



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIEROS
INDUSTRIALES VALENCIA

TRABAJO FIN DE GRADO EN INGENIERÍA QUÍMICA

PROCESO DE DISOLUCIÓN-DEPOSICIÓN DE COBRE EN PRESENCIA DE LA PROTEÍNA ALBÚMINA (BSA) MEDIANTE TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS

AUTOR: CARLOS ZABALLOS ALBALAT

TUTORA: ANNA NEUS IGUAL MUÑOZ

COTUTOR: JAVIER JOSÉ NAVARRO LABOULAIS

Curso Académico: 2014-15

AGRADECIMIENTOS

Primero quería agradecer la atención, dedicación y apoyo recibidos por parte de mi tutora Anna Igual y cotutor Javier Navarro durante todos estos meses de realización del TFG.

También a Javier Bolea, ya que he pasado muchas horas en el laboratorio con él y ha sido quién me ha enseñado a utilizar el montaje experimental y ha estado ahí para ayudarme en lo que necesitase.

A Maggi, Mabel y Gisela por todas las horas que hemos pasado en la universidad y fuera de ella, gracias por todos los momentos y el apoyo que me habéis dado.

Por último, agradecer a mis padres toda la paciencia que han tenido conmigo siempre y por los ánimos que me han dado cuando las cosas no salían como quería. Por no dejar que me rinda nunca y darme la fuerza para conseguir todo lo que me proponga.

RESUMEN

En este Trabajo Fin de Grado se ha estudiado la electrodeposición de cobre en sustratos de oro y cobre en presencia y ausencia de la proteína albúmina de suero bovino (BSA) adsorbida sobre su superficie. Del mismo modo también se ha simulado el efecto de la corrosión electroquímica que se daría en los implantes de aleaciones de cobre.

Para llevar a cabo este estudio se han empleado técnicas electroquímicas, como las voltametrías cíclicas y las cronoamperometrías, y además se ha observado la morfología de los núcleos de cobre electrodepositados mediante la microscopía electrónica de barrido de emisión de campo.

A partir de este estudio se ha determinado que la electrodeposición de cobre es más espontánea en sustrato de cobre y que la presencia de la proteína albúmina de suero bovino adsorbida en la superficie metálica es capaz de reducir la problemática asociada a la corrosión.

Palabras clave: Cobre, electrodeposición, corrosión, oro, BSA, adsorción.

RESUM

En aquest Treball Fi de Grau s'ha estudiat l'electrodeposició de coure en substrats d'or i coure en presència i absència de la proteïna albúmina de sèrum boví (BSA) adsorbida sobre la seua superfície. De la mateixa manera també s'ha simulat l'efecte de la corrosió electroquímica que es donaria en els implants d'aliatges de coure.

Per dur a terme aquest estudi s'han emprat tècniques electroquímiques, com les voltametríes cícliques i les cronoamperometríes, i a més a més, s'ha observat la morfologia dels nuclis de coure electrodepositats mitjançant la microscòpia electrònica de rastreig d'emissió de camp.

A partir d'aquest estudi s'ha determinat que l'electrodeposició de coure és més espontània en substrat de coure i que la presència de la proteïna albúmina de sèrum boví adsorbida en la superfície metàl·lica és capaç de reduir la problemàtica associada a la corrosió.

Paraules clau: Coure, electrodeposició, corrosió, or, BSA, adsorció.

ABSTRACT

In this Degree Final Work it has studied the electrodeposition of copper in gold and copper substrates in the presence and absence of the protein bovine serum albumin (BSA) adsorbed on its surface. Besides, also it has simulated the effect of electrochemical corrosion which would occur in the copper alloy implants.

To carry out this study electrochemical techniques have been employed, such as cyclic voltammetries and chronoamperometries, and moreover it has observed the morphology of electrodeposited copper nuclei by field emission scanning electron microscopy.

From this study it has determined that electrodeposition of copper is more spontaneous in copper substrate and the presence of the protein bovine serum albumin adsorbed on the metal surface is able to reduce the problems associated with corrosion.

Keywords: Copper, electrodeposition, corrosion, gold, BSA, adsorption.

ÍNDICE DEL TFG

Los documentos de los que consta este TFG son los siguientes:

- Memoria
- Presupuesto

ÍNDICE DE LA MEMORIA

1. Motivación	1
2. Objetivos	2
3. Antecedentes	3
4. Justificación del TFG	4
5. Implantes	5
5.1. Implantes dentales	5
5.1.1. Biomateriales en implantes dentales	6
5.1.2. Problemática asociada al uso de implantes dentales	8
5.2. Aleaciones de titanio	11
5.2.1. El cobre en implantología oral	12
6. Medio fisiológico	15
6.1. Proteínas en el organismo	15
6.1.1. Albúmina de suero bovino (BSA)	16
6.2. Mecanismos de adsorción	18
6.2.1. Adsorción de albúmina (BSA)	20
7. Material y métodos	23
7.1. Materiales	23
7.1.1. Preparación superficial	24
7.2. Disoluciones	25
7.3. Instrumentación electroquímica	28
7.4. Técnicas electroquímicas	32
7.4.1. Voltametría cíclica	32
7.4.2. Cronoamperometría	33
7.5. Instrumentación estudio morfológico	34

Proceso de disolución-deposición de cobre en presencia de la proteína albúmina (BSA)
mediante técnicas electroquímicas

8. Resultados	36
8.1. Estudios preliminares	36
8.2. Electrodeposición de cobre	42
8.2.1. Electrodeposición de cobre sobre oro	42
8.2.2. Electrodeposición de cobre sobre cobre	49
8.2.3. Comparación electrodeposición de cobre sobre oro y cobre	52
8.2.4. Modelos de nucleación de cobre	56
8.3. Presencia de BSA en electrodeposición de cobre	58
8.3.1. Presencia de BSA sobre RDE de oro	58
8.3.2. Presencia de BSA sobre RDE de cobre	60
8.4. Morfología de la nucleación de cobre	63
8.4.1. Microscopía confocal	63
8.4.2. Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo	65
9. Conclusiones	69
10. Referencias	71

ÍNDICE DEL PRESUPUESTO

1. Presupuesto parcial	76
1.1. Electrodo y preparación superficial	76
1.2. Estudio electroquímico	77
1.3. Estudio morfológico	77
1.4. Instrumentación de laboratorio	78
1.5. Reactivos	79
1.6. Mano de obra	79
2. Presupuesto de ejecución material	80
3. Presupuesto de ejecución por contrata	80

DOCUMENTO 1:

MEMORIA

ÍNDICE DE LA MEMORIA

1. Motivación	1
2. Objetivos	2
3. Antecedentes	3
4. Justificación del TFG	4
5. Implantes	5
5.1. Implantes dentales	5
5.1.1. Biomateriales en implantes dentales	6
5.1.2. Problemática asociada al uso de implantes dentales	8
5.2. Aleaciones de titanio	11
5.2.1. El cobre en implantología oral	12
6. Medio fisiológico	15
6.1. Proteínas en el organismo	15
6.1.1. Albúmina de suero bovino (BSA)	16
6.2. Mecanismos de adsorción	18
6.2.1. Adsorción de albúmina (BSA)	20
7. Material y métodos	23
7.1. Materiales	23
7.1.1. Preparación superficial	24
7.2. Disoluciones	25
7.3. Instrumentación electroquímica	28
7.4. Técnicas electroquímicas	32
7.4.1. Voltametría cíclica	32
7.4.2. Cronoamperometría	33
7.5. Instrumentación estudio morfológico	34
8. Resultados	36
8.1. Estudios preliminares	36
8.2. Electrodeposición de cobre	42
8.2.1. Electrodeposición de cobre sobre oro	42
8.2.2. Electrodeposición de cobre sobre cobre	49
8.2.3. Comparación electrodeposición de cobre sobre oro y cobre	52

Proceso de disolución-deposición de cobre en presencia de la proteína albúmina (BSA)
mediante técnicas electroquímicas

8.2.4. Modelos de nucleación de cobre	56
8.3. Presencia de BSA en electrodeposición de cobre	58
8.3.1. Presencia de BSA sobre RDE de oro	58
8.3.2. Presencia de BSA sobre RDE de cobre	60
8.4. Morfología de la nucleación de cobre	63
8.4.1. Microscopía confocal	63
8.4.2. Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo	65
9. Conclusiones	69
10. Referencias	71

1. MOTIVACIÓN

El interés principal que me ha motivado para la realización de este TFG es su elevado contenido experimental, lo que me ha llevado a conocer y aprender a trabajar con una instrumentación nueva hasta ahora y esto además ha mejorado mi manejo y soldadura en el laboratorio lo cual ha sido muy productivo en el ámbito profesional y también personal.

Por otra parte, al saber que el TFG tenía una elevada carga conceptual electroquímica, pensé que sería útil e interesante escogerlo para así mejorar el aprendizaje de nociones de electroquímica que durante el grado no se estudiaron de forma tan profundizada.

Además, la aplicación del TFG también me ha resultado interesante ya que me ha permitido investigar acerca de la implantología oral y con ello aprender que hay una gran variedad de factores a tener en cuenta para el éxito de los implantes (como la adsorción de proteínas), los cuales previamente a la realización del TFG desconocía.

2. OBJETIVOS

En este Trabajo Final de Grado (TFG) se pretende realizar un estudio acerca de la disolución y electrodeposición de cobre en presencia de la proteína albúmina de suero bovino (BSA) en distintos sustratos metálicos mediante técnicas electroquímicas como voltametrías cíclicas y cronoamperometrías.

Como objetivos específicos de este TFG se establecen los siguientes:

- Determinar el coeficiente de difusión del cobre sobre superficies de oro y cobre.
- Conocer el efecto de la adsorción de BSA sobre la electrodeposición de cobre sobre oro y cobre.
- Observar la influencia de la velocidad de rotación del electrodo en la electrodeposición de cobre.
- Determinar el efecto de la concentración de analito en el electrolito sobre la electrodeposición de cobre.
- Conocer cómo afecta el potencial de deposición aplicado sobre la electrodeposición de cobre.
- Caracterización morfológica de los núcleos de cobre electrodepositados.

3. ANTECEDENTES

La implantología oral es una herramienta muy útil hoy en día para la sustitución de dientes perdidos o que han sufrido un deterioro por un motivo dado, pero esta técnica ya lleva aplicándose desde hace muchos siglos.

Se sabe que en la Prehistoria, concretamente en el Neolítico, se dio la primera implantación necrónica, más tarde en la Edad Antigua se empezaron a realizar trasplantes dentales (los primeros trasplantes datan que se dieron en la civilización Maya), posteriormente en la Edad Moderna se empezaron a emplear los primeros implantes metálicos intralveolares y en la Edad Contemporánea es cuando se fabricó el primer implante dental. [1, 2, 3]

Los procedimientos quirúrgicos también han ido mejorando con el paso del tiempo con el objetivo de obtener una mayor satisfacción en el paciente. De este intento de mejora surge lo que hoy conocemos como implantes dentales, donde se ha conseguido que el implante quede plenamente fijado al hueso y a los tejidos mediante el proceso biológico conocido como oseointegración. [3, 4]

Fue precisamente la oseointegración lo que dio un giro de 180 grados a la implantología en general, y por lo consiguiente a la implantología oral. Fue descubierto de forma accidental en Suecia por el Dr. Brånemark durante los años 60, él estaba estudiando la cicatrización de heridas y la microcirculación del hueso con ayuda de una técnica de microscopía vital, introduciendo una cámara de observación en la tibia de un conejo. Fue así como observó que el metal estaba adherido al hueso con gran tenacidad, pudiendo esto demostrar que el Titanio se adhiere firmemente al hueso y que aplicando este hecho a la cavidad bucal puede ser una clara solución para poder implantar prótesis dentales exitosas. [5, 6, 7]

Además, gracias a avances tecnológicos tanto en materiales, mecanismos de adsorción de proteínas.. etc se está consiguiendo que cada vez los pacientes apuesten más por este método quirúrgico para intentar solventar problemas en la cavidad bucal.

4. JUSTIFICACIÓN DEL TFG

Los implantes dentales son cada vez más utilizados como solución ante el deterioro o ausencia de dientes en la cavidad bucal. Pero a pesar de que presentan generalmente tasas elevadas de éxito en los pacientes, hay una problemática presente asociada a este tipo de implantología, la más importante y preocupante es la corrosión electroquímica que sufre la superficie metálica del implante. De hecho, en ocasiones la corrosión ha desgastado tanto el material del implante que se ha tenido que extraer el implante y posteriormente volver a someterse a otra operación quirúrgica para implantar uno nuevo.

Como posible solución a este problema, se sabe que la adsorción de proteínas en las superficies de los implantes reduce el efecto de la corrosión electroquímica a la par que permite una correcta interacción celular con la superficie del implante. Como cada material presenta cierta selectividad a la adsorción de determinadas proteínas, lo que se está investigando actualmente es qué materiales utilizar y cómo modificar la rugosidad de su superficie para conseguir la adsorción de la proteína deseada que consiga reducir al máximo los problemas de corrosión y sus derivados.

También se está investigando acerca de nuevos biomateriales y aleaciones para mejorar las propiedades físicas, químicas y mecánicas de la superficie del material empleado en el implante. Además, otro problema que en ocasiones lleva al fracaso del implante es las infecciones bacterianas, por lo que se está investigando sobre aleaciones con cobre debido a que presenta una fuerte acción antibacteriana.

Por todo esto, en el presente TFG se trabaja con dos sustratos metálicos (oro y cobre), el oro como superficie metálica modelo (para comparar) y el cobre como superficie metálica del implante, sobre los cuales se electrodeposita cobre metálico y se redisuelve en forma de iones Cu^{+2} en la disolución cúbica, simulándose así el efecto de corrosión que sufriría el metal implantado en el medio corrosivo.

Además también se estudia el efecto de adsorción de la proteína albúmina BSA sobre dichos sustratos metálicos para analizar posteriormente que influencia tiene la adsorción de ésta en los parámetros electroquímicos obtenidos y por tanto en la corrosión.

5. IMPLANTES

Un implante es un dispositivo médico cuyo objetivo es reemplazar o mejorar una estructura biológica que no exista o que ha sufrido cualquier tipo de deterioro. Generalmente, los implantes están fabricados a partir de biomateriales, como por ejemplo el titanio que es uno de los biomateriales más empleados en el sector médico. Entre sus aplicaciones más interesantes está el anclaje de huesos fracturados. [8, 9]

5.1. Implantes dentales

Un implante dental es un dispositivo sanitario insertado tanto en el maxilar superior como inferior con el objetivo de reconstruir la cavidad bucal mediante la sustitución de la raíz que falta y fijar el diente artificial en la posición que le corresponda. Generalmente, constan de las siguientes partes, las cuales pueden verse en la figura 1. [10]

- El implante dental propiamente dicho, el cual está situado bajo la encía.
- El pilar de prótesis, pequeña porción del implante que emerge en la boca.
- La corona protésica que recubre el pilar de prótesis y puede apreciarse ya en la boca.

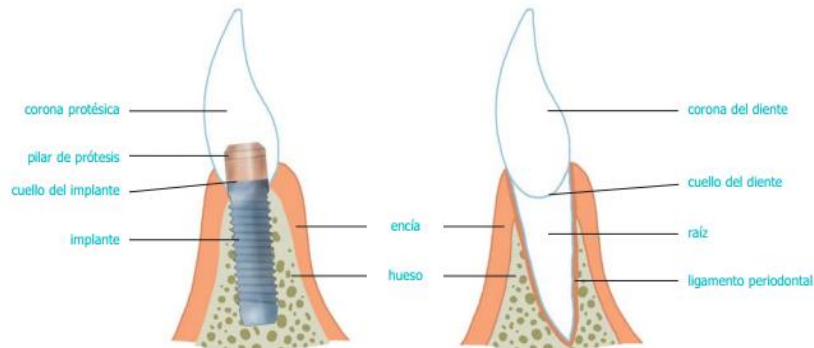


Figura 1: Comparación entre implante dental y diente natural. [10]

El gran éxito actual de los implantes dentales es debido al proceso biológico conocido como oseointegración. Este proceso crea una conexión biológica directa entre el implante y el hueso lo que ocasiona que el implante actúe como si de un diente natural se tratase. Además, los implantes oseointegrados presentan una elevada estabilidad con el paso del tiempo, mayor comodidad, mejor resultado estético y funcional, por lo que los resultados obtenidos son muy satisfactorios para los pacientes. [11, 12]

Por otro lado, se ha comprobado que aquellos implantes que poseen superficies con rugosidad presentan mayor contacto entre el hueso y el implante que las superficies lisas. Esto se debe a

que las superficies rugosas generan una mayor proliferación celular en ellas mismas y esto se traduce en una mejor retención del implante. [13, 14]

Esta unión entre el hueso y el implante se produce como consecuencia de una serie de interacciones físicas y químicas entre ambos. Principalmente, esas fuerzas de tipo físico son o puentes de hidrógeno o fuerzas de Van der Waals, las cuales son poco energéticas y deben ser respaldadas por otro tipo de fuerzas de mayor resistencia como interacciones químicas. Estas interacciones químicas generalmente son enlaces covalentes e iónicos.

5.1.1. Biomateriales en implantes dentales

La selección del material adecuado para la fabricación del implante no es un proceso sencillo, en él influyen muchos factores de distinto índole que se deben tener en cuenta. Entre ellos se encuentran las propiedades mecánicas y químicas del material empleado, la corrosión que pueda deteriorar el material empleado en el implante y consecuentemente los iones que se liberan al medio.

Los biomateriales empleados en implantología deben ser compatibles con los tejidos del organismo y no producir sustancias tóxicas en su interior. Además, en base a las propiedades químicas del material utilizado se adsorben distintos tipos de moléculas, como proteínas, a su superficie. Estas moléculas adsorbidas aceleran y fomentan la migración celular hacia el implante, aumentando por lo tanto la biocompatibilidad del material. Por ello, uno de los factores que se dan en la elección del material para el implante se basa en función de qué molécula se quiere que se adsorba para optimizar la biocompatibilidad entre el implante y el hueso. [15, 16]

Por lo que se refiere a las propiedades mecánicas de los materiales que se van a usar para la fabricación de implantes dentales se estudian su rigidez, la cual informa acerca de la deformación que experimenta el material ante la aplicación de una carga, modulo de elasticidad, resistencia a la fluencia, resistencia a la fatiga y tenacidad.

Los implantes que se están utilizando hoy en día están fabricados de metal, cerámicas, polímeros o carbón pero en este TFG se va a estudiar únicamente el caso de los implantes metálicos puesto que son éstos los que sufren corrosión electroquímica.

5.1.1.1 Implantes dentales metálicos

Los principales materiales metálicos utilizados en la implantología oral son el acero inoxidable, tantalio, oro, titanio (del cual se va a hablar en el punto 5.2 de la memoria) y aleaciones de cromo-cobalto-molibdeno, las cuales se van a comentar a continuación.

Los implantes de **acero inoxidable** se han utilizado a lo largo de los años para solventar problemas en la cavidad bucal de los pacientes pero recientemente se ha descubierto que pueden causar una serie de problemas. Principalmente, se ha observado que el acero inoxidable en contacto con medios salinos, como puede ser la saliva, genera una serie de cambios electroquímicos en su superficie que da como resultado la corrosión electroquímica del material y posteriormente causa fallo por fatiga. Además, se ha podido comprobar que el acero inoxidable implantado en el organismo suele ser encapsulado por los tejidos adyacentes lo cual impide el correcto funcionamiento del implante.

El **tantalio** se utilizaba anteriormente ya que se trata de uno de los metales más biocompatibles pero ha dejado de emplearse debido a su dificultad de obtención ya que solo es posible extraerlo en alambres y no puede colarse.

El **oro** suele utilizarse directamente en los implantes sin necesidad de alearse con otros materiales ya que presenta una elevada estabilidad y fuerte resistencia ante la corrosión por ser un metal noble. No obstante, uno de sus principales problemas además del coste económico, reside en que es un metal que presenta una baja resistencia mecánica y elevada ductilidad.

Las aleaciones de **romo-cobalto-molibdeno** se utilizan en implantología desde hace 40 años. Cada elemento de la aleación proporciona unas propiedades útiles para garantizar el éxito del implante. El cromo, se encuentra en un 30%, es resistente a la corrosión por lo que es muy importante su presencia en la aleación, el cobalto, el cual se encuentra en la aleación en aproximadamente un 65%, aporta resistencia, dureza y rigidez al implante y por último el molibdeno, que es el componente minoritario con únicamente un 5% en la aleación puesto que reduce la resistencia del implante, otorga una estructura de grano más pequeña y rugosidad, lo cual se ha visto que es beneficioso para ganar biocompatibilidad. Esto puede verse en la figura 2. Sin embargo esta aleación presenta inconvenientes en la implantología como su baja conductividad térmica y pérdida ósea cerca del implante, por lo tanto se debe retirar mediante otra intervención quirúrgica. [17, 18]

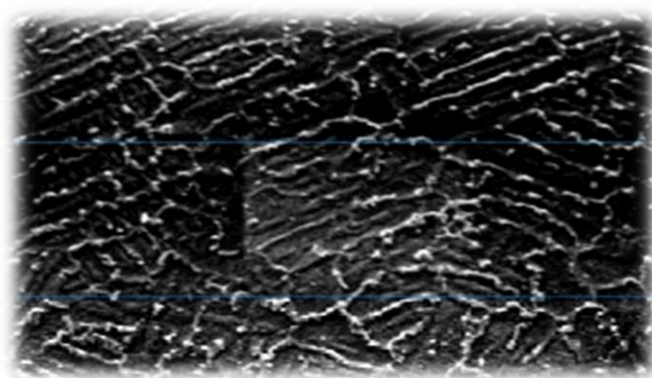


Figura 2: Microestructura de la aleación de Co-25.79Cr-5.95Mo-0.72Si-0.02C empleada en implantología oral. [19]

5.1.2. Problemática asociada al uso de implantes dentales

A pesar del éxito asociado al uso de implantes dentales actualmente, hay una serie de factores que pueden ocasionar el fallo del mismo si no se consiguen corregir de manera rápida. Entre estos se encuentran: [20]

- **Rechazo del implante.** En ciertas ocasiones el cuerpo no consigue adaptarse a la presencia de un material extraño y lucha con él generando diversos problemas en el paciente. En estos casos es necesario la extracción inmediata del implante y buscar otras posibles alternativas para solventar el problema.
- **Tabaquismo.** Los pacientes fumadores presentan menor tasa de éxito tras la intervención quirúrgica puesto que la nicotina es una sustancia que disminuye la llegada de oxígeno a los tejidos lo cual acarrea que la estructura ósea que sostiene al implante se debilite y que el acople entre el implante y el hueso no llegue a darse, por lo que sería necesario retirar el implante.
- **Pérdida ósea.** Como consecuencia del continuo contacto y pequeño rozamiento entre el implante y el hueso puede producirse en el paciente una pérdida de masa ósea alrededor de la zona del implante. El odontólogo debe comprobar previamente si el paciente posee ya poca masa ósea para evitar este tipo de problemas.

Por otro lado, los implantes metálicos siempre están en contacto con un electrolito salino, como la sangre, saliva.. etc. Este hecho suele generar problemas de corrosión en la superficie del implante. La corrosión es un problema grave que debe tratar de reducirse puesto que disminuye las propiedades estructurales del implante, pudiendo incluso perder su funcionalidad, y también libera al medio iones metálicos del implante los cuales pueden provocar reacciones biológicas perjudiciales en el paciente. [21]

Es precisamente la corrosión el mayor problema que presentan este tipo de implantes puesto que es una causa de fracaso del implante después del éxito inicial del mismo. Por ello se va a estudiar la corrosión más detenidamente.

5.1.2.1 Corrosión

Según la American Society for Testing and Materials (ASTM) G-15, la corrosión es la reacción química o electroquímica entre un material, normalmente un metal, y su medio, la cual produce un deterioro del material y de sus propiedades. En función de la morfología del ataque se pueden distinguir distintos tipos de corrosión en implantes dentales, los cuales se presentan en la figura 3: [22]

- **Corrosión generalizada:** Se da cuando se corroe toda la pieza por igual, es la más fácil de identificar.
- **Corrosión selectiva:** Afecta únicamente a determinadas zonas del material. Suele darse por la presencia de algún fluido del medio atrapado en pequeñas fisuras presentes en la superficie del implante.
- **Corrosión por picaduras:** La corrosión solo es apreciable en el interior del material, por fuera no se observa prácticamente deterioro, por ello es el tipo de ataque corrosivo más difícil de detectar. Suele aparecer por la presencia de pequeños orificios en la superficie metálica.



Figura 3: La imagen A corresponde a la corrosión generalizada, la B a corrosión selectiva y la C a corrosión por picaduras. [22]

Según el tipo de mecanismo que actúe puede ser o bien corrosión seca (en ausencia de electrolito) o como es el caso que se está estudiando, corrosión electroquímica o húmeda. Este tipo de corrosión se da cuando el metal está en contacto con un electrolito, como puede ser la saliva, agua o una solución salina, y es el que se va a estudiar.

La corrosión electroquímica se da por dos procesos distintos isocinéticos que ocurren a una diferencia de potencial dada entre el metal que se implanta y el medio en el que éste se encuentra. En el ánodo tiene lugar la reacción de oxidación mientras que en el cátodo se da la reacción de reducción. La circulación de electrones ocurre a través del propio metal entre las regiones anódica y catódica, mientras que la circulación de iones tiene lugar en el seno del electrolito. El esquema de este proceso puede verse en la figura 4. [22, 23]

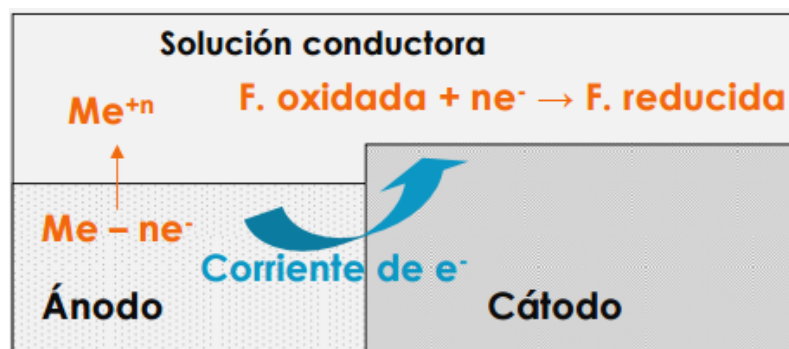
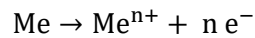


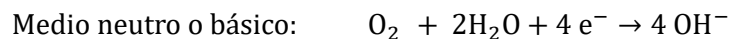
Figura 4: Esquema del proceso de corrosión electroquímica. [22]

La reacción de oxidación se produce al corroerse la superficie del implante metálico liberando al medio desde dicha superficie iones positivos del metal (Me^{n+}) y n electrones. La reacción anódica es la siguiente: [22]



Estos iones metálicos que se liberan al medio son uno de los principales problemas asociados a la corrosión, porque como se ha dicho antes, estos iones generan infecciones y alergias en los pacientes por lo que en ocasiones es necesario retirar el implante.

Por otro lado, en la reacción de reducción en el cátodo la superficie del metal no sufre ningún tipo de degradación por la corrosión, y además los electrones que se han liberado previamente en la reacción de oxidación son consumidos por un elemento oxidante presente en el medio dando lugar de nuevo al metal con valencia cero, el cual se deposita sobre la superficie. En función del pH del medio en el que se encuentre el implante, la reacción catódica es distinta, si se está a pH ácido el oxidante es el protón (H^{+}), mientras que si es pH neutro o básico es el oxígeno el oxidante. La reacción que se da en cada caso es la siguiente: [22]



La corrosión se ve favorecida por numerosos factores como el pH del medio. El pH de la saliva suele ser neutro pero a causa de infecciones o inflamaciones en la cavidad bucal, como ocurre tras la implantación quirúrgica, puede descender a valores ácidos entre 4 y 5. Este descenso de pH favorece la corrosión puesto que aumenta la agresividad de los tejidos hacia el implante. Toda esta serie de problemas puede generar inestabilidad, movimientos en el implante hasta incluso su fractura por lo que debe intentar prevenirse. [24, 25]

Además, el fenómeno de la corrosión también genera problemas estéticos como es la despigmentación de los tejidos que se encuentran próximos al implante que se está corroyendo y también provoca reacciones alérgicas como pueden ser la gingivitis. [26]



Figura 5: Implante dental que ha sufrido corrosión electroquímica y esto ha ocasionado una despigmentación de los dientes adyacentes. [27]

Como se ha visto, la corrosión es un proceso electroquímico que en el caso de la implantología oral ocasiona serios problemas de funcionamiento del implante que pueden llevar desde movimientos de la prótesis hasta la fractura de ésta, problemas estéticos como la despigmentación que se puede observar en la figura 5 y problemas de salud en el paciente debido a las alergias ocasionadas por los iones que se disuelven y quedan en la saliva.

