



**Proyecto Fin de Carrera**  
**Centro Politécnico Superior**  
**Universidad de Zaragoza**



**FABRICACIÓN MEDIANTE FUSIÓN ZONAL CON LÁSER,  
CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL Y ESTUDIO DE LA  
BIOACTIVIDAD DE BIOCERÁMICAS BASADAS EN EL SISTEMA SILICATO  
DE CALCIO-FOSFATO TRICÁLCICO**

Alberto Olmo Gracia

Área de Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica  
Departamento de Ciencia y Tecnología de Materiales y Fluidos  
Centro Politécnico Superior  
Universidad de Zaragoza



Septiembre 2010

Director: José Ignacio Peña Torre  
Área de Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica  
Universidad de Zaragoza

**FABRICACIÓN MEDIANTE FUSIÓN ZONAL CON LÁSER,  
CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL Y ESTUDIO DE LA  
BIOACTIVIDAD DE BIOCERÁMICAS BASADAS EN EL SISTEMA SILICATO  
DE CALCIO-FOSFATO TRICÁLCICO**

**RESUMEN**

El proyecto “Fabricación mediante fusión zonal con láser, caracterización microestructural y estudio de la bioactividad de biocerámicas basadas en el sistema Silicato de Calcio – Fosfato tricálcico”, se ha realizado en el área de “Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica” del Centro Politécnico Superior de la Universidad de Zaragoza y ha sido dirigido por el profesor José Ignacio Peña Torre.

El objetivo del trabajo ha sido la fabricación de probetas de un material biocerámico compuesto de wollastonita ( $\text{CaSiO}_3$ ) y fosfato tricálcico ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) en composiciones alejadas del eutéctico. De esta forma se pretende determinar, tras la realización de ensayos *in vitro*, la reactividad de las muestras y analizar las diferencias con las de composición eutéctica reportadas en la bibliografía.

Se han fabricado muestras con dos composiciones diferentes y, de cada una, se han obtenido dos probetas que han sido realizadas con distintas condiciones de fabricación en una cámara de crecimiento que incorpora un láser de  $\text{CO}_2$  para realizar la técnica de fusión zonal.

Los materiales obtenidos han sido caracterizados mecánicamente mediante ensayos de microdureza Vickers y la estimación de la tenacidad a la fractura mediante el método de las indentaciones.

Para estudiar la reactividad se sometió a las probetas a un ensayo *in vitro* estático, preparando el suero fisiológico artificial conforme a los protocolos existentes. Los cambios producidos y el estudio de la microestructura han sido observados mediante Microscopía Electrónica de Barrido además de realizar análisis EDX para determinar las fases presentes antes y después del ensayo.



## **TABLA DE CONTENIDOS**

RESUMEN .....	1
TABLA DE CONTENIDOS .....	3
MEMORIA.....	7
1.- INTRODUCCIÓN:.....	8
1.1.- Definición y alcance del proyecto.....	8
1.2.- Biomateriales .....	9
1.3.- Antecedentes inmediatos del proyecto .....	10
1.4.- Descripción de las secciones de la memoria y anexos .....	10
2.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	12
2.1.- Etapas de la preparación .....	12
2.2.- Materiales de partida y composiciones estudiadas.....	12
2.3.- Molienda .....	13
2.4.- Obtención de los precursores: Compactación y extrusión.....	14
2.4.1.- Compactación .....	14
2.4.2.- Extrusión .....	14
2.5.- Sinterización .....	14
2.6.- Crecimiento cristalino por fusión zonal con láser.....	15
3.- TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN .....	16
3.1.- Microscopía electrónica de barrido (M.E.B.) .....	16
3.2.- Ensayos de dureza Vickers. Determinación de la tenacidad a fractura $K_{IC}$ .....	16
4.- ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD DE LAS MUESTRAS.....	17
4.1.- Ensayos de bioactividad .....	17
4.1.1.- Ensayos <i>in vitro</i> .....	17
4.2.- Preparación del SBF.....	17
4.3.- Realización del ensayo .....	18
5.- RESULTADOS .....	21
5.1.- Estudio de la composición .....	21

5.2.- Caracterización microestructural .....	21
5.2.1.- W-TCP de composición eutéctica.....	22
5.2.2.- W-TCP (85% mol – 15% mol). Crecimiento a 20 mm/h.....	22
5.2.3.- W-TCP (85% mol – 15% mol). Crecimiento a 150 mm/h.....	23
5.2.4.- W-TCP (90% mol – 10% mol). Crecimiento a 20 mm/h.....	24
5.2.5.- W-TCP (90% mol – 10% mol). Crecimiento a 150 mm/h.....	25
5.3.- Caracterización mecánica .....	27
5.4.- Estudio de la reactividad.....	28
5.4.1.- Alúmina .....	28
5.4.2.- W-TCP (85% mol – 15% mol). Crecimiento a 20 mm/h.....	28
5.4.3.- W-TCP (85% mol – 15% mol). Crecimiento a 150 mm/h.....	30
5.4.4.- W-TCP (90% mol – 10% mol). Crecimiento a 20 mm/h.....	31
5.4.5.- W-TCP (90% mol – 10% mol). Crecimiento a 150 mm/h.....	32
6.-CONCLUSIONES .....	34
6.1.- Revisión .....	34
6.2.- Lecciones aprendidas.....	35
REFERENCIAS .....	37
ANEXOS.....	41
ANEXO 1.- BIOCERÁMICAS.....	42
ANEXO 2.- CÁLCULOS PARA LA OBTENCIÓN DE LA CANTIDAD INICIAL DE CADA PRODUCTO.....	44
ANEXO 3.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS .....	466
Molienda .....	46
Geometría de las muestras .....	46
Compactación isostática en frío .....	47
Extrusión .....	48
Sinterizado .....	50
Fusión zonal .....	52

ANEXO 4.-ENSAYOS DE BIOACTIVIDAD .....	57
Descripción .....	57
Cálculos .....	58
Modo de preparación.....	62
ANEXO 5.- TÉCNICAS DE CARATERIZACIÓN .....	64
Microscopía electrónica de barrido .....	64
Técnicas de preparación de las muestras para la observación microscópica.....	64
Microureza Vickers y tenacidad a la fractura .....	66
ANEXO 6.- CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL .....	68
Análisis de las estructuras. Cálculos .....	68
Análisis microestructural .....	71
W-TCP (85%mol – 15%mol). Crecimiento a 20 mm/h.....	71
W-TCP (85%mol – 15%mol). Crecimiento a 150 mm/h.....	73
W-TCP (90%mol – 10%mol). Crecimiento a 20 mm/h.....	75
W-TCP (90%mol – 10%mol). Crecimiento a 150 mm/h.....	78
ANEXO 7.- ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD .....	80
Cambios químicos producidos .....	80
W-TCP (85%mol – 15%mol). Crecimiento a 20 mm/h.....	81
W-TCP (85%mol – 15%mol). Crecimiento a 150 mm/h.....	86
W-TCP (90%mol – 10%mol). Crecimiento a 20 mm/h.....	90
W-TCP (90%mol – 10%mol). Crecimiento a 150 mm/h.....	94
ANEXO 8.- CARACTERIZACIÓN MECÁNICA .....	98
AGRADECIMIENTOS .....	105



Primera parte:

**MEMORIA**

## **1.- INTRODUCCIÓN:**

### **1.1.- Definición y alcance del proyecto**

El presente proyecto, “Fabricación mediante fusión zonal con láser, caracterización microestructural y estudio de la bioactividad de biocerámicas basadas en el sistema Silicato de Calcio – Fosfato tricálcico”, se ha realizado en el área de “Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica”, que pertenece al departamento de “Ciencia y Tecnología de Materiales y Fluidos” del Centro Politécnico Superior de la Universidad de Zaragoza.

En el proyecto se estudian los biomateriales cerámicos basados en el sistema Silicato de Calcio ( $\text{CaSiO}_3$ ), también conocido como *Wollastonita* (o W), y el Fosfato Tricálcico (o TCP,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ). Hasta la fecha dichos materiales han sido estudiados únicamente en su composición eutéctica mediante su análisis estructural y se ha comprobado su bioactividad mediante ensayos *in vitro* y recientes ensayos *in vivo*. En ellos se ha comprobado lo adecuado del material para ser utilizado como sustituto óseo, dada su buena biocompatibilidad y osteoinductividad. Sin embargo, dado lo fina que es la estructura eutéctica, con láminas alternadas de W y TCP de un tamaño de 1.5 micras, los poros resultantes tras la disolución de la wollastonita son demasiado pequeños para permitir la vascularización y crecimiento del hueso en la parte interior del implante, pues el tamaño de los osteoblastos es superior a 50 micras.

Por lo tanto, dentro del alcance del proyecto se encuentra la fabricación de probetas de este material con dos composiciones distintas, alejadas del punto eutéctico para aumentar la cantidad de wollastonita y favorecer la formación de fase primaria de la misma, pues es el componente que se disuelve y así permitir la aparición de poros de mayor tamaño. Los precursores necesarios para la fusión en el láser se han realizado mediante las técnicas de presión isostática en frío (CIP) y extrusión. El uso de la técnica de fusión zonal con láser permite controlar la microestructura del material, por lo que las muestras de cada composición se han formado a dos velocidades distintas para observar los cambios estructurales, pues es sabido que éstos (y no sólo la composición química) afectan a las propiedades del material [1].

Se efectuaron medidas de dureza Vickers según la norma ASTM C1327-99 y se estimó la tenacidad a fractura de los materiales para analizar cómo la microestructura se relaciona con estas propiedades.

Para analizar la microestructura de cada una de las probetas fabricadas -así como la variación producida en las que se sometieron a los ensayos *in vitro*- y predecir una mejor respuesta en el medio biológico frente al material de composición eutéctica, se utilizó el Microscopio Electrónico de Barrido (M.E.B.) así como su herramienta EDX (Energy-dispersive X-ray spectroscopy) para la determinación de la composición de las fases presentes.

Por último se analizó la bioactividad del material mediante la realización de ensayos *in vitro*. Para ello se preparó, a partir de los productos de partida y de las concentraciones del suero reportadas en la bibliografía, la cantidad necesaria de suero biológico artificial para introducir en él cuatro probetas del material a estudiar obtenidas en diferentes condiciones de crecimiento y composición. Además se introdujo una quinta probeta, correspondiente a una cerámica inerte (alúmina) para comprobar que ésta no tiene reacción en el suero.

