)

Proyecto final para optar al grado de Ingeniero en Materiales

Directores: -Dra. Josefina Ballarre (jballarre@fi.mdp.edu.ar)

-Dr. Aldo R. Boccaccini (aldo.boccaccini@fau.de)

Mar del Plata - 14 de agosto del 2025

UNMDP - Facultad de Ingeniería - Departamento de Ingeniería en

Materiales



RINFI es desarrollado por la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Tiene como objetivo recopilar, organizar, gestionar, difundir y preservar documentos digitales en Ingeniería, Ciencia y Tecnología de Materiales y Ciencias Afines.

A través del Acceso Abierto, se pretende aumentar la visibilidad y el impacto de los resultados de la investigación, asumiendo las políticas y cumpliendo con los protocolos y estándares internacionales para la interoperabilidad entre repositorios



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



FRIEDRICH-ALEXANDER
UNIVERSITÄT
ERLANGEN-NÜRNBERG

I N T E R M A

Nanopartículas de vidrio bioactivo dopado con Zinc y recubrimientos de quitosano/vidrio bioactivo sobre implantes de titanio para evitar infección y promover osteointegración

Agustín Agostini

(DNI: 43.107.545; Legajo: 16255)

Proyecto final para optar al grado de Ingeniero en Materiales

Directores: -Dra. Josefina Ballarre (jballarre@fi.mdp.edu.ar)

-Dr. Aldo R. Boccaccini (aldo.boccaccini@fau.de)

Mar del Plata - 14 de agosto del 2025

UNMDP - Facultad de Ingeniería - Departamento de Ingeniería en

Materiales

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	5
2. INTRODUCCIÓN.....	7
2.1. Biomateriales	7
2.1.1. Metales para aplicaciones biomédicas	8
2.1.2. Vidrios bioactivos.....	10
2.1.3. Vidrios bioactivos dopados con Zinc	11
2.2. Deposición electroforética (EPD).....	13
2.2.1. Quitosano	14
2.4. Técnicas de caracterización.....	16
2.4.1. Difracción de rayos X (XRD).....	16
2.4.2. Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)	16
2.4.3. Microscopía Electrónica de Barrido - Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (SEM - EDX)	16
2.4.4. Angulo de contacto.....	17
2.4.5. Test de adhesión.....	18
2.4.6. Caracterización electroquímica	18
3. OBJETIVOS	22
3.1. Objetivos generales	22
3.2. Objetivos específicos	22
4. MATERIALES Y MÉTODOS	24
4.1. Síntesis de nanopartículas.....	24
4.2. Caracterización de las nanopartículas	25
4.2.1. Difracción de Rayos X (XRD)	25

4.2.2. Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)	26
4.2.3. Tamaño de partícula y morfología (SEM)	26
4.2.4. Espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (EDX).....	26
4.3. Test de bioactividad <i>in vitro</i>	26
4.3.1. Preparación de solución fisiológica simulada (SBF).....	26
4.3.2. SBF Test	28
4.4. Prueba de viabilidad celular	28
4.5. Prueba de efecto antibacteriano	29
4.6. Deposición electroforética de recubrimientos de quitosano/BGNs.....	30
4.6.1. Preparación de los sustratos	30
4.6.2. Búsqueda de parámetros	32
4.6.2. Selección de parámetros	35
4.7. Caracterización de los recubrimientos	35
4.8. Ensayos electroquímicos	36
4.8.1. Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS).....	38
4.8.2. Curvas de polarización potenciodinámicas	38
4.9. Ensayo de bioactividad de los recubrimientos	38
4.10. Ensayo de viabilidad celular sobre los recubrimientos.....	39
5. NANOPARTICULAS DE BIOVIDRIO	41
5.1. Resultados y discusión	41
5.1.2. caracterización fisicoquímica.....	41
5.1.2. Test de bioactividad.....	45
5.1.3. Prueba de viabilidad celular.....	47
5.1.4. Prueba de efecto antibacterial	48
5.2. Conclusiones	50
5.3. Trabajo futuro.....	52

6. RECUBRIMIENTOS DE QUITOSANO CON NANOPARTICULAS DE BIOVIDRIO ..	53
6.1. Resultados y discusión	53
6.1.1. Determinación de parámetros para la técnica de EPD	53
6.1.2. Caracterización de los recubrimientos.....	57
6.1.3. Ensayos electroquímicos.....	59
6.1.4. Ensayo de bioactividad de los recubrimientos.....	69
6.1.5. Ensayo de viabilidad celular sobre los recubrimientos	70
6.2. Conclusiones	74
6.3. Trabajo futuro.....	75
8. REFERENCIAS	76

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo expresar mi profundo agradecimiento al Dr. Aldo Boccaccini por brindarme la oportunidad de realizar mi trabajo final en el prestigioso Instituto de Biomateriales de la FAU, y por su constante apoyo y acompañamiento durante toda mi estadía en Alemania. Asimismo, agradezco especialmente a mi supervisora Rezvan Azari por su dedicación y acompañamiento a lo largo de todo el proyecto.

Agradezco también a la Dra. Josefina Ballarre por haberme permitido formar parte de su equipo de trabajo, por su excelente dirección y compromiso, y por haberme acompañado con generosidad, profesionalismo y confianza.

A los organizadores del proyecto IDEAR, gracias por darme la posibilidad de viajar a Alemania y llevar adelante esta valiosa experiencia. Mi gratitud al Dr. Lisandro Escalada, a la Dra. María Andrea Camerucci y al Dr. Flavio Soldera por su compromiso en la coordinación de esta iniciativa.

A mis padres, Rosana y Gustavo, y a mi hermano, Valentín, por su cariño y apoyo incondicional durante todos estos años y por brindarme la oportunidad de dedicarme plenamente a mi formación académica.

A mi novia Camila, por toda la paciencia y apoyo durante la carrera, por motivarme a superarme siempre y haberme acompañado durante mi estadía en Alemania.

A toda mi familia, gracias por estar siempre presentes, por su afecto incondicional y por acompañarme en cada paso de este camino.

A todos mis amigos, gracias por estar siempre presentes, por los días compartidos de estudio, las risas y los buenos momentos que hicieron más llevadero este camino.

A todos los mencionados, les extiendo mi más sincero agradecimiento.

1. RESUMEN

En este trabajo se investigó el diseño y evaluación de recubrimientos híbridos de quitosano y nanopartículas de biovidrio (BGNs) sobre sustratos de Ti-6Al-4V, con el objetivo de desarrollar superficies capaces de prevenir infecciones y promover la osteointegración en implantes permanentes. Se buscó lograr materiales bioactivos, estables frente a la corrosión y compatibles con células óseas. El estudio se dividió en dos etapas principales: en la primera se sintetizaron y caracterizaron BGNs dopadas y no dopadas con zinc; en la segunda, se incorporaron las nanopartículas seleccionadas en recubrimientos obtenidos mediante deposición electroforética (EPD), y se evaluaron sus propiedades fisicoquímicas, electroquímicas y biológicas.

Las BGNs se sintetizaron por vía sol-gel y se sometieron a tratamientos térmicos a 700 °C. Se analizaron mediante DRX, FTIR, SEM-EDX y ensayos de bioactividad en fluido fisiológico simulado (SBF). También se evaluó su biocompatibilidad con células preosteoblásticas MG-63 y su potencial actividad antibacteriana frente a *E. coli* y *S. aureus*. Los resultados mostraron que todas las formulaciones presentaron morfología esférica, tamaño nanométrico (138 a 165 nm) y estructura amorfa. Las partículas sin dopar promovieron una rápida formación de depósitos compatibles con hidroxiapatita en SBF, mientras que las dopadas con zinc presentaron un retraso en este proceso. Asimismo, todas las muestras mantuvieron una viabilidad celular mayor al 80 %, sin efectos tóxicos evidentes, aunque no mostraron acción antibacteriana significativa. El bajo nivel de incorporación efectiva de zinc, sumado a la ausencia de ventajas en las propiedades funcionales, llevó a descartar el dopaje para la segunda etapa del trabajo.

En la etapa de recubrimientos, se optimizaron los parámetros de EPD mediante un diseño Taguchi, seleccionándose una condición de 15 V, 3 min y disolvente metanol por su buena cobertura, uniformidad y adhesión (clase 1 según ISO 2409). Los recubrimientos obtenidos fueron homogéneos, estables en medio fisiológico y presentaron una alta incorporación de nanopartículas. El análisis por FTIR confirmó la presencia de los grupos funcionales del quitosano y las bandas características del biovidrio. Las mediciones de ángulo de contacto indicaron superficies hidrofílicas, adecuadas para la adhesión celular. En términos electroquímicos, los recubrimientos mejoraron significativamente la resistencia a la corrosión del sustrato metálico,

reduciendo la densidad de corriente de corrosión al menos en un orden de magnitud. Tras 21 días en SBF, los recubrimientos conservaron sus señales estructurales y no mostraron pérdida de integridad evidente. Si bien no se detectaron de forma concluyente señales de fosfato asociadas a la formación de hidroxiapatita, se sugirió, con base en estudios previos con BGNs solas, que podría haberse iniciado el proceso de nucleación sobre las nanopartículas embebidas. Finalmente, los ensayos biológicos mostraron que las células MG-63 mantenían alta viabilidad y buena distribución sobre las superficies recubiertas, superando al metal pulido.

En conclusión, se demostró que las BGNs sin dopar pudieron sintetizarse exitosamente mediante sol-gel y presentaron características adecuadas de bioactividad y biocompatibilidad. La técnica de EPD permitió obtener recubrimientos híbridos de quitosano y BGNs con buena adhesión, resistencia a la corrosión, estabilidad química y compatibilidad celular. Aunque no se verificó de forma directa la formación de hidroxiapatita sobre los recubrimientos, su comportamiento en medios simulados y su desempeño biológico indicaron un gran potencial para su uso en implantes óseos permanentes. En cuanto al dopaje con zinc, no se observaron mejoras significativas en la bioactividad, citocompatibilidad ni actividad antibacteriana. Se considera que esta falta de efecto se debió, principalmente, a una baja incorporación efectiva de Zn en las partículas (del orden del 1–2 mol %), lo que podría atribuirse a deficiencias en el diseño del proceso de síntesis, lo que habría limitado la liberación de iones al medio. Además, se observó que el dopaje con Zn retardó la formación de fosfato cálcico en ensayos de bioactividad. Por estas razones, el zinc fue descartado para su incorporación en los recubrimientos desarrollados.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Biomateriales

El término biomaterial se refiere a cualquier material, natural o sintético, que se utiliza para interactuar con sistemas biológicos con el fin de tratar, aumentar o reemplazar funciones anatómicas o fisiológicas del cuerpo humano [1]. Estos materiales constituyen la base de una amplia gama de dispositivos médicos, prótesis e implantes, y han revolucionado el campo de la medicina regenerativa, la cirugía reconstructiva y la ingeniería de tejidos. Desde su aparición como disciplina interdisciplinaria, los biomateriales han evolucionado de meros sustitutos pasivos a plataformas funcionales capaces de estimular respuestas biológicas específicas y promover la regeneración de tejidos.

Los biomateriales pueden clasificarse según su origen y composición en cuatro grandes grupos: metálicos, cerámicos, poliméricos y compuestos. Cada uno de ellos presenta propiedades particulares que los hacen adecuados para diferentes aplicaciones. Los metales, por ejemplo, se destacan por su resistencia mecánica y durabilidad, y se utilizan comúnmente en aplicaciones ortopédicas y dentales [2]. Los cerámicos, como la hidroxiapatita o los biovidrios, presentan una alta bioactividad y osteoconductividad, lo que los hace apropiados para recubrimientos e injertos óseos [3]. Por su parte, los polímeros pueden ser biodegradables o permanentes, y se aplican en sistemas de liberación controlada de drogas, suturas, membranas y soportes para ingeniería de tejidos [4]. Finalmente, los materiales compuestos combinan las ventajas de dos o más tipos de biomateriales para lograr propiedades sinérgicas y adaptables a requerimientos específicos.

Uno de los principales desafíos en el diseño de biomateriales es asegurar su compatibilidad con el entorno biológico. La interacción entre un biomaterial y el tejido circundante determina en gran medida el éxito clínico del implante. Por esta razón, conceptos como biocompatibilidad, biofuncionalidad, biodegradabilidad y bioactividad han cobrado especial relevancia. Un biomaterial biocompatible no debe inducir una respuesta inmunológica adversa, inflamación crónica o toxicidad, mientras que un

material bioactivo debe ser capaz de interactuar positivamente con las células y tejidos para promover procesos como la osteointegración o la angiogénesis [5].

La osteointegración se destaca como una característica clave en la evaluación de biomateriales, especialmente en el contexto de prótesis e implantes. Este fenómeno se refiere a la unión directa entre el implante y el hueso circundante, un factor determinante para la estabilidad a largo plazo de las prótesis. La superficie del implante desempeña un papel esencial en este proceso, donde propiedades como la química superficial, la rugosidad y la topografía son factores críticos. La interacción precisa entre la superficie y el entorno biológico emerge como un aspecto decisivo en el éxito o fracaso de la prótesis, siendo fundamental en el inicio de la regeneración ósea. Sin embargo, diversos desafíos pueden afectar este proceso e incluso llevar al fallo del implante, como la degradación del material, la liberación de partículas por corrosión (especialmente en implantes metálicos), infecciones locales o problemas de fijación. Para mitigar estos riesgos, se han desarrollado estrategias como la aplicación de recubrimientos protectores y bioactivos. Estos recubrimientos no solo mejoran la integridad del material, sino que también favorecen una interacción más armónica entre el implante y el tejido, incrementando así su eficacia clínica y durabilidad [6].

Gracias al avance conjunto de la ciencia de materiales, la biología celular y la ingeniería biomédica, los biomateriales continúan expandiendo sus aplicaciones en áreas como la ortopedia, la odontología, la oftalmología, la cardiología y la neurocirugía. Su desarrollo es clave para afrontar los retos que impone una población envejecida y la necesidad creciente de soluciones personalizadas y regenerativas.

2.1.1. Metales para aplicaciones biomédicas

Los biomateriales metálicos continúan desempeñando un papel crucial en la creación de implantes quirúrgicos, siendo seleccionados principalmente por sus destacadas características de soporte de carga y su resistencia a la fatiga, lo que asegura un rendimiento satisfactorio a lo largo del tiempo. A pesar de las limitaciones en las composiciones químicas aceptables, que responden a requisitos estrictos de biocompatibilidad, principalmente relacionados con la corrosión y la resistencia al desgaste, los biomateriales metálicos logran propiedades adecuadas mediante un procesamiento cuidadoso y la implementación de diseños de implantes adecuados. La

elección de biomateriales metálicos se fundamenta en su excepcional capacidad para proporcionar estabilidad estructural y resistencia a condiciones rigurosas, especialmente en áreas donde se experimenta una carga mecánica significativa. La versatilidad de estos materiales, junto con la familiaridad y accesibilidad de las técnicas de fabricación establecidas, como la fundición y el mecanizado, ha contribuido a su prominente adopción en la fabricación de implantes ortopédicos y odontológicos [7].

Diversos metales y aleaciones se utilizan en la fabricación de prótesis, siendo los más comunes el titanio, acero inoxidable y aleaciones de cobalto-cromo. Una de las principales problemáticas que enfrentan los biomateriales metálicos radica en las diferencias en los módulos elásticos de los metales y el del tejido óseo. Estas discrepancias en la rigidez pueden dar lugar al fenómeno de stress shielding. En donde la carga desigual entre el hueso y el implante puede conducir a la pérdida de la carga normal que los huesos experimentan naturalmente, debilitando gradualmente la densidad ósea y comprometiendo la integridad estructural y la estabilidad de los implantes.

Además, los metales no poseen afinidad química natural con el tejido óseo, lo que dificulta la formación de una interfaz directa y estable entre el implante y el hueso circundante. Esta escasa capacidad de anclaje biológico puede retrasar la osteointegración y afectar la estabilidad a largo plazo del implante.

En comparación con el acero inoxidable y las aleaciones de cobalto, las aleaciones de titanio han demostrado ser superiores en términos de biocompatibilidad debido a su excelente resistencia a la corrosión [8]. También poseen un módulo elástico menor, aproximadamente de 120 GPa, aunque sigue siendo mayor que el del hueso trabecular (cerca de 30 GPa) y una menor densidad que las otras dos familias de implantes metálicos utilizados. El titanio y sus aleaciones tienen excelentes propiedades anticorrosivas, mecánicas y buena biocompatibilidad, pero no son naturalmente antibacterianas ni pueden generar una interfaz implante/hueso estable en un período corto de tiempo [9].

La aleación Ti-6Al-4V, con una composición de titanio, aluminio y vanadio, ha sido particularmente destacada. Esta aleación forma una estructura bifásica ($\alpha + \beta$) que ofrece una resistencia superior en comparación con el titanio comercialmente puro,

manteniendo al mismo tiempo una excelente resistencia a la corrosión, por la formación rápida de una capa pasiva de óxido de titanio (TiO_2) [10].

2.1.2. Vidrios bioactivos

Los vidrios bioactivos representan una clase de biomateriales inorgánicos que han revolucionado el campo de la medicina regenerativa desde su introducción en 1969 por Larry Hench. A diferencia de los materiales bioinertes, estos vidrios poseen la capacidad única de interactuar con los tejidos biológicos, promoviendo la formación de una capa de hidroxiapatita en su superficie al entrar en contacto con fluidos corporales. Esta característica les permite establecer una unión directa con el tejido óseo, facilitando procesos de osteointegración y regeneración ósea [11].

El vidrio bioactivo original, conocido como Bioglass® 45S5, está compuesto por una mezcla específica de óxidos de silicio, sodio, calcio y fósforo. Su diseño fue concebido para imitar la composición mineral del hueso humano, lo que le confiere propiedades osteoconductoras y osteoinductoras. Desde entonces, se han desarrollado diversas composiciones, incluyendo vidrios basados en borato y fosfato, así como variantes dopadas con iones terapéuticos como zinc, cobre y estroncio, con el objetivo de mejorar sus propiedades bioactivas y ampliar su rango de aplicaciones clínicas [12].

Además de su capacidad para regenerar tejido óseo, los vidrios bioactivos han demostrado propiedades angiogénicas, antimicrobianas e inmunomoduladoras. Estas características los hacen atractivos no solo para aplicaciones ortopédicas y dentales, sino también para la ingeniería de tejidos blandos, la cicatrización de heridas y la liberación controlada de fármacos [13].

Una de las propiedades más destacadas de los vidrios bioactivos es su capacidad para formar una capa de hidroxiapatita (HA) en su superficie cuando se exponen a fluidos corporales. Este proceso es esencial para la integración del material con el tejido óseo. Al sumergirse en un entorno fisiológico, los iones como Na^+ , Ca^{2+} y Si^{4+} se liberan desde la superficie del vidrio, lo que conduce a la formación de una capa rica en sílice. Posteriormente, se nuclea y crece una capa de hidroxiapatita carbonatada, que es química y estructuralmente similar al mineral óseo natural [11], [14]. Este mecanismo de bioactividad ha sido ampliamente estudiado y confirmado en diversos estudios *in vitro* e *in vivo* [14].

Existen diversos métodos para obtener vidrios bioactivos, siendo dos de los más destacados la colada o fusión (melting) y el método sol-gel. El método sol-gel, una ruta química innovadora, destaca por su versatilidad y control preciso sobre la estructura del material, llevándose a cabo a temperaturas considerablemente más bajas que las técnicas convencionales.

La preferencia por el método sol-gel se debe a su capacidad para aumentar significativamente el área superficial específica del material, mejorando así la reactividad y degradabilidad del producto final. Además, ofrece un control crucial sobre la homogeneidad y pureza del vidrio, siendo esencial en aplicaciones donde estas propiedades son críticas, asegurando la calidad consistente del material [15].

En este método se parte de una solución de precursores, como el tetraetil ortosilicato (TEOS), que mediante reacciones de hidrólisis y condensación forma una red de sílice en presencia de disolventes como agua o etanol. Durante este proceso, pueden incorporarse también iones metálicos, ya sea simultáneamente con la formación de la red o en etapas posteriores. El material resultante se presenta inicialmente como un gel húmedo, que luego es sometido a procesos de secado y calcinación para eliminar los residuos orgánicos y densificar la estructura. Las propiedades finales del vidrio bioactivo dependen de diversos parámetros, como el tipo y la concentración de los precursores, el pH de la solución, el tipo de catalizador utilizado, así como los tiempos y temperaturas empleados en cada etapa. Además, la incorporación de compuestos orgánicos o el uso de técnicas complementarias, como microemulsiones, permite modificar la morfología y mejorar la dispersión de las partículas [15].

2.1.3. Vidrios bioactivos dopados con Zinc

La incorporación de zinc (Zn) en la composición de los vidrios bioactivos ha demostrado mejorar significativamente sus propiedades biológicas y terapéuticas, haciendo de este tipo de materiales una alternativa prometedora para diversas aplicaciones clínicas, especialmente en el área de la regeneración ósea y dental. El Zn es un elemento esencial que participa en múltiples procesos fisiológicos, incluyendo la proliferación y diferenciación celular, la mineralización ósea y la actividad enzimática antioxidante. Cuando se incorpora a la matriz vítrea, generalmente en forma de óxido de zinc (ZnO), puede actuar como modificador o intermediario de red, afectando la conectividad

estructural del vidrio y, por lo tanto, su reactividad biológica y tasa de degradación [16], [17].

Una de las ventajas más estudiadas de los vidrios bioactivos dopados con Zn es su efecto positivo sobre las células óseas. Numerosos trabajos han demostrado que la liberación controlada de Zn^{2+} desde la matriz vítrea puede promover la viabilidad y proliferación de osteoblastos, incluso en concentraciones donde otros iones, como el cobre o la plata, podrían generar efectos citotóxicos [16], [18]. Además, el Zn también modula la expresión de genes relacionados con la osteogénesis y regula la actividad de enzimas antioxidantes, reduciendo el estrés oxidativo celular y favoreciendo un entorno propicio para la regeneración tisular [18].

Uno de los aspectos más destacados y prometedores del uso de Zn en vidrios bioactivos es su potente actividad antibacteriana. A diferencia de otros agentes antimicrobianos, como la plata, que pueden presentar toxicidad para células humanas a concentraciones eficaces, el Zn ofrece un equilibrio más favorable entre seguridad y eficacia. La acción bactericida del Zn se basa en varios mecanismos sinérgicos: la liberación de iones Zn^{2+} puede desestabilizar las membranas bacterianas, interferir con el metabolismo microbiano y promover la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), todo lo cual conduce a la inhibición del crecimiento o muerte celular de las bacterias [18], [19].

Diversos estudios han demostrado que los vidrios bioactivos dopados con Zn son capaces de inhibir la formación de biofilms bacterianos, estructuras complejas y altamente resistentes formadas por comunidades microbianas. En un trabajo clave realizado por Esfahanizadeh et al. [20], se observó que un vidrio nanoestructurado dopado con un 5 mol % de Zn presentaba una actividad antibiofilm significativamente superior al vidrio 45S5 tradicional, reduciendo la densidad de biofilms de patógenos periodontales como *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *A. actinomycetemcomitans*. Este efecto fue atribuido tanto a la acción directa del Zn como a su capacidad para alterar el entorno microbiano mediante cambios en el pH local.

