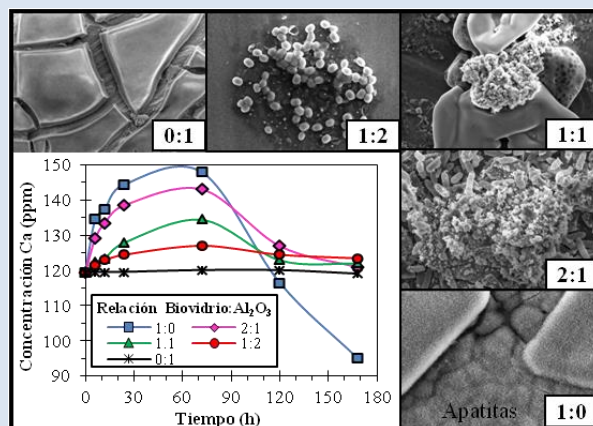


EVALUACIÓN ELECTROQUÍMICA DE RECUBRIMIENTOS DE BIOVIDRIO/ Al_2O_3 SOPORTADOS SOBRE ACERO INOXIDABLE AISI 316L Y SU RELACIÓN CON EL CARÁCTER BIOACTIVO DE LAS PELÍCULAS

Jhon H. Sierra Uribe, Oscar M. Bravo Molina, Próspero Acevedo Peña, Elcy M. Córdoba Tuta*

Grupo de Investigación en Desarrollo y Tecnología de Nuevos Materiales. Universidad Industrial de Santander. Calle 9 Cra. 27, Código Postal 678. Bucaramanga (Santander). Colombia.

*e-mail: ecordova@uis.edu.co



RESUMEN

Mediante el proceso sol-gel se sintetizaron polvos y recubrimientos de biovidrio/ Al_2O_3 en diferentes proporciones con el fin de evaluar el efecto de la alúmina en las características bioactivas y electroquímicas de las películas de biovidrio. Los polvos cerámicos fueron caracterizados estructuralmente con ayuda de las técnicas de difracción de rayos X y espectroscopia de infrarrojo, obteniéndose evidencia de que los iones aluminio reemplazan a los de calcio en el biovidrio, formándose el enlace Si-O-Al en los materiales compuestos. De los resultados de los ensayos de bioactividad *in vitro* en fluido fisiológico simulado se pudo inferir que el nuevo enlace disminuye las características bioactivas del biovidrio dado que el aluminio actúa como una barrera para la generación de los enlaces Si-OH, necesarios para la nucleación de las apatitas desde el fluido fisiológico simulado. La caracterización electroquímica mediante resistencia a la polarización lineal, polarización potenciodinámica y espectroscopia de impedancia electroquímica, evidenció que el aumento del contenido de alúmina en el material compuesto biovidrio/ Al_2O_3 incrementa la resistencia a la polarización del sustrato de acero AISI 316L. No obstante que el recubrimiento de biovidrio es el que confiere menor carácter protector al sustrato contra la corrosión, por su alta reactividad en el fluido fisiológico simulado, tal comportamiento se invierte una vez se ha formado la capa de apatitas, que actúa como una barrera difusional a las especies electroactivas del medio.

Palabras Claves: Biorecubrimientos, biovidrio, Al_2O_3 , bioactividad, caracterización electroquímica.

ELECTROCHEMICAL EVALUATION OF BIOGLASS/ Al_2O_3 COATINGS SUPPORTED ON AISI 316L STAINLESS STEEL AND ITS RELATIONSHIP WITH THE FILMS BIOACTIVITY

ABSTRACT

Bioglass/ Al_2O_3 powders and coatings at different ratios were synthesized by sol-gel process in order to evaluate the effect of alumina in the bioactive and electrochemical properties of the bioglass coatings. The ceramic powders were structurally characterized using the x-ray diffraction and Infrared spectroscopy techniques, which evidenced that aluminum ions replace calcium ions in the bioglass and that Si-O-Al bond is formed in the composites. From *in vitro* bioactivity tests in simulated body fluid could be inferred that the new bonds decrease the bioglass bioactivity because aluminum acts as a barrier to the generation of Si-OH bonds, which are necessary for nucleation of apatites from the simulated body fluid. The electrochemical characterization performed through linear polarization resistance, potentiodynamic polarization and electrochemical impedance spectroscopy testing showed that the increasing of the alumina content of the bioglass/ Al_2O_3 composite promotes the AISI 316L steel substrate polarization resistance. Although bioglass coating provides a lower protection to the substrate against corrosion, because of its high reactivity in the simulated body fluid, such behavior is reversed once the apatite layer has been formed, since it acts as a diffusional barrier to medium electroactive species.

Keywords: Bio-coatings, bioglass, Al_2O_3 , bioactivity, electrochemical characterization.

1. INTRODUCCIÓN

Materiales metálicos como el acero inoxidable AISI 316L, las aleaciones Co-Cr y de Mg, el titanio y sus aleaciones, son algunos de los más empleados en la fabricación de implantes ortopédicos para la sustitución o fijación de los huesos o articulaciones [1], debido a su alta resistencia a la tensión, a la fatiga y al desgaste, además de la tenacidad a la fractura en comparación a materiales orgánicos (polímeros) e inorgánicos no metálicos (cerámicos) [1, 2].