### **1.2.- Biomateriales**

En el último siglo la esperanza de vida ha aumentado notablemente, alcanzando edades superiores a los 85 años, lo que ha llevado a un gran número de personas mayores a sufrir algún tipo de discapacidad. Si a esos casos se suma el incremento de la siniestralidad (accidentes laborales o de tráfico), las situaciones en las que es necesaria la colocación de implantes son numerosas, y en ellas el empleo de biomateriales es de vital importancia.

Los biomateriales, definidos como “materiales que tratan de interaccionar interfacialmente con el sistema biológico para evaluar, tratar, aumentar o reemplazar cualquier tejido, órgano o función del cuerpo” (D. F. Williams, 1992) pueden ser de distinto tipo: metales, cerámicos (Anexo 1), polímeros (tanto naturales como sintéticos) así como materiales compuestos. La elección de uno u otro se realiza según las propiedades que deben tener (ductilidad, resistencia, flexibilidad, resistencia al desgaste...) o su aplicación (soporte, diagnóstico, tratamiento...), entre otros factores.

Entre estas aplicaciones se encuentra el relleno, reparación o sustitución del tejido óseo, que es la función de los materiales empleados en este proyecto. El problema de utilizar materiales cerámicos con estructura porosa (a imitación del hueso humano) en los implantes es su elevada fragilidad, por lo que hace unos años se planteó la posibilidad de emplear materiales densos capaces de desarrollar, una vez implantados, una estructura porosa de hidroxiapatita [2] ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), que es el componente principal de la parte

mineral del hueso. Para ello el material debería tener, al menos, dos fases: una de ellas bioactiva y la otra reabsorbible. El sistema elegido fue el expuesto, en el que la wollastonita es bioactiva (disolviéndose en contacto con el suero biológico) y el TCP es reabsorbible (produciéndose una transformación a hidroxiapatita, HA).

### **1.3.- Antecedentes inmediatos del proyecto**

Hasta la fecha se ha documentado bibliografía acerca de los biomateriales tratados en este proyecto (determinación del diagrama de fases, métodos de fabricación, caracterización microestructural y estudio de la reactividad mediante ensayos *in vitro*) en la composición eutéctica.

Recientemente se ha dado un paso más y se han realizado ensayos *in vivo* del material, mediante su implante en tibias de conejo [3]. En el estudio (realizado por miembros del Instituto de Cerámica y Vidrio y de la Universidad Miguel Hernández de Elche, con los que el área mantiene una colaboración) se verifica lo adecuado del material para reemplazo óseo dada la alta bioactividad y la ausencia de inflamación, infección o reacciones adversas en la zona, quedando el implante fuertemente unido al hueso. Sin embargo, por los problemas de la estructura eutéctica antes mencionada, se plantea la fabricación del Bioeutectic® con una cantidad mayor de wollastonita de forma que aparezca una fase de este material aparte de la estructura eutéctica, lo que provocará mayores poros cuando ésta se disuelva. Es en este punto en el que el director del proyecto, José Ignacio Peña, como parte del equipo que ha presentado esos resultados, propuso la elaboración del trabajo que aquí se expone.

### **1.4.- Descripción de las secciones de la memoria y anexos**

En los posteriores puntos de la memoria y los correspondientes anexos se expondrán las tareas realizadas en el proyecto. En el capítulo 2 se explican las técnicas de fabricación de las muestras con sus respectivas etapas: preparación de las composiciones de partida, fabricación de los precursores y solidificación mediante fusión zonal. En el capítulo 3 se describen las técnicas de caracterización empleadas en este proyecto: Microscopía Electrónica de Barrido y ensayos de indentación Vickers. En el capítulo 4 se describe la metodología correspondiente a los ensayos de bioactividad necesarios para analizar la reactividad del material. Con los datos recogidos de las secciones anteriores, en el capítulo 5 se exponen los resultados obtenidos en cuanto a la microestructura y reactividad del

material. En este capítulo se discute cómo las formas de preparación afectan a los resultados obtenidos en las diferentes muestras estudiadas.

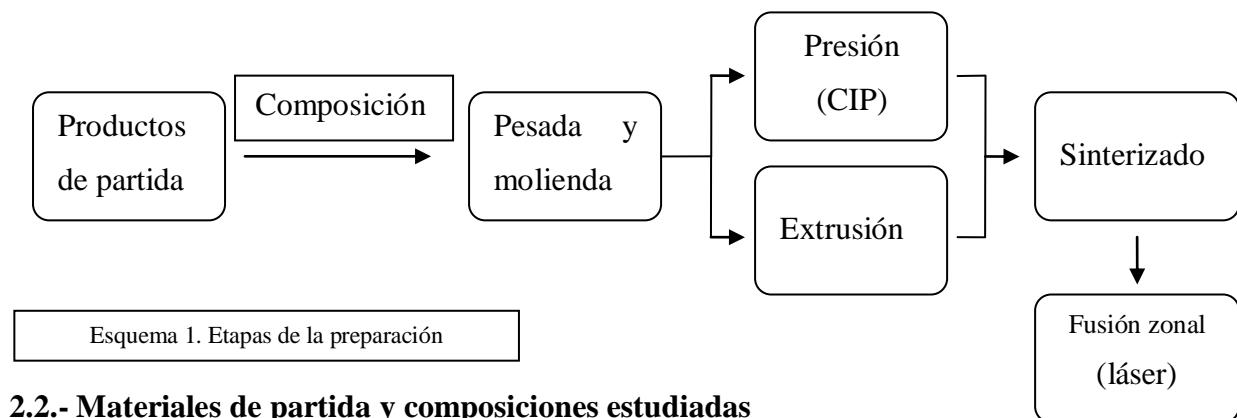
Por último, en el capítulo 6 se indican las conclusiones más destacadas de este trabajo y posteriormente se referencia la bibliografía utilizada. En los anexos finales se adjuntan los cálculos necesarios para los resultados planteados en el proyecto (composiciones de partida, fabricación del suero, medidas de dureza cálculo de la tenacidad) y también se amplia la información de ciertos aspectos del proyecto relacionados con las biocerámicas, la fabricación de probetas, la técnica de fusión zonal con láser, los ensayos de bioactividad, y la caracterización mediante microscopía electrónica.

## 2.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

En esta sección se expondrá brevemente la metodología seguida para la fabricación de las muestras que se han ensayado. En los casos en los que sea necesaria una mayor extensión para la explicación de la técnica se remitirá al anexo correspondiente.

### 2.1.- Etapas de la preparación

El orden de las etapas seguidas en esta primera parte del proyecto se muestra a continuación:



### 2.2.- Materiales de partida y composiciones estudiadas

Los productos de partida utilizados para la preparación de las muestras fueron wollastonita ( $\text{CaSiO}_3$ ) de la casa Alfa, con un 99.9% de pureza y fosfato tricálcico, en adelante TCP ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), fabricado en la universidad Miguel Hernández de Elche.

El sistema estudiado presenta un punto eutéctico en la composición (% peso) 60 % W –

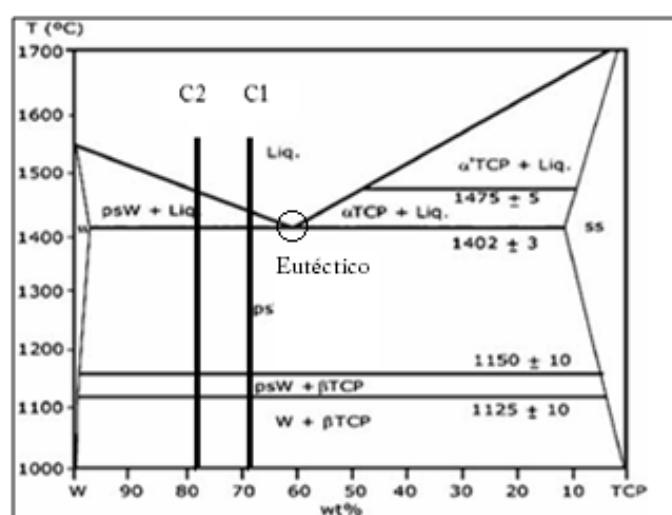


Figura 1. Diagrama de fases W-TCP y composiciones ensayadas

40% TCP, como se puede apreciar en el diagrama de fases binario de la figura 1 [4]). Tal como se ve en él la temperatura eutéctica es de 1402°C y las fases formadas son la pseudowollastonita (forma de alta temperatura de la wollastonita) y el  $\alpha$ -TCP (forma de alta temperatura del TCP), a los que se ha

denominado como wollastonita y TCP por simplicidad. En el diagrama de fases se indican también las composiciones ensayadas, ambas desplazadas hacia un mayor contenido de wollastonita, así como el punto eutéctico.

La composición eutéctica equivale a un 80% W – 20% TCP en % mol. Dado que queremos alejarnos del punto eutéctico en dirección a la wollastonita, se han elegido para el estudio las composiciones C1 y C2, que aparecen en la tabla 1 junto a la eutéctica como comparación.

	Wollastonita (% mol)	TCP (% mol)	Wollastonita (% peso)	TCP (% peso)
Eutéctica	80	20	60	40
Composición 1	85	15	67.97	32.03
Composición 2	90	10	77.12	22.88

Tabla 1.Composiciones eutéctica y ensayadas

La elección de los porcentajes ha sido arbitraria, siempre aumentando la cantidad de W, pero dejando suficiente TCP para permitir su transformación a HA (hasta casi un 23% en peso en la composición 2). Los cálculos acerca de las cantidades necesarias de cada material para la preparación del polvo de la mezcla se indican en el Anexo 2. La cantidad inicial preparada para cada composición fue de 10 gramos, cantidad suficiente para realizar varios ensayos de crecimiento y para poder manejarla de forma sencilla en el mortero utilizado en la siguiente etapa.

### **2.3.- Molienda**

Tras el pesado, los polvos de partida fueron molidos en un mortero de mano de ágata, cuya dureza Mohs superior a la de los polvos, para evitar su rayado.

Mediante este proceso se mejora la homogeneidad de la materia prima y se afina el tamaño de las partículas, favoreciendo la etapa de sinterización tras la compactación. Esta etapa se podría haber realizado automáticamente en un molino de bolas, que habría reducido aún más el tamaño, pero el bajo tamaño de partícula inicial permite prescindir de esta etapa. Las técnicas de preparación de las muestras se amplían en el Anexo 3.