En resumen, los vidrios bioactivos dopados con Zn representan una plataforma multifuncional que combina bioactividad, capacidad regenerativa y protección antimicrobiana. Su potencial para promover la proliferación celular, modular el estrés oxidativo y prevenir infecciones bacterianas los convierte en una alternativa atractiva

frente a otros materiales terapéuticos convencionales. La versatilidad en su composición y procesamiento, así como la posibilidad de ajustar la liberación de Zn mediante el control de la red vítrea, permiten adaptar sus propiedades a distintas necesidades clínicas, desde implantes ortopédicos y recubrimientos dentales hasta sistemas de liberación controlada en terapias regenerativas.

2.2. Deposición electroforética (EPD)

La deposición electroforética (EPD, por sus siglas en inglés) es una técnica versátil utilizada para la formación de recubrimientos mediante el movimiento de partículas cargadas suspendidas en un medio líquido, las cuales migran bajo la influencia de un campo eléctrico hacia un electrodo, donde se depositan de forma controlada [21], [22]. Esta tecnología, que combina principios electrocinéticos y de ingeniería de materiales, se ha consolidado como una alternativa eficiente y económica frente a otras técnicas como *dip-coating*, *spray-coating* o *spin-coating*.

Una de las principales ventajas de la EPD radica en su capacidad para generar recubrimientos uniformes sobre sustratos de geometría compleja, además de permitir el ajuste fino del espesor del depósito mediante la variación de parámetros como el voltaje, el tiempo de deposición, la distancia entre electrodos y la concentración de partículas [22]. Su aplicabilidad abarca una extensa gama de materiales, incluyendo cerámicos, polímeros, compuestos híbridos e incluso nanopartículas funcionalizadas.

Según Besra y Liu [22], el proceso puede dividirse en dos etapas fundamentales: la migración electroforética de partículas en suspensión y su posterior coagulación sobre la superficie del electrodo. Este modelo permite un diseño racional del proceso según las propiedades fisicoquímicas del sistema y las necesidades del recubrimiento final. La Figura 1 presenta una representación general del principio básico de la EPD, incluyendo el montaje experimental típico, la dirección del campo eléctrico y el movimiento de las partículas cargadas.

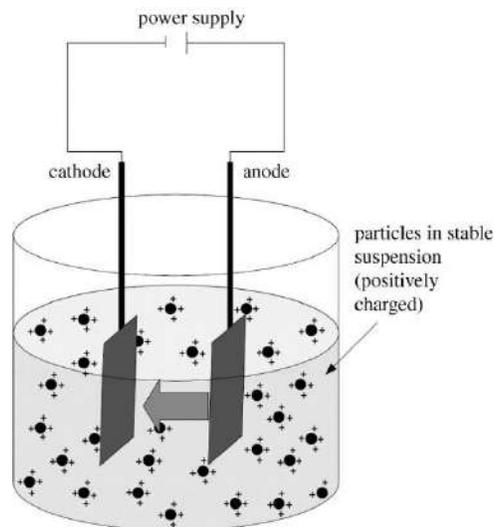


Figura 1. Representación esquemática del principio de la deposición electroforética, mostrando la migración de partículas cargadas hacia el electrodo bajo un campo eléctrico y el montaje experimental típico [21].

En el ámbito biomédico, como detallan Boccaccini et al. [21], la EPD ha demostrado un gran potencial en la fabricación de recubrimientos bioactivos para implantes metálicos, así como en la incorporación de biomoléculas, nanopartículas terapéuticas y factores de crecimiento. Su capacidad para trabajar a temperatura ambiente y en medios acuosos o alcohólicos suaves permite preservar la integridad funcional de los materiales sensibles. Asimismo, ha sido utilizada para la fabricación de andamios tridimensionales para ingeniería de tejidos, películas multicapa y sistemas de liberación controlada.

En resumen, la EPD combina fundamentos científicos sólidos con una aplicabilidad práctica excepcional, lo que la posiciona como una técnica clave para el desarrollo de materiales avanzados en sectores como la biomedicina, la electrónica, la energía y la industria cerámica [21], [22].

2.2.1. Quitosano

El quitosano es un polisacárido catiónico natural derivado de la desacetilación de la quitina, que se encuentra abundantemente en la naturaleza como componente estructural del exoesqueleto de crustáceos y en las paredes celulares de hongos. Su estructura química está compuesta por unidades repetidas de D-glucosamina y N-acetil-

D-glucosamina, unidas por enlaces β -(1 \rightarrow 4), como se observa en la Figura 2. La presencia de grupos amino libres ($-\text{NH}_2$) en la D-glucosamina es responsable de muchas de sus propiedades fisicoquímicas y biológicas [23].

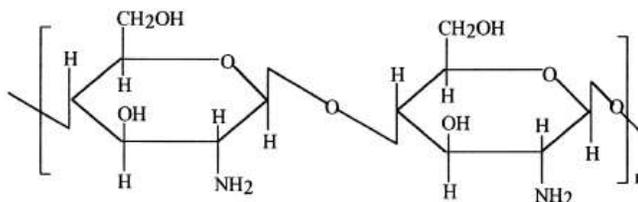


Figura 2. Estructura molecular del Quitosano [23].

La proporción de unidades desacetiladas en la cadena polimérica determina el grado de desacetilación (DD), que influye directamente en su solubilidad, reactividad química y comportamiento biológico. Para que un polímero sea considerado quitosano y adquiera su carácter catiónico en medio ácido, debe poseer un DD superior al 50 % [24].

Gracias a su biocompatibilidad, biodegradabilidad, hemocompatibilidad y ausencia de toxicidad, el quitosano ha sido ampliamente estudiado como biomaterial para aplicaciones médicas. Sus propiedades antimicrobianas, su capacidad para formar películas, su estabilidad química y su habilidad para promover la adhesión celular y quelar iones metálicos lo hacen apto para una gran variedad de aplicaciones, que incluyen la cicatrización de heridas, sistemas de liberación de fármacos, ingeniería de tejidos y recubrimientos de implantes [25], [26].

Una de sus aplicaciones más relevantes en ingeniería de superficies es su uso como agente aglutinante y funcional en procesos de deposición electroforética (EPD). En solución acuosa ácida, las macromoléculas de quitosano se protonan, adquiriendo carga positiva. Durante el proceso EPD, estas macromoléculas migran hacia el cátodo bajo la influencia de un campo eléctrico. Allí, el aumento local del pH por electrólisis del agua induce la desprotonación de los grupos amino, lo que provoca la formación de un depósito insoluble sobre el electrodo [27].

Cuando se combinan partículas inorgánicas, como los vidrios bioactivos basados en sílice, con quitosano en una suspensión acuosa, el proceso de co-deposición está determinado por la interacción electrostática entre el polímero y las partículas cargadas.

El quitosano, además de mejorar la adherencia del recubrimiento, actúa como agente aglutinante, previniendo la formación de grietas y mejorando la homogeneidad del depósito [27]. Sin embargo, la disolución de partículas durante el proceso puede modificar el pH y la conductividad de la suspensión, lo que puede reducir la velocidad de deposición del polímero [28].

Estas propiedades hacen del quitosano un polímero extremadamente versátil, útil tanto como fase activa en sistemas biofuncionales como en el diseño de recubrimientos híbridos con aplicaciones ortopédicas, odontológicas y en medicina regenerativa.

2.4. Técnicas de caracterización

2.4.1. Difracción de rayos X (XRD)

La difracción de rayos X (XRD) es una técnica clave para caracterizar la estructura cristalina y amorfa de las nanopartículas, brindando información sobre las fases presentes, el grado de cristalinidad y parámetros estructurales como el tamaño cristalino y la disposición atómica. En nanopartículas de biovidrio, resulta especialmente útil para confirmar su estructura amorfa y evaluar los cambios estructurales tras su inmersión en solución fisiológica simulada (SBF), que imita el entorno del cuerpo humano.

2.4.2. Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica no destructiva altamente eficaz para el análisis en el infrarrojo. Al exponer una muestra a radiación IR, parte es absorbida y otra transmitida; el detector registra una señal que, tras aplicar una transformada de Fourier, genera un espectro legible que actúa como una huella molecular. Este espectro permite identificar grupos funcionales clave, como el Si-O-Si, gracias a sus bandas características. Según el modo de adquisición (transmisión o reflexión), pueden emplearse distintas técnicas de muestreo con ventajas y limitaciones específicas.

2.4.3. Microscopía Electrónica de Barrido - Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (SEM - EDX)

La Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y la Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDX) son técnicas complementarias clave para caracterizar nanopartículas.

El SEM ofrece imágenes de alta resolución que revelan morfología, tamaño y distribución de partículas. El EDX, acoplado al SEM, permite un análisis composicional cualitativo y cuantitativo, identificando elementos y sus proporciones. Juntas, estas técnicas permiten correlacionar propiedades estructurales y químicas, asegurando la uniformidad y pureza del material.

2.4.4. Ángulo de contacto

La medición del ángulo de contacto es una técnica clave para analizar las propiedades superficiales de materiales sólidos. Este ángulo, formado entre una gota de líquido y la superficie sólida en presencia de vapor, depende de las interacciones entre las fases sólido, líquido y vapor.

Proporciona una medida directa de la mojabilidad: superficies con ángulos menores a 90° son hidrofílicas, mientras que valores mayores indican hidrofobicidad. Además, permite inferir indirectamente la energía superficial del sólido. El equilibrio entre las tensiones interfaciales se describe mediante la ecuación:

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \times \cos \theta \quad (1)$$

donde γ_{SV} , γ_{SL} y γ_{LV} son las tensiones superficiales de las interfases sólido/vapor, sólido/líquido y líquido/vapor, respectivamente, y θ es el ángulo de contacto (Figura 3).

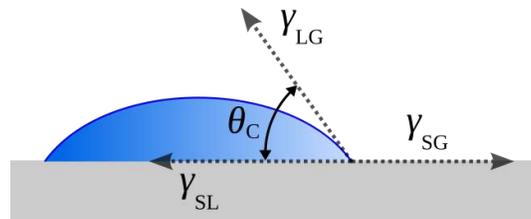


Figura 3. Representación esquemática del ángulo de contacto de una gota de líquido sobre una superficie sólida, mostrando el equilibrio de tensiones superficiales entre las fases sólido/vapor, sólido/líquido y líquido/vapor.

Para su medición, se emplean goniómetros o sistemas de video, que capturan la imagen de la gota y permiten calcular con precisión el ángulo en la línea de contacto.

2.4.5. Test de adhesión

El ensayo de adhesión por rayado y cinta adhesiva, regulado por la norma ISO 2409 [29], evalúa la adherencia de un recubrimiento al sustrato mediante una inspección visual tras aplicar una rejilla de cortes (cross-cut) y retirar una cinta adhesiva normalizada.

El procedimiento consiste en realizar cortes paralelos y perpendiculares con una cuchilla especial hasta alcanzar el sustrato sin dañarlo. La separación entre cortes depende del espesor del recubrimiento, según lo establece la norma. Luego, se aplica y retira la cinta adhesiva en un ángulo de 60° a 90°, y se observa el desprendimiento.

La adhesión se clasifica del 0 al 5: clase 0 indica adhesión perfecta, mientras que clase 5 señala un desprendimiento superior al 65%. Es un método cualitativo, rápido y reproducible, ampliamente utilizado en recubrimientos metálicos, pinturas y capas protectoras.

2.4.6. Caracterización electroquímica

Debido a la imposibilidad de estudiar directamente cómo se comporta un implante metálico frente a la corrosión dentro del cuerpo humano, se recurre a métodos de caracterización electroquímica que permiten simular, de forma acelerada y en condiciones controladas de laboratorio, la interacción del material con el entorno fisiológico. Para ello, se emplea un fluido simulado que reproduce las condiciones del plasma sanguíneo en cuanto a temperatura, pH y concentración de iones inorgánicos. Sin embargo, esta solución no incluye los compuestos orgánicos presentes en el organismo, los cuales también pueden influir en la respuesta del implante.

Estos estudios se realizan en solución fisiológica simulada (SBF) dentro de celdas electroquímicas mantenidas a 37 °C, utilizando un sistema de tres electrodos: el material a evaluar como electrodo de trabajo, un electrodo de referencia y un contraelectrodo.

Cuando se analiza un metal con recubrimiento, las reacciones de oxidación se ven restringidas a las zonas donde el electrolito logra acceder al metal base, es decir, en defectos o poros del recubrimiento. Para evaluar la respuesta del material recubierto en comparación con el metal sin tratar, a distintos tiempos de exposición, se aplican dos técnicas principales: la espectroscopía de impedancia electroquímica y la curva de polarización potenciodinámicas.

2.4.6.1. Espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS)

La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) es una técnica analítica no destructiva utilizada en la caracterización de interfaces electroquímicas. Esta técnica permite estudiar la respuesta de un sistema a una perturbación sinusoidal de pequeña amplitud aplicada a través de un rango de frecuencias. Se implementa comúnmente en sistemas electroquímicos para comprender procesos fundamentales, evaluar la cinética de reacciones redox y caracterizar la resistencia de la interfaz electroquímica.

La impedancia Z se define como la relación entre la amplitud de la onda sinusoidal de la señal aplicada $V(t)$ y la respuesta resultante $I(t)$, representada por la fórmula:

$$Z(W) = \frac{V(t)}{I(t)} = \frac{V_0 \sin(\omega.t)}{I_0 \sin(\omega.t + \theta)} \quad (2)$$

Esta relación compleja se expresa en forma polar como la magnitud de la impedancia ($|Z|$) y el ángulo de fase (ϕ). El espectro de impedancia proporciona información detallada sobre la resistencia, capacitancia y procesos difusionales en el sistema estudiado.

La representación gráfica más común de los datos de EIS es el diagrama de Nyquist y el gráfico de Bode. El diagrama de Nyquist representa la impedancia compleja en un plano de coordenadas imaginarias y reales, mientras que el gráfico de Bode muestra la respuesta en frecuencia en una escala logarítmica (Figura 4).

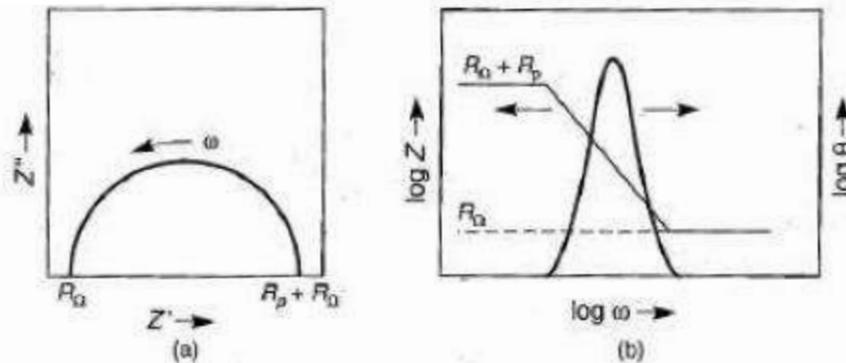


Figura 4. (a) Gráfico de Nyquist, (b) Gráfico de Bode.

En el diagrama de Nyquist, la resistencia de la solución se proyecta sobre el eje real, y los elementos capacitivos o inductivos se representan en el eje imaginario. La

frecuencia angular (ω) y la constante de tiempo (τ) están relacionadas por $\tau = 1/\omega$. A muy alta frecuencia, el componente imaginario desaparece, quedando únicamente la resistencia de la solución, mientras que, a muy bajas frecuencias, nuevamente desaparece la componente imaginaria, pero queda la suma de la resistencia de la solución y la resistencia de polarización.

El gráfico de Bode traza la magnitud de la impedancia y el ángulo de fase frente a la frecuencia. Este tipo de representación permite identificar la frecuencia de relajación de los componentes del sistema y evaluar la respuesta a diferentes frecuencias.

2.4.6.2. Curvas de polarización potenciodinámicas

Las curvas de polarización constituyen una técnica de análisis electroquímico que implica un cierto grado de daño en la muestra, por lo que se la considera destructiva. Este ensayo consiste en aplicar un barrido potenciodinámico, en el cual se incrementa progresivamente el sobrepotencial (ya sea en dirección positiva o negativa) respecto al potencial de corrosión, mientras se registran las corrientes que se generan en el sistema. Para obtener una visión más completa del comportamiento electroquímico, es común revertir el sentido del barrido una vez alcanzado un valor umbral de potencial o corriente [30].

El análisis de estas curvas permite identificar distintos potenciales clave que caracterizan el desempeño del material en el medio electrolítico. Por ejemplo, en la Figura 5 se muestra una curva de polarización típica de un sustrato de aleación de titanio (Ti-6Al-4V). Los datos obtenidos suelen representarse en gráficos con escala semilogarítmica, utilizando la densidad de corriente como variable.

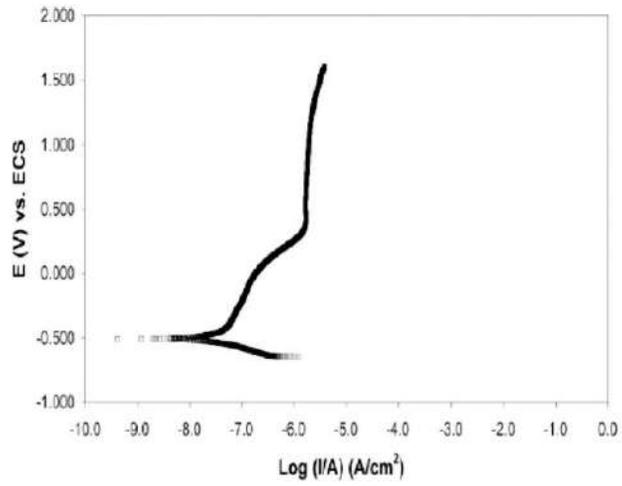


Figura 5. Curva de polarización característica para un sustrato de aleación de titanio (Ti6A-4V).

Aunque los potenciales aplicados en este tipo de ensayos exceden los valores que el material enfrentará durante su vida útil, estos análisis brindan información valiosa sobre su comportamiento bajo condiciones exigentes.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos generales

Se espera diseñar, optimizar y probar un sistema de implante-recubrimiento, que mejore las características bioactivas y antibacterianas, para utilizar como implantes permanentes de aleación de titanio. El recubrimiento a base de quitosano y biovidrio se espera que tenga características biocompatibles, y bioactivas. También, mediante la incorporación de Zinc como dopante en las partículas, se pretende inducir un efecto antibacterial para evitar infecciones.

3.2. Objetivos específicos

El proyecto se divide en dos grandes objetivos específicos: diseñar primero, y evaluar después.

3.2.1. Diseño

- Sintetizar por el método sol-gel los vidrios bioactivos sin dopar y dopados con Zinc.
- Estudiar los parámetros morfológicos, químicos y físicos de los materiales de partida (sustratos de Ti6Al4V, vidrio bioactivo dopado con Zn y sin dopar).
- Optimizar parámetros de EPD para generar recubrimientos homogéneos, continuos y sin defectos en chapas de Ti6Al4V.

3.2.2. Evaluación

- Caracterizar fisicoquímicamente las nanopartículas sintetizadas, a fin de evaluar su morfología, estructura y composición mediante técnicas como SEM, DRX y FTIR.
- Estudiar la respuesta *in vitro* inorgánica de los polvos de vidrio bioactivo mediante inmersión en solución fisiológica simulada (SBF), por técnicas ópticas, de microscopía electrónica, espectroscópicas y de difracción.
- Estudiar la viabilidad/proliferación celular de los polvos de vidrio bioactivo producidos mediante ensayos WST.

- Estudiar la respuesta antibacterial de los polvos dopados con Zinc mediante ensayos indirectos.
- Caracterizar la mojabilidad, espesor y morfología de los sistemas de recubrimientos obtenidos. Analizar su adherencia.
- Analizar y simular la respuesta a la corrosión de los recubrimientos generados mediante ensayos electroquímicos en condiciones simuladas.
- Estudiar la respuesta *in vitro* inorgánica de los recubrimientos mediante inmersión en solución fisiológica simulada (SBF), por técnicas ópticas, de microscopía electrónica, espectroscópicas y de difracción.
- Estudiar la viabilidad/proliferación celular en los recubrimientos mediante ensayos WST, imágenes SEM y fluorescencia.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Síntesis de nanopartículas

La síntesis de nanopartículas de biovidrio bioactivo dopadas con iones (BGNs) se llevó a cabo mediante un proceso sol-gel. Todos los reactivos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (Alemania) y utilizados tal como se recibieron, sin purificación adicional.

El procedimiento comenzó con la preparación de dos soluciones separadas: la Solución A, compuesta por 18mL de tetraetilortosilicato (TEOS) y 72mL de etanol (EtOH), y la Solución B, preparada mezclando 27mL de hidróxido de amonio (NH₄OH, 28%), 48mL de etanol (EtOH) y 150mL de agua desionizada (DIW).

La Solución A se añadió a la Solución B bajo agitación constante. Después de 30 minutos, se agregó nitrato de calcio tetrahidratado (Ca (NO₃)₂·4H₂O), seguido de un período adicional de agitación de 30 minutos. Posteriormente, se incorporó nitrato de zinc hexahidratado (Zn (NO₃)₂·6H₂O) a la mezcla. La reacción se dejó bajo agitación durante 1,5 horas para asegurar la homogeneidad.

El precipitado resultante se recolectó mediante centrifugación (Centrifuge 5430R, Eppendorf, Alemania) a 7380 rpm durante 10 minutos, y se descartó la fase líquida. El precipitado se lavó dos veces con agua desionizada y una vez con etanol, centrifugando cada vez bajo las mismas condiciones. El precipitado purificado se secó en un horno a 60 °C durante toda la noche.

El material seco se molió utilizando un mortero, y posteriormente se sinterizó en un horno a 700 °C durante 2 horas, con una velocidad de calentamiento de 2 °C/min. Se lograron diferentes niveles de dopaje con zinc variando las cantidades de precursores de zinc y calcio utilizadas, como se detalla en la tabla 1:

Tabla 1. Cantidades de reactivos utilizadas para producir BGNs dopadas con Zn.

Muestra	Precursor de Zinc [g]	Precursor de Calcio [g]
Sin dopar	-	8.029
5 Zn-BGN	1.699	6.747
10 Zn-BGN	3.399	5.397
15 Zn-BGN	5.099	4.048

Además, la composición molar nominal de las BGNs sintetizadas se resume en la tabla 2, donde se muestran los porcentajes molares de SiO₂, CaO y ZnO correspondientes a cada muestra:

Tabla 2. Cantidades de reactivos utilizadas

Muestra	SiO ₂ (mol%)	CaO (mol%)	ZnO (mol%)
Sin dopar	70	30	0
5 Zn-BGN	70	25	5
10 Zn-BGN	70	20	10
15 Zn-BGN	70	15	15

4.2. Caracterización de las nanopartículas

4.2.1. Difracción de Rayos X (XRD)

Se realizaron análisis de difracción de rayos X (XRD) utilizando un difractómetro de rayos X (MiniFlex 600, Rigaku, EE. UU.) en un rango de 2θ de 10-80°. Se utilizó un tamaño de paso de 0,02°, con una velocidad de 3°/min.

4.2.2. Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Se realizó espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) utilizando un espectrofotómetro (IRAffinity-1S, SHIMADZU, Japón) en modo de transmitancia, con un rango de número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} .

4.2.3. Tamaño de partícula y morfología (SEM)

El análisis de morfología se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (Zeiss Auriga 4750). La distribución del tamaño de partícula se determinó utilizando el software ImageJ (NIH, EE. UU.).