En el pasado, el acero inoxidable AISI 316L fue utilizado para la fabricación de implantes ortopédicos permanentes debido a su bajo costo, disponibilidad, facilidad de maquinado y a su aceptable biocompatibilidad [2]. Sin embargo, en la actualidad el uso de éste acero en ortopedia está limitado a la fabricación de implantes temporales, dado que al ser expuesto por largos periodos de tiempo a los fluidos corporales, se degrada por el efecto corrosivo de tales fluidos [3].

El proceso de corrosión del acero inoxidable AISI 316L es promovido por especies como Cl^- , H_2O y O_2 , presentes en los fluidos corporales [4], liberando productos de corrosión tales como Fe^{3+} , Ni^{2+} , Cr^{3+} , Cr^{6+} y Mo^{6+} [3, 1], los cuales producen efectos sistemáticos indeseados como alergias e infecciones, afectando negativamente la biocompatibilidad y la integridad mecánica del implante [5, 6]. Altas concentraciones de cationes metálicos en el cuerpo humano puede resultar en reacciones biológicas adversas [7] y puede conducir al deterioro de la prótesis [3], haciéndose necesario una segunda intervención para la remoción del implante.

Teniendo lo anterior como precedente, es evidente que la biocompatibilidad del acero inoxidable está directamente afectada por la corrosión del mismo [3]. Una manera de abordar dicha problemática es recubriendo el metal con materiales cerámicos, entre los que sobresalen los bioactivos, los cuales, además de ser biocompatibles, funcionan como barrera a la liberación de iones por parte del metal [4, 8], al formar una capa de apatitas, cuya composición es similar a la del componente mineral del tejido óseo, lo cual favorece el enlace entre el implante y el hueso [1]. Entre los cerámicos bioactivos que pueden usarse como recubrimientos de los implantes se destacan la hidroxiapatita y los biovidrios, no obstante las cinéticas de disolución de estos

materiales en los fluidos fisiológicos no son las más adecuadas para asegurar la fijación del implante [9]. Aunque la hidroxiapatita es bioactiva, su cinética de disolución es muy retardada bajo condiciones fisiológicas normales. Caso contrario ocurre con los biovidrios, que se caracterizan por una acelerada cinética de disolución que puede conllevar a la desaparición del recubrimiento antes de iniciarse la formación de la capa de apatitas.

El trabajo de Pourhashem y Afshar [10] evidencia algunas de las ventajas que ofrecen los biorecubrimientos. Estos investigadores desarrollaron, por el método sol-gel, recubrimientos de biovidrio-sílice sobre sustratos de acero AISI 316L, encontrando que durante la exposición de los mismos al fluido fisiológico simulado se genera una película compuesta de apatita amorfa, hidroxiapatita y CaSiO_3 . Los estudios electroquímicos de este trabajo demostraron que los productos de la reacción del recubrimiento con el fluido, favorecen la resistencia a la corrosión del sustrato, aumentándose en un orden magnitud la resistencia a la polarización, al pasar de 1,23 a 12,96 $\text{M}\Omega \text{cm}^2$, por la inmersión del recubrimiento en SBF durante 30 días.

Por lo anterior, en la presente investigación se evaluó el efecto de la alúmina sobre la cinética de reacción de recubrimientos de biovidrio. Adicionalmente, el sistema compuesto por el acero quirúrgico AISI 316L y recubrimientos de biovidrio/ Al_2O_3 , en diferentes relaciones molares, se caracterizó mediante técnicas electroquímicas con el objetivo de establecer el carácter protector que ofrecen los recubrimientos al sustrato metálico, cuando dicho sistema está expuesto a un fluido fisiológico simulado. Igualmente se pudo relacionar el carácter protector de los recubrimientos con sus características bioactivas.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Obtención de soles de Biovidrio/ Al_2O_3

La composición del biovidrio deseado era de 64 % SiO_2 , 31 % CaO y 5 % P_2O_5 , el cual es reconocido por su alta bioactividad [11]. Como precursores de tales óxidos se usó tetraetilortosilicato (TEOS), nitrato de calcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y trietil fosfito (TEP). La relación molar entre reactivos fue $\text{TEOS}:\text{H}_2\text{O}:\text{HNO}_3:\text{TEP}:\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ igual a 1:13,02:0,076:0,161:0,465. La preparación del sol

inició con la mezcla de agua y ácido nítrico, a tal mezcla se le adicionó el TEOS, posteriormente el TEP y por último se agregó $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Toda la preparación del sol se realizó bajo agitación constante a 400 rpm. Finalmente, el sol se sometió a tres etapas de envejecimiento, la primera a temperatura ambiente (27 °C) durante 860 min, la segunda a 30 °C durante 330 min y la tercera a 47 °C durante 180 min.

Por su parte, el sol de alúmina se obtuvo modificando el procedimiento propuesto por Kobayashi *et al.* [12], utilizando como precursor tetraisopropóxido de aluminio (AIP), además se usó acetil acetona (AcAc) como agente quelante para favorecer la estabilidad del sol. La relación molar de los componentes del sol fue AIP:H₂O:HNO₃:AcAc:2-propanol igual a 1:134,69:2,92:4:21,39. Inicialmente se mezcló AcAc en 2-propanol, a esta solución se le agregó el AIP, posteriormente el agua de hidrólisis y por último se adiciona el ácido empleado como catalizador. El sol se preparó en