

28 de noviembre de 2022, Mar del Plata

## **PROYECTO FINAL INGENIERIA EN MATERIALES**

-Departamento Ingeniería en Materiales-

*“Caracterización de aleación ZX10 -base Magnesio- para su potencial aplicación en la regeneración de daño en sistema nervioso periférico”*

-Salvador Fernández Madero-

DNI 40459606 –Legajo 11755

salvafm.27@hotmail.com

### **DIRECTORA:**

-Dra. Maria Rosa Katunar.

### **Co-DIRECTORA:**

-Dra. Silvia Ceré.

### **JURADOS:**

-Dra. Valeria Pettarin.

-Dr. Matias Valdes.

-Ing. Agustín Sisamon.





RINFI se desarrolla en forma conjunta entre el INTEMA y 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/).

28 de noviembre de 2022, Mar del Plata

## **PROYECTO FINAL INGENIERIA EN MATERIALES**

-Departamento Ingeniería en Materiales-

*“Caracterización de aleación ZX10 -base Magnesio- para su potencial aplicación en la regeneración de daño en sistema nervioso periférico”*

-Salvador Fernández Madero-

DNI 40459606 –Legajo 11755

salvafm.27@hotmail.com

### **DIRECTORA:**

-Dra. Maria Rosa Katunar.

### **Co-DIRECTORA:**

-Dra. Silvia Ceré.

### **JURADOS:**

-Dra. Valeria Pettarin.

-Dr. Matias Valdes.

-Ing. Agustín Sisamon.



## **AGRADECIMIENTOS**

Siendo este proyecto la culminación de mi estudio como Ingeniero, me surge la necesidad de agradecer a todas aquellas personas que hicieron de mi carrera una experiencia amena y, sobre todo, posible.

Dentro del enorme grupo de personas que me acompañaron en este proceso, quiero destacar a mis directoras de tesis Silvia Ceré y María Rosa Katunar, quienes me brindaron su ayuda total para que este proyecto se lleve a cabo.

Agradecer principalmente a mis Abuelos, Tata y Beia, con quienes conviví por 5 años y quienes se encargaron de no solo nutrir mi cuerpo con alimento a lo largo de todo mi estudio, sino que también de cultivar mi cerebro con su compañía y fomentar mi desarrollo a través de un ambiente cálido y activo, como lo fue nuestro hogar por tantos años.

Agradecer también a mi familia por su empuje y, en particular, a mi Madre, Silvana, quien me apoyó incondicionalmente y supo cómo alentarme en momentos críticos, incluso viajando varios kilómetros cuando hizo falta.

Finalmente, querría agradecerle a la ciudad de Mar del Plata, donde habité durante el transcurso de mi carrera y fue integrante crucial del éxito de la misma, permitiendo que me enfoque cuando era necesario, pero también brindándome motivos varios de dispersión, vitales para el proceso de aprendizaje.

Mi carrera como Ingeniero fue desarrollada en la Universidad Nacional de Mar del Plata, con la cual quedaré en eterna deuda. La misma me brindó profesores ejemplares, laboratorios completos, visitas a plantas e, incluso, una beca para estudiar en el exterior sin exigirme más que mi compromiso y un buen desempeño. ¡Gracias UNMdP!

## **ÍNDICE**

<b>1. Objetivo e Hipótesis de trabajo</b>	<b>5</b>
1.1 <u>Objetivos</u>	5
1.2 <u>Hipótesis De Trabajo</u>	5
<b>2. Introducción</b>	<b>6</b>
2.1 <u>Sistema nervioso</u>	6
2.1.1 Usar el cerebro para mover un músculo.....	6
2.1.2 Estructura de una neurona.....	7
2.1.3 Daño en nervio periférico.....	8
2.2 <u>Biomateriales</u>	10
2.3 <u>Magnesio como biomaterial</u>	11
2.4 <u>Aleaciones base Magnesio</u>	12
2.5 <u>Influencia del procesado</u>	13
2.6 <u>Corrosión del Mg</u>	14
2.7 <u>Tratamientos superficiales</u>	17
2.8 <u>Técnicas experimentales utilizadas</u>	17
2.8.1 <u>Microscopía óptica.....</u>	18
2.8.2 <u>Espectroscopía Raman.....</u>	18
2.8.3 <u>Técnicas electroquímicas.....</u>	20
2.8.3.1 <u>Espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS).....</u>	21
2.8.3.2 <u>Curvas de polarización.....</u>	23
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>25</b>
3.1 <u>Muestras</u>	25
3.2 <u>Lijas</u>	26
3.3 <u>Esterilizado</u>	26
3.4 <u>Soluciones</u>	26
3.4.1 <u>Solución fisiológica simulada (SBF).....</u>	26
3.4.2 <u>Acético-Picral.....</u>	27
3.5 <u>pHmetro</u>	27
3.6 <u>Tratamientos Experimentales</u>	28
3.6.1 <u>Inmersiones.....</u>	28
3.6.2 <u>Caracterización superficial.....</u>	29
3.6.2.1 <u>Microscopía óptica.....</u>	29
3.6.2.2 <u>Espectroscopía Raman.....</u>	29
3.6.3 <u>Técnicas electroquímicas.....</u>	30
3.6.3.1 <u>Potencial de circuito abierto (estabilización).....</u>	31
3.6.3.2 <u>Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).....</u>	31
3.6.3.3 <u>Curvas de polarización.....</u>	32
<b>4. RESULTADOS Y ANÁLISIS</b>	<b>33</b>
4.1 <u>Inspección visual de las muestras</u>	33
4.2 <u>Inmersiones</u>	34
4.3 <u>Caracterización superficial</u>	35
4.3.1 <u>Revelado de la microestructura.....</u>	35
4.3.2 <u>Espectroscopia Raman.....</u>	37
4.4 <u>Técnicas electroquímicas</u>	39
4.4.1 <u>Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).....</u>	39
4.4.1.1 <u>Modelado.....</u>	41
4.4.2 <u>Curvas de Polarización.....</u>	44

<b>5. ANÁLISIS ECONÓMICO</b>	<b>50</b>
5.1 Actualidad del Mercado	50
5.2 Producción	51
5.2.1 Alambre ZX10.....	51
5.2.2 Cirugía convencional.....	51
5.3 Costos	52
5.3.1 Aleación ZX10.....	52
5.3.2 Cirugía convencional.....	53
5.4 Comparación Final	53
<b>6. RESUMEN DE RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIÓN</b>	<b>54</b>
6.1 Revisión experimental del proyecto	54
6.2 Revisión personal del proyecto	55
<b>7. ANEXO</b>	<b>57</b>
7.1 Caja de Faraday	57
7.1.2 Marco teórico.....	57
7.1.3 Diseño.....	58
<b>8. REFERENCIAS</b>	<b>60</b>

## **Resumen**

*Este proyecto tiene como objetivo general llevar adelante un estudio preliminar in vitro de una nueva aleación base magnesio (Magnesio ZX10), con el fin de analizar su superficie y su degradación en función del tiempo en fluido fisiológico simulado. Para ello se pusieron en práctica diversas técnicas experimentales tanto ópticas y espectroscópicas, como electroquímicas y se evaluaron los resultados obtenidos para muestra tanto esterilizadas como sin esterilizar. El hecho de que los productos de corrosión obtenidos de los ensayos eran los esperables y la evolución de la degradación aceptable, entre otros resultados, es útil para postular a la aleación como potencial guía intraluminal en conductos de guía nerviosa, para recuperación de daños en sistema nervioso periférico.*

## **1. OBJETIVO E HIPÓTESIS DE TRABAJO**

### **1.1 Objetivos**

Este proyecto tiene como objetivo general llevar adelante un estudio preliminar *in vitro* de una nueva aleación base magnesio (Magnesio ZX10), con el fin de analizar su superficie y su degradación en función del tiempo en fluido fisiológico simulado. Se presta también especial atención a los posibles efectos que puede tener el proceso de esterilizado en la degradación. El estudio y su posterior análisis buscan postular a la aleación como potencial guía intraluminal en conductos de guía nerviosa, para recuperación de daños en sistema nervioso periférico.

Por su parte, en este proyecto, se plantean los siguientes objetivos particulares:

- caracterizar la superficie de la aleación (a tiempo cero) con y sin proceso de esterilización, por diferentes técnicas superficiales.
- caracterizar *in vitro* la disolución y generación de subproductos de degradación de las aleaciones de magnesio con y sin proceso de esterilizado, luego de inmersión a tiempos prolongados en ambientes fisiológicos simulados, por diferentes técnicas superficiales.
- estudiar la respuesta electroquímica de la aleación de magnesio con y sin proceso de esterilización en ambientes fisiológicos simulados.
- diseñar una *caja de Faraday* que permita realizar ensayos electroquímicos, minimizando el ruido en las mediciones.
- Contribuir al desarrollo de insumos nacionales de manera de fomentar este campo de aplicación, que no tiene hasta el momento desarrollo en el país.

### **1.2 Hipótesis De Trabajo**

El Mg es considerado actualmente una buena alternativa para prótesis temporales dado que es el cuarto catión más abundante en el cuerpo humano y puede excretarse rápidamente a través de la orina.

Estudios *in vitro* de citotoxicidad han demostrado que la aleación Mg-Zn-Ca exhibe una biocompatibilidad adecuada. Asimismo, las propiedades mecánicas pueden aumentarse y la corrosión de dichas aleaciones puede ralentizarse cambiando la relación atómica Zn/Ca y/o el procesamiento adicional, como el tratamiento mecánico y el tratamiento térmico. Además, las aleaciones de Mg son excelentes conductores por lo que podrían aumentar la estimulación eléctrica o la transducción de señales en células nerviosas, y podrían promover el crecimiento neuronal [1]–[3].

Sin embargo, hasta la fecha muy pocas investigaciones se han abocado al estudio de las aleaciones de Mg para recuperación de nervios y en sus propiedades a nivel biológico como es la potencial biocompatibilidad a nivel neuronal.

Se propone, entonces, evaluar este sistema material con alto potencial para interactuar a largo plazo, positivamente con el cuerpo humano, sin necesidad de ser retirado en una posterior cirugía, permaneciendo presente en el huésped durante un determinado período, mientras el tejido dañado se recupera y es, eventualmente, reemplazado por tejido natural.



## **2. INTRODUCCIÓN**

Las lesiones de nervios periféricos afectan anualmente a una amplia cantidad de personas en todo el mundo. En la última década, se han logrado avances significativos en el diseño de biomateriales que sean capaces de regenerar los nervios lesionados [3]. Sin embargo, hasta el momento la medicina no ha sido capaz de proporcionar un tratamiento satisfactorio con un pronóstico funcional aceptable en lesiones mayores a 20 mm. Esta situación ha propiciado la necesidad de desarrollar estrategias alternativas de reparación, entre las cuales se encuentran los conductos de guía nerviosa (CGNs). Si bien algunos CGNs están disponibles comercialmente para la reparación de nervios periféricos transectados, su capacidad para la reparación de grandes brechas (mayores a 20 mm) es muy limitada y sus resultados clínicos siguen siendo cuestionables [3]. Por ello, es imperiosa la necesidad de nuevos estudios que permitan avanzar en la búsqueda de materiales capaces de promover la regeneración neuronal, generando así nuevos y mejores tratamientos terapéuticos para esta situación particular.

### **2.1 Sistema nervioso**

El sistema nervioso supervisa y controla todos los órganos y sistemas del cuerpo. Consta de dos partes: el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). El SNC está formado por la médula espinal y el cerebro, mientras que el SNP incluye el resto de los nervios y ganglios que salen de la médula espinal y el cerebro. El SNC es responsable de transferir los impulsos eléctricos al SNP, y el SNP procesa los impulsos transfiriendo información y señales hacia y desde el SNC [4]. El SNP está formado por miles de fibras nerviosas individuales o axones (axones mielinizados o no por las células de Schwann) que pueden alcanzar más de un metro de longitud [2].

#### **2.1.1 Usar el cerebro para mover un músculo**

Mover un músculo por lo general implica la comunicación entre el músculo y el cerebro a través de los nervios. El ímpetu para mover un músculo puede originarse en el cerebro, como cuando una persona decide conscientemente mover un músculo, por ejemplo, para levantar un libro [4].

Pero también, el impulso de mover un músculo puede tener su origen en los sentidos. Por ejemplo, las terminaciones nerviosas especiales de la piel (receptores sensoriales) permiten sentir el dolor o un cambio de temperatura. Esta información sensorial se envía al cerebro y este envía un mensaje al músculo para saber cómo responder (Figura 1). En este tipo de intercambio intervienen dos vías nerviosas complejas:

- La vía nerviosa sensorial hacia el encéfalo.
- La vía nerviosa motora hacia el músculo.

Si la sensación se produce de repente y es grave (como sucede al pisar una piedra afilada o al tomar una taza de café muy caliente), el impulso puede viajar a la médula espinal y directamente de vuelta al nervio motor, sin pasar por el cerebro. El resultado es una respuesta rápida de un músculo, al retirarse inmediatamente de lo que sea que esté causando el dolor. Esta respuesta se denomina reflejo vertebral [4].

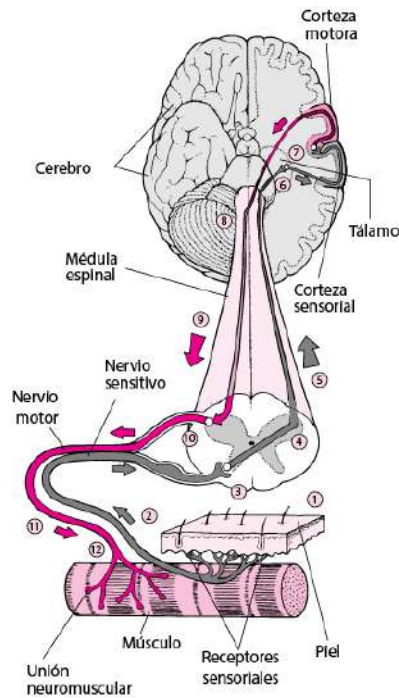


Figura 1. Recorrido del impulso hacia el cerebro (gris) y desde el cerebro (rosa) [4].

### 2.1.2 Estructura de una neurona

Una célula nerviosa (neurona) se compone de un gran cuerpo celular y de fibras nerviosas (una prolongación alargada denominada axón para enviar impulsos y habitualmente muchas ramificaciones denominadas dendritas para recibirlos). Los impulsos procedentes del axón ocurren en la sinapsis (la unión entre dos células nerviosas o neuronas) hacia la dendrita de otra célula (Figura 2), con la transmisión del impulso nervioso y la liberación de neurotransmisores [4].

Cada axón está rodeado por oligodendrocitos en el encéfalo y en la médula espinal y por células de Schwann en el sistema nervioso periférico. Las membranas de estas células están compuestas por una sustancia grasa (lipoproteína) denominada mielina. Las membranas envuelven estrechamente el axón, formando una cubierta de múltiples capas. Esta vaina de mielina se asemeja a un aislante, como el que recubre un cable eléctrico. Los impulsos nerviosos viajan mucho más rápido a través de los nervios recubiertos con una vaina de mielina que a través de los que carecen de ella [4].

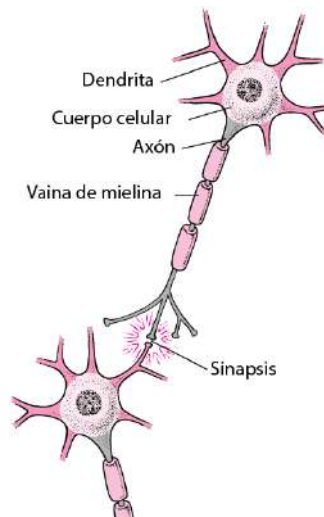


Figura 2. Neurona [4].

### 2.1.3 Daño en nervio periférico

El sistema nervioso periférico es más susceptible a distintos tipos de afecciones, ya que no está protegido por huesos como lo está el sistema nervioso central, que está contenido en las cavidades óseas que llamamos “cráneo” y “columna vertebral”. Muchas de las afecciones en el sistema nervioso periférico se conocen como neuropatías periféricas, y son el resultado de daños en los nervios periféricos.

La disfunción de los nervios periféricos puede deberse a una lesión en cualquier parte del nervio:

- Axón (la parte del nervio que envía mensajes),
- Cuerpo de la neurona,
- Vainas de mielina.

Las consecuencias específicas dependerán del nervio afectado, pero generalmente se manifiestan con alteraciones sensoriomotoras, llevando a alteraciones en la marcha y desarrollo de dolor neuropático [4].

Tras la transección de un nervio periférico, se produce un proceso de degeneración, llamado Walleriano o Anterógrado (Figura 3). En este proceso, se producen nuevos axones para recuperar la unión neuromuscular. Mientras tanto, las células de Schwann aceleran la degeneración de la unión neuromuscular, lo que da lugar a cambios morfológicos en el hueco denominados bandas de Burger. Esto significa que las células de Schwann se alinean para dirigir los axones en crecimiento hacia la unión neuromuscular. Si los axones regenerados alcanzan la unión, dentro de un "período de tiempo favorable", es posible la restauración de la función nerviosa. De lo contrario, se produce una denervación crónica de las células de Schwann, lo que provoca un crecimiento lento de los axones e ineficiente. Por lo tanto, para que la regeneración del nervio sea eficaz, los axones de nuevo crecimiento y las células de Schwann del muñón distal deben estar en contacto en un "período de tiempo favorable" [2].

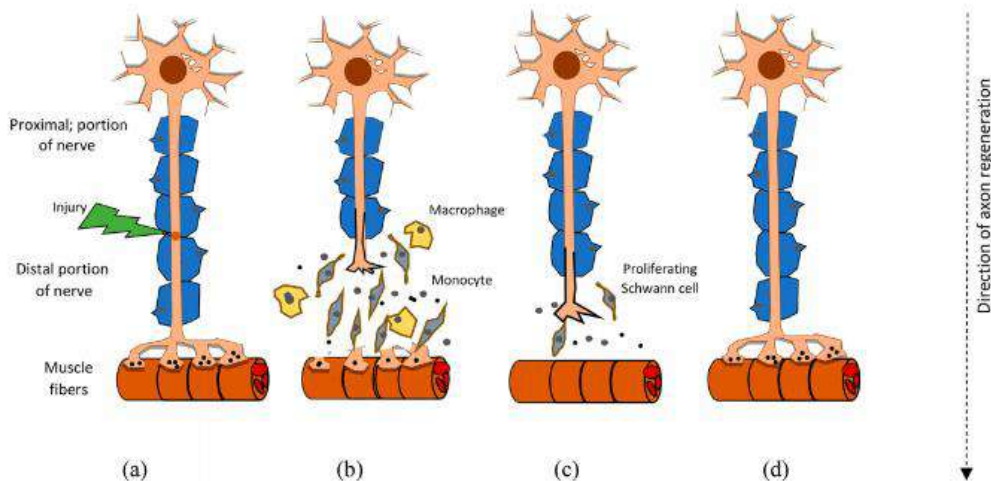


Figura 3. Proceso Walleriano (a) Nervio transectado; (b) Generación del nuevo axone; (c) Células de Schwann alineándose para dirigir el nuevo axon hacia la unión neuromuscular y (d) Nervio regenerado [2].

La regeneración requiere una acción rápida, que puede incluir una intervención quirúrgica para lograr la recuperación funcional del nervio dañado. En el caso de daños que involucren una pequeña pérdida de continuidad en el nervio, con una brecha o gap menor a 5 mm, el método aplicado mayoritariamente para promover la regeneración del nervio resulta ser la sutura de ambos extremos de la lesión (coaptación nerviosa). Pero, cuando las distancias son mayores a 5 mm, el tratamiento quirúrgico considerado “gold standar” en la actualidad lo constituyen las transferencias nerviosas o autoinjertos [2]. En esos casos, los autoinjertos funcionan como conductos de guía nerviosa (CGN) que proporcionan la matriz extracelular, las células de Schwann viables y los factores de crecimiento necesarios para una regeneración óptima. De este modo, se proporciona una guía física que permite a las células del tejido nervioso generar sus axones desde el extremo proximal hasta la unión neuromuscular (Figura 4(d)). Sin embargo, se requiere el sacrificio de un nervio sano, cuyas desventajas son la morbilidad del sitio donante, la necesidad de procedimientos quirúrgicos secundarios, el entumecimiento, la pérdida de la función sensorial, el dolor crónico e incluso una discapacidad permanente asociada al sitio donante, sumado a que solo el 50% de los casos logra una recuperación funcional satisfactoria. Esta situación ha propiciado la necesidad de desarrollar estrategias alternativas, entre las cuales se encuentra el uso de biomateriales como conductos de guía nerviosa artificiales [2], [5]–[7].

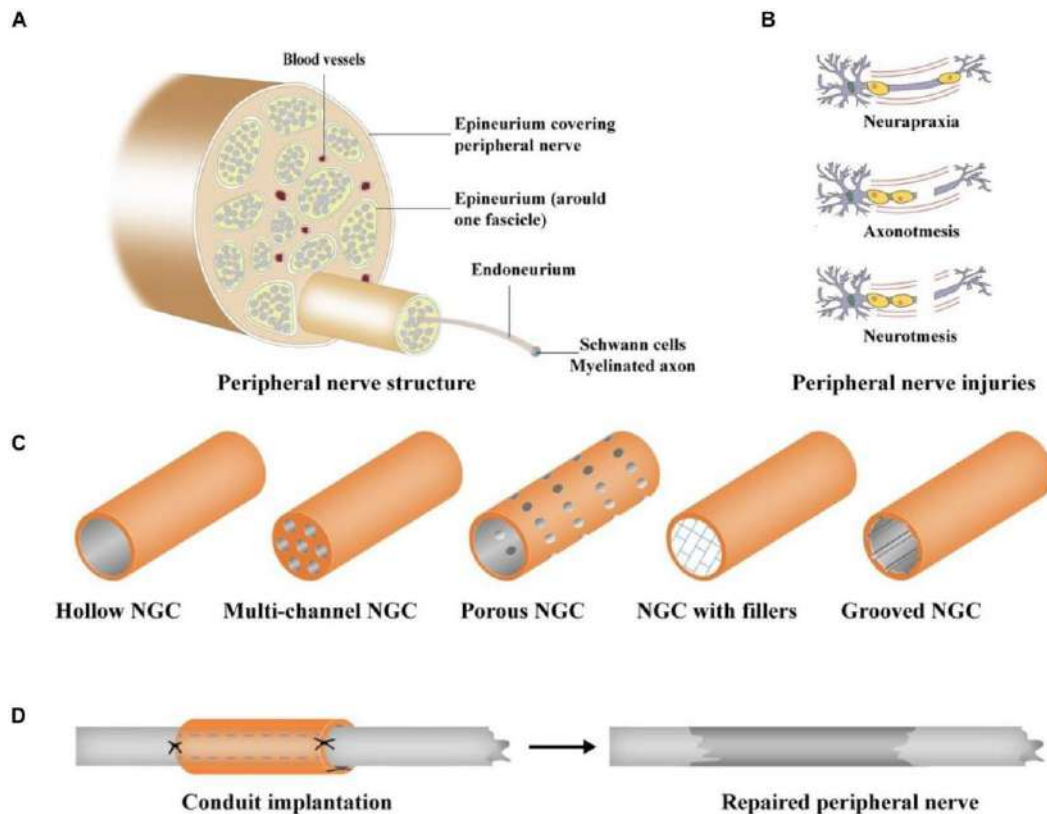


Figura 4. (a) Estructura de nervio periférico; (b) Transección de nervio; (c) Conduito de guía nervioso, a partir de autoinjerto y (d) Esquema de implementación de CGN.

## 2.2 Biomateriales

En primera instancia, sin embargo, se debe definir que es un *biomaterial*. Actualmente, se considera biomaterial a cualquier material sintético o natural (distinto de los fármacos) que interactúe con los tejidos vivos y realice una función particular sin causar efectos adversos en el organismo [8][9]. Asimismo, se define *biodegradable* a todo material que pueda disolverse y absorberse gradualmente tras su colocación en un entorno biológico [9], [10]. Por último, el concepto de *biocompatible* hace referencia a la capacidad de un material para dar una respuesta adecuada del huésped en una aplicación específica (es decir, buena tolerancia del huésped, implica que no haya rechazo). Esto, a su vez, significa que el material o cualquier producto liberado de él no provoque la muerte significativa de las células circundantes, la inflamación crónica u otras alteraciones de las funciones celulares o tisulares persistentes en el tiempo [12]. Si, además, el implante promueve la formación de una capa biológicamente activa en su superficie (o bien, cualquier tipo de acción biológica definida y deseada en el tejido receptor), permitiendo la unión directa del tejido con el implante, se lo clasifica como *bioactivo* [9], [13].