## **2.4.- Obtención de los precursores: Compactación y extrusión**

### 2.4.1.- Compactación

La compactación es el proceso mediante el cual se da forma y resistencia para su manejo a un polvo inicialmente suelto [5]. Añadiendo el proceso de sinterizado posterior, permite obtener el material en la forma deseada y con una resistencia suficiente como para ser manipulado y colocado en la cámara de crecimiento del láser de CO<sub>2</sub>.

Se ha realizado la compactación mediante la técnica de prensado isostático en frío o CIP, (del inglés, Cold Isostatic Pressing) para obtener precursores con geometría cilíndrica, adecuada para el posterior crecimiento por fusión zonal en el láser.

Para favorecer la cohesión de las partículas en la compactación, en el prensado isostático se añadió a los polvos un aglutinante (polyvinylalcohol). Posteriormente, el molde flexible con los polvos se introdujo en una mezcla de agua destilada con un 5% de aceite, que es el fluido de la cámara de la prensa hidráulica. La presión aplicada fue de 11 Tm. durante 3 minutos (que equivalen a 220 Mpa de presión dada la sección de la vasija, como se indica en el Anexo 3).

### 2.4.2.- Extrusión

Para la extrusión, en lugar de partir de los polvos iniciales, éstos fueron mezclados con agua destilada y el aglutinante Duramax hasta obtener una pasta de suficiente consistencia. Esta mezcla fue posteriormente introducida en un molde cilíndrico y empujada por un extremo para obligarla a salir por el otro, obteniendo la forma del molde.

## **2.5.- Sinterización**

La sinterización, realizada en estado sólido, es el proceso en el que se produce la coalescencia de las partículas de polvo en una masa más densa [6], sin la presencia de fase líquida. Para evitar la fusión del material la temperatura de sinterización se suele elegir entre 0.7 y 0.8 veces la temperatura de fusión. Dado que ésta es de aproximadamente 1450°C para las composiciones ensayadas (diagrama de fases), la sinterización se realizó a 1150 °C en los hornos de los laboratorios de investigación del área. Para ver el programa completo de sinterizado, consultar el Anexo 3.

## 2.6.- Crecimiento cristalino por fusión zonal con láser

Tras la obtención de las barras sinterizadas, la siguiente etapa es la solidificación direccional por láser. A partir de la focalización de un haz láser sobre un precursor se establece una pequeña zona fundida que se hace desplazar a lo largo de la muestra dando lugar a un cilindro solidificado direccionalmente. La fusión de las barras sinterizadas se realiza en un sistema de crecimiento equipado con un láser de CO<sub>2</sub> ubicado en el área de Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica. Mediante esta técnica se pueden alcanzar temperaturas superiores a 2700°C [7], suficiente para producir la fusión de los materiales cerámicos que se estudian. La potencia con la que se trabajó para la fusión del material fue de alrededor de 40 W (el equipo es capaz de suministrar 600 W).

La ventaja de esta técnica es la posibilidad de controlar el diámetro de las muestras y su microestructura. Para ello se puede actuar sobre la velocidad de desplazamiento de la zona fundida, la velocidad de rotación de las mordazas de las muestras y la potencia del láser.

En el presente proyecto, los materiales se obtuvieron, para ambas composiciones, a 20mm/h y a 150 mm/h, con una contrarrotación del cristal y el precursor de  $\pm$  50 rpm. La velocidad de 20 mm/h se ha elegido para tener las mismas condiciones de crecimiento que las muestras empleadas en el ensayo *in vivo*, mientras que la de 150 mm/h se ha elegido teniendo en cuenta que a velocidades de crecimiento elevadas el tamaño de las fases tiende a disminuir, incluso llegándose a formar vitrocerámicas y vidrios [8], por lo que se quería observar cómo este punto afectaba a muestras con gran cantidad de fase primaria.

### **3.- TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN**

#### **3.1.- Microscopía electrónica de barrido (M.E.B.)**

Para poder observar y estudiar la microestructura de las muestras así como la reacción que han sufrido tras ser sometidas a los ensayos de bioactividad se recurrió al servicio de microscopía electrónica de los Servicios de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Zaragoza. En concreto se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 6400.

Mediante esta técnica [9] es posible obtener las imágenes (en escala de grises) de la microestructura de las muestras (tipo de fases, morfología y tamaño), además de su composición química mediante el sistema EDX. Otra posibilidad del software de control del microscopio es la posibilidad de realizar mapas de rayos X en los que se ve la distribución de elementos en las distintas zonas de la muestra. Esta utilidad se aprovechó para ver los cambios en la composición de las muestras tras el ensayo *in vitro*. En las sesiones de microscopía se trabajó a 15 KV Y A 8 mm de la muestra, pues eran los ajustes que proporcionaban un mayor contraste. Para poder realizar la observación fue necesario realizar la preparación metalográfica de las muestras y un posterior recubrimiento con carbono para hacerlas conductoras. Las técnicas de preparación se amplían en el Anexo 5.

#### **3.2.- Ensayos de dureza Vickers. Determinación de la tenacidad a fractura $K_{IC}$ .**

Sobre las muestras de cada composición y velocidad de crecimiento se realizaron ensayos de dureza Vickers, para lo cual se empleó el microdurómetro Matsuzawa MX 70 disponible en los laboratorios del área. Se realizaron un mínimo de 10 indentaciones sobre cada muestra, pues es lo que indica la norma [10] para el caso de cerámicas multifase, no homogéneas o no completamente densas.

Con los distintos valores de dureza obtenidos y mediante el uso de las fórmulas que aparecen en la bibliografía correspondientes al método de las indentaciones se pudo estimar la tenacidad a fractura,  $K_{IC}$ , de las muestras. El método y las fórmulas necesarias se incluyen en el Anexo 5. Las tablas con los resultados finales aparecen en el punto 5.3 de la memoria, mientras que todos los datos y tablas restantes aparecen en el Anexo 8, junto con la documentación gráfica del método.

## **4.- ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD DE LAS MUESTRAS**

### **4.1.- Ensayos de bioactividad**

Si un material quiere usarse en un implante es necesario que presente una alta biocompatibilidad. A pesar de que en España no hay una normativa que regule los ensayos para comprobar dicha biocompatibilidad, sí existe una serie de protocolos en los que se indican los tipos de ensayos que pueden realizarse para comprobarla. Pueden ser relativos a materiales y dispositivos, para un tipo determinado de material o a un método de ensayo. Dentro de este tipo de ensayos se encuentran los ensayos *in vivo* e *in vitro*. Estos últimos se comentan a continuación por haber sido realizados en el proyecto.

#### **4.1.1.- Ensayos *in vitro***

Cuando en un ser vivo se implanta un material bioactivo, éste interactúa con los tejidos y fluidos biológicos dando diferentes respuestas (degradación, formación de hueso...). Dada la dificultad de todo tipo que entraña la colocación de implantes en animales, previamente a esta etapa se estudian las propiedades de los materiales mediante técnicas *in vitro* (ensayos en laboratorio en medios fisiológicos y de cultivos celulares y/o de tejidos).

En este PFC se ha procedido a realizar los ensayos *in vitro* mediante el estudio de la reactividad de los materiales en suero fisiológico artificial (SBF, del inglés, Simulated Body Fluid). Ésta técnica, además de ser la más documentada, es útil para predecir la bioactividad en ensayos *in vivo* no sólo cualitativamente sino también cuantitativamente, como se expone en [11]. Los ensayos *in vitro* pueden ser dinámicos (el SBF está en movimiento y es repuestado durante todo el ensayo para evitar la variación de su concentración) o estático (en el que la muestra permanece en SBF sin movimiento). En el proyecto se ha realizado el ensayo estático. Para conocer más acerca de la metodología de ambos tipos de ensayo, se remite al Anexo 4.

### **4.2.- Preparación del SBF**

Existen varios tipos de SBF en función de las distintas concentraciones de los iones presentes. Se muestran en la tabla 2 [11], donde las concentraciones iónicas que aparecen están en milimoles por litro.

IONES	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Suero Humano (mM)	142	5	1.5	2.5	103	27	1	0.5
SBF original (mM)	142	5	1.5	2.5	148.8	4.2	1	0
c-SBF (mM)	142	5	1.5	2.5	147.8	4.2	1	0.5
r-SBF (mM)	142	5	1.5	2.5	103	27	1	0.5
n-SBF (mM)	142	5	1.5	2.5	103	4.2	1	0.5

Tabla 2. Concentraciones del suero humano y distintos tipos de SBF

Para los ensayos realizados en este proyecto se preparó el c-SBF, que fue propuesto en 2003 por el Comité Técnico ISO/TC150 de la Organización Internacional de Estandarización como medio para ensayos *in vitro* en la determinación de la bioactividad de los materiales sintéticos ensayados [12].

#### 4.3.- Realización del ensayo

Tras preparar el suero a partir de los productos de partida (los cálculos y procedimiento se explican en el Anexo 4) y comprobar que no aparecían precipitados en la disolución (lo que habría invalidado el SBF) se llenaron 5 botes de polipropileno con 200 ml de SBF en cada uno, y además se introdujeron respectivamente las siguientes muestras (los porcentajes son en % mol):

W (85%) – TCP (15%) solidificada a 20 mm/hora.

W (85%) – TCP (15%) solidificada a 150 mm/hora.

W (90%) – TCP (10%) solidificada a 20 mm/hora.

W (90%) – TCP (10%) solidificada a 150 mm/hora.

Una muestra de alúmina policristalina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), cerámica inerte en el cuerpo.

Previamente se limpiaron todas las muestras con acetona y se manipularon con guantes (para evitar impregnar grasa en las muestras, lo que podría alterar los resultados) y se pesaron para comprobar si, al cabo del tiempo de inmersión en SBF, había habido algún cambio en la masa, lo que permitiría detectar si se había producido algún tipo de reacción (disolución de la fase W o formación de la capa de HA) de forma cualitativa, pues de esta

forma no se puede determinar la cantidad disuelta o formada de los compuestos mencionados.

Durante el ensayo el recipiente con el SBF y la muestra deben estar a 37°C para simular las condiciones del cuerpo humano, por lo que deben mantenerse en una estufa. Las muestras se dejaron en reposo a 37°C durante 20 días en las estufas ubicadas en los laboratorios del departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias.