4.2.4. Espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (EDX)

Se empleó la espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (EDX) (Bruker, Oxford Instruments) para verificar si el aumento de la cantidad de precursor de Zn durante la síntesis elevaba efectivamente el contenido de Zn en las nanopartículas de biovidrio.

4.3. Test de bioactividad *in vitro*

La formación de apatita en la superficie de un biomaterial se considera un paso clave para establecer un fuerte enlace químico entre el implante y los tejidos corporales circundantes. Para evaluar la bioactividad de un material al ser introducido en el cuerpo humano, normalmente se lo sumerge en un Solución Fisiológica Simulada (SBF, por sus siglas en inglés). Aunque la formación de hidroxiapatita tras un período específico de inmersión en una solución que imita el entorno corporal humano sugiere una posible bioactividad, esto no constituye una prueba definitiva. Se requieren estudios adicionales *in vivo* para confirmar las propiedades bioactivas del material.

4.3.1. Preparación de solución fisiológica simulada (SBF)

Las BGNs dopadas con Zn fueron estudiadas para evaluar su capacidad de formación de apatita en un fluido corporal simulado (SBF) con concentraciones iónicas aproximadamente iguales a las del plasma sanguíneo humano.

El SBF se preparó siguiendo el método de Kokubo [31]. Los reactivos utilizados y sus cantidades correspondientes se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Orden y cantidad de reactivos necesarios para producir 1000 ml de SBF.

Orden	Reactivo	Pureza [%]	Cantidad para preparar 1L de SBF [g]
1	Cloruro de sodio (NaCl)	99.5	8.035
2	Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	99.5	0.355
3	Cloruro de potasio (KCl)	99.5	0.225
4	Fosfato de hidrógeno de dipotasio trihidratado (K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O)	99.0	0.231
5	Cloruro de magnesio hexahidratado (MgCl ₂ ·6H ₂ O)	98.0	0.311
6	1M (mol/l) Ácido clorhídrico, 1M-HCl	-	39 ml
7	Cloruro de calcio (CaCl ₂)	95.0	0.292
8	Sulfato de sodio (Na ₂ SO ₄)	99.0	0.072
9	Tris-hidroximetil aminometano: ((HOCH ₂) ₃ CNH ₂) (Tris)	99.0	6.118
10	1M (mol/l) Ácido clorhídrico, 1M-HCl	-	5 - 10 ml

Para preparar 1000 ml de SBF, se vertieron 700 ml de agua destilada e intercambiada iónicamente en un Vicker plástico de 1000 ml, equipado con una barra de agitación magnética. El agua se calentó y se mantuvo a una temperatura de $36.5 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ bajo agitación continua. Durante todo el procedimiento, se tuvo cuidado de asegurar que la solución permaneciera clara, incolora y libre de depósitos en la superficie del recipiente.

Los reactivos, que se detallan en la tabla 3, se disolvieron secuencialmente, del 1° al 8°, siguiendo el orden especificado. Los 9° y 10° reactivos, Tris y HCl

respectivamente, se añadieron de la siguiente manera: pequeñas cantidades de Tris se introdujeron cuidadosamente para elevar gradualmente el pH a 7.45 ± 0.01 . En este punto, se añadieron gotas de HCl para reducir ligeramente el pH a 7.42 ± 0.1 . Esta alternancia de Tris y HCl se repitió hasta que se disolvió toda la cantidad de Tris, realizándose el ajuste final utilizando HCl para lograr un pH de exactamente 7.40.

Finalmente, se llevó la solución a un volumen total de 1000 ml enjuagando el Vicker con agua destilada adicional. El SBF preparado se almacenó en un refrigerador a $5-10^{\circ}\text{C}$ y se utilizó dentro de los 30 días para asegurar su estabilidad y fiabilidad.

4.3.2. SBF Test

El volumen de SBF utilizado en cada muestra se calculó mediante la ecuación 3 [31].

$$V_s = S_a/10 \quad (3)$$

Donde V_s es el volumen de SBF (ml) y S_a es el área superficial aparente de la muestra (mm^2).

Para el proceso de incubación, se midieron 45 mg de cada polvo de BGN y se sumergieron en 30 ml de SBF preparado en tubos Falcon. Los tubos se colocaron luego en un incubador (IKA KS 3000 I control) y se mantuvieron a una temperatura constante de 37°C . Las muestras se incubaron durante duraciones variables de 3, 7, 14 y 21 días, y el fluido se renovó dos veces a la semana.

Para cada una de las muestras, se decidió realizar réplicas con el fin de compensar la pérdida de masa y no interferir con la caracterización posterior. Se utilizó una sola muestra para las muestras de 3 días, 2 réplicas para las muestras de 7 días, 4 réplicas para las muestras de 14 días y 6 réplicas para las muestras de 21 días.

El polvo se lavó inmediatamente con agua desionizada (DI) y luego con acetona para finalizar cualquier reacción [32].

4.4. Prueba de viabilidad celular

Para evaluar los efectos de los productos de disolución de las nanopartículas, se llevó a cabo un ensayo de biocompatibilidad indirecto utilizando células de pre-osteoblastos humanos MG-63. Las células fueron cultivadas en medio DMEM con glucosa (1 g/L), suplementado con un 10% de suero fetal bovino (FBS) y un 1% de penicilina/estreptomina (P/S), y mantenidas a 37°C en una atmósfera con 5% de CO_2 .

Las células MG-63 se sembraron en placas de 24 pocillos a una densidad de 50.000 células por pocillo y se incubaron durante 24 horas. Posteriormente, los biovidrios dopados con zinc y sin dopar, previamente esterilizados en horno a 160 °C durante 3 horas, fueron preacondicionados en medio DMEM durante 24 horas a una concentración de 5 mg/ml. Para obtener los extractos (DMEM con productos de disolución), las suspensiones fueron centrifugadas y filtradas utilizando filtros estériles de jeringa de 0.22 µm. Los extractos se diluyeron hasta alcanzar una concentración final de 1 mg/ml.

A continuación, los extractos se incubaron con las células MG-63 en las placas de 24 pocillos (800 µl por pocillo) durante 24, 48 y 72 horas a 37 °C. La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo WST-8 (Kit CCK-8, Sigma-Aldrich). Tras la incubación con una solución al 2% v/v de WST-8 en DMEM durante 3 horas, se transfirieron 100 µl de cada pocillo a una placa de 96 pocillos para medir la absorbancia a 450 nm utilizando un lector de microplacas (Thermo Scientific GENESYS 30, Alemania).

La viabilidad celular (%) se calculó utilizando la ecuación 4:

$$Viabilidad\ celular\ (\%) = \left(\frac{OD_{muestra} - OD_{blanco}}{OD_{control} - OD_{blanco}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Las células MG-63 cultivadas únicamente con DMEM se utilizaron como control positivo (CNT) y la solución de WST-8 pura como blanco. El experimento se realizó por triplicado para cada muestra. La absorbancia del control se normalizó al 100%.

4.5. Prueba de efecto antibacteriano

Para evaluar el efecto de los productos de disolución iónica de los biovidrios dopados con Zinc y sin dopar sintetizados, se realizó un estudio antibacteriano indirecto utilizando *E. coli* (Gram-negativa, ATCC25922) y *S. aureus* (Gram-positiva, ATCC25923). Las bacterias *E. coli* y *S. aureus* fueron incubadas en medio LB durante 24 horas a 37 °C. Posteriormente, la densidad óptica (OD) de ambas bacterias fue ajustada a 0.015 (Thermo Scientific GENESYS 30, Alemania) a 600 nm.

En resumen, tras esterilizar las nanopartículas a 160 °C durante 3 horas en un horno (Naberthem, Alemania) y luego mediante luz UV por 1 hora, estas se añadieron al medio LB a una concentración de 5 mg/ml, seguido de una incubación por 24 horas a 37 °C. Para recolectar el extracto (sobrenadante libre de partículas), los medios LB que contenían las partículas fueron centrifugados y filtrados utilizando filtros con poros de

0.22 µm y luego diluidos a 1 mg/ml. Posteriormente, los extractos se añadieron a placas de 24 pocillos (1 ml de cada extracto) junto con 20 µl de suspensión bacteriana a una concentración de 10⁷ UFC/ml, y se incubaron durante 8, 10 y 24 horas a 37 °C.

La suspensión de células bacterianas en medio LB fue utilizada como control. El experimento se realizó por triplicado para cada muestra. Después de cada punto temporal, se midieron los valores de OD y se calculó la viabilidad bacteriana relativa como se muestra en la ecuación 5:

$$\text{Actividad bacteriana relativa} = \left(\frac{OD_{\text{muestra}}}{OD_{\text{control}}} \right) \times 100 \quad (5)$$

4.6. Deposición electroforética de recubrimientos de quitosano/BGNs

4.6.1. Preparación de los sustratos

Las muestras utilizadas para la deposición de recubrimientos consistieron en chapas de aleación de titanio (Ti6Al4V) con dimensiones aproximadas de 3 cm de largo, 1,5 cm de ancho y 1 mm de espesor. Para su preparación, las muestras fueron inicialmente montadas en resina epoxi, con el fin de facilitar su manipulación y garantizar una superficie estable durante el proceso de pulido.

El montaje se realizó utilizando una resina epoxi comercial (EpoClear®, Schmitz Metallographie GmbH, Alemania), que se mezcló en una proporción de 100 partes de resina por 55 partes de endurecedor, conforme a las recomendaciones del fabricante. La mezcla se vertió en moldes adecuados, asegurándose de que las muestras quedaran completamente cubiertas, y se dejó curar a temperatura ambiente durante toda la noche. Una vez completado el proceso de curado, las muestras fueron cuidadosamente desmoldadas de manera manual, quedando listas para los siguientes pasos del procedimiento experimental.

Posteriormente, las muestras fueron sometidas a un proceso de pulido manual, siguiendo el procedimiento habitual empleado para la preparación de sustratos destinados a micrografías metalográficas. El objetivo de esta etapa fue obtener una superficie lisa y libre de imperfecciones, apta para la posterior deposición de recubrimientos.

El pulido se llevó a cabo de manera secuencial utilizando papeles de lija de carburo de silicio de diferentes granulometrías, comenzando con una lija de grano 80

para eliminar las irregularidades más gruesas de la superficie. Luego, se utilizaron lijas con granos progresivamente más finos (120, 240, 400, 600, 800, 1200 y 1500) para reducir la rugosidad y conseguir un acabado homogéneo. Durante todo el procedimiento, se empleó agua como lubricante para minimizar el sobrecalentamiento de las muestras y evitar la introducción de nuevas tensiones en el material.

Una vez concluido el pulido, las muestras presentaban una superficie suave y uniforme, lista para el tratamiento químico posterior.

Tras el pulido, las muestras fueron sometidas a un ataque químico con el objetivo de modificar su topografía superficial y favorecer la adherencia de los recubrimientos. Para ello, se preparó una solución compuesta por peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 50% y ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 50% en volumen. Debido a la naturaleza exotérmica de la reacción entre ambos componentes, la mezcla se preparó en un baño de hielo para controlar el aumento de temperatura y evitar reacciones violentas.

Las muestras se sumergieron en la solución durante 1 hora y 30 minutos a temperatura ambiente, asegurando una modificación homogénea de toda la superficie. En la figura 6 se muestran imágenes del proceso de ataque químico de las muestras.



Figura 6. Imágenes del proceso de ataque químico de las muestras.

Finalizado el ataque químico, las muestras se enjuagaron cuidadosamente con abundante agua destilada y se dejaron secar al aire. Posteriormente, para eliminar

cualquier residuo o contaminante adherido, las muestras fueron sometidas a un baño ultrasónico en etanol durante 20 minutos.

Tras el primer proceso de limpieza, con el fin de facilitar su posterior manipulación y seguimiento durante los ensayos, cada muestra fue identificada individualmente mediante un marcado superficial.

Una vez marcadas, se llevó a cabo una segunda etapa de limpieza por ultrasonido para garantizar la eliminación de cualquier residuo generado durante el marcado. Las muestras fueron sometidas a baños ultrasónicos secuenciales: primero 5 minutos en etanol, luego 5 minutos en acetona y finalmente 5 minutos en agua destilada.

Este protocolo de limpieza permitió obtener superficies limpias y libres de contaminantes, preparadas para el proceso de deposición electroforética.

Finalmente, con el objetivo de delimitar la zona a recubrir durante la deposición electroforética, se procedió a cubrir cuidadosamente la mitad de la superficie de cada muestra utilizando cinta aislante. Esta operación se realizó con especial atención para evitar cualquier tipo de contaminación o daño en las superficies ya preparadas. La cinta actuó como una barrera física, permitiendo definir de manera precisa el área expuesta al recubrimiento, lo que facilita la posterior evaluación de la adherencia y uniformidad del recubrimiento obtenido.

4.6.2. Búsqueda de parámetros

Con el objetivo de optimizar las condiciones de deposición electroforética de recubrimientos de quitosano/vidrio bioactivo, se implementó un diseño experimental basado en el método de Taguchi, buscando maximizar el rendimiento de deposición (*deposition yield*).

El diseño experimental utilizado fue el método Taguchi, específicamente un diseño L4 (2^3), que permite evaluar tres factores con dos niveles cada uno en solo 8 experimentos. Los factores considerados fueron el tipo de solvente (metanol o etanol), el voltaje de deposición (10 V o 15 V) y el tiempo de deposición (2 minutos o 3 minutos). Cada experimento fue replicado tres veces para asegurar la consistencia y precisión de los resultados. En la tabla 4 se presenta el diseño experimental con las combinaciones de los factores y sus respectivos niveles.

Tabla 4. Combinación de factor y nivel para cada experimento.

Experimento	Voltaje (V)	Tiempo (min)	Solvente
1	10	2	Metanol
2	10	2	Etanol
3	10	3	Metanol
4	10	3	Etanol
5	15	2	Metanol
6	15	2	Etanol
7	15	3	Metanol
8	15	3	Etanol

Para cada condición experimental, se prepararon las suspensiones correspondientes y se realizaron las deposiciones utilizando un sistema electroforético convencional, manteniendo constante la distancia entre los electrodos (1 cm) y la geometría de las muestras. Posteriormente, las muestras fueron secadas a temperatura ambiente. La composición de las suspensiones se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Composición de cada suspensión utilizada en los recubrimientos.

Componente	Concentración
Quitosano	0.5 g/l
Nanopartículas de biovidrio	7.5 g/l
Ácido acético	1%
Agua destilada	20%
Etanol o Metanol	79%

En la figura 7 se puede observar una fotografía del set-up experimental utilizado para llevar a cabo la deposición de los recubrimientos.

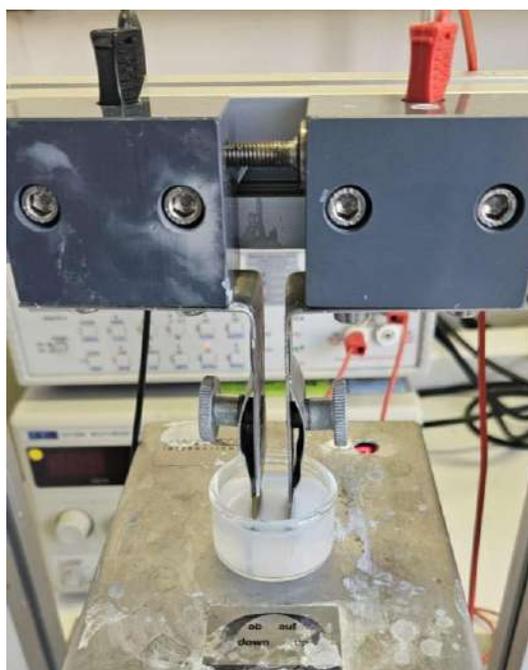


Figura 7. Configuración del equipo para realizar los recubrimientos por deposición electroforética.

El rendimiento de deposición se determinó midiendo la masa de las muestras antes y después del proceso, utilizando una balanza analítica de alta precisión. La

diferencia de masa entre la muestra recubierta y la muestra inicial, dividida por la superficie recubierta, se tomó como el *deposition yield*.

Una vez finalizadas todas las pruebas, se calcularon los valores promedio de *deposition yield* para cada combinación de parámetros. Finalmente, se seleccionaron las dos condiciones experimentales que presentaron los mayores valores de deposición para caracterizarlas de forma más completa y así definir los parámetros finales.

4.6.2. Selección de parámetros

Una vez identificadas las dos combinaciones de parámetros que presentaron los mayores valores de *deposition yield* en el paso anterior, se procedió a una evaluación adicional para seleccionar el mejor set de parámetros.

Para ello, se realizaron ensayos de adhesión mediante el método conocido como Tape-test, siguiendo los lineamientos de la norma ISO 2409:1999 [29]. El procedimiento consistió en realizar una serie de cortes cruzados sobre el recubrimiento utilizando una cuchilla, aplicar una cinta adhesiva sobre la zona cortada y retirar la cinta de manera rápida y controlada. La cantidad de recubrimiento desprendido se evaluó visualmente, proporcionando una medida cualitativa de la adherencia del recubrimiento al sustrato.

Adicionalmente, los recubrimientos obtenidos bajo ambas condiciones seleccionadas fueron analizados mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para evaluar la morfología superficial y la homogeneidad de las capas depositadas.

La combinación de resultados obtenidos del tape-test y las imágenes SEM permitió seleccionar el set de parámetros óptimo, considerando tanto la tasa de deposición como la calidad estructural y la adhesión del recubrimiento.

4.7. Caracterización de los recubrimientos

Además de la evaluación de la adherencia y la morfología superficial, se realizaron otras caracterizaciones complementarias para analizar las propiedades de los recubrimientos seleccionados.

Por un lado, se llevó a cabo un análisis por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para identificar los grupos funcionales presentes en las muestras y confirmar la presencia de los componentes del recubrimiento, como el quitosano y el biovidrio.

Por otro lado, se evaluó el ángulo de contacto (ángulo de mojado) con agua destilada sobre la superficie de los recubrimientos, con el objetivo de analizar su hidrofiliidad, una propiedad clave en aplicaciones biomédicas debido a su influencia en la interacción inicial con las células. La medición se realizó depositando una gota de agua sobre la superficie del recubrimiento y determinando el ángulo formado entre la gota y la superficie mediante un sistema de análisis de imagen.

Los ensayos se efectuaron en modo estático utilizando un equipo DSA30 (Krüss, Alemania) y gotas de agua desionizada como líquido de prueba. Se caracterizaron tanto el sustrato sin recubrimiento como el sistema multicapa final, para comparar la mojabilidad de ambas superficies. Los resultados corresponden al promedio de diez mediciones realizadas en distintas zonas de cada muestra.

4.8. Ensayos electroquímicos

Con el objetivo de evaluar cómo el recubrimiento afecta el comportamiento a la corrosión de la aleación de titanio utilizada, se llevaron a cabo ensayos acelerados en la unidad electroquímica Gamry Instruments Reference 600 (Figura 8).

GAMRY
INSTRUMENTS
Reference 600™
Potentiostat/Galvanostat/ZRA
Operator's Manual



Figura 8. Unidad electroquímica utilizada.

Cada condición se estudió por duplicado con muestras de 4.5 cm², se emplearon muestras en dos condiciones: a tiempo 0 (sumergidas al inicio del ensayo) y muestras previamente inmersas durante 14 días. Durante ese tiempo las muestras se mantuvieron en estufa a 37°C y se recambió la solución 2 veces por semana.

La celda diseñada para las mediciones (Figura 9) consistió en un vaso de vidrio en el cual se colocó SBF, y una tapa fabricada de polioximetileno por la cual se ingresaron los electrodos. La muestra en estudio se utilizó como electrodo de trabajo, mientras que se emplearon un electrodo de referencia de calomel saturado (SCE) y un contraelectrodo de platino.

La celda se mantuvo a 37°C durante todos los ensayos, mediante un baño termostatzado (Obertec TC-800M, Argentina).

Previo a cada ensayo electroquímico, se midió el potencial a circuito abierto de la muestra durante 3600s, para asegurar que el mismo estuviera estable al momento de comenzar la secuencia de ensayos.

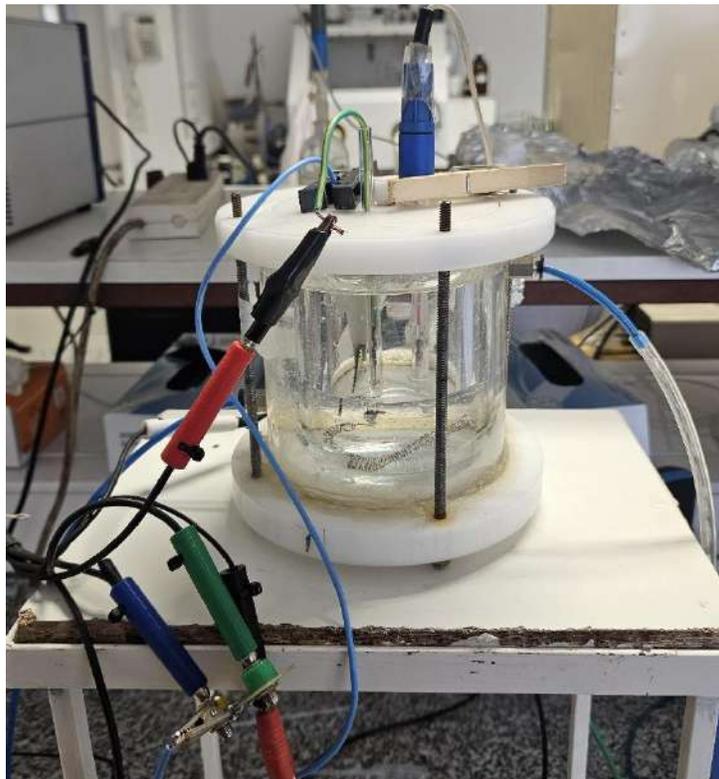


Figura 9. Imagen de la celda utilizada para los ensayos electroquímicos.

4.8.1. Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS)

Se realizó un barrido de frecuencias entre 20kHz y 0.02Hz, modulando el potencial ± 15 mV respecto del potencial de corrosión medido a circuito abierto (OCP) para obtener los valores de la impedancia del sistema. Luego, los resultados obtenidos se modelaron con circuitos eléctricos equivalentes utilizando el software Zview.

4.8.2. Curvas de polarización potenciodinámicas

Se obtuvo la curva de polarización potenciodinámica para cada muestra, partiendo 0.15V por debajo del potencial de corrosión medido a circuito abierto (curva catódica) y alcanzando 1.3V respecto del electrodo de referencia (curva anódica). Luego, el barrido de potenciales se invirtió al alcanzar el potencial máximo fijado o cuando la densidad de corriente superó 1mA, para completar la curva cíclica. La velocidad de barrido fue de 1mV/s.

4.9. Ensayo de bioactividad de los recubrimientos

Para confirmar la bioactividad de los recubrimientos, se realizó un nuevo ensayo de bioactividad, esta vez aplicado al conjunto sustrato-recubrimiento. El procedimiento seguido fue nuevamente el protocolo propuesto por Kokubo [31]. Para este ensayo, el volumen de fluido corporal simulado (SBF) utilizado por muestra se calculó del mismo modo que en el ensayo de bioactividad realizado previamente sobre las partículas individuales (apartado 4.3.), resultando en 45 mL por muestra, dado que cada una presenta un área expuesta de 4,5 cm².

Durante el proceso de incubación, las muestras se colocaron en una estufa a 37 °C y se mantuvieron allí durante 21 días, renovando el SBF dos veces por semana para mantener condiciones similares a las del entorno fisiológico.