5.2. Aleaciones de titanio

Los implantes fabricados a partir de titanio comercialmente puro y sus aleaciones presentan buena biocompatibilidad con las células y tejidos del organismo, adecuadas propiedades electroquímicas y mecánicas y además se trata de un metal más ligero que otros de los empleados en implantología, lo cual facilita su manipulación.

En implantología existen cuatro grados de titanio sin alea normalizados para implantes quirúrgicos, dependiendo del contenido de impurezas (oxígeno, nitrógeno, carbono, hidrógeno y hierro) que son las que controlan sus propiedades mecánicas. Por otro lado, otra de las ventajas del titanio en aplicaciones biomédicas, frente al acero inoxidable y a las aleaciones base cobalto, es que su módulo de Young es de 110 GPa frente a los 200 GPa y los 220 GPa de las aleaciones anteriores respectivamente. Siendo el módulo elástico del hueso de 20 GPa, se comprende que el titanio, es más elásticamente compatible con el tejido natural que las otras dos aleaciones. [28]

El titanio es un elemento que presenta una elevada reactividad con el oxígeno lo que lleva a la formación espontánea de una fina capa de óxido de titanio (TiO_2) impermeable que protege a la superficie del implante. De hecho, como es el caso de la cavidad bucal, al siempre haber oxígeno en el medio dicha capa de óxido se regenera con facilidad al deteriorarse, por lo que los implantes de titanio suelen ser una buena opción frente a la corrosión. Este óxido de titanio formado sobre la superficie del implante genera fuerzas de Van der Waals fuertes gracias a su constante dieléctrica, la cual se encuentra entre 50 y 170 en función de la estructura cristalina que posea el TiO_2 , con otros óxidos que se han formado sobre la superficie del implante haciendo que la capa de óxido sea mucho más protectora frente a la corrosión. Además, otra de las razones del gran éxito del titanio y sus aleaciones en la utilización de implantes dentales reside en que los tejidos del organismo ya suelen contener una concentración de 50 ppm de titanio mientras que en los tejidos próximos al implante las concentraciones ascienden hasta 150 ppm. Pero esta diferencia de 100 ppm no es elevada por lo que el organismo la acepta sin problemas. [23, 29]

Dentro de las aleaciones de titanio, la más empleada en implantología oral es la Ti-6Al-4V (6% de aluminio y 4% de vanadio) puesto que presenta excelente resistencia a la corrosión (no hay prácticamente liberación de iones de titanio al medio fisiológico). El aluminio proporciona a la aleación estabilidad a altas temperaturas y gran resistencia mecánica frente a los continuos movimientos a los que se somete el implante como son la masticación y la deglución. Mientras que el vanadio disminuye el riesgo de fractura del implante por la corrosión. [28]

5.2.1. El cobre en implantología oral

Un factor muy importante a considerar para el éxito de los implantes es las propiedades antibacterianas del material utilizado en su fabricación ya que una infección bacteriana ocasiona el aflojamiento del implante e incluso el fracaso del mismo. [30]

El cobre es un metal empleado en implantología que presenta una excelente actividad antibacteriana. De hecho, se ha demostrado que superficies de cobre o de sus aleaciones eliminan hasta un 99.9% de bacterias patógenas a temperatura ambiente. Por ello, la EPA (Environmental Protection Agency), el 25 de Marzo de 2008, expuso que el cobre es el primer y único metal con propiedades antibacterianas, citando textualmente que "las superficies de cobre eliminan 99,9% de los patógenos bacterianos después de 2 horas de exposición". La EPA añadía además que tanto el cobre como sus aleaciones son antibacterianos naturales con efectos y duración a largo plazo. [31]

Cabe destacar que existe una proporcionalidad directa entre la concentración de cobre y el efecto bactericida que éste ocasiona donde se implanta, por lo que se alcanza el efecto bactericida máximo para el cobre metálico. [31] Este hecho se puede observar en la figura 6.

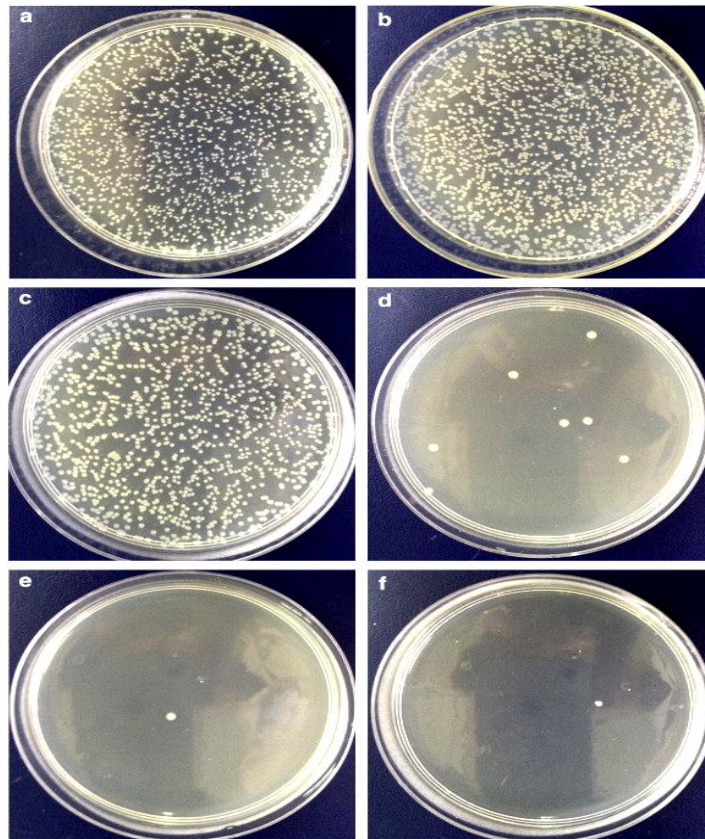


Figura 6: Colonias de *E. coli* tras la incubación durante 24 horas en diferentes muestras. a) muestra negativa, b) muestra de control, c) Ti-2 en peso.% Cu, d) Ti-5,0 en peso.% Cu, e) Ti-10.0 en peso.%, y f) Ti-25wt.% Cu. [32]

Se sabe que las propiedades antibacterianas del cobre se deben a la capacidad de éste de aceptar y ceder electrones. El cobre muy concentrado, o cobre metálico, al liberar radicales tiene un efecto tóxico sobre las bacterias. Las bacterias toman por error iones de cobre en lugar de otros iones que necesitan para realizar su metabolismo bacteriano y esto conlleva a una serie de problemas en la membrana celular e incluso a problemas en la síntesis proteica en el interior del citoplasma. Estos problemas pueden ser o bien inhibición de la síntesis proteica o bien la síntesis de proteínas disfuncionales, lo que perjudica la actividad enzimática necesaria para el correcto metabolismo bacteriano. [33, 34]

Además de sus propiedades antibacterianas, el cobre permite crear aleaciones que se pueden obtener a un bajo punto de fusión para la fabricación de implantes dentales. Por ello el titanio se suele alea con cobre para uso dental. El contenido de cobre en las aleaciones de titanio y cobre tiene influencia en la biocompatibilidad, actividad antibacteriana y propiedades mecánicas de la aleación (como la dureza, la deformación... etc). Por lo que uno de los temas de estudio es determinar el contenido de cobre óptimo que permite tener unas buenas propiedades tanto mecánicas como bactericidas. [32]

Como se observa en la figura 7, la dureza de la aleación aumenta con el contenido de cobre aunque a partir de un 5% en peso de cobre en la aleación la dureza ya no aumenta de forma significativa. Mientras que hay que ser consciente que si se desea que el implante dental sea duro es necesario concentrar el cobre a más de un 5% ya que hay riesgo de pérdida de mucha dureza si nos encontramos a concentraciones de cobre inferiores.

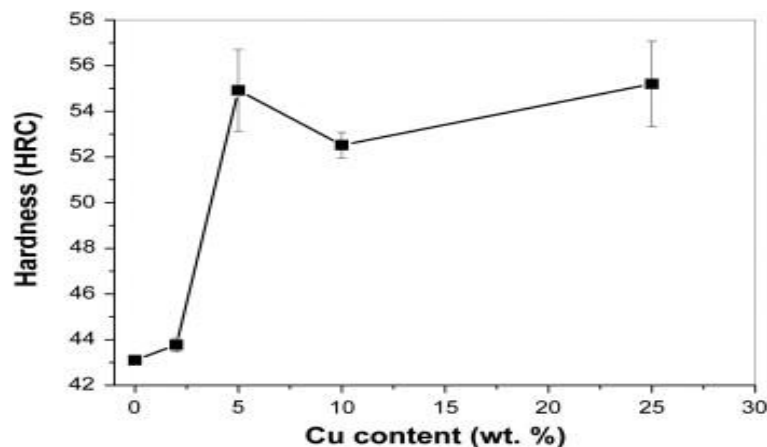


Figura 7: Cambio de la dureza con el contenido de Cu en las aleaciones de Ti-Cu. [32]

Se ha observado también mediante el diagrama tensión-deformación de la figura 8 que añadir cobre a las aleaciones de titanio reduce considerablemente la deformación que sufre el material del implante y además el límite elástico también aumenta, luego es bueno ya que hay más margen de deformación elástica en el material. Pero comparándolo con el titanio comercialmente puro el añadir cobre implica una disminución de la resistencia a la tracción, de tenacidad y de ductilidad. Entonces se afirma que adicionar cobre garantiza principalmente mayor resistencia del implante pero reduce en gran medida su ductilidad, lo que significa que se reduce el margen de deformación plástica que puede soportar el implante antes de romperse.

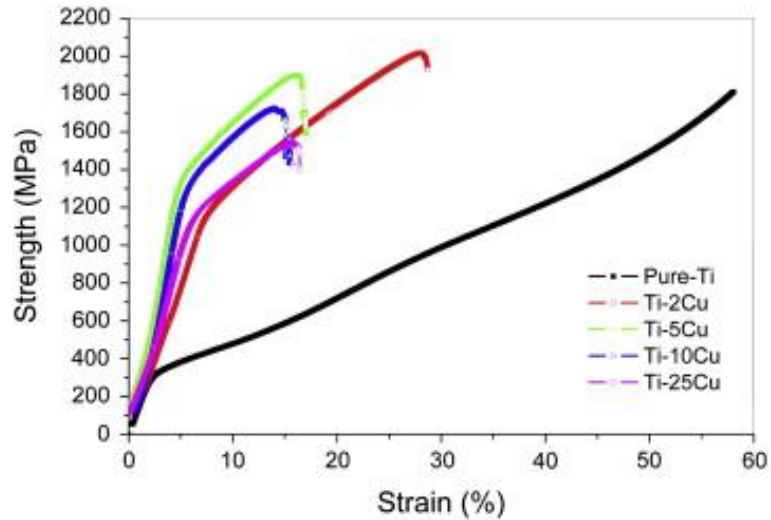


Figura 8: Diagrama tensión-deformación para titanio comercialmente puro y titanio aleado con distintos porcentajes de cobre. [32]

Por todo lo visto anteriormente, las aleaciones de Ti-Cu presentan actividad bacteriana contra numerosas colonias bacterianas, además, como se puede observar en la figura 9, el contenido de cobre también influye en la microestructura de la aleación Ti-Cu. Estudios han determinado que el contenido mínimo de Cu en las aleaciones debe ser de un 5% en peso con el fin de obtener las propiedades bactericidas y mecánicas deseadas. [32]

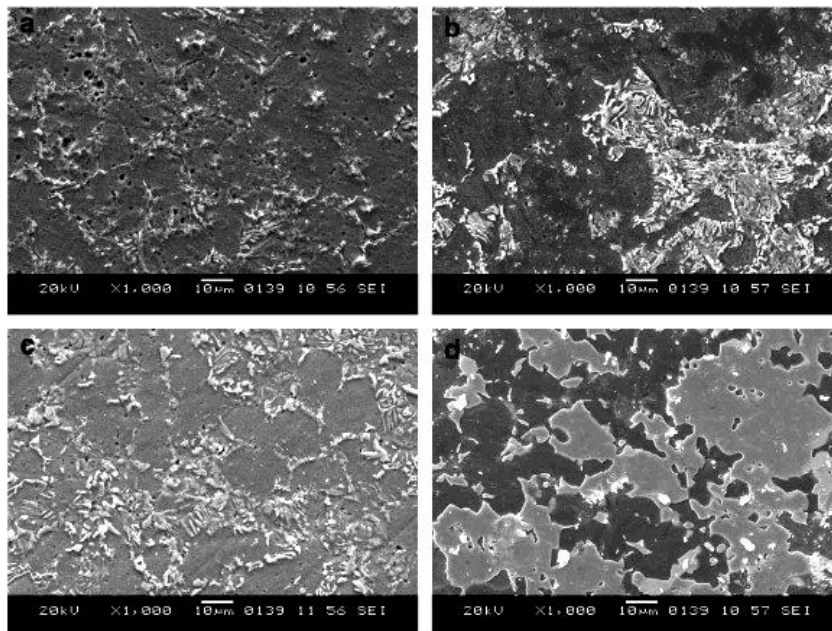


Figura 9: Microestructura de la aleación Ti-Cu obtenida por SEM a distintas concentraciones de cobre. a) Ti-2.0wt.% Cu, b) Ti-5.0wt.% Cu, c) Ti-10.0wt.% Cu, and d) Ti-25.0wt.% Cu. [32]

6. MEDIO FISIOLÓGICO

El cuerpo humano está compuesto aproximadamente en un 70% por líquido, el cual se localiza o bien en el interior de las células o en el exterior de éstas. Este medio acuoso, conocido como medio fisiológico, puede verse alterado por diversos factores externos o internos al organismo. Como factores externos se encuentra el medio ambiente y como factores internos puede ser el pH, la presión osmótica,..etc. [35]

Concretamente, el plasma constituye el 55% del volumen sanguíneo y está compuesto fundamentalmente por agua (90%), además contiene proteínas disueltas e iones minerales entre otros. [36]

6.1. Proteínas en el organismo

Una proteína es una macromolécula compleja de elevado peso molecular y con estructura tridimensional compuesta por una secuencia lineal de aminoácidos.

Un aminoácido es una molécula orgánica de bajo peso molecular formada por un grupo amino ($-NH_2$), por un grupo carboxilo ($-COOH$), por un hidrógeno y una cadena lateral R. Estos cuatro elementos están unidos entre sí a través de un carbono central, al que se le llama carbono- α . Es importante remarcar que a pesar de existir aproximadamente 200 aminoácidos en la naturaleza, únicamente 20 son los que agrupándose pueden formar las proteínas. [37]

La unión de dos o más aminoácidos se da mediante una reacción de condensación que forma el enlace peptídico que da lugar a la formación de proteínas. El enlace peptídico tiene lugar por medio de la reacción de condensación (se elimina una molécula de agua) del grupo carboxilo de un aminoácido y del grupo amino del otro aminoácido. Por ello, el enlace peptídico tiene como productos de reacción una molécula de agua y un enlace covalente CO-NH. [3] La formación de este enlace se puede ver esquematizado en la figura 10.

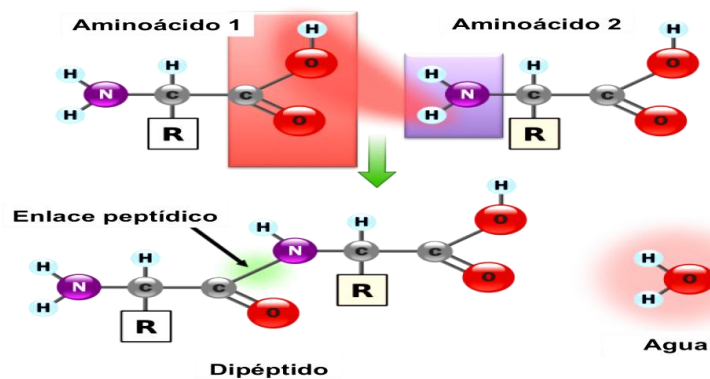


Figura 10: Formación del enlace peptídico entre dos aminoácidos. [38]

Las proteínas se clasifican en dos grupos en función de su composición. Pueden ser o bien homoproteínas, cuando únicamente la proteína está formada por aminoácidos, o bien heteroproteínas, cuando la proteína está compuesta por aminoácidos y grupos no proteicos.

Las proteínas presentan mucha variedad de funciones en el organismo. Entre ellas, funciones de defensa (inmunoglobulinas), de reserva (mioglobina), función catalítica (enzimas), reguladora (hormonas y neurotransmisores), función de transporte (hemoglobina y albúmina) y función estructural (queratina y colágeno). [39]

Por lo que se refiere a la estructura de las proteínas cabe resaltar que éstas presentan cuatro estructuras: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria. La estructura primaria es la secuencia lineal de aminoácidos en la cadena peptídica, y además en ella también se encuentran los puentes disulfuro que unen los aminoácidos de la cadena. La estructura secundaria muestra el ordenamiento espacial de aminoácidos próximos entre sí por interacciones de puentes de hidrógeno. Si los puentes de hidrógeno unen aminoácidos de la misma cadena se obtiene una estructura secundaria en "hélice- α ", mientras que si los puentes de hidrógeno unen aminoácidos de cadenas distintas lo que se obtiene es una estructura secundaria en "hoja plegada β ". Por otro lado, la estructura terciaria es el ordenamiento espacial de los aminoácidos alejados en la secuencia por diversas interacciones como puentes disulfuro, enlaces covalentes, fuerzas de Van der Waals.. etc. Realmente, la estructura terciaria no es más que la disposición de la estructura secundaria de un polipéptido para adoptar una estructura globular. La estructura globular permite a la proteína ser soluble en agua o disoluciones salinas permitiendo así la realización de sus funciones biológicas. Finalmente, la estructura cuaternaria se da en proteínas con más de una cadena polipeptídica unidas entre sí, como es el caso de la hemoglobina que está formada por cuatro subunidades. [37, 39]

6.1.1. Albúmina de suero bovino (BSA)

La albúmina de suero bovino (BSA) ha sido una de las proteínas más empleadas en estudios de biomedicina, especialmente debido a su homología estructural con la albúmina de suero humano y por su bajo coste de obtención, ya que se purifica fácilmente a partir de sangre bovina, la cual es un subproducto de la industria ganadera. [40]

La albúmina es la proteína globular más abundante en el plasma sanguíneo y es sintetizada por tres pasos en el hígado a una razón de 9 a 12 g/día. Previamente en los polisomas se produce la prealbúmina que al pasar al retículo endoplasmático liso se transforma en proalbúmina y finalmente en el aparato de Golgi se convierte en la albúmina. Una vez está fabricada es liberada al sistema linfático. [41, 42]

La BSA, de dimensiones de 4nm·4nm·14nm, está compuesta por 585 aminoácidos con un peso molecular de 66 kiloDalton y posee un punto isoeléctrico (valor de pH cuando la proteína tiene carga nula) de 4.7 a temperatura ambiente. Además, se caracteriza por estar cargada negativamente (carga neta de -19 culombios a pH neutro), del mismo modo el glomérulo renal

también está cargado negativamente, por esta razón en condiciones normales la albúmina no se desecha por la orina. [36, 43, 44 , 45]

Entre otras características de esta proteína, cabe resaltar su buena solubilidad en agua y su buena estabilidad al almacenarse a bajas temperaturas (2-8°C), ya que ésta se coagula fácilmente por el calor (se desnaturaliza a una temperatura de 62°C). Por ello, uno de los usos de la albúmina es estabilizar otras proteínas solubilizadas. [36, 46]

La albúmina de suero bovino es una proteína monomérica con tres dominios (I, II, III), que se dividen a su vez en subdominios (a, b) y presenta un 67 % de alfa-hélice y nada de hoja beta plegada. Esto puede observarse esquemáticamente en la figura 11. [36]

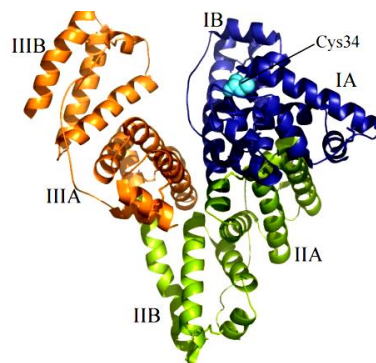


Figura 11: Estructura esquemática de la BSA. [36]

Generalmente, la albúmina en el líquido intersticial se encuentra aproximadamente en una concentración de 14 g/L, mientras que en el líquido intravascular o extracelular aparece en una concentración de 40 g/L. Mientras que la saliva se sabe que está compuesta por un 99% de agua y un 1% de sólidos disueltos, entre éstos sólidos orgánicos proteicos. Además se ha determinado que la concentración de proteínas en la saliva es aproximadamente un 3% de la contenida en el líquido intravascular. En función a esto, aproximadamente la concentración de albúmina en la saliva es de 1.2 g/L. Por otro lado, se ha observado que la concentración de proteínas en el fluido sinovial es de 15 g/L, por lo que la concentración de BSA es aproximadamente esa. [42, 47, 48, 49]

A continuación se presenta la tabla 1 donde se resume para cada medio del organismo que concentración de albúmina hay presente.

Tabla 1: Concentración de albúmina en distintos medios del organismo.

Medio	[BSA] (g/L)
Intersticial	14
Intravascular	40
Saliva	1,2
Sinovial	15

La albúmina es la responsable de regular el pH y el 80% la presión oncótica (presión osmótica coloidal) de la sangre, se encarga de la distribución de los líquidos corporales entre el volumen intravascular y extravascular y también del transporte de moléculas como ácidos grasos, vitaminas.. etc. Dicha regulación de la presión oncótica es debida a dos efectos, uno de ellos conocido como efecto Donnan. Este efecto, como se muestra en la figura 12, se basa en que la concentración de proteína es distinta, como se ha mencionado anteriormente, entre el fluido intracelular o intersticial y el extracelular o capilar. La carga negativa de la albúmina atrae cationes (en el caso de la figura 12, Na^+) en el compartimento extracelular y repele los aniones hacia fuera (en el caso de la figura 12, Cl^-). Como la concentración de cationes es superior a la que hay de aniones, el efecto de atracción es superior al de repulsión. Se establece un gradiente de carga y concentración que determina un gradiente osmótico hacia el espacio vascular. El otro efecto conocido como Van't Hoff, que es el que más repercusión tiene en la regulación de la presión oncótica, es debido a que la cantidad de moléculas en el espacio intravascular es superior al intersticial. [36, 41, 50]

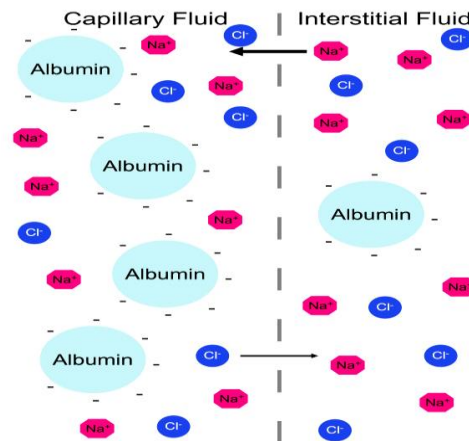


Figura 12: Esquema del efecto Donnan. [51]

Por último, la BSA presenta una vida media aproximada de 19 días en el interior del organismo. Su degradación tiene lugar fundamentalmente en el hígado y en el riñón, donde las vesículas endocíticas captan a las moléculas de albúmina y con ellas captadas se fusionan con los lisosomas dando lugar a los lisosomas secundarios. El producto final de degradación obtenido son aminoácidos libres. [36]

6.2. Mecanismos de adsorción

La adsorción es un proceso por el que se transfiere un soluto, al que se le llama adsorbato, desde una corriente líquida o gaseosa hasta la superficie de un sólido, conocido como adsorbente. [52]

En función de la naturaleza de las fuerzas que se dan entre el adsorbato y el adsorbente durante el proceso de adsorción se distinguen dos tipos:

- **Fisiorción** cuando las fuerzas que se dan entre el adsorbato y adsorbente son de tipo físico. El adsorbato y el adsorbente están unidos débilmente mediante fuerzas de Van der Waals, por lo que la energía de adsorción es baja. Este proceso suele darse a temperaturas bajas y pueden formarse capas múltiples de adsorbato sobre el adsorbente. Las partículas tienden a quedar adsorbidas en la superficie del sólido pero no en lugares específicos si no que en la primera posición que encuentran, por ello es un proceso fácilmente reversible. [52]
- **Quimisorción** cuando las fuerzas que se dan entre el adsorbato y adsorbente son de tipo químico. En este tipo de adsorción al quedarse adsorbida la partícula en la superficie del sólido ambos reaccionan químicamente, por lo que la energía de la adsorción es elevada, comparable a la de un enlace químico como puede ser el enlace covalente. Esta elevada energía es debida a que el adsorbato se localiza en los centros activos de la superficie del adsorbente y establece con ellos una fuerte interacción, por ello este proceso es frecuentemente irreversible. En el caso de la quimisorción suele darse a temperaturas altas y únicamente se forma una monocapa de adsorbato sobre el adsorbente. La adsorción de BSA que se estudia en este TFG corresponde a un proceso de quimisorción. [52, 53]

Cuando se trabaja con mecanismos de adsorción se suele acudir a las isothermas de adsorción las cuales explican el equilibrio existente, a temperatura constante, entre el adsorbato y el adsorbente. Más concretamente, explican la cantidad de adsorbato que se ha adsorbido en la superficie del adsorbente en función de la cantidad del adsorbato en el flujo gaseoso o líquido. Una de las isothermas más utilizadas para explicar los mecanismos de adsorción de proteínas sobre superficies sólidas es la isoterma de Langmuir. [54]

Esta isoterma es adecuada cuando la superficie del adsorbente presenta un número de posiciones concretas de centros activos para la adsorción donde solo se puede adsorber una partícula de adsorbato en cada posición, y éstas no interaccionan con las partículas vecinas que se han adsorbido en los centros activos cercanos. Además, describe cómo afecta la presión del gas o concentración del líquido de la corriente desde la cual sale el adsorbato para adsorberse sobre la superficie del adsorbente, a una temperatura constante. [55, 56, 57] La expresión de la isoterma se muestra a continuación.

$$\theta = \frac{\alpha \cdot P}{1 + \alpha \cdot P} \quad [\text{Ecuación I}]$$

Donde θ equivale a la fracción de cobertura de superficie, P es o bien la presión o bien la concentración en la corriente que está en contacto con el adsorbente. Linealizando la expresión se obtiene un valor de α , el cual se sabe que es inversamente proporcional con la temperatura. [57]

La adsorción de proteínas es imprescindible en el éxito de los implantes dentales biocompatibles. De hecho, se ha observado que lo primero que ocurre tras implantarse un cuerpo extraño en el

organismo es la adsorción de proteínas sobre la superficie del material, esto forma una capa o interfase que recubre la superficie y gracias a esta capa proteica es posible la interacción celular con la superficie del cuerpo extraño o implante. Además, se ha comprobado que la adsorción de proteínas en la superficie de un metal reduce considerablemente la velocidad de corrosión de dicha superficie metálica y también la energía de activación del proceso de corrosión. Por otro lado, se ha verificado que aquellas proteínas que presentan cargas de signo opuesto al del adsorbente presentan mayor afinidad por ser adsorbidas. [53, 58, 59]

Es necesario saber que la adsorción de proteínas difiere en función de la procedencia de éstas. Si la proteína proviene de una mezcla con más proteínas ésta sufre desplazamientos a la hora de adsorberse en la superficie del adsorbente, mientras que si únicamente ella es la que compone la corriente con la que entra en contacto el adsorbente no. Además cada superficie del adsorbente presenta una cierta selectividad a adsorber determinadas proteínas. Por ello, la naturaleza de las proteínas adsorbidas y su conformación dependen en gran medida de las propiedades químicas y de la afinidad de la superficie por un determinado sustrato, en nuestro caso proteína. [60, 61]

6.2.1. Adsorción de albúmina (BSA)

En este TFG se estudia en concreto la adsorción de albúmina de suero bovino (BSA) ya que al ser la proteína más abundante en el fluido corporal es la primera que llega a la superficie del metal de acuerdo a las leyes de transporte de masa. Por este motivo la adsorción de esta proteína resulta imprescindible en la adsorción inicial del resto de proteínas sobre implantes dentales. La adsorción de BSA responde con éxito a una isoterma de Langmuir. [53]

Se ha determinado experimentalmente por XPS (espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X) que la BSA presenta mayor adsorción sobre superficies rugosas, ya que en las superficies lisas aumenta la hidrofilia y esto conlleva una menor adsorción de BSA, por lo que se concluye que la adsorción de esta proteína es proporcional al carácter hidrófobo de la superficie metálica. Por otro lado, se sabe que las proteínas de bajo peso molecular, como la albúmina, presentan mayor afinidad por adsorberse sobre superficies sólidas que las proteínas más pesadas. [62, 63]

Así mismo, se sabe que la tasa de adsorción de BSA es dependiente tanto de la concentración de ésta en la disolución como del tiempo de inmersión que la superficie metálica está en contacto con la solución proteica. Como dato de tiempo de inmersión, en la bibliografía se ha visto que para concentraciones de BSA de 0.1 g/L y 1 g/L se sumerge el electrodo durante aproximadamente 40 minutos para lograr una buena adsorción. [53]

Se ha observado que la cantidad de proteína BSA adsorbida influye en gran medida en la transferencia de carga eléctrica y esto tiene una gran relevancia en lo que respecta al mecanismo y a la cinética de disolución del metal. Además, se ha comprobado que la adsorción de BSA en superficies metálicas disminuye el proceso de reducción catódico y el de corrosión anódico. Esto se debe a que la capa de BSA adsorbida impide el acceso del oxidante a la superficie metálica del electrodo. [53, 64]

Para estudiar la influencia de la adsorción de BSA en oro se han realizado voltametrías cíclicas con BSA adsorbida en la superficie de oro y sin BSA. Como se puede ver en la figura 13 la adsorción de BSA conlleva una disminución de los picos catódico y anódico de la voltametría cíclica, además la adsorción de BSA también produce una disminución de la reversibilidad del par redox de la disolución en la que está sumergido el electrodo.