El tiempo de ensayo estuvo condicionado por la fecha que disponible para la observación en el microscopio electrónico, pues tras la inmersión era necesaria la preparación metalográfica de las mismas. Sin embargo, este tiempo es suficiente para conseguir la formación de la capa de HA, pues se encuentra entre los tiempos de ensayo de otros estudios similares, que oscilan desde los 7 días [13] hasta las 4 semanas [1].

Tras finalizar el ensayo y realizar el secado de las muestras a temperatura ambiente, se procedió a una observación tanto visual, que reveló la presencia de alguna zona de aspecto más blanquino en la superficie, como mediante un microscopio óptico, que permitió detectar una alteración en la superficie de las muestras. Además se pesaron de nuevo para comprobar el cambio producido. Los valores obtenidos antes y después del ensayo se muestran en la tabla 3.

Como se puede observar, la alúmina (muestra inerte) no ha reaccionado en el suero, ya que el peso es igual antes y después del ensayo. El resto de las muestras, sin embargo, han sufrido todas una disminución de masa. *A priori* este resultado es extraño, pues si se espera la formación de una capa de HA es de suponer que el peso de la muestra aumentará (como ha sucedido en experimentos similares). Sin embargo en experimentos anteriores se ha trabajado con la composición eutéctica W(80%) – TCP (20%) en mol, mientras que en este PFC se ha aumentado el porcentaje de wollastonita (componente bioactivo que se disuelve) por lo que el resultado parece indicar que se ha disuelto una cantidad de wollastonita que supera la hidroxiapatita formada.

Muestra	Peso Inicial (g)	Peso final (g)	Variación (%)
W (85%) -TCP (15%). 20 mm/h	0.069	0.0656	4.93↓
W (85%) -TCP (10%). 150 mm/h	0.1218	0.1205	1.07 ↓
W (90%) -TCP (10%). 20 mm/h	0.139	0.1328	4.46 ↓
W (90%) -TCP (10%). 150 mm/h	0.1538	0.1509	1.89 ↓
Alúmina	0.2157	0.2157	0.00 =

Tabla 3. Variación del peso de las muestras tras el ensayo *in vitro*

Cabe destacar también cómo las dos muestras crecidas lentamente tienen una variación de peso similar y cercana al 5%, mientras que las muestras crecidas más rápidamente, a pesar de haber sufrido una variación parecida entre ellas, ésta es mucho menor que en el caso anterior, con diferencias inferiores al 2%. Como se verá en el apartado 5 de la memoria estos resultados están influidos por la estructura del material.

## 5.- RESULTADOS

Los resultados obtenidos se dividirán en cuatro secciones: estudio de la composición, caracterización microestructural, estudio de la reactividad y caracterización mecánica.

### 5.1.- Estudio de la composición

Para comprobar que las muestras obtenidas tienen la composición esperada se compararán las relaciones molares estequiométricas entre elementos de la composición teórica con los resultados obtenidos del servicio de microscopía (tabla 4). Los cálculos correspondientes se encuentran en el Anexo 6.

	Ca / P	Ca / Si	Si / P
Fracciones teóricas W (85%) -TCP (15%)	4.33	1.53	2.83
Fracciones experimentales W (85%) -TCP (15%)	4.82	1.69	2.85
Fracciones teóricas W (90%) -TCP (10%)	6	1.33	4.5
Fracciones experimentales W (90%) -TCP (10%)	6.87	1.46	4.69

Tabla 4. Relaciones teóricas y experimentales

Las diferencias presentes pueden deberse a pequeños errores en la medida o pérdida de material durante la preparación cerámica (molienda, preparación de la pasta...) si bien estas diferencias son poco significativas, ya que comprobando los cálculos del anexo 6, éstas relaciones llevan a porcentajes en peso prácticamente idénticos a los de las composiciones deseadas (errores inferiores al 2%).

### 5.2.- Caracterización microestructural

Tras la fabricación y crecimiento de las muestras se realizó un estudio microestructural mediante el uso del microscopio electrónico de barrido (M.E.B.) JEOL JSM 6400 del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Zaragoza.

Además del estudio microscópico se efectuó un análisis EDX (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy) para determinar las fases presentes y comprobar las proporciones de los elementos constituyentes.

A continuación se muestran las imágenes más representativas de cada material y se describe la estructura resultante en cada caso. En primer lugar se añade una imagen de la estructura eutéctica del material para poder compararla con las obtenidas en este proyecto.

#### 5.2.1.- W-TCP de composición eutéctica

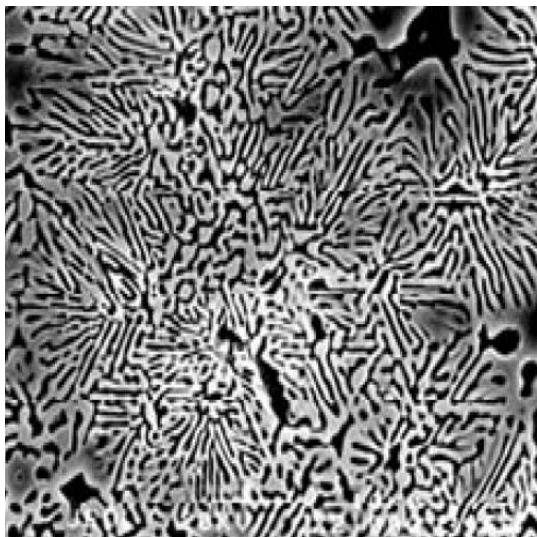


Foto 1. Estructura eutéctica

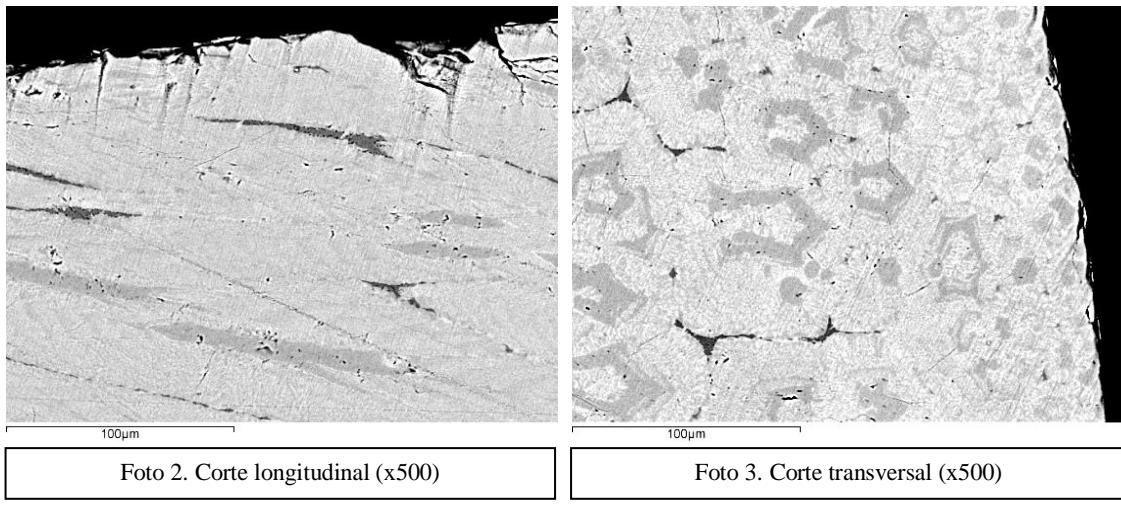
En la foto 1 [14] se observa la microestructura correspondiente a una probeta de la composición eutéctica (80% mol – 20% mol) de wollastonita y TCP, respectivamente. Se puede comprobar que toda la muestra tiene una composición eutéctica irregular, con láminas alternadas de wollastonita (color blanco) y TCP, agrupadas en colonias esféricas. En este caso la muestra ha sido atacada con ácido acético, que disuelve el TCP. La anchura de las láminas es de 1  $\mu\text{m}$ .

#### 5.2.2.- W-TCP (85%mol – 15%mol). Crecimiento a 20 mm/h.

Esta es la muestra que fue fabricada en las mismas condiciones que las utilizadas en los ensayos *in vivo*, pero desplazada en composición hacia la wollastonita. Se muestran las imágenes correspondientes a los cortes longitudinales (foto 2) y transversales (foto 3) de la muestra, realizadas ambas a 500 aumentos.

Se puede observar que la estructura es bastante parecida al caso eutéctico, salvo que las colonias de wollastonita (fase oscura) son más numerosas en este caso. En la foto 2 se advierte la presencia de fase primaria de wollastonita distribuida longitudinalmente en la muestra, y en la 3 se aprecia que esta fase no sólo está presente en la estructura eutéctica y el centro de las colonias (zonas circulares de la derecha de la imagen) sino que la fase de

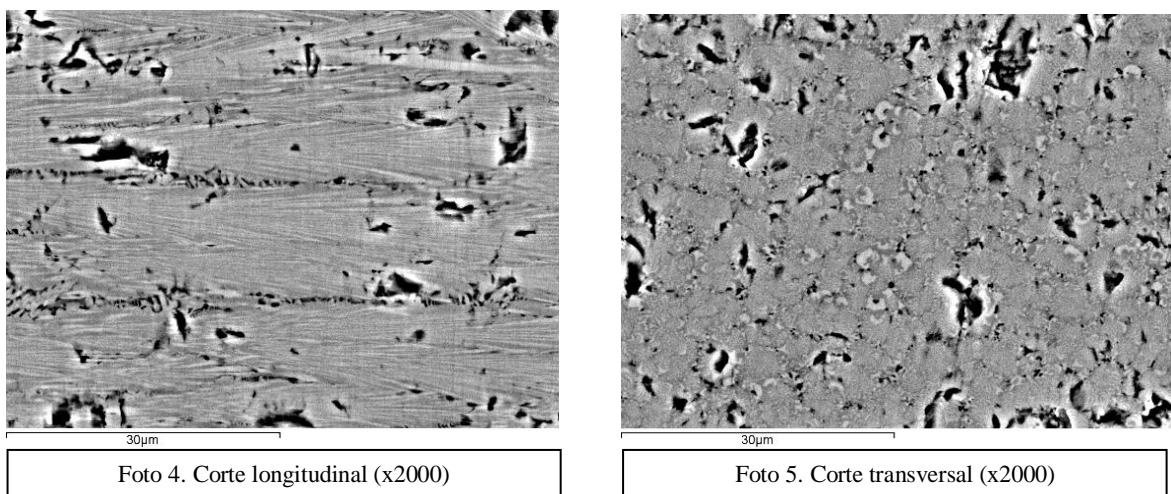
W comienza a aumentar de tamaño y a extenderse por la muestra (zona izquierda de la foto 3). Los análisis químicos determinan que la fase oscura es wollastonita y la clara el TCP. Los resultados de los análisis se presentan en el Anexo 6.