Con el objetivo de comparar la capacidad de formación de apatita de los recubrimientos, se emplearon tres sets de muestras: titanio pulido sin recubrimiento (utilizado como control), titanio recubierto únicamente con quitosano, y titanio recubierto con quitosano más las partículas de biovidrio sin dopar previamente sintetizadas.

Finalizado el período de incubación de 21 días, las muestras fueron analizadas mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), utilizando un espectrofotómetro (Nicolet™ 6700, Thermo Fisher Scientific, EE.UU) en modo de

transmitancia, con un rango de número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} , con el objetivo de detectar la presencia de hidroxiapatita en la superficie de los recubrimientos.

4.10. Ensayo de viabilidad celular sobre los recubrimientos

Se evaluó la viabilidad celular de células osteoblásticas humanas (línea celular MG-63) cultivadas sobre recubrimientos de quitosano y BGNs depositados en discos de Ti6Al4V, así como sobre sustratos no recubiertos (previamente lijados y atacados con ácido). Las muestras presentaban un diámetro de 10 mm y un espesor de 1,5mm. Para cada condición experimental se utilizaron tres réplicas. Las evaluaciones se realizaron en dos tiempos de cultivo, 7 y 14 días.

Las células se cultivaron en medio DMEM con baja concentración de glucosa, suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) y 1% de antibiótico-antimicótico (penicilina/estreptomicina). La densidad de siembra fue de 14.000 células por pocillo. Las muestras fueron esterilizadas previamente mediante exposición a luz ultravioleta durante 1 hora por cada lado. El cultivo celular se llevó a cabo en condiciones estándar de incubación, en una atmósfera humidificada con 95% de aire y 5% de CO_2 , a 37 °C. La viabilidad celular se cuantificó mediante la técnica colorimétrica basada en la reducción del reactivo WST-8. Similar al ensayo realizado sobre los polvos mencionado anteriormente.

La adhesión y morfología celular sobre las muestras se evaluó mediante imágenes SEM tras 14 días de cultivo. Las células adheridas fueron fijadas con una solución de glutaraldehído al 2,5% durante 1 hora. Posteriormente, se procedió a la deshidratación gradual utilizando una serie creciente de concentraciones de etanol (30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% y 99%). Finalmente, las muestras fueron secadas mediante un equipo de punto crítico y recubiertas con una fina capa de oro mediante sputtering antes de ser observadas en el microscopio SEM.

Con el objetivo de visualizar la viabilidad celular y la distribución de las células adheridas, se realizaron estudios de microscopía de fluorescencia luego de 14 días de cultivo. Para ello, las células fueron incubadas con una solución de Calceína (4 $\mu\text{l/ml}$) durante 1 hora a 37 °C, permitiendo teñir el citoplasma viable con fluorescencia verde. Luego, las células fueron fijadas con una solución de formaldehído al 3,7% y se tiñeron los núcleos celulares con DAPI (1 $\mu\text{l/ml}$), lo que permite su visualización en color azul.

Las imágenes fueron obtenidas utilizando un microscopio de fluorescencia Axio Scope A1 (Carl Zeiss Microimaging).

5. NANOPARTICULAS DE BIOVIDRIO

5.1. Resultados y discusión

5.1.2. caracterización fisicoquímica

La primera caracterización realizada a las nanopartículas de biovidrio, tanto sin dopar como dopadas con zinc, fue la difracción de rayos X (XRD).

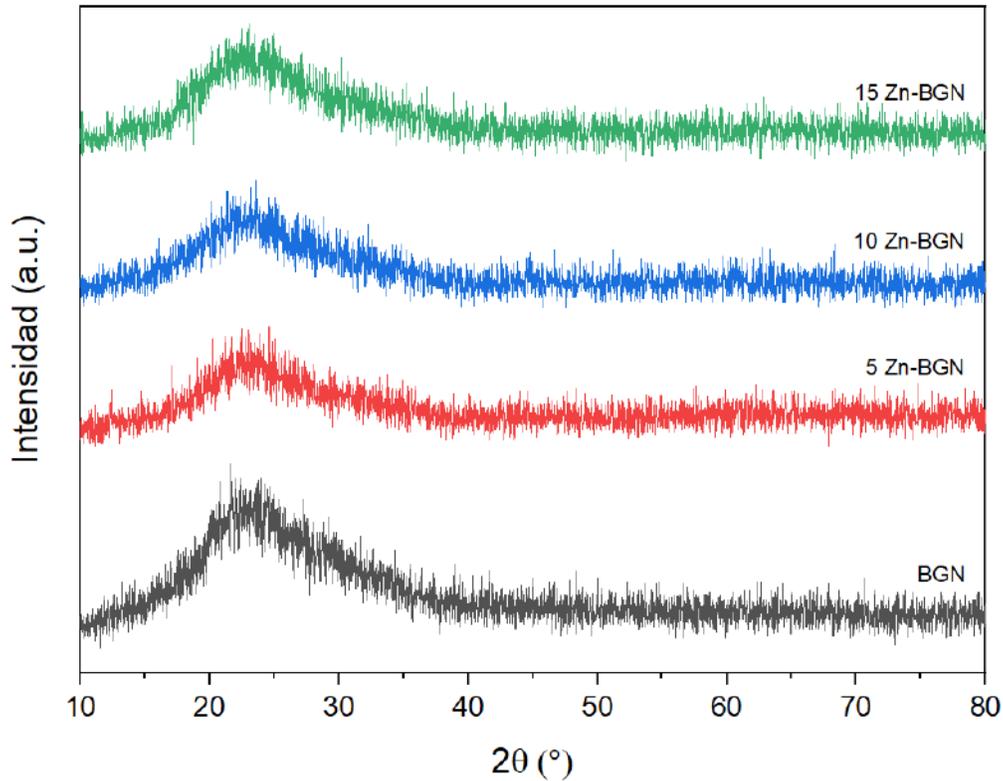


Figura 10. Patrones de difracción de rayos X de las nanopartículas sintetizadas.

Como se puede observar en la Figura 10, el análisis de rayos X de los conjuntos de nanopartículas de biovidrio (BGNs) con diferentes contenidos de dopante confirma su carácter vítreo, ya que no se identifica ningún pico en el espectro obtenido, sino que se observa una banda ancha entre $15-30^\circ$, lo que demuestra la presencia de una fase vítrea [18].

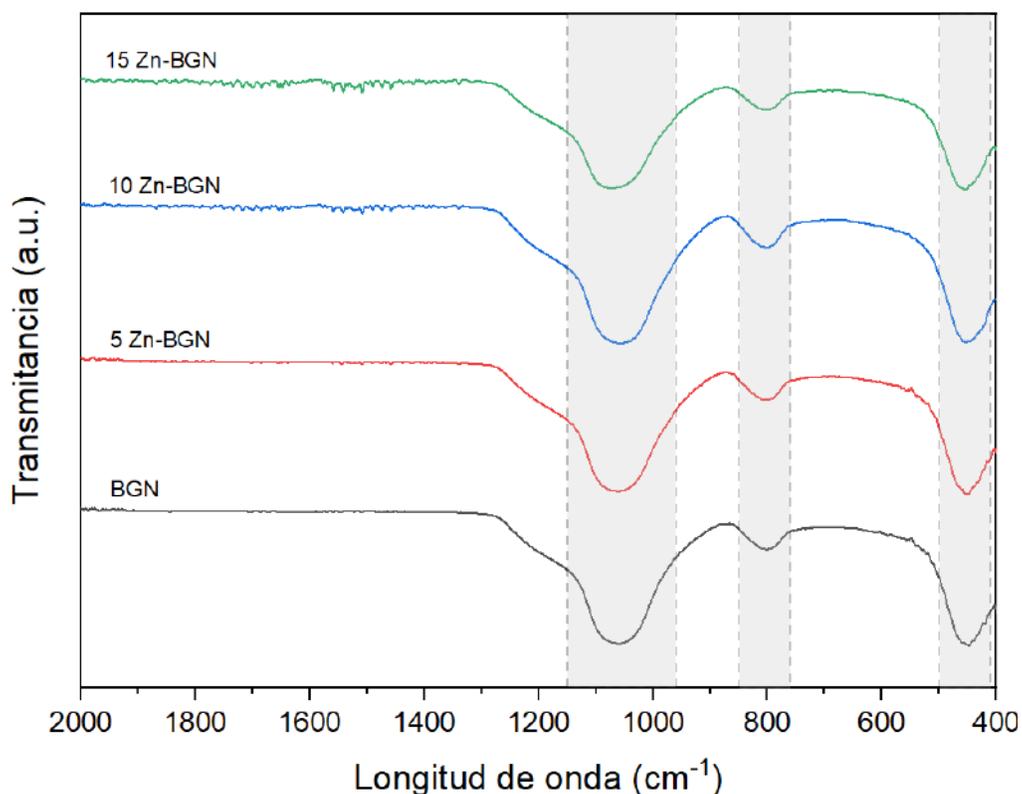


Figura 11. Espectros de FTIR para las nanopartículas sintetizadas.

Los espectros de FTIR de las partículas, mostrados en la Figura 11, no revelan diferencias significativas a medida que aumenta el contenido del ion dopante. Todas las muestras exhiben predominantemente vibraciones de estiramiento y flexión de los enlaces Si–O–Si [33]. Específicamente, el pico a 1058 cm^{-1} corresponde al estiramiento asimétrico del enlace Si–O–Si, el pico a 799 cm^{-1} al estiramiento simétrico y el pico a 448 cm^{-1} a las vibraciones de flexión del mismo enlace [34].

Las imágenes de SEM presentadas en la Figura 12 demuestran que las nanopartículas de biovidrio sintetizadas poseen formas esféricas y homogéneas. Las partículas estaban bien dispersas, y la adición de precursores de Zn, incluso a concentraciones más altas, no alteró su morfología [18].

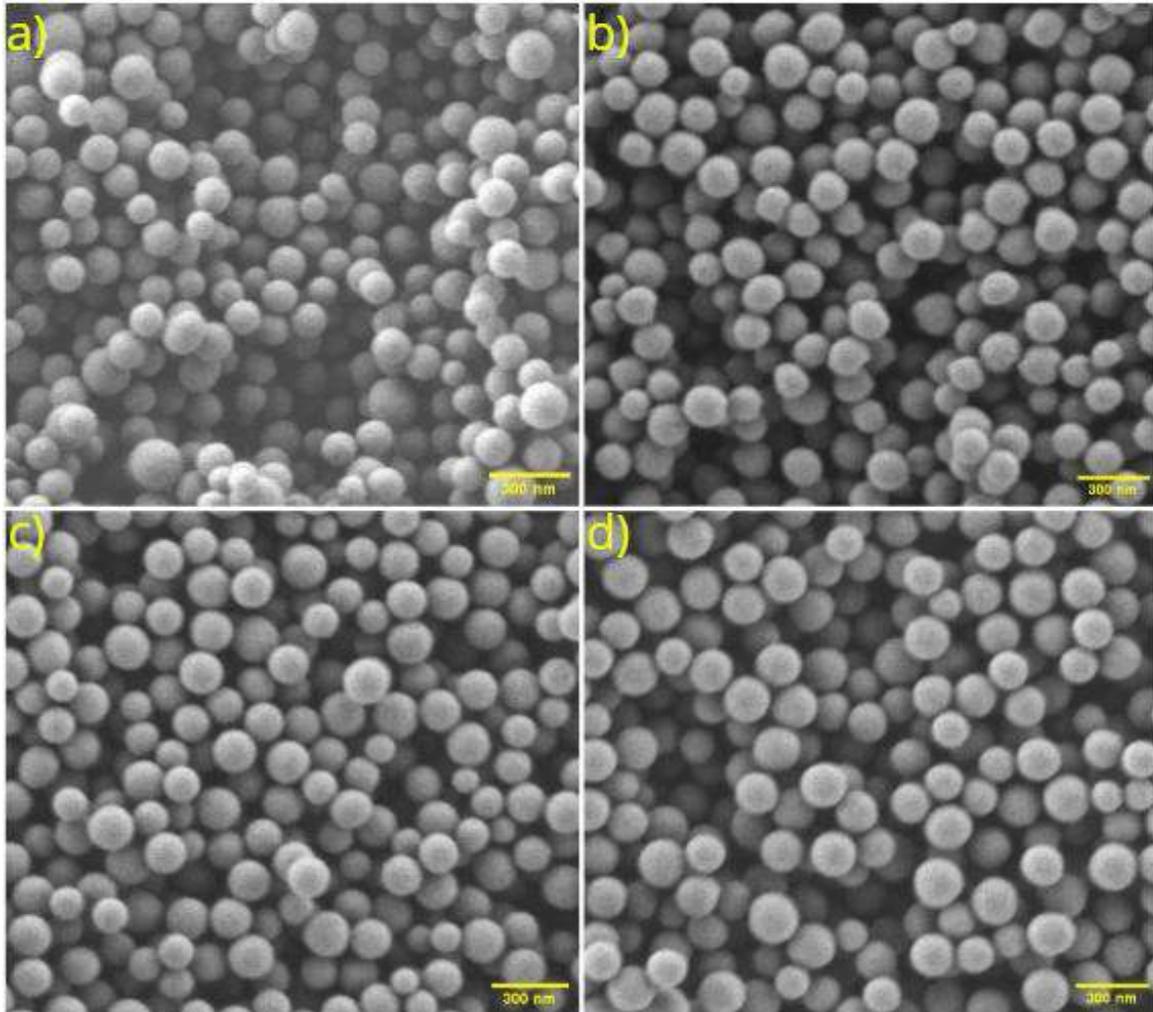


Figura 12. Morfología de las BGNs sintetizadas: (a) sin dopar; (b) BGN con 5% de Zn; (c) BGN con 10% de Zn; (d) BGN con 15% de Zn.

El tamaño promedio de partícula del biovidrio sin dopar fue de $138,3 \pm 25,4$ nm. Para las nanopartículas de biovidrio dopadas con un 5% de Zn, el tamaño promedio fue de $161,4 \pm 17,1$ nm; para las dopadas con un 10% de Zn, fue de $156,3 \pm 15,0$ nm; y para las dopadas con un 15% de Zn, el tamaño promedio fue de $164,9 \pm 16,2$ nm.

Tabla 6. Resultados EDX.

Composición (mol %)	Sin dopar	5 Zn-BGN	10 Zn-BGN	15 Zn-BGN
Si	90.1	88.8	88.8	88.4
Ca	9.9	9.7	9.4	9.5
Zn	-	1.4	1.8	2.1

Como se puede observar en la tabla 6, un aumento en la cantidad añadida de nitrato de zinc hexahidratado, utilizado como precursor de Zn en el proceso de síntesis, resultó en un aumento correspondiente en el contenido de iones de zinc dentro de las nanopartículas. Sin embargo, los resultados obtenidos mediante EDX indican que la incorporación efectiva de Zn en la red vítrea fue significativamente menor a la esperada, considerando la cantidad de reactivo añadida durante la síntesis. Esta baja eficiencia de dopado puede estar asociada a limitaciones propias del método sol-gel empleado, como una inadecuada integración de los precursores metálicos en la etapa de gelificación o lavado, o a problemas de diseño del proceso que favorecieron la eliminación parcial del Zn antes de la calcinación final.

En contraste con los resultados obtenidos en este trabajo, otros estudios que utilizaron métodos similares de síntesis sol-gel reportaron una incorporación de Zn significativamente mayor en la red vítrea. Por ejemplo, Neščáková et al. lograron una incorporación de hasta ~8 mol % de Zn en vidrios bioactivos mesoporosos sin evidencia de segregación, gracias a un control optimizado del pH y del tratamiento térmico, así como también un elevado control durante el agregado de los reactivos [18]. Por otro lado, el trabajo de Aina et al. reportó una incorporación del orden del 7–9 mol %, considerablemente más alta que la detectada en nuestro análisis (< 2 mol %) [35]. Estas diferencias sugieren que factores de diseño como el pH del gel inicial, la relación agua/precursor y el régimen térmico juegan un rol crítico en la incorporación eficiente de Zn en la red vítrea, y que podrían optimizarse para mejorar nuestros resultados.

5.1.2. Test de bioactividad

Los resultados de DRX mostrados en la Figura 13 confirman la presencia de hidroxiapatita (HA) en las nanopartículas de vidrio bioactivo sin dopar mediante la aparición de un pico de difracción definido a $32^\circ(2\theta)$, el cual es consistente con el patrón de DRX de la hidroxiapatita cristalina (JCPDS 72-1243). La presencia de este pico solo es visible después de 3 días de inmersión y aumenta su intensidad con el tiempo. Por el contrario, en los espectros a, b y c de la Figura 13, correspondientes a las nanopartículas dopadas con Zn, no se observa ningún pico característico, lo que demuestra la naturaleza amorfa del material durante todo el período de inmersión [18].

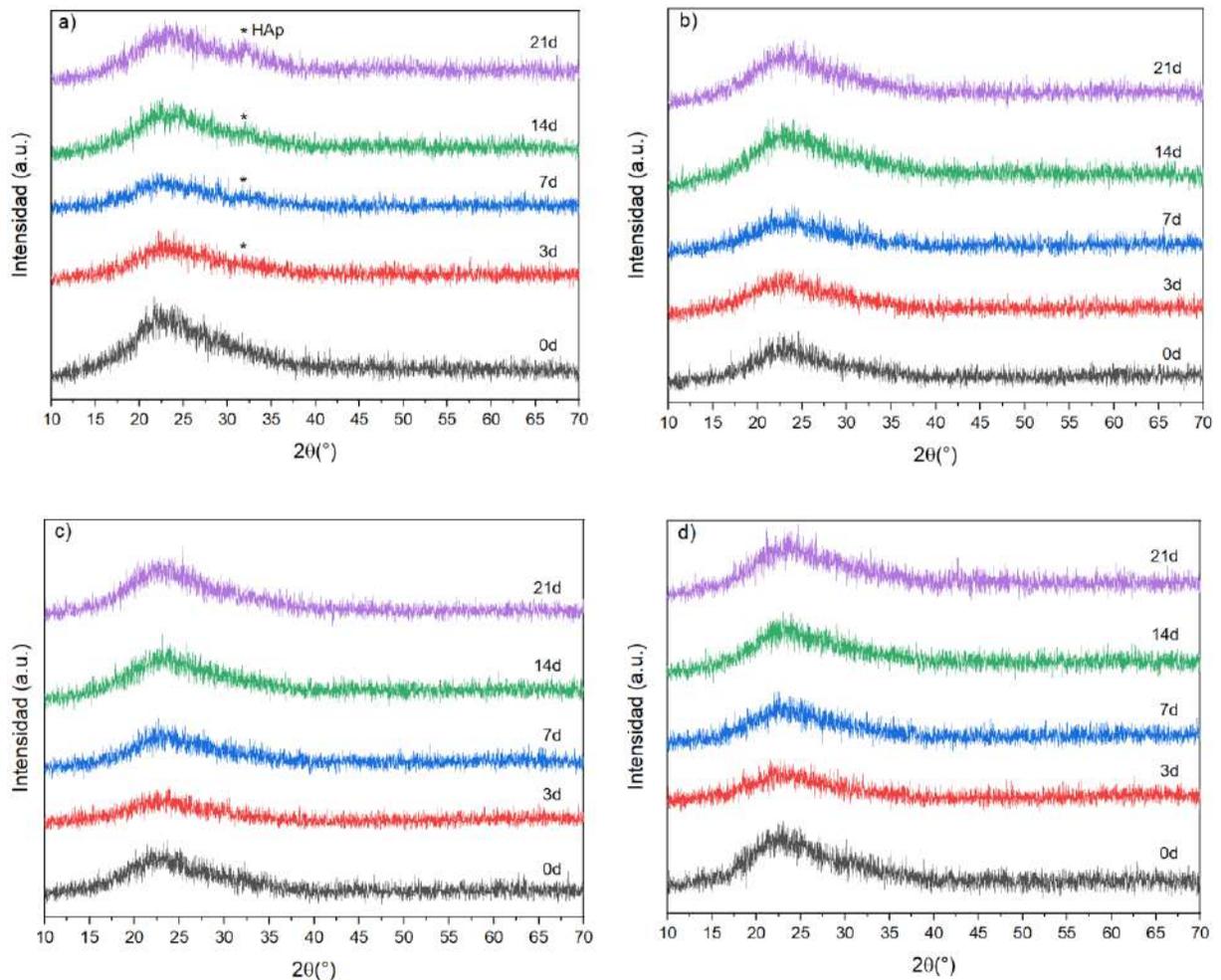


Figura 13. Patrones de difracción de rayos X de las BGN sintetizadas: (a) Sin dopar; (b) 5% Zn-BGN; (c) 10% Zn-BGN; (d) 15% Zn-BGN después de inmersión en SBF por 0, 3, 7, 14, y 21 días.

También se realizaron estudios de SEM para caracterizar completamente la formación de HA en las nanopartículas. La Figura 14 presenta las imágenes de SEM de nanopartículas tanto sin dopar como dopadas. Las imágenes (a) y (d) muestran las micrografías obtenidas para las nanopartículas sin dopar a los 3 y 21 días de inmersión, respectivamente. En ellas se confirma lo observado en los análisis de DRX, evidenciando que la formación de hidroxapatita (HA) comienza a partir del tercer día, seguida de un crecimiento progresivo. En contraste, las imágenes (h), (l) y (p), correspondientes a las muestras dopadas con 5 %, 10 % y 15 % de zinc respectivamente, obtenidas tras 21 días de inmersión, revelan un incipiente proceso de nucleación de nanocristales de HA. Sin embargo, estas muestras presentan una bioactividad limitada, ya que la formación de HA solo se observa levemente después del día 21. Asimismo, la cantidad de HA depositada en las nanopartículas dopadas varía en función del contenido de zinc.

Se ha encontrado que el zinc tiene una gran influencia en la cinética de crecimiento de la HA en soluciones seudofisiológicas. Por ejemplo, se ha reconocido que el ZnO retrasa la nucleación cristalina de HA durante los períodos iniciales de estudios de bioactividad *in vitro* en SBF, pero no afecta el crecimiento de HA después de largos períodos de inmersión [36], [37]. Esta reducción en la cinética de nucleación de HA se atribuye a la adsorción de iones de zinc en los sitios activos de crecimiento de HA durante la etapa inicial de nucleación de apatita, lo cual inhibe el crecimiento de la cara cristalina (001) de la HA. Con la prolongación del tiempo de inmersión, el Zn en la superficie fue cubierto gradualmente por la capa de HA, y fue más difícil que el Zn dentro de las muestras de vidrio se difundiera desde la red hacia la solución en comparación con el Ca, debido a la mayor energía de enlace del Zn–O (180 kJ/mol) en comparación con la del Ca–O (110 kJ/mol), por lo que la influencia de los iones Zn^{2+} en el crecimiento de la HA se redujo, y la HA creció de forma constante con el tiempo de inmersión [38].

También se observó que la velocidad de deposición de HA disminuía con el aumento del contenido de zinc, y se vio que una concentración elevada de zinc impedía el crecimiento de la HA [36].