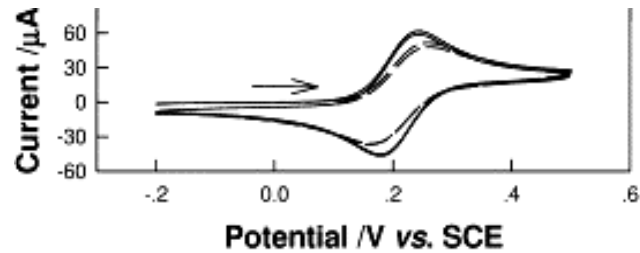


Figura 13: Respuesta de una voltametría cíclica sobre electrodo de oro con BSA (línea discontinua) y sin BSA (línea continua). [65]

Además, una reducción de la frecuencia de solo 4 Hz después de terminar el barrido en la voltametría cíclica indica que la BSA adsorbida en el oro ha actuado como una capa protectora contra la disolución del oro, impidiendo que la superficie metálica se oxide (lo que corrobora que la adsorción proteica protege de la corrosión). Mientras que por lo que se refiere a la influencia del pH del medio sobre la adsorción de BSA, si éste se encuentra en valores inferiores de 4.5 (a ese pH se desnaturaliza) se produce una mayor cantidad de adsorción de BSA en oro que a pH superiores y la reversibilidad del par redox aumenta. [65]

La desnaturalización ácida de la BSA adsorbida en electrodos de oro conlleva que la capa proteica que está protegiendo a la superficie de oro de la corrosión no esté tan firmemente adherida, lo que ocasiona que en determinadas zonas sí que haya contacto directo entre la superficie del metal y la disolución del medio y por tanto la corrosión electroquímica es más peligrosa. [65]

Por otro lado, acerca de la adsorción de BSA en superficies de cobre no se ha encontrado casi información bibliográfica. Por ello mismo, el aprender e investigar acerca de este tema es uno de los objetivos que se pretenden con este TFG.

Mediante cronoamperometrías y análisis de la frecuencia se ha intentado analizar la adsorción de BSA en cobre. La adsorción de BSA en superficie de cobre, como se puede observar en la figura 14, aproximadamente en los primeros 2 ks el potencial aumenta bruscamente y al pasar estos disminuye también de forma brusca y luego paulatinamente. El aumento inicial de potencial en el electrodo de cobre es debido probablemente a la oxidación de cobre con la consiguiente formación de óxido de cobre. Mientras que la disminución paulatina se puede deber a la corrosión sobre el cobre metálico y la formación de CuO o Cu_2O . En el caso de la frecuencia, la pequeña variación de solo 3 Hz muestra que la cantidad de óxido que se forma sobre la superficie es pequeña, como mucho se pueden haber formado 4 monocapas de óxido de cobre. Por lo que se refiere al efecto de la adsorción de BSA (grafico b) se observa que en presencia de BSA

adsorbida se alcanza antes el estado de equilibrio puesto que el potencial se estabiliza rápido, esto es debido a que la BSA adsorbida obstaculiza la formación de óxido sobre la superficie metálica. Sin embargo, la frecuencia varía mucho más que sin proteína adsorbida, primero hay un aumento brusco de 3 Hz que se mantiene durante el primer 1 ks lo que quiere decir que ahí la BSA interactúa con la superficie e impide la formación de óxido, finalmente hay disminución de 7 Hz hasta unos 3 ks lo que indica que se está formando lentamente la capa de óxido. [66, 67, 68]

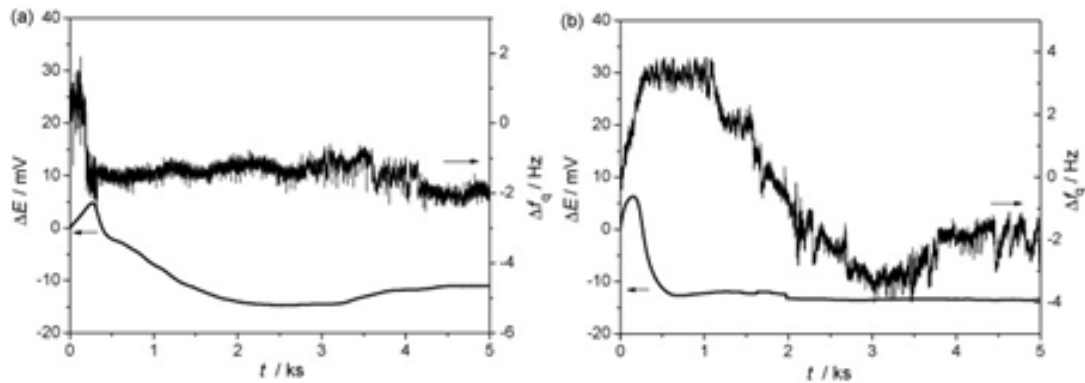


Figura 14: Variación del potencial de deposición de cobre (abajo) y frecuencia (arriba) en función del tiempo a un pH de 7 en una disolución tampón de fosfato 0.1 M sin BSA (a) y con BSA en 1 g/L (b). [66]

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Materiales

En la realización de este TFG se han empleado dos materiales metálicos. Se ha utilizado oro como metal de comparación y cobre como metal de estudio.

El electrodo de oro se ha escogido como material de referencia para el estudio de la electrodeposición de cobre y adsorción de proteína debido a que es un metal noble de elevada resistencia al ataque corrosivo. Su área, determinada mediante la medida del diámetro (0.3 cm) con ayuda de un pie de rey y calculada sabiendo que se trata de una superficie circular, es de 0.071 cm^2 . El electrodo de oro puede verse en la figura 15.



Figura 15: Electrodo de oro empleado durante los ensayos.

Mientras que el electrodo de cobre se ha utilizado por sus propiedades antibacterianas a temperatura ambiente y con duración a largo plazo. Además, como se ha visto en el punto 5.2.1. de la memoria, el cobre en aleaciones de titanio en una concentración de 5% en peso es capaz de mejorar las propiedades mecánicas del titanio, lo cual es útil para la implantología oral. Su área se ha calculado exactamente igual que la del electrodo de oro puesto que también se trata de una superficie circular. Para un diámetro de 0.75 cm se ha obtenido un área de 0.442 cm^2 . El electrodo de cobre puede verse en la figura 16.



Figura 16: Electrodo de cobre empleado durante los ensayos.

7.1.1. Preparación superficial

Antes de cada ensayo electroquímico es necesario preparar la superficie metálica del electrodo para eliminar impurezas que hayan quedado depositadas sobre la superficie en ensayos anteriores. En el caso concreto del electrodo de oro los pasos necesarios para pulir su superficie se pueden ver a continuación y deben realizarse en el orden marcado:

- Enjuagar con etanol y agua destilada la superficie del electrodo.
- Pulido manual con polvo de alúmina (Al_2O_3) y agua destilada haciendo pequeños movimientos en forma de ocho sobre un paño duro de pulir colocado en el fondo de una placa Petri.
- Enjuagar la superficie del electrodo con agua destilada.

En el caso del electrodo de cobre la preparación de la superficie es diferente a la del oro. Se realiza un desbaste húmedo con papel de carburo de silicio (SiC) resistente al agua de 200 mm de diámetro de distintas granulometrías (500, 1000 y 4000, este último para conseguir un pulido casi perfecto). Estas tres lijas o papeles de SiC se pueden observar en la figura 17.



Figura 17: Papel de SiC de granulometrías de izquierda a derecha: 500, 1000 y 4000.

Estos papeles de SiC se colocan de menos granulometría (arriba) a más granulometría (abajo) en una pulidora modelo Struers LaboPol-21 (figura 18), concretamente en el plato de disco de la izquierda.



Figura 18: Pulidora modelo Struers LaboPol-21.

La superficie metálica del electrodo debe colocarse perpendicularmente al papel de SiC ejerciendo una pequeña fuerza constante para que no se formen biseles en la superficie. Finalmente, una vez se ha terminado el proceso de pulido se seca la superficie de cobre con aire a presión.

7.2. Disoluciones

Las disoluciones que se han utilizado en este TFG para actuar como electrolito son disoluciones ácidas, concretamente de un pH aproximadamente de 1 medido con papel indicador en el laboratorio. Se han preparado a este pH ya que se sabe que a pH 1 la resistencia que opone el electrolito es despreciable y de esta forma se asegura que no hayan problemas de caída óhmica que deban compensarse. [69]

Estas disoluciones electrolito están compuestas por ácido sulfúrico (H_2SO_4) en una concentración de 0.5 M y por distintas concentraciones de sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ya que se ha estudiado que para la electrodeposición de cobre los principales electrolitos utilizados contienen sulfatos. Dichas disoluciones se encuentran numeradas en la tabla 2. Además, al encontrarse a pH 1 se sabe que los iones de cobre que están presentes en el medio, según el diagrama de Pourbaix (E vs pH) del cobre, son iones Cu^{+2} . [69, 70]

Tabla 2: Composición de las disoluciones electrolito.

Disoluciones electrolito	
Disolución 1	0,5M H_2SO_4 + 100 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Disolución 2	0,5M H_2SO_4 + 50 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Disolución 3	0,5M H_2SO_4 + 10 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Disolución 4	0,5M H_2SO_4 + 5 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Disolución 5	0,5M H_2SO_4 + 2 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Disolución 6	0,5M H_2SO_4 + 1 mM $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

La preparación de las disoluciones electrolito se realizó preparando la más concentrada en sulfato de cobre pentahidratado y a partir de ésta haciendo diluciones de la misma se iban preparando las menos concentradas.

Para preparar la disolución más concentrada (disolución número 1 de la tabla 2), se han realizado los siguientes cálculos analíticos teniendo en cuenta que la disolución se va a preparar en un matraz de 1 litro:

Ácido sulfúrico (H_2SO_4)

El dato de riqueza, densidad y peso molecular han sido tomados de la ficha de la sustancia pegada en la misma botella.

$$[] = \frac{n}{V} \rightarrow 0.5 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = \frac{n}{1\text{L}} \rightarrow n = 0.5 \text{ mol}$$

$$n = \frac{m}{\text{PM}} \rightarrow 0.5 \text{ mol} = \frac{m}{98 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \rightarrow m = 49\text{g}$$

Aplicando la riqueza del ácido sulfúrico: 96%

$$m_{\text{final}} = \frac{49}{0.96} = 51.04\text{g}$$

$$\rho = \frac{m_{\text{final}}}{V} \rightarrow 1840 \frac{\text{g}}{\text{L}} = \frac{51.04\text{g}}{V} \rightarrow V = 0.0277\text{L} = 27.7 \text{ mL}$$

Sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)

$$[] = \frac{n}{V} \rightarrow 100 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{L}} = \frac{n}{1\text{L}} \rightarrow n = 0.1 \text{ mol}$$

$$n = \frac{m}{\text{PM}} \rightarrow 0.1 \text{ mol} = \frac{m}{249.5 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \rightarrow m = 24.95\text{g}$$

Una vez conocidos los valores de ácido sulfúrico y de sulfato de cobre pentahidratado necesarios para obtener la disolución deseada, se fue a la campana (puesto que los vapores del H_2SO_4 son tóxicos por inhalación) y mediante una pipeta graduada se tomaron 27.7 mL y se llevaron a un vaso de precipitados. Por otra parte, con ayuda de la balanza analítica de la marca Sartorius se pesaron 24.95 g del sulfato de cobre pentahidratado en un vaso de precipitados.

Finalmente se añade agua destilada en el vaso de precipitados que contiene al sulfato de cobre pentahidratado para que se vaya disolviendo poco a poco en ésta y se va echando cuidadosamente en el interior del matraz aforado de 1 litro. También se añade en el matraz los 27.7 mL de ácido sulfúrico y se enrasa con agua destilada hasta 1 litro en el matraz. De esta forma ya se tiene preparada la disolución número 1.

El resto de disoluciones electrolito se obtienen mediante diluciones de la disolución número 1. Por ejemplo, a continuación se va a calcular como obtener la disolución número 2 de la tabla 2 y el resto de disoluciones se hace del mismo modo.

Mediante la siguiente expresión: $C_{\text{final}} \cdot V_{\text{final}} = C_{\text{inicial}} \cdot V_{\text{inicial}}$ se despeja que volumen de disolución 1 hay que tomar para obtener la concentración deseada. El volumen al que se han llevado el resto de disoluciones es de 250 mL.

En el caso preparar la disolución 2:

$$50 \text{ mM} \cdot 250 \text{ mL} = 100 \text{ mM} \cdot V_{\text{inicial}}$$

$$V_{\text{inicial}} = 125 \text{ mL}$$

Hay que tomar 125 mL de la disolución 1 y enrasar hasta 250 mL con otra disolución de H_2SO_4 0.5 M que se ha preparado a parte en otro matraz de 1 litro pipeteando 27.7 mL de la botella y aforando a 1 litro con agua destilada.

Del mismo modo a partir de la disolución 1 de la tabla 2 y enrasando a 250 mL con la disolución de ácido sulfúrico 0.5 M se preparan las cuatro disoluciones restantes. En la tabla 3 se muestran los volúmenes de disolución 1 que hay que tomar para preparar cada disolución.

Tabla 3: Volumen de disolución 1 necesario para preparar el resto de disoluciones.

Disolución a preparar	V en mL que hay que tomar de la disolución 1
Disolución 3	25
Disolución 4	12,5
Disolución 5	5
Disolución 6	2,5

De esta forma ya se tienen preparadas todas las disoluciones electrolito necesarias para el desarrollo experimental.

Por otro lado, para el estudio de adsorción de BSA sobre las superficies de oro y cobre es necesario preparar una serie de disoluciones. Primero se prepara la disolución salina de fosfato tamponada (PBS), la cual es necesaria para enrasar la disolución de BSA y también para enjuagar la superficie del electrodo con BSA adsorbida antes de empezar cada ensayo electroquímico.

Esta disolución PBS está compuesta por cuatro productos químicos: cloruro sódico (NaCl) en concentración de 8 g/L, cloruro potásico (KCl) en concentración de 0.2 g/L, fosfato disódico (Na_2HPO_4) en concentración de 1.44 g/L y fosfato monopotásico (KH_2PO_4) en concentración de 0.25 g/L. Pero por motivos de escasez de fosfato disódico en el laboratorio se ha sustituido este producto por fosfato dipotásico (K_2HPO_4), también en concentración de 1.44 g/L, debido a que presentan unas propiedades químicas muy similares y la disolución PBS no se ve afectada prácticamente por este cambio.

Esta disolución se prepara en un matraz aforado de 1 litro de capacidad. Para ello se pesan, con ayuda de la balanza de precisión de la marca Sartorius, 8 g de cloruro sódico, 0.2 g de cloruro potásico, 1.44 g de fosfato dipotásico y 0.25 g de fosfato monopotásico. Una vez tenemos las masas deseadas de cada componente, se mezclan en un vaso de precipitados y se añade agua destilada para empezar a disolver la mezcla y se vierte finalmente en el matraz aforado y se enrasa con agua destilada hasta alcanzar 1 litro.

En este TFG se han preparado tres disoluciones de BSA en concentraciones de 1 g/L, 0.1 g/L y 0.01 g/L. Estas disoluciones deben ser almacenadas en la nevera puesto que la BSA se coagula con facilidad por el calor y además se debe tener en cuenta que estas disoluciones solo son útiles para trabajar con ellas poco tiempo desde el momento en el que se preparan ya que, como se ha mencionado en el punto 6.1.1. de la memoria, la BSA tiene una vida aproximada de 19 días.

Del mismo modo que en la preparación de las disoluciones electrolito, también se comienza preparando la disolución más concentrada en BSA, es decir, la de 1 g/L. Dicha disolución se va a preparar para un volumen de 250 mL. La masa de BSA necesaria para obtener dicha concentración es de:

$$[\] = \frac{m}{V} \rightarrow 1 \frac{\text{g}}{\text{L}} = \frac{m}{0.25\text{L}} \rightarrow m = 0.25 \text{ g}$$

Por lo tanto, con ayuda de la balanza de precisión de la marca Sartorius se pesan 0.25 g de BSA y se llevan al matraz de 250 mL donde se enrasa con la disolución PBS preparada previamente. Hay que tener especial precisión en el aforamiento de estas disoluciones puesto que al disolverse la BSA en la disolución PBS se forma bastante espuma que impide observar fácilmente si se ha enrasado correctamente o no.

A partir de diluciones de esta disolución de 1 g/L de BSA se obtienen las otras dos disoluciones de 0.1 g/L y 0.01 g/L.

Para la de 0.1 g/L de BSA:

$$0.1 \frac{\text{g}}{\text{L}} \cdot 250 \text{ mL} = 1 \frac{\text{g}}{\text{L}} \cdot \text{Vincial}$$

$$\text{Vincial} = 25 \text{ mL}$$

Tomando con una pipeta aforada 25 mL de la disolución de 1 g/L de BSA y aforando hasta 250 mL con la disolución de PBS se obtiene la disolución de 0.1 g/L de BSA.

Del mismo modo, para la preparación de la disolución de 0.01 g/L de BSA se toman mediante una pipeta aforada 2.5 mL de la disolución de 1 g/L de BSA y aforando hasta 250 mL con la disolución de PBS se obtiene dicha disolución.

De esta forma ya se tienen preparadas todas las disoluciones requeridas para la realización de este TFG.

7.3. Instrumentación electroquímica

En este TFG se ha utilizado para la realización de los ensayos electroquímicos una celda vertical electroquímica de tres electrodos conectada a un potencióstato. En la figura 19 puede observarse el esquema general del montaje experimental necesario para la realización de los ensayos.



Figura 19: Montaje experimental del dispositivo electroquímico.

La celda electroquímica está compuesta por un electrodo de referencia de Ag/AgCl 3M KCl ($E^{\circ}=0.205\text{ V}$ respecto al electrodo de hidrógeno estándar [53]), un contraelectrodo o electrodo auxiliar de platino y un electrodo de trabajo (oro o cobre) acoplado a un electrodo de disco rotatorio (RDE). Estos pueden observarse en la figura 20.



Figura 20: En la fotografía a) el electrodo de la izquierda es el contraelectrodo de Pt y el de la derecha es el electrodo de referencia de Ag/AgCl, mientras que en la figura b) está el RDE. [71]

Puesto que lo que se estudia en este TFG es la electrodeposición de un metal, el electrodo auxiliar de Pt se encarga de disolver el metal depositado con la finalidad de tener siempre una concentración constante del ión metálico en el electrolito. Mientras que el electrodo de referencia es necesario puesto que al introducir un electrodo en el interior de un electrolito se establece entre ellos una diferencia de potencial imposible de medir de forma absoluta, por lo que es necesario medirla en comparación con un electrodo de potencial conocido, el electrodo de referencia. [72, 73]

El RDE, concretamente el modelo RDE-2 034 de Autolab, se utiliza puesto que permite evitar los fenómenos de transporte girando a una velocidad controlada por el Motor Controller.

Para el control de la atmósfera se utiliza un burbujeador que permite dosificar nitrógeno y realizar los ensayos en ausencia de oxígeno ya que éste es una especie oxidante, por lo que al trabajar con barridos catódicos el oxígeno se reduce y en este TFG solo se desea observar la reducción de iones de cobre a cobre metálico. Esto se consigue burbujeador nitrógeno ultra puro durante los 10 minutos previos al comienzo de cada experimento electroquímico.

Finalmente la celda vertical electroquímica, la cual se observa en la figura 21a, es la que contiene la disolución electrolito en su interior, a los tres electrodos y al dosificador de nitrógeno. Esta celda electroquímica está conectada a un baño termostático (figura 21b) para mantener la temperatura de la celda constante a 25°C durante cada experimento.

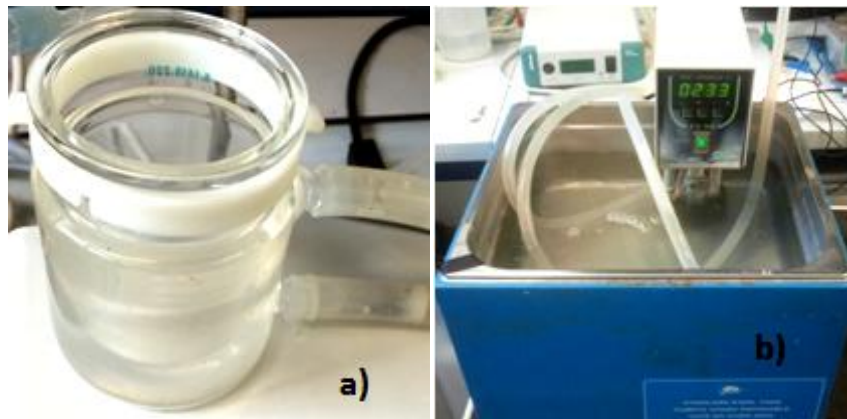


Figura 21: En la imagen a) se encuentra la celda vertical electroquímica vacía de los ensayos mientras que en la imagen b) se puede ver el baño termostático empleado.

El montaje experimental de la celda es sencillo. Lo primero que se debe hacer es conectar el baño termostático y fijar la temperatura deseada (25°C en este TFG) para que el baño vaya cogiendo la temperatura, a continuación una vez depositada la disolución electrolito en el interior de la celda se colocan los electrodos en las posiciones oportunas y aproximadamente deben estar a la misma altura. Una vez la celda está totalmente cerrada se comienza a burbujear el nitrógeno para eliminar el oxígeno disuelto en el electrolito. En la figura 22 se muestra la celda electroquímica, los electrodos y el burbujeador de nitrógeno.

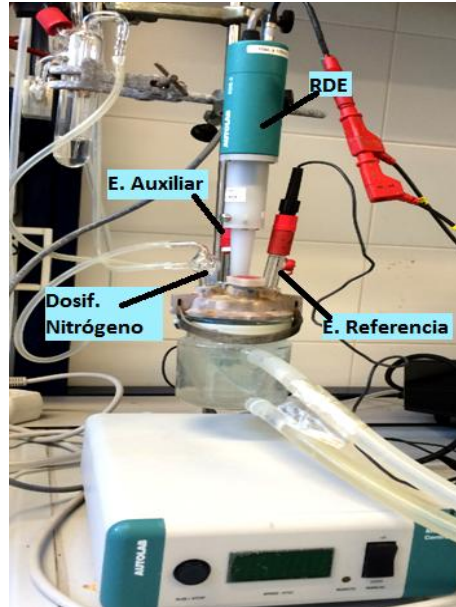


Figura 22: Montaje experimental de la celda electroquímica con los tres electrodos.

Acoplado a la celda electroquímica y para la realización de los ensayos electroquímicos se ha utilizado un potenciostato o galvanostato, concretamente el modelo PGSTAT302N (figura 23). Este dispositivo se encarga de aplicar entre los electrodos de trabajo y el de referencia un potencial que el usuario desee y mide la corriente que está circulando entre el contraelectrodo y el electrodo de trabajo.



Figura 23: Potenciostato modelo PGSTAT302N que se ha utilizado en el TFG.

Una vez hecho todo esto ya se tiene el montaje experimental preparado y se está en condiciones de empezar a ensayar.

7.4. Técnicas electroquímicas

Las técnicas electroquímicas que se han utilizado en este TFG mediante el uso del software GPES que controla el potenciostato son las siguientes:

7.4.1. Voltametría cíclica

Esta técnica consiste en aplicar un barrido de potencial a medida que se registra la respuesta en corriente del sistema desde un valor de potencial dado ($E_{inicial}$) hasta un valor de potencial final (E_{final}) y de nuevo al potencial inicial. En este TFG se ha escogido un potencial final suficientemente catódico como para poder observar un pico de corriente que de información de cuánto metal se ha depositado sobre la superficie del electrodo. Una vez alcanzado (E_{final}), se repite el mismo barrido pero en sentido inverso hasta llegar al valor de ($E_{inicial}$), esto muestra el pico anódico que explica cuánta cantidad de metal depositado se ha disuelto de nuevo en el electrolito. Además, la voltametría cíclica permite hacer sucesivas repeticiones del ciclo. Los valores que interesan extraer principalmente de este tipo de ensayo es las intensidades o densidades de corriente anódica y catódica con sus correspondientes potenciales de pico. Dos ejemplos de voltametrías cíclicas pueden observarse en la figura 24.

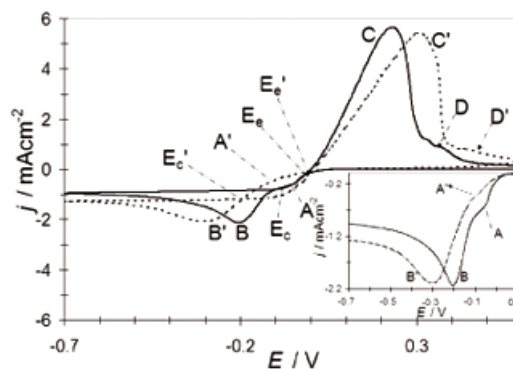


Figura 24: Dos ejemplos de voltametrías cíclicas obtenidas sobre un electrodo de carbono vítreo (línea continua) y sobre un electrodo de grafito pirolítico altamente orientado (línea discontinua). [70]

La secuencia llevada a cabo para el trazado de las voltametrías cíclicas es la siguiente:

- Pretratamiento aplicando un potencial de 0.5 V, potencial muy superior al de oxidación del cobre depositado, durante 120 segundos para eliminar el posible cobre que aún quede depositado sobre la superficie del electrodo del ensayo anterior.

- Cuatro voltametrías cíclicas desde un valor de E_{inicial} de 0.5 V hasta un E_{final} de -0.22V a una velocidad de barrido de 0.01 V/s. Estos ensayos se han hecho tanto en estado estacionario como a distintas velocidades de rotación mediante el RDE.

No obstante, tras realizar los primeros ensayos de voltametrías cíclicas se observó que un valor de E_{final} de -0.22V no era suficiente para poder determinar el pico de intensidad catódica. Por tanto, se ha realizado otro barrido hasta un valor de E_{final} de -1 V. De esta forma ya se puede ver perfectamente el pico de intensidad catódico y por tanto saber cuánto cobre se deposita sobre la superficie de cada electrodo.