#### 5.2.3.- W-TCP (85%mol – 15%mol). Crecimiento a 150 mm/h.

La composición de esta probeta es la misma que la anterior, pero la solidificación en el láser se realizó a una velocidad muy superior (150 mm/h). La rotación de los ejes fue la misma, pues giraban a contrarrotación a  $\pm 50$  rpm.

Las siguientes imágenes (4 y 5) corresponden de nuevo a cortes longitudinales y transversales. Se realizaron a 2000 aumentos, pues a 500, como el caso anterior, era más difícil distinguir la microestructura, por ser ésta más fina.



Se puede apreciar la diferencia respecto al caso anterior. En esta muestra desaparecen las colonias eutécticas circulares (foto 5) y aparecen fases blancas sobre una matriz gris. El análisis químico (Anexo 6) reveló que esta fase blanca no corresponde ni a la W ni al TCP, concluyendo en que el crecimiento a alta velocidad no sigue el diagrama de fases y tiende a formarse un vidrio o vitrocerámico. En la bibliografía se han obtenido muestras vitrocerámicas a velocidades inferiores a 200 mm/h. En la foto 4 se aprecia también el cambio microestructural, estando en este caso formada por láminas muy finas y alternadas de dos fases distintas, orientadas en dirección al eje longitudinal de la probeta. Esta estructura se mantiene tanto en el centro como en los bordes del cilindro. Posiblemente se trate de un vidrio de fosfato de calcio en una matriz de wollastonita cristalina.

Se comprueba también la presencia de una mayor cantidad de porosidad (zonas más oscuras de la imagen) a pesar de la sinterización. Esta es una de las muestras obtenidas por extrusión, por lo que debido a la falta de presión se consigue una densificación menor en el precursor, lo que puede dar lugar a la presencia de poros si la velocidad de solidificación es elevada ya que las burbujas quedan atrapadas en la intercara de solidificación.

#### 5.2.4.- W-TCP (90%mol – 10%mol). Crecimiento a 20 mm/h.

En las fotos 6 y 7 podemos observar dos imágenes del material. En esta muestra el contenido en wollastonita es muy elevado (77% en peso), por lo que, como se puede comprobar, la aparición de fase primaria es importante.

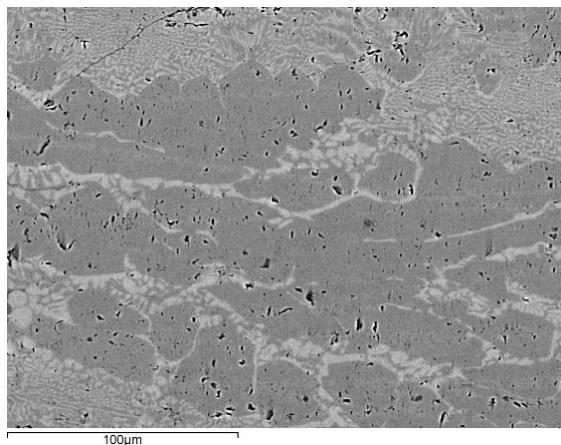


Foto 6. Corte longitudinal (x500)

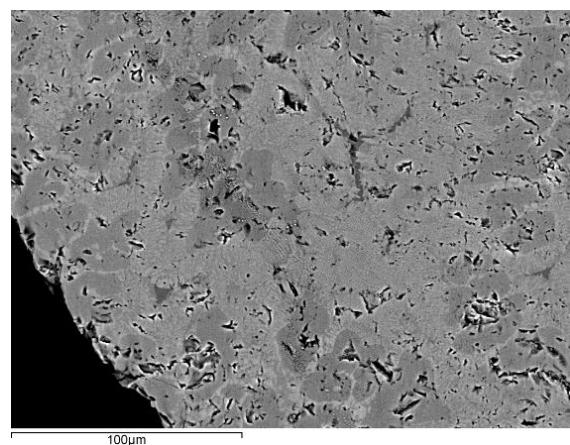


Foto 7. Corte transversal (x500)

En la foto 6 se puede ver claramente cómo la fase oscura (wollastonita) está presente en la mayoría del corte longitudinal de la muestra, existiendo grandes zonas de wollastonita rodeadas por zonas de composición eutéctica, es decir, láminas oscuras (W) y blancas (TCP). Lo mismo se aprecia en la foto 7, que corresponde a la sección transversal.

5.2.5.- W-TCP (90% mol – 10% mol). Crecimiento a 150 mm/h.

A continuación (fotos 8 y 9) se muestran imágenes transversales de la última de las muestras ensayadas. La imagen 9 es una zona de la misma muestra a más aumentos (x2000) donde se aprecia mejor la estructura interna.

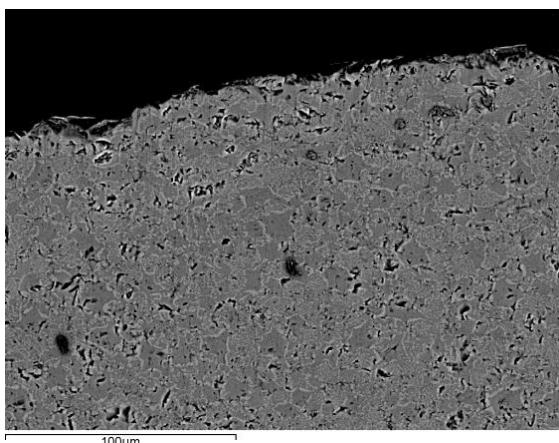


Foto 8. Corte transversal (x500)

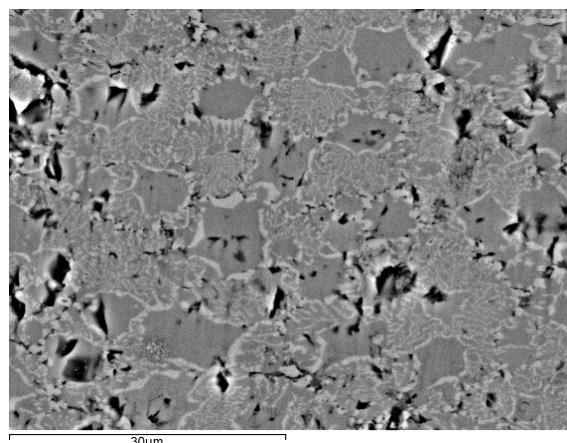


Foto 9. Corte transversal (x2000)

En las fotos anteriores se puede comprobar cómo la estructura es similar a la de la foto 7, con fase oscura rodeada de material de composición eutéctico y fase blanca segregada al borde de la fase primaria de wollastonita.

En cuanto al corte longitudinal la muestra reveló diferencias en la estructura según la zona de la muestra. En algunas partes la estructura es similar en algunas zonas a la muestra 85% W- 15% TCP crecida a 150 mm/h. Sin embargo, la estructura en otras zonas presenta diferencias y aparecen colonias similares al caso eutéctico (fotos 10 y 11).

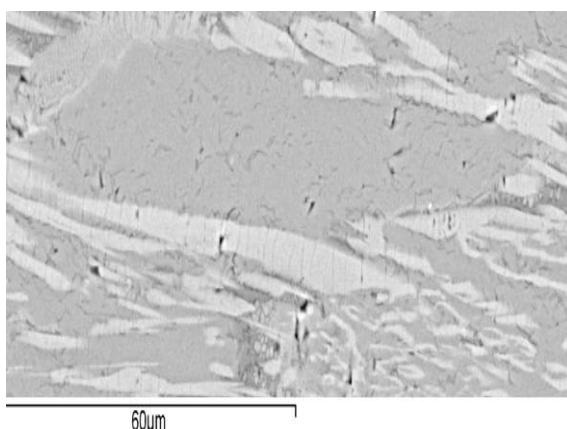


Foto 10. Corte longitudinal. Fase distribuida (x1000)

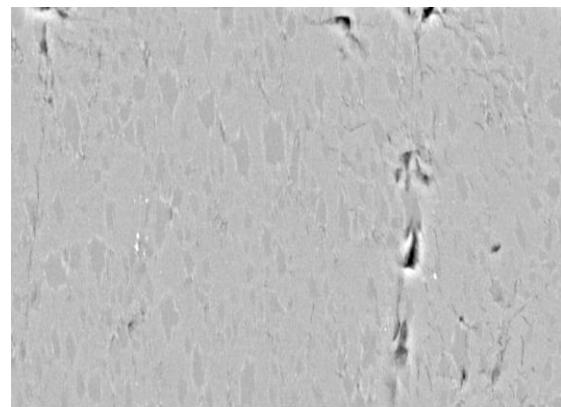


Foto 11. Corte longitudinal. Colonias (x1000)

La composición química de las fases también presenta algunas diferencias en las distintas secciones de la muestra. En alguna parte las fases corresponden con W y TCP, mientras que en otras las relaciones de los elementos no coinciden con ninguna de ellas, al igual que ocurría en el caso de W(85%)-TCP(15%) crecidas a 150 mm/h.

Como conclusión se puede decir que en las muestras de 85%-15% la diferencia entre la muestra solidificada a 20 mm/h y la obtenida a 150 mm/h es muy significativa, tanto por la microestructura como por las fases presentes. En cuanto a las muestras de 90-10% la diferencia en la estructura es menor debido a que la gran cantidad de wollastonita presente hace que ésta aparezca muy distribuida por toda la muestra. Sin embargo, en el caso de la muestra crecida rápidamente hay variaciones estructurales y de composición incluso dentro de la propia probeta. En ésta (90%-10%, 150 mm/h) no hay una estructura laminar fina como en el caso de la muestra 85%-15% 150 mm/h, sino que la fase oscura (no siempre wollastonita) se orienta longitudinalmente y aparece en ocasiones rodeada por otra fase, como si se tratara de láminas muy anchas. En otras partes, por el contrario, se observan zonas similares a las colonias del caso eutéctico pero con mayor contenido de wollastonita en el centro. Como se verá en el apartado 5.4 de la memoria este cambio estructural tiene gran importancia en la reactividad del material en los ensayos *in vitro*.