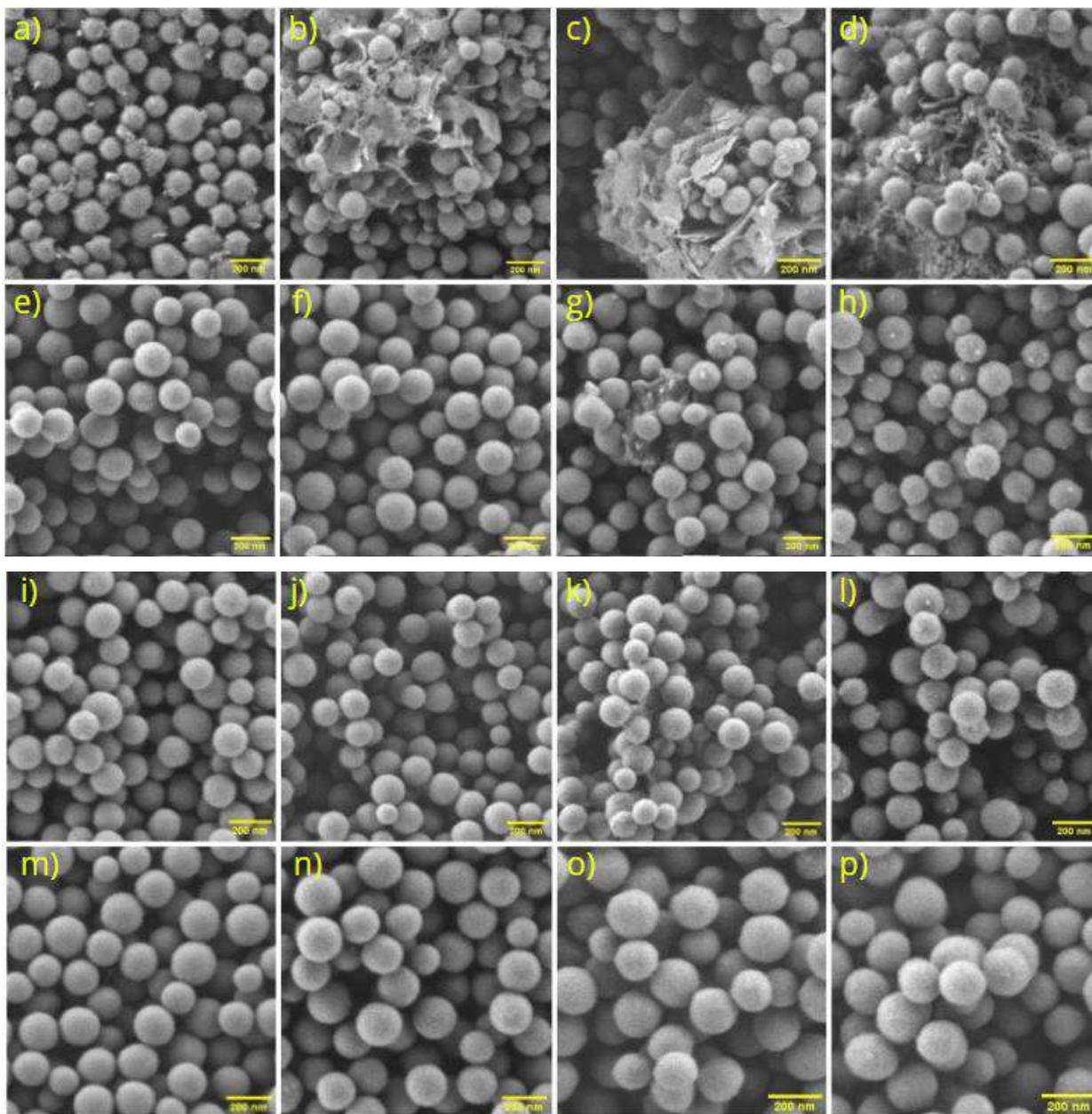


Figura 14. Morfología de las BGN sintetizadas observada mediante microscopía electrónica: (a–d) BGN sin dopar; (e–h) BGN dopadas con 5 % de Zn; (i–l) BGN con 10 % de Zn; y (m–p) BGN con 15 % de Zn, después de la inmersión en SBF. Las imágenes de cada grupo, de izquierda a derecha, corresponden a los días 3, 7, 14 y 21 de inmersión, respectivamente.

5.1.3. Prueba de viabilidad celular

En la Figura 15 se presentan los resultados del ensayo de biocompatibilidad indirecta realizado con células MG-63 en contacto con extractos de biovidrios, tanto dopados con zinc como no dopados. En todos los casos analizados, la viabilidad celular se mantuvo

por encima del 80 % a las 24, 48 y 72 horas de incubación, lo que indica que ninguna de las formulaciones evaluadas induce efectos citotóxicos bajo las condiciones del experimento. Este hallazgo es fundamental, ya que garantiza la citocompatibilidad de los materiales, condición indispensable para su posible aplicación en el ámbito biomédico.

A las 24 horas de exposición, se observa una leve mejora en la viabilidad celular en los grupos tratados con biovidrios dopados con Zn en comparación con el biovidrio no dopado (U-BGN), llegando incluso a superar el valor del grupo control en algunos casos. Esta diferencia sugiere un posible efecto bioactivo inicial del zinc, vinculado a su participación en procesos de proliferación y regeneración celular. No obstante, este efecto no se sostiene con el tiempo: a las 48 horas, los valores de viabilidad celular se nivelan entre todos los grupos, y a las 72 horas, las diferencias entre las distintas formulaciones prácticamente desaparecen, mostrando un comportamiento muy similar al del control.

Estos resultados indican que, en las concentraciones evaluadas (5 %, 10 % y 15 %), la incorporación de Zn no genera un beneficio sostenido en la viabilidad celular. Si bien se evidencia una posible respuesta positiva inicial, esta no se mantiene a mediano plazo, lo que sugiere que la presencia de Zn en la matriz vítrea no proporciona una ventaja significativa con respecto al biovidrio no dopado.

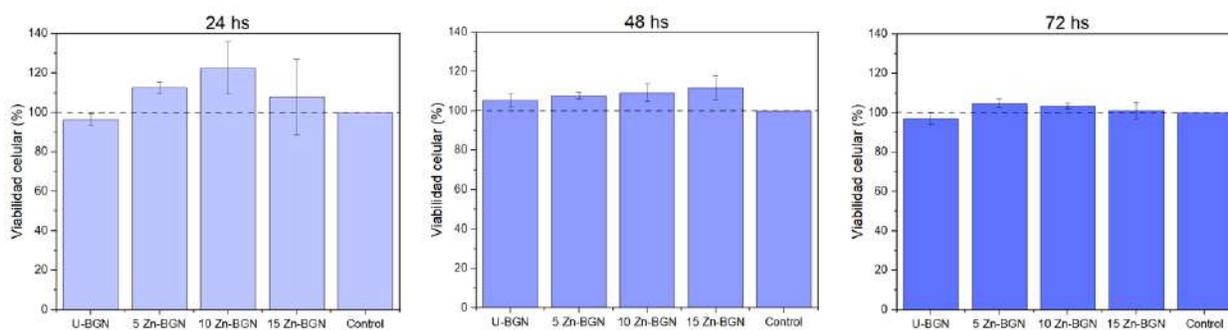


Figura 15. Viabilidad celular tras 24, 48 y 72 horas de incubación.

5.1.4. Prueba de efecto antibacterial

En la Figura 16 se muestran los resultados de viabilidad bacteriana relativa obtenidos para *E. coli* y *S. aureus* tras 8, 10 y 24 horas de incubación. Tanto las partículas sin dopar como las dopadas con zinc presentan un comportamiento similar frente a ambos tipos

de bacterias y en todos los tiempos evaluados. Como se observa, en los tiempos de incubación más cortos (8 y 10 horas), la viabilidad bacteriana relativa se mantiene cercana al 80 % en todos los casos, independientemente de la presencia de Zn en la composición del vidrio. Esta similitud en los resultados sugiere que la incorporación de zinc no aporta un beneficio diferencial en términos de actividad antibacteriana bajo estas condiciones, por lo que su inclusión podría no justificarse desde el punto de vista económico, considerando el gasto adicional en reactivos. Una posible causa de esta falta de efecto del Zn es su baja incorporación en la matriz vítrea, como se evidenció previamente a través de los análisis de EDX. Además, dado que incluso las partículas sin dopar muestran un efecto comparable, es probable que el mecanismo antibacteriano observado no se deba exclusivamente a la presencia de este ion. En este sentido, es posible que otras características del material, como la presencia de grupos hidroxilo (-OH) en la superficie vítrea, estén jugando un rol relevante. En un estudio reciente, se observó que superficies ricas en grupos -OH, como las obtenidas mediante métodos sol-gel, pueden interferir en las interacciones entre las bacterias y el material, afectando negativamente su adhesión y contribuyendo a la desestabilización de la membrana celular, lo cual inhibe el establecimiento de biofilms y reduce la viabilidad bacteriana [39]. Este fenómeno podría explicar el comportamiento similar observado entre las distintas formulaciones evaluadas, independientemente del dopaje con Zn.

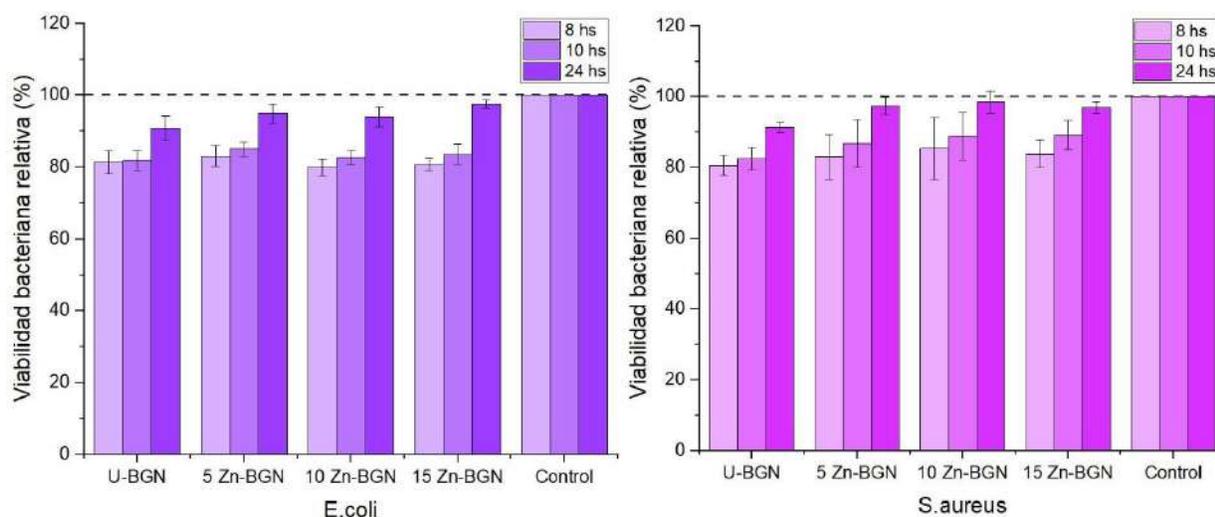


Figura 16. Viabilidad bacteriana relativa de *E. Coli* y *S. Aureus* tras 8, 10 y 24 horas de incubación en contacto con muestras sin dopar y dopadas con 5 %, 10 % y 15 % de zinc.

5.2. Conclusiones

En esta primera parte del trabajo se sintetizaron nanopartículas de biovidrio mediante el método sol-gel, tanto sin dopar como dopadas con zinc en concentraciones de 5 %, 10 % y 15 % molar. Todas las formulaciones mantuvieron una morfología esférica y amorfa según lo evidenciado por SEM y DRX, sin que el dopaje con Zn alterara significativamente su estructura.

Sin embargo, uno de los principales resultados negativos del estudio fue la baja incorporación efectiva de zinc. A pesar de haberse incrementado la cantidad de precursor de Zn en la síntesis, el análisis EDX reveló que los niveles reales de Zn incorporados en la red vítrea fueron considerablemente inferiores a los esperados. Esta baja eficiencia de dopado, inferior al 2 mol %, contrasta marcadamente con otros estudios que reportan incorporaciones de hasta 8–9 mol %. Esta discrepancia podría deberse a una integración ineficiente de los precursores metálicos, posiblemente relacionada con una agitación inadecuada (insuficiente o excesiva), un orden de incorporación incorrecto, o pérdidas durante etapas críticas del proceso sol-gel, como la gelificación, el lavado o la calcinación. En conjunto, estos resultados sugieren que el diseño experimental empleado no fue óptimo para lograr una incorporación efectiva de Zn.

En términos de bioactividad, las nanopartículas sin dopar demostraron una capacidad clara de formar hidroxiapatita (HA) tras pocos días de inmersión en SBF. Por el contrario, las formulaciones dopadas con zinc mostraron una bioactividad reducida, con un inicio de nucleación de HA solo incipiente después de 21 días. Este comportamiento fue atribuido a la adsorción de Zn^{2+} sobre los sitios activos de crecimiento de HA, que retrasa la nucleación sin impedir el crecimiento a largo plazo. Aun así, el efecto inhibitor inicial del zinc reduce la utilidad del dopaje desde el punto de vista bioactivo.

En los ensayos de viabilidad celular, todas las formulaciones mostraron buena biocompatibilidad, sin evidencia de citotoxicidad. Aunque se observó una mejora leve a corto plazo en los grupos dopados, este efecto no se mantuvo con el tiempo, por lo que la presencia de Zn no aportó un beneficio sostenido en la regeneración celular.

Por último, los resultados más contundentemente negativos se observaron en los ensayos de efecto antibacteriano. Las muestras dopadas con zinc no mostraron un

efecto superior frente a *E. coli* ni *S. aureus* respecto al biovidrio sin dopar. La viabilidad bacteriana se mantuvo elevada incluso tras 24 horas de exposición, cercana al 100% en todos los casos, lo que indica una acción limitada del Zn como agente antibacteriano. Esta falta de efecto se relaciona directamente con la baja incorporación de zinc en la matriz vítrea, y también sugiere que otros factores, como la presencia de grupos –OH en la superficie (común en vidrios sintetizados por sol-gel), podrían estar jugando un rol mayor en la leve acción antibacteriana observada. Por ende, la inclusión de Zn no solo no mejora el comportamiento antimicrobiano de las nanopartículas, sino que tampoco se justifica económicamente debido al mayor costo en reactivos y la escasa efectividad demostrada.

En conjunto, los resultados permiten concluir que la estrategia de dopar biovidrios con zinc, bajo las condiciones empleadas, no resultó efectiva ni en términos de incorporación química ni en la mejora funcional del material. Se recomienda una revisión crítica del proceso de síntesis si se desea lograr un dopado eficiente y funcionalmente relevante.

5.3. Trabajo futuro

El trabajo futuro puede enfocarse en diversas direcciones para profundizar y mejorar los resultados obtenidos. Algunas sugerencias para considerar son:

- **Optimizar el proceso de síntesis:** Para mejorar la eficiencia del dopado, se proponen diversas modificaciones al protocolo de síntesis, tales como ajustar la velocidad de agitación durante la incorporación de los reactivos, alterar el orden de incorporación de los iones metálicos, y revisar las concentraciones de los precursores utilizados.
- **Ampliar los ensayos de biocompatibilidad:** Realizar ensayos tanto de citotoxicidad como antibacterial de forma directa, ya que estos permitirían evaluar no solo la liberación de iones, sino también posibles efectos provocados por la superficie del material, como alteraciones en la membrana, adhesión celular o daño bacteriano.
- **Analizar la liberación de iones en el medio:** Evaluar la concentración de iones liberados al medio permite verificar si los elementos incorporados durante la síntesis son efectivamente liberables desde la estructura, lo cual es clave para su funcionalidad en aplicaciones bioactivas.

6. RECUBRIMIENTOS DE QUITOSANO CON NANOPARTICULAS DE BIOVIDRIO

A partir de los resultados obtenidos en la primera etapa del trabajo, se determinó que la incorporación de zinc en las nanopartículas de biovidrio no produjo mejoras significativas en términos de bioactividad, viabilidad celular ni efecto antibacteriano. Por el contrario, el dopaje con Zn mostró una baja eficiencia de incorporación, una notable reducción en la formación de hidroxiapatita y una acción antimicrobiana limitada, sin justificar su uso desde el punto de vista funcional ni económico. En base a estas observaciones, se decidió continuar la siguiente etapa del trabajo, centrada en el desarrollo de recubrimientos mediante la técnica de deposición electroforética, utilizando exclusivamente las nanopartículas de biovidrio sin dopar, que mostraron un mejor desempeño general y mayor estabilidad en los ensayos *in vitro*.

6.1. Resultados y discusión

6.1.1. Determinación de parámetros para la técnica de EPD

Previo al proceso de recubrimiento, se realizaron observaciones de la superficie de las muestras mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), con el objetivo de evaluar las condiciones iniciales del sustrato. En la Figura 17 se presentan imágenes de la superficie de los sustratos tras el proceso de pulido y posterior ataque químico, como parte del tratamiento previo a la deposición.

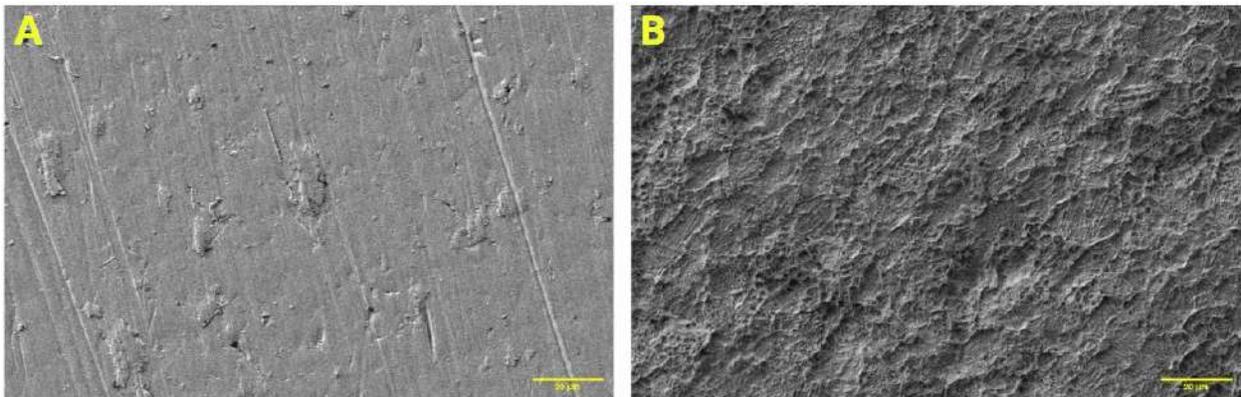


Figura 17. Micrografía SEM de la superficie del sustrato metálico tras el pulido y ataque ácido.

En particular, la micrografía SEM mostrada en la Figura B revela una superficie con una rugosidad homogénea y uniformemente distribuida a lo largo de toda el área analizada. La textura superficial se caracteriza por una topografía irregular pero consistente, sin evidencia de defectos localizados, grietas ni acumulaciones de contaminantes.

Esta rugosidad superficial regular es favorable para el proceso de deposición electroforética (EPD), ya que se espera que contribuya a una mejor adherencia de la capa de recubrimiento al sustrato metálico, promoviendo una mejor adhesión del recubrimiento.

Los dos sets de muestras que presentaron una mayor tasa de deposición fueron las rondas 5 y 7, correspondientes a 15 V, metanol como solvente, y tiempos de 2 y 3 minutos, respectivamente. La ronda 5 alcanzó un *deposition yield* de 0.55 g/cm², mientras que la ronda 7 registró un valor aún mayor, de 0.83 g/cm². A modo de ejemplo, la ronda 2, que resultó en recubrimientos defectuosos, presentó un *deposition yield* significativamente menor, de 0.31 g/cm².

En la Figura 18 se presentan los resultados de los ensayos de adhesión realizados sobre ambos conjuntos de muestras, con el objetivo de evaluar si el aumento en el tiempo de recubrimiento influye en la adherencia del recubrimiento al sustrato. Dentro de los criterios establecidos por la norma ISO correspondiente [29], ambas muestras se clasifican dentro de la categoría 1, lo que indica que los recubrimientos presentan una muy buena adherencia al sustrato. Esta clasificación implica que la cantidad de desprendimiento del recubrimiento es mínima o inexistente, lo cual sirve como indicador positivo de la calidad del proceso de deposición. Por lo tanto, se puede concluir que, independientemente del tiempo de recubrimiento, la adhesión lograda es adecuada.

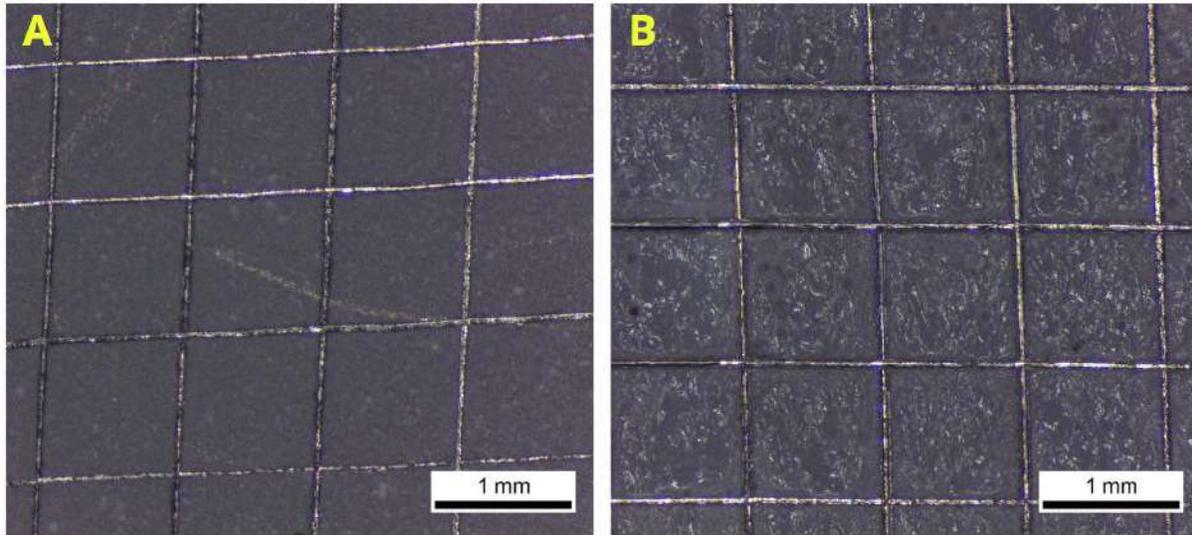


Figura 18. Resultados del ensayo de adhesión realizados sobre los recubrimientos: A) Ronda 5; B) Ronda 7.

Con el fin de determinar cuál de las dos rondas de experimentos presenta mejores resultados, se realizaron observaciones de la superficie de las muestras mediante SEM. Esto permitió analizar en detalle la morfología del recubrimiento y detectar posibles diferencias en la uniformidad, continuidad y presencia de defectos entre ambas rondas.

Como se observa en la Figura 19, la imagen c, correspondiente a la Ronda 7 de experimentos, presenta una superficie visiblemente más homogénea y con una mayor densidad de partículas en comparación con la imagen a, que pertenece a la Ronda 5. Esta diferencia sugiere que un mayor tiempo de recubrimiento podría favorecer una distribución más uniforme del material sobre el sustrato. Además, en las imágenes b y d, tomadas a mayor aumento, se aprecia que el recubrimiento de ambas muestras es continuo y no presenta poros visibles, lo cual permite confirmar que la calidad del recubrimiento es adecuada para este tipo de aplicaciones.