El desarrollo de nuevos biomateriales implica la creación de sustitutos más seguros, fiables y económicos para los tejidos y/u órganos humanos dañados o enfermos, y se espera que cumplan los requisitos clínicos esenciales. El progreso en el desarrollo de los mismos involucra más de tres generaciones [9]. En la primera generación de desarrollo de biomateriales, los implantes se utilizaban para sustituir tejidos dañados o enfermos. Para cumplir este criterio, se crearon materiales inertes como aleaciones de cobalto,  $Al_2O_3$  y poliuretano estable. Sin embargo, esta clase de biomateriales sufría el aflojamiento del implante en el entorno biológico. Por lo cual, se crearon biomateriales de segunda generación con respuestas específicas a los tejidos circundantes y que podían unirse al hueso, como la cerámica bioactiva llamada hidroxiapatita, cuya composición química es similar al componente mineral del hueso humano. En la actualidad,

el desarrollo de los biomateriales involucra una tercer generación, donde los investigadores adoptan una nueva estrategia desde el punto de vista de la ingeniería y la regeneración de tejidos, en la que los biomateriales se crean para que actúen como estructura temporal, por su capacidad para degradarse en medios biológicos, y fomenten un crecimiento del tejido circundante que se vincule con el implante y, finalmente, lo sustituya [14].

Ahora bien, la línea de investigación en la que se inserta este proyecto tiene como objetivo general el desarrollo, y posterior evaluación del desempeño de materiales *metálicos biodegradables* para la futura producción de CGNs en las circunstancias anteriormente mencionadas. En particular, en este proyecto se propone comenzar el estudio de estos materiales con aleaciones de base magnesio (Mg).

### 2.3 Magnesio como biomaterial

El Mg (perteneciente a la tercera generación de implantes) es considerado como una buena alternativa para prótesis temporales dado que es el cuarto catión más abundante en el cuerpo humano y puede excretarse rápidamente a través de la orina. Además, el Mg es un cofactor indispensable para casi todas las reacciones enzimáticas, incluida la síntesis de ADN y ARN, por lo que resulta ser un catión esencial para el metabolismo y proliferación celular. A su vez, los iones Mg disueltos pueden promover la fijación de células óseas, el crecimiento de tejido en la superficie de los implantes y pueden aplicarse tanto en cirugía ortopédica como en tratamientos cardiovasculares [3], [15]. Conjuntamente con su baja densidad (de 1,78-2,0 g/cm, que se aproxima al hueso natural de 1,8-2,1 g/cm) y su módulo de Young del mismo orden que aquel del hueso, el magnesio se presenta como un material liviano y que disminuye circunstancialmente el efecto de *stress shielding* (que pueden conducir a una menor estimulación del crecimiento y remodelación del hueso nuevo). Por lo mencionado anteriormente, el Mg se trata de un material con alto potencial para interactuar positivamente con el cuerpo humano, sin necesidad de ser retirado en una posterior cirugía y permaneciendo presente en el huésped durante un determinado período, mientras el tejido dañado se recupera, siendo eventualmente reemplazado por nuevo tejido [11], [16]–[18].

Por estos motivos, el empleo de las aleaciones de Mg se ha enfocado principalmente en dispositivos ortopédicos y cardiovasculares [3]. Sin embargo, hasta la fecha muy pocas investigaciones se han abocado al estudio de las aleaciones de Mg para recuperación de nervios en sistema nervioso periférico y en sus propiedades a nivel biológico como es la biocompatibilidad a nivel neuronal. En particular, estos estudios han demostrado que las aleaciones de Mg presentan algunas ventajas sobre los materiales poliméricos para la regeneración neuronal. En primer lugar, liberan al degradarse iones que poseen propiedades neuro-protectoras y antioxidantes. Además, los iones  $Mg^{2+}$  juegan un rol importante en la recuperación de lesiones a nivel de la médula espinal. En segundo término, las aleaciones de Mg son excelentes conductores por lo que podrían aumentar la estimulación eléctrica o la transducción de señales en células nerviosas, lo que se ha demostrado que promueve el crecimiento neuronal [3], [16]. Por último, la velocidad de degradación de las aleaciones de Mg puede ser modificada y ajustada de forma tal de optimizar requerimientos específicos del tejido nervioso. De esta manera, diversos estudios se han centrado en mejorar la resistencia del Mg y controlar la tasa de reabsorción mediante el uso de diferentes aleaciones, tratamientos de superficie y recubrimientos [1], [16].

### 2.4 Aleaciones base Magnesio

Para ser considerado como biomateriales, se exige además de lo planteado con anterioridad, que los productos de degradación de las aleaciones de magnesio no sean tóxicos para el sistema biológico. Cualquier elemento de aleación que tenga el potencial de ser perjudicial para los tejidos circundantes debe omitirse o reducirse a una cantidad mínima que sea aceptable para el entorno fisiológico. En la actualidad, las aleaciones de magnesio utilizadas como biomateriales son en su mayoría aleaciones comerciales como AE21,18 AZ31,19-21 AZ91D,22,23 LAE442,24-26 y WE436,27,28 las cuales fueron diseñadas originalmente para aplicaciones industriales sin tener en cuenta la citotoxicidad. Las aleaciones de la serie AZ suelen contener los elementos Al, Zn y una pequeña cantidad de Mn. El WE43 se compone de itrio (Y), neodimio (Nd), gadolinio (Gd) y circonio (Zr) [16].

En el caso de las aleaciones con Al, es sabido que la cantidad aceptable de sus iones en el cuerpo humano debe limitarse, ya que una cantidad excesiva es neurotóxica y puede relacionarse con enfermedades como la demencia senil; además, la acumulación de Al en el hueso perjudica la viabilidad de los osteoclastos. Respecto a las aleaciones con Zn, excesos del ion pueden asociarse con el cáncer de hígado, el cáncer de pulmón, el cáncer de mama y el cáncer nasofaríngeo. El ion Li, presente en las aleaciones de este tipo, perjudica la función del riñón cuando su concentración supera los 2 mmol/L y se ha descubierto que también es neurotóxico a estas altas concentraciones. Finalmente, los iones de tierras raras Pr, Ce e Y pueden causar una hepatotoxicidad grave en determinadas concentraciones [16].

Ahora bien, en lo que respecta a la aleación en estudio (con Zinc y Calcio) es sabido que exhibe buenas propiedades mecánicas generales y adecuada resistencia a la corrosión y dado que estos elementos son esenciales para el metabolismo humano, su uso como potencial biomaterial toma gran importancia [1].

El Zn muestra un buen efecto de endurecimiento por solución sólida y también mejora la resistencia a la corrosión de las aleaciones de Mg [16]. Además, la bibliografía detalla que el zinc tiene un efecto positivo en la formación y mineralización del tejido óseo, inhibiendo al mismo tiempo la resorción ósea [16].

También se sugiere que el Zn puede aumentar los límites de tolerancia de las impurezas (hierro, cobre, níquel y cobalto) en el Mg, lo que mejora la resistencia a la corrosión del Mg evitando el debilitamiento por corrosión galvánica entre las impurezas y el Mg [1]. En general, la resistencia a la corrosión y las propiedades mecánicas de las aleaciones binarias Mg-Zn dependen en gran medida del contenido de Zn. Cuando la cantidad añadida de Zn es inferior a 5 % en peso, un aumento en el contenido de Zn mejora la resistencia a la corrosión general y localizada de las aleaciones Mg-Zn en fluido corporal simulado (SBF) a 37°C. Esto último es atribuido al refinamiento del tamaño de grano y a la formación facilitada de la película superficial protectora inducida por el Zn. No obstante, niveles mucho más altos de Zn (hasta el 7 % en peso) pueden dar lugar a la formación de una cantidad significativa de fases secundarias. Como resultado, se produce una corrosión localizada severa debido al efecto galvánico entre los intermetálicos y la matriz y, en consecuencia, se produce una disminución de la resistencia global a la corrosión [1].

Hasta ahora, las aleaciones basadas en Mg-Zn no se han comercializado para aplicaciones clínicas/médicas, pero se ha llevado a cabo un número relativamente alto de estudios *in vivo* e *in vitro* para evaluar la potencialidad de las aleaciones basadas en Mg-Zn como materiales biomédicos. *He et al.* ha estudiado exhaustivamente el comportamiento de degradación *in vitro* e *in vivo* de la aleación Mg6Zn extruida (en peso). Su trabajo reveló una buena adhesión celular y capacidad de mineralización en ensayos *in vivo*. En este trabajo también se detalla una

considerable formación de hueso nuevo alrededor de la aleación Mg6Zn implantada, y no se detecta ningún efecto adverso como consecuencia de la evolución del hidrógeno. Además, el análisis patológico demostró que la degradación de la aleación Mg6Zn no generaba daño en los órganos vitales (corazón, hígado, riñón y bazo) [19]. *Guo et al.* también ha estudiado la biocompatibilidad *in vitro* e *in vivo* de implantes urinarios de Mg6Zn y Mg puro. En sus ensayos revela que, si bien la aleación de Mg6Zn se degrada más rápidamente respecto al control en SBF, la aleación muestra una mejor biocompatibilidad luego de dos semanas de implantación [1], [20].

El calcio, a su vez, contribuye a una mayor resistencia mediante endurecimiento por solución sólida y precipitación. También es usado como agente refinador del grano, lo cual proporciona una morfología más homogénea, aumentando tanto la resistencia como su tenacidad [16].

Cuando el contenido de Ca es inferior al 1 % en peso, las adiciones de Ca mejoran la resistencia a la corrosión de las aleaciones Mg-Zn mediante la formación de compuestos con impurezas elementales y, por tanto, la purificación de los fundidos. Sin embargo, una mayor adición de Ca conduce a la formación de fases secundarias y, por tanto, da lugar a un aumento de la corrosión por picadura con el aumento de la tasa de corrosión global [1].

Generalmente, se precisa más de un elemento de aleación para mejorar tanto la resistencia a la corrosión como las propiedades mecánicas, ya que las propiedades de las aleaciones binarias simples a base de Mg no pueden cumplir el estándar de los implantes. Sin embargo, según Chen et al., cuanto menor sea la cantidad de segundas fases existente, menor será la tasa de corrosión que presente la aleación. Esto es atribuido a que la corrosión intergranular se distribuye principalmente en los límites de grano, mientras que la corrosión por picado tiene lugar en los lugares de la segunda fase [16].

Estudios *in vitro* de citotoxicidad han demostrado que la aleación Mg-Zn-Ca exhibe una biocompatibilidad adecuada [21]. Durante la degradación en un entorno fisiológico, se liberan grandes cantidades de  $Mg^{2+}$  en el tejido circundante, que fomentan la formación de hidróxido de magnesio, que consecuentemente facilitaría la acumulación de fosfatos de calcio y la formación de nuevo hueso alrededor del material implantado [1]. No obstante, es importante controlar la cantidad de estos aleantes ya que una cantidad excesiva de Ca puede producir cálculos en los riñones y la liberación de iones  $Zn^{2+}$  puede formar  $ZnCl_2$ , que se ha demostrado que daña parcialmente las células que recubren el estómago. Por lo tanto, se recomienda una concentración de Ca inferior al 1% y una de Zn menor al 3% [14].

Asimismo, las propiedades mecánicas pueden aumentarse y la corrosión de dichas aleaciones puede ralentizarse cambiando la relación atómica Zn/Ca y/o el procesamiento adicional, como el tratamiento mecánico y el tratamiento térmico. Aunque, la realización de un tratamiento adecuado para estas aleaciones no es posible, en algunos casos, cuando la pieza se fabrica en su forma final [22]. Por este motivo, diversos autores han mencionado la importancia de tanto el procesado como el post procesado de las aleaciones Mg-Zn-Ca.

## 2.5 Influencia del procesado

La influencia del procesamiento térmico y mecánico sobre la corrosión y las propiedades mecánicas de las aleaciones Mg-Zn-X está estrechamente relacionada con el tamaño del grano y la distribución de los precipitados dentro de la microestructura. Esto da lugar a diferencias significativas en el rendimiento, en comparación con las aleaciones coladas [1].



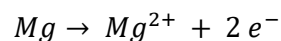
El tratamiento térmico de solución sólida (mantener la aleación a alta temperatura el tiempo suficiente para que uno o más constituyentes entren en *solución sólida* y luego enfriarla lo suficientemente rápido para mantener estos constituyentes en solución) es beneficioso para la resistencia a la corrosión de las aleaciones Mg-Zn-X, especialmente cuando se realiza durante períodos de tiempo relativamente largos. Algunas fases secundarias -por ejemplo, la fase binaria MgZn- podrían disolverse en la matriz de Mg durante el tratamiento. Así, las estructuras dendríticas desaparecerían, dando lugar a la formación de una microestructura homogénea. Con la disminución de la fracción de volumen de las fases secundarias, se reduce la corrosión microgalvánica; por tanto, se mejora la resistencia a la corrosión de las aleaciones [1].

El procesamiento por forja puede introducir varios efectos, como el refinamiento del grano y la textura, que confieren propiedades específicas mejoradas a las aleaciones de Mg. El tratamiento por extrusión induce una severa deformación plástica, refinando simultáneamente los granos de  $\alpha$ -Mg por recristalización dinámica y produciendo precipitados altamente dispersos. La microestructura refinada aumenta la resistencia a la corrosión de las aleaciones Mg-Zn-X. También, la resistencia a la tracción y la ductilidad de las aleaciones Mg-Zn-X pueden mejorarse mediante el refinamiento del grano, el endurecimiento por solución sólida y el endurecimiento por segundas fases durante el proceso de extrusión. Los parámetros de extrusión, como la temperatura y la velocidad de extrusión, tienen una influencia significativa en la microestructura y las propiedades mecánicas de las aleaciones Mg-Zn-X. En general, con el aumento de la temperatura de extrusión y la velocidad, el tamaño medio de los granos y la fracción de área de los granos recristalizados dinámicos aumentan. Esto se debe a que la deformación, que se produce durante el proceso de extrusión, provoca un aumento de la temperatura en la zona deformada. Por consiguiente, la resistencia a la rotura y el límite elástico disminuyen debido a la microestructura engrosada. Al igual que la formación de precipitados, que aumenta con la temperatura de extrusión porque la difusión de los átomos de soluto es más rápida a temperaturas más altas [1].

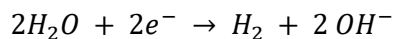
Si bien en este proyecto no se hace foco en el procesamiento de la aleación, es importante conocer como los diversos factores afectan al comportamiento del material, a la hora de introducirlo en un entorno biológico.

## 2.6 Corrosión del Mg

Cuando una aleación de Mg se sumerge en un medio acuoso, el contacto entre su superficie y el medio que contiene electrolitos conduce a un proceso de corrosión, que sigue las reacciones químicas que se destacan en la Ecuación 1 y Ecuación 2 [1], [10], [11], [14], [16], [23].



*Ecuación 1*

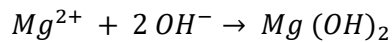


*Ecuación 2*

Donde la primera hace referencia a la reacción de oxidación (reacción anódica) y la segunda, a la reducción (reacción catódica). Estas hemirreacciones anódicas y catódicas se realizan al mismo tiempo pero en puntos distintos, quedando la corrosión circunscrita al ánodo (metal) [10].

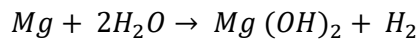
Cabe destacar aquí, la presencia del hidrógeno gaseoso, liberado como producto de la reducción y el potencial problema asociado con el mismo, ya que este puede causar inflamación aguda en el huésped [10], [23].

A su vez, los iones metálicos liberados pueden permanecer como tal, o transformarse en óxidos o hidróxidos siguiendo la Ecuación 3 [10].



*Ecuación 3*

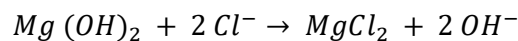
Conformando la reacción global (Ecuación 4) como la suma de las hemirreacciones.



*Ecuación 4*

Luego, dado que la reacción general consume  $H^+$  y produce  $OH^-$ , el pH incrementa y desplaza la reacción a la derecha, es decir, a la formación de  $Mg (OH)_2$  [10].

Además, el  $Mg (OH)_2$  reacciona con  $Cl^-$  para formar cloruro de magnesio altamente soluble, que se disuelve en el medio, dejando expuesto el sustrato metálico al ataque del medio corrosivo (Ecuación 5). Como consecuencia, aparecen picaduras sobre el sustrato de magnesio, lo que acelera el proceso de corrosión [10].



*Ecuación 5*

No obstante, estudios previos muestran que la corrosión de las aleaciones de magnesio en medios fisiológicos promueve la precipitación de hidroxiapatita (HA), ya que este  $Mg (OH)_2$  que se forma en la superficie y luego es disuelto por el  $Cl^-$ , conduce a un aumento del valor del pH, el cual fomenta la reacción de HA a partir de los iones de fosfato y los iones de calcio contenidos en la SBF [16].

Igualmente, la resistencia a la corrosión de las aleaciones de Mg depende, en su mayoría, del valor de pH y la composición de la solución, la capa superficial y el tipo y la distribución de las fases intermetálicas. En  $pH > 12$  se forma una capa de  $Mg (OH)_2$  que funciona como protectora, dando una alta resistencia a la corrosión. Mientras que un pH entre 10 y 11 vuelve la capa pasiva inestable y se facilita la degradación de las aleaciones de Mg en solución acuosa. Con valores de  $pH < 9$  comienza la disolución activa y con ello se incrementa considerablemente la formación de hidrógeno [10], [14].

Generalmente, el pH local en la interfaz implante-hueso es de aproximadamente 7.4, por lo que la formación de la capa de  $Mg (OH)_2$  no se ve fomentada, quedando descubierta la superficie del implante. El pH, sin embargo, incrementará con el tiempo debido a la disolución activa del Mg [14].

La Figura 5 muestra los procesos electroquímicos y superficiales que intervienen en la degradación del magnesio, incluyendo los procesos de transferencia de masa entre la superficie de la muestra y el seno de la solución. Como consecuencia de este proceso de transferencia de masa, se estabiliza un gradiente de reactivos (por ejemplo,  $H_2O$ ) y productos (por ejemplo,  $Mg^{2+}$  y  $OH^-$ ) [23].

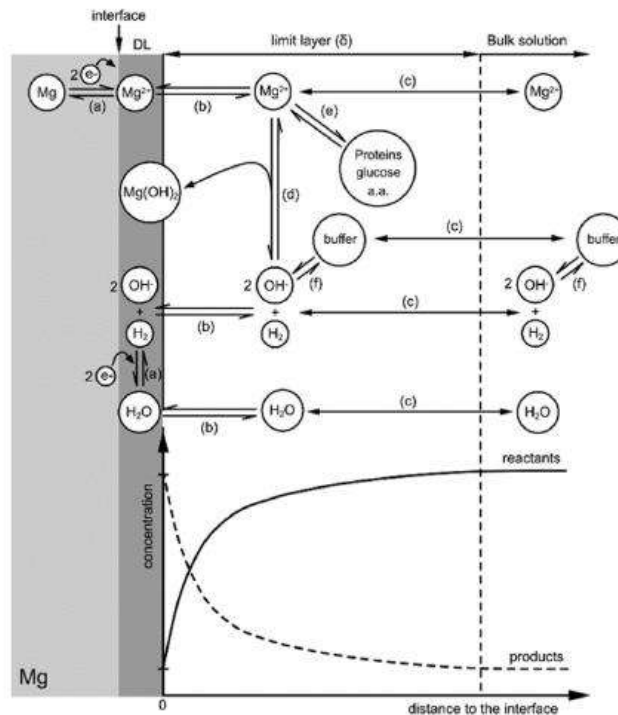


Figura 5. Descripción esquemática del proceso de degradación que implica: (a) reacciones electroquímicas, (b) procesos de absorción-desorción, (c) procesos de transferencia de masa, (d) reacciones de precipitación, (e) reacción de complejización [23].

En la Figura 6 se muestran los productos de degradación en condiciones fisiológicas [23].

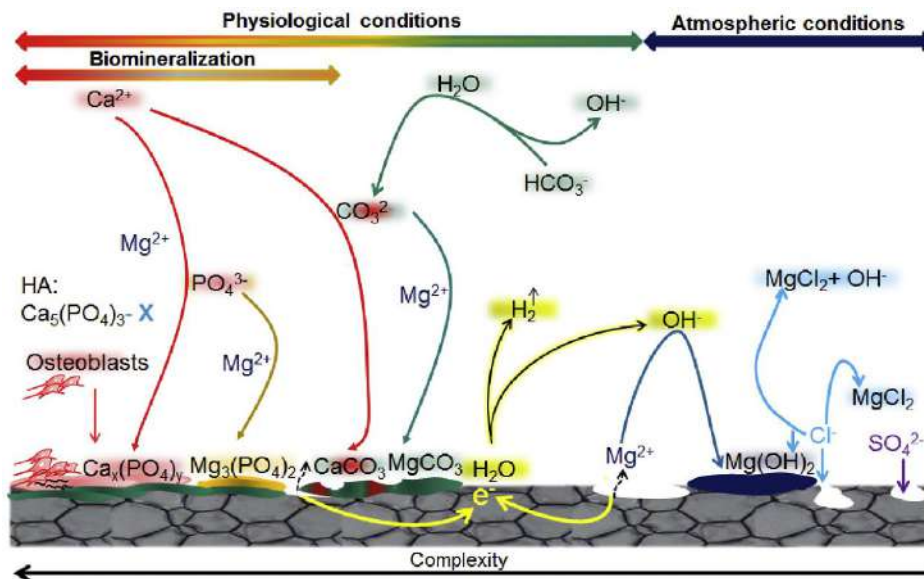


Figura 6. Productos de degradación formados en condiciones fisiológicas y las correspondientes reacciones químicas[23].

A modo de conclusión, si bien el magnesio como biomaterial es aplicado desde principio de siglo, todavía existen desafíos significativos para las aleaciones base Mg, fundamentalmente en lo que respecta problemas debidos a la inflamación aguda relacionada con la liberación del gas hidrógeno que acompaña a la disolución del mismo. El aumento del pH local debido a la degradación del Mg podría influir desfavorablemente en la adhesión y viabilidad a nivel celular. Luego, de lograr controlar la concentración extracelular de  $Mg^{2+}$  y, por tanto, el pH local dentro

del tejido circundante y la acumulación de gas hidrógeno; se podría llegar al uso exitoso de las aleaciones de Mg como material biodegradable [11], [16]–[18].

## 2.7 Tratamientos superficiales

La modificación de la superficie se presenta como otra estrategia para mejorar la resistencia a la corrosión de las aleaciones de Mg en general y de las aleaciones basadas en Mg-Zn en particular. Sin embargo, el campo es amplio; aquí sólo se pretende dar una breve visión general del tema [1].

Existen varios enfoques y conceptos diferentes para mejorar el sustrato por sí mismo (por ejemplo, el aleado de la superficie), para recubrirlo con un material más resistente, y/o para separar el material del sustrato del entorno. Sin embargo, ningún revestimiento es perfecto ni sobrevivirá en servicio para siempre sin defectos. Una buena resistencia a la corrosión del sustrato es requisito para minimizar las reacciones en la interfaz cuando se produce la difusión de iones y agua a través de la capa o los defectos. La formación de productos de corrosión (principalmente la formación de hidróxido) puede provocar un fuerte aumento de volumen y, por lo tanto, tensiones en la interfaz, lo que lleva a la formación de ampollas y a la descamación de los revestimientos. Desde este punto de vista, las aleaciones basadas en Mg-Zn no son la mejor opción, pero las aleaciones forjadas recientemente desarrolladas con contenidos de Zn mucho más bajos y elementos de microaleación adicionales (por ejemplo, Ca, Zr, etc.) ofrecen sustratos con buena resistencia a la corrosión y una corrosión uniforme sin ataques localizados. Para garantizar una buena resistencia a la corrosión, especialmente en los productos forjados, una limpieza suficiente (eliminación de material superficial) es el requisito previo para el éxito de cualquier revestimiento sobre aleaciones de Mg. Hay que eliminar la capa de óxido superficial indefinida y contaminada mediante ataques químicos, sustituyéndola después por una capa "pasiva" definida (recubrimiento de conversión). El ataque en aleaciones ricas en Zn puede dar lugar a un enriquecimiento de Zn en la superficie, trayendo consecuentes problemas para obtener una capa de conversión uniforme. Esto último no es un problema para la mayoría de las aleaciones con menor contenido de aleantes en solución sólida (Zn y otros elementos de aleación <1 %p/p de cada uno). Además de la limpieza, dependiendo de la aplicación y de las propiedades requeridas, existe un amplio conjunto de tratamientos/revestimientos, que van desde los metales hasta la cerámica y los polímeros [1].

Actualmente, los procesos más utilizados industrialmente para la protección contra la corrosión son los recubrimientos de conversión (en los cuales una parte de la superficie del metal es convertida en una capa de recubrimiento mediante un proceso químico o electroquímico) en combinación con capas superiores de pintura o polímeros. El tratamiento de conversión es la base para la aplicación de la pintura, al crear una interfaz fuerte con buena adhesión. Existen conversiones sin cromato, y si se requiere más adhesión y mejores propiedades de barrera, la capa de conversión química puede sustituirse por anodizado/ revestimientos de PEO. Los recubrimientos superiores de pintura/polímero pueden ser de una a varias capas, según los requisitos de las aplicaciones y la severidad del entorno. El principal reto en el desarrollo de recubrimientos hoy en día es la integración de inhibidores en los recubrimientos, que ofrecen liberación a demanda, capacidad de autocuración y funcionalidades adicionales.

## 2.8 Técnicas experimentales utilizadas

Tal como se detalló en el inicio, el objetivo general del proyecto es llevar adelante un estudio preliminar *in vitro* de una nueva aleación base magnesio (Magnesio ZX10), con el fin de analizar

su superficie y su degradación en función del tiempo en SBF. Para ello, se recurrirá a una serie de técnicas experimentales que se resumen a continuación.

### 2.8.1 Microscopía óptica

Un microscopio óptico es un microscopio basado en lentes ópticas. Estas lentes aumentan los rayos de luz que atraviesan una muestra, incrementando así la imagen y permitiendo hacer visibles al ojo humano detalles nítidos que de otra manera sería imposible observar [24].

Contiene normalmente dos sistemas de lentes: el objetivo y el ocular. El principio de funcionamiento de un microscopio se basa en que el objetivo recoge la luz que atraviesa la muestra, mientras que el ocular es el que proyecta la imagen sobre la retina (Figura 7). El aumento total que permite un microscopio óptico se calcula multiplicando la magnificación que produce el objetivo por la que produce el ocular. Por ejemplo, si estamos usando un objetivo de 40x (aumenta 40 veces) y un ocular de 10x (aumenta 10 veces), el resultado final será de 400x, es decir, vemos la muestra aumentada 400 veces [24].

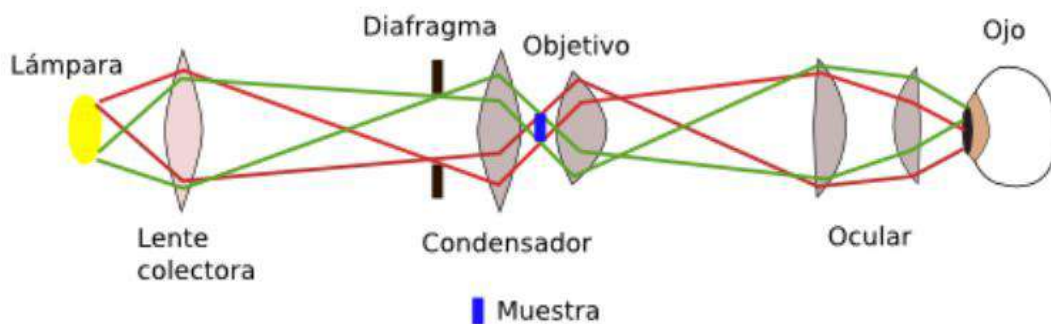


Figura 7. Recorrido de la luz desde la fuente, pasando a través de los diferentes lentes de un microscopio básico, hasta el observador[24].

Los microscopios ópticos tienen un límite máximo de resolución de  $0,2 \mu\text{m}$ ; entendiéndose al poder de resolución como la distancia mínima a la que se pueden discriminar dos puntos. Este límite viene determinado por la longitud de onda de la fuente de iluminación, en este caso la luz visible [24].

### 2.8.2 Espectroscopía Raman

La espectroscopia Raman es una técnica espectroscópica usada para estudiar modos de baja frecuencia como los vibratorios, rotatorios, y otros. Se basa en los fenómenos de dispersión inelástica, o dispersión Raman, de la luz monocromática, generalmente de un láser en el rango de luz visible, el infrarrojo cercano, o el rango ultravioleta cercano. La luz láser interactúa con fotones u otras excitaciones en el sistema, provocando que la energía de los fotones del láser experimente un desplazamiento hacia arriba o hacia abajo. El desplazamiento en energía da información sobre los modos vibracionales en el sistema [25].

Es a partir de la interacción de la luz con la muestra, que se logra obtener información sobre la composición o las composiciones *superficiales* del material estudiado.

Cuando la luz interactúa con moléculas en un gas, líquido o sólido, la inmensa mayoría de los fotones se dispersan con la misma energía que los fotones incidentes. Esto se describe como dispersión elástica o dispersión de Rayleigh. Pero, un pequeño número de estos fotones, aproximadamente un fotón en diez millones, se dispersará a una frecuencia diferente que el

fotón incidente. Este proceso se llama dispersión inelástica, o el efecto Raman. Este postula que la molécula se excita desde el estado fundamental a otro estado de energía virtual, y la posterior relajación a un estado vibracional excitado genera la llamada dispersión Raman Stokes. En caso de que la molécula estuviera en un estado vibracional excitado y al relajarse vuelva a un estado de menor energía, la dispersión Raman se denomina dispersión Raman anti-Stokes, tal como se detalla en la Figura 8 [25].

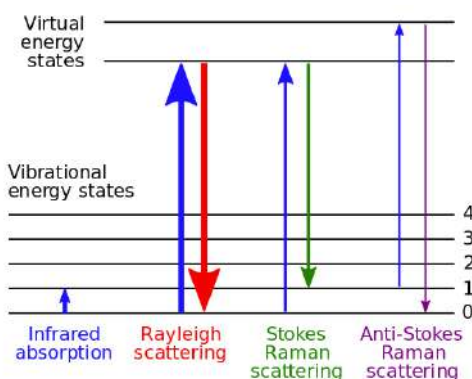


Figura 8. Transiciones en niveles de energía [8]

Su gran potencial como herramienta de caracterización se debe a la falta de preparación previa de las muestras, ya sean orgánicas como inorgánicas, y a su naturaleza no-destructiva. En este proyecto, es la técnica seleccionada para estudiar las características superficiales de cada muestra/condición. La cual otorga un análisis efectivo de la presencia y composición química de diferentes depósitos o productos del proceso de corrosión sobre el sustrato analizado.

No obstante, existen en la medición ruidos inherentes al método. En el caso de la obtención de espectros Raman los ruidos más habituales son el ruido shot, ruido generado por la muestra y ruido generado por fuentes externas, entre otros.

- Ruido shot: el ruido shot es el resultado de la naturaleza aleatoria de la luz [26].
- Ruido generado por la muestra: el ruido generado por la muestra incluye emisiones ópticas no deseadas y generadas por la propia muestra como es el caso de la fluorescencia, fenómeno que se produce si, al incidir un fotón sobre una molécula, éste es absorbido y la molécula pasa a un estado electrónico excitado donde permanece unas decenas de nanosegundos, para saltar a otro estado excitado, pero de menor energía, liberando un fotón de frecuencia más baja que el incidente [26].
- Ruido generado por fuentes externas: Generalmente está causado por alguna fuente de luz externa que contamina la señal en algún punto del equipo de medición. Una fuente de ruido externo de origen no-óptico es la generado por partículas de alta energía como los rayos cósmicos que llegan al detector del equipo de medida. Los rayos cósmicos liberan un gran número de electrones que son indistinguibles de los fotoelectrones. Los electrones generados por los rayos cósmicos se concentran en uno o máximo dos de los elementos del detector, generando un pico muy estrecho y de gran intensidad en el espectro de dispersión Raman [26].

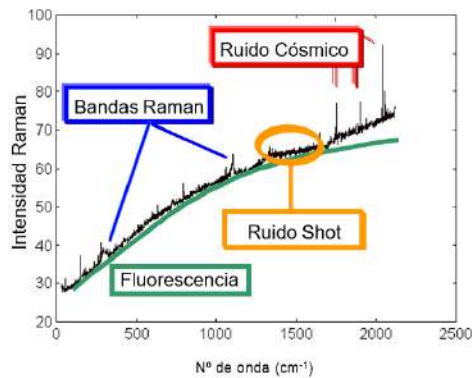


Figura 9. Ruidos en espectro Raman [26]

Tal como se ve en la Figura 9, los resultados de la medición de estos fenómenos se representan gráficamente como espectros Raman. En el eje x del espectro se representa la diferencia entre la frecuencia Raman y la de excitación del láser ( $\nu-\nu_0$ ) en número de ondas por cm ( $\text{cm}^{-1}$ ), ya que es el cambio en la frecuencia del fotón lo que interesa. En el eje y se representa la intensidad de la luz dispersada para cada energía/frecuencia [27].

Un espectro Raman, por lo tanto, está formado por una serie de desplazamientos Raman característicos, cada uno de ellos asociado con un modo vibracional (o rotacional). Así, el espectro es único para cada material y permite identificarlo [27].

### 2.8.3 Técnicas electroquímicas

Cuando una aleación de Mg se sumerge en un medio fisiológico, el contacto entre su superficie y el medio acuoso conduce inequívocamente a un proceso de corrosión [23]. Este tipo de proceso electroquímico consta, como fue mencionado previamente, de una transferencia de electrones y da como resultado la pérdida de masa del compuesto metálico (Mg), pérdida de resistencia estructural e incluso formación de diversos compuestos en la superficie del metal.

Por estos motivos resulta crucial determinar el mecanismo y la forma de ataque producido, así como también estimar la velocidad de corrosión del metal que, en definitiva, delimitará el tiempo para su degradación [15].

Cuando el metal es inmerso en un medio, se da a lugar a dos reacciones; una de oxidación (reacción anódica), donde se generan electrones, y otra de reducción (reacción catódica), donde se consumen electrones. Ambas reacciones ocurren sobre el metal simultáneamente. El potencial medido es llamado potencial mixto o de corrosión,  $E_{\text{corr}}$ . Este potencial se puede medir con un voltímetro de alta resistencia interna con respecto a un electrodo de referencia [15].

La suma de las transferencias de cargas que resultan de ambas reacciones es nula (ya que son iguales y opuestas), luego la densidad de corriente de corrosión ( $i_{\text{corr}}$ ) no puede ser medida en forma directa, sino que debe ser determinada experimentalmente por extrapolación de datos [15]. De esta manera surgen diversas técnicas electroquímicas, que se basan en la introducción de una señal eléctrica en un sistema de reacciones químicas, generando una respuesta que es posteriormente analizada. Dicha señal puede ser tanto en corriente continua como en alterna y tiene como objetivo la polarización de la reacción [28]. Asimismo, la superficie del metal puede o no alterarse luego del ensayo, dando así técnicas de tipo destructivas y no destructivas [15].

Los ensayos electroquímicos pueden ser de tipo potencioestático o potenciodinámicos (donde se aplica un potencial y se obtiene la corriente como respuesta al estímulo) o bien galvanostático

o galvanodinámicos (donde la perturbación es la intensidad de corriente aplicada y se obtiene como respuesta el potencial). Dando técnicas tales como Resistencia a la Polarización y Curvas de Polarización, si la perturbación es en corriente continua y Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS), si la perturbación es con corriente alterna [28], [29].

Para la realización de los ensayos electroquímicos se precisa el armado de una celda de trabajo, donde se pongan en contacto el medio agresivo y el material metálico bajo estudio. Un ejemplo de celda electroquímica clásica de tres electrodos se muestra en la Figura 10. La muestra metálica, en este caso la aleación de Magnesio, constituye el electrodo de trabajo, cuyo potencial se mide o impone en cada instante con respecto a un electrodo de potencial constante, el electrodo de referencia, cerrando el circuito con el contraelectrodo o electrodo auxiliar, generalmente de material inerte (por ej. Pt), por el que atraviesa la corriente a registrar [28].

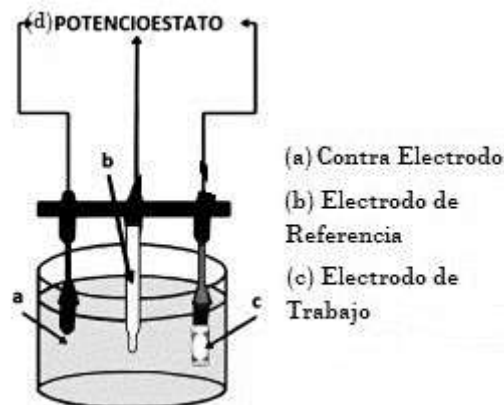


Figura 10. Esquema de la celda electroquímica: (a) Contra electrodo; (b) Electrodo de Referencia; (c) Electrodo de trabajo y (d) Potencioestato.

Con estas técnicas se logra, entonces, inferir la velocidad de corrosión de una especie en un medio determinado. En este proyecto, el medio en cuestión será SBF a 37°C y las técnicas utilizadas son la EIS y las curvas de polarización.

### 2.8.3.1 Espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS)

Es una técnica en corriente alterna, con la ventaja de cubrir varios órdenes de magnitud en frecuencia (desde MHz hasta  $\mu\text{Hz}$ ). Al variar la frecuencia de una onda sinusoidal de potencial, la corriente circula por la interfase. Haciendo la analogía del circuito eléctrico, el flujo de corriente pasa a través de los diferentes componentes del circuito, que tienen una respuesta en impedancia ( $Z$ ) y ángulo de fase ( $\theta$ ) característicos [30]. Esta relación de valores de impedancia y frecuencia se denomina “espectro de impedancias” [31].

Si el potencial aplicado es sinusoidal (Ecuación 6), la respuesta también será sinusoidal (Ecuación 7) [15].

$$V(t) = V_0 \text{sen}(\omega t)$$

Ecuación 6

$$I(t) = I_0 \text{sen}(\omega t + \theta)$$

Ecuación 7

Donde  $\omega$  es la frecuencia en rad/seg.



La relación entre el potencial aplicado y la corriente ( $Z$ ), según la ley de Ohm, tiene una magnitud  $V(t)/I(t)$  y un ángulo de fase  $\theta$  y por lo tanto es una cantidad vectorial (Ecuación 8) [15].

$$Z = \frac{V(t)}{I(t)} = \frac{V_0 \text{sen}(\omega t)}{I_0 \text{sen}(\omega t + \theta)} = Z_0 \frac{\text{sen}(\omega t)}{\text{sen}(\omega t + \theta)}$$

Ecuación 8

De esta manera, se llega a una entidad compleja que puede ser representada en términos de una componente real y una imaginaria (Ecuación 9) [32].

$$Z(\omega) = Z_0 e^{i\theta} = Z_0 (\cos\theta + i \sin\theta) = Z' - i Z''$$

Ecuación 9

Al graficar la parte real de la impedancia en función de la parte imaginaria, se obtiene el Diagrama de Nyquist, donde cada punto del diagrama representa la impedancia a una frecuencia. Mientras que cuando se representa el módulo de impedancia  $|Z|$  y el ángulo de fase  $\theta$  en función del logaritmo de la frecuencia ( $|Z|$  vs  $\log f$  y  $\theta$  vs  $\log f$ ), se llega a los diagramas de Bode [32].

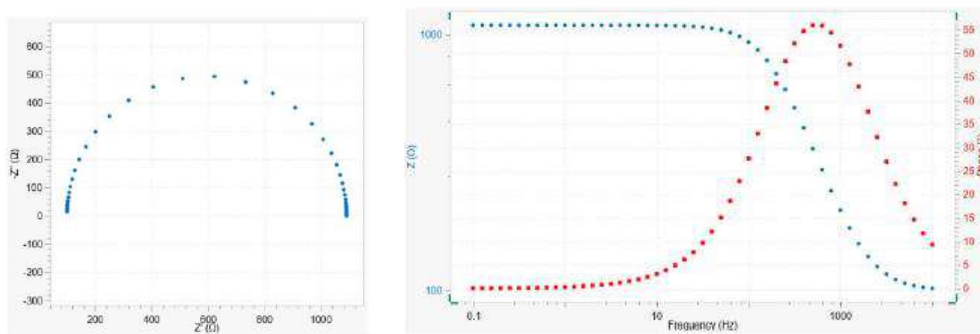


Figura 11. Ejemplos de típicos diagramas de a. Nyquist ( $-Z''$  vs  $Z'$ ) y b. Bode ( $Z$  vs  $\log f$  y  $\vartheta$  vs  $\log f$ ).

Nuevamente, en analogía con circuitos eléctricos, los espectros de impedancia obtenidos suelen ser analizados mediante componentes tales como resistencias (R), capacitancias (C), inductancias (L), etc. Combinados de tal manera que reproduzcan los espectros de impedancia medidos. Estos circuitos eléctricos son denominados “circuitos eléctricos equivalentes” y algunos ejemplos de ellos están descritos en la Figura 12 [31].

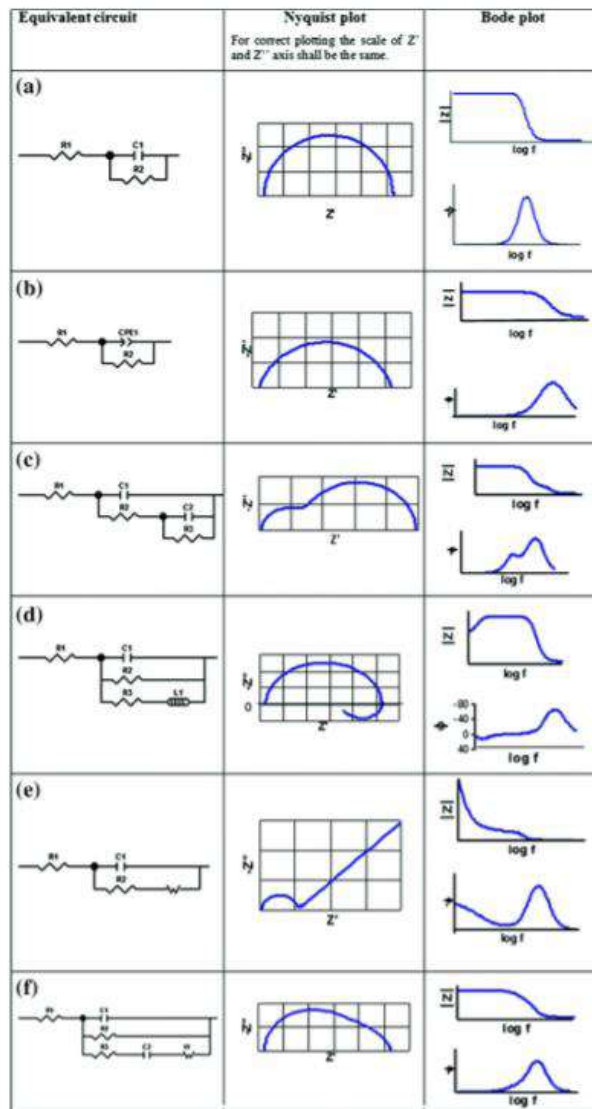


Figura 12. Ejemplos de Circuitos equivalentes, junto con sus curvas de Nyquist y Bode correspondientes.

De esta manera, resulta más accesible obtener resultados representativos de los gráficos. Por ejemplo, para el circuito equivalente a. de la Figura 12, las raíces en el diagrama de Nyquist coinciden con la resistencia entre el electrodo de trabajo y aquel de referencia, junto con la resistencia a la polarización de la interfase muestra/solución. Asimismo, en los diagramas de Bode, al graficar  $|Z|$  vs  $\log f$ , a altas frecuencias se observa un  $|Z|$  casi constante y un  $\theta$  muy próximo a 0, quedando representado entonces únicamente la resistencia de la solución [15].

Una gran ventaja que posee este método es que no es destructivo, por lo que la muestra puede seguir ensayándose sin mayores alteraciones. A su vez, permite estudiar las características estructurales de las películas superficiales mediante ajuste de los resultados con diferentes modelos circuitales, lo cual resulta ser un factor clave para caracterizar los compuestos formados en la superficie del metal, que estarán en contacto directo con el cuerpo humano [15].

### 2.8.3.2 Curvas de polarización

Al aplicar sobre el electrodo de trabajo un sobrepotencial positivo (es decir, se remueven electrones) o negativo (se suministran electrones) respecto del  $E_{corr}$  y registrar las corrientes medidas para el sistema, se logra obtener las llamadas curvas de polarización. Estas reflejan la

relación entre el potencial impuesto y la densidad de corriente y modifican, a su vez, la superficie de la muestra, por lo que se caracteriza al ensayo por ser de tipo destructivo [15], [28].

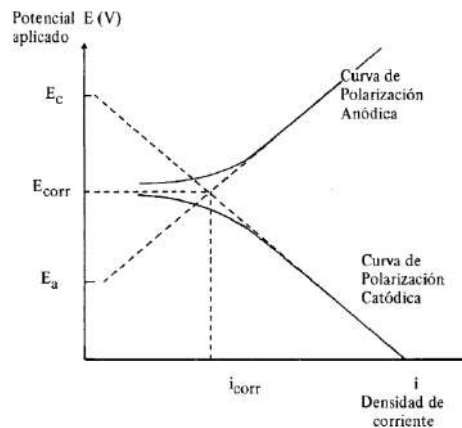


Figura 13. Curvas de polarización.

La Figura 13 muestra una porción de las curvas que se obtienen al imponer un potencial diferente al  $E_{corr}$ . Nótese que mientras más próximo sea el valor de  $E$  al  $E_{corr}$  (expresado en Volts) el valor de  $i$  (expresado en Amperes/cm<sup>2</sup>) tiende a cero, puesto que en dicho punto  $|i_a| = |i_c| = i_{corr}$  y por tanto  $i_t = i_a + i_c = 0$  [28].

En teoría, la variación potencial-densidad de corriente en las curvas anódicas y catódicas debería ser lineal, intersectándose en el punto definido por el  $E_{corr}/i_{corr}$ . Sin embargo, hay desviaciones de la linealidad en las proximidades del  $E_{corr}$ . No obstante, las curvas anódicas y catódicas poseen regiones en las que se cumple una proporción lineal entre el potencial y el logaritmo de la densidad de corriente, zonas denominadas regiones de Tafel, y que se ajustan a la Ecuación 10 [28].

$$\eta = a + b \log i$$

Ecuación 10

Donde  $a$  y  $b$  son constantes,  $i$  densidad de corriente y  $\eta$  polarización.

Extrapolando tales segmentos lineales de las curvas anódicas y/ o catódicas, e intersectándolas al  $E_{corr}$  se puede determinar el valor de  $i_{corr}$  para un metal en un medio tal como SBF [28].

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Muestras

A lo largo del proyecto se trabajó con una barra de aleación de Magnesio ZX10, de geometría cilíndrica (diámetro 10 mm) y 200 mm de largo, que fue cortada para obtener la cantidad de muestras necesarias. Estas fueron, en todos los casos, pulidas respetando la metodología planteada y, en algunos casos, también esterilizadas e inmersas en SBF por un determinado tiempo.

Los medios y equipos necesarios para la realización de este proyecto (mencionados a continuación) se encuentran en los laboratorios de la División Electroquímica Aplicada, el laboratorio de vitroplastia, talleres, biblioteca y demás servicios del INTEMA.

La composición química de la aleación de magnesio y demás información relevante, se muestra en la Tabla 1.

Nombre	Composición química (%p/p)			Presentación	Procesado
	Magnesio	Zinc	Calcio		
Magnesio ZX10	98.91	0.94	0.15	Tubo macizo	Extrudado
Color	Densidad relativa			Temperatura de fundición	Proveedor
Gris plata metálico	1.74 g/cc			≈650°C	Magnesium Innovation Center (MagIC), Alemania

Tabla 1. Datos Magnesio ZX10.

Para cortar las muestras se utilizó una sierra de corte de baja velocidad IsoMet (Buehler), tal como se observa en la Figura 14, usando etanol como medio refrigerante. El espesor resultante de cada una de las muestras, en promedio, fue de 1.55 mm y el diámetro de 10 mm (por defecto).



Figura 14. Sierra eléctrica de baja velocidad IsoMet (Buehler), junto con cilindro macizo de Mg.

Luego del corte, se les realizó una perforación de aprox. 1 mm de diámetro. Esta perforación se la hizo cercana al borde de las muestras para poder suspender las mismas en los ensayos de inmersión. Una vez realizado este paso, las muestras fueron pulidas.

### 3.2 Lijas

Las muestras fueron pulidas con lijas de SiC al agua de granulometría creciente hasta 1200. Finalmente, se procedió a lavarlas con etanol, se secaron con corriente de aire caliente y fueron guardadas con silica para minimizar la humedad del entorno. Antes de cada medición, se realizó un pulido superficial de las piezas guardadas para ofrecer una misma superficie de condición “pulida” como punto de partida de los ensayos. De esta manera, se eliminaba la eventual acción de la humedad ambiente sobre la muestra, consecuente del almacenamiento previo.

Al lijar, se utilizó la menor cantidad de agua posible, con el fin de minimizar la corrosión de la muestra, y se observó bajo microscopio óptico Leica (Alemania) antes de proceder con el siguiente paso.

Para poder revelar la microestructura, se pulieron las muestras a espejo. Para ello se utilizó pulido a paño (Figura 15) con cantidades controladas de agua y sin el agregado de alúmina, para evitar posibles incrustaciones, dado que el magnesio es sumamente blando.



*Figura 15. Paño y máquina de pulido.*

Finalmente, las muestras fueron limpiadas por ultrasonido (Cole Palmer, USA) durante 10 minutos, sumergidas en etanol, y secadas con corriente de aire.

### 3.3 Esterilizado

El esterilizado es un proceso de vital importancia para todos los biomateriales y, por ende, un proceso por el cual toda pieza debe pasar previo a ser puesta en contacto con el cuerpo humano. Por este motivo, se realizó el esterilizado de la mitad de las muestras por 1h a 180°C, en estufa con atmósfera de aire.

### 3.4 Soluciones

#### 3.4.1 Solución fisiológica simulada (SBF)

La solución de fluido corporal simulado (por sus siglas en inglés, SBF) intenta replicar la *concentración de iones inorgánicos* presentes en el plasma humano. En la Tabla 2 se compara la

concentración de iones inorgánicos disueltos en la SBF y aquellos del plasma humano según el estudio presentado por *Kokubo et al* [33].

	Ion concentration (mM)							
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Human blood plasma	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5
Original SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	148.8	4.2	1.0	0
Corrected SBF (c-SBF)	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5
Revised SBF (r-SBF)	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5
Newly improved SBF (n-SBF)	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	4.2	1.0	0.5

Tabla 2. Concentración de iones inorgánicos en SBF vs plasma humano

Para este trabajo se preparó la SBF siguiendo la versión revisada de Kokubo [33]. La composición de la SBF se destaca en la Tabla 3. En este caso los valores brindados se expresan en %p/V, ajustada a un valor de pH de entre 7.25 y 7.35.

Compuesto	g/100mL de Solución
NaCl	0.8053
KCl	0.0224
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.0368
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.0305
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.0174
NaHCO <sub>3</sub>	0.0353
Tris(hidroximetil)aminometano	0.6057
HCl	Cant. Suficiente (aprox 0.3ml)
Agua destilada	Cant. Suficiente para 100ml de sc

Tabla 3. Composición SBF en %p/V.

La solución obtenida fue guardada a 4°C, hasta su uso.

### 3.4.2 Acético-Picral

Con el objetivo de caracterizar la microestructura se realizó el revelado de la misma. Para tal fin, se procedió a sumergir una muestra en acético picral por 10 segundos. El ataque químico seguido fue el recomendado por Buehler para aleaciones base Mg [34]. Para ello se preparó una solución alcohólica al 0.04 %V/V en ácido acético, 0.03%V/V de ácido pícrico, 0.08%V/V de agua y 0.85%V/V de etanol.

Luego del ataque, la muestra fue lavada con etanol (95% V/V) y secada en corriente de aire seco [34]. Finalmente se obtuvieron imágenes utilizando el microscopio óptico Leica DM4-M (Alemania). Este procedimiento se efectuó únicamente con una muestra previamente pulida a espejo y a tiempo cero, sin esterilizar (control).

### 3.5 pHmetro

El instrumento utilizado para medir el pH, en todos los casos, fue el Orion Research (Singapur) (Figura 16).

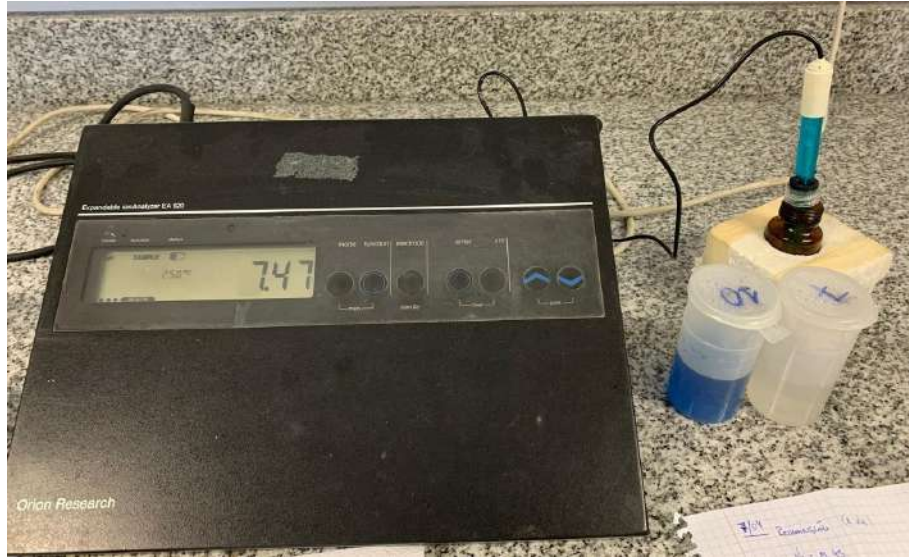


Figura 16. pHmetro y estándares.

### 3.6 Tratamientos Experimentales

En la Tabla 4 se detalla la cantidad de muestras ensayadas, con sus respectivas condiciones y tiempos de inmersión.

Condición	Esterilizadas				No Esterilizadas			
	t0	t7	t14	t30	t0	t7	t14	t30
Tiempo de Inmersión								
Cantidad de Muestras	4	4	4	4	4	4	4	4

Tabla 4. Cantidad de muestras ensayadas, con sus respectivas condiciones y tiempos de inmersión

Los tratamientos experimentales a los que fueron sometidas se detallan a continuación.

#### 3.6.1 Inmersiones

Las inmersiones fueron realizadas tal como se ve en la Figura 17. Se buscó mantener las muestras suspendidas para mejorar el área de contacto [33].

Para mejorar la simulación del entorno, se mantuvo la temperatura de la SBF constante en 37°C. Asimismo, en los ensayos donde se requirió inmersión prolongada de las muestras, se renovó la solución cada 48hs [17]. Se midió la evolución del pH con el tiempo de inmersión con el pHmetro de Orion Research.



Figura 17. Muestra en inmersión.

Para establecer la cantidad de solución utilizada se siguió la relación propuesta por Kokubo [33]. Esta especifica el volumen necesario de SBF en ml por mm<sup>2</sup> de muestra, según la Ecuación 11.

$$V_{sc} = S_m / 10$$

Ecuación 11

Donde  $V_{sc}$  es volumen de solución y  $S_m$  área de la muestra. De tal manera que, para una superficie de 206 mm<sup>2</sup>, el volumen mínimo requerido fue de 21 ml.

Los tiempos de inmersión seleccionados fueron de 7, 14 y 30 días, buscando evaluar depósitos o formación de compuestos en la superficie. Estos mismos tiempos de inmersión fueron utilizados por *Kavitha et al.* en su trabajo [35].

### 3.6.2 Caracterización superficial

#### 3.6.2.1 Microscopia óptica

Una vez realizado el ataque con acético picral, se procedió a la toma de imágenes con aumentos de 10x, 25x y 50x, utilizando el microscopio óptico Leica (Alemania) con cámara incorporada (Figura 18). Este procedimiento se efectuó únicamente con una muestra previamente pulida *α espejo* y a tiempo cero, sin esterilizar (control).



Figura 18. Microscopio Leica con cámara incorporada.

#### 3.6.2.2 Espectroscopía Raman

Se realizaron barridos para 2 puntos por lado de cada muestra, estudiando así la superficie de muestras a tiempo 0, 7, 14 y 30 días, ambas esterilizadas y no esterilizadas. Aquellas muestras que habían estado en inmersión, fueron retiradas justo antes de ensayarlas, para procurar que la superficie siga hidratada.

El ensayo se efectuó con un equipo inViaReflex confocal (Renishaw RM 2000, UK), con un láser de 785 nm y un lente objetivo de 50x, manteniendo los siguientes parámetros para todas las muestras por igual:

- Potencia láser: 5%
- Tiempo de exposición: 30''
- Acumulaciones: 5
- Rango de barrido: 100 – 1600 cm<sup>-1</sup>



### 3.6.3 Técnicas electroquímicas

Para determinar el comportamiento electroquímico de las muestras, se realizaron una serie de ensayos electroquímicos de forma consecutiva. El protocolo a seguir constaba de un periodo de estabilización de 2000 segundos, seguido del ensayo de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS), otro periodo de estabilización de 150 segundos y, finalmente, Curvas de Polarización Potenciodinámicas. Todo esto fue realizado en una unidad de medición electroquímica Solartron 1280 (UK), Figura 19.



Figura 19. Equipo Solartron 1280.

Es importante destacar que existe la posibilidad de hacer ambos ensayos consecutivamente ya que, como se mencionó en la introducción, el EIS se caracteriza por ser no destructivo, a diferencia de la polarización que sí lo es.



Figura 20. Celda para ensayo electroquímico.

Esta secuencia fue reproducida idénticamente para cada tiempo de inmersión y para cada par de muestras, para las muestras tanto esterilizadas como para aquellas sin esterilizado previo.

Se utilizó una celda convencional de tres electrodos, sumergida en un baño termostático de agua (Lauda Alpha A6, Alemania) para mantener la temperatura de trabajo en 37°C. Se empleó un alambre de platino de área conveniente como contra electrodo, un electrodo de calomel saturado (ECS, Radiometer, Francia) como electrodo de referencia y la muestra de aleación de magnesio bajo estudio como electrodo de trabajo (Figura 21). Se diseñó un portamuestras (Figura 20) para establecer el contacto eléctrico con el electrodo de trabajo y poder ponerlo en inmersión, dejando un área expuesta al electrolito de 0.15 cm<sup>2</sup>. La inclusión de las muestras en resina no era posible, ya que ello fomentaría la corrosión por rendijas, y el pequeño tamaño de las mismas, tampoco permitía realizar el ensayo mediante superficie libre. Tal como se ve en la imagen, se utilizó un O-ring para impedir el paso de solución dentro del portamuestras y se rebajó la zona de contacto muestra-solución para minimizar la formación de burbujas en la

superficie. El material utilizado para la misma fue Grilon® (poliamida 6), que presenta muy buena maquinabilidad, buena resistencia a los agentes químicos, y es apto para la temperatura de trabajo (37°C).



Figura 21. Baño y celda electroquímica.

#### 3.6.3.1 Potencial de circuito abierto (estabilización)

Para asegurar la *estabilidad*, *linealidad* y *causalidad* de los resultados se requiere de un tiempo de estabilización, en el cual se busca que la muestra y la solución lleguen a un potencial de corrosión estable para realizar los ensayos. Dicho potencial es aquel que surge entre las dos hemi-reacciones presentes, el Mg que se oxida y el H<sub>2</sub>O que se reduce.

#### 3.6.3.2 Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)

Una vez que se logró un  $E_{corr}$  estable, se aplicó una onda de potencial sinusoidal de  $\pm 15$  mV de amplitud respecto de este  $E_{corr}$ , en un intervalo de frecuencias de 20000 Hz a 0.05 Hz. Se tomaron 10 frecuencias espaciadas por cada década logarítmica.

Al correr este ensayo se prestó particular atención a que la resistencia de la solución ( $Z'$ ) permaneciera constante entre ensayos (y por debajo de los 100 Ohm).

Con los datos obtenidos se modeló cada sistema con un circuito eléctrico equivalente, se calculó la resistencia a la polarización ( $R_p$ ) y capacidad efectiva ( $C_{eff}$ ), que se utilizaron para obtener información acerca de la superficie de la muestra, así como de los componentes depositados en superficie.

#### 3.6.3.3 Curvas de polarización

Como último ensayo, se realizaron las curvas de polarización potenciodinámicas para determinar la densidad de corriente de corrosión en las condiciones de estudio. Para esto se realizó un barrido de potenciales, a una velocidad de 1 mV/s, comenzando por la rama catódica

a 0.15 V por debajo del potencial de corrosión ( $-0.15 \text{ V vs } E_{\text{corr}}$ ) y luego polarizando en sentido anódico hasta 0 V (vs ECS).

#### 4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

A lo largo de este capítulo se presentan y analizan los resultados obtenidos por medio de los diferentes ensayos abordados en este proyecto.

Se evalúan los resultados de los tratamientos de esterilizado sobre las aleaciones de Magnesio ZX10 con sus respectivos controles y la evolución de las superficies sometidas a dicho tratamiento en función del tiempo (7, 14 y 30 días) en inmersión en SBF.

##### 4.1 Inspección visual de las muestras

Condición	Esterilizadas	No Esterilizadas
t0		
t7		
t14		
t30		

Figura 22. Tabla comparativa de muestras esterilizadas y sin esterilizar luego de ser inmersas en SBF, según avance de días.

Las imágenes de la Figura 22 ponen en evidencia el avance de la degradación de las muestras en función del tiempo de inmersión. Puede observarse la disminución del volumen de la muestra con el paso del tiempo (propio de procesos corrosivos), al mismo tiempo que la formación de depósitos o productos de corrosión sobre la superficie, cuya identidad será definida por la técnica de espectroscopia Raman en la sección 4.3.2.

No se observan diferencias apreciables a ojo desnudo entre las muestras con y sin esterilizado previo.

##### 4.2 Inmersiones

Se midió el pH de la solución de inmersión, cada 48 o 72hs, para registrar su evolución con el paso del tiempo. En la Figura 23 se muestran los valores de pH obtenidos, a 37°C.

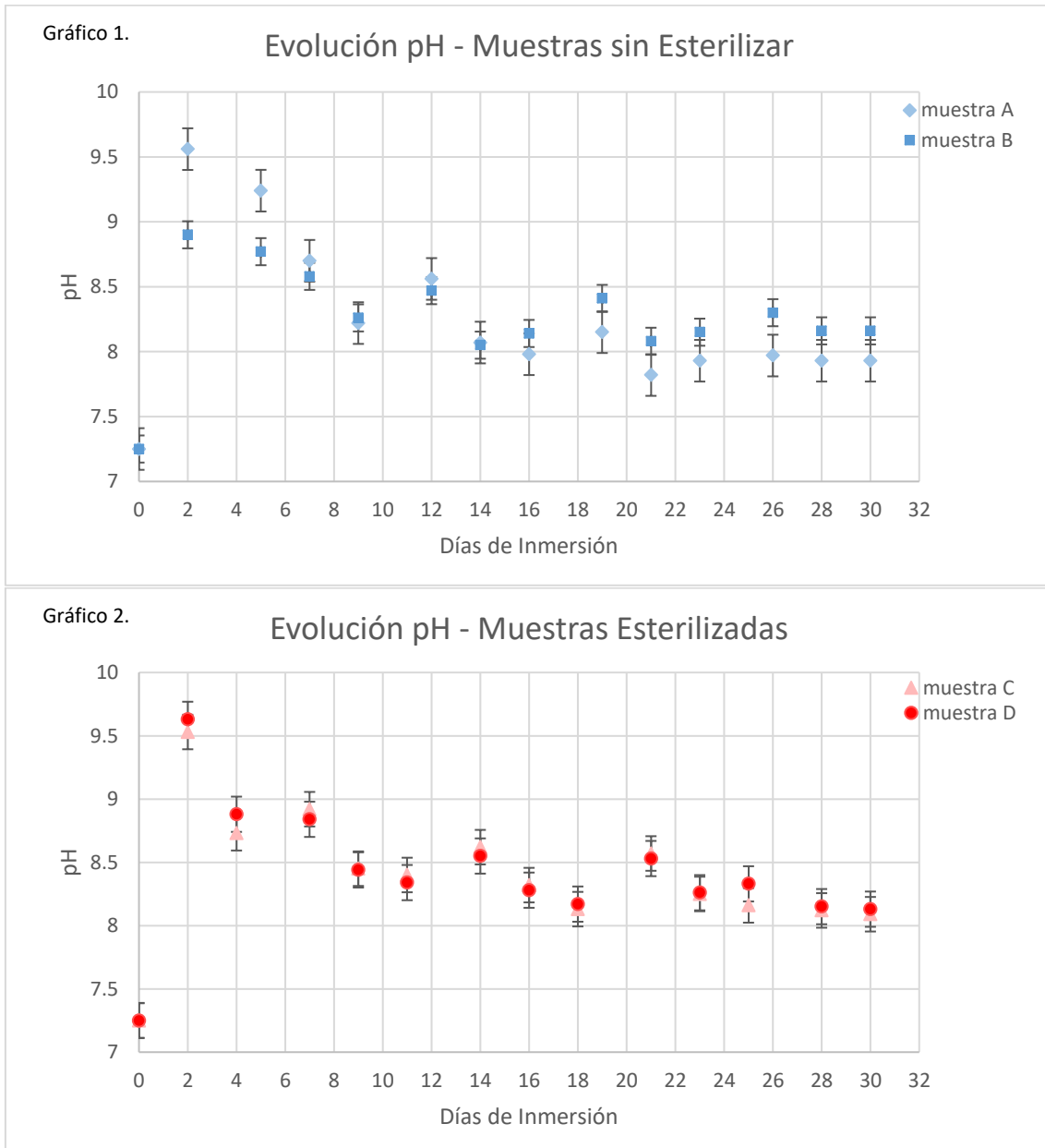


Figura 23. pH de la solución en función del tiempo de inmersión. Gráfico 1: Evolución para muestras A y B sin esterilizar. Gráfico 2: Evolución para muestras C y D esterilizadas.

Los gráficos revelan un aumento en el pH, luego de los dos primeros días de inmersión en SBF. Esto puede atribuirse al aumento de la concentración de  $\text{OH}^-$  producto de la reducción del agua, como consecuencia del proceso de disolución anódica del Mg en la solución, acompañada de la liberación de hidrógeno (Ec.1 y 2) [23].

Luego, se observa una caída en el pH a lo largo del tiempo. Esto supone una disminución de la tasa de degradación del Mg, por la formación de una capa de productos de corrosión sobre la superficie que podría otorgar algún grado de protección sobre la superficie. No obstante, la presencia de iones de  $\text{Cl}^-$  en la solución promueve la formación de  $\text{MgCl}_2$  soluble en medio acuoso, permitiendo entonces que la degradación continúe [23].

Finalmente, pasados los 15 días de inmersión se llega a un valor cuasi constante. Esto se podría atribuir a un equilibrio dinámico, producto de una constante formación y disolución de la capa superficial [17].

Para mayor comodidad del lector se representaron las curvas correspondientes a muestras sin esterilizar en el Gráfico 1 y para aquellas esterilizadas en el Gráfico 2. No obstante, se observa que el comportamiento de ambas condiciones (esterilizado y no esterilizado) no presenta grandes diferencias.

#### 4.3 Caracterización superficial

##### 4.3.1 Revelado de la microestructura

En la Figura 24 se muestran las imágenes obtenidas luego del revelado de la microestructura con acético-picral.

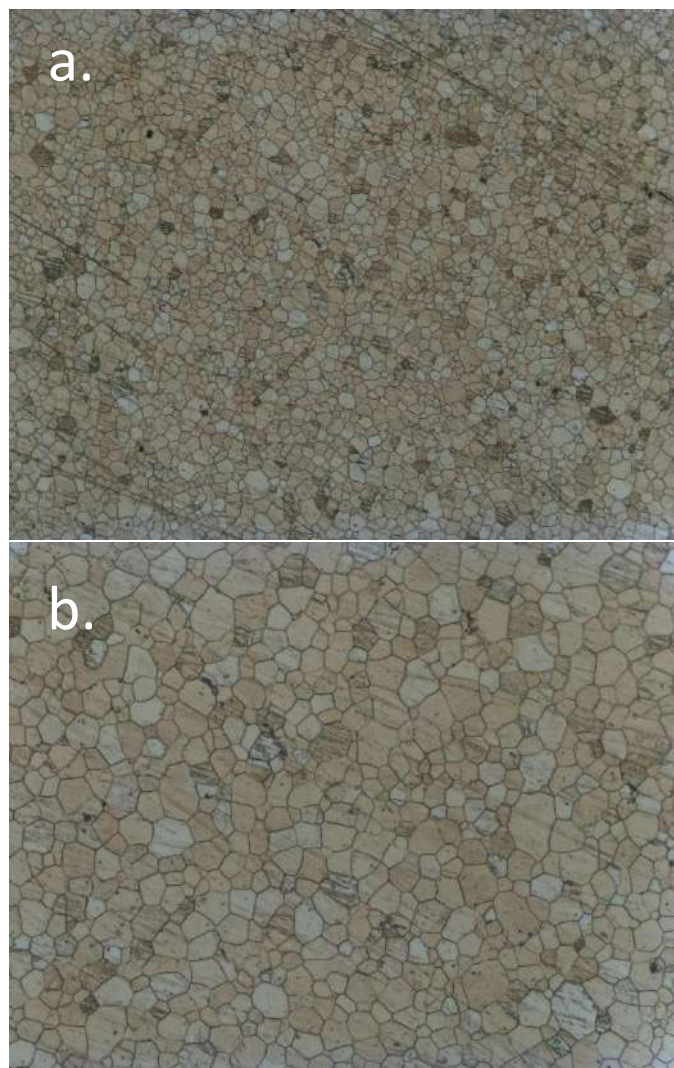




Figura 24. Micrografías luego de ataque con acético-picral. Con aumentos de: (a) x10; (b) x20 y (c) x50.

En primera instancia se logran ver granos irregulares, pero con una distribución homogénea. Asimismo, el ataque resalta las líneas de pulido, las cuales se buscaron evitar en el proceso, siguiendo un estricto protocolo al usar las lijas. Sin embargo, esto no fue posible, debido a la naturaleza blanda del Magnesio. Esto se presenta como una dificultad a la hora de manejar las muestras ya que, no solo es altamente reactiva y, por ende, propensa a procesos de tipo corrosivos, sino que también obliga al usuario a poseer un especial cuidado en su manipulado.

Se observan también incrustaciones como puntos negros, que podrían ser resultantes de procesos corrosivos, o bien, propias del pulido de una aleación blanda, como es el caso de la ZX10. Mediante este ataque, no se revelan precipitados a lo largo del grano ni en los bordes de grano, lo cual se presentaría como una ventaja frente al proceso corrosivo, el cual podría verse acelerado por la presencia de segundas fases [1], [16].

En sus estudios sobre aleaciones Mg-Zn-Ca, *Fang et al.* destacan que al aumentar la concentración de Ca en la aleación, la fracción de precipitados secundarios se incrementa proporcionalmente. Por lo tanto, el mayor número de precipitados puede actuar como núcleos efectivos para formar nuevos granos durante la recristalización dinámica, lo que conduciría a la reducción del tamaño del grano [21]. Además, se observa lo que podrían ser *maclas* en las muestras (Figura 25). Estas últimas desaparecen en aleaciones con mayor cantidad relativa de Ca, según las comparaciones realizadas por los autores previamente mencionados [21].

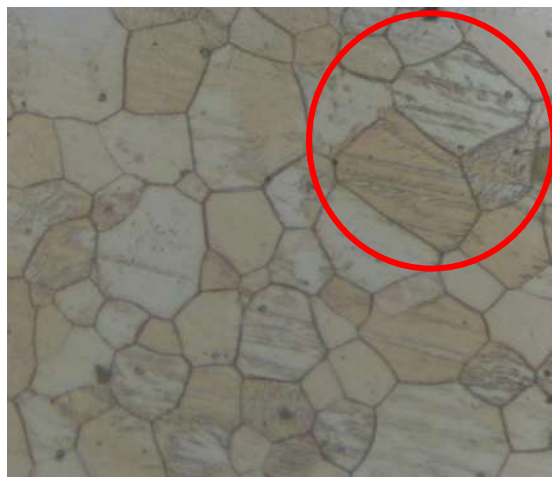


Figura 25. Maclas de recocido observables bajo aumentos de 50x

### 4.3.2 Espectroscopia Raman

En la Figura 26 se presentan los espectros Raman correspondientes a la aleación ZX10. En cada gráfico se representan, para el mismo tiempo de inmersión, los espectros correspondientes a las condiciones de esterilizado y sin esterilizar.

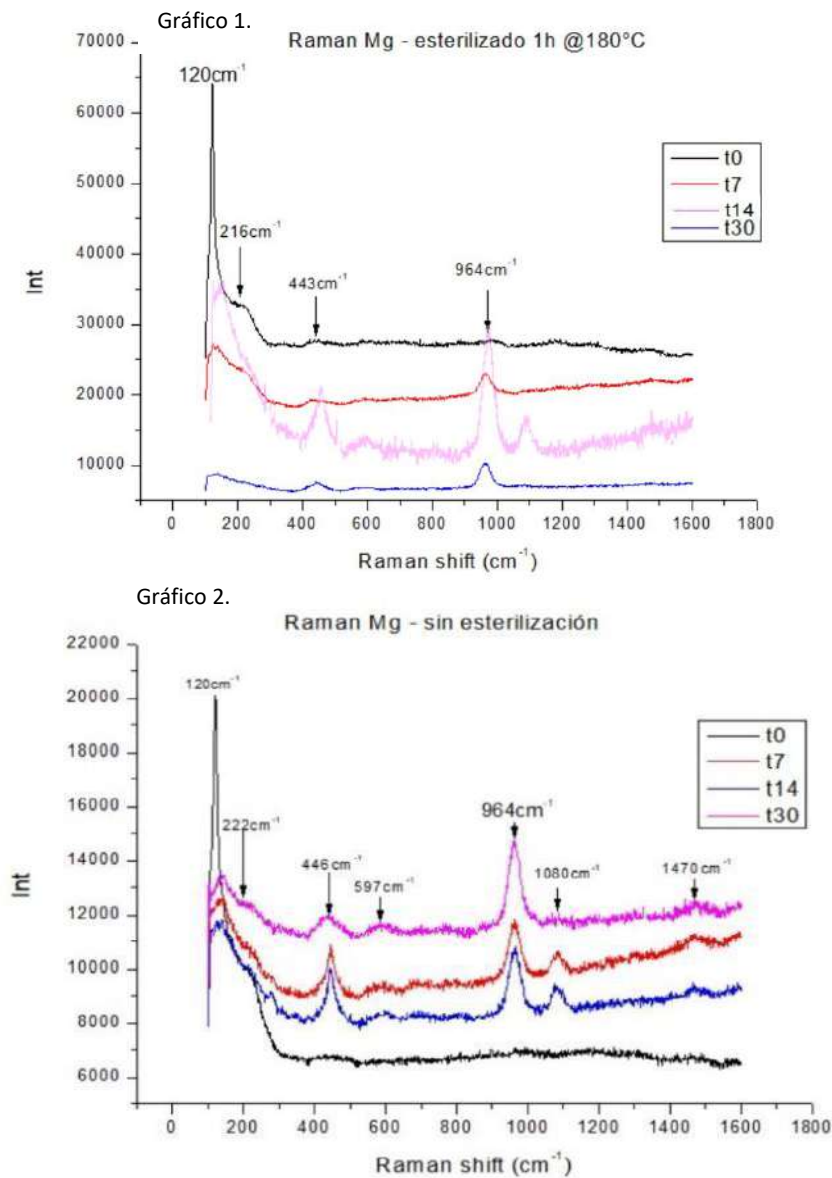


Figura 26. Espectroscopia Raman en Intensidad vs Corrimiento Raman. Gráfico 1: Muestras esterilizadas. Gráfico 2: Muestras sin esterilizar.

En primera instancia, los gráficos obtenidos resultan prometedores ya que no demuestran grandes ruidos en la medición, tal como la fluorescencia y/o ruido *shot*. Esto último permite identificar correctamente los picos característicos, una vez que los rayos cósmicos han sido eliminados del gráfico.

Los picos característicos y sus asignaciones de acuerdo a su corrimiento Raman (en  $\text{cm}^{-1}$ ), se reportan en la Tabla 5.



Condición	Esterilizada				Sin esterilizar				Asignación	
Tiempo de Inmersión	t0	t7	t14	t30	t0	t7	t14	t30		
Corrimiento Raman (cm <sup>-1</sup> )	120	120	120	120	120	140	140	140	MgH <sub>2</sub>	
	216	216	216	216	222	222	222	222	MgO / Mg (OH) <sub>2</sub>	
	443	443	443	443	446	446	446	446	MgO / Mg (OH) <sub>2</sub> / PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (v2) / Zn-OH traslation	
	-	-	-	-	-	597	597	597	597	MgO / PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (v4)
	-	964	964	964	-	964	964	964	964	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (v1)
	-	-	1080	-	-	1080	1080	1080	1080	CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup> (v1) / MgCO <sub>3</sub> / MgO
	-	-	-	-	-	1470	1470	1470	1470	CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup> (v3)

Tabla 5. Picos característicos Raman junto con asignación [17], [35]–[42].

En todos los casos se observa un primer pico alrededor de los 120 cm<sup>-1</sup>, que puede relacionarse con el hidruro de Magnesio [36]. Asimismo, entorno a los 220 cm<sup>-1</sup>, aparecen picos correspondientes a óxidos e hidróxidos de Mg, propios de las reacciones de corrosión que se llevan a cabo en la muestra tanto en inmersión en SBF como sin inmersión (t0). El hecho de que las muestras sin inmersión presenten picos característicos de productos de corrosión es atribuido a la reacción de la aleación con la humedad del ambiente, debido a ser altamente activa [36], [37].

Se observa, también, una banda de gran intensidad próxima a los 446 cm<sup>-1</sup>. Esto, según bibliografía, puede atribuirse a los óxidos e hidróxidos de Mg [37], [38], [40] o el modo de traslación del enlace Zn-OH [39]. Para el caso de las muestras con inmersión, esta señal también podría coincidir con el modo vibracional v2 (flexión) del fosfato [17], [35].

Luego, para el caso de sin esterilizar a tiempos mayores a 7 días aparece un pico en 597 cm<sup>-1</sup>, que puede coincidir con el modo vibracional traslacional del enlace Mg-OH [39], o bien con la flexión fuera del plano (v4) del fosfato [17], [35]. En este caso, a diferencia de los anteriores, los picos no coinciden con los reportados en bibliografía para aleaciones Mg-Ca, sino que están desplazados. El pico correspondiente al fosfato aparece en 580 cm<sup>-1</sup> [17] y el MgO en 618 cm<sup>-1</sup> [36]. Este cambio observado en la banda del fosfato hacia un número de onda más bajo, se lo puede adjudicar a la incorporación de Zn. Dado que la frecuencia de la banda Raman depende de las vibraciones de la red, las masas y la fuerza entre los átomos/iones definen la posición de la vibración. Como la masa de los iones Zn es ligeramente mayor que la de los iones Ca, se intuye un desplazamiento de la banda Raman hacia el número de onda inferior [35].

La presencia del fosfato se confirma con una banda en 964cm<sup>-1</sup> la cual corresponde con el estiramiento simétrico (v1, P-O) del compuesto. Se observó dicha banda en todos los casos en los cuales la muestra estuvo en contacto con la SBF.

Según *Weber et al.*, es esperable encontrar picos en 1080 cm<sup>-1</sup>, relacionados a la vibración del óxido de magnesio y/o del grupo CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>, producto de la formación de MgCO<sub>3</sub>. Al igual que *Salehi et al.* y *Frost et al.* (2009) [42] quienes reportan modos vibracionales (v1) del grupo CO<sub>3</sub><sup>-2</sup> en corrimientos en el entorno de 1092 cm<sup>-1</sup>, mientras que *Kloprogge et al.* lo reporta en 1050 cm<sup>-1</sup>.

Asimismo, aparecen picos en 1470 cm<sup>-1</sup>, ratificando la presencia del grupo CO<sub>3</sub><sup>-2</sup> (en modo vibracional v3), característico de una formación superficial de hidroxiapatita carbonatada (HCA), según reporta *Frost et al.* (2011) [41].

En conclusión, si bien la mayor parte de los picos estaba previamente reportada en bibliografía, al ser una aleación nueva, es de esperar que varios de los picos aparezcan corridos. Atribuible a

los distintos tamaños y pesos atómicos. A su vez, se encuentran productos de corrosión en la superficie de todas las muestras, propio de un metal activo como lo es el Mg. Sin embargo, sólo en aquellas que fueron inmersas en SBF aparecen picos característicos de la HA. De la misma manera, los picos esperables de HCA, sólo están presentes en aquellas muestras que no fueron esterilizadas.

#### 4.4 Técnicas electroquímicas

En esta sección se exponen los resultados de los ensayos de EIS y polarización, para muestras tanto esterilizadas como no esterilizadas y con distintos tiempos de inmersión en SBF. En todos los casos, previo a los ensayos, se realizó la medida del potencial de circuito abierto con el objetivo de asegurar la estabilidad en el potencial de corrosión.

##### 4.4.1 Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)

En las Figuras 27, 28, 29 y 30 se presentan los gráficos de Nyquist y Bode obtenidos del ensayo de impedancia para las muestras de la aleación ZX10 a tiempo cero, tras 7, 14 y 30 días de inmersión, con y sin esterilizado previo. Se grafica la curva más representativa para cada par de muestras ensayadas (ya mencionadas en la Tabla 4).

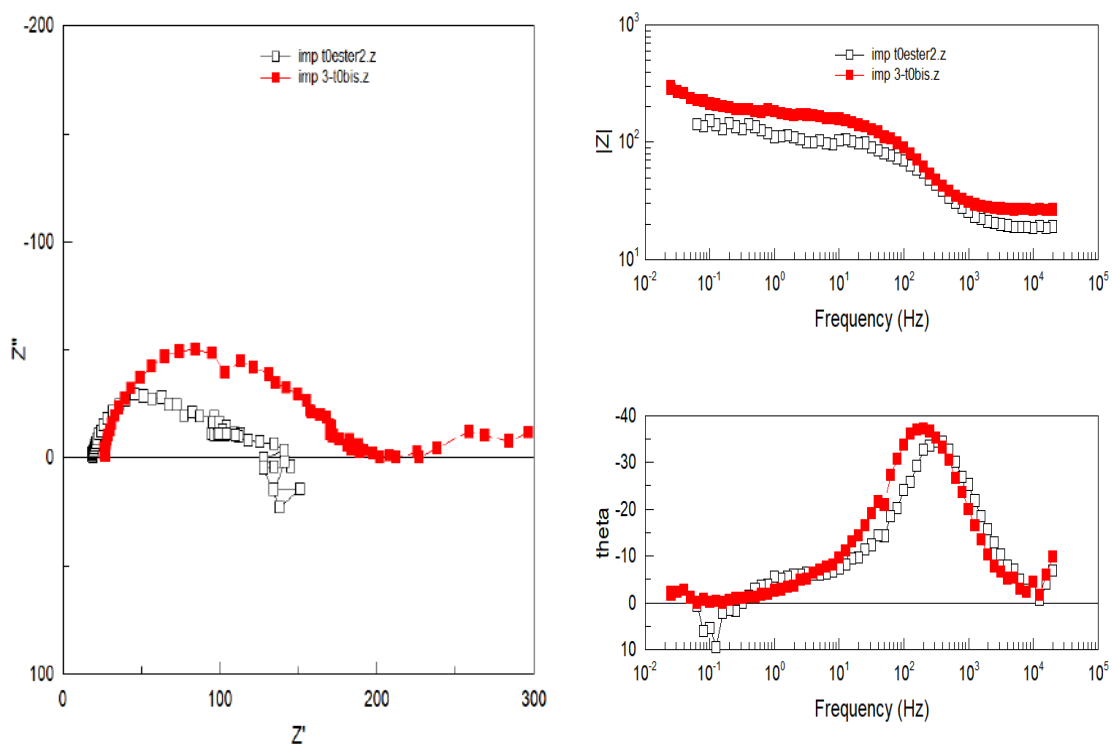


Figura 27. Diagramas de Nyquist (izquierda) y Bode (derecha) para muestras Esterilizadas (blanca) y sin Esterilizar (roja) a t0.

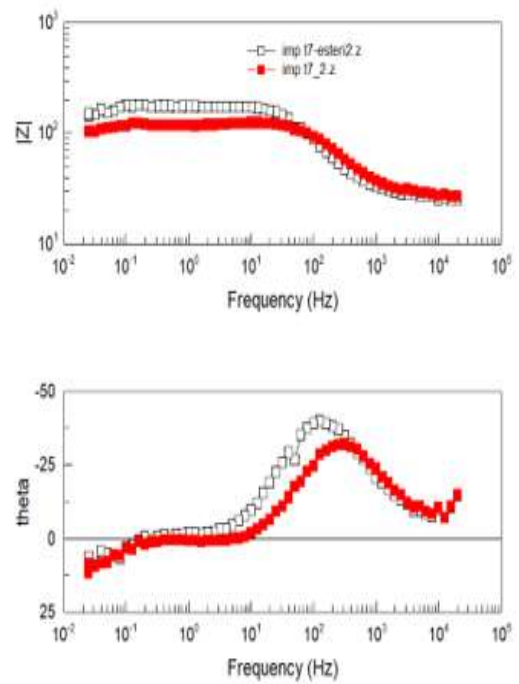
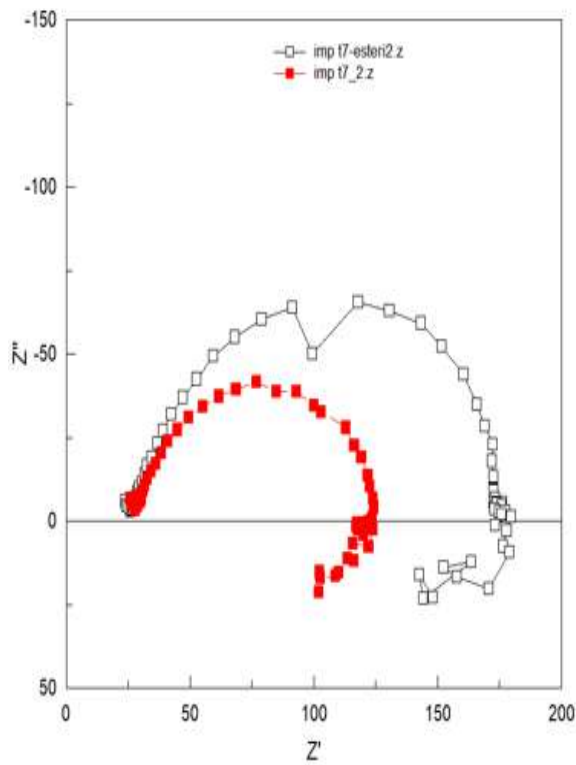


Figura 28. Diagramas de Nyquist (izquierda) y Bode (derecha) para muestras Esterilizadas (blanca) y sin Esterilizar (roja) a t14.

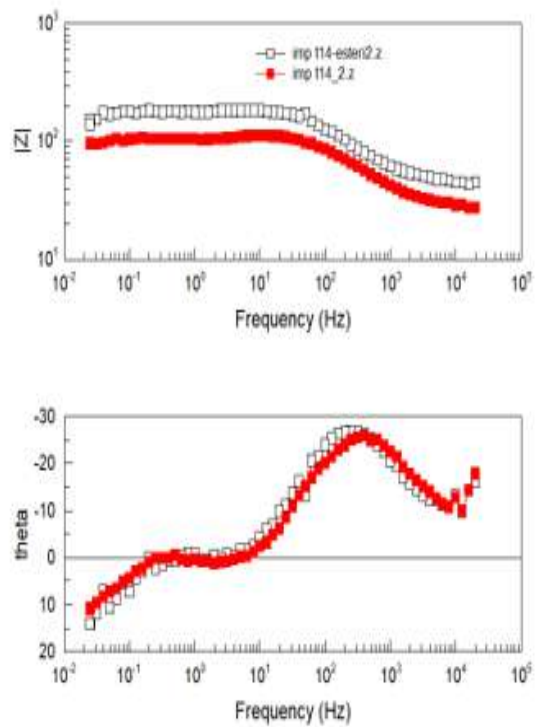
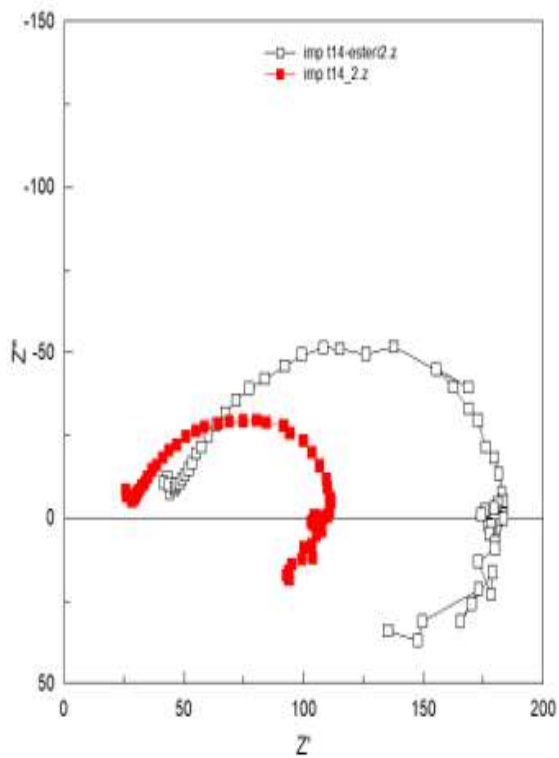


Figura 29. Diagramas de Nyquist (izquierda) y Bode (derecha) para muestras Esterilizadas (blanca) y sin Esterilizar (roja) a t14.

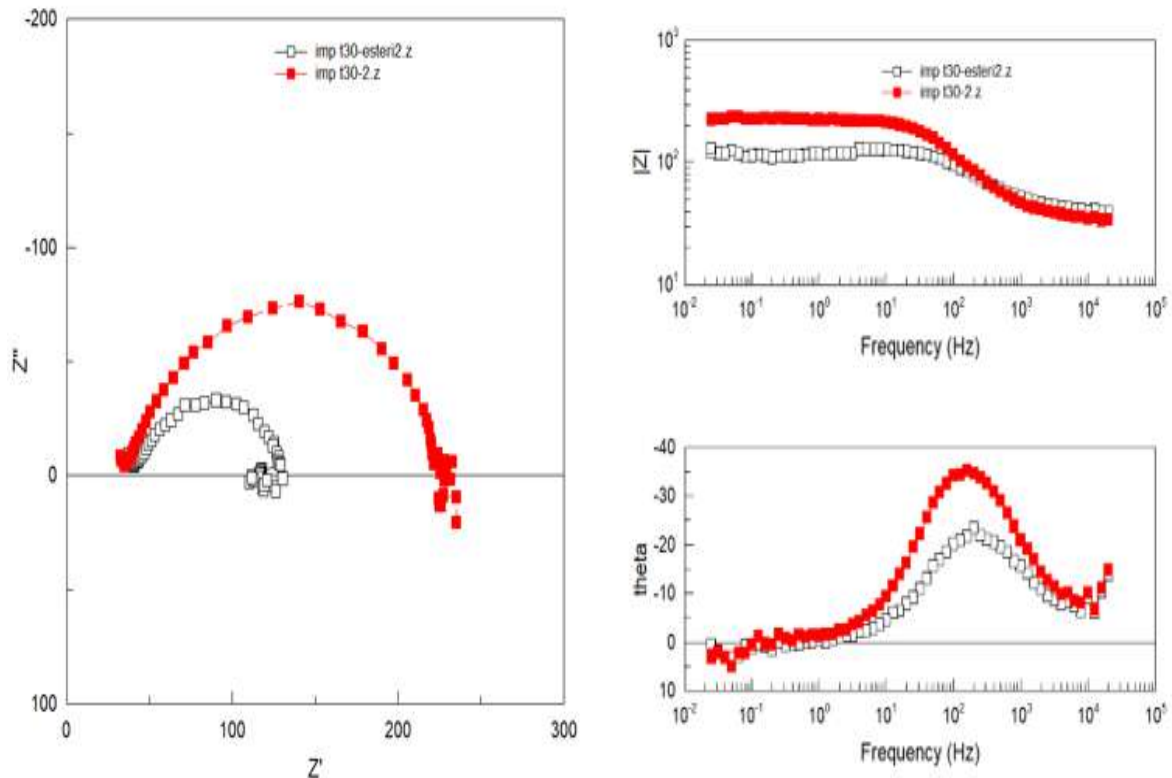


Figura 30. Diagramas de Nyquist (izquierda) y Bode (derecha) para muestras Esterilizadas (blanca) y sin Esterilizar (roja) a t30.

En la mayoría de los casos pueden distinguirse dos constantes de tiempo, que en el diagrama de Bode se ven como cambios de pendiente en el gráfico de módulo de impedancia ( $|Z|$ ) vs frecuencia. Cada constante de tiempo puede asociarse a un proceso diferente ocurriendo sobre la superficie. El comportamiento de alta frecuencia en EIS está asociado con la penetración de electrolito, incluida la absorción de agua y la intrusión del electrolito en los poros, por lo tanto, a altas frecuencias se pueden determinar las propiedades de los productos de corrosión. Mientras que la segunda constante de tiempo capacitiva, que se ve a frecuencias medias, da información importante sobre el proceso de corrosión sobre el electrodo que se produce cuando el electrolito toma contacto con el metal a través de los caminos que se forman en el óxido [43], [44].

Además, para tiempos de inmersión mayores a 7 días, se observa un *loop* inductivo en la zona de bajas frecuencias que suele relacionarse a diversos efectos, entre los que se destacan especies intermediarias adsorbidas sobre la superficie del electrodo y/o corrosión localizada [44], [45]. El *loop* inductivo se evidencia en el diagrama de Nyquist mediante una componente imaginaria  $Z''$  positiva y una componente real  $Z'$  decreciente hacia menores frecuencias; mientras que en el diagrama de Bode de ángulo de fase ( $\theta$ ) vs frecuencia puede observarse cuando el valor de  $\theta$  adopta valores positivos.

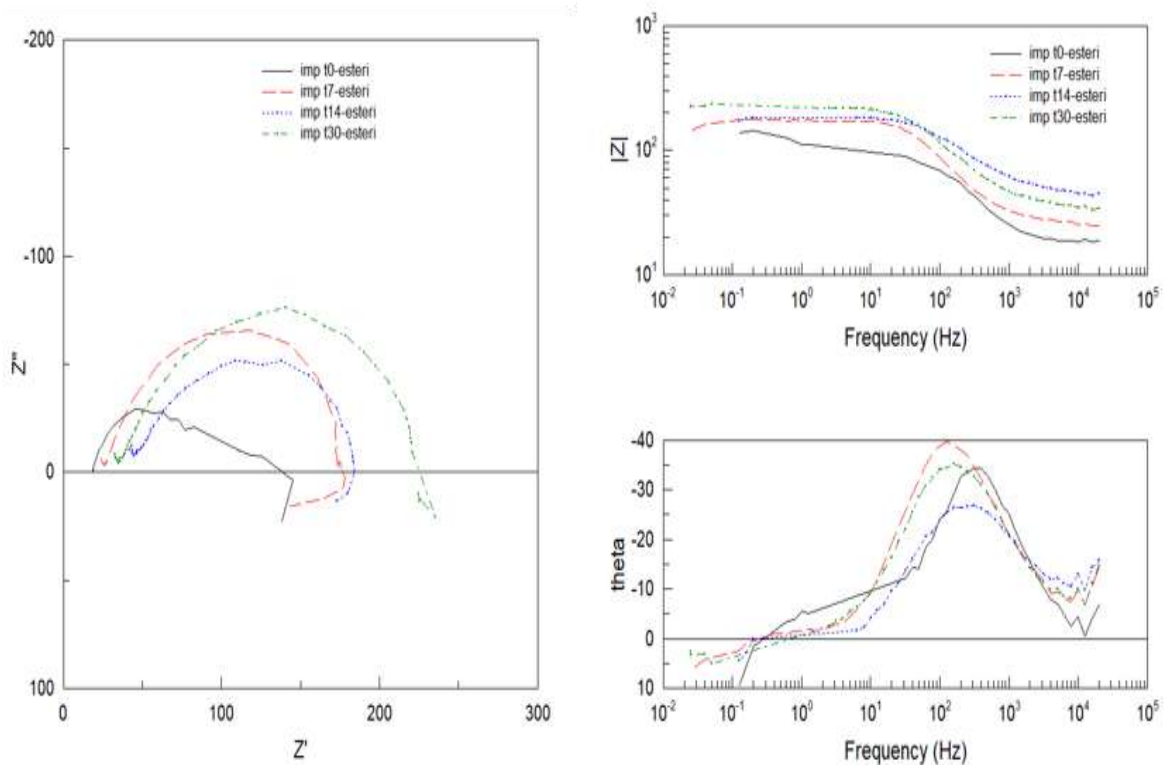


Figura 31. Diagramas de Nyquist (izquierda) y Bode (derecha) para muestras Esterilizadas en función del Tiempo de Inmersión.

Por otro lado, en la Figura 31 se comparan las curvas obtenidas para las muestras esterilizadas en función del tiempo de inmersión. El gráfico de Nyquist revela un aumento de la resistencia en el tiempo, evidenciado en el aumento del diámetro del semicírculo. El aumento de tamaño de los diagramas de Nyquist con el tiempo de inmersión se puede atribuir a una disminución del área de la superficie activa debido a la cobertura progresiva de la superficie por los productos de corrosión [43], [46]. Además, se observa un leve aumento en el módulo de la impedancia total (extrapolando a frecuencia cero en el gráfico de Bode  $|Z|$  vs frecuencia) que podría asociarse a la formación de productos de corrosión sobre la superficie de la aleación y la consiguiente disminución de la velocidad de corrosión.

#### 4.4.1.1 Modelado

Para modelar matemáticamente el sistema se optó por una configuración de circuito equivalente con una resistencia en serie con el resultado de la suma en paralelo de dos resistencias faradaicas, junto con un inductor y un elemento de fase constante también en serie, tal como se ve en la Figura 32.

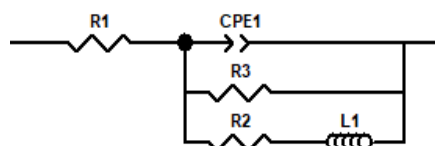


Figura 32. Circuito equivalente modelo para la aleación ZX10.

En este circuito, se consideran las R2 y R3 como faradaicas, es decir que transportan carga, por lo que se las adjudica a la resistencia de la película superficial (o del electrolito en los poros del óxido) y la resistencia de transferencia de carga en la superficie del metal, respectivamente. Por

otro lado, la R1 es asociada únicamente a la difusión de las mismas y, por tanto, a la resistencia que presenta el baño de inmersión.

El elemento de fase constante modela la pseudo-capacitancia de la capa que se forma sobre la superficie del sustrato (muestra) y el inductor replica la presencia de especies absorbidas en superficie o bien, la presencia de corrosión localizada (*loop* inductivo).

Este tipo de circuitos son comúnmente utilizados para modelar óxidos porosos o recubrimientos sobre una superficie metálica.

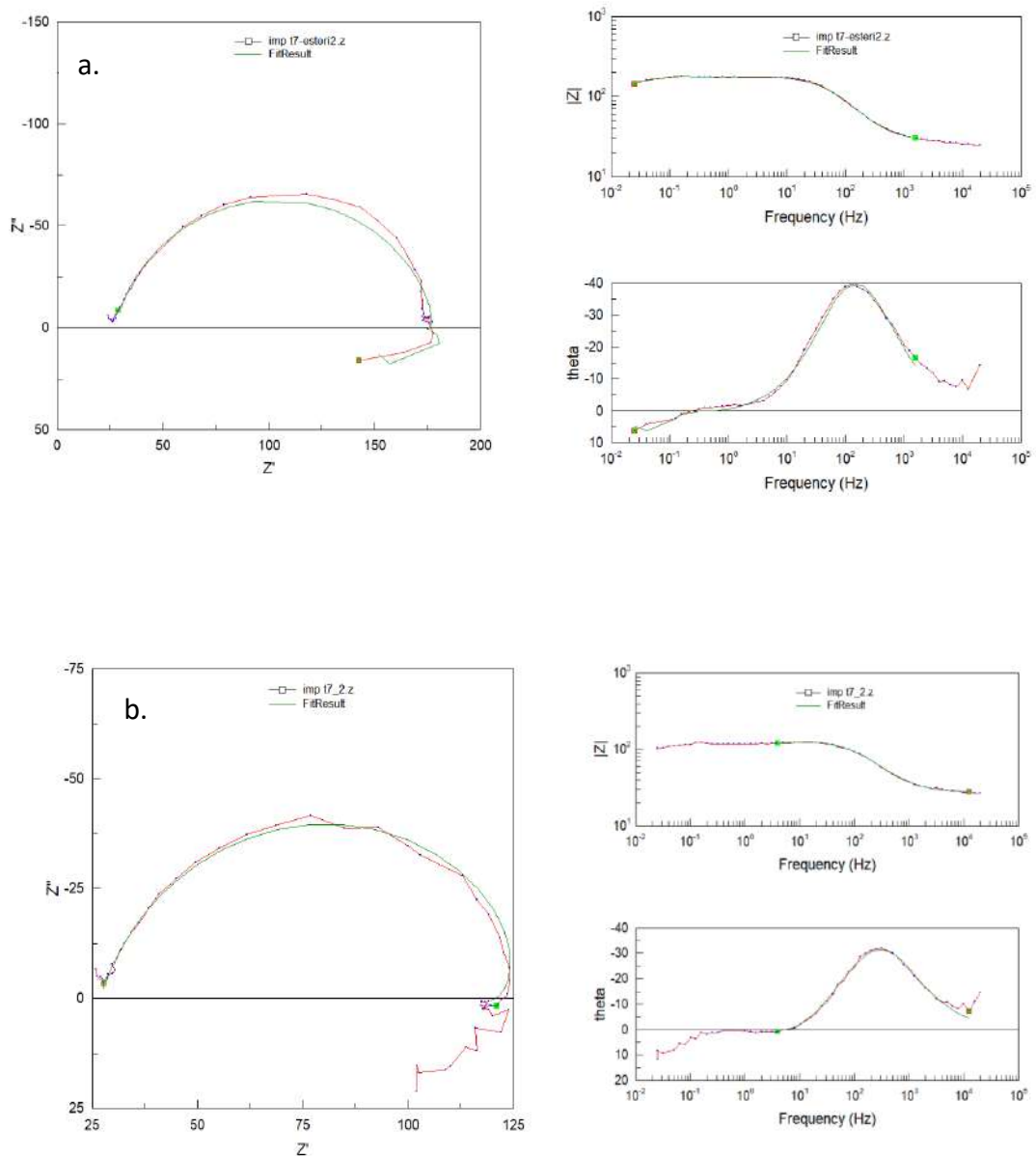


Figura 33. Ejemplos de resultados de ajustes numéricos (curvas verdes) para muestra con inmersión de 7 días (a) esterilizada (b) sin esterilizar.

A partir de los parámetros obtenidos, para cada caso, se calculó la resistencia a la polarización del sistema como la resistencia equivalente que surge de sumar las resistencias del circuito asociadas a la transferencia de carga (Ecuación 12) [45], [47].

$$R_p = \frac{R_3 * R_2}{R_3 + R_2}$$

Ecuación 12

Posteriormente, siguiendo el modelo de Brug (Ecuación 13), se calcularon los valores de la capacidad efectiva ( $C_{eff}$ ) de los depósitos formados sobre la superficie.

$$C_{eff} = Q \frac{1}{\alpha} (R_s^{-1} + R_t^{-1})^{\frac{(\alpha-1)}{\alpha}}$$

Ecuación 13

donde Q y  $\alpha$  son los parámetros del CPE del cual se quiere calcular la capacidad efectiva,  $R_s$  es la resistencia óhmica o de la solución y  $R_t$  es la resistencia a la transferencia de carga en paralelo con el CPE analizado (igual a  $R_p$ ).

Con los resultados de los ajustes se confeccionó la Tabla 6, en la cual  $R_1$ ,  $R_t$ ,  $C_{eff}$  y la Desviación Porcentual surgen del promedio de valores obtenido para cada par de muestras ensayadas.

Condición	$T_{inm}$ (días)	$R_1 (=R_s)$ [ $\Omega.cm^2$ ]	$R_t (=R_p)$ [ $\Omega.cm^2$ ]	$C_{eff}$ [ $F.cm^{-2}$ ]	Desviación %
Esterilizada	0	16.2	103.8	9.9E-06	16%
	7	41.4	168.4	6.8E-06	8%
	14	38.7	137.8	1.2E-05	14%
	30	39.4	85.6	9.4E-06	5%
Sin esterilizar	0	23.2	175.6	1.3E-05	8%
	7	33.7	510.8	9.0E-06	11%
	14	26.4	165.5	6.8E-06	6%
	30	55.7	218.7	8.9E-06	6%

Tabla 6. Resultado de ajuste con promedios para todas las condiciones.

Para la condición esterilizada vemos un primer aumento en la resistencia a la polarización y una posterior caída (Figura 34). Esto podría deberse a la mayor resistencia que presenta la superficie al incrementar la cantidad de depósitos y una disminución con el tiempo de inmersión atribuida a porciones descubiertas de la muestra donde se produce un ataque localizado.

En el caso de las muestras sin esterilizado previo, se observa un comportamiento similar, pero con mayor intensidad y valor de  $R_p$  (Figura 34). El valor de la resistencia, mayor respecto de las muestras con esterilizado, podría relacionarse con una mayor actividad electroquímica superficial en los primeros días de inmersión.

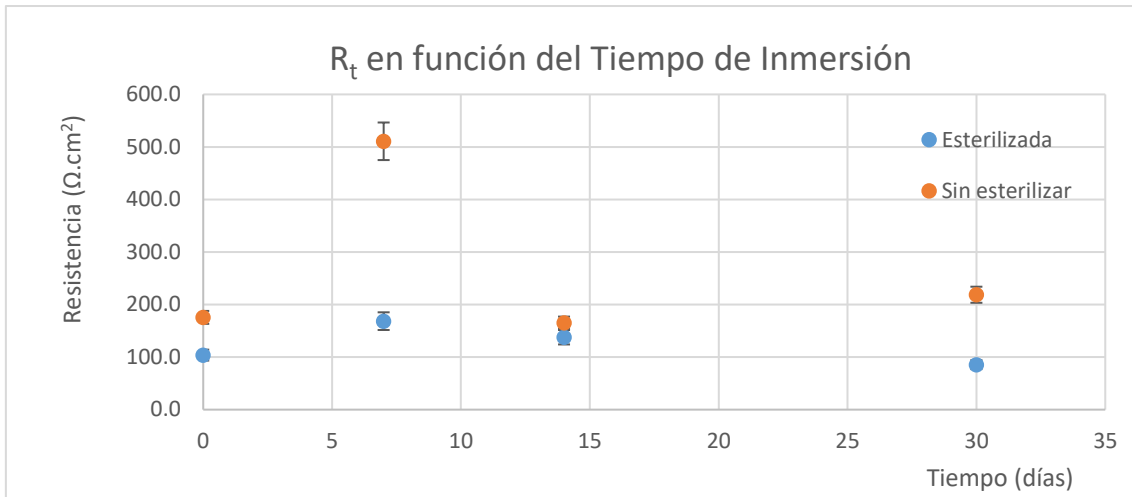


Figura 34. Resistencia a la polarización en función del Tiempo de Inmersión.

El gráfico de la Figura 35 muestra los resultados obtenidos de  $C_{eff}$  en función del tiempo, para cada par de muestras tanto esterilizadas como no.

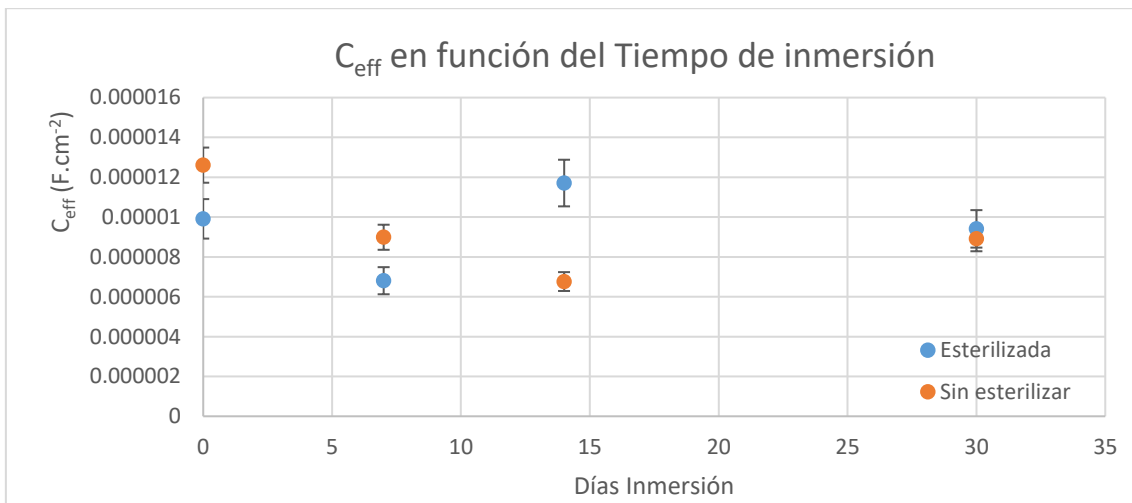


Figura 35. Capacidad efectiva en función del Tiempo de Inmersión.

Para los primeros 7 días de inmersión, para ambas condiciones, se observa una disminución en la capacidad y para mayores tiempos de inmersión, se continúa observando la relación inversa que mantenían la capacidad con la resistencia. Al disminuir la resistencia, aumenta la capacidad.

Sin embargo, es de notar que los cambios en los valores de capacidad efectiva son poco significativos (los valores se mantienen prácticamente en el mismo orden), demostrando que la película que se forma sobre la superficie no es aislante y solo otorga algún grado de protección al sustrato. Tampoco se aprecian diferencias significativas en los comportamientos revelados entre las muestras esterilizadas y sin esterilizar.

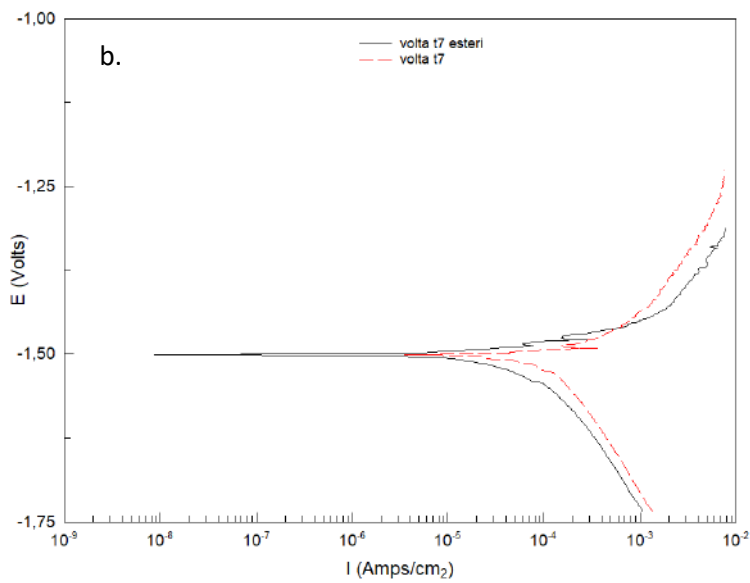
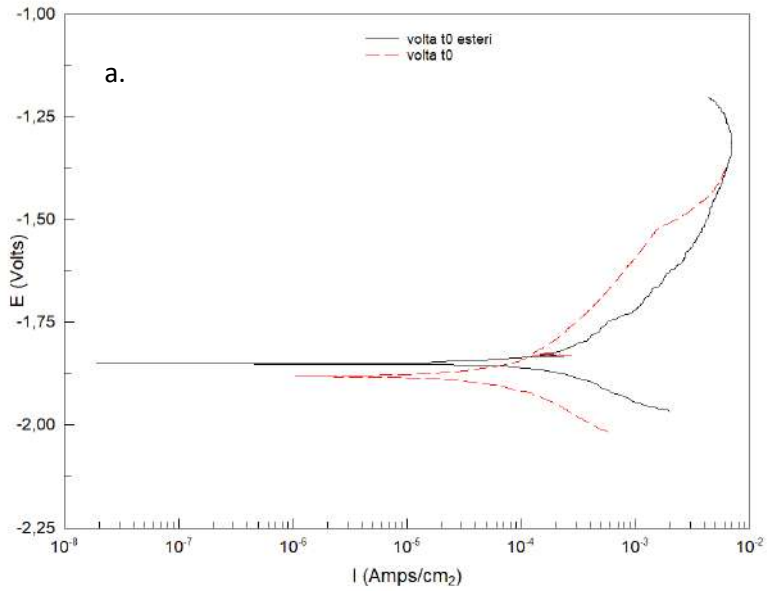
Se destaca que todos los valores de resistencias y capacidades obtenidos se encuentran dentro de lo esperado para un metal en disolución activa [28].

Finalmente, en la Tabla 6 se puede observar también la desviación porcentual del ajuste, respecto de la curva original. En todos los casos el error porcentual fue menor del 20%, para los modelos circuitales seleccionados.

#### 4.4.2 Curvas de Polarización



Mediante las curvas de polarización se buscó identificar el tipo de control existente en las reacciones que tienen lugar sobre la superficie y determinar la densidad de corriente de corrosión de la aleación ZX10. En la Figura 36 se muestra -a modo de comparación- el ensayo más representativo de cada condición.



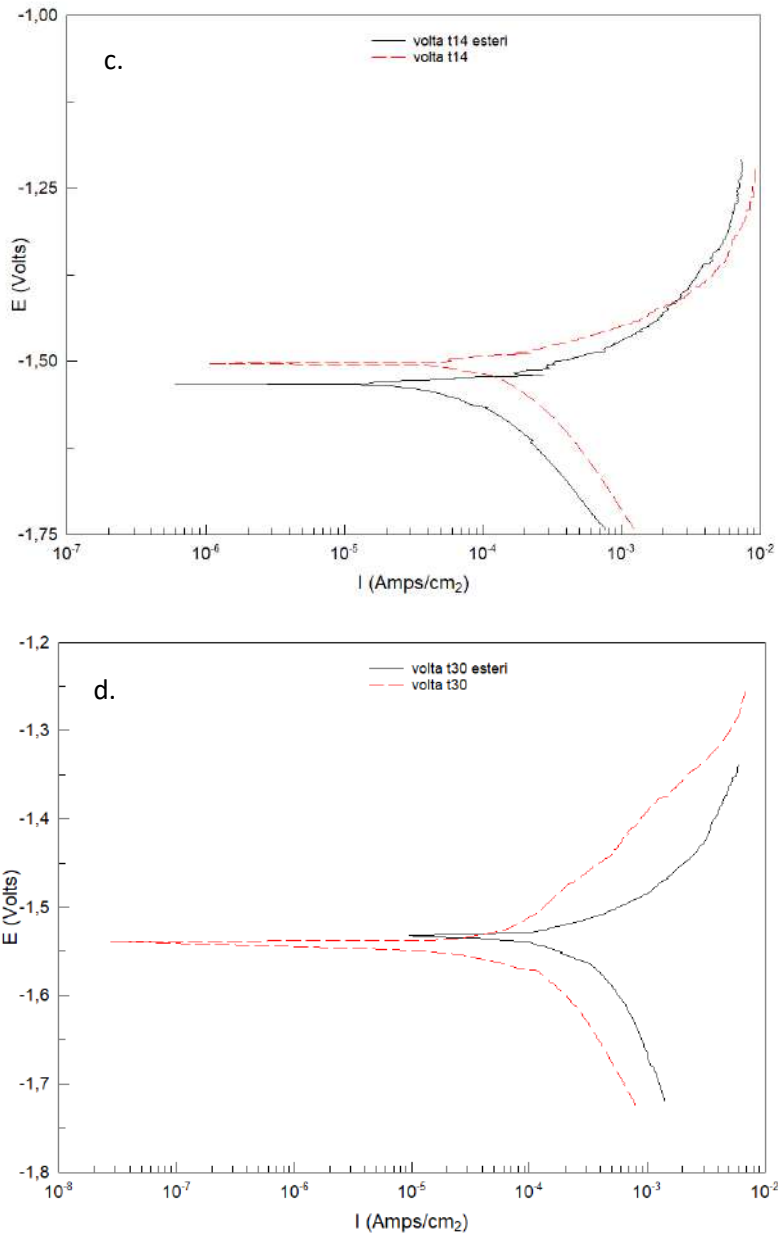


Figura 36. Curvas de polarización para muestras más representativas esterilizadas y sin esterilizar a (a) t0-control; (b)t7días; (c)t14días y (d)t30días.

Se observa un  $E_{corr}$  ligeramente mayor en las muestras esterilizadas respecto a las sin esterilizar, que se cumple en todos los casos menos para las curvas de 14 días de inmersión. Esto podría interpretarse como una menor actividad inicial en las muestras esterilizadas. Sin embargo, la pequeña diferencia en los valores por sí sola no resulta significativa.

En las curvas obtenidas se comprueba que el potencial donde la corriente se hace cero, coincide con el  $E_{corr}$  medido.

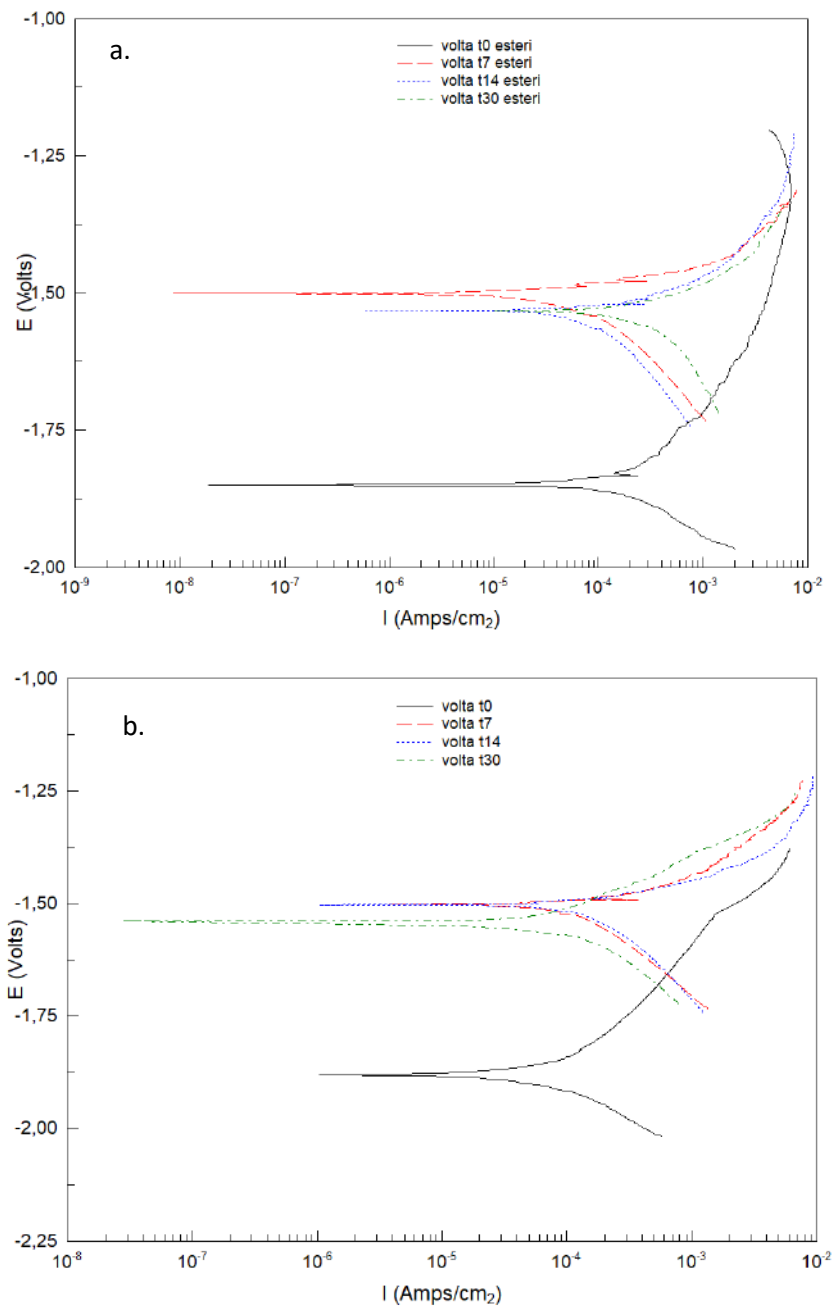


Figura 37. Curvas de polarización en función de los distintos tiempos de inmersión para (a) muestras esterilizadas y (b) muestras sin esterilizar.

Al comparar las curvas a distintos tiempos (Figura 37), se observa un marcado aumento en el potencial de corrosión en las muestras luego de la inmersión comparadas con la de tiempo cero. Esto puede relacionarse con la presencia de compuestos superficiales luego de la inmersión.

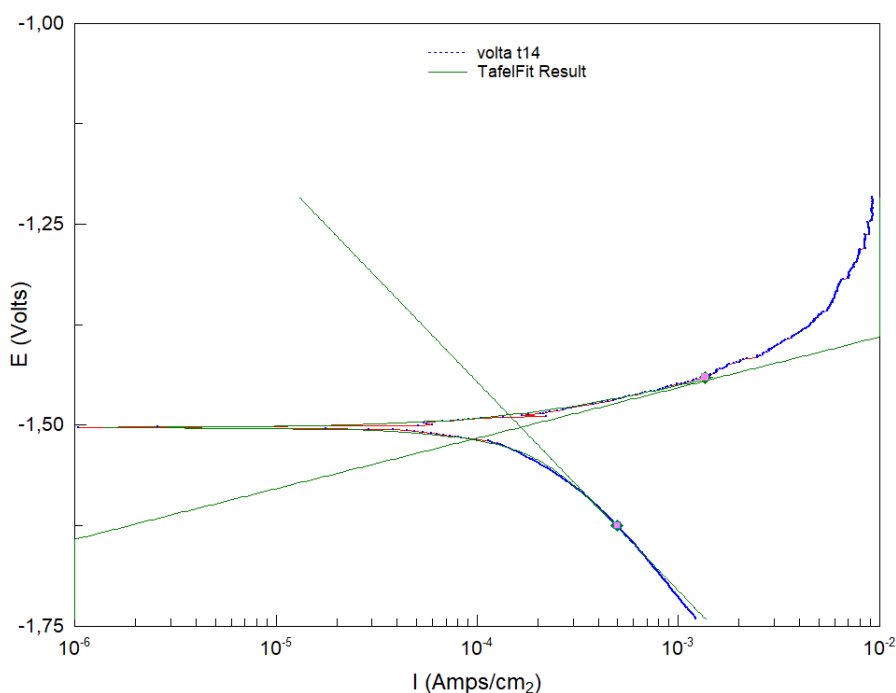


Figura 38. Fitting de Tafel para regiones lineales.

Para las regiones en las que las curvas anódicas y catódicas poseen una relación lineal entre el potencial y el logaritmo de la densidad de corriente, se puede ajustar una recta de acuerdo a la ecuación de Tafel (Ecuación 9) [28]. Extrapolando tales segmentos lineales de las curvas anódicas y/ o catódicas, e intersectándolas al  $E_{corr}$  se pudo determinar el valor de  $i_{corr}$  para la aleación en contacto con SBF (Figura 38) [28]. En la Tabla 7 se detallan los valores promedio obtenidos a través de este ajuste, para todas las condiciones ensayadas.

Condición	Tiempo Inmersión (días)	$E_{corr}$ Promedio (Volts)	$i_{corr}$ Promedio (A/cm <sup>2</sup> )	Desv $E_{corr}$ (Volts)	Desv $i_{corr}$ (A/cm <sup>2</sup> )
Esterilizado	0	-1.845	1.6 E-04	±0.005	±3.00E-05
	7	-1.515	3.0 E-05	±0.015	±1.92E-05
	14	-1.535	9.0 E-05	±0.005	±5.00E-07
	30	-1.54	5.9 E-04	±0.01	±2.30E-05
Sin esterilizar	0	-1.88	2.0 E-05	±0.01	±3.00E-06
	7	-1.50	2.1 E-04	0*	0*
	14	-1.50	2.4 E-04	0*	0*
	30	-1.55	6.0 E-05	±0.01	±1.80E-05

Tabla 7. Valores promedio obtenidos y sus desviaciones por ajuste de Tafel.

\*Los valores con desviación nula son consecuencia de no poseer una cantidad de datos representativos suficientes para establecer una desviación.

Tal como se observa en la tabla, para las muestras esterilizadas, a mayores tiempos de inmersión las curvas se corren hacia menores corrientes, por lo tanto, la velocidad de corrosión disminuye. Esto coincide con lo reportado en el EIS para las muestras en los primeros 14 días de inmersión, donde se reportó un aumento en la  $R_p$ .

Sin embargo, para mayores tiempos de inmersión se ve un aumento en la velocidad de corrosión. Esto último podría deberse al cambio en el mecanismo de corrosión, que podría ser relacionado con el aumento de productos de corrosión que disminuyen el área activa, fomentando la corrosión preferencialmente en zonas desprotegidas, coincidente con la caída en  $R_p$ , observado en el ensayo de EIS.

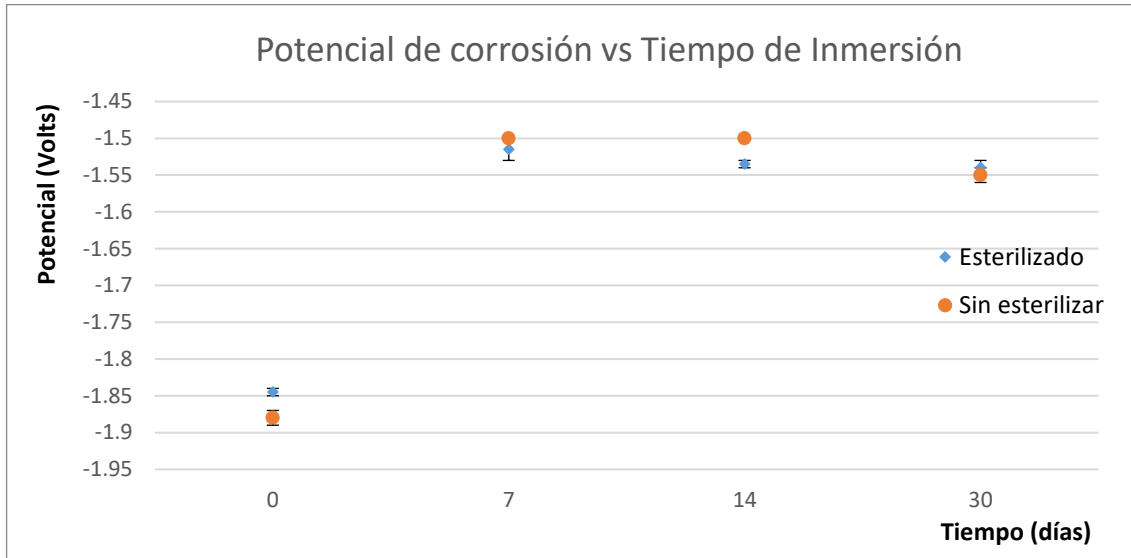


Figura 39. Potencial de corrosión en función del Tiempo de Inmersión para ambas condiciones.

En el caso de las muestras sin esterilizado previo, la densidad de corriente va en incremento hasta los primeros 14 días de inmersión (Figura 40), lo cual indicaría un aumento inicial en la velocidad de corrosión. Esto mismo **no** coincide con el aumento en  $R_p$  y disminución de  $C_{eff}$ , que se observan en los resultados del EIS (Figuras 34 y 35).

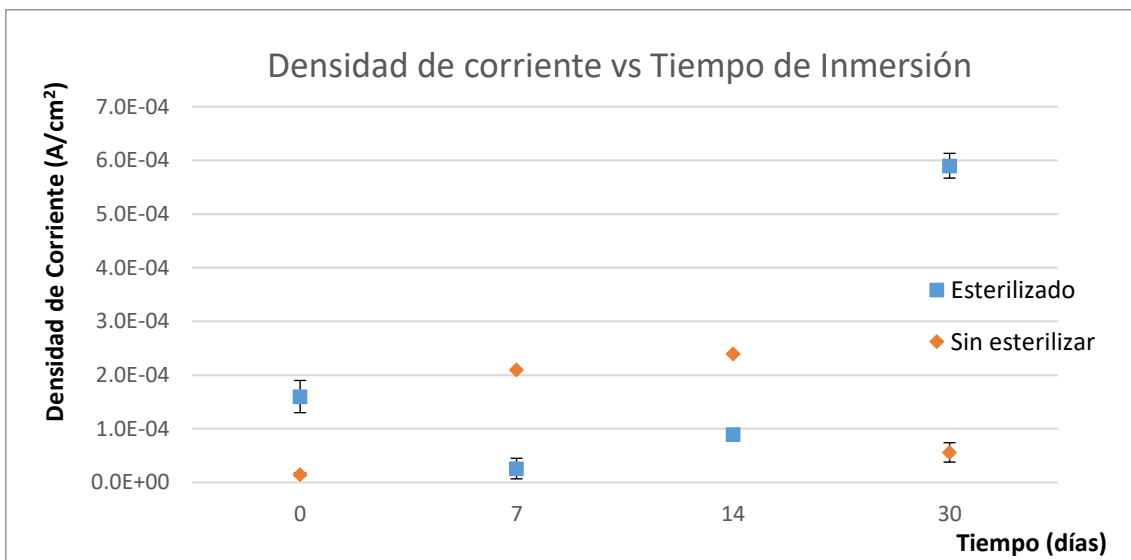


Figura 40. Densidad de Corriente en función del Tiempo de Inmersión para ambas condiciones

Ya para mayores tiempos de inmersión, los resultados de las curvas de polarización revelan una caída en la  $i_{corr}$ , es decir, menor velocidad de corrosión. Esto si coincide con el aumento en el valor de  $R_p$  obtenido en el ensayo de EIS para mayores tiempos de inmersión.

Este resultado, acompañado del leve aumento en el  $C_{eff}$  también reportado en la sección previa, podría confirmar la adsorción de productos en superficie.

El comportamiento para ambas condiciones, nuevamente, no resulta significativamente distinto frente al avance del tiempo de inmersión.

## 5. ANÁLISIS ECONÓMICO

En esta sección se pretende realizar un análisis de factibilidad económica a partir de un estudio simple de costos, para determinar la probabilidad de inserción del nuevo producto en el mercado.

Se pretende también exponer las diferencias entre la operación realizada actualmente en un paciente, tras sufrir una lesión de nervio periférico, y aquella que se realizaría utilizando la aleación ZX10 como conducto de guía nerviosa.

El cálculo realizado en esta sección es meramente orientativo y, en última instancia, comparativo. Teniendo en cuenta que en este proyecto se llevaron a cabo sólo ensayos *in vitro* (*en medio simulado*), para una potencial inserción de la aleación en el mercado se requerirían llevar adelante varios ensayos *in vitro* (en cultivo celular) y análisis de los resultados obtenidos.

### 5.1 Actualidad del Mercado

Tal como se mencionó previamente en la introducción, si bien el sistema nervioso periférico tiene la capacidad de auto-regenerar los tejidos dañados, cuando la lesión abarca una gran brecha (más de 20 mm) el propio sistema no puede restablecer la función nerviosa original. En esos casos, el tratamiento quirúrgico considerado “gold standar” lo constituyen las transferencias nerviosas o autoinjertos. Sin embargo, se requiere del sacrificio de un nervio sano, con la asociada mortalidad del sitio donante, necesidad de procedimientos quirúrgicos secundarios, entumecimiento, posible pérdida de la función sensorial, dolor crónico e incluso una discapacidad permanente asociada al sitio donante [2], [5]–[7], sumado a que sólo el 50% de los casos no logra una recuperación funcional satisfactoria.

Según los reportes en bibliografía, la selección de un CGN se ha centrado en los materiales naturales o sintéticos existentes (Tabla 8); aunque ninguno de los materiales estudiados hasta la fecha ha llegado al éxito indiscutible en el paciente [6].

Familia Material	Material	Ventaja	Desventaja
Hidrogel	Polietilenglicol (PEG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Biodegradable</li> <li>● Biocompatible</li> <li>● Propiedades mecánicas parecidas a tejidos blandos</li> <li>● Capaces de ser inyectados como líquidos</li> <li>● Drug delivery</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Difícil formar una amplia gama de propiedades mecánicas o estructuras con tamaño de poro controlado.</li> </ul>
Polímeros sintéticos	Poliácido láctico (PLA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Biodegradables</li> <li>● Mayor gama de propiedades mecánicas y ratios de degradación</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Baja biocompatibilidad</li> <li>● Baja bioactividad</li> </ul>
	Poliácido glicólico (PGA)		<ul style="list-style-type: none"> <li>● Frágiles</li> <li>● Sin modificaciones químicas posibles</li> </ul>
	Copolímeros poliácido láctico-glicólico (PLGA)		<ul style="list-style-type: none"> <li>● Respuesta inflamatoria elevada</li> </ul>
	Polisebacato de glicerol (PGS)		<ul style="list-style-type: none"> <li>● Elastómero</li> <li>● Biodegradable</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin respuesta inflamatoria grave</li> </ul>	
--	--	--	--

Tabla 8. Materiales para CGN actuales, con sus respectivas ventajas y desventajas [6].

Finalmente, dada la dificultad para conseguir proveedores junto con la falta de éxito de estos materiales, se define realizar una comparación entre el **costo de implante de la aleación ZX10 y el costo de una operación convencional** con autoinjertos nerviosos, agregando el **costo de rehabilitación del paciente** como variable.

## 5.2 Producción

### 5.2.1 Alambre ZX10

El implante en cuestión sería, entonces, un alambre trefilado de aleación ZX10 base Mg con 0.85 mm de diámetro y longitud variable en función del nervio transectado. El diámetro escogido es resultado de un análisis de morfologías de nervios, dando un diámetro promedio de nervio sural de 0.85 mm. El diámetro potencialmente buscado por los profesionales para sus cirugías dependerá de las dimensiones del nervio dañado [48].

El proceso productivo involucra el trefilado y corte de una varilla de la aleación para llevarlo al diámetro y longitud deseados. Al ser el Mg un metal estructural maleable, resulta sencillo lograr dimensiones finales estables.

En el trefilado de las piezas, varillas de 10 mm de diámetro pueden ser reducidas a bobinas de alambre de hasta 0.5 mm [49]. Luego de la obtención de las bobinas, se cortan piezas con longitudes variables y las mismas se limpian en alcohol isopropílico en un equipo de ultrasonido industrial. Finalmente, se realiza el proceso de esterilización en un horno sometiendo paquetes de piezas a 180°C por una hora. Se etiquetan y se embalan sorteadas por longitud y diámetro.

### 5.2.2 Cirugía convencional

Según lo reportado por profesionales de las secciones de Neurocirugía de nervios plexos y periféricos en el Hospital de Clínicas de Buenos Aires y del FLENI; actualmente en Argentina las operaciones realizadas ante la transección de un nervio periférico consisten en implantes de autoinjertos como conductos de guía nerviosa. El nervio trasplantado es extraído del sural o safeno externo, es importante destacar que la zona que queda dañada hasta por 6 meses luego de la operación y que requiere de rehabilitación para que vuelva a recuperar su función a la perfección.



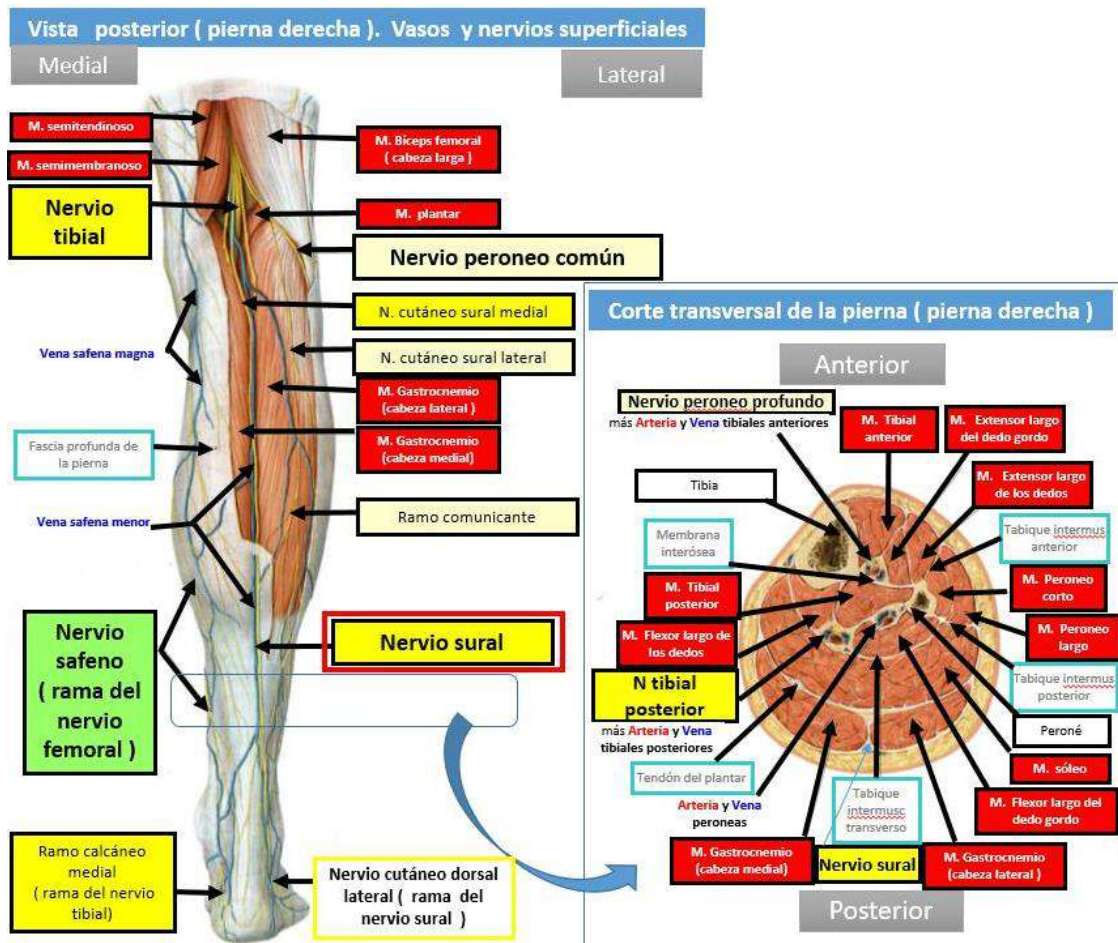


Figura 41. Vista posterior y corte transversal de la pierna.

Se estima que en el Hospital de Clínicas de Buenos Aires y el FLENI (en conjunto) se realizan 9 operaciones de este tipo por semana, dando un total de 468 operaciones al año. Y sólo el 33% de las mismas buscan reparar brechas mayores a 20 mm. Extrapolando el dato a nivel mundial, se realizarían 93.000 operaciones por año, dando un total de 30.888 ocasiones en las cuales un implante biodegradable de la aleación ZX10 podría suplantar el trasplante de autoinjertos.

### 5.3 Costos

#### 5.3.1 Aleación ZX10

Para obtener los costos de producción de implantes de aleación de magnesio ZX10, se tuvo en cuenta la inversión inicial como el costo de los equipos (equipo de trefilado de alta precisión, baño de ultrasonido industrial y estufa para esterilizado) y un porcentaje extra (15%) para poner en marcha el proceso de producción.

No se tiene en cuenta la inversión inicial por la compra del terreno así como tampoco la instalación de la planta, ya que se tiene en cuenta que probablemente se anexaría la producción a una planta ya existente. Los costos de materia prima, insumos, envases, mano de obra, supervisión, servicios y administración se calcularon mientras que los demás fueron estimados según lo recomendado por la Cátedra de Ingeniería Económica de la facultad. Se estimó que la planta podría abastecer a todo el mercado mundial, por ser pionero en la materia. Se obtuvieron los valores que se presentan en la Tabla 9 para una estimación de 30.888 piezas.

Para los costos de materia prima se estimó un precio de proveedor de USD\$10.000 por kg de material y un peso promedio de pieza de 0.02 g. Se agrega un Gasto de Laboratorio, que hace referencia a la inversión inicial asociada con la investigación, y uno por desarrollo del proyecto, en función de las piezas a vender potencialmente.

<b>Costos variables (producción al 100%)</b>	<b>USD/año</b>	<b>Costo pieza/año</b>
Materias primas	\$ 6,178	\$ 0.20
Envases	\$ 61,776	\$ 2.00
Mano de obra (2 operarios)	\$ 19,500	\$ 0.63
Supervisión (1 supervisor)	\$ 10,500	\$ 0.34
Servicios	\$ 6,150	\$ 0.20
Mantenimiento	\$ 10,500	\$ 0.34
Suministros	\$ 2,900	\$ 0.09
Gastos de Laboratorio	\$ 4,000	\$ 0.13
<b>TOTAL COSTOS VARIABLES</b>	<b>\$ 121,504</b>	<b>\$ 3.93</b>
<b>Costos fijos</b>	<b>USD/año</b>	<b>Costo pieza/año</b>
Depreciación (a 10 años por equipos comprados)	\$ 8,795	\$ 0.28
Impuestos	\$ 1,160	\$ 0.04
Seguros	\$ 870	\$ 0.03
Ventas y distribución	\$ 15,000	\$ 0.49
Administración y dirección	\$ 5,670	\$ 0.18
<b>TOTAL COSTOS FIJOS</b>	<b>\$ 31,495</b>	<b>\$ 1.02</b>
<b>TOTAL GENERAL</b>	<b>\$ 152,999</b>	<b>\$ 4.95</b>

*Tabla 9. Costos variables y fijos para una producción de 30.888 piezas.*

### 5.3.2 Cirugía convencional

El costo total de la cirugía no resulta relevante dado que se toma como base para ambos tipos de intervención. En esta sección, por lo tanto, se releva el precio adicional de 1h de quirófano para extraer el nervio sural (que será utilizado como autoinjerto) y el costo asociado de 6 meses de rehabilitación promedio de la zona afectada por la extracción de este nervio.

Según lo reportado por profesionales de las secciones de Neurocirugía de nervios plexos y periféricos en el Hospital de Clínicas de Buenos Aires y del FLENI, actualmente en Argentina la hora de quirófano tiene un costo promedio de 700 dólares y la rehabilitación un costo promedio de 50 dólares mensuales. Estos deberán ser solventados por el paciente o su eventual cobertura médica prepaga.

### 5.4 Comparación Final

Para una fabricación anual de 30.888 piezas para implantes, el costo por pieza resulta de USD\$5 (si bien este costo hace referencia al de producción únicamente y no al precio real de venta). Este precio resulta muy competitivo comparado al excedente de 1000 dólares, resultante de una cirugía convencional, para la cual se requiere 1h extra de quirófano y 6 meses de rehabilitación promedio.

## **6. RESUMEN DE RESULTADOS OBTENIDOS Y CONCLUSIÓN**

Los estudios realizados sobre la aleación ZX10 permitieron realizar la caracterización *preliminar* de la nueva aleación, de su superficie y su degradación en función del tiempo, comparando el material sometido a proceso de esterilización y sin esterilizar.

En esta sección se pretenden entonces resumir los resultados obtenidos para lograr una correlación entre los distintos análisis expuestos y lograr también conclusión sobre el impacto del proceso de esterilización en las muestras.

De la misma manera, a través de la correlación de los conceptos, se logra una conclusión personal del proyecto que también presenta un gran valor para el mismo y es posteriormente expuesta.

### **6.1 Revisión experimental del proyecto**

Los ensayos de inmersión permitieron identificar, por medio de la espectroscopia Raman, el avance de la degradación con el tiempo y la consecuente formación de una película superficial compuesta principalmente por oxo hidróxidos de Mg y señales de fosfatos [36], [37].

En los primeros días de inmersión, se observe que el pH de la SBF aumenta, debido a la reacción de oxidación de Mg y la reducción del agua. El aumento del pH en los primeros momentos de la inmersión para muestras no esterilizadas, está acompañado de un aumento en la densidad de corriente y una disminución en la resistencia total. En el caso de las muestras esterilizadas, se observó una caída en el valor del pH luego de los primeros días de inmersión, atribuida a la formación de una película superficial y que está en concordancia con una disminución de la  $i_{corr}$  y aumento de  $R_p$ , lo cual indica una disminución en el área activa de las muestras (y en coincidencia con los picos obtenidos en Raman). El gráfico de Nyquist también revela un aumento de la resistencia en el tiempo, evidenciado en el aumento del diámetro del semicírculo [43], [46].

Finalmente, luego de 15 días de inmersión, se llega a un valor de pH constante. Este, podría ser relacionado con el aumento de productos de corrosión que disminuyen el área activa, fomentando una menor corrosión que se da preferencialmente en zonas desprotegidas. Esta relación se establece luego de observar los resultados electroquímicos; en los cuales se observa un aumento en la  $C_{eff}$ , aumento de  $R_p$  y disminución en el valor de  $i_{corr}$  para muestras sin esterilizar pasados los 15 días de inmersión, pero un aumento en  $i_{corr}$  y disminución de  $R_p$  y  $C_{eff}$  para aquellas esterilizadas. Estos casos reafirman la hipótesis de formación de productos en superficie y la existencia de corrosión preferencial en zonas desprotegidas. Ambos fenómenos visibles físicamente en las imágenes tomadas para las inmersiones según el avance del tiempo.

La corrosión del sustrato se evidencia también en los ensayos de EIS, donde la aparición de dos constantes de tiempo indica la corrosión del Mg junto con la penetración del electrolito en la capa de óxido. Asimismo, la presencia de un *loop* inductivo en el gráfico de Nyquist indica la existencia de especies absorbidas [43].

Es importante notar que la determinación de la densidad de corriente por medio del modelo de Tafel puede conducir a subestimar el proceso de corrosión. Para la aplicación de este método se necesita que el sistema en estudio este bajo control por activación y se supone corrosión generalizada, la que no se observa en este sistema como tipo de corrosión predominante. Se debe tener en cuenta que en los casos estudiados el valor que se obtiene es sólo un indicativo, pero no puede ser tomado para el cálculo de la tasa real de pérdida de material en un tiempo

determinado. Este número sólo resultaría de utilidad para predecir su deterioro uniforme en función del tiempo [28].

Dado que visualmente el avance de la degradación puede verse como una pérdida de volumen de la muestra, se propone a futuro realizar ensayos de pérdida de masa para una completa estimación de la velocidad de degradación. Sin embargo, tal como fue notado en la evolución del pH, el grado de alcalinidad del medio se ve aumentado en los primeros tiempos de inmersión, producto de la corrosión del Mg. Esto implica, experimentalmente, la necesidad de renovación de la solución por solución fresca periódicamente o realizar un sistema de flujo que renueve la solución en manera continua, para asegurar la veracidad de los resultados [35]. En línea con esto, diversos autores proponen que al realizar inmersiones en SBF el uso de Tris como buffer podría fomentar la corrosión por picado en piezas de magnesio puro [23]. Al igual que, para comprender plenamente el proceso de degradación del Mg en condiciones fisiológicas, las proteínas son componentes esenciales que deberían incluirse en las investigaciones in vitro [23].

También, se propone la medición de la evolución de generación de H<sub>2</sub>, producto del proceso corrosivo del Mg en medios acuosos, para trabajos futuros. La velocidad de generación de hidrógeno gaseoso no es trivial ya que diversos autores lo relacionan con posible inflamación aguda en el huésped [10], [23].

Para poder continuar con el estudio de la aleación se recomienda entonces contar con una batería de ensayos que puedan ser visto en conjunto, tal como se realizó en este proyecto. Así se evitarían las limitaciones de los diversos ensayos aquí descritos, propios del comportamiento complejo del Mg [50]–[52].

A los fines económicos, se calculó que la aleación presentaría un costo de producción relativamente bajo, en comparación con el costo adicional que actualmente conlleva una intervención quirúrgica para reparar nervios con daños mayores a los 20 mm. Fomentando eventualmente así el consumo de insumos nacionales, también propuesto en los objetivos.

A partir de los resultados se puede concluir que el proceso de esterilización presentado en este proyecto *no tiene* una influencia significativa sobre los productos de corrosión formados sobre la superficie de la aleación ni sobre su resistencia a la corrosión en solución fisiológica simulada. Los resultados de la química y electroquímica de la esta nueva aleación son *aceptables* para continuar el estudio de esta aleación como material para implantes biodegradables.

## 6.2 Revisión personal del proyecto

Del trabajo destaco la evidente *integración* de conceptos adquiridos y aplicados, necesario para el desarrollo del proyecto. A los fines prácticos, no solo fue necesario aplicar conceptos relacionados con la oxidación de un metal, su evolución y mecanismo (Corrosión), sino que también aplicar circuitos equivalentes (Física 2), modelado de curvas y composición de la desviación porcentual (Física Experimental). También se debieron interpretar espectroscopias Raman (Química Macromolecular), evoluciones de pH (Química I, Corrosión) y micrografías, con el pulido y ataque necesarios asociados (Propiedades Estructurales I, Fu.We Institut - Alemania). Todo en el entorno de un laboratorio y su instrumental específico.

Además, aplicar mis conocimientos en la ingeniería de materiales para caracterizar una aleación que potencialmente interactué con el sistema nervioso humano hizo que me vieras motivado a querer entender el sistema donde estos dispositivos deberían alojarse y qué problemas podrían solucionar. Fomentado por el mismo, debí interiorizarme en conceptos relacionados al

sistema nervioso, el funcionamiento cerebral y la comunicación mediante impulsos y sus posibles fallas.

Esto última cobra sentido al poder aplicar mis estudios de forma práctica en un campo interdisciplinar y ajeno al de mi objetivo de estudio, como lo es el de las Neurociencias. Más aún cuando el resultado podría tener un enorme impacto en la vida de un ser humano.

Finalmente, un párrafo respecto del entorno en el cual fue llevado a cabo el proyecto; a principio de 2021 con el comienzo de la vuelta a la normalidad posterior a la pandemia por Covid-19. Momento en el cual se debía pedir turno para asistir al laboratorio y usar los equipos, pero que gracias a la *neuroplasticidad* -uno de los conceptos emblema de la neurociencia- de los integrantes del trabajo pudo ser llevado a cabo sin mayores inconvenientes.

## 7. ANEXO

### 7.1 Caja de Faraday

En las mediciones electroquímicas se miden frecuentemente corrientes de muy baja intensidad, que pueden ser afectadas por los ruidos de línea y campos electromagnéticos presentes.

En esta sección se propone el diseño y construcción de una jaula de Faraday *para minimizar el ruido* [55] en la obtención de datos al realizar los ensayos electroquímicos. Esto es como consecuencia, de que los ensayos futuros sobre esta aleación serán sobre una geometría de menor dimensión (para acercarse a la forma de los dispositivos conductores), lo que dará origen a la obtención de corrientes muy bajas en los ensayos electroquímicos.

#### 7.1.2 Marco teórico

La invención de la caja (o jaula) de Faraday se la atribuye a Michael Faraday, quién descubrió que la carga de un conductor sólo residía en la superficie exterior. Además, postuló que nada en el interior de ese conductor se veía afectado por cambios de cargas eléctricas en el exterior. Esto se debe a que la repulsión electrostática de cargas similares provoca una redistribución de la carga hacia el exterior de un conductor, lo que da lugar a un campo electrostático neto nulo dentro del conductor. Este fenómeno, entonces, es aprovechado para que todo el ruido de un componente electrónico que existe fuera de la jaula sea anulado completamente dentro de ese espacio [55].

Para una explicación más detallada, se adjunta la Figura 42. En esta se observa que, sin ningún campo eléctrico externo, los electrones y los núcleos metálicos (de acuerdo con el modelo del mar de electrones) se distribuyen uniformemente dentro de una carcasa metálica. La exposición a un campo eléctrico provoca una redistribución inmediata de los electrones que se mueven libremente y, por tanto, el flujo de corriente dentro de la carcasa conductora. Esto induce un campo eléctrico secundario en la dirección opuesta al campo entrante. Como resultado, ambos campos se anulan, de modo que cualquier componente dentro de la jaula de Faraday experimenta básicamente un campo eléctrico neto nulo [55].

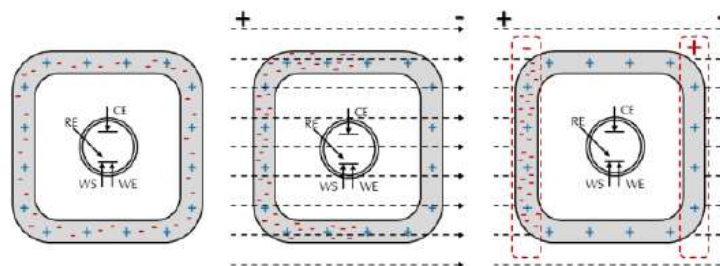


Figura 42. Efectos de los campos eléctricos circundantes a la jaula.

Cada material posee una profundidad característica de atenuación que determina la distancia que recorre una onda hasta que su campo eléctrico se reduce a un 36.7%. Luego, será a través de la variación del espesor de las paredes que la atenuación resulte ser la necesaria como para que la potencia que consigue atravesarla sea despreciable. Cuanto mayor sea el espesor, menos energía traspasará la jaula e interferirá con el circuito dentro [56].

La profundidad característica depende además de la frecuencia de la onda incidente, de forma que una jaula puede ser efectiva para unas frecuencias, pero mala para otras. En general, cuanto

mayor es la frecuencia, menor es la profundidad característica (se atenúa más rápido). La Figura 43 presenta un gráfico donde se observa este fenómeno, para algunos metales [56].

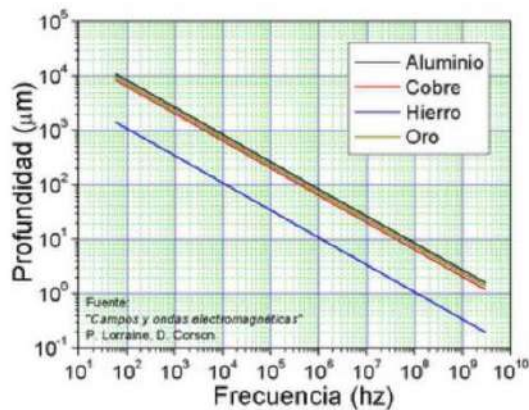


Figura 43. Profundidad de atenuación en función de la frecuencia de onda incidente.

De los materiales mostrados, el hierro sería el más adecuado para hacer una jaula de Faraday, por su bajo costo y facilidad de construcción y porque para un mismo espesor, atenúa más la señal que los otros materiales [56].

Finalmente, resulta de vital importancia *conectar la jaula a tierra*. Esto se logra con el simple hecho de conectar un cable de tierra a alguna pared de la caja y tiene como finalidad minimizar la generación de capacidades residuales. Estas capacidades pueden ser consecuencia del hecho que cualquier componente dentro de la jaula puede formar un condensador con la misma y, al no tener referencia, el potencial de la jaula podría variar libremente, dando un ruido aleatorio, que se transmite a través de estos condensadores. Luego, conectando la caja a un punto concreto de referencia, se mantiene un potencial definido y constante conocido respecto a cualquier otro punto del circuito [56].

### 7.1.3 Diseño

En este caso se optó por confeccionar una caja de Faraday tal como se ve en la Figura 44.

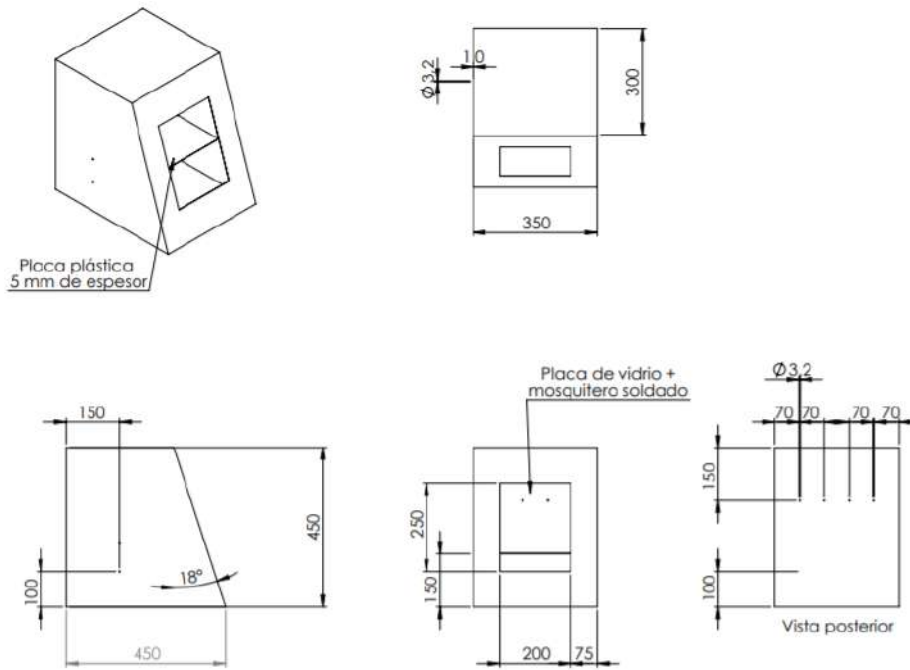


Figura 44. Planos caja de Faraday.

El material seleccionado para la carcasa es una chapa de acero SAE 1010 de 1 mm de espesor, de bajo costo comparado con otras propuestas del mercado. Posee, a su vez, una placa de vidrio en su frente, para permitir el seguimiento visual del ensayo. Aunque se requiere, para mantener el efecto de la jaula, el soldado de una malla metálica conductora tipo *mosquitero*, inmediatamente detrás del vidrio. Asimismo, se recomienda el uso de una placa polimérica de 5 mm de espesor; colocada a no menos de 100 mm del suelo, para aislar los componentes de las paredes de la carcasa [55].

Por último, se requiere de cuatro orificios traseros para posibilitar el montaje de la celda electroquímica y los cables necesarios para la misma. Y dos orificios laterales para el paso de conductos que lleven la solución calefaccionada y, eventualmente, nitrógeno o cualquier otro gas utilizado para burbujear la solución. Se debe, sin embargo, prestar especial atención a las dimensiones de los huecos, ya que los mismos pueden permitir la entrada de campos indeseados. Para ello, se utiliza como regla general que la abertura debe ser menor que  $1/10$  de la longitud de onda que debe bloquearse. Por ejemplo, para bloquear campos EM (electromagnéticos) con frecuencias de 10 GHz e inferiores, el tamaño del orificio de la jaula de Faraday debe ser inferior a 3 mm [55].



## 8. REFERENCIAS

- [1] P. Jiang, C. Blawert, y M. L. Zheludkevich, "The Corrosion Performance and Mechanical Properties of Mg-Zn Based Alloys—A Review", *Corrosion and Materials Degradation*, vol. 1, n° 1, pp. 92–158, abr. 2020, doi: 10.3390/cmd1010007.
- [2] S. Houshyar, A. Bhattacharyya, y R. Shanks, "Peripheral Nerve Conduit: Materials and Structures", *ACS Chemical Neuroscience*, vol. 10, n° 8. American Chemical Society, pp. 3349–3365, ago. 21, 2019. doi: 10.1021/acschemneuro.9b00203.
- [3] J. Fei *et al.*, "Biocompatibility and neurotoxicity of magnesium alloys potentially used for neural repairs", *Materials Science and Engineering C*, vol. 78, pp. 1155–1163, 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.04.106.
- [4] "Introducción al sistema nervioso periférico - Enfermedades cerebrales, medulares y nerviosas - Manual MSD versión para público general", Accedido: jul. 30, 2022. [En línea]. Available: <https://www.msdmanuals.com/es-ar/hogar/enfermedades-cerebrales,-medulares-y-nerviosas/trastornos-del-nervio-perif%C3%A9rico-y-trastornos-relacionados/introducci%C3%B3n-al-sistema-nervioso-perif%C3%A9rico>
- [5] T. B. Aigner, C. Haynl, S. Salehi, A. O'Connor, y T. Scheibel, "Nerve guidance conduit design based on self-rolling tubes", *Materials Today Bio*, vol. 5, ene. 2020, doi: 10.1016/j.mtbio.2020.100042.
- [6] C. E. Schmidt y J. B. Leach, "Neural tissue engineering: Strategies for repair and regeneration", *Annual Review of Biomedical Engineering*, vol. 5. pp. 293–347, 2003. doi: 10.1146/annurev.bioeng.5.011303.120731.
- [7] A. Atala, "Capítulo 92e: Ingeniería de tejidos".
- [8] R. Masaeli, K. Zandsalimi, y L. Tayebi, "Biomaterials Evaluation: Conceptual Refinements and Practical Reforms", *Therapeutic Innovation and Regulatory Science*, vol. 53, n° 1, pp. 120–127, 2019, doi: 10.1177/2168479018774320.
- [9] G. Abraham Dra Silvia Ceré Dra Maria Rosa Katunar Dra Josefina Ballarre, "BIOMATERIALES Contenidos del curso".
- [10] C. Iglesias, "Estudio in vitro e in vivo de materiales metálicos de base magnesio microestructurados reabsorbibles y multifuncionales para la osteosíntesis de fracturas.", p. 183, 2015.
- [11] G. Song y S. Song, "A possible biodegradable magnesium implant material", *Advanced Engineering Materials*, vol. 9, n° 4, pp. 298–302, 2007, doi: 10.1002/adem.200600252.
- [12] S. Bauer, P. Schmuki, K. von der Mark, y J. Park, "Engineering biocompatible implant surfaces: Part I: Materials and surfaces", *Progress in Materials Science*, vol. 58, n° 3, pp. 261–326, 2013, doi: 10.1016/j.pmatsci.2012.09.001.
- [13] L. L. Hench, "Biomaterials: A forecast for the future", *Biomaterials*, vol. 19, n° 16, pp. 1419–1423, 1998, doi: 10.1016/S0142-9612(98)00133-1.
- [14] K. Kumar, R. S. Gill, y U. Batra, "Challenges and opportunities for biodegradable magnesium alloy implants", *Materials Technology*, vol. 33, n° 2, pp. 153–172, 2018, doi: 10.1080/10667857.2017.1377973.
- [15] "Prótesis metálicas" Biomateriales – División INTEMA.

- [16] Y. Chen, J. Dou, H. Yu, y C. Chen, “Degradable magnesium-based alloys for biomedical applications: The role of critical alloying elements”, *Journal of Biomaterials Applications*, vol. 33, n° 10, pp. 1348–1372, 2019, doi: 10.1177/0885328219834656.
- [17] M. Bornapour, H. Mahjoubi, H. Vali, D. Shum-Tim, M. Cerruti, y M. Pekguleryuz, “Surface characterization, in vitro and in vivo biocompatibility of Mg-0.3Sr-0.3Ca for temporary cardiovascular implant”, *Materials Science and Engineering C*, vol. 67, pp. 72–84, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.04.108.
- [18] M. P. Staiger, A. M. Pietak, J. Huadmai, y G. Dias, “Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review”, *Biomaterials*, vol. 27, n° 9, pp. 1728–1734, 2006, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.10.003.
- [19] D. Chen *et al.*, “Biocompatibility of magnesium-zinc alloy in biodegradable orthopedic implants”, *International Journal of Molecular Medicine*, vol. 28, n° 3, pp. 343–348, 2011, doi: 10.3892/ijmm.2011.707.
- [20] S. Zhang *et al.*, “In vitro and in vivo corrosion and histocompatibility of pure Mg and a Mg-6Zn alloy as urinary implants in rat model”, *Materials Science and Engineering C*, vol. 68, pp. 414–422, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.06.017.
- [21] D. Fang, X. Li, H. Li, y Q. Peng, “Electrochemical corrosion behavior of backward extruded Mg-Zn-Ca alloys in different media”, *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 8, n° 2, pp. 2551–2565, 2013.
- [22] H. Ibrahim, A. D. Klarner, B. Poorganji, D. Dean, A. A. Luo, y M. Elahinia, “Microstructural, mechanical and corrosion characteristics of heat-treated Mg-1.2Zn-0.5Ca (wt%) alloy for use as resorbable bone fixation material”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 69, pp. 203–212, 2017, doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.01.005.
- [23] J. Gonzalez, R. Q. Hou, E. P. S. Nidadavolu, R. Willumeit-Römer, y F. Feyerabend, “Magnesium degradation under physiological conditions – Best practice”, *Bioactive Materials*, vol. 3, n° 2, pp. 174–185, 2018, doi: 10.1016/j.bioactmat.2018.01.003.
- [24] “Microscopio óptico – Fundamentos y Principios”. [En línea]. Available: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/6-optico.php>
- [25] Bruker, “What is Raman spectroscopy?”
- [26] O. Sala, “Capítulo 1: Fundamentos de espectroscopía Raman”, *Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho*, pp. 10–34, 1996.
- [27] “Microscopio Raman – Renishaw Handbook”. [En línea]. Available: <https://www.renishaw.es/es/documentacionsobre-el-microscopio-raman--39206>
- [28] A. Ugaz Lock y I. Díaz Tang, “Principios de las técnicas electroquímicas en estudios de procesos de corrosión”, *Revista de Química*, vol. 2, n° 1, pp. 23–31, 1988.
- [29] “Electroquímica - ICMC”. [En línea]. Available: <https://www.icmm.csic.es/fis/espaa/electroquim.html>
- [30] “DESARROLLO DE LA TÉCNICA DE PULSO GALVANOSTÁTICO PARA MEDICIÓN DE CORROSIÓN SOBRE LA INTERFASE CONCRETO-ACERO.” UTP, 2007.

- [31] J. Flores, R. Romero, y J. Genascá, “Espectroscopía de Impedancia electroquímica en corrosión”, *Journal of Chemical Information and Modeling*, p. 33, 2014, [En línea]. Available: [http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=cZDeh1W2nzEC&oi=fnd&pg=PA143&dq=Electrochemical+Impedance+Spectroscopy+and+its+Applications&ots=Ez6oI5xgmA&sig=HfXXx-xwhEq6nAf3jgnsclqajpY%5Cnhttp://link.springer.com/10.1007/0-306-46916-2\\_2%5Cnhttp://depa.fquim](http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=cZDeh1W2nzEC&oi=fnd&pg=PA143&dq=Electrochemical+Impedance+Spectroscopy+and+its+Applications&ots=Ez6oI5xgmA&sig=HfXXx-xwhEq6nAf3jgnsclqajpY%5Cnhttp://link.springer.com/10.1007/0-306-46916-2_2%5Cnhttp://depa.fquim).
- [32] Metrohm, “Application Area : Fundamental Electrochemical Impedance Spectroscopy ( EIS ) Part 1 – Basic Principles”, *Metrohm autolab*, pp. 1–3, 2007, [En línea]. Available: <https://www.metrohm.com/ja-jp/applications/AN-EIS-001>
- [33] T. Kokubo y H. Takadama, “How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?”, *Biomaterials*, vol. 27, n° 15, 2006, doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.
- [34] G. vander Voort, “Metallography of Magnesium and its Alloys”, vol. 4, n° 2.
- [35] R. J. Kavitha, K. Ravichandran, y T. S. N. Sankara Narayanan, “Deposition of strontium phosphate coatings on magnesium by hydrothermal treatment: Characteristics, corrosion resistance and bioactivity”, *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 745, pp. 725–743, 2018, doi: 10.1016/j.jallcom.2018.02.200.
- [36] M. Salehi, S. Maleksaeedi, M. L. S. Nai, y M. Gupta, “Towards additive manufacturing of magnesium alloys through integration of binderless 3D printing and rapid microwave sintering”, *Additive Manufacturing*, vol. 29, n° May, p. 100790, 2019, doi: 10.1016/j.addma.2019.100790.
- [37] T. Ens-lyon, “Handbook of Raman spectra”, *Sciences-New York*, vol. 2, n° 1975, pp. 3–4, 2009, [En línea]. Available: <http://www.ens-lyon.fr/LST/Raman/spectrum.php?nom=glaucophane>
- [38] M. W. Akram *et al.*, “In vitro evaluation of the toxic effects of MgO nanostructure in Hela cell line”, *Scientific Reports*, vol. 8, n° 1, pp. 1–11, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-23105-y.
- [39] J. T. Kloprogge, L. Hickey, y R. L. Frost, “FT-Raman and FT-IR spectroscopic study of synthetic Mg/Zn/Al-hydroxycarbonates”, *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 35, n° 11, pp. 967–974, 2004, doi: 10.1002/jrs.1244.
- [40] C. R. Weber, G. Knörnschild, y L. F. P. Dick, “The negative-difference effect during the localized corrosion of magnesium and of the AZ91HP alloy”, *J Braz Chem Soc*, vol. 14, n° 4, pp. 584–593, 2003, doi: 10.1590/S0103-50532003000400015.
- [41] R. L. Frost, “Raman spectroscopic study of the magnesium carbonate mineral hydromagnesite (Mg<sub>5</sub>[(CO)<sub>3</sub>]<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O)”, *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 42, n° 8, pp. 1690–1694, 2011, doi: 10.1002/jrs.2917.
- [42] R. L. Frost, S. Bahfenne, y J. Graham, “Raman spectroscopic study of the magnesium-carbonate minerals - artinite and dypingite”, *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 40, n° 8, pp. 855–860, 2009, doi: 10.1002/jrs.2152.
- [43] Y. Xin, C. Liu, X. Zhang, G. Tang, X. Tian, y P. K. Chu, “Corrosion behavior of biomedical AZ91 magnesium alloy in simulated body fluids”, *Journal of Materials Research*, vol. 22, n° 7, pp. 2004–2011, 2007, doi: 10.1557/jmr.2007.0233.
- [44] N. Saud Al-Humairi, H. S. Majdi, S. N. Saud Al-Humairi, *BIOMATERIALS: A Multidisciplinary approaches and their related applications. White Falcon Publishing, 2020*. 2020.

- [45] A. D. King, N. Birbilis, y J. R. Scully, "Accurate electrochemical measurement of magnesium corrosion rates; A combined impedance, mass-loss and hydrogen collection study", *Electrochimica Acta*, vol. 121, pp. 394–406, 2014, doi: 10.1016/j.electacta.2013.12.124.
- [46] S. Leleu, B. Rives, N. Causse, y N. Pébère, "Corrosion rate determination of rare-earth Mg alloys in a Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution by electrochemical measurements and inductive coupled plasma-optical emission spectroscopy", *Journal of Magnesium and Alloys*, vol. 7, n° 1, pp. 47–57, 2019, doi: 10.1016/j.jma.2018.12.002.
- [47] L. G. Bland, A. D. King, N. Birbilis, y J. R. Scully, "Assessing the corrosion of commercially pure magnesium and commercial AZ31B by electrochemical impedance, mass-loss, hydrogen collection, and inductively coupled plasma optical emission spectrometry solution analysis", *Corrosion*, vol. 71, n° 2, pp. 128–145, 2015, doi: 10.5006/1419.
- [48] J. José Bazaldúa-Cruz *et al.*, "Estudio de la morfología vascular en los nervios de la extremidad inferior utilizados como injertos", 2011.
- [49] "Proceso de Trefilado - Concepto, proceso, tipos y aplicaciones", <https://www.lifeder.com/trefilado/>.
- [50] M. Esmaily *et al.*, "Fundamentals and advances in magnesium alloy corrosion", *Progress in Materials Science*, vol. 89. Elsevier Ltd, pp. 92–193, ago. 01, 2017. doi: 10.1016/j.pmatsci.2017.04.011.
- [51] N. T. Kirkland, N. Birbilis, y M. P. Staiger, "Assessing the corrosion of biodegradable magnesium implants: A critical review of current methodologies and their limitations", *Acta Biomaterialia*, vol. 8, n° 3. Elsevier Ltd, pp. 925–936, 2012. doi: 10.1016/j.actbio.2011.11.014.
- [52] Z. Shi, M. Liu, y A. Atrens, "Measurement of the corrosion rate of magnesium alloys using Tafel extrapolation", *Corrosion Science*, vol. 52, n° 2, pp. 579–588, feb. 2010, doi: 10.1016/j.corsci.2009.10.016.
- [53] K. Gusieva, C. H. J. Davies, J. R. Scully, y N. Birbilis, "Corrosion of magnesium alloys: The role of alloying", *International Materials Reviews*, vol. 60, n° 3. Maney Publishing, pp. 169–194, abr. 01, 2015. doi: 10.1179/1743280414Y.0000000046.
- [54] X. Xia, J. F. Nie, C. H. J. Davies, W. N. Tang, S. W. Xu, y N. Birbilis, "The influence of low levels of Zn, Ca, Gd, Sr and Zr on the corrosion of magnesium for wrought applications".
- [55] GAMRY Instruments, "The Faraday Cage : What Is It ? How Does It Work ?", pp. 1–3, 1995.
- [56] "Celda de Faraday". [En línea]. Available: <https://gluonconleche.blogspot.com/search?q=faraday>