### 5.3.- Caracterización mecánica

Los resultados obtenidos tras las pruebas de dureza Vickers junto a la tenacidad estimada del material se muestran en la tabla 5. Dada la variabilidad de los ensayos al tratarse de cerámicas con varias fases, los resultados presentes corresponden a la media de al menos 10 ensayos válidos para cada material, como indica la normativa correspondiente [10]. Además se añaden los valores de la desviación típica para observar la variabilidad de las medidas.

	Dureza (HV)	Desviación típica	Tenacidad (Mpa $\sqrt{m}$ )	Desviación típica
W-TCP (85%-15%). 20 mm/h	451,15	25,97	1,27	0,25
W-TCP (85%-15%). 150 mm/h	577,32	30,06	1,28	0,25
W-TCP (90%-10%). 20 mm/h	534,73	25,84	1,50	0,30
W-TCP (90%-10%). 150 mm/h	586,77	24,67	1,16	0,25

Tabla 5. Valores de dureza y tenacidad

La dureza Vickers y la tenacidad de la wollastonita, como se puede ver en la tabla 7 del Anexo 5 es superior, por lo que es de esperar que las muestras con más wollastonita presenten mejores propiedades. Sin embargo, al igual que con la reactividad, la microestructura condiciona estos resultados. Podemos ver cómo efectivamente para las muestras crecidas a la misma velocidad la dureza es superior en las de composición 90-10 (por la mayor presencia de wollastonita). Sin embargo, entre las muestras de una misma composición, la variación con la velocidad de crecimiento es bastante elevada. Por ejemplo, entre las muestras 85-15 hay una diferencia de 126HV entre la obtenida a 20 mm/h y la obtenida a 150 mm/h. Si recordamos la microestructura de las muestras crecidas rápidamente éstas presentan fases más finas, lo cual endurece el material de la misma manera que la reducción del tamaño de grano endurece los materiales policristalinos tal como indica la regla de Hall-Petch. En el caso de las probetas de composición 90-10 la dureza es elevada principalmente por la gran cantidad de wollastonita presente.

En cuanto a la tenacidad las diferencias son menos significativas, ya que teniendo en cuenta la desviación típica, todas se encuentran en un rango similar. Dado que el método de las indentaciones estima la tenacidad a partir de las grietas producidas por el indentador y éstas se transmitirán más fácilmente por el TCP (menos tenaz), presente en todas las muestras, las diferencias son menores que en la dureza.

#### 5.4.- Estudio de la reactividad

A continuación se expondrán y se analizarán las diferencias entre las imágenes de las muestras obtenidas tras la inmersión en suero fisiológico artificial, atendiendo a la microestructura y la composición.

##### 5.4.1.- Alúmina

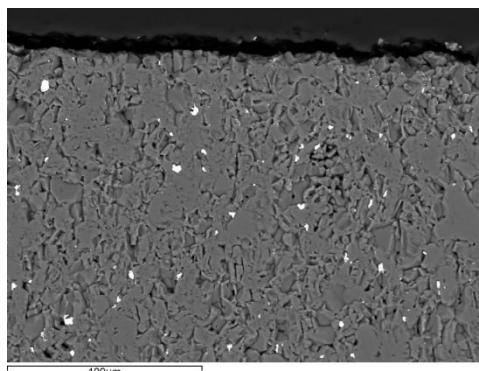


Foto 12. Alúmina (x500)

La alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) es una cerámica inerte en medio biológico [15] por lo que tras la inmersión en SBF no es esperable ningún tipo de reacción y la muestra debería permanecer igual tras el ensayo. Es lo que se puede observar en la foto 12, en la que aparece una sección transversal de la muestra tras 20 días de inmersión en el fluido, el mismo tiempo que las biocerámicas estudiadas en el proyecto.

##### 5.4.2.- W-TCP (85%mol – 15%mol). Crecimiento a 20 mm/h.

Como se ha visto en el apartado 5.2.2 en este caso las fases formadas corresponden a W y TCP, con la estructura antes descrita. En este caso el resultado del ensayo *in vitro* se muestra en las fotos 13 y 14, y otras con más aumentos mostradas en el Anexo 7.

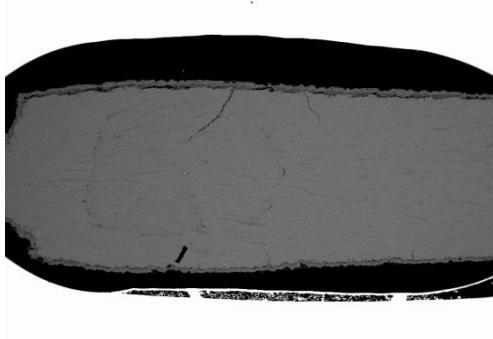


Foto 13. Alteración superficial (x20)

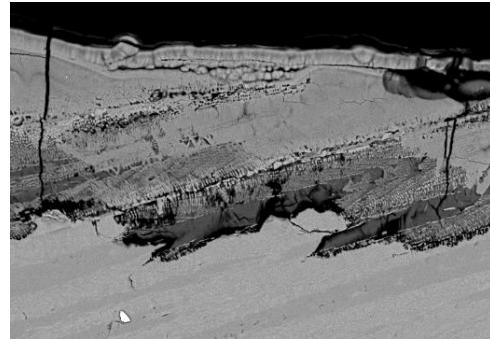


Foto 14. Alteración superficial (x500)

En la foto 13 se puede apreciar cómo en la muestra ha habido una reacción, pues hay un cambio en la superficie a lo largo de toda ella (unas 70 micras de espesor). En el detalle de la foto 14 se distingue cómo la parte inferior presenta la misma estructura del material sin reaccionar visto anteriormente. Un poco más arriba se advierten zonas oscuras que siguen la dirección de la wollastonita (fase gris oscura), vaciando el material. En la parte superior del material aparece una zona de transición, en la que quedan los huecos correspondientes a la wollastonita y una fase clara. Por último, en la zona exterior se observa la deposición de una capa de nuevo material. Las reacciones químicas producidas se adjuntan en el Anexo 7, y llevan lugar a la disolución de la wollastonita, (dejando la porosidad deseada en el material); a la transformación del TCP en hidroxiapatita y la precipitación de HA sobre la superficie del material. El material resultante es, por lo tanto, una estructura porosa de HA, a imitación de la estructura del hueso. En las fotos 15 y 16 podemos ver la porosidad formada (de reducido tamaño por ser una estructura similar a la eutéctica) y un mapa con la distribución de elementos en la superficie.

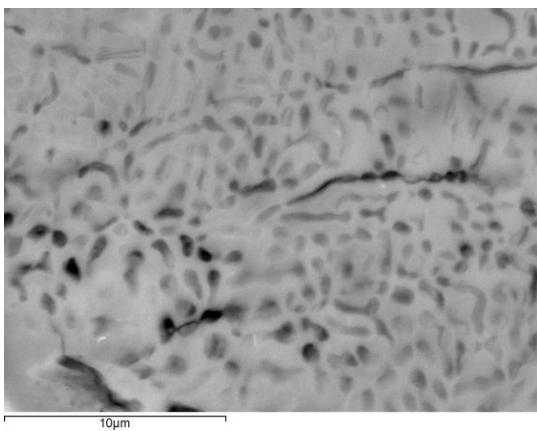


Foto 15. Porosidad resultante (x5000)

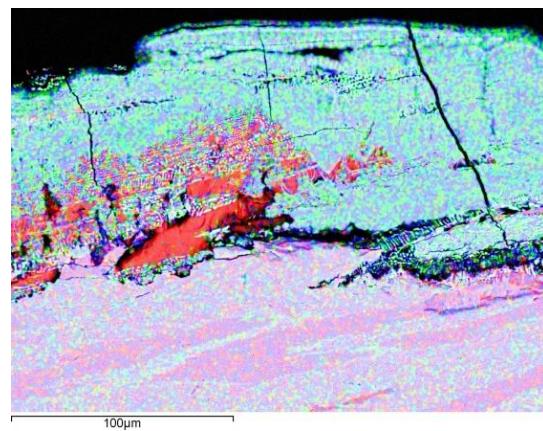


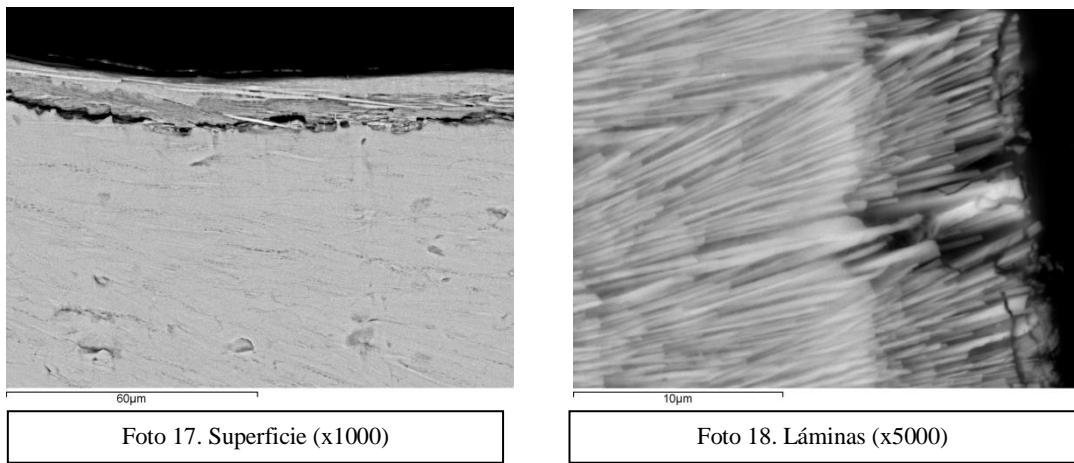
Foto 16. Mapa elemental (x500)

En el mapa elemental de la foto 16 el color rojo corresponde al silicio, el verde al fósforo y el azul al calcio. Como se puede apreciar, (mejor en el Anexo 7 junto al análisis químico) en la parte inferior de la muestra están presentes todos los elementos, ya que está formada por fosfato y silicato de calcio. Sin embargo, en la parte superior de la imagen el silicio (presente sólo en la wollastonita) ha desaparecido salvo en la zona izquierda, donde se advierte una gran acumulación de este elemento. Esta observación está de acuerdo con los ensayos reportados en la bibliografía [16] en los que en la zona intermedia se produce una capa de sílice amorfa. La parte superior está formada por calcio y fósforo (componentes de la HA y el TCP). En la capa exterior hay más acumulación de puntos azules (calcio) como

corresponde a la HA, que posee una relación  $\frac{Ca}{P}$  entre 1.67 y 1.76 [17], mayor que la del TCP (1.5). En este caso el resultado ha sido muy similar al que cabría esperar de un material con la composición eutéctica, no obteniendo mejoras significativas salvo el vaciado de grandes zonas de material debidas a la fase W (fotos 14 y 16), pero no con la forma de poros que se desearía.

#### 5.4.3.- W-TCP (85%mol – 15%mol). Crecimiento a 150 mm/h.

En este caso, como se recordará, la muestra presentaba una fina estructura laminar con fases que no correspondían a la wollastonita o el TCP. En esas circunstancias, el resultado tras el ensayo *in vitro* ha sido completamente distinto al anterior (fotos 17 y 18).



En la foto 17 se aprecia cómo la zona afectada es mucho menor (unas 15 micras) y la explicación se debe a lo que aparece en la foto 18. Al no haber grandes zonas de wollastonita, éstas no se disuelven y el suero no penetra en el material. Por el contrario, la disolución parcial de una de las fases (recordemos que no es wollastonita) deja las láminas de la otra fase actuando como barrera al suero. En este caso tampoco aparece la capa de HA en la superficie. De los análisis químicos presentes en el Anexo 7 se obtiene que en la zona reaccionada todavía queda bastante silicio y que el material resultante presenta una relación  $\frac{Ca}{P}$  muy elevada, en ocasiones superior a 2. Se puede concluir que, en el caso de

una estructura como la presente formada por fases que no corresponden a la wollastonita ni al TCP, no se produce la disolución total de la fase del silicato pues este elemento sigue presente. Además, la otra fase no transforma a HA sino que sigue manteniendo una

relación elevada entre el calcio y el fósforo. Por tanto, en estas condiciones no se producen los intercambios iónicos necesarios para la formación de la capa de HA ni la formación de una porosidad adecuada para un implante, por lo que una muestra de esta composición crecida a gran velocidad, con tendencia a vitrificar, no resultaría adecuada para los objetivos del presente proyecto.

#### 5.4.4.- W-TCP (90% mol – 10% mol). Crecimiento a 20 mm/h.

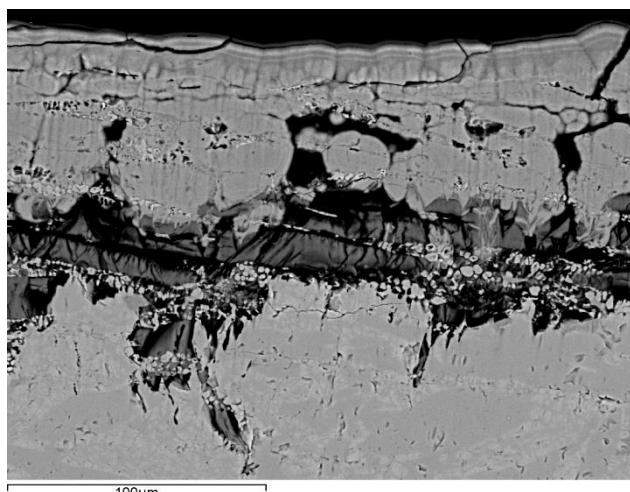


Foto 19. Superficie (x500)

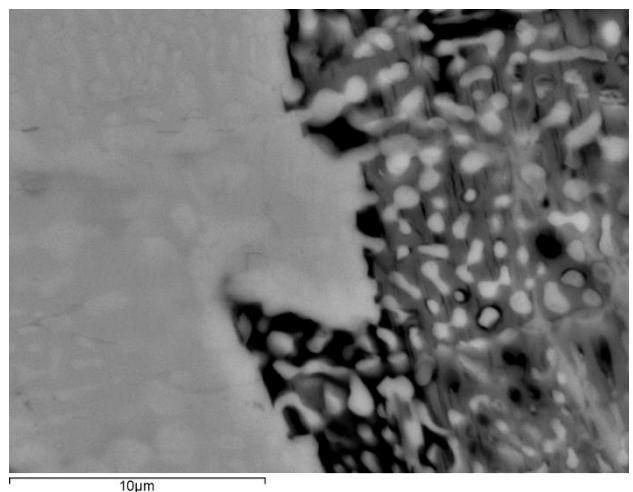
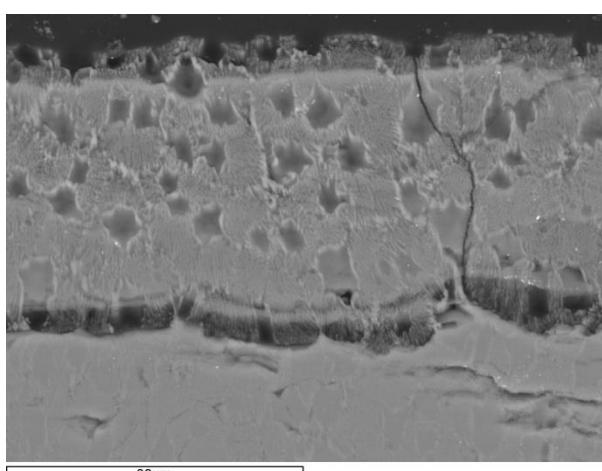
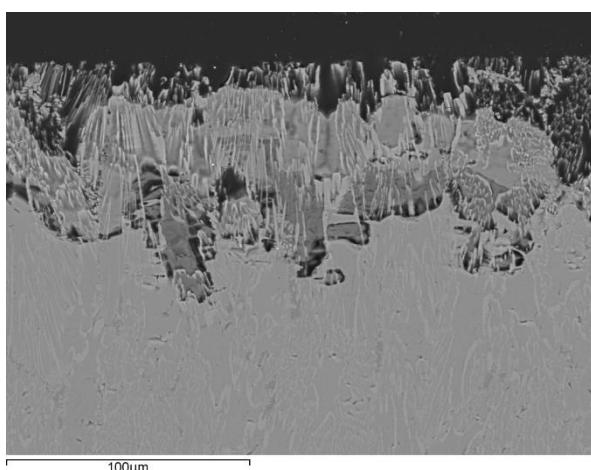
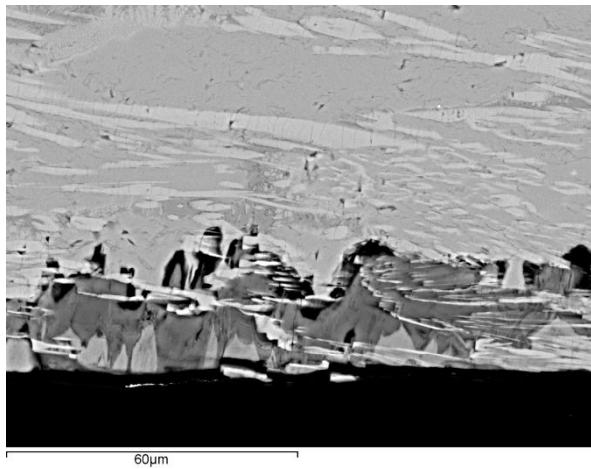


Foto 20. Porosidad formada (x5000)

Este caso es similar a la probeta lenta de la composición 85-15. La estructura era parecida pero con mayor cantidad de wollastonita presente. Por tanto, dado que en esta muestra las fases corresponden a W y TCP, se ha producido la disolución de la W, la transformación del TCP a HA sobre una capa intermedia de sílice así como la deposición superficial de una capa de HA. Como se ve en las imágenes anteriores (fotos 19 y 20) la reacción ha dejado en algunas zonas grandes huecos en el material si bien debido a la gran cantidad de wollastonita distribuida no se pueden considerar como poros interconectados -que sería lo deseable- sino como agujeros. En otras zonas, sin embargo, sí que se ha conseguido esto último, pero como en los ensayos anteriores, el tamaño de los huecos sería insuficiente para permitir el paso de los osteoblastos.

En este caso la superficie reaccionada ha vuelto a ser importante, pues ha penetrado hasta 60-70 micras dentro del material.

5.4.5.- W-TCP (90% mol – 10% mol). Crecimiento a 150 mm/h.



Fotos 21, 22, 23. Zona laminar (x1000), base cilindro (x500) y colonias (2000)

En las imágenes de la izquierda se presentan tres imágenes de la muestra. En la foto 21 la estructura laminar deja una superficie muy parecida a la vista en la foto 17, con poca acción del suero y sin formación de la capa de HA. Se puede ver cómo la fase gris (no wollastonita) se disuelve en algunas zonas, dejando restos de Silicio (gris oscuro).

En la foto 22 se observa la zona de la base del cilindro, donde la disolución de la fase así como la penetración de la reacción es mayor, quedando zonas huecas con solo una fase, de forma parecida a la foto 18. En este caso la zona hueca interior está rellena de sílice, mientras que la exterior no corresponde ni a la HA ni al TCP. Sin embargo en otras zonas (Anexo 7) sí ocurre así.

En la imagen 23 se observa lo que pretende el proyecto, con los centros de las colonias siendo vaciados por el suero y conectando estos huecos con los de la zona eutéctica (zona superior de la imagen). Además se puede ver cómo comienza a llenarse el hueco resultante con una capa de HA (zona blanquecina).

Los resultados de esta probeta han resultado interesantes debido a que éstos han sido diferentes en función de las estructuras y fases presentes en ella. Como se ha visto, ha

habido zonas en las que la reacción ha sido similar a las rápidas de la composición 85-15 (laminar y con fases no esperadas) y otras en las que se ha conseguido aproximar al objetivo del proyecto: obtener colonias similares a las de la composición eutéctica en las que el centro de las mismas sea de wollastonita, de tal forma que al disolverse el centro de las colonias, los poros resultantes conecten con las láminas de la zona eutéctica. Sin embargo, aunque el tamaño de estas fases (hasta 8 micras) es superior al conseguido hasta ahora en la bibliografía (1-2 micras), sigue resultando insuficiente.

## **6.-CONCLUSIONES**

### **6.1.- Revisión**

En el presente proyecto, realizado en el área del CMIM del CPS de la Universidad de Zaragoza se han fabricado probetas de un biomaterial cerámico conocido en la literatura, pero con dos composiciones distintas, alejadas del punto eutéctico, lo que hasta ahora no se había realizado. Para la fabricación se ha empleado la técnica de fusión zonal por láser, para lo que ha sido necesaria la alineación de los ejes del mismo y la calibración de la curva de potencia para garantizar las mejores condiciones de fabricación. En base a los ensayos se han obtenido los datos de potencia que proporcionaban la mayor estabilidad de la zona fundida.

Se ha estudiado la microestructura del material mediante Microscopía Electrónica de Barrido y se ha constatado cómo las condiciones de fabricación (velocidad de solidificación) y no sólo la composición química condicionan la distribución de las fases que componen la muestra, así como su composición y morfología, obteniendo en los distintos ensayos tanto zonas eutéticas como regiones altamente texturadas o de zonas con gran presencia de fase primaria de W.

La caracterización mecánica también ha revelado que la microestructura fina de las muestras crecidas a mayor velocidad endurece la probeta, dando valores de dureza superiores (85% W-15% TCP; 150 mm/h) a la muestra 90% W-10% TCP; 20 mm/h, que tiene mayor contenido de wollastonita, a pesar de que ésta es más dura que el TCP.

Para el estudio de la reactividad de las muestras se han realizado por primera vez en el Centro Politécnico Superior estudios de bioactividad *in vitro*, pues hasta ahora los ensayos sobre las muestras aquí fabricadas se realizaban en la Universidad Miguel Hernández de Elche. Para realizarlos ha sido necesaria la búsqueda de información de protocolos para la obtención del suero fisiológico artificial y la fabricación del mismo. Queda pendiente para otra etapa el diseño y fabricación de un equipo para realizar un ensayo *in vitro* dinámico y comparar así las diferencias en la reactividad tras cada tipo de ensayo.

De la observación microscópica de las muestras tras el ensayo de bioactividad se comprueba también cómo ésta viene condicionada por la estructura del material, pues mientras en algunas zonas la reacción es similar a la reportada en la bibliografía (disolución de la wollastonita, transformación del TCP en HA y deposición superficial de

una capa de HA) en otras zonas esto no sucede, debido a una microestructura que no favorece el avance de la reacción o a la presencia de fases que no corresponden con las que predice el diagrama de equilibrio. La identificación de las fases presentes se habría podido determinar con mayor precisión mediante el uso de microscopía Raman, para distinguir con más claridad entre la HA y el TCP. Se puede deducir que para que se produzcan las respuestas deseadas el material debe estar compuesto por W y TCP. Si no es así, ni la disolución de la fase que se disuelve es completa ni el fosfato de calcio transforma en HA, que tampoco precipita. También se ha comprobado que la estructura buscada al inicio del proyecto se ha conseguido en algunas zonas (foto 23), obteniendo colonias con fase primaria de wollastonita en el centro de las mismas y el vaciado del centro por la acción del suero, dejando huecos de tamaño superior a los obtenidos hasta la fecha por la disolución de la estructura eutéctica, si bien siguen resultando de tamaño inferior al de las células. Sin embargo, dada la variabilidad de la estructura con las condiciones de crecimiento, tal vez la exploración de otras lleve a la consecución de los resultados buscados con mayor éxito.

## **6.2.- Lecciones aprendidas**

El desarrollo de este proyecto ha sido de gran interés para mí. En primer lugar he podido comprobar de primera mano la labor investigadora de algunos de los profesores del departamento -muchas veces oculta tras la labor docente- y he podido colaborar en ella.

He aprendido el manejo de numerosa instrumentación de laboratorio, así como la metodología de trabajo durante la preparación, fabricación, manejo y caracterización de muestras, trabajo importante para un ingeniero de la mención de materiales, a pesar de que el tema del proyecto no sea típico de un Ingeniero Industrial. Pero precisamente la labor de un ingeniero es solventar problemas a la sociedad y, puesto que la ciencia de materiales es una rama multidisciplinar, el trabajar para el desarrollo de materiales (para medicina en este caso) ha supuesto una satisfacción personal por el hecho de intentar mejorar la calidad de vida de las personas.



**REFERENCIAS**

- [1] Velasquez P., De la Casa-Lillo M.A., Peña J.I. et Al. "Influencia de la microestructura en la bioactividad de materiales bioeutécticos". *X Congreso Nacional de Materiales*, San Sebastián, Junio 2008. Vol 2. p. 579-582.
- [2] De Aza P. N., Gutián F., De Aza S. "Bioeutectic: a new ceramic material for human bone replacement". *Biomaterials*. Vol 18 (1997) p. 1285-1291.
- [3] Merseguer-Olmo L., Vicente-Ortega V., Peña J.I. et Al. "In vivo evaluation of bioeutectic ceramics obtained by laser floating zone method". *[En prensa]*
- [4] Tejeda A., Piña C., Martínez S. et Al. "Cerámicas bioeutécticas W-TCP". *Revista Mexicana de Física*. 50(2) Abril 2004. p. 187-192. Consultado el 21/08/2010.  
URL: <http://www.ejournal.unam.mx/rmf/no502/RMF50214.pdf>
- [5] Puértolas José Antonio, Ríos Ricardo, Villellas Anselmo. "Tecnología de Materiales. Curso de Introducción." *CMIM Universidad de Zaragoza* 1999, p. 127-128.
- [6] Callister William D. "Introducción a la Ciencia e Ingeniería de los Materiales." *Editorial Reverté*, p. 450.
- [7] Área de Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica. "Preparación y procesado de materiales". Consultado el 14/07/2010.  
URL: <http://www.unizar.es/actm/Preparacion-Cuerpo.htm>
- [8] Peña J.I., Larsson M., Merino R.I. "Processing, microstructure and mechanical properties of directionally-solidified  $Al_2O_3$ - $Y_3Al_5O_{12}$ - $ZrO_2$  ternary eutectics". *Journal of the European ceramic society*. Vol 26 (2006). p. 3113-3121.
- [9] Scanning Electron Microscopy (SEM). Consultado el 21/08/2010.  
URL: [http://virtual.itg.uiuc.edu/training/EM\\_tutorial](http://virtual.itg.uiuc.edu/training/EM_tutorial)
- [10] Standard Test Method for Vickers Indentation Hardness of Advanced Ceramics. *ASTM C1327-99*
- [11] Kobubo Tadashi, Takadama Hiroaki. "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?". *Biomaterials*. Vol. 27 (No. 15), 2006, p. 2907-2915.

- [12] Alemany-García, María Isabel. “Biomateriales basados en el sistema SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Estudio de la bioactividad”. *Tesis Doctoral, Universidad Miguel Hernández de Elche*. (2009). p. 21.
- [13] Martín Barral, Ana Isabel. “Bioactividad y biocompatibilidad de materiales SOL-GEN con contenido constante en CaO”. *Tesis de Doctorado – Universidad Complutense de Madrid*, 2004. Consultado el 21/08/2010.
- URL: <http://eprints.ucm.es/tesis/far/ucm-t28218.pdf>
- [14] De Aza P.N., De Aza A.H., De Aza S. “Crystalline bioceramic materials”. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. 2005. V 44, p. 135-145.
- [15] Vallet Regí, María. “Biomateriales para sustitución y reparación de tejidos” *Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid*. Consultado el 21/08/2010].
- URL: <http://www.aecientificos.es/empresas/aecientificos/documentos/Biomateriales.pdf>
- [16] Ohtsuki C., Kobubo T., Yamamuro T. “Mechanism of apatite formation on CaO-SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glasses in a simulated body fluid. *J. Non-Cryst. Solids*, 1992. Vol 143, p. 84-92.
- [17] Gaona Latorre, Mireia. “Recubrimientos biocompatibles obtenidos por Proyección Térmica y estudio *in vitro* de la función osteoblástica” *Tesis doctoral. Facultad de Química. Departamento de Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica*. Universidad de Barcelona, 2007. Consultado el 21/08/2010.
- URL: <http://www.tdr.cesca.es/TDX-0628107-110452/>
- [18] Ratner B., Hoffmann A.S., Schoen J.F. et Al. “Biomaterials Science. An introduction to materials in medicine”. *Academic Press*. San Diego (1996). p. 153-170.
- [19] Peña J.I., Ester F.J. “Analysis of the molten zone in the growth of the Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-ZrO<sub>2</sub>(Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) eutectic by the laser floating zone technique”. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. Vol 46 (2007). p. 240-246.
- [20] Bohner Marc, Lemaitre Jacques. “Can bioactivity be tested *in vitro* with SBF solution?” *Biomaterials*. Vol 30, April 2009, p. 2175-2179.
- [21] Kobubo Tadashi et Al. “How to prepare Simulated body Fluid and its related solutions”. Consultado el 24/08/2010.
- URL: <http://mswebs.naist.jp/LABs/tanihara/ohtsuki/SBF/index.html>

- [22] Takadama, et Al. “Round-robin test of SBF for in vitro measurement of apatite-forming ability of synthetic materials.” *Phosphorus Research Bulletin 2004*. Vol 17. p. 119-125.
- [23] Rocha Rangel Enrique, Díaz de la Torre Sebastián. “Determinación de la tenacidad a la fractura mediante indentación Vickers” *Ingenierías*, Abril-Junio 2008. Vol. XI, No 39, p. 52-58.
- [24] Gubicza J. “Characterization of Glasses and Ceramics by Continuous Indentation Tests”. *Key Engineering Materials*. Vol. 103 (1995). p. 217-220.
- [25] Niihara K. “A fracture mechanics analysis of indentation-induced Palmqvist crack in ceramics” *Journal of materials science letters*. 2 (1983) p. 221-223.
- [26] Ibáñez A. Sandoval F. “La wollastonita: Propiedades, síntesis y aplicaciones cerámicas.” *Boletín Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. Vol 32 (1993). p. 349-361.
- [27] Gutián F. Conde R. “Síntesis y propiedades de hidroxiapatito y fosfato tricálcico.” *Boletín Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. Vol 29 (1990). p. 253-257.