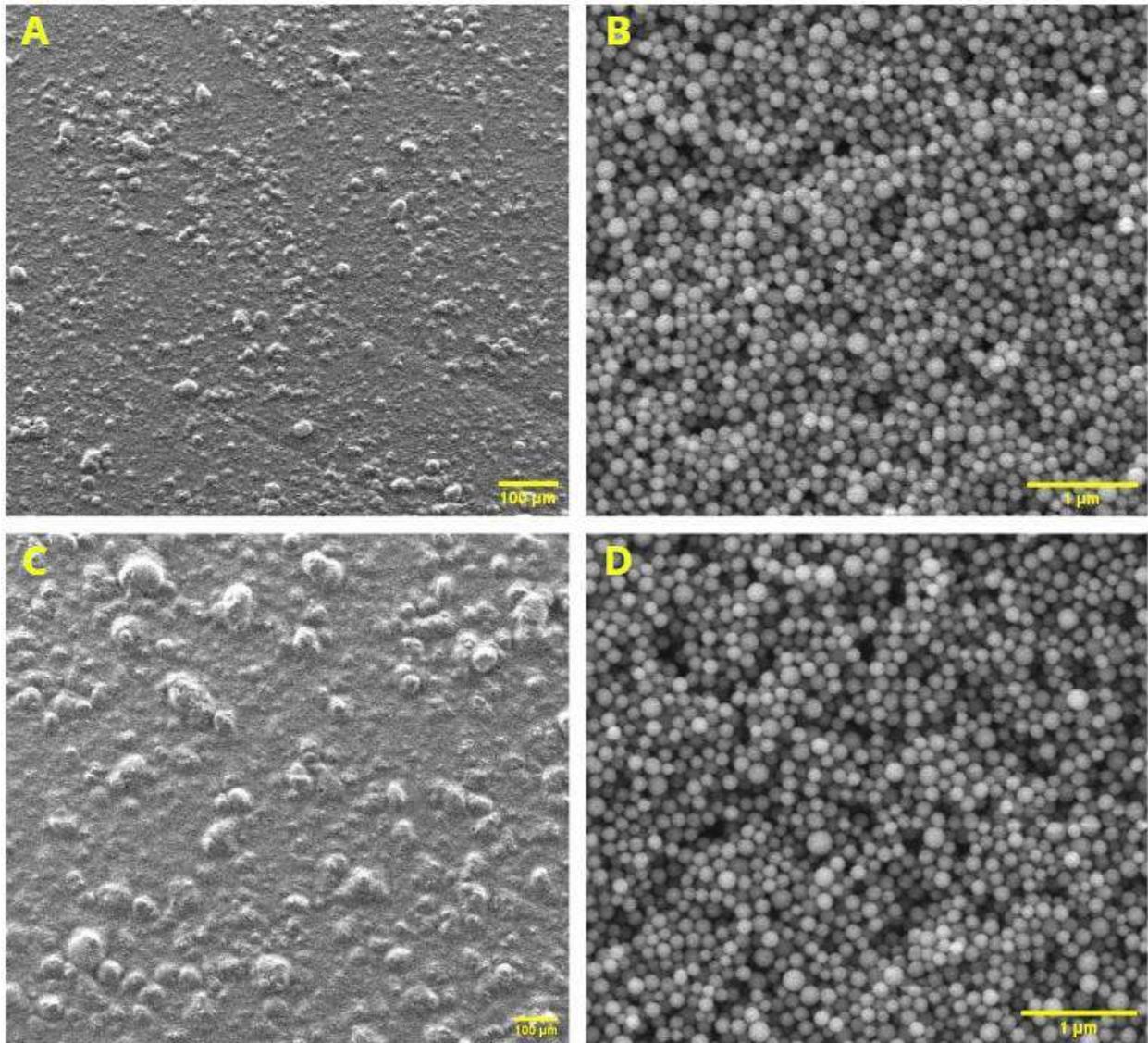


Figura 19. Imágenes de las superficies recubiertas de las muestras obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM): a) y b) correspondientes a la Ronda 5; c) y d) correspondientes a la Ronda 7.

Teniendo en cuenta que ambos sets de parámetros obtuvieron resultados similares en los ensayos de adhesión, y considerando que las imágenes obtenidas por SEM evidencian una mayor homogeneidad y concentración de partículas en las muestras de la Ronda 7, se decidió continuar con los análisis posteriores utilizando los parámetros de recubrimiento empleados en dicha ronda de experimentos.

6.1.2. Caracterización de los recubrimientos

Luego de seleccionar la ronda 7 de experimentos, como se mencionó anteriormente, se procedió a realizar un análisis por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) sobre los recubrimientos obtenidos. El objetivo fue comparar la composición química del recubrimiento compuesto por quitosano y nanopartículas de biovidrio con la de un recubrimiento constituido únicamente por quitosano. Además, se incluyeron en el análisis el sustrato metálico pulido y el sustrato atacado con ácido, con el fin de identificar posibles señales provenientes de la superficie base y establecer un contraste adecuado con los recubrimientos aplicados.

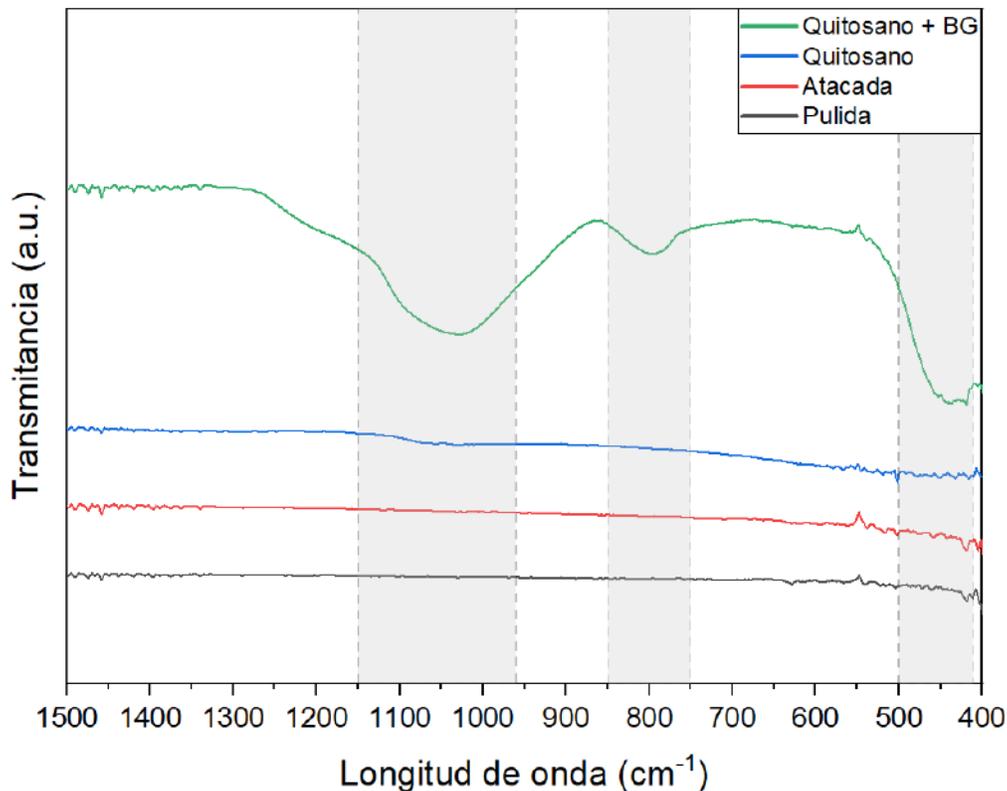


Figura 20. Espectros FTIR correspondientes al sustrato metálico pulido, sustrato atacado, recubrimiento de quitosano puro y recubrimiento compuesto por quitosano con nanopartículas de biovidrio.

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 20, donde pueden observarse las principales bandas de absorción asociadas a los diferentes grupos funcionales presentes en cada muestra. En particular, en el espectro correspondiente al recubrimiento compuesto por quitosano y nanopartículas de biovidrio se identifican

claramente tres bandas características asociadas a las vibraciones del enlace Si–O–Si, propias de la fase vítrea. Estas incluyen el pico a 1058 cm^{-1} correspondiente al estiramiento asimétrico, el pico a 799 cm^{-1} relacionado con el estiramiento simétrico, y el pico a 448 cm^{-1} asociado a las vibraciones de flexión del mismo enlace. La presencia de estas bandas confirma la incorporación efectiva de las nanopartículas de biovidrio en la matriz de quitosano. Cabe destacar que no se observan señales atribuibles al quitosano, lo cual podría deberse a que la capa formada es muy delgada y su contribución al espectro es menor en comparación con las señales del biovidrio.

Además de su composición química, otra propiedad crítica de los recubrimientos destinados a aplicaciones biomédicas es su mojabilidad, ya que influye directamente en la respuesta biológica del material, particularmente en la cinética de adhesión de proteínas, así como en la adhesión y proliferación celular sobre la superficie [40]. En la Figura 21 se muestran los valores de ángulo de contacto correspondientes a los diferentes tipos de superficies que se estudiaron durante este trabajo.

Ángulos de contacto en el rango de 35° - 80° resultan ser adecuados para la adhesión de osteoblastos [41], [42], que son las células encargadas de la formación del tejido óseo. Las cuatro superficies analizadas presentan un comportamiento hidrofílico, lo cual, según lo mencionado anteriormente, resulta favorable para la adhesión celular.

Sin embargo, si bien el ángulo de mojado obtenido en algunas de las muestras es menor al considerado óptimo para la adhesión celular, esto no implica necesariamente un efecto negativo. Al entrar en contacto con el fluido fisiológico, la superficie del material sufre una serie de modificaciones, incluyendo la adsorción de proteínas, que juegan un rol fundamental en la mediación de la adhesión celular. En este sentido, una alta humectabilidad puede incluso favorecer la rápida adsorción de proteínas como la fibronectina o la vitronectina, que son claves para el posterior anclaje de los osteoblastos.

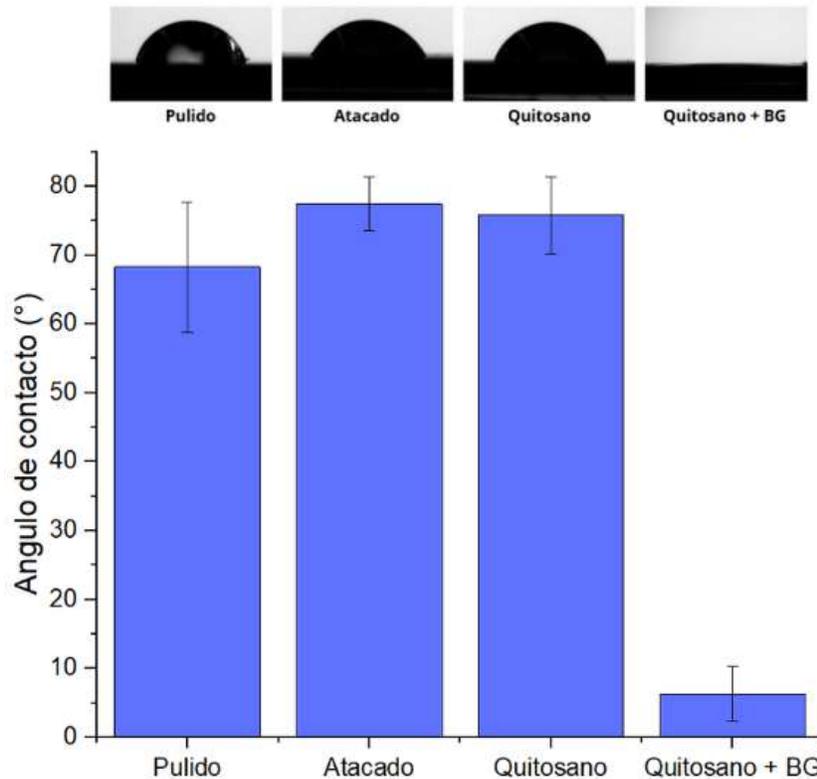


Figura 21. Ángulo de contacto de las superficies de las probetas pulidas, atacadas químicamente, recubiertas solo con quitosano, y recubiertas con quitosano y biovidrio, junto con sus perfiles de gota.

6.1.3. Ensayos electroquímicos

Para evaluar la degradación de los recubrimientos y la deposición de especies sobre la superficie, se recurre a una serie de técnicas *in vitro*, entre ellas los ensayos electroquímicos. Mediante la aplicación de una corriente o un potencial, es posible medir la respuesta del sistema en un determinado medio frente al flujo de corriente. En este trabajo, estos ensayos resultan apropiados para evaluar el comportamiento de las capas tanto inmediatamente después de la inmersión en SBF como luego de 21 días. A los 21 días, se espera un cierto grado de degradación del recubrimiento, dado que el quitosano comienza a degradarse a partir de la primera semana [43]. Cabe señalar que en este sistema no se busca que el recubrimiento actúe como barrera contra la corrosión, ya que la aleación Ti6Al4V posee por sí misma una alta resistencia a la corrosión en medios fisiológicos [44].

6.1.3.1. Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS)

La espectroscopía de impedancia electroquímica permite monitorear el comportamiento del sistema aplicando una perturbación mínima, lo que posibilita obtener información sin interferir en la superficie ni dañar de forma significativa la muestra.

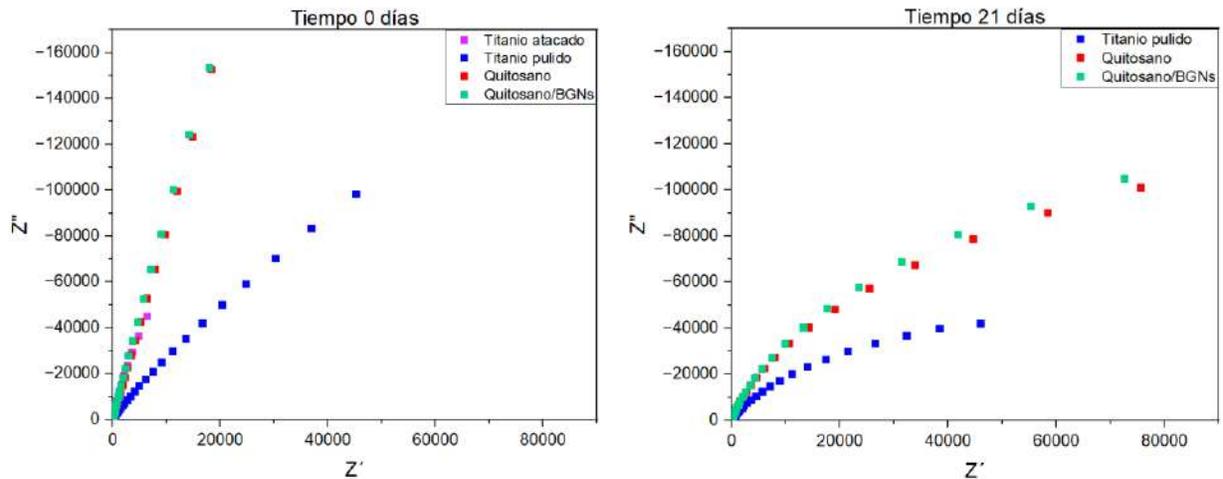


Figura 22. Representación de Nyquist para todas las muestras a 0 y 21 días de inmersión en SBF.

En la Figura 22 se presentan los diagramas de Nyquist y en la Figura 23 las correspondientes representaciones de Bode, obtenidas para todas las muestras tras 0 y 21 días de inmersión en SBF.

En la representación de Nyquist, se observa que la muestra de titanio pulido presenta, en general, un arco de circunferencia de menor amplitud. Esto implica que, si se extrapolaran los valores hasta completar el semicírculo, se obtendría una resistencia total del sistema significativamente menor. Este comportamiento sugiere que la capa pasiva de óxido formada en la superficie es menos estable o más delgada en comparación con las otras muestras analizadas.

Por otro lado, las muestras atacadas sin recubrimiento, recubiertas con quitosano y recubiertas con quitosano más nanopartículas de biovidrio muestran un comportamiento muy similar entre sí. Estas tres superficies fueron sometidas al mismo tratamiento químico previo, con el objetivo de generar una rugosidad homogénea que favorezca la adhesión de los recubrimientos. Este tratamiento también contribuyó a la

formación de una capa pasiva de óxido considerablemente más estable que la observada en el titanio únicamente pulido.

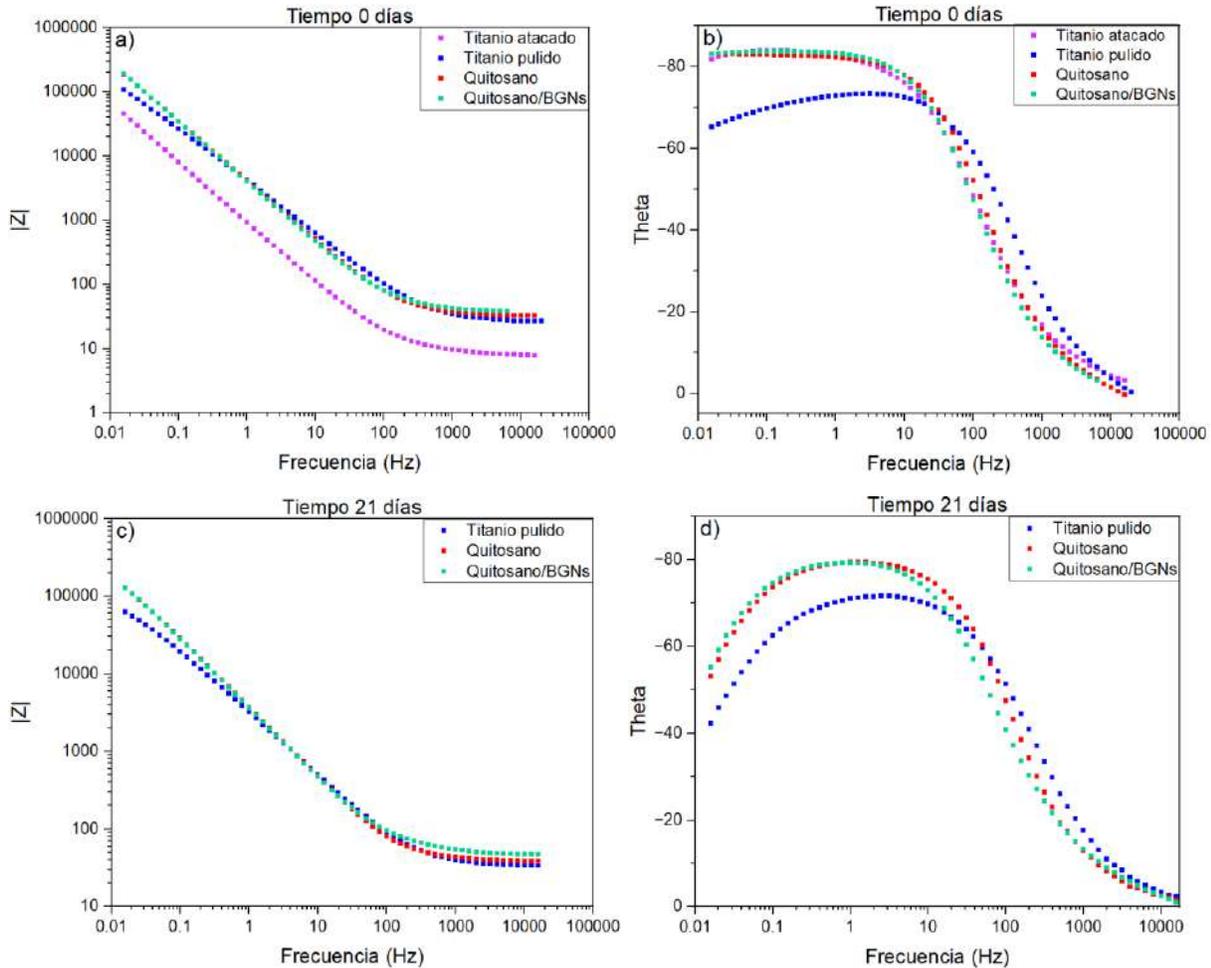


Figura 23. Representación de Bode para todas las muestras a 0 y 21 días de inmersión en SBF. A y C: Módulo de impedancia vs frecuencia. B y D: Ángulo de fase vs frecuencia.

En la representación de Bode se observa un comportamiento consistente con lo descrito en los diagramas de Nyquist. El módulo de impedancia correspondiente a la muestra de titanio pulido es menor, tanto a los 0 como a los 21 días de inmersión, especialmente en la región de bajas frecuencias, asociada a la respuesta de la interfaz más cercana al metal. Este resultado refuerza la interpretación de que dicha muestra posee una capa de óxido más delgada o menos protectora.

En cuanto al ángulo de fase, las muestras atacadas y recubiertas muestran valores más negativos y picos más amplios en el rango medio de frecuencias, lo cual

indica un comportamiento más capacitivo. Esto sugiere una interfaz electroquímica más eficiente y una mejor respuesta dieléctrica en comparación con la muestra de titanio pulido, cuya curva de fase presenta menor amplitud.

Tras 21 días de inmersión, las diferencias entre las muestras tienden a reducirse, pero se mantiene la misma tendencia general. La muestra de titanio pulido continúa mostrando una impedancia menor y un ángulo de fase menos pronunciado, mientras que las otras dos condiciones (recubierta con quitosano y recubierta con quitosano/BGNs) presentan un comportamiento prácticamente superpuesto. Este resultado indica que la estabilidad de la capa pasiva generada por el ataque químico se mantiene incluso luego de una exposición prolongada al medio fisiológico simulado.

En términos generales, los resultados obtenidos a partir de las representaciones de Nyquist y Bode indican que el tratamiento superficial por ataque químico tiene un efecto determinante sobre el comportamiento electroquímico de las muestras, al promover la formación de una capa pasiva más estable. Por otro lado, los recubrimientos de quitosano y quitosano/BGNs no modifican de forma significativa la respuesta electroquímica frente al titanio atacado sin recubrimiento, lo cual sugiere que, bajo las condiciones ensayadas, el comportamiento dominante está dado por la capa de óxido generada sobre la superficie rugosa del sustrato.

Con el fin de profundizar en la interpretación de los resultados obtenidos a partir de las representaciones de Nyquist y Bode, y comprender en mayor detalle los procesos fisicoquímicos involucrados en la respuesta electroquímica de las distintas muestras, se procedió al ajuste de los datos experimentales mediante el uso de circuitos equivalentes eléctricos, mostrados en las Figuras 24, 25 y 26. Estos modelos permiten representar de manera simplificada los fenómenos de transferencia de carga, formación de capas pasivas y comportamiento capacitivo del sistema.

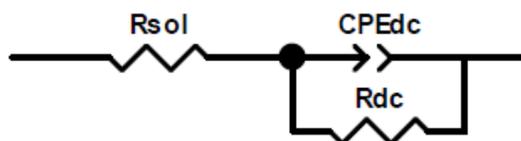


Figura 24. Modelo circuital para las muestras de titanio pulido a 0 días.

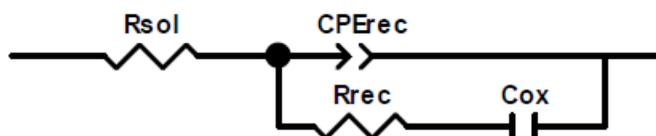


Figura 25. Modelo circuital para las muestras de titanio atacado, recubierto con quitosano y con quitosano/BGNs a 0 días.