7.4.2. Cronoamperometria

Esta técnica electroquímica se basa en aplicar un pulso de potencial lo suficientemente grande como para que se produzca la deposición del metal sobre la superficie del electrodo (potencial de deposición) y registrar la respuesta del sistema en corriente. Estos ensayos permiten analizar la evolución temporal de la corriente. En este TFG las cronoamperometrías se han empleado fundamentalmente para comparar los resultados experimentales frente a modelos de nucleación progresiva o instantánea. En la figura 25 se pueden observar ensayos cronoamperométricos a distintos potenciales de deposición.

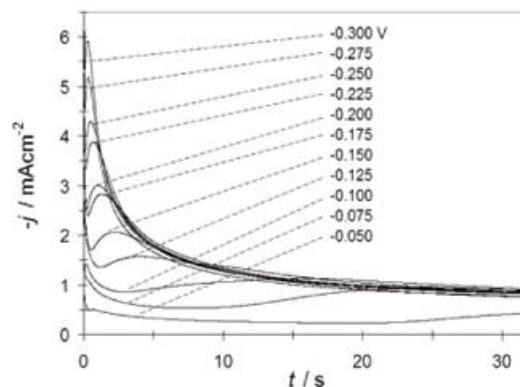


Figura 25: Ejemplo de cronoamperometria aplicada en un electrodo de carbono vítreo a distintos potenciales de deposición. [70]

Los ensayos cronoamperométricos que se han realizado en este TFG se han programado para estar dos minutos a un potencial de 0.5 V, para disolver el poco cobre que aún esté depositado del ensayo anterior sobre la superficie metálica, aplicar durante cinco minutos un potencial cercano al potencial a circuito abierto (OCP) del par $E_{\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}}$, el cual se ha determinado con ayuda de la ecuación de Nernst en función del pH del electrolito.

$$E_{\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}} = E_{\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}}^0 - \frac{0.059}{n} \cdot \text{pH} \quad [\text{Ecuación II}]$$

Donde $E_{\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}}^0 = 0.34 \text{ V}$ [74], n es el número de electrones que se transfieren del electrolito a la superficie metálica (en el caso del Cu^{+2} a Cu^0 el valor de n es de 2) y el pH vale 1. Entonces el valor de OCP que se debe introducir en el procedimiento es de:

$$E_{\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}} = 0.34 - \frac{0.059}{2} \cdot 1 = 0.31 \text{ V}$$

Se aplica entonces durante cinco minutos un potencial de 0.31 V y finalmente otros cinco minutos al potencial de deposición. Se han tomado distintos valores de potencial de deposición para poder compararlos posteriormente y ver su influencia en la deposición y oxidación del cobre, estos valores son: -0.05V, -0.1V, -0.15V, -0.2V, -0.25V y -0.3V.

7.5. Instrumentación estudio morfológico

Para analizar cuál es la densidad de población de núcleos de cobre depositados y el tamaño de éstos en función de parámetros como la concentración de iones metálicos en el electrolito, el potencial de deposición aplicado.etc. se ha utilizado las técnicas de microscopía óptica y electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM).

Para ello se hace uso de la microscopía confocal, exactamente el modelo Olympus Lext Halcyonics OLS3100, el cual se puede observar en la figura 26 junto al software Lext Ols empleado para manipular el microscopio y su toma de datos. Este tipo de microscopía óptica de imagen se basa en el aumento del contraste de la imagen para hacer que desaparezcan aquellos destellos de la lente en objetos de mayor grosor que el plano confocal, por parte de un colimador de orificio delimitante, con la finalidad de obtener una estructura tridimensional de aquello que se va a observar. [75]

Por ello este microscopio permite observar estructuras tridimensionales y suele emplearse generalmente para la toma de imágenes de la superficie de materiales tanto en dos dimensiones como en tres dimensiones. Este microscopio cuenta con seis aumentos: x2.5, x5, x10, x20, x50 y x100 (aunque éste último no se ha empleado en este TFG) y una de las ventajas que presenta es que no necesita que las muestras se sometan a una preparación previa.

Proceso de disolución-deposición de cobre en presencia de la proteína albúmina (BSA) mediante técnicas electroquímicas

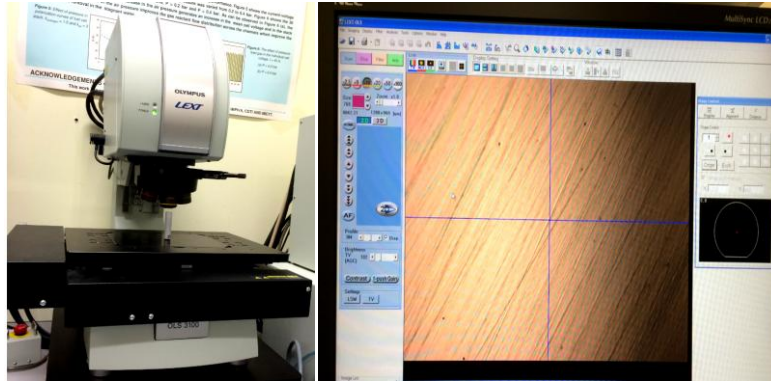


Figura 26: La imagen de la izquierda corresponde al microscopio confocal Olympus Lext mientras que la imagen de la derecha corresponde al software de trabajo Lext Ols.

En el Servicio de Microscopía Electrónica situado en la Universidad Politécnica de Valencia se ha utilizado el microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) de la marca Gemini, el cual se puede ver en la figura 27a.

Este tipo de microscopía electrónica presenta una excelente resolución de las imágenes tomadas y esto es gracias al barrido de haz de electrones de baja y alta energía, los cuales están muy focalizados, que se proyectan sobre la superficie que se desea estudiar su morfología. Además, en el FESEM se puede controlar mediante una serie de ruedas que hay en el teclado del monitor, tanto la profundidad a la que se desea llegar, como el astigmatismo de la imagen, el contraste, el brillo y el enfoque de la imagen. Por todo ello, las imágenes obtenidas por este tipo de microscopía son de una excelente calidad.

Este microscopio requiere que se introduzcan únicamente muestras de longitud máxima de 45 mm, por lo que al solo haber un electrodo de oro en el laboratorio y éste exceder dicha altura, no se pudo observar su morfología. El resto de muestras se han colocado en un portamuestras fijados con cinta adhesiva de grafito entre ellas y con el mismo portamuestras para evitar que se vuelquen en el interior del FESEM. Este portamuestras puede observarse en la figura 27b.

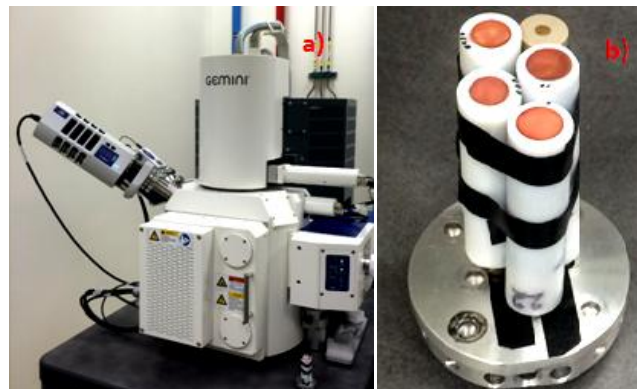


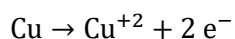
Figura 27: La imagen a) corresponde al microscopio FESEM empleado en el TFG mientras que la imagen b) corresponde al portamuestras del FESEM con los electrodos utilizados.

8. RESULTADOS

En este punto de la memoria se muestran los resultados obtenidos, mediante técnicas electroquímicas y microscopia de barrido, del estudio de los mecanismos de difusión de los iones Cu^{+2} cuando se electrodepositan sobre electrodos de cobre y de oro en presencia y ausencia de proteína BSA. Además se ha estudiado como afecta la concentración de CuSO_4 en el electrolito, la velocidad de rotación del RDE y el potencial de deposición en la electrodeposición-oxidación de cobre y en la densidad de población y tamaño de los núcleos de cobre depositados.

8.1. Estudios preliminares

En esta primera etapa se realizaron estudios electroquímicos respecto al RDE de oro. Se comenzó a realizar voltametrías cíclicas entre un rango de potenciales desde 0.5 V hasta -0.22 V, ya que se sabe teóricamente que a ese potencial catódico la electrodeposición de cobre tiene una eficiencia de prácticamente 100%. Tras observar los resultados obtenidos, se vio que el pico catódico en las voltametrías cíclicas no se definía claramente en las condiciones de trabajo utilizadas (pH en torno a 1, temperatura 25 °C y en atmósfera nitrogenada). Esto se puede comprobar en la figura 28, correspondiente a los resultados realizados para analizar el efecto de la velocidad de rotación del RDE sobre la electrodeposición de cobre. Se puede observar que el pico catódico no se define fácilmente a pesar de que el anódico sí, lo cual permite ver la cantidad de cobre metálico depositado sobre la superficie metálica que se disuelve y pasa a formar parte del electrolito en forma de iones Cu^{+2} . La reacción anódica es la siguiente:



La figura 28 también permite observar como a más velocidad de rotación del RDE mayores picos anódico y catódico se obtienen, lo que implica que más cantidad de cobre se disuelve y electrodeposita sobre las superficies de los electrodos respectivamente. Esto es debido a que cuando se aumenta la velocidad de rotación del RDE el efecto de la convección de los iones Cu^{+2} hacia la superficie de oro aumenta, y éste sumado al efecto natural de difusión de estos iones genera que se electrodeposite más cantidad de cobre en la superficie del RDE. Por otro lado, los picos anódicos, además de aumentar la densidad de corriente cuando las revoluciones por minuto del RDE aumentan, se desplazan de manera leve hacia potenciales más positivos. En las figuras 28, 29 y 30 se muestra el cuarto barrido que se ha realizado a cada velocidad de rotación.

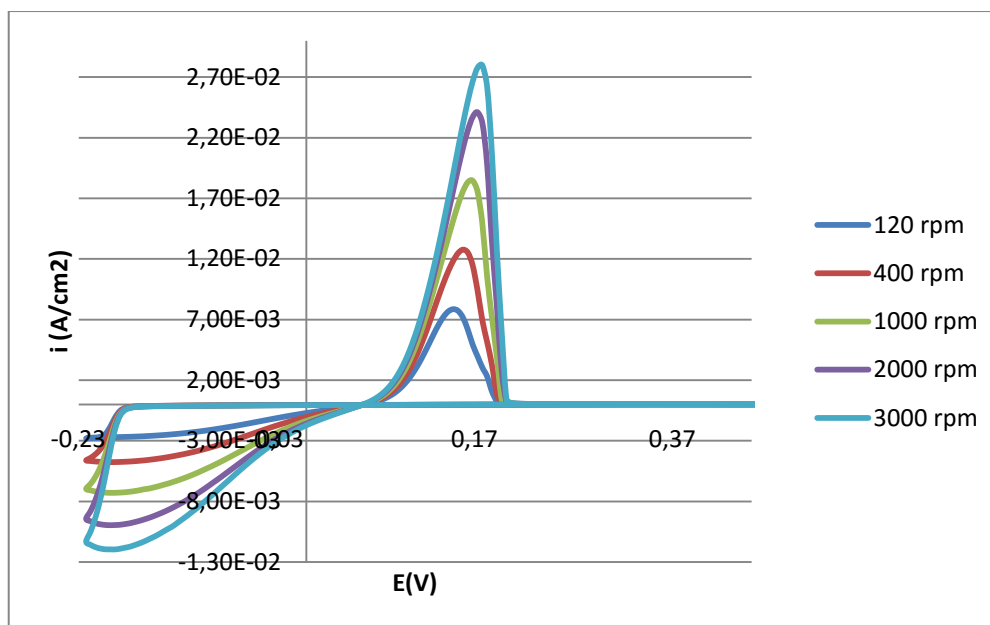


Figura 28: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas velocidades de rotación del RDE en un electrolito compuesto por 10 mM CuSO_4 y 0.5 M H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, Temperatura de 25 °C, Electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Además también se ha observado que a concentraciones mayores de CuSO_4 en el electrolito este cambio a potenciales positivos en el pico anódico conforme aumenta la velocidad de rotación del RDE es mucho más pronunciado. Véase en la figura 29.

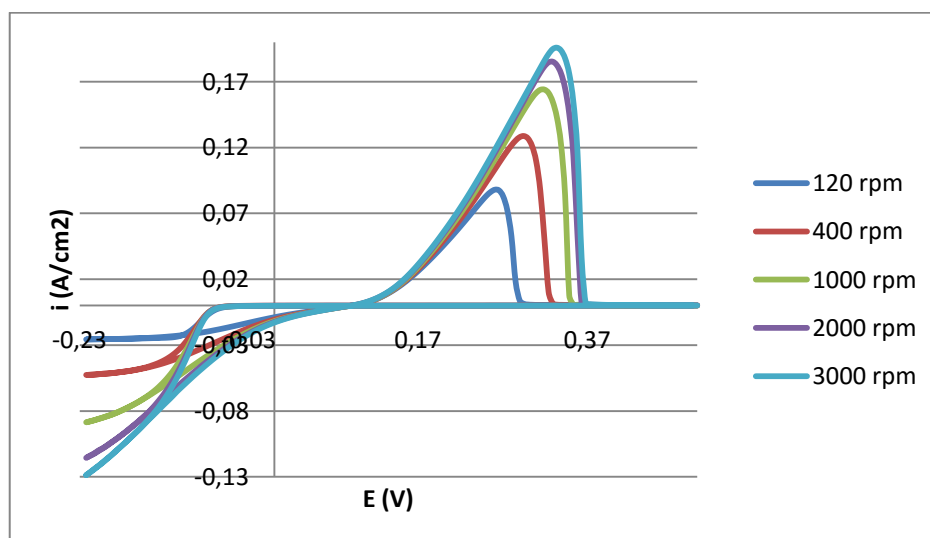


Figura 29: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas velocidades de rotación del RDE en un electrolito compuesto por 100 mM CuSO_4 y 0.5 M H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, Temperatura de 25 °C, Electrodo de referencia de Ag/AgCl).

En la figura 30 se observa lo mencionado anteriormente, que a mayores concentraciones de CuSO_4 en el electrolito, más alto es el pico anódico y más positivo es el potencial de dicho pico anódico. Esto indica que al aumentar la concentración de CuSO_4 en el electrolito la oxidación del cobre depositado se da a mayores potenciales. La velocidad de oxidación es prácticamente la misma puesto que la pendiente de densidad de corriente desde el cero hasta el valor de densidad de corriente de pico anódica (i_{pa}) es la misma independientemente de la concentración. La caída de densidad de corriente desde (i_{pa}) hasta cero se da cuando ya no queda cobre depositado en la superficie del electrodo de oro y por tanto la oxidación termina.

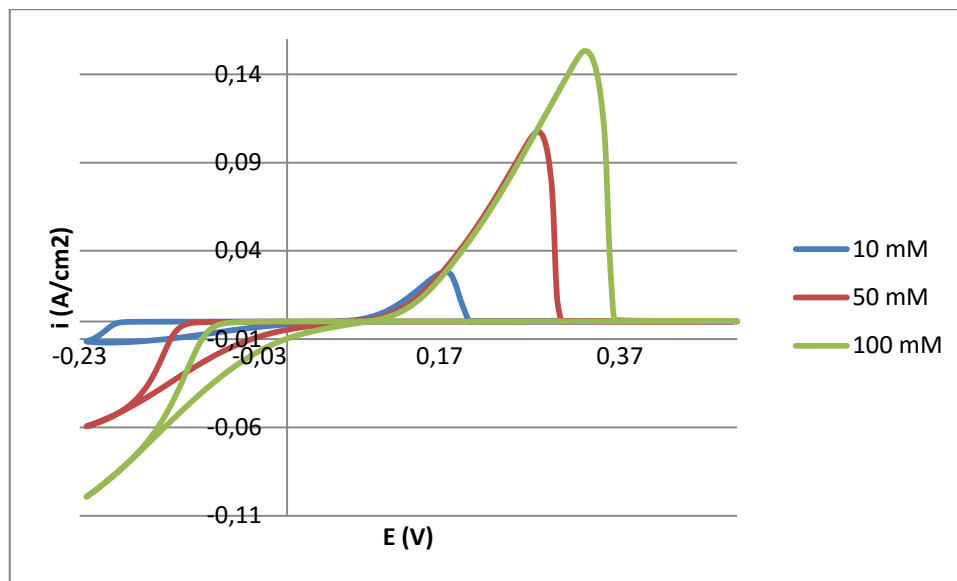


Figura 30: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas concentraciones de CuSO_4 en el electrolito a una velocidad de rotación del RDE de 3000 rpm. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, Temperatura de 25 °C, Electrodo de referencia de Ag/AgCl).

También se ha observado que para concentraciones tan bajas como son 1 y 2 mM de CuSO_4 el pico anódico es muy pequeño y por tanto difícil de identificar con precisión. Además a estas concentraciones tan bajas la electrodeposición y siguiente oxidación es muy baja como muestran los valores de densidad de corriente del orden de $10^{-5} \frac{\text{A}}{\text{cm}^2}$. Por ello, se decidió dejar de trabajar con el electrolito de 2 mM de CuSO_4 en todos los ensayos posteriores del TFG ya que no hay apenas diferencia con la disolución de 1 mM de CuSO_4 . Todo esto se puede observar en la figura 31.

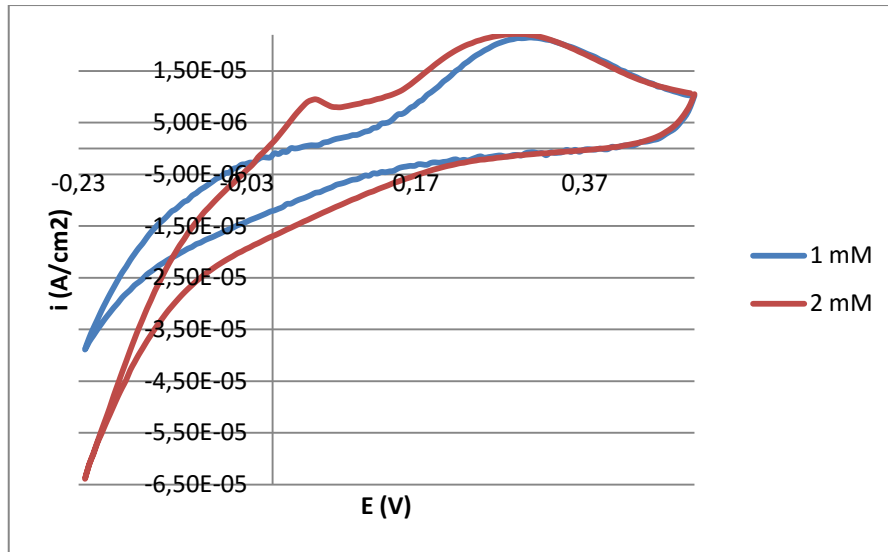


Figura 31: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a la concentración de CuSO_4 de 1 mM y 2 mM en el electrolito a una velocidad de rotación del RDE de 3000 rpm. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, Temperatura de 25 °C, Electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Por otro lado, se ha calculado la cantidad de cobre que se ha depositado sobre la superficie de oro y la cantidad de cobre que se ha oxidado posteriormente. Para ello, ha sido necesario obtener la evolución temporal de la densidad de corriente, la cual se ve en la figura 32. Dichos valores de tiempo han sido determinados a partir de la expresión que relaciona el valor del potencial aplicado con el tiempo, la cual se muestra a continuación:

$$\frac{E(t) - E_0}{-v} = t \quad [\text{Ecuación III}]$$

Donde $E(t)$ corresponden a los valores experimentales del barrido de potencial aplicado durante la voltametría cíclica, E_0 corresponde al valor del potencial inicial aplicado en el barrido (0.5 V) y v es la velocidad de barrido con la que se ha realizado la voltametría cíclica, cuyo valor es de 0.01 V/s.

La cantidad de cobre que se deposita y se oxida sobre el electrodo de oro se determina a partir de la integral de la densidad de corriente en función del tiempo, es decir a partir de la carga acumulada que se da durante la reducción y la oxidación respectivamente.

$$\text{Cantidad de cobre depositado: } q_{\text{catódico}} = \int_0^t i(t) dt \quad [\text{Ecuación IV}]$$

$$\text{Cantidad de cobre oxidado: } q_{\text{anódico}} = \int_0^t i(t) dt \quad [\text{Ecuación V}]$$

Dichas integrales se han resuelto empleando el método de integración numérica conocido como regla del trapecio, tomando un valor de intervalo de tiempo (h) de 0.4883 s. La integral por la regla del trapecio se resuelve de la siguiente forma:

$$q = \frac{h}{2} \cdot \left(y_0 + 2 \cdot \sum_0^t y_t + y_n \right) \quad [\text{Ecuación VI}]$$

Donde y_0 y y_n son el primer y último valor de densidad de corriente respectivamente de la curva del gráfico de donde se desea obtener el área o carga. Los valores de y_t corresponden a los valores de densidad de corriente comprendidos entre y_0 y y_n .

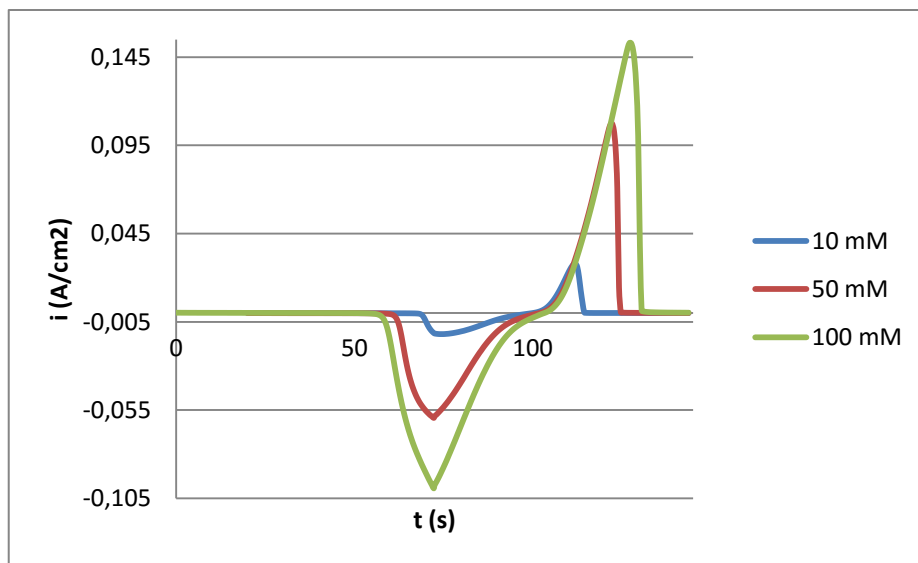


Figura 32: Valores de densidad de corriente frente al tiempo a distintas concentraciones de CuSO_4 en el electrolito a una velocidad de rotación del RDE de oro de 3000 rpm. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

La carga catódica obtenida mediante la regla del trapecio para una concentración de 50 mM de CuSO_4 en el electrolito es de:

$$q_{\text{cat}} = \frac{0.4883}{2} \cdot (-9.109 \cdot 10^{-7} + 2 \cdot (-2.128 \cdot 10^{-7} - \dots - 2.741 \cdot 10^{-4}) - 5.906 \cdot 10^{-5})$$

$$q_{\text{cat}} = 1.1021 \frac{\text{C}}{\text{cm}^2}$$

Del mismo modo se ha calculado el valor de la carga anódica para esa concentración de sulfato de cobre y ambas cargas para la concentración de 10 y 100 mM de CuSO_4 . Estos valores se exponen en la tabla 4 y se han representado en la figura 33.

Tabla 4: Valores de las cargas catódicas y anódicas obtenidas a tres concentraciones distintas de sulfato de cobre en el electrolito.

[CuSO ₄] (mM)	q _{cat} (C/cm ²)	q _{ano} (C/cm ²)
10	0,2055	0,1676
50	1,1021	0,8988
100	2,0062	1,6631

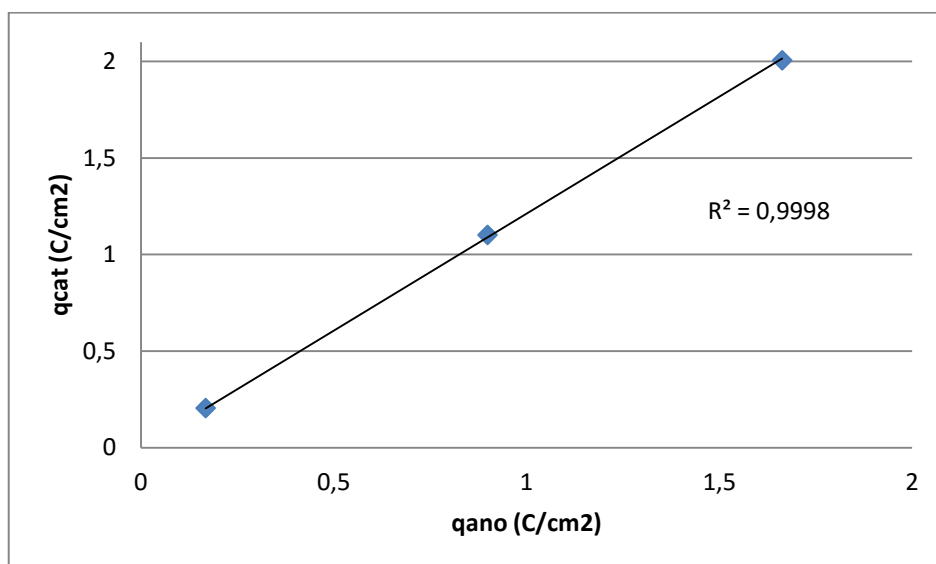


Figura 33: Valores de la carga catódica frente a los de la carga anódica a distintas concentraciones de CuSO_4 en el electrolito a una velocidad de rotación del RDE de oro de 3000 rpm. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Ambos valores de carga catódica y anódica obtenidos en la tabla 4 son del mismo orden de magnitud para cada concentración de CuSO_4 en el electrolito, lo cual verifica que la cantidad de cobre que se deposita y se reduce sobre la superficie del electrodo es prácticamente la misma. Esto se corrobora mediante la figura 33 y su coeficiente de correlación lineal de prácticamente 1 que muestra que existe una relación de proporcionalidad directa entre las cargas catódica y anódica y también que ambas cargas presentan un valor muy similar. Dichos valores de cargas se corresponden con el orden de los datos que proporciona la bibliografía para los mismos electrolitos empleados en este TFG. La tabla 4 muestra también que a medida que la concentración de CuSO_4 en la disolución aumenta se obtiene mayor carga catódica y anódica, lo que implica que se deposita y oxida más cantidad de cobre que en el caso de electrolitos menos concentrados en CuSO_4 . [76]

Entonces, como conclusión de estos resultados preliminares, se ha visto que la oxidación del cobre se ve influenciada tanto por la velocidad de rotación del RDE como por la concentración de CuSO_4 en el electrolito. Al aumentar estos dos factores aumenta el valor de potencial de pico anódico, lo que significa que para que se oxide todo el cobre electrodepositado es necesario la aplicación de un mayor potencial, y también aumenta el valor de densidad de corriente de pico anódico como consecuencia de una mayor cantidad de cobre que se tiene que oxidar. Además, como muestran las figuras 29 y 30, la oxidación del cobre sobre superficies de oro se da entre potenciales de 0.15V y 0.35V y desde densidades de corriente muy pequeñas hasta $0.18 \frac{\text{A}}{\text{cm}^2}$ en el rango de velocidad de rotación del RDE y concentración de CuSO_4 en el electrolito estudiado.

Por otro lado, se ha comprobado mediante el cálculo de las cargas catódica y anódica que la cantidad de cobre que se deposita y oxida es la misma y dependiente de la concentración de sulfato de cobre en el electrolito.

8.2. Electrodeposición de cobre

8.2.1. Electrodeposición de cobre sobre oro

De los estudios preliminares sobre RDE de oro se ha observado que con las voltametrías cíclicas que se aplicaron no fue suficiente para poder observar el pico catódico en función del potencial correspondiente a la electrodeposición de cobre en oro. Por ello se ha visto que se necesita un barrido catódico superior por lo que se ha decidido modificar el procedimiento de esta técnica electroquímica hasta un potencial de -1 V con el fin de asegurar poder ver dicho pico.