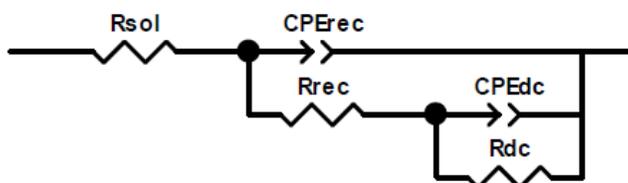


Figura 26. Modelo circuital para las muestras de titanio pulido, recubierto con quitosano y con quitosano/BGNs a 21 días.

En los tres modelos se identifica en primer lugar una resistencia asociada a la solución, denominada R_{sol} . En la Figura 25 se observa, además, una segunda resistencia correspondiente al recubrimiento, designada como R_{rec} . Finalmente, tanto en la Figura 24 como 26 se incluye una tercera resistencia, R_{dc} que representa la resistencia a la transferencia de carga en la superficie del metal.

Para representar los recubrimientos se utilizaron elementos de fase constante, conocidos como CPE (*Constant Phase Elements*), aplicados cuando el ángulo de fase difiere de -90° . Su comportamiento se describe mediante la siguiente expresión:

$$CPE = \frac{1}{Q(j\omega)^\alpha} \quad (6)$$

Los CPE se emplean en lugar de capacitores ideales para representar inhomogeneidades del sistema, tales como rugosidad o porosidad superficial. Cada uno está caracterizado por un exponente α , asociado al grado de homogeneidad: cuando $\alpha = 1$, el comportamiento se asemeja al de un capacitor ideal (ángulo de fase de -90°) [45].

De este modo, los modelos circuitales permiten representar las pseudocapacitancias asociadas tanto a la doble capa electroquímica como al propio recubrimiento. En la Figura 25 también se incluye un capacitor ideal C_{ox} , vinculado a la presencia de una capa densa de óxido.

Cada conjunto de datos experimentales fue ajustado al modelo correspondiente, obteniéndose errores inferiores al 10%. En la tabla 7 se presentan los valores promedio obtenidos para cada muestra, junto con sus respectivos errores. A modo ilustrativo, la Figura 27 muestra los resultados experimentales y el modelo ajustado para la muestra recubierta con quitosano y nanopartículas de biovidrio tras 21 días de inmersión, evidenciando la buena correlación alcanzada con los modelos propuestos.

Tabla 7. Ajuste matemático con modelos de circuitos equivalentes.

Muestra	Ti pulido 0D	Ti atacado 0D	Quitosano 0D	Quit/BGNs 0D	Ti pulido 21D	Quitosano 21D	Quit/BGNs 21D
R_{sol} ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	29.24 ± 3.22	8.24	34.17 ± 1.63	37.15 ± 2.02	34.76 ± 1.48	48.24 ± 13.31	51.78 ± 6.13
CPE_{REC} ($S^{\alpha}/$ $\Omega \cdot \text{cm}^2$)	6.91E-5 ± 2.12E-5	1.42E-4	3.32E-5 ± 4.99E-6	3.71E-5 ± 2.66E-6	7.03E-5 ± 7.21E-5	2.82E-5 ± 3.42E-6	2.17E-5 ± 4.03E-6
α_{rec}	0.799 ± 0.028	0.894	0.942 ± 0.058	0.912 ± 0.005	0.818 ± 0.152	0.915 ± 0.006	0.940 ± 0.052
R_{REC} ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	4.20E+5 ± 1.68E+5	30.20	495.15 ± 487.83	132.00 ± 20.51	1296.13 ± 1788.80	59.49 ± 30.45	57.34 ± 11.65
Cox	-	5.00E-5	7.53E-6 ± 2.82E-7	8.49E-6 ± 1.30E-6	-	-	-
CPE_{dc} ($S^{\alpha}/$ $\Omega \cdot \text{cm}^2$)	-	-	-	-	4.52E-5 ± 8.70E-6	2.01E-5 ± 7.93E-6	3.08E-5 ± 3.84E-6
α_{dc}	-	-	-	-	0.845 ± 0.157	0.913 ± 0.051	0.882 ± 0.021
R_{dc} ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	-	-	-	-	1.47E+5 ± 3.86E+4	2.27E+5 ± 4.07E+4	1.94E+5 ± 1.23E+5

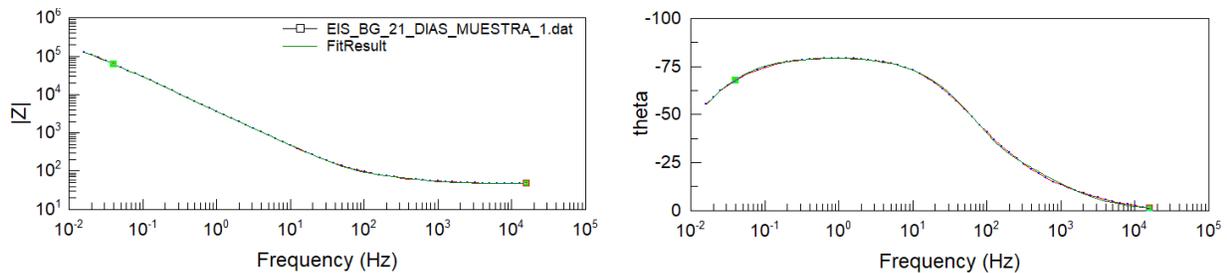


Figura 27. Ejemplo de resultados experimentales y ajuste matemático.

Al analizar los datos obtenidos a partir de los ajustes matemáticos realizados para cada muestra, presentados en la tabla 7, se pueden identificar distintos comportamientos según el tipo de tratamiento superficial y el tiempo de inmersión.

En las muestras correspondientes a los 0 días de inmersión, se observa que el titanio únicamente pulido presenta una única constante de tiempo asociada a la presencia de una doble capa electroquímica en la superficie metálica. En cambio, en la muestra de titanio atacado químicamente, se evidencia un comportamiento capacitivo característico de la capa de óxido generada durante el ataque. Esta capa se comporta de manera similar a un capacitor ideal, ya que es compacta y con pocos defectos estructurales.

En el caso de las muestras recubiertas a 0 días, se identifican dos constantes de tiempo. La primera se asocia a la zona más externa del sistema, es decir, al recubrimiento superficial, mientras que la segunda corresponde a la capa de óxido formada por el ataque químico. En estas muestras, la capacitancia asociada a dicha capa de óxido es menor en comparación con la del titanio atacado sin recubrimiento, lo que indica un mayor almacenamiento de carga (comportamiento típico de un capacitor de mejor rendimiento). Esta diferencia podría explicarse por la presencia adicional de una película fina de recubrimiento adherida a la superficie del óxido, lo cual puede observarse en las imágenes SEM previamente presentadas (ya sea de quitosano o de nanopartículas de biovidrio).

Para el análisis de las muestras sometidas a 21 días de inmersión en SBF, se calculó la capacidad efectiva (C_{eff}) asociada a la segunda pseudocapacitancia del circuito equivalente. Este valor fue obtenido a partir de la Ecuación 7, siguiendo el modelo de Brugg [46], el cual relaciona la pseudocapacitancia del recubrimiento con los parámetros eléctricos del circuito:

$$C_{\text{eff}} = Q^{1/\alpha} \left(\frac{R_{\text{sol}} \cdot R_{\text{rec}}}{R_{\text{sol}} + R_{\text{rec}}} \right)^{\frac{1-\alpha}{\alpha}} \quad (7)$$

Los valores calculados de C_{eff} se presentan en la tabla 8. Al compararlos con las capacidades asociadas a la constante de tiempo C_{ox} , se observa que los valores efectivos son mayores, lo que indica una menor capacidad de almacenamiento de carga. Esta variación puede atribuirse a la degradación del recubrimiento durante la inmersión,

junto con un posible deterioro o transformación de la película de óxido generada inicialmente por el ataque químico.

Tabla 8. Capacidades efectivas obtenidas con el modelo de Brugg.

	Ti atacado 0D	Quitosano 0D	Quit/BGNs 0D	Ti pulido 21D	Quitosano 21D	Quit/BGNs 21D
C_{ox}	5.00E-5	7.53E-6 ± 2.82E-7	8.49E-6 ± 1.30E-6	-	-	-
C_{eff}	-	-	-	2,68E-05 ± 5,93E-06	1,05E-05 ± 8,71E-06	1,32E-05 ± 4,45E-06

6.1.3.2. Ensayo de polarización cíclica

La Figura 28 presenta las curvas de polarización cíclicas para las distintas muestras Ti6Al4V (pulido, atacado, recubierto con quitosano, y recubierto con quitosano más nanopartículas de biovidrio), tras 0 y 21 días de inmersión en SBF. Este tipo de ensayo permite evaluar la resistencia a la corrosión general, así como detectar la posible ocurrencia de fenómenos localizados, como el picado.

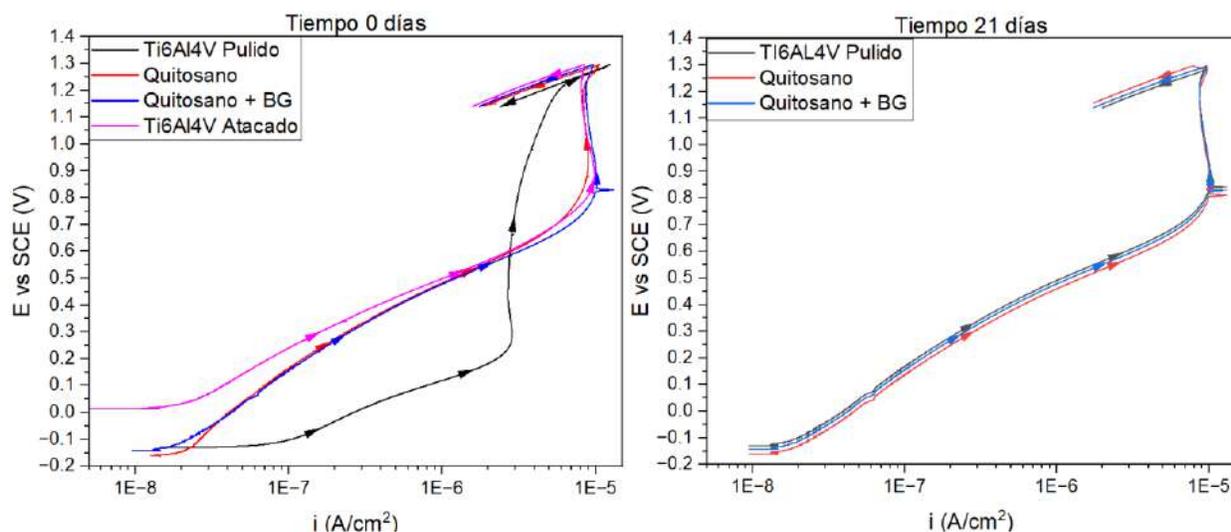


Figura 28. Curvas de polarización potenciodinámicas para los sistemas Ti6Al4V, pulido y atacado, Quitosano y Quitosano + BGNs a tiempo 0 y luego de 21 días de inmersión en SBF.

Inmediatamente después de la inmersión (0 días), la muestra de titanio pulido muestra una densidad de corriente anódica considerablemente mayor que las demás

condiciones, lo que indica una mayor actividad electroquímica y menor resistencia a la corrosión. Este comportamiento concuerda con los resultados de impedancia, donde esta muestra presentó menor impedancia y una capa pasiva menos estable. Por el contrario, las curvas correspondientes a las muestras atacadas, recubiertas con quitosano y con quitosano/BGNs exhiben valores de corriente significativamente más bajos y similares entre sí, lo que sugiere que la protección está principalmente determinada por la capa de óxido generada durante el tratamiento químico, más que por los recubrimientos en sí.

Luego de 21 días de inmersión en SBF, las curvas de todas las muestras tienden a converger, debido al desarrollo natural de una capa de óxido sobre la superficie del titanio pulido. A pesar de esta convergencia, las muestras recubiertas siguen mostrando una ligera reducción en la densidad de corriente anódica, lo que indica que los recubrimientos no deterioran la pasividad del sustrato, sino que contribuyen a mantenerla.

Un aspecto relevante es la forma cíclica de las curvas. En todas las condiciones ensayadas, tanto a 0 como a 21 días, el barrido inverso muestra una disminución progresiva de la densidad de corriente, lo que indica la ausencia de corrosión por picado. La falta de bucles positivos o sobrecorrientes durante el regreso confirma que ni los recubrimientos ni los tratamientos superficiales inducen procesos de degradación localizada.

Los parámetros electroquímicos extraídos mediante ajuste de Tafel, resumidos en la tabla 9, respaldan estas observaciones. Para realizar dicha extrapolación, además de las curvas anódicas mostradas, se registraron también curvas catódicas, lo cual permitió una caracterización más completa del comportamiento electroquímico de las muestras.

La ecuación de Tafel utilizada para el ajuste se expresa como:

$$\eta = a + b \cdot \log(i) \quad (8)$$

Donde η es el sobrepotencial, i la densidad de corriente, a una constante relacionada con el potencial de corrosión, y b la pendiente de Tafel (anódica o catódica). Esta relación permite estimar el potencial de corrosión (E_{cor}) y la densidad de corriente de corrosión (i_{cor}) mediante un ajuste lineal de la región correspondiente de la curva.

La muestra de Ti6Al4V pulido presenta el mayor valor de i_{corr} inmediatamente tras la inmersión ($2.15 \times 10^{-7} \text{ A/cm}^2$), mientras que las muestras recubiertas muestran valores más bajos por un orden de magnitud. Incluso tras 21 días, las muestras tratadas o recubiertas mantienen valores inferiores al inicial del pulido, lo que demuestra la eficacia del ataque químico y la estabilidad del sistema.

Si bien la extrapolación de Tafel permite estimar velocidades de corrosión a partir de la densidad de corriente de corrosión, en sistemas como el Ti6Al4V esta información debe interpretarse considerando las características específicas del material. Debido a la alta pasividad de la aleación, la corrosión generalizada no es el mecanismo predominante, siendo más relevante la posibilidad de fenómenos localizados como la corrosión por picado. No obstante, los resultados obtenidos en los ensayos potenciodinámicos muestran la ausencia sobrecorrientes en el barrido inverso, lo que indica que, bajo las condiciones ensayadas, tampoco se produjo este tipo de degradación. Por lo tanto, aunque se pueda calcular una velocidad de corrosión teórica, esta no representa un proceso activo o significativo en este contexto.

En conjunto, estos resultados confirman que, aunque el objetivo principal de los recubrimientos no sea mejorar la resistencia a la corrosión, ya elevada por la pasividad intrínseca de la aleación, su presencia no compromete esta propiedad y, en cambio, puede contribuir a su mantenimiento a lo largo del tiempo.

Tabla 9. Valores de potencial de corrosión y densidad de corriente de corrosión estimadas por extrapolación de Tafel.

	Tiempo de inmersión en SBF [Días]	E_{corr} [mV]	i_{corr} [A/cm^2]
Ti6Al4V pulido	0	-207.75	2.15×10^{-7}
	21	-316.35	1.04×10^{-7}
Quitosano	0	-234.00	3.07×10^{-8}
	21	-152.9	4.70×10^{-8}
Quitosano + BG	0	-203.25	4.52×10^{-8}
	21	-290.25	2.05×10^{-8}

6.1.4. Ensayo de bioactividad de los recubrimientos

En la Figura 29 se presentan los espectros FTIR obtenidos para las muestras recubiertas con quitosano y con quitosano más nanopartículas de biovidrio, tanto antes (0 días) como después de 21 días de inmersión en SBF. Esta comparación permite identificar los cambios inducidos por la exposición al medio fisiológico y evaluar la posible formación de nuevas fases asociadas a la bioactividad del sistema.

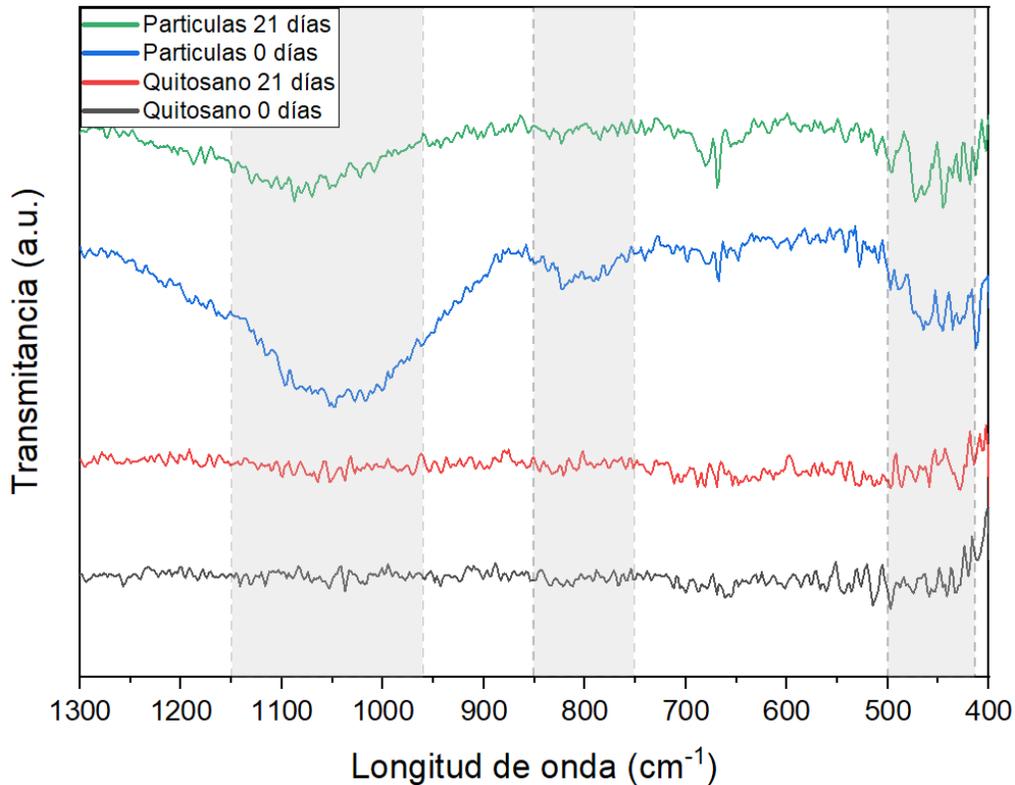


Figura 29. Espectros FTIR de los recubrimientos antes (0 días) y después (21 días) de la inmersión en SBF. Se presentan los espectros correspondientes a muestras recubiertas únicamente con quitosano (curvas negra y roja) y con quitosano más nanopartículas de biovidrio (curvas azul y verde).

Aunque en los espectros FTIR mostrados en la Figura 29 tras 21 días de inmersión no se observan de forma evidente las bandas características asociadas a grupos fosfato (particularmente en las regiones cercanas a 560–600 cm^{-1} y 1000–1100 cm^{-1}), esto no implica necesariamente la ausencia de formación de hidroxiapatita. Como se discutió en el capítulo anterior, el análisis mediante microscopía electrónica de barrido (SEM)

evidenció un notable crecimiento de cristales sobre las nanopartículas de biovidrio sin dopar tras su inmersión en SBF durante 21 días, los cuales presentan una morfología compatible con la nucleación y crecimiento de hidroxiapatita. Estos cristales, de escala nanométrica, se forman a partir de núcleos del tamaño de unas pocas nanopartículas, lo que puede dificultar su detección mediante FTIR, ya que esta técnica requiere una cantidad mínima de material y una organización estructural suficiente para generar una señal clara.

Por otro lado, se observa que las bandas características del enlace silicio-oxígeno (Si-O-Si y Si-O^-) permanecen presentes incluso después de 21 días de inmersión, lo que indica que el recubrimiento sigue siendo detectable en la superficie. Este comportamiento puede atribuirse a la elevada concentración de nanopartículas incorporadas en el recubrimiento (7,5 g/L), lo que refuerza su estabilidad durante el tiempo de ensayo.

Además, es posible que el recambio frecuente del medio de inmersión dificulte la formación continua de hidroxiapatita, ya que al renovar el SBF se elimina parcialmente los iones y precursores necesarios para su nucleación y crecimiento. Asimismo, a medida que el recubrimiento se degrada y libera partículas, puede que no se otorgue el tiempo suficiente para que estas transformen adecuadamente en hidroxiapatita. Finalmente, la propia degradación del recubrimiento podría impedir la formación estable de hidroxiapatita al alterar las condiciones superficiales requeridas para su cristalización.

6.1.5. Ensayo de viabilidad celular sobre los recubrimientos

La Figura 30 muestra los resultados de los ensayos de viabilidad celular en contacto directo con las muestras pulidas, atacadas y recubiertas con quitosano y BGNs, luego de 7 y 14 días de incubación. A los 7 días, se observa que la viabilidad celular sobre la superficie recubierta es inferior en comparación con el control y las muestras sin recubrimiento. Sin embargo, los valores rondan el 80%, lo que indica que los recubrimientos no presentan citotoxicidad.

Después de 14 días de incubación, las tres muestras ensayadas muestran un comportamiento muy similar, con viabilidad celular cercana al 100% del control. La condición de titanio pulido, similar a la que se encuentra en implantes comerciales, representa la referencia base para la biocompatibilidad. Sin embargo, las superficies

recubiertas con quitosano y nanopartículas de biovidrio (BGNs) mejoran esta condición, proporcionando un ambiente aún más favorable para el crecimiento y la proliferación celular. Estos resultados sugieren que los recubrimientos no solo mantienen, sino que potencian la biocompatibilidad a largo plazo, favoreciendo la proliferación celular sin efectos adversos.

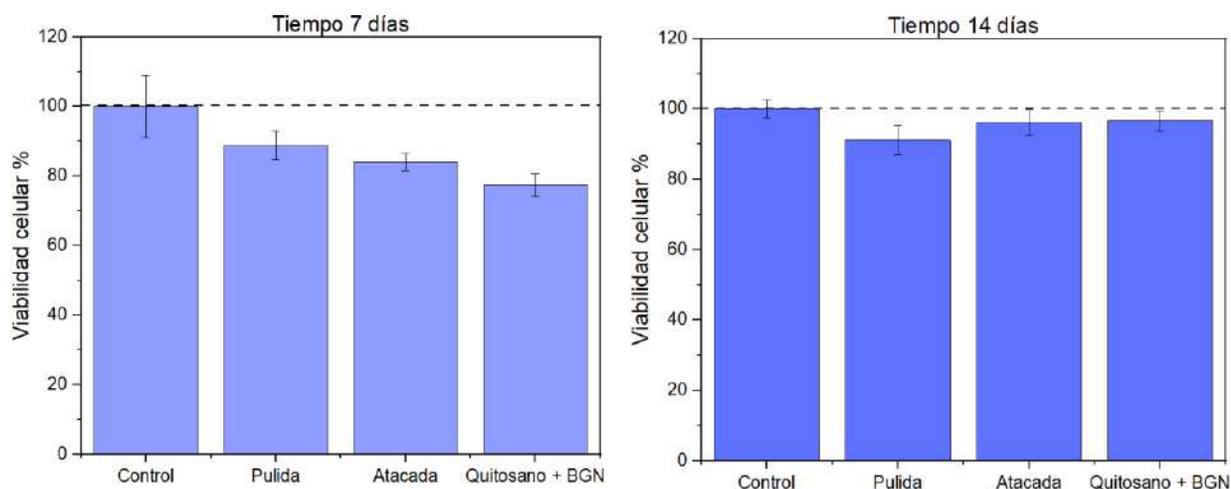


Figura 30. Viabilidad celular tras 7 y 14 días de incubación.

Los resultados mostrados en la Figura 31 corresponden a las imágenes de fluorescencia y SEM obtenidas tras 14 días de incubación celular. En las imágenes a, b y c, se observa que la calceína, además de marcar las células vivas mediante fluorescencia, también emite señal desde el quitosano, lo que genera cierto apantallamiento en las imágenes. A pesar de esto, se aprecia que, entre las muestras sin recubrimiento, la superficie atacada presenta un entorno más favorable para el desarrollo celular, posiblemente debido al tipo de capa pasiva formada durante el ataque químico. Además, en la superficie pulida, las células muestran una orientación preferencial alineada con la dirección del pulido. Como era de esperar, tanto en las superficies pulida como atacada se observa una alta densidad de células vivas. En la muestra recubierta con quitosano y BGNs, las células aparecen distribuidas de forma homogénea, lo que sugiere un ambiente más favorable para su adhesión y proliferación.

En las imágenes SEM se observa confluencia celular en las tres muestras, es decir, la formación de una capa continua de células sobre la superficie. En la imagen d, correspondiente a la muestra pulida, se aprecia una leve separación entre las células.

En la imagen e, correspondiente a la muestra atacada, se confirma lo observado en las imágenes de fluorescencia, evidenciando que el óxido pasivo generado por el ataque químico resulta más favorable para el desarrollo celular.

En las imágenes f y g, que corresponden a las muestras recubiertas con menor y mayor aumento respectivamente, se observa que las partículas de biovidrio presentes no afectan negativamente el crecimiento celular, ya que las células mantienen una morfología no redondeada. Sin embargo, en estas imágenes también se identifican leves indicios de despegue, posiblemente asociados a la degradación natural del recubrimiento.

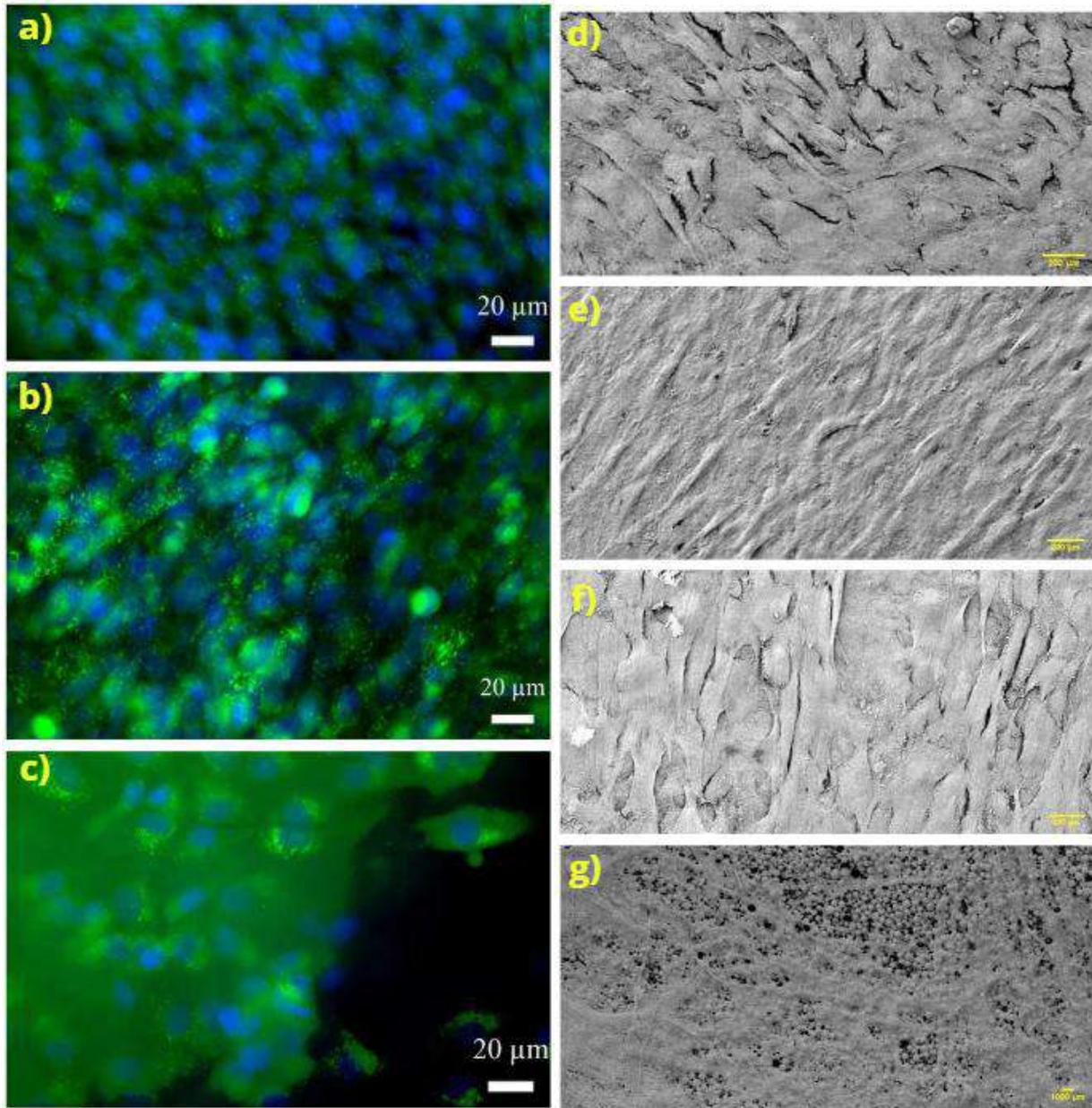


Figura 31. Imágenes de fluorescencia (a–c) y SEM (d–g) de células MG-63 tras 14 días de cultivo sobre superficies de titanio: pulida (a, d), atacada (b, e) y recubierta con quitosano + BGN (c, f, g).

6.2. Conclusiones

En esta etapa del trabajo se logró desarrollar recubrimientos compuestos por quitosano y nanopartículas de biovidrio mediante la técnica de deposición electroforética (EPD), los cuales mostraron un buen desempeño tanto en su estructura como en su funcionamiento. Las imágenes SEM confirmaron que se formaron capas continuas, homogéneas y con una alta concentración de nanopartículas, lo que permitió obtener recubrimientos gruesos, estables y con buena adherencia al sustrato metálico.

Los análisis por FTIR confirmaron que las nanopartículas quedaron bien incorporadas en la matriz de quitosano, y que todavía estaban presentes luego de 21 días de inmersión en SBF, lo que demuestra que el recubrimiento se mantiene con el tiempo. Esta estabilidad también fue observada mediante ensayos electroquímicos, que no mostraron un deterioro importante del recubrimiento ni un aumento en la corrosión del material. Por el contrario, los recubrimientos ayudaron a conservar la capa protectora del titanio.

Además, los ensayos con células MG-63 mostraron que los recubrimientos fueron bien aceptados biológicamente, con alta viabilidad y buena distribución celular después de 14 días de cultivo. En conjunto, estos resultados indican que los recubrimientos obtenidos no solo son duraderos y estables, sino que también resultan adecuados para aplicaciones biomédicas gracias a su buena compatibilidad celular.

6.3. Trabajo futuro

A partir de los resultados obtenidos, se proponen las siguientes líneas de trabajo para continuar con el desarrollo y optimización de los recubrimientos:

- **Incorporación de partículas con mayor contenido de Zn:** Evaluar la incorporación de nanopartículas de biovidrio con mayor contenido de Zn, con el objetivo de determinar si niveles más altos permiten mejorar sus propiedades bioactivas o antimicrobianas.
- **Realizar ensayos electroquímicos de mayor duración:** Extender los tiempos de inmersión en SBF para analizar el comportamiento a largo plazo de los recubrimientos y su posible degradación o modificación estructural.
- **Estudiar la liberación iónica:** Investigar la liberación de iones desde el recubrimiento, especialmente de silicio y calcio, y su posible relación con la bioactividad del sistema.
- **Aplicar la técnica a geometrías más complejas:** Evaluar la eficacia del proceso de deposición electroforética sobre sustratos con formas más representativas de dispositivos reales, como tornillos o implantes con superficies curvas o porosas.
- **Probar otros sustratos o matrices poliméricas:** Analizar el comportamiento de los recubrimientos sobre diferentes materiales base, así como el uso de otras matrices poliméricas que puedan ofrecer mejoras en cuanto a degradación, adhesión o respuesta biológica.

8. REFERENCIAS

- [1] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, and J. E. Lemons, *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2004.
- [2] M. Long and H. J. Rack, "Titanium alloys in total joint replacement—a materials science perspective," *Biomaterials*, vol. 19, no. 18, pp. 1621–1639, Sep. 1998, doi: 10.1016/S0142-9612(97)00146-4.
- [3] L. L. Hench, "Bioceramics," *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 81, no. 7, pp. 1705–1728, Jul. 1998, doi: 10.1111/j.1151-2916.1998.tb02540.x.
- [4] J. C. Middleton and A. J. Tipton, "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices," *Biomaterials*, vol. 21, no. 23, pp. 2335–2346, Dec. 2000, doi: 10.1016/S0142-9612(00)00101-0.
- [5] D. F. Williams, "On the mechanisms of biocompatibility," *Biomaterials*, vol. 29, no. 20, pp. 2941–2953, Jul. 2008, doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.04.023.
- [6] A. Hudecki, G. Kiryczyński, and M. J. Łos, "Biomaterials, Definition, Overview," in *Stem Cells and Biomaterials for Regenerative Medicine*, Elsevier, 2019, pp. 85–98. doi: 10.1016/B978-0-12-812258-7.00007-1.
- [7] V. Biehl and J. Breme, "Metallic Biomaterials," *Mat.-wiss, u. Werkstofftech*, vol. 32, pp. 137–144, 2001.
- [8] Q. Chen and G. A. Thouas, "Metallic implant biomaterials," *Materials Science and Engineering: R: Reports*, vol. 87, pp. 1–57, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.mser.2014.10.001.
- [9] M. Diefenbeck, T. Mückley, and G. O. Hofmann, "Prophylaxis and treatment of implant-related infections by local application of antibiotics," *Injury*, vol. 37, no. 2, pp. S95–S104, 2006.
- [10] R. M. Pilliar, "Metallic Biomaterials," in *Biomedical Materials*, Cham: Springer International Publishing, 2021, pp. 1–47. doi: 10.1007/978-3-030-49206-9_1.
- [11] J. R. Jones, "Review of bioactive glass: From Hench to hybrids," *Acta Biomater*, vol. 9, no. 1, pp. 4457–4486, 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.08.023>.

- [12] Y. Zhu, X. Zhang, G. Chang, S. Deng, and H. F. Chan, "Bioactive Glass in Tissue Regeneration: Unveiling Recent Advances in Regenerative Strategies and Applications," *Advanced Materials*, vol. 37, no. 2, p. 2312964, Jan. 2025, doi: <https://doi.org/10.1002/adma.202312964>.
- [13] F. Baino, S. Hamzehlou, and S. Kargozar, "Bioactive Glasses: Where Are We and Where Are We Going?," *J Funct Biomater*, vol. 9, no. 1, p. 25, Mar. 2018, doi: 10.3390/jfb9010025.
- [14] L. L. Hench, "Bioceramics: From Concept to Clinic," *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 74, no. 7, pp. 1487–1510, Jul. 1991, doi: 10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x.
- [15] K. Zheng and A. R. Boccaccini, "Sol-gel processing of bioactive glass nanoparticles: A review," *Adv Colloid Interface Sci*, vol. 249, pp. 363–373, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.cis.2017.03.008.
- [16] L. Courthéoux, J. Lao, J.-M. Nedelec, and E. Jallot, "Controlled Bioactivity in Zinc-Doped Sol–Gel-Derived Binary Bioactive Glasses," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 112, no. 35, pp. 13663–13667, Sep. 2008, doi: 10.1021/jp8044498.
- [17] M. Erol, A. Özyuguran, and Ö. Çelebican, "Synthesis, Characterization, and In Vitro Bioactivity of Sol-Gel-Derived Zn, Mg, and Zn-Mg Co-Doped Bioactive Glasses," *Chem Eng Technol*, vol. 33, no. 7, pp. 1066–1074, Jul. 2010, doi: 10.1002/ceat.200900495.
- [18] Z. Neščáková *et al.*, "Multifunctional zinc ion doped sol – gel derived mesoporous bioactive glass nanoparticles for biomedical applications," *Bioact Mater*, vol. 4, pp. 312–321, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2019.10.002>.
- [19] Y.-F. Goh, A. Z. Alshemary, M. Akram, M. R. Abdul Kadir, and R. Hussain, "In vitro study of nano-sized zinc doped bioactive glass," *Mater Chem Phys*, vol. 137, no. 3, pp. 1031–1038, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.matchemphys.2012.11.022.
- [20] N. Esfahanizadeh, M. R. Nourani, A. Bahador, N. Akhondi, and M. Montazeri, "The Anti-biofilm Activity of Nanometric Zinc doped Bioactive Glass against Putative Periodontal Pathogens: An in vitro Study," *Biomedical Glasses*, vol. 4, no. 1, pp. 95–107, Nov. 2018, doi: 10.1515/bglass-2018-0009.

- [21] A. R. Boccaccini, S. Keim, R. Ma, Y. Li, and I. Zhitomirsky, "Electrophoretic deposition of biomaterials," *J R Soc Interface*, vol. 7, no. suppl_5, Oct. 2010, doi: 10.1098/rsif.2010.0156.focus.
- [22] L. BESRA and M. LIU, "A review on fundamentals and applications of electrophoretic deposition (EPD)," *Prog Mater Sci*, vol. 52, no. 1, pp. 1–61, Jan. 2007, doi: 10.1016/j.pmatsci.2006.07.001.
- [23] M. N. V Ravi Kumar, "A review of chitin and chitosan applications," *React Funct Polym*, vol. 46, no. 1, pp. 1–27, 2000, doi: [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9).
- [24] R. Jayakumar, M. Prabakaran, P. T. Sudheesh Kumar, S. V Nair, and H. Tamura, "Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications," *Biotechnol Adv*, vol. 29, no. 3, pp. 322–337, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.005>.
- [25] R. de Sousa Victor, A. Marcelo da Cunha Santos, B. Viana de Sousa, G. de Araújo Neves, L. Navarro de Lima Santana, and R. Rodrigues Menezes, "A Review on Chitosan's Uses as Biomaterial: Tissue Engineering, Drug Delivery Systems and Cancer Treatment," *Materials*, vol. 13, no. 21, p. 4995, Nov. 2020, doi: 10.3390/ma13214995.
- [26] M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite, and E. Chiellini, "Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications," *Prog Polym Sci*, vol. 36, no. 8, pp. 981–1014, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001>.
- [27] A. R. Boccaccini, S. Keim, R. Ma, Y. Li, and I. Zhitomirsky, "Electrophoretic deposition of biomaterials," *J R Soc Interface*, vol. 7, no. suppl_5, Oct. 2010, doi: 10.1098/rsif.2010.0156.focus.
- [28] A. R. Boccaccini, Q. Chen, L. Lefebvre, J. E. Gough, and J. R. Jones, "Tissue engineering scaffolds from bioactive glass-based hybrid materials prepared by sol-gel method," *J Mater Sci Mater Med*, vol. 17, no. 11, pp. 1057–1064, 2006, doi: 10.1007/s10856-006-0524-8.
- [29] International Organization for Standardization., "ISO 2409:1999 Paints and varnishes — Cross-cut test," Ginebra, 1999.
- [30] Z. Schwartz, E. M. Lotz, M. B. Berger, and B. D. Boyan, "7.22 The Effect of Substrate Microtopography on Osteointegration of Titanium Implants☆," in

Comprehensive Biomaterials II, P. Ducheyne, Ed., Oxford: Elsevier, 2017, pp. 429–443. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.10218-8>.

- [31] T. Kokubo and H. Takadama, “How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 15, pp. 2907–2915, 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>.
- [32] A. L. B. Maçon *et al.*, “A unified in vitro evaluation for apatite-forming ability of bioactive glasses and their variants,” *J Mater Sci Mater Med*, vol. 26, no. 2, p. 115, Feb. 2015, doi: 10.1007/s10856-015-5403-9.
- [33] X. Wu, G. Meng, S. Wang, F. Wu, W. Huang, and Z. Gu, “Zn and Sr incorporated 64S bioglasses: Material characterization, in-vitro bioactivity and mesenchymal stem cell responses,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 52, pp. 242–250, Jul. 2015, doi: 10.1016/j.msec.2015.03.057.
- [34] K. Zheng *et al.*, “Aging Time and Temperature Effects on the Structure and Bioactivity of Gel-Derived 45S5 Glass-Ceramics,” *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 98, no. 1, pp. 30–38, Jan. 2015, doi: 10.1111/jace.13258.
- [35] V. Aina *et al.*, “Cytotoxicity of zinc-containing bioactive glasses in contact with human osteoblasts,” *Chem Biol Interact*, vol. 167, no. 3, pp. 207–218, May 2007, doi: 10.1016/j.cbi.2007.03.002.
- [36] P. Balasubramanian, L. A. Strobel, U. Kneser, and A. R. Boccaccini, “Zinc-containing bioactive glasses for bone regeneration, dental and orthopedic applications,” *Biomedical glasses*, vol. 1, no. 1, Jan. 2015, doi: 10.1515/bglass-2015-0006.
- [37] N. Kanzaki, K. Onuma, G. Treboux, S. Tsutsumi, and A. Ito, “Inhibitory Effect of Magnesium and Zinc on Crystallization Kinetics of Hydroxyapatite (0001) Face,” *J Phys Chem B*, vol. 104, no. 17, pp. 4189–4194, May 2000, doi: 10.1021/jp9939726.
- [38] R. L. Du, J. Chang, S. Y. Ni, W. Y. Zhai, and J. Y. Wang, “Characterization and in vitro Bioactivity of Zinc-containing Bioactive Glass and Glass-ceramics,” *J Biomater Appl*, vol. 20, no. 4, pp. 341–360, Apr. 2006, doi: 10.1177/0885328206054535.
- [39] N. Yadav *et al.*, “Graphene Oxide-Coated Surface: Inhibition of Bacterial Biofilm Formation due to Specific Surface–Interface Interactions,” *ACS Omega*, vol. 2, no. 7, pp. 3070–3082, Jul. 2017, doi: 10.1021/acsomega.7b00371.

- [40] J. I. Rosales-Leal *et al.*, "Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion," *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 365, no. 1, pp. 222–229, 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.12.017>.
- [41] J. D. Bumgardner, R. Wiser, S. H. Elder, R. Jouett, Y. Yang, and J. L. Ong, "Contact angle, protein adsorption and osteoblast precursor cell attachment to chitosan coatings bonded to titanium," *J Biomater Sci Polym Ed*, vol. 14, no. 12, pp. 1401–1409, Jan. 2003, doi: 10.1163/156856203322599734.
- [42] K. L. Menzies and L. Jones, "The Impact of Contact Angle on the Biocompatibility of Biomaterials," *Optometry and Vision Science*, vol. 87, no. 6, pp. 387–399, Jun. 2010, doi: 10.1097/OPX.0b013e3181da863e.
- [43] K. D. Patel *et al.*, "Chitosan–nanobioactive glass electrophoretic coatings with bone regenerative and drug delivering potential," *J Mater Chem*, vol. 22, no. 47, p. 24945, 2012, doi: 10.1039/c2jm33830k.
- [44] W. Xu *et al.*, "Microstructure, wear resistance, and corrosion performance of Ti35Zr28Nb alloy fabricated by powder metallurgy for orthopedic applications," *J Mater Sci Technol*, vol. 41, pp. 191–198, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.jmst.2019.08.041.
- [45] Scribner Associates Inc., "Zplot for Windows, Electrochemical Impedance Software Operating Manual, Part 1," 1998, *Scribner Associates Inc., Southern Pines, NC*.
- [46] B. Hirschorn, M. E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur, and M. Musiani, "Determination of effective capacitance and film thickness from constant-phase-element parameters," *Electrochim Acta*, vol. 55, no. 21, pp. 6218–6227, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.electacta.2009.10.065.

Repositorio Institucional RINFI, Facultad de Ingeniería, UNMDP

En calidad de TITULARES de los derechos de autor de la obra que se detalla a continuación, y sin infringir según mi conocimiento derechos de terceros, por la presente informo a la Facultad de Ingeniería de la UNMDP mi decisión de concederle en forma gratuita, no exclusiva y por tiempo ilimitado la autorización para:

- 1) Publicar el texto del trabajo más abajo indicado, exclusivamente en medio digital, en el sitio web de la Facultad y/o Universidad, por Internet, a título de divulgación gratuita de la producción científica generada por la Facultad, a partir de la fecha especificada.
- 2) Permitir a la Biblioteca que, sin producir cambios en el contenido, establezca los formatos de publicación en la web para su más adecuada visualización y la realización de copias digitales y migraciones de formato necesarias para la seguridad, resguardo y preservación a largo plazo de la presente obra:

Autor: Agustin Agostini Documento: 43107545 E-mail: agustinagostinicrc@gmail.com	 Firma
Director/a: Dra Josefina Ballarre Documento: 27741413 Leg:	 Firma Director/a

2. Título obtenido: Ingeniero en Materiales

3. Identificación/Título de la Obra: “Nanopartículas de vidrio bioactivo dopado con Zinc y recubrimientos de quitosano/vidrio bioactivo sobre implantes de titanio para evitar infección y promover osteointegración”



4. AUTORIZO la publicación bajo con la licencia Creative Commons BY-NC-ND Atribución-NoComercial-Sin Obra Derivada.

5. **Nota de Embargo:** Para aquellas obras que NO pueden ser de acceso a texto completo por razones de acuerdos previos con empresas o instituciones; por razones de

índole comercial u otras razones; se procederá según lo establecido en Art. 6 de la Ley 26899 de Repositorios digitales institucionales de acceso abierto:

ARTICULO 6° — En caso que las producciones científico-tecnológicas y los datos primarios estuvieran protegidos por derechos de propiedad industrial y/o acuerdos previos con terceros, los autores deberán proporcionar y autorizar el acceso público a los metadatos de dichas obras intelectuales y/o datos primarios, comprometiéndose a proporcionar acceso a los documentos y datos primarios completos a partir del vencimiento del plazo de protección de los derechos de propiedad industrial o de la extinción de los acuerdos previos antes referidos.

Asimismo, podrá excluirse la difusión de aquellos datos primarios o resultados preliminares y/o definitivos de una investigación no publicada ni patentada que deban mantenerse en confidencialidad, requiriéndose a tal fin la debida justificación institucional de los motivos que impidan su difusión. Será potestad de la institución responsable en acuerdo con el investigador o equipo de investigación, establecer la pertinencia del momento en que dicha información deberá darse a conocer. A los efectos de la presente ley se entenderá como “metadato” a toda aquella información descriptiva sobre el contexto, calidad, condición o características de un recurso, dato u objeto, que tiene la finalidad de facilitar su búsqueda, recuperación, autenticación, evaluación, preservación y/o interoperabilidad.

En razón de lo expuesto, si el Trabajo se encuentra comprendido en el caso de que su producción esté protegida por derechos de Propiedad Industrial y/o acuerdos previos con terceros que implique la confidencialidad de los mismos, el/la directora/a debe indicar a continuación motivos y fecha de finalización del embargo:

NO SE AUTORIZA la publicación antes de la fecha __/__/____ por lo siguientes motivos:.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Cumplido el plazo del embargo, estará accesible a texto completo según contempla la normativa vigente.



Director/a del TF