Al igual que en los estudios preliminares, se han hecho ensayos a cinco velocidades de rotación del RDE (120, 400, 1000, 2000, 3000 rpm) y a cinco concentraciones de CuSO_4 en el electrolito (1, 5, 10, 50 y 100 mM). Con el objetivo de mostrar únicamente los efectos de la concentración del CuSO_4 en el electrolito y la velocidad de rotación del RDE se han realizado dos gráficos donde se muestra el pico de densidad de corriente catódica en función de estos dos factores.

En la figura 34 se ha representado la densidad de corriente en función del potencial aplicado para cada velocidad de rotación del RDE de oro en una disolución de 100 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . Se observa que a medida que aumenta la velocidad de rotación del RDE se obtiene mayor pico de densidad de corriente catódico (i_{pc}) el cual corresponde al primer valor de la zona aproximadamente horizontal que se encuentra entre los dos descensos de densidad de corriente. Además, del mismo modo que ocurre en el caso de la oxidación en el barrido anódico, el potencial del pico catódico se va desplazando a potenciales más negativos conforme aumenta la velocidad de rotación del RDE. El rango de potencial de electrodeposición de cobre en superficies de oro va de aproximadamente -0.07V hasta -0.3V en el caso de las velocidades de rotación más elevadas y desde densidades de corriente muy pequeñas hasta $-0.2 \frac{\text{A}}{\text{cm}^2}$.

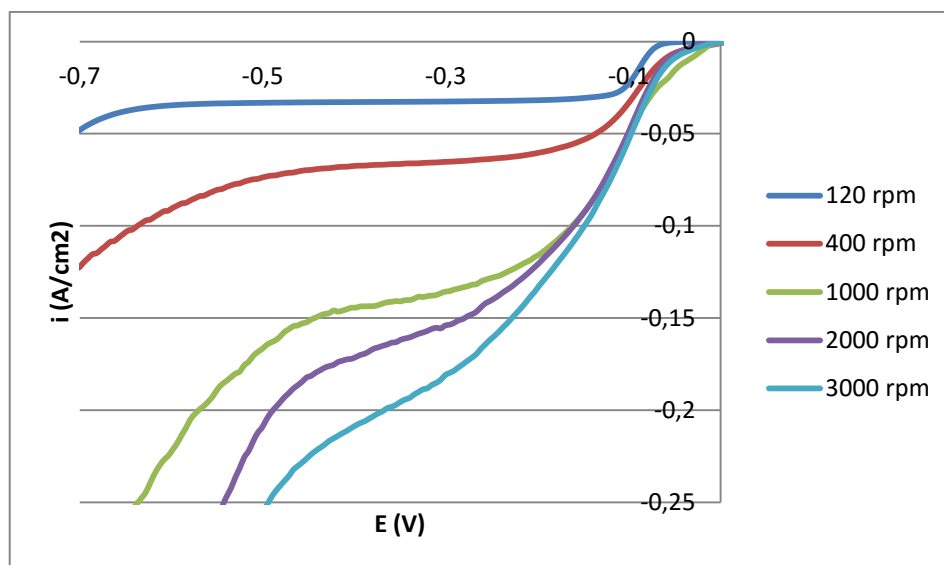


Figura 34: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas velocidades de rotación del RDE en una disolución de 100 mM CuSO₄ y 0.5 M H₂SO₄. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

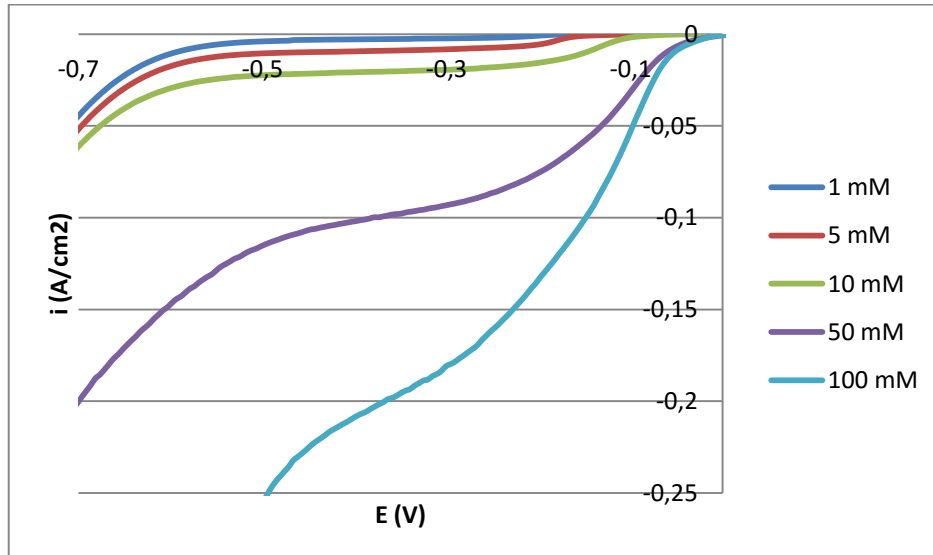
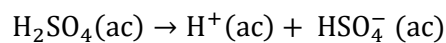


Figura 35: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas concentraciones de CuSO₄ en el electrolito a una velocidad de rotación del RDE de 3000 rpm. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

En la figura 35 se observa la densidad de corriente durante el barrido de potencial catódico a una velocidad de 3000 rpm de rotación del RDE en distintas concentraciones de CuSO₄. Se observa

que el aumento de la concentración de sulfato de cobre en el electrolito conlleva un aumento del (i_{pc}), además se ha observado que a mayores concentraciones de CuSO_4 en el electrolito el potencial al que comienza la electrodeposición de cobre disminuye, yendo por ejemplo desde -0.07 V a la concentración de 100 mM de CuSO_4 hasta -0.15 V a la menor concentración (1 mM), esto puede ser debido a que al haber más iones de Cu^{+2} en el electrolito a concentraciones altas es más fácil que los iones se reduzcan a cobre metálico en la superficie de oro. Por otro lado los valores de (i_{pc}) para la velocidad de rotación del RDE empleada van de valores del orden de $-10^{-4} \frac{\text{A}}{\text{cm}^2}$ hasta prácticamente $-0.2 \frac{\text{A}}{\text{cm}^2}$ en el caso del electrolito más concentrado en sulfato de cobre.

Tanto en la figura 34 como en la 35 se aprecian dos descensos exponenciales de la densidad de corriente y una zona aproximadamente horizontal entre ambos descensos. El primer descenso se sabe que corresponde a la reducción de los iones Cu^{+2} presentes en el electrolito a cobre metálico sobre la superficie metálica (en el caso de estos gráficos es oro). Al alcanzarse el valor de (i_{pc}) ya no se puede electrodepositar más cobre en la superficie de oro en las condiciones del sistema (la superficie se satura), por eso aunque el barrido de potencial se vaya cada vez a potenciales más negativos la densidad de corriente no varía considerablemente. Pero al llegar a potenciales muy negativos se observa otro descenso de la densidad de corriente el cual es debido a la existencia de un proceso adicional, la reducción sobre la superficie del metal del protón que hay presente en el electrolito como consecuencia de la disociación del ácido sulfúrico, la cual se muestra a continuación: [70]



Al aplicar potenciales tan negativos los protones presentes en el electrolito comienzan a reducirse sobre los núcleos de cobre metálicos recientemente depositados sobre la superficie metálica del RDE, lo cual puede observarse visualmente con la formación de muchas burbujas de hidrógeno sobre la superficie del electrodo las cuales se adsorben a dicha superficie. [77]

Además, el potencial al cual empieza a darse la reducción del protón es dependiente de los dos factores que se están estudiando en las figuras 34 y 35. De estas mismas figuras se observa que a menor valor de velocidad de giro del RDE y menor concentración de sulfato de cobre en el electrolito el potencial al cual comienza la reducción del protón sobre la superficie del electrodo es más negativo. Esto significa que es más costoso que se de esta reducción en estos casos puesto a que a velocidades de rotación bajas prácticamente no hay efecto de convección y es prácticamente todo difusión natural por lo que es mucho más lento y difícil que los protones lleguen a la superficie del electrodo. Mientras que en el caso de la concentración de sulfato de cobre, este potencial de reducción del protón tan negativo puede ser debido a que existe una posible co-reducción del protón y del ión Cu^{+2} y este hecho influye en que a menos cobre depositado sobre la superficie metálica del RDE menos protones pueden reducirse y por lo tanto hay menor formación de burbujas de hidrógeno que se adsorban sobre la capa de núcleos de cobre formados en el pico catódico. [70]

La figura 34 muestra que a partir de una velocidad de rotación del RDE de oro de 1000 rpm deja de observarse correctamente la forma correspondiente a las curvas de electrodeposición asociadas a electrodos de disco rotatorio, puesto que el valor de la intensidad de pico catódica no

se observa con claridad. Esto es debido a la reducción del protón que perturba observar el fenómeno de la electrodeposición de cobre. Por ello es preferible trabajar a concentraciones de sulfato de cobre inferiores, como es el caso del electrolito de 10 mM CuSO_4 y 0.5 M H_2SO_4 donde sí que se observan perfectamente dichos picos catódicos (figura 36).

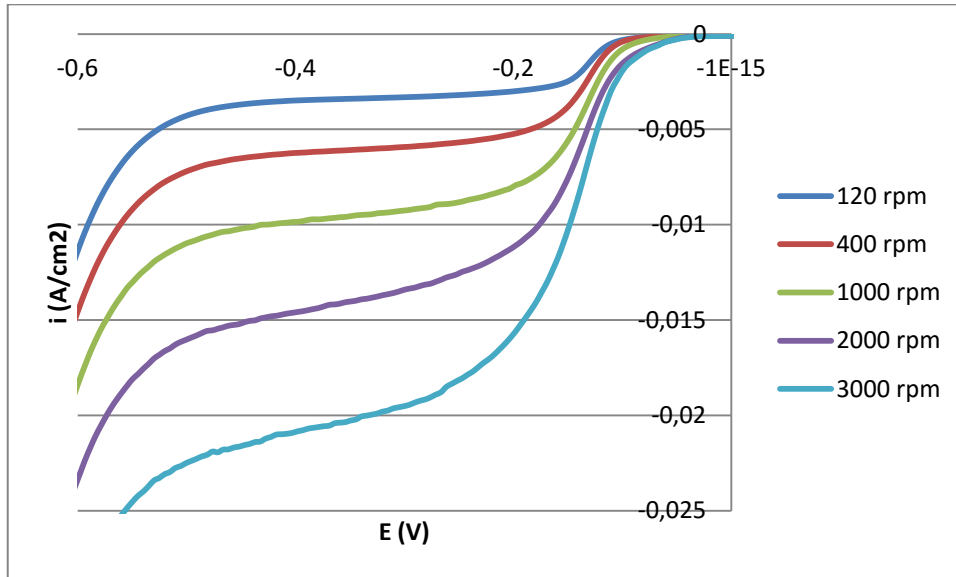


Figura 36: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas velocidades de rotación del RDE en una disolución de 10 mM CuSO_4 y 0.5 M H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

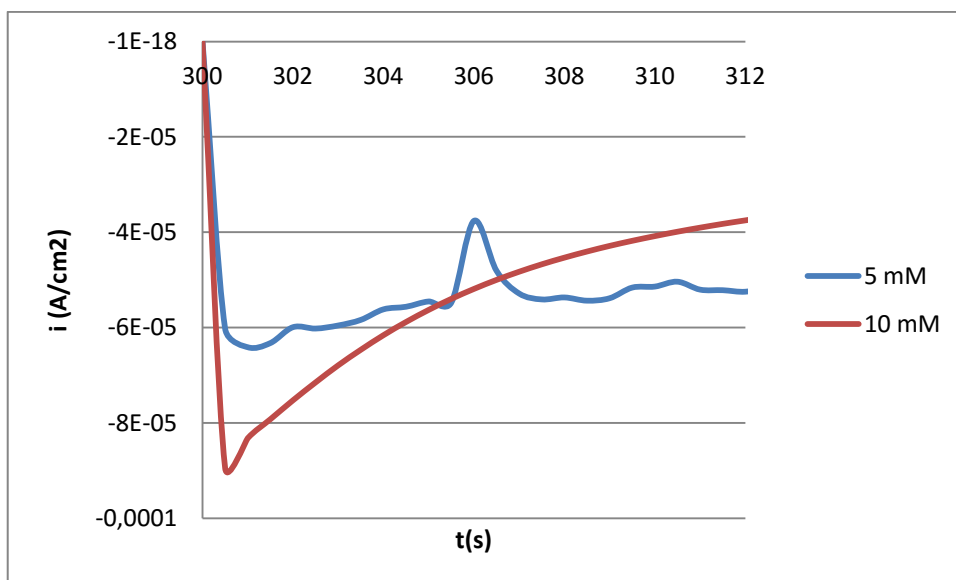


Figura 37: Cronoamperometrías sobre electrodo de oro. Valores de densidad de corriente frente al tiempo a distintas concentraciones de CuSO_4 en el electrolito sobre la electrodeposición de cobre sobre oro a un potencial de deposición de -0.1V. (Temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Además, gracias a la figura 37, se observa que también empleando cronoamperometrías es posible conocer el efecto de la concentración de sulfato de cobre en el electrolito sobre la electrodeposición de cobre. A mayor concentración de este compuesto el pico de densidad de corriente máximo es más negativo, lo que implica que se deposita más cobre sobre la superficie metálica del electrodo de oro.

Por otro lado, se ha determinado el coeficiente de difusión de los iones Cu^{+2} presentes en el electrolito desplazándose a través de éste en dirección hacia la superficie metálica del RDE. Como se está utilizando un electrodo de disco rotatorio el modelo que se ha empleado para el cálculo de los coeficientes de difusión es la ecuación de Levich, la cual se muestra a continuación [78]:

$$i_L = 0.62 \cdot n \cdot F \cdot D^{\frac{2}{3}} \cdot \omega^{\frac{1}{2}} \cdot \nu^{-\frac{1}{6}} \cdot C \quad [\text{Ecuación VII}]$$

Donde i_L es la densidad de corriente de Levich medida en $\frac{\text{A}}{\text{cm}^2}$, n es el número de electrones que se transfieren del electrolito a la superficie metálica (en el caso del Cu^{+2} a Cu^0 el valor de n es de 2), F es el valor de la constante de Faraday de $96485.34 \frac{\text{C}}{\text{mol}}$, el coeficiente de difusión (D) se va a obtener en $\frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$, ω corresponde a la velocidad de rotación del RDE en $\frac{\text{rad}}{\text{s}}$, ν es el valor de la viscosidad cinemática medida en $\frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$ y por último C corresponde a la concentración de CuSO_4 presente en el electrolito en $\frac{\text{mol}}{\text{cm}^3}$.

Lo primero que se ha calculado es el valor constante de la viscosidad cinemática (ν) del electrolito, el cual se asume que es prácticamente el del agua puesto que las disoluciones están muy diluidas. Para ello, se necesita conocer el valor de la viscosidad dinámica y de la densidad del agua a 25°C, los cuales están tabulados. Su viscosidad dinámica (μ) es de $8.91 \cdot 10^{-3} \frac{\text{g}}{\text{cm} \cdot \text{s}}$ y el valor de densidad (ρ) es de $1 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$. El valor de ν es de:

$$\nu = \frac{\mu}{\rho} = 8.91 \cdot 10^{-3} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$$

Los valores de i_L necesarios para el cálculo del coeficiente de difusión para la disolución compuesta por 10 mM CuSO_4 y 0.5M H_2SO_4 en RDE de oro se determinan del "plateau" de corriente de la figura 36, tomado a un mismo potencial. En la tabla 5 se recogen dichos valores junto con los de velocidad de rotación del RDE en $\frac{\text{rad}}{\text{s}}$.

Tabla 5: Valores de i_L para la electrodeposición de cobre a distintas velocidades de rotación del RDE de oro en un electrolito de 10 mM CuSO_4 y 0.5M H_2SO_4 .

i_L (A/cm ²)	w (rpm)	w (rad/s)
-0,00322	120	12,566
-0,00573	400	41,888
-0,00889	1000	104,719
-0,0127	2000	209,439
-0,0183	3000	314,159

Con la representación de los valores de i_L frente a los de $\omega^{0.5}$ (figura 38) y forzando a que los datos pasen por el centro de coordenadas (0,0) se obtiene la ecuación de la recta cuya pendiente vale lo siguiente:

$$\text{pendiente} = 0.62 \cdot n \cdot F \cdot D^{\frac{2}{3}} \cdot \nu^{-\frac{1}{6}} \cdot C$$

Despejando de esta expresión se puede calcular fácilmente el valor del coeficiente de difusión:

$$D = \left(\frac{\text{pendiente}}{0.62 \cdot n \cdot F \cdot \nu^{-\frac{1}{6}} \cdot C} \right)^{1.5}$$

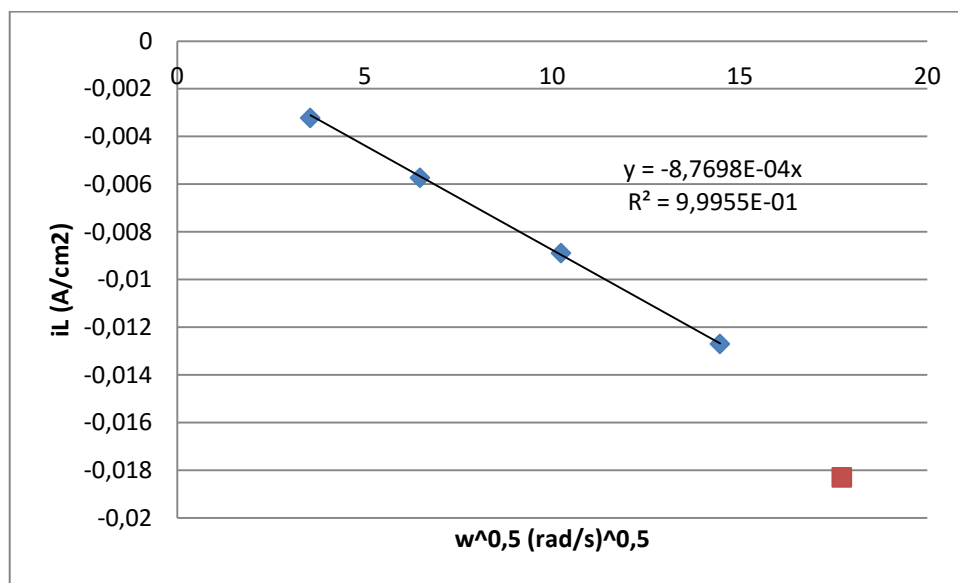


Figura 38: Representación y linealización de los valores de i_L frente a los de $\omega^{0.5}$ con la ecuación de la recta obtenida y su coeficiente de correlación lineal R^2 .

El punto ($\omega^{0.5}, i_L$) obtenido para la velocidad de 3000 rpm se ha despreciado en el ajuste lineal ya que éste dato no es fiable puesto que a 3000 rpm no se obtiene el "plateau" típico correspondiente al régimen de RDE y es difícil observar la i_L del modelo de Levich.

Del valor de la pendiente de la ecuación de la recta se calcula el valor del coeficiente de difusión:

$$D = \left(\frac{-8.7698 \cdot 10^{-4}}{0.62 \cdot 2 \cdot 96485.34 \cdot 8.91 \cdot 10^{-3} \cdot \nu^{-\frac{1}{6}} \cdot 0.00001} \right)^{1.5} = 6.09 \cdot 10^{-6} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$$

Del mismo modo para el resto de concentraciones de sulfato de cobre en el electrolito se ha obtenido un valor de coeficiente de difusión donde lo único que cambia respecto del recién calculado es el valor de C y los valores de i_L para el mismo potencial. Estos valores de D se muestran en la tabla 6.

Tabla 6: Valores del coeficiente de difusión D para la electrodeposición de cobre de varias disoluciones de CuSO₄ con RDE de oro.

[CuSO ₄] (mM)	[CuSO ₄] (mol/cm ³)	D en oro (cm ² /s)
1	0,000001	1,04E-05
5	0,000005	5,71E-06
10	0,00001	6,09E-06
50	0,00005	9,64E-06
100	0,0001	8,88E-06

Estos datos experimentales de coeficiente de difusión sobre RDE de oro no muestran una clara dependencia con el valor de la concentración de sulfato de cobre en el electrolito.

A continuación se va a determinar el intervalo de confianza asociado al coeficiente de difusión de los iones Cu⁺² obtenido para el RDE de oro. Para este cálculo se ha empleado la siguiente fórmula estadística: [79]

$$y = \bar{y} \pm t_{1-\alpha} (g) \cdot \frac{s}{N^{0.5}} \quad [\text{Ecuación VIII}]$$

Donde \bar{y} corresponde al valor promedio del coeficiente de difusión ($8.144 \cdot 10^{-6} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$), N es el número de datos estadísticos (5 en este caso), g es el valor de los grados de libertad que se determina como N-1, es decir 4, el valor de la t-student para un nivel de confianza (α) de un 95% y 4 grados de libertad se encuentra tabulado y es de 2.7765. Mientras que s corresponde al valor de la desviación típica muestral de los datos y se calcula a partir de la siguiente expresión (en este caso, s es igual a $2.122 \cdot 10^{-6}$):

$$\text{Desviación típica muestral: } s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad [\text{Ecuación IX}]$$

El coeficiente de difusión promedio de los iones Cu⁺² obtenido para el RDE de oro es de $8.144 \cdot 10^{-6} \pm 2.634 \cdot 10^{-6} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$.

Este valor de coeficiente de difusión de los iones Cu⁺² obtenido experimentalmente es del mismo orden que los que muestra la literatura, los cuales están comprendidos entre $(0.57 - 0.61) \cdot 10^{-5} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$. [80, 81, 82]

Los valores del coeficiente de difusión para una concentración de sulfato de cobre de 5 y 10 mM sí que se encuentran comprendidos en el rango teórico mientras que para el resto de concentraciones no. Esto se justifica con que para 5 y 10 mM sí que se ha obtenido la curva típica del electrodo de disco rotatorio y ha sido sencillo determinar sus picos de densidad de corriente máxima. Sin embargo, a concentraciones elevadas cuando se trabaja a velocidades altas de rotación del RDE dicho "plateau" se pierde a causa de la reducción del protón y por tanto resulta complicado determinar dicho valor de i_L necesario para hallar el coeficiente de difusión.

8.2.2. Electrodeposición de cobre sobre cobre

Del mismo modo que con el RDE de oro también se ha calculado el valor de coeficiente de difusión de los iones Cu^{+2} sobre RDE de cobre, que es el elemento antibactericida de uso en implantología. Previamente a este cálculo fue necesario realizar voltametrías cíclicas a las mismas concentraciones de sulfato de cobre en el electrolito y velocidad de rotación en el RDE que se hicieron en los ensayos con el electrodo de oro.

Al igual que en el oro, en las figuras 39 y 40 también se aprecia que a mayor velocidad de rotación del RDE y mayor concentración de sulfato de cobre en el electrolito mayor es el pico catódico y mayores son las densidades de corriente anódicas lo que implica mayor electrodeposición de cobre en superficie de cobre y por lo tanto mayor oxidación de la superficie posteriormente. Además se aprecia que a mayores velocidades de rotación del RDE la zona horizontal correspondiente a la saturación de electrodeposición de cobre en la superficie metálica previo al proceso de reducción del protón es cada vez menos apreciable, especialmente a 2000 y 3000 rpm. Esto quiere decir que a elevadas velocidades de rotación del RDE el límite de electrodeposición de cobre en superficie de cobre es casi inapreciable debido al proceso de reducción del protón que comienza a producirse a potenciales menos negativos y por ello la densidad de corriente de pico catódica no deja de aumentar conforme el potencial se va haciendo más negativo durante el barrido catódico. En esos casos la reducción del protón tiene lugar prácticamente a la vez que se está electrodepositando cobre o justo cuando la superficie de cobre se satura y no admite más cobre electrodepositado. De todas formas no se ha podido confirmar si a esas velocidades de rotación del RDE y a esos potenciales se electrodeposita cobre y hidrógeno sobre el cobre o ya sólo el hidrógeno.

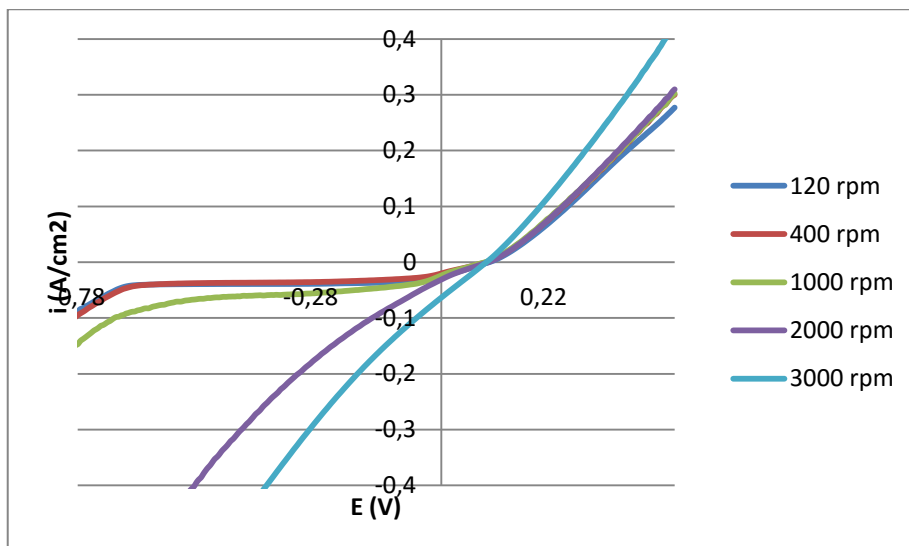


Figura 39: Voltametrías cíclicas sobre RDE de cobre. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas velocidades de rotación del RDE en una disolución de 100 mM CuSO_4 y 0.5 M H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

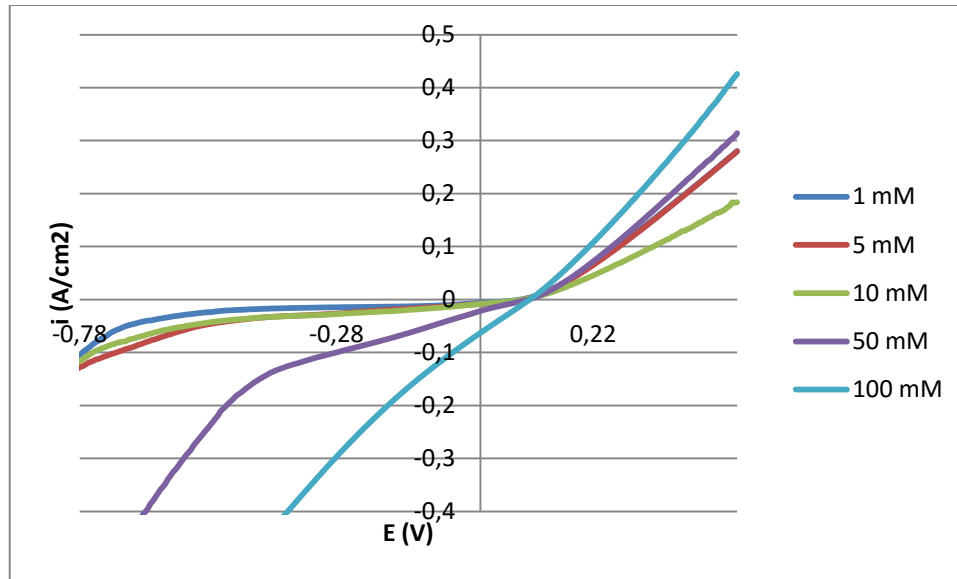


Figura 40: Voltametrías cíclicas sobre RDE de cobre. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas concentraciones de CuSO_4 en el electrolito a una velocidad de rotación del RDE de 3000 rpm. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Además se observa que en superficies de cobre la electrodeposición de cobre comienza a potenciales positivos, concretamente en torno a 0,1 V, al poco de comenzar el barrido en el sentido catódico. Comparando la figura 39 con la 40 queda claro que la presencia o ausencia de la zona horizontal es debida exclusivamente a la velocidad de rotación del RDE ya que para una concentración de sulfato de cobre de 100 mM a 120 rpm la curva de la voltametrías cíclica presenta claramente dicha zona horizontal (figura 39).

Por otro lado, en las figuras 39 y 40 también se observa que el pico anódico no existe. Esto se debe a que al ser la superficie del electrodo también de cobre no hay límite de oxidación de éste, a diferencia de cuando se trabaja con RDE de oro, ya que una vez se termina de oxidar el cobre que se ha electrodepositado previamente durante el barrido catódico comienza a oxidarse el cobre del electrodo.

Además, del mismo modo que ocurre con RDE de oro, las figuras 39 y 40 muestran que a concentraciones de sulfato de cobre en el electrolito elevadas y velocidades de rotación elevadas la estructura típica de las voltametrías cíclicas con electrodo de disco rotatorio desaparece. Por lo que es aconsejable trabajar en disoluciones poco concentradas en sulfato de cobre, como es el caso del electrolito de 10 mM CuSO_4 y 0.5 M H_2SO_4 , para analizar correctamente la electrodeposición de cobre sobre cobre. Esto puede verse mediante la figura 41.

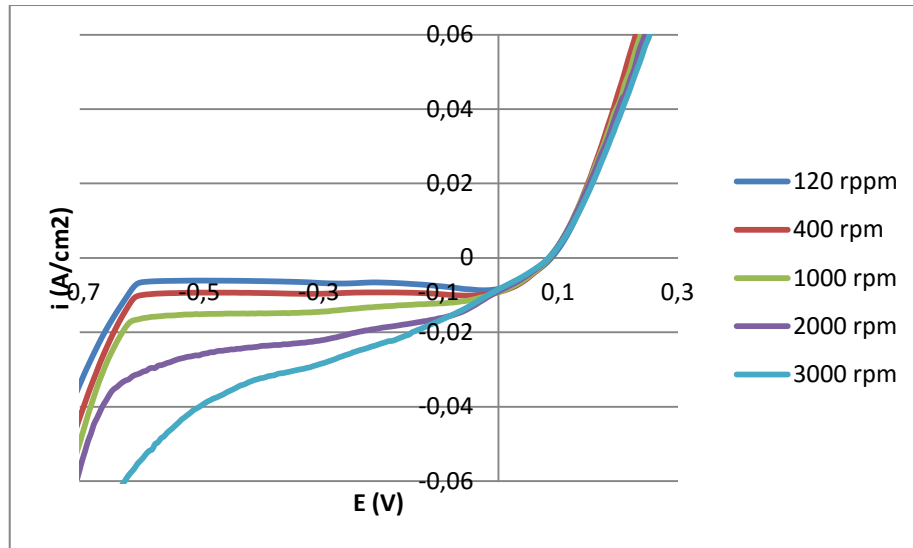


Figura 41: Voltametrías cíclicas sobre RDE de cobre. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas velocidades de rotación del RDE en una disolución de 10 mM CuSO_4 y 0.5 M H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Las cronoamperometrías, al igual que cuando se utiliza electrodo de oro, también permiten estudiar el efecto de la concentración de sulfato de cobre en el electrolito sobre la electrodeposición de cobre sobre cobre. En la figura 42 se verifica la información proporcionada por las voltametrías cíclicas, ya que a mayor concentración de CuSO_4 el pico de densidad de corriente máximo es mucho más negativo, lo que implica que se deposita mucho más cobre sobre la superficie del electrodo de cobre.

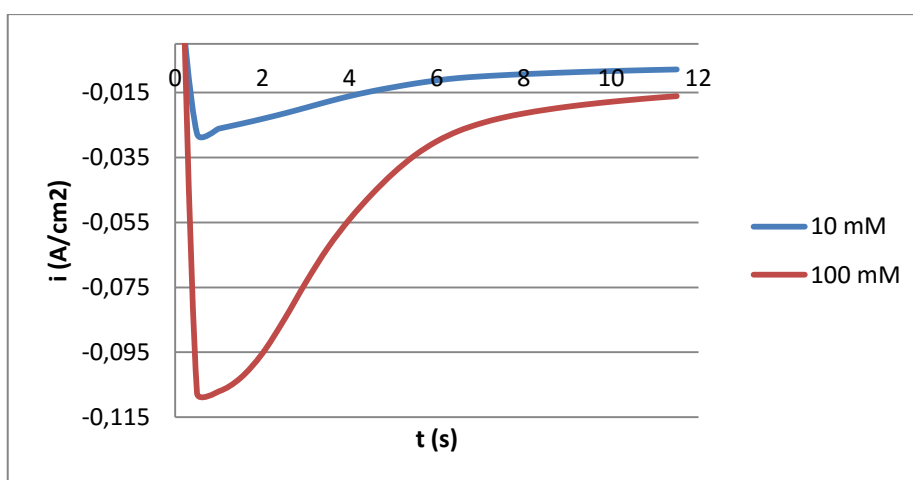


Figura 42: Cronoamperometrías sobre electrodo de cobre. Valores de densidad de corriente frente al tiempo a distintas concentraciones de CuSO_4 en el electrolito sobre la electrodeposición de cobre en superficie de cobre a un potencial de deposición de -0.1V. (Temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

De acuerdo con la ecuación de Levich se han determinado los valores de difusividad para cada ensayo realizado con RDE de cobre a distintas velocidades de rotación del electrodo y distintos electrolitos. Los valores obtenidos se muestran en la columna del centro de la tabla 7.

Tabla 7: Valores del coeficiente de difusión D para la electrodeposición de cobre en distintas disoluciones de CuSO₄ sobre RDE de cobre.

[CuSO ₄] (mM)	D en cobre (cm ² /s)
1	1,47E-04
5	2,87E-05
10	1,29E-05
50	8,44E-06
100	9,67E-06

No se observa una relación de proporcionalidad entre la concentración de sulfato de cobre en la disolución con el valor del coeficiente de difusión obtenido. Por ello se comprueba que el coeficiente de difusión es independiente de la concentración de CuSO₄ en el electrolito.

Del mismo modo que se ha hecho con el RDE de oro, se ha determinado intervalo de confianza asociado al coeficiente de difusión de los iones Cu⁺² sobre el RDE de cobre. El valor promedio obtenido para el RDE de cobre es de $4.134 \cdot 10^{-5} \pm 7.403 \cdot 10^{-5} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$.

8.2.3. Comparación electrodeposición de cobre sobre oro y cobre

En la figura 43 se compara el efecto del sustrato empleado en la electrodeposición del cobre para ver cual presenta propiedades más afines para que se de este proceso de reducción electroquímica de los iones Cu⁺² a cobre metálico.

De esta figura 43 se observa que cuando la electrodeposición de cobre se estudia sobre RDE de cobre este proceso es más espontáneo que en presencia de RDE de oro ya que con electrodo de cobre la electrodeposición comienza a potenciales positivos, de aproximadamente 0,1 V mientras que con electrodo de oro no se da hasta -0,1 V. Esto es debido a que en sustratos distintos a los iones metálicos del electrolito el potencial al cual ocurre la electrodeposición es mayor debido a la cristalografía del metal sustrato. Además, las densidades de corriente catódicas son más negativas en el caso de RDE de cobre que en oro lo que confirma que se electrodepositan más iones Cu⁺² sobre el cobre que sobre el oro. [69]

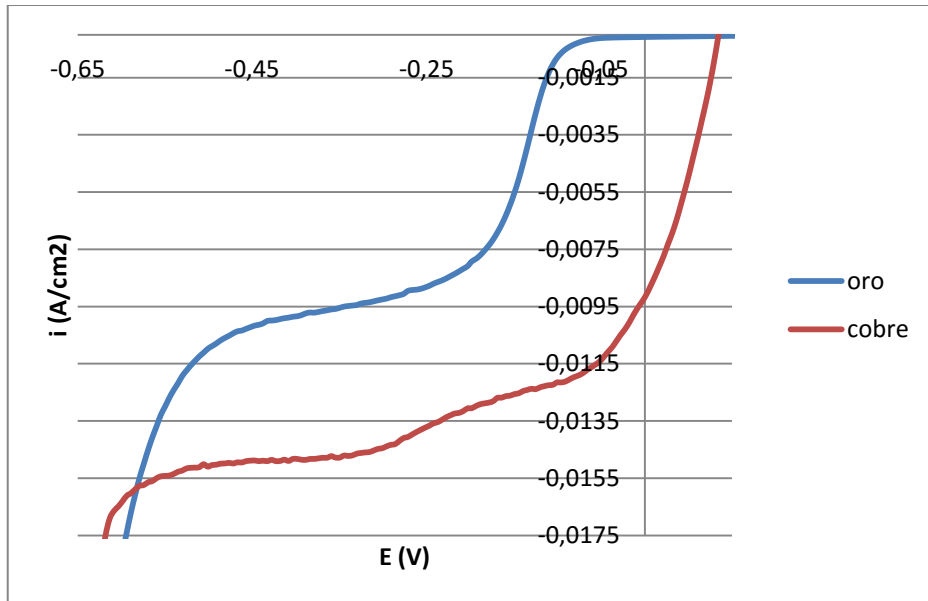


Figura 43: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro y cobre. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a 1000 rpm en un electrolito de 10 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Además, también se ha comparado la electrodeposición de cobre sobre oro y cobre mediante el uso de cronoamperometrías, las cuales se realizan con el RDE en estático. Luego en este ensayo la electrodeposición del cobre se dará solo por difusión.

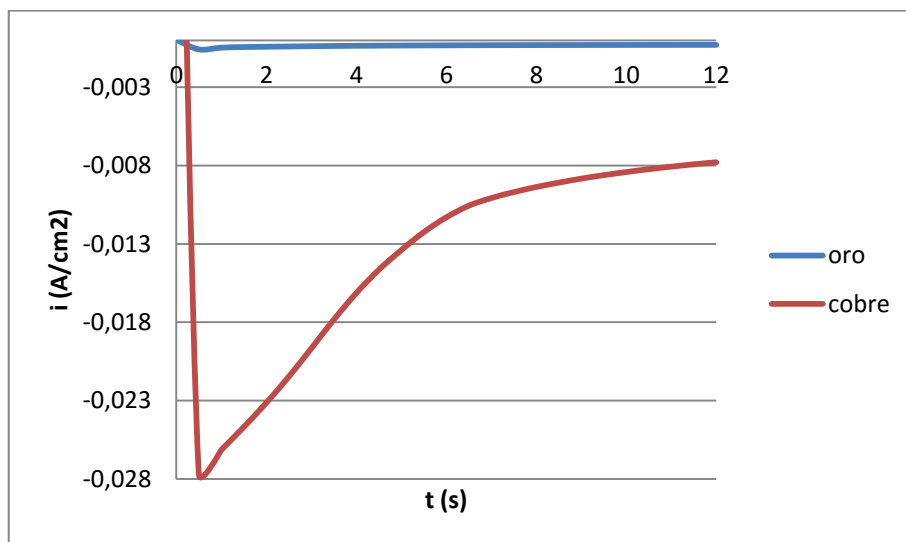


Figura 44: Cronoamperometrías sobre electrodo de oro y cobre. Valores de densidad de corriente frente al tiempo sobre superficies de oro y cobre en un electrolito compuesto por 10 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 y a un potencial de deposición de -0.1V. (Temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Como se puede ver en la figura 44, la electrodeposición de cobre en oro es mucho menor que en cobre siendo la densidad de corriente máxima en el cobre de un orden cien veces mayor que en el oro. Lo cual afirma que el cobre como superficie metálica es mucho más afín para que se realice sobre ella la reducción de los iones Cu^{+2} . Esto también confirma que el cobre se oxida más que el oro, lo cual tiene sentido ya que el oro se sabe que es muy resistente a la corrosión.

En la tabla 8 se comparan los valores de coeficiente de difusión obtenidos a las distintas concentraciones de sulfato de cobre en las disoluciones de trabajo.

Tabla 8: Valores del coeficiente de difusión D para la electrodeposición de cobre en distintas disoluciones de CuSO_4 sobre RDE de oro y cobre.

[CuSO4] (mM)	D en oro (cm ² /s)	D en cobre (cm ² /s)
1	1,04E-05	1,47E-04
5	5,71E-06	2,87E-05
10	6,09E-06	1,29E-05
50	9,64E-06	8,44E-06
100	8,88E-06	9,67E-06

Los valores de coeficiente de difusión promedio obtenidos para el oro y cobre son $8.144 \cdot 10^{-6} \pm 2.634 \cdot 10^{-6} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$ y $4.134 \cdot 10^{-5} \pm 7.403 \cdot 10^{-5} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$ respectivamente. Esto muestra que el valor del coeficiente de difusión para RDE de cobre es superior al obtenido para el oro, lo cual corrobora que hay más transferencia de iones Cu^{+2} a cobre metálico sobre superficie de cobre que sobre oro. Por lo tanto queda justificado que los iones de un metal tienen más tendencia a depositarse sobre el mismo metal que sobre otro distinto. Por ello se concluye que la electrodeposición de cobre se ve más favorecida sobre el cobre.

También se ha estudiado cómo afecta el potencial de deposición aplicado en la electrodeposición de cobre durante las cronoamperometrías realizadas en este TFG. Este ensayo se ha realizado tanto en oro como en cobre como sustratos obteniéndose la misma tendencia, solo que en oro con valores de densidad de corriente mucho menos negativos corroborando lo que se ha visto en la figura 44. Se observa que a medida que aumenta el potencial de deposición aplicado el valor de la densidad de corriente máxima también aumenta, luego aplicando potenciales de deposición más negativos se consigue aumentar la cantidad de cobre que se puede electrodepositar sobre las superficies de los electrodos. Esto puede verse en la figura 45 y 46 para el electrodo de oro y cobre respectivamente.

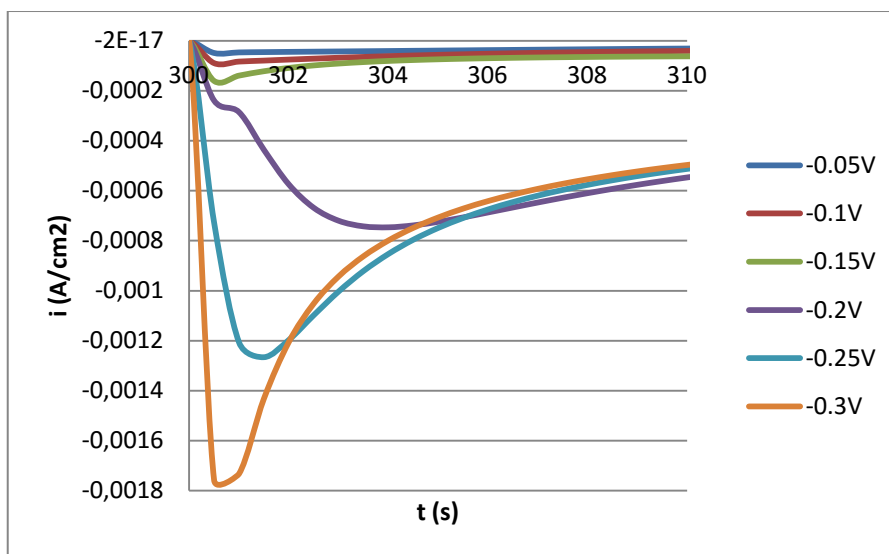


Figura 45: Cronoamperometría sobre electrodo de oro. Valores de densidad de corriente frente al tiempo a distinto potencial de deposición aplicado sobre electrodo de oro en un electrolito formado por 5 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . (Temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Por otro lado, en la figura 45 se observa que a medida que el potencial de deposición aumenta el tiempo que transcurre hasta alcanzar el pico máximo de densidad de corriente es mayor también, especialmente a potenciales de -0.2 V y -0.25V, lo que quiere decir que transcurre más tiempo hasta que se consigue depositar todo el cobre posible. Es decir, a esos dos potenciales de deposición la electrodeposición de cobre en oro es menos espontánea.

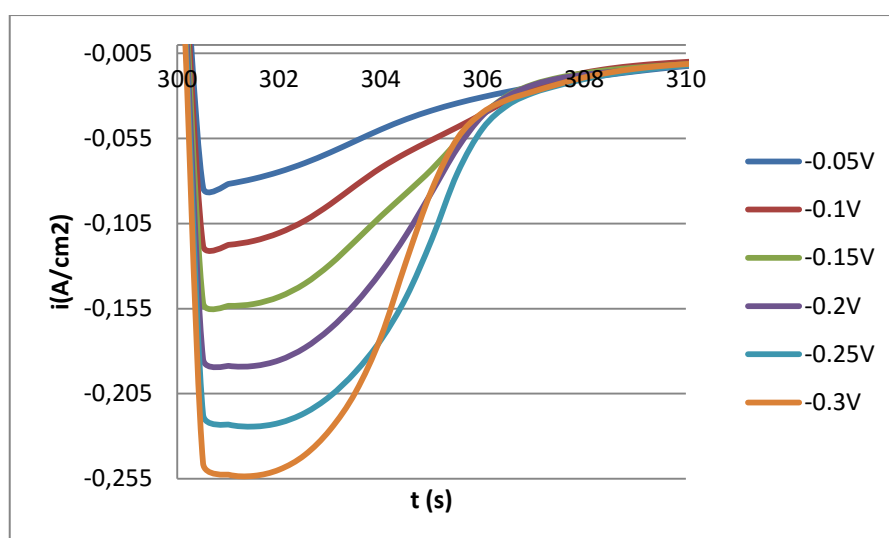


Figura 46: Cronoamperometría sobre electrodo de cobre. Valores de densidad de corriente frente al tiempo a distinto potencial de deposición aplicado sobre electrodo de cobre en un electrolito formado por 5 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . (Temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

La figura 46 muestra que en el caso de utilizar un electrodo de cobre el tiempo que transcurre hasta alcanzar el pico máximo de densidad de corriente es aproximadamente el mismo para cada potencial de deposición aplicado.

Además, se observa que empleando un electrodo de oro, a diferencia de cuando se emplea electrodo de cobre (figura 46), no existe una proporcionalidad lineal entre el potencial de deposición y el pico de densidad de corriente que se alcanza. Esto se deduce ya que en el caso del electrodo de cobre al aumentar $-0.05V$ el potencial de deposición la densidad de corriente aumenta aproximadamente $-0.1 \frac{A}{cm^2}$ siempre. Sin embargo, utilizando el electrodo de oro se observa que a potenciales de deposición bajos la densidad de corriente es muy pequeña y aumenta en una menor proporción que cuando se aplican potenciales superiores a $-0.2V$.

8.2.4. Modelos de nucleación del cobre

Los transitorios obtenidos mediante las cronoamperometrías permiten estudiar los mecanismos de nucleación y crecimiento de nuevos granos de cobre lo cual informa sobre la cinética de la electrodeposición del cobre en sustratos metálicos. Scharifker y Hills han empleado dos modelos matemáticos los cuales describen dos mecanismos de nucleación limitantes: la instantánea y la progresiva. La nucleación instantánea es aquella que se da cuando en un pequeño número de centros activos, los cuales se activan todos simultáneamente, se da un crecimiento lento de los núcleos de cobre. Mientras que la nucleación progresiva se da cuando en un gran número de centros activos, los cuales se van activando gradualmente conforme va avanzando la electrodeposición del metal, se da un crecimiento rápido de los núcleos de cobre. Estos modelos matemáticos son: [70, 83]

$$\text{N. instantánea: } \left(\frac{i}{i_m}\right)^2 = 1.9542 \cdot \left(\frac{t}{t_m}\right)^{-1} \cdot \left\{1 - \exp\left[-1.2564 \cdot \left(\frac{t}{t_m}\right)\right]\right\}^2 \quad [\text{Ecuación X}]$$

$$\text{N. progresiva: } \left(\frac{i}{i_m}\right)^2 = 1.2254 \cdot \left(\frac{t}{t_m}\right)^{-1} \cdot \left\{1 - \exp\left[-2.3367 \cdot \left(\frac{t}{t_m}\right)^2\right]\right\}^2 \quad [\text{Ecuación XI}]$$

Donde los valores de i_m y t_m corresponden al valor de densidad de corriente máxima y a su respectivo tiempo del pico máximo previo al descenso de la densidad de corriente con el tiempo.

Proceso de disolución-deposición de cobre en presencia de la proteína albúmina (BSA) mediante técnicas electroquímicas

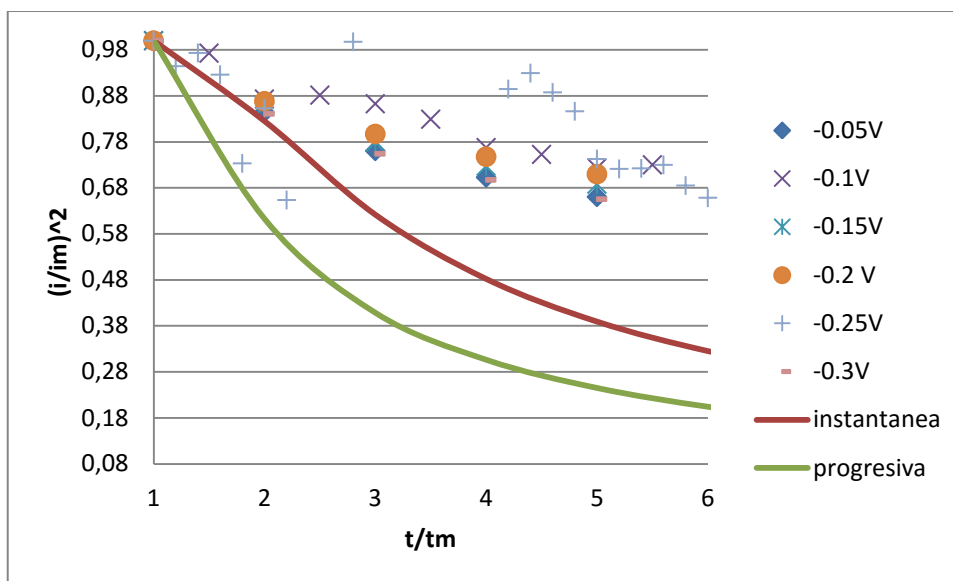


Figura 47: Estudio de los mecanismos de nucleación en RDE de oro a distintos potenciales de deposición en un electrolito de 10 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . (Temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

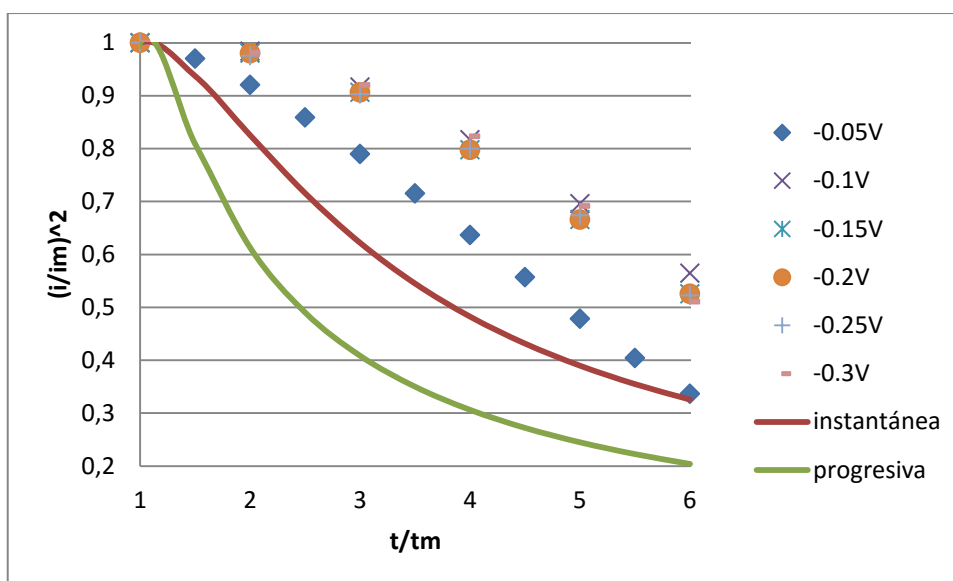


Figura 48: Estudio de los mecanismos de nucleación en RDE de cobre a distintos potenciales de deposición en un electrolito de 10 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . (Temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Se han representado varios ensayos realizados en el laboratorio para intentar poder clasificar el mecanismo de nucleación que se está dando en la electrodeposición estudiada. Por ejemplo, para el caso del electrodo de oro y cobre en un electrolito de 10 mM en sulfato de cobre puede verse en la figura 47 y 48 respectivamente la comparación de los datos experimentales obtenidos a los

distintos potenciales de deposición estudiados con los dos modelos propuestos por Scharifker y Hills.

Los mismos gráficos aproximadamente fueron obtenidos para el resto de concentraciones de CuSO_4 en el electrodo de oro y de cobre. Se ha observado que los datos experimentales correspondientes al ensayo realizado sobre superficie de cobre presentan una ligera mayor tendencia a ajustarse a los modelos de nucleación, concretamente al de nucleación instantánea, que los valores del ensayo sobre superficie de oro. Esto puede deberse a que el cobre presenta más defectos estructurales que el oro y esto favorece dicho proceso de nucleación. [70]

A pesar de esto, para casi todos los valores experimentales obtenidos a distintas concentraciones de CuSO_4 y potenciales de deposición en oro y cobre se ha observado que los datos experimentales no se ajustan bien a dichos modelos de nucleación. Este hecho se debe a que dichos modelos se dan para dos casos extremos de nucleación y generalmente el crecimiento de los núcleos no se da de manera tan claramente definida. Además, estos modelos están definidos para una morfología de núcleo de forma hemisférica y si los núcleos de cobre que se depositan no presentan esta estructura los valores no se pueden ajustar a estos modelos teóricos y por ello se observa dicha desviación. Por otro lado, cabe destacar que se dan unos valores de densidad de corriente mayores que los que vienen predichos por los modelos teóricos en todos los casos estudiados lo cual se debe a la existencia del proceso de reducción del protón. [70, 84]

8.3. Presencia de BSA en electrodeposición de cobre

Una vez analizada la electrodeposición de cobre en distintas disoluciones de CuSO_4 sobre oro y cobre, se procede al estudio de la influencia de distintas concentraciones de la proteína BSA (0,01 g/L, 0,1 g/L y 1 g/L) adsorbida sobre las superficies metálicas en el proceso de difusión de los iones Cu^{+2} a la superficie metálica. Este estudio también se ha llevado a cabo mediante voltametrías cíclicas con el RDE de oro y cobre tras haberse sumergido 20 minutos en la correspondiente disolución de BSA en estático, 120 rpm, 1000 rpm y 3000 rpm.

8.3.1. Presencia de BSA sobre RDE de oro

Se ha empezado realizando barridos catódicos en las disoluciones con distintas concentraciones de BSA estudiadas. En la figura 49 se observa que la BSA adsorbida en RDE de oro no modifica las conclusiones extraídas anteriormente de la influencia de la velocidad de rotación del RDE sobre el aumento del (i_{pc}) y menor potencial en el que comienza la deposición de cobre.

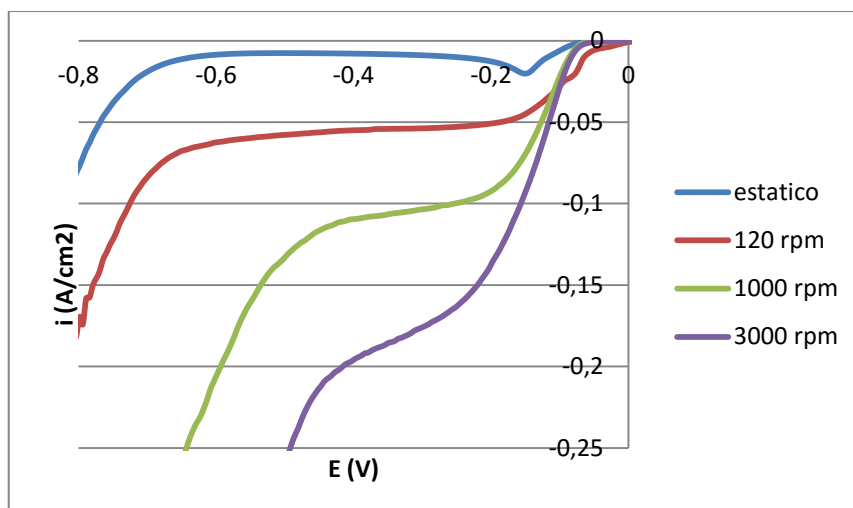


Figura 49: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas velocidades de rotación del RDE en presencia de BSA 0.1 g/L adsorbida sobre dicha superficie en una disolución de 100 mM CuSO₄ y 0.5 M H₂SO₄. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Además, también se ha estudiado el efecto de la electrodeposición de cobre en presencia de distintas concentraciones de BSA y en ausencia de ésta para ver qué relación tiene la adsorción de ésta con la reducción de los iones Cu⁺² sobre RDE de oro.

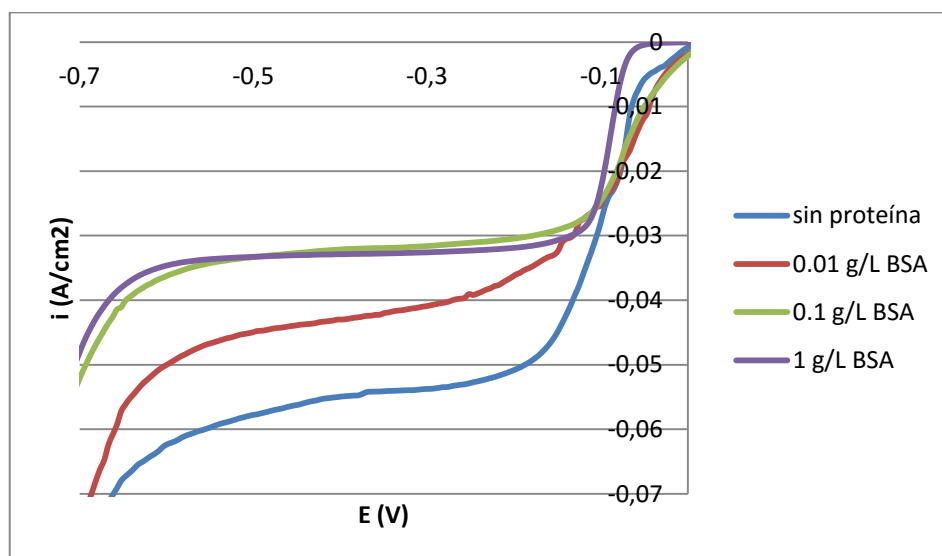


Figura 50: Voltametrías cíclicas sobre RDE de oro. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas concentraciones de BSA adsorbida sobre la superficie del RDE a 120 rpm y en un electrolito de 100 mM de CuSO₄ y 0.5 M de H₂SO₄. (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

El efecto de la BSA adsorbida sobre RDE de oro se puede observar en la figura 50 donde se puede ver que a medida que la concentración de BSA adsorbida sobre la superficie del electrodo es mayor los valores de densidad de corriente catódica son menos negativos para un mismo potencial, esto quiere decir que se está electrodepositando menos cobre sobre la superficie de oro debido a la presencia de BSA. Probablemente debido a que la BSA ya está ocupando centros activos de nucleación en la superficie del metal y está impidiendo que núcleos de cobre se depositen sobre dichos centros activos. Del mismo modo, en el barrido anódico lo que ocurre es que a mayor concentración de BSA adsorbida menos cobre se disuelve en el electrolito y por lo tanto la oxidación del metal es menor, lo que es ventajoso para la implantología oral.

Mediante la figura 50 también se observa que la disminución de la electrodeposición de cobre sobre oro por la adsorción de BSA sobre su superficie parece alcanzar un límite en torno a una densidad de corriente de $-0.03 \frac{A}{cm^2}$. Esto se deduce puesto que en concentraciones de BSA de 0.01 y 0.1 g/L sí que se observa una clara inhibición proporcional a la concentración de proteína adsorbida. Sin embargo, al pasar de concentración de BSA de 0.1 a 1 g/L no se observa prácticamente ninguna disminución de los valores de densidad de corriente catódicos. Esto es debido a que los centros activos de la superficie de oro se saturan y no admiten ya más BSA, por lo que ésta solo puede inhibir la electrodeposición y oxidación del cobre hasta un punto independientemente de que se someta la superficie metálica a concentraciones mayores de 0.1 g/L. Luego la concentración de BSA óptima para reducir la oxidación de cobre sobre oro es de 0.1 g/L.

8.3.2. Presencia de BSA sobre RDE de cobre

Se ha observado, mediante la figura 51, que la adsorción de BSA sobre la superficie de cobre tampoco modifica las conclusiones de que a mayor velocidad de rotación del RDE de cobre se obtienen picos catódicos mayores y la electrodeposición empieza a potenciales menores.

Respecto al efecto de la concentración de BSA adsorbida sobre la electrodeposición de cobre sobre cobre se ha observado, con ayuda de la figura 52, que a velocidades de rotación del RDE bajas (como 120 rpm) la adsorción de BSA no causa un efecto significativo en la electrodeposición de cobre, ya que el pico catódico es prácticamente el mismo independientemente de la concentración de BSA. A partir de esta figura se podría decir que la adsorción de BSA sobre superficies de cobre no se da de manera tan fuerte como en el caso del RDE de oro.

Proceso de disolución-deposición de cobre en presencia de la proteína albúmina (BSA) mediante técnicas electroquímicas

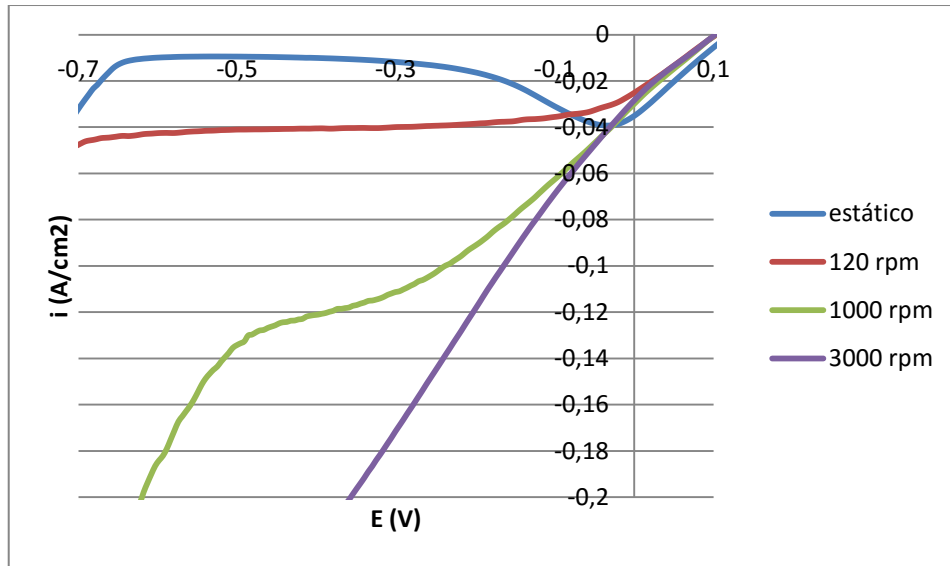


Figura 51: Voltametrías cíclicas sobre RDE de cobre. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas velocidades de rotación del RDE en presencia de BSA 0.1 g/L adsorbida sobre dicha superficie en una disolución de 100 mM CuSO_4 y 0.5 M H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

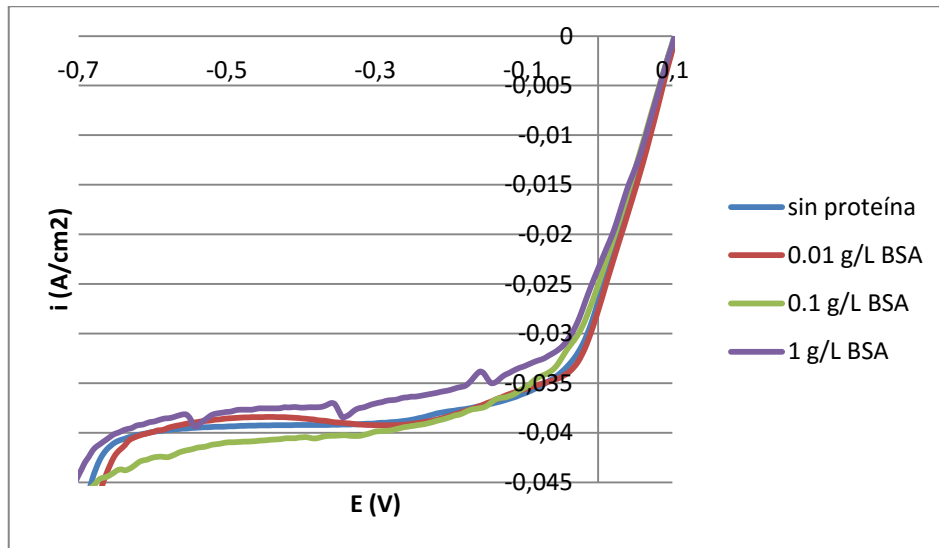


Figura 52: Voltametrías cíclicas sobre RDE de cobre. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas concentraciones de BSA adsorbida sobre la superficie del RDE a 120 rpm y en un electrolito de 100 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

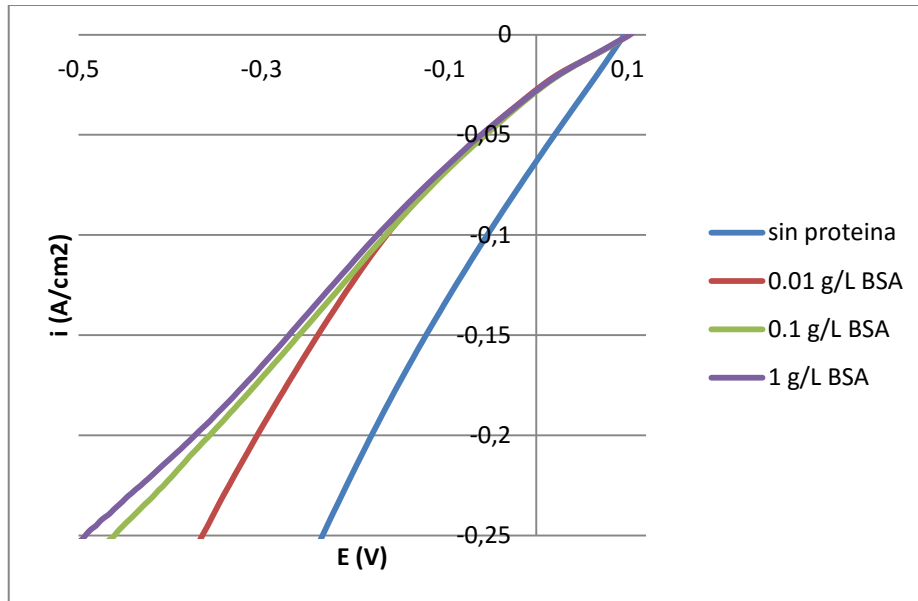


Figura 53: Voltametrías cíclicas sobre RDE de cobre. Valores de densidad de corriente frente al potencial aplicado a distintas concentraciones de BSA adsorbida sobre la superficie del RDE a 3000 rpm y en un electrolito de 100 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . (Velocidad de barrido de 0.01 V/s, temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

Sin embargo, mediante la figura 53, a velocidades de rotación del RDE de cobre elevadas (3000 rpm), sí que puede observarse que conforme la concentración de la BSA adsorbida sobre el cobre aumenta los valores de densidad de corriente son menos negativos para el mismo valor de potencial. Esto informa de que la BSA sí que parece adsorberse sobre el cobre y ésta reduce la electrodeposición de cobre conforme se va aumentando su concentración y por tanto también disminuye su posterior oxidación en el barrido anódico. Se puede ver que tampoco hay prácticamente diferencia en los valores de densidad de corriente catódica para las concentraciones de 0.1 y 1 g/L de BSA, lo que parece indicar que la superficie de cobre también se satura. Pero al estar fuera del régimen de Levich y no observarse el "plateau" típico de un electrodo de disco rotatorio correspondiente a la zona de saturación de la superficie metálica no se puede concluir que la adsorción de BSA sobre cobre se esté dando.

Por ello, para poder determinar si la BSA se adsorbe sobre el cobre o no se ha estudiado el efecto de la adsorción de BSA en una concentración de 1 g/L sobre la superficie del electrodo mediante cronoamperometrías. Dicho efecto puede observarse en la figura 54.

A partir de esta figura 54 se observa que el pico máximo de corriente alcanzado es superior para el ensayo en ausencia de BSA que en presencia de ésta, lo que indica que la BSA sí que se adsorbe sobre el cobre y que la presencia de ésta en la superficie metálica dificulta la difusión de iones Cu^{+2} hacia la superficie del electrodo de cobre. Del mismo modo que se ha dicho en el caso del electrodo de oro, esto puede deberse a que los centros activos de la superficie de cobre están ocupados por la BSA y por tanto ésta impide que los núcleos de cobre se puedan depositar en dichos centros activos. También se observa que el tiempo transcurrido hasta alcanzar el pico de densidad de corriente máxima es prácticamente el mismo en presencia y ausencia de BSA.

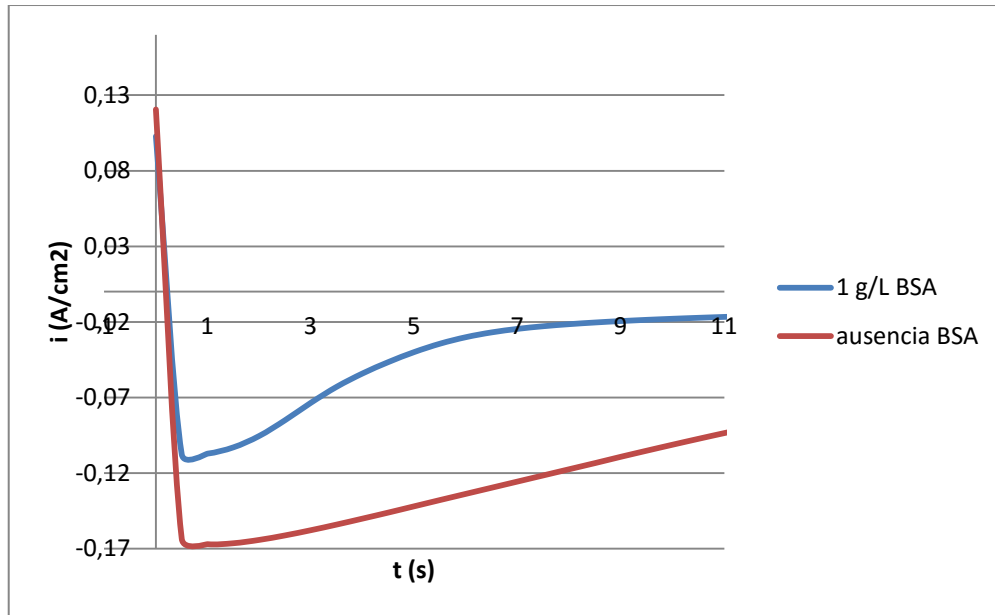


Figura 54: Cronoamperometrías sobre electrodo de cobre. Valores de densidad de corriente frente al tiempo en presencia y ausencia de BSA 1 g/L adsorbida sobre la superficie de cobre sometido a un potencial de deposición de -0.1 V y sumergido en un electrolito compuesto de 100 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 . (Temperatura de 25 °C, electrodo de referencia de Ag/AgCl).

No obstante, sería recomendable realizar más experimentos electroquímicos y de otros ámbitos para poder confirmar con certeza que la BSA se adsorbe sobre el cobre y que ésta tiene influencia en los procesos de electrodeposición y oxidación de este metal.

8.4. Morfología de la nucleación de cobre

8.4.1. Microscopía confocal

Tras los ensayos electroquímicos se tomaron diversas imágenes en distintos puntos de la muestra con el microscopio confocal Olympus Lext Halcyonics OLS3100 para el estudio morfológico de la electrodeposición de cobre. En la figura 55 se muestran las imágenes tomadas a 50 aumentos.

Las imágenes a) y b) corresponden al efecto del potencial de deposición (Figura 55a a un potencial de -0.1V y la figura 55b a -0.3V, ambas en una disolución de 10 mM de CuSO_4 y electrodepositadas en cobre). Las imágenes c) y d) hacen referencia al estudio de efecto de la concentración de sulfato de cobre en el electrolito sobre la electrodeposición de los iones Cu^{+2} en superficie de cobre y a un potencial de deposición de -0.1V (la figura 55c corresponde a una concentración de CuSO_4 de 10 mM y la figura 55d a 100 mM).

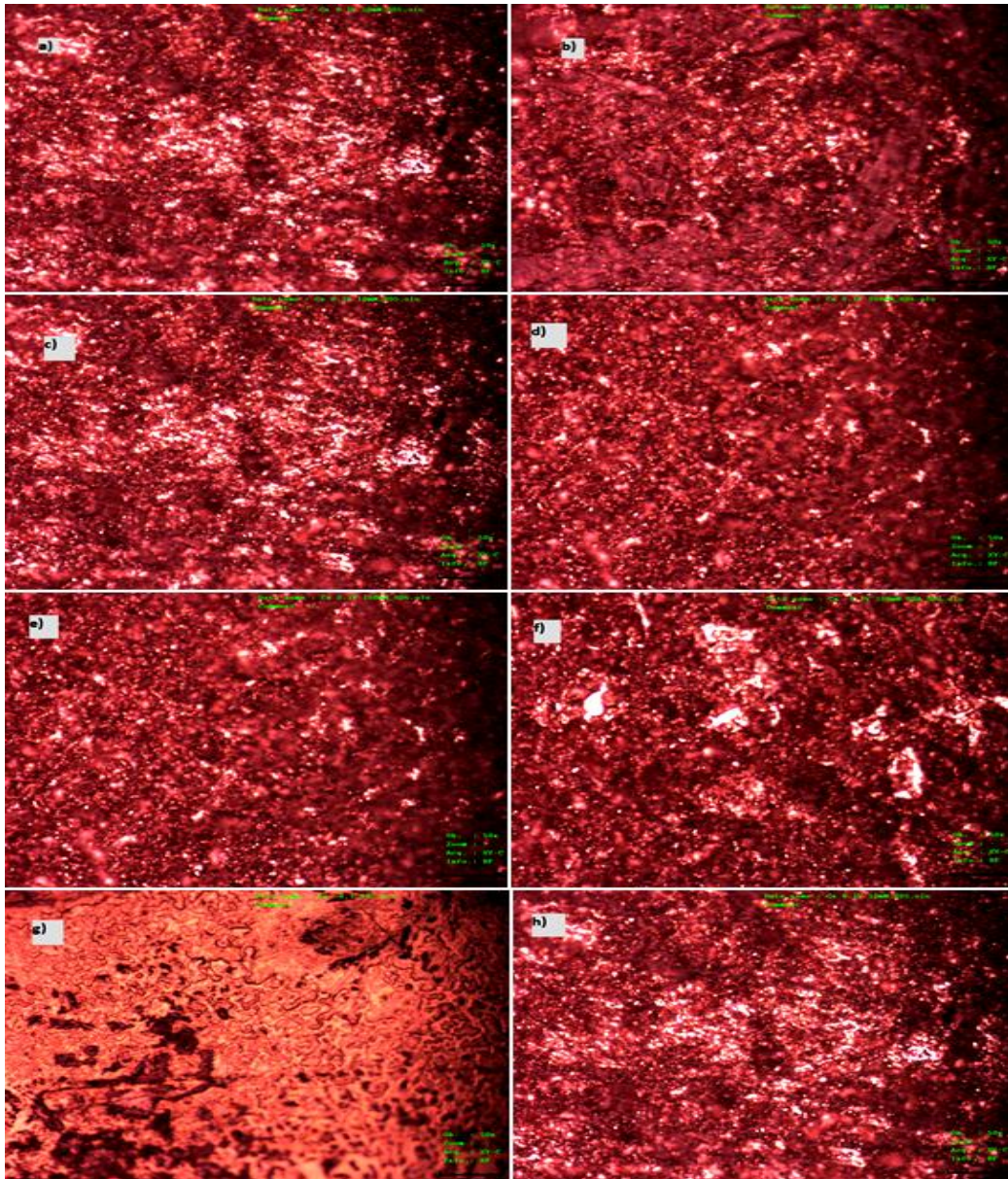


Figura 55: Imágenes obtenidas por el microscopio confocal para el estudio de la morfología de la electrodeposición de cobre en superficies de oro y cobre a distintos potenciales de deposición, distintas concentraciones de CuSO_4 en el electrolito y en presencia y ausencia de BSA. Temperatura de 25°C .

Las imágenes e) y f) comparan la adsorción de BSA y sus efectos en la electrodeposición de cobre en electrodo de cobre a una concentración de CuSO_4 de 100 mM y un potencial de deposición de -0.1V (la figura 55e en ausencia de BSA y la figura 55f con una concentración de 1 g/L de BSA adsorbida en la superficie del electrodo). Por último, las dos últimas imágenes muestran como es la electrodeposición de cobre en una concentración de 10 mM de CuSO_4 en el electrolito y a un

potencial de deposición de -0.1V sobre una superficie de oro (figura 55g) y sobre una superficie de cobre (figura 55h).

Pero como puede observarse en la figura 55, la microscopia confocal no permite visualizar con definición la morfología de la electrodeposición de cobre en función de los distintos parámetros estudiados. Por ello, se opta por utilizar el microscopio electrónico de barrido FESEM.

8.4.2. Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo

A parte del estudio electroquímico también ha sido necesario realizar un estudio morfológico empleando la microscopía FESEM con un voltaje de aceleración de 3 kV y una distancia de trabajo (WD) comprendida entre $3.9\text{-}10.3\text{ mm}$ para analizar cómo afectan los factores vistos anteriormente (potencial de deposición, concentración de sulfato de cobre en el electrolito y adsorción de BSA) en la morfología y densidad de núcleos en la electrodeposición de cobre. Gracias a esto se ha observado que la morfología de los núcleos depositados de cobre no es hemisférica, sino que es más bien de forma alargada, lo que justifica la desviación de los datos experimentales de los modelos de nucleación de Scharifker y Hills de las figuras 47 y 48.

8.4.2.1 Efecto del potencial de deposición

Empezando por el efecto del potencial de deposición sobre la morfología de los núcleos se ha observado que afecta mayoritariamente a la densidad de núcleos de población. Concretamente se ha determinado que elevar el potencial de deposición aplicado provoca que la densidad de población de núcleos aumente y el tamaño de los núcleos depositados sea cada vez menor, lo cual corrobora lo que afirma la literatura. Por ello, se afirma que el número de sitios activos depende del potencial de deposición. Este hecho puede observarse en la figura 56, donde ambos ensayos se han realizado sobre un electrodo de cobre sumergido en un electrolito de 10 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 a un potencial de deposición de -0.1V (imágenes 56a y 56c) y de -0.3V (imágenes 56b y 56d), ambas fotografías se han tomado a $5000\times$ aumentos. Además puede verse que el tamaño de los núcleos ha disminuido con el aumento del potencial ya que en la leyenda de las imágenes se tiene la medida de $1\text{ }\mu\text{m}$ y en la imagen a se observa que el núcleo es mayor que esa longitud mientras que los núcleos de la imagen b son menores. [69]

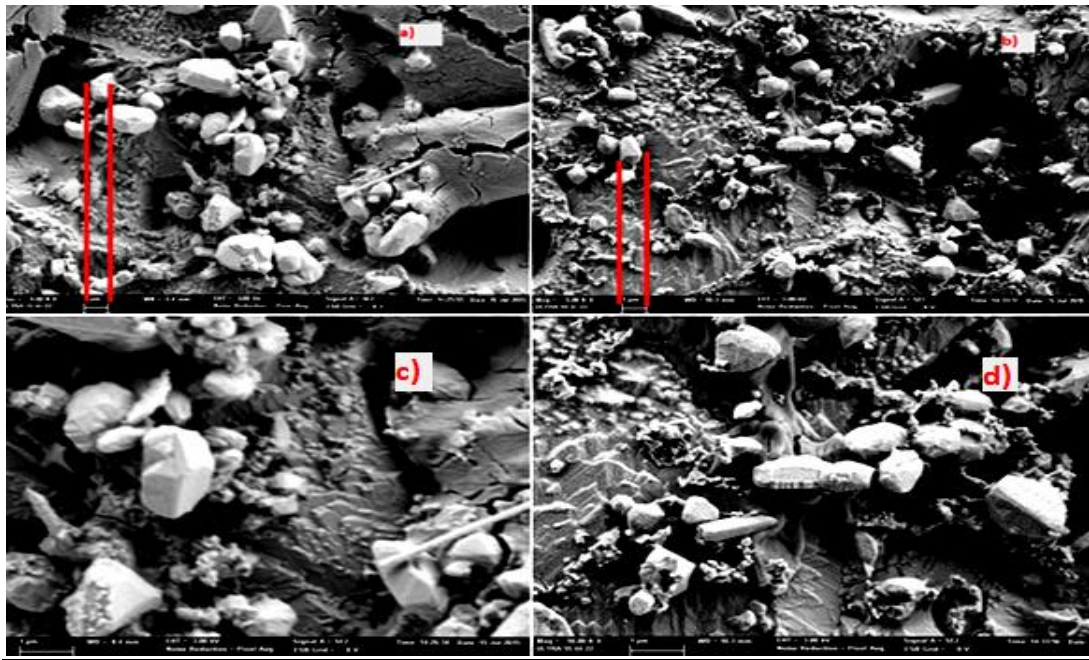


Figura 56: Fotografías hechas por FESEM a 5000 (56a y 56b) y a 10000 (56c y 56d) aumentos para la comparación del potencial de deposición sobre electrodo de cobre. (56a y 56c a $-0.1V$ y 56b y 56d a $-0.3V$). Disolución de 10 mM de $CuSO_4$ y 0.5 M de H_2SO_4 y temperatura $25^{\circ}C$.

8.4.2.2 Efecto de la concentración de $CuSO_4$ en el electrolito

Por lo que se refiere al efecto de la concentración de sulfato de cobre en el electrolito se ha observado que al aumentar dicha concentración el tamaño de los núcleos de cobre también aumenta mientras que la densidad de núcleos de población disminuye. Esto se justifica con que a menores concentraciones de cobre, los átomos de cobre distan más entre ellos en el electrolito que en el caso de elevadas concentraciones, por este motivo los átomos deben desplazar mayores distancias para agruparse y poder formar los núcleos, lo cual es desfavorable energéticamente. Por ello tienden a unirse con los átomos vecinos formando entonces muchos núcleos pero de tamaño pequeño. Sin embargo, en concentraciones más elevadas los átomos se encuentran situados más cerca entre ellos mismos y pueden formar núcleos de mayor tamaño, pero esto conlleva a que haya menor número de núcleos y por tanto haya menor densidad de población de núcleos. [69]

Estas relaciones se pueden ver en la figura 57, donde a un potencial de deposición de $-0.1V$ se han tomado imágenes a 5000 y 10000 aumentos de cómo es la morfología de la electrodeposición en función de la concentración de sulfato de cobre utilizada en el electrolito. Puede verse como a concentraciones menores, concretamente de 10 mM $CuSO_4$, (imágenes 57a y 57c) la densidad de población de núcleos es mayor que en las imágenes 57b y 57d a 100 mM de $CuSO_4$ y también que el tamaño de los núcleos es claramente menor en las imágenes correspondientes a la menor concentración.

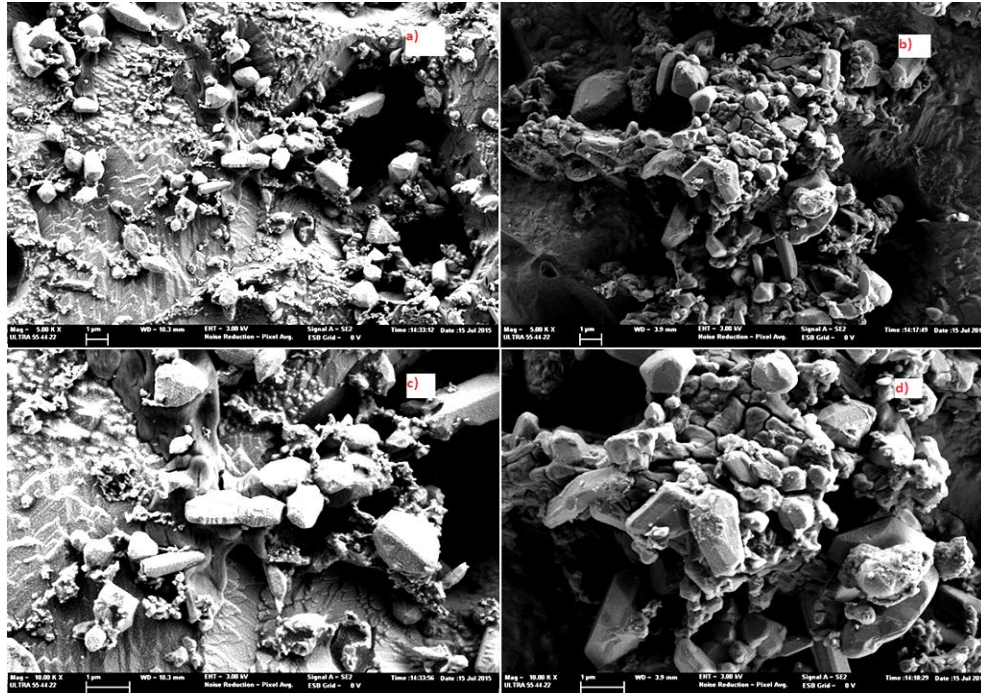


Figura 57: Fotografías hechas por FESEM a 5000 (57a y 57b) y a 10000 (57c y 57d) aumentos para la comparación de la concentración de CuSO_4 sobre electrodo de cobre. (57a y 57c a 10 mM CuSO_4 y 57b y 57d a 100 mM CuSO_4). Potencial de deposición de -0.1V y temperatura 25°C.

Además, Scharifker y Hills crearon una expresión que permite el cálculo de la densidad de núcleos de población en función de la concentración de CuSO_4 en el electrolito, la cual se va a utilizar para comprobar que efectivamente al aumentar la concentración de sulfato de cobre en el electrolito disminuye la densidad de población de núcleos. La expresión es la siguiente: [83]

$$N_0 = 0.065 \cdot \left(\frac{1}{8 \cdot \pi \cdot C \cdot V_m} \right)^{0.5} \cdot \left(\frac{n \cdot F \cdot C}{i_m \cdot t_m} \right)^2 \quad [\text{Ecuación XII}]$$

Donde C es la concentración de CuSO_4 en $\frac{\text{mol}}{\text{cm}^3}$, n el número de electrones transferidos, V_m es el volumen molar del compuesto que se está transfiriendo, es decir, del cobre, i_m es la densidad de corriente máxima y t_m su tiempo asociado en el ensayo cronoamperométrico.

El volumen molar se determina como el cociente entre el peso molecular y la densidad del cobre, siendo:

$$V_m = \frac{PM_{\text{Cu}}}{\rho_{\text{Cu}}} = \frac{63.54 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{8.96 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}} = 7.09 \frac{\text{cm}^3}{\text{mol}}$$

Para el electrolito de 10 mM de sulfato de cobre la densidad de núcleos obtenida es para unos valores de i_m de $-1.08\text{E}-01 \frac{\text{A}}{\text{cm}^2}$ y t_m de 0.5 segundos:

$$N_0 = 0.065 \cdot \left(\frac{1}{8 \cdot \pi \cdot 0.00001 \cdot 7.09} \right)^{0.5} \cdot \left(\frac{2 \cdot 96485 \cdot 0.00001}{-0.108 \cdot 0.5} \right)^2 = 6.22 \cdot 10^4 \frac{\text{núcleos}}{\text{cm}^2}$$

Mientras que el obtenido para una concentración de sulfato de cobre de 100 mM es de $2.99 \cdot 10^4 \frac{\text{núcleos}}{\text{cm}^2}$. Lo que corrobora que la densidad de núcleos depositados disminuye con la concentración de CuSO_4 en el electrolito. Estos valores de N_0 obtenidos difieren en varios órdenes de magnitud con respecto a los proporcionados por los autores, los cuales son del orden de $10^6 \frac{\text{núcleos}}{\text{cm}^2}$. Esta discrepancia de valores obtenidos respecto a los de referencia puede deberse a que el modelo creado por Scharifker y Hills no puede distinguir diferentes fenómenos de nucleación que pueden darse durante la difusión, como por ejemplo que haya más de un núcleo en una zona de difusión o que los núcleos depositados presenten otra orientación. [83, 84]

8.4.2.3 Efecto de la adsorción de BSA

Por último, se ha estudiado como afecta la adsorción de BSA en una concentración de 1 g/L sobre la superficie de un electrodo de cobre a un potencial de deposición de -0.1V y a una concentración de 100 mM de CuSO_4 . Lo que se observa es que la presencia de la proteína (capa viscosa de la imagen 58b) ha ocasionado que se deposite menos cantidad de cobre en comparación a la imagen a donde no hay BSA adsorbida. Esto puede verse fácilmente mediante la figura 58.

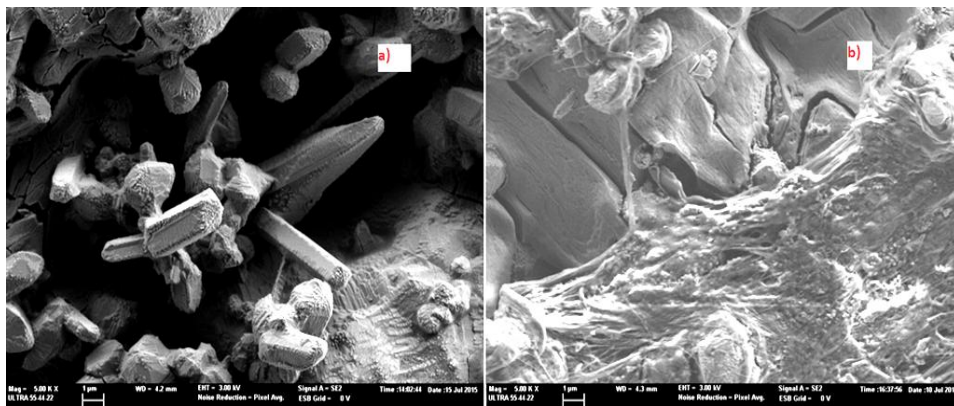


Figura 58: Fotografías hechas por FESEM a 5000 aumentos para la comparación del efecto de la adsorción de BSA en la electrodeposición de cobre sobre cobre. (58a ausencia de BSA y 58b presencia de 1g/L BSA). Potencial de deposición de -0.1V, disolución de 100 mM de CuSO_4 y 0.5 M de H_2SO_4 y temperatura de 25°C.

9. CONCLUSIONES

En este Trabajo Fin de Grado se ha estudiado la electrodeposición de cobre con proteína BSA adsorbida sobre superficies de oro y cobre a partir de voltametrías cíclicas, cronoamperometrías y estudio morfológico de la formación de los núcleos de cobre sobre dichas superficies metálicas. Las conclusiones que se han extraído tras el análisis y discusión de los resultados se muestran a continuación.

- El coeficiente de difusión de los iones Cu^{+2} hacia la superficie metálica del RDE es mayor en el caso de cobre como sustrato que en el caso del oro, luego la electrodeposición del cobre es más espontánea sobre cobre. Esto se corrobora con un valor de potencial de comienzo de electrodeposición de 0.1V en cobre mientras que en oro la reducción no se da hasta -0.07V.
- La presencia de la proteína BSA adsorbida en la superficie de oro inhibe la electrodeposición y oxidación del cobre. Debido a que dicha superficie se satura se ha escogido 0.1 g/L como concentración óptima de BSA para reducir la oxidación de cobre sobre superficies de oro. En el caso del sustrato de cobre con BSA adsorbida se han obtenido resultados similares al oro pero se deben realizar más experimentos para asegurar la adsorción de BSA sobre cobre.
- Al aumentar la velocidad de rotación del RDE se consigue electrodepositar más cantidad de cobre ya que además del proceso natural de difusión aparece la convección forzada. Por otro lado, este aumento de velocidad de rotación genera una mayor resistencia a la oxidación electroquímica, sobretodo en el caso de superficies de cobre, y también provoca que la reducción de los protones sobre las superficies metálicas se dé a potenciales más positivos, es decir, es más espontánea dicha reducción.
- Se ha determinado que la morfología de los núcleos depositados no es hemisférica, si no que es alargada, lo cual justifica la desviación de los datos experimentales respecto a los modelos de nucleación de Scharifker y Hills.
- Electrolitos más concentrados en CuSO_4 permiten mayor electrodeposición de cobre sobre las superficies metálicas y por consiguiente también se oxidan más. Existe una relación directa de co-deposición entre la concentración de iones Cu^{+2} que se electrodepositan y la cantidad de protones que se reducen sobre esa superficie. Además, elevar la concentración de analito conlleva a que la densidad de núcleos de población disminuya y que el tamaño de los núcleos formados aumente.

Proceso de disolución-deposición de cobre en presencia de la proteína albúmina (BSA)
mediante técnicas electroquímicas

- Conforme se aumenta el valor del potencial de deposición aplicado la cantidad de cobre que se electrodeposita es mayor. Esta elevación del potencial implica una mayor densidad de núcleos de población y un menor tamaño de los núcleos depositados.

Gracias a estas conclusiones se ha conseguido conocer y obtener información útil acerca de la electrodeposición y corrosión del cobre la cual es importante tener en cuenta en el diseño de implantes dentales con aleaciones de cobre.

10. REFERENCIAS

- [1]. Haruyuki Kawahara, Oseointegración bajo carga inmediata: tensión/compresión, biomecánica y formación/reabsorción del hueso. *Implant Dentistry*. 12(1), (2003).
- [2]. Dra. C.E. Leticia Maria Lemus Cruz y otros, *The origin and evolution of dental implant*, (2009).
- [3]. Bechelli Alberto, Diagnóstico y Planeamiento en Prótesis Oseointegrada. *Revista de la Asociación Odontológica Argentina*. 79, (2004).
- [4]. Alley BS y otros, A comparison of survival of teeth following endodontic treatment performed by general dentists or by specialists. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* (98):115-118, (2004).
- [5]. Park JB, Use of mineral trioxide aggregate in the open apex of a maxillary first premolar. Department of Periodontology. College of Dentistry. Seoul Nacional. *J Oral Sci*. 50(3):355-8, (2008).
- [6]. Llambés Arenas F, Regeneración Osea Guiada (Parte II): Aumento Vertical de Reborde Alveolar. *Rev Maxillaris*. 6(66):54-62, (2004).
- [7]. Melo M D y otros, Implant survival rates for oral and maxillofacial surgery residents: a retrospective clinical review with analysis of resident level of training survival. *J Oral Maxillofac Surg.*(64):1185-89, (2006).
- [8]. Höglund y otros, Ligation of the spermatic cord in dogs with a self-locking device of a resorbable polyglycolic based co-polymer--feasibility and long-term follow-up study, (2014).
- [9]. Höglund y otros, A resorbable device for ligation of blood vessels : development, assessment of surgical procedures and clinical evaluation, (2012).
- [10]. Dra. Susana Cuesta Frechoso y otros, *Implantes dentales: La tercera dentición*, (2003)
- [11]. Y. Takanashi y otros, Una comparación de costos de sobredentadura mandibular de dos implantes y prótesis tratamiento convencional. 17 pp. 181-186, (2004).
- [12]. U. Mgbeokwere y otros, Una encuesta de los conocimientos de los implantes dentales como una opción en el tratamiento de las mandíbulas desdentadas entre los trabajadores de salud en las clínicas dentales del gobierno en Enugu. 1 , pp. 91-95, (2011).
- [13]. D. Buser y otros, Aumento de la cresta localizado con autoinjertos y membranas de barrera. *Periodontol 2000*, 19 pp. 151-163, (1999).
- [14]. DL Cochran y otros, El uso de tiempos de curación reducidos sobre los implantes ITI con un (SLA) de superficie con chorro de arena y al ácido: los primeros resultados de los ensayos clínicos sobre implantes ITI SLA. pp. 144-153, (2002).

- [15]. Ratner Buddy D y otros, BIOMATERIALS SCIENCE. An Introduction to Materials in Medicine, (2013).
- [16]. Callister W.D. y otros, Artificial total hip replacement, in: John Wiley & Sons, Inc. (Ed.), Materials Science and Engineering. An Introduction, pp. 165-172, (2007).
- [17]. Gaudy, J. Atlas de Anatomía Implantológica. ELSEVIER (2008).
- [18]. Cherchève, R. Implantes odontológicos. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, (1985).
- [19]. Dr Andrés Ozols, Aleaciones odontológicas, (2012).
- [20]. Paula Aroca, Complicaciones causadas por implantes dentales, (2012).
- [21]. Y. Nuevo Ordoñez, Empleo de medidas químicas y bioquímicas como indicadoras de la liberación de metales traza procedentes de implantes ortopédicos y odontológicos, (2011).
- [22]. M. Encarnación Blasco, Corrosión Materiales, (2014).
- [23]. Affatato S. y otros, Topography in bio-tribocorrosion, in: Yu Yan (Ed.), Bio-tribocorrosion in biomaterials and medical implants, Woodhead Publishing Limited, USA, pp. 1-21, (2013).
- [24]. Duffó G y otros, An experimental model to study implant corrosion. Acta Odont Latinoamer;12:3-10, (1999).
- [25]. Adya N y otros, Corrosion in titanium dental implants: literature review. J Indian Prosthodont Soc;5:126-131, (2005).
- [26]. Chaturvedi TP, An overview of the corrosion aspect of dental implants (titanium and its alloys). Indian J Dent Res;20:91-98, (2009).
- [27]. Clínica Oliva dental, Mercury amalgam problems and the cracked tooth, (2014).
- [28]. F.J. GIL y otros, Aplicaciones biomédicas del titanio y sus aleaciones, (1993).
- [29]. Bohórquez y otros, Profesor agregado del Departamento de Ciencias Básicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo, Biomateriales y biomecánica en los implantes oseointegrados, (2012).
- [30]. HY Liu y otros, Efecto de la implantación de iones de fluoruro en la biocompatibilidad de titanio para aplicaciones dentales Appl. Surf. Sci., 254 pp. 6305-6312, (2008).
- [31]. Valeria Prado J. y otros, Application of copper bactericidal properties in medical practice, (2012).
- [32]. Jie Liu y otros, Effect of Cu content on the antibacterial activity of titanium–copper sintered alloys, Pages 392–400, (2014).
- [33]. Gordon AS y otros, Responses of diverse heterotrophic bacteria to elevated copper concentrations. Can J Microbiol 40: 408-11, (1994).

- [34]. Rodríguez-Montelongo L y otros, Membrane-associated redox cycling of copper mediates hydroperoxide toxicity in *Escherichia coli*. *Biochim Biophys Acta* 1144: 77-84, (1993).
- [35]. Rafael Serra Simal, Medio Interno; ISBN: 84-688-1218-8, (2015).
- [36]. Leonor Thomson, Proteínas plasmáticas, bioquímica II, (2011).
- [37]. Kerstetter, J. E y otros, The impact of dietary protein on calcium absorption and kinetic measures of bone turnover in women. *J Clin Endocrinol Metab* (2005) Vol. 90, p. 26-31, (2005)
- [38]. Eduardo Chicano, Lego (o Tente) en las proteínas: el enlace peptídico , (2011).
- [39]. José Mataix Verdú y otros, Proteínas capítulo 5, (2005).
- [40]. TJ Peters, Serum albumin, *Adv. Protein Chem.*, 37 ,pp. 161–245, (1985).
- [41]. P. Aguirre Puig, Papel actual de albúmina en cuidados críticos, páginas 497-504, (2014).
- [42]. Suzanna Pacheco V. y otros, Albumin in the critically ill patient: myth or real therapeutics, (2007).
- [43]. Pocock y otros, El riñón y la regulación del medio interno, *Fisiología humana: La base de la Medicina*. Elsevier España. ISBN 8445814796, (2005).
- [44]. Takahara A y otros, Bovina adsorción de albúmina de suero sobre la superficie organotrichlorosilane inmovilizada: influencia de la separación de fases en los patrones de adsorción de proteínas, (1998)
- [45]. McClellan y otros, Effect of concentration and denaturation on adsorption and surface tension of bovine serum albumin, *Colloids Surf.B: Biointerfaces* 28, pp. 63–75, (2003).
- [46]. Lewis y otros, *Condensed Chemical Dictionary*, 12th ed., p. 30, Van Nostrand Reinhold Co, (1993).
- [47]. Perejoan M. Sustitutos de la saliva. *Revista Española de Estomatología*, 326-332, (1986).
- [48]. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J*, 172:305, (1992).
- [49]. Kuhn, A. T y otros, Synthetic environments for the testing of metallic biomaterials. In V. E. Francis, & T. S. Lee (Eds.), *The use of synthetic environments for corrosion testing* (pp. 79-97) American Society for Testing and Materials. doi:10.1520/STP970-EB, (1986).
- [50]. Mario G Bianchetti y otros, Los fluidos corporales y el metabolismo de la sal - Parte I, (2009)
- [51]. Bianchetti et al., *Italian Journal of Pediatrics*, (2009).
- [52]. Omar Jorge Tello, *Adsorción química*, (2011).
- [53]. A. Igual Muñoz y otros, Adsorption of bovine serum albumin on CoCrMo surface: Effect of temperature and protein concentration, *Pages* 1–11, (2010).
- [54]. Atkins, P. W., "Physical Chemistry", Oxford University Press, 6th ed., (1998).

- [55]. J. Bertrán y otros, Química Física II, temas 55 y 56. Ariel Ciencia. 1ª edición, (1987).
- [56]. M. Díaz Peña y otros, Química Física, tema 30. Alambra, (1972).
- [57]. J. Am. Chem., The constitution and fundamental properties of solids and liquids. part i. solids. Irving Langmuir; Soc. 38, 2221-95, (1916).
- [58]. P. Silva-Bermudez y otros, Corrosion resistant coatings for dental implants Pages 250–308, (2013).
- [59]. Blomberg y otros, Proteins at interfaces II, TA Horbett and JL Brash Edition, No. 602 in ACS Symposium series, Washington DC, (1995).
- [60]. M. Lampin y otros, Correlación entre la rugosidad de sustrato y la humectabilidad, adhesión celular y la migración celular, J Biol Chem, 257 (9), pp. 4.888-4893, (1982).
- [61]. I. Degasne y otros, Efectos de la rugosidad, la fibronectina y vitronectina en el apego, la difusión y proliferación de células similares a osteoblastos humanos (Saos-2) en superficies de titanio Calcif Tissue Int, 64 (6), pp. 499-507, (1999).
- [62]. AP Serro y otros, Adsorción de albúmina sérica bovina en las superficies de titanio y su relación con aspectos de humectabilidad J Biomed Mater Res, 46 pp. 376-381, (1999).
- [63]. DE McDonald y otros, Análisis de superficie de la fibronectina de plasma humano adsorbido a los materiales de titanio comercialmente puro J Biomed Mater Res, 41, pp. 120-130, (1998).
- [64]. X. Cheng y otros, Biomaterials, pp. 7350-7356, (2005).
- [65]. Qingji Xie y otros, A novel dual-impedance-analysis EQCM system—investigation of bovine serum albumin adsorption on gold and platinum electrode surfaces, Pages 107–115, (2003).
- [66]. Edilson M. Pinto y otros, Interaction of BSA protein with copper evaluated by electrochemical impedance spectroscopy and quartz crystal microbalance, Pages 7460–7466, (2008).
- [67]. E. Protopopoff y otros, Electrochim. Acta, 51, p. 408 (2005).
- [68]. JO Zerbino y otros, Solid State Electrochem, p. 177 7 (2003).
- [69]. Darko Grujicic y otros, Electrodeposition of copper: the nucleation mechanisms, (2001).
- [70]. Diana Elizabeth García-Rodríguez y otros, Copper electrodeposition on glassy carbon and highly oriented pyrolytic graphite substrates from perchlorate solutions, (2012).
- [71]. Metrohm Autolab B.V., RDE2 user manual, (2015).
- [72]. Frank Walsh, Un primer curso de ingeniería electroquímica, (2000).
- [73]. Mónica González, Electrodo de referencia, (2010).
- [74]. Milazzo. G. y otros, Tables of Standard Electrode Potentials, (1978).

- [75]. Pawley JB, Handbook of Biological Confocal Microscopy (3rd ed. edición), (2006).
- [76]. Zelinsky A. G. y otros, Open circuit potential transients and electrochemical quartz crystal microgravimetry measurements of dissolution of copper in acidic sulfate solutions, (1083-1093), (2004).
- [77]. Gabe, D. R., Appl. Electrochem 27, 908, (1997).
- [78]. Bard Allen y otros, Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications (2 ed.), p. 339, (2000).
- [79]. V.P. Spiridonov y otros, Tratamiento Matemático de Datos Físicoquímicos, 2ª Ed.; Mir, (1983).
- [80]. G. Oskam y otros, J. Electrochem. Soc. 146 (4) 1436, (1999).
- [81]. E Gileadi y otros, J. Electrochem. Soc. 147 (2) 567, (2000).
- [82]. M. Georgiadou y otros, J. Electrochem. Soc. 148 (1) C54, (2001).
- [83]. B. Scharifker y otros, Electrochim. Acta 28 (7) 879, (1983).
- [84]. A. Radisic, J. Electrochem. Soc. 148 (1) C41, (2001).

DOCUMENTO 2:

PRESUPUESTO

ÍNDICE DEL PRESUPUESTO

1. Presupuesto parcial	76
1.1. Electrodo y preparación superficial	76
1.2. Estudio electroquímico	77
1.3. Estudio morfológico	77
1.4. Instrumentación de laboratorio	78
1.5. Reactivos	79
1.6. Mano de obra	79
2. Presupuesto de ejecución material	80
3. Presupuesto de ejecución por contrata	80

1. PRESUPUESTO PARCIAL

Para la estimación del presupuesto parcial correspondiente a cada unidad de obra en función de los elementos que la componen se ha aplicado los siguientes factores:

- Los equipos o maquinaria que se han utilizado en el laboratorio para la realización del TFG se ha estimado su coste como coste de amortización y conservación. El periodo de amortización se ha considerado que es de $200 \frac{\text{d}}{\text{año}}$ durante 10 años. Para identificar a qué elementos se les ha aplicado dicho coste de amortización se les ha marcado con un (*).
- No se han considerado costes indirectos en ninguna unidad de obra.
- Para el cálculo del presupuesto total se ha considerado un porcentaje del 10% en gastos generales (electricidad, agua, gas..etc) y no se ha tomado ningún porcentaje de beneficio industrial puesto que la UPV no ha obtenido ningún beneficio adicional con la realización de este TFG.
- El 21% de IVA ya está incluido en cada uno de los precios de los elementos utilizados por lo que el presupuesto de ejecución por contrata es directamente el presupuesto total.

1.1. Electroodos y preparación superficial

Unidad	Descripción	Coste Unitario (€/ud)	Medición	Importe (€)
ud	Electrodo de oro 6.1204.320 Metrohm	21,98	1	21,98
ud	Electrodo de cobre	9,5	4	38
d	Struers LaboPol-21 (*)	2,62	10	26,2
ud	Paño duro para pulir	1	1	1
ud	Papel de SiC de distintas granulometrías	1,24	3	3,72
				90,90

El coste total de compra de los electrodos y del equipo y complementos necesarios para su pulido superficial es de 90,90 €.

1.2. Estudio electroquímico

Unidad	Descripción	Coste Unitario (€/ud)	Medición	Importe (€)
d	Potenciostato PGSTAT302N (*)	10,89	18	196,02
m3	Dosificación de nitrógeno ultra puro	5,68	0,01	0,06
d	Baño termostataado (*)	1,13	18	20,25
ud	Electrodo de referencia Ag/AgCl	214,4	1	214,4
ud	Electrodo auxiliar de Pt	968,8	1	969,8
ud	Cable conector potenciostato-electrodos	34,65	3	103,95
d	Autolab RDE-2 motor controller (*)	5,37	13	69,81
ud	Fijación electrodos-celda-soporte	945	1	945
ud	Celda Vessel, 5-70 mL 6.1418.150	745,92	1	745,92
ud	Ordenador Portátil personal HP	499	1	499
d	Software Autolab GPES 4.2	0,95	18	17,14
ud	Soporte de la celda	10,94	1	10,94
				3.792,29

El coste total que conlleva la compra del equipo experimental utilizado para los ensayos electroquímicos es de 3792,29 €.

1.3. Estudio morfológico

Unidad	Descripción	Coste Unitario (€/ud)	Medición	Importe (€)
d	Micr. confocal Olympus Lext OLS4100 (*)	83,49	1	83,49
h	Microscopio FESEM marca Gemini	25	4	100
ud	Portamuestras FESEM	9,68	1	9,68
m	Cinta adhesiva de grafito	5	0,02	0,1
				193,27

El coste total del estudio morfológico de las superficies de los electrodos utilizados en este TFG asciende a un valor de 193,27 €.

1.4. Instrumentación de laboratorio

Unidad	Descripción	Coste Unitario (€/ud)	Medición	Importe (€)
d	Balanza analítica Sartorius (*)	0,59	7	4,11
m	Papel indicador	0,6	0,1	0,06
ud	Pie de rey	10,18	1	10,18
ud	Placa Petri	1,33	1	1,33
ud	Pipeta graduada de 20 mL	1,96	1	1,96
ud	Pipeta graduada de 10 mL	1,32	1	1,32
ud	Pipeta graduada de 1 mL	1,36	1	1,36
ud	Aspirador manual para pipeta de 20 mL	4,96	1	4,96
ud	Aspirador manual para pipeta de 10 mL	4,96	1	4,96
ud	Aspirador manual para pipeta de 1 mL	4,96	1	4,96
ud	Espátula acero inoxidable	3,03	2	6,06
ud	Vaso de precipitados de 100 mL	1,32	3	3,96
ud	Vaso de precipitados de 250 mL	2,19	3	6,57
ud	Vaso de precipitados de 600 mL	3,07	3	9,21
ud	Matraz aforado de 1L	21,72	3	65,16
ud	Matraz aforado de 250 mL	10,39	7	72,73
ud	Matraz aforado de 100 mL	7,41	3	22,23
ud	Botes de plástico para las disoluciones	0,42	6	2,52
ud	Probeta de 50 mL	4,56	1	4,56
d	Nevera (*)	0,11	3	0,33
ud	Pipeta Pasteur	0,03	2	0,06
d	Campana extractora (*)	0,8	2	1,6
ud	Vidrio de reloj de $\phi = 60$ mm	0,59	3	1,77
				231,96

El coste total asociado a la instrumentación de laboratorio necesaria para el correcto funcionamiento y trabajo en el interior de éste es de 231,96 €.

Proceso de disolución-deposición de cobre en presencia de la proteína albúmina (BSA)
mediante técnicas electroquímicas

1.5. Reactivos

Unidad	Descripción	Coste Unitario (€/ud)	Medición	Importe (€)
l	Agua destilada	7,5	7	52,5
l	Etanol 96%	6,21	1	6,21
kg	Óxido de Aluminio	92,55	0,005	0,46
l	Ácido sulfúrico 96% grado técnico	16,41	0,0554	0,91
kg	Sulfato de cobre pentahidratado	101,23	0,025	2,53
kg	Proteína BSA fracción V (pH=7)	1664	0,025	41,6
kg	Cloruro sódico	24,37	0,008	0,19
kg	Cloruro potásico	40,75	0,0002	0,01
kg	Fosfato dipotásico	60,2	0,00144	0,09
kg	Fosfato monopotásico	90,2	0,00025	0,02
				104,52

El coste total de adquisición de los reactivos utilizados en la preparación de las disoluciones de trabajo requiere un importe de 104,52 €.

1.6. Mano de obra

Unidad	Descripción	Coste Unitario (€/ud)	Medición	Importe (€)
h	Ingeniero Químico	50	300	15000
				15.000

El coste total de la mano de obra de la que se ha dispuesto en este TFG es la correspondiente al importe que hay que pagarle al ingeniero químico cuya cifra es de 15.000 €.

2. PRESUPUESTO DE EJECUCIÓN MATERIAL

Unidad de obra	Descripción	Importe (€)
1.1	Electrodos y preparación superficial	90,9
1.2	Estudio electroquímico	3792,29
1.3	Estudio morfológico	193,27
1.4	Instrumentación de laboratorio	231,96
1.5	Reactivos	104,52
1.6	Mano de obra	15000
		19.412,94

Asciende el presupuesto de ejecución material a la expresada cantidad de **DIECINUEVE MIL CUATROCIENTOS DOCE EUROS CON NOVENTA Y CUATRO CÉNTIMOS.**

3. PRESUPUESTO DE EJECUCIÓN POR CONTRATA

PRESUPUESTO DE EJECUCIÓN MATERIAL 19.412,94 €

Gastos generales 1941.29 €

PRESUPUESTO DE EJECUCIÓN POR CONTRATA 21.354,23 €

Asciende el presupuesto de ejecución por contrata a la expresada cantidad de **VEINTIÚN MIL TRESCIENTOS CINCUENTA Y CUATRO EUROS CON VEINTITRÉS CÉNTIMOS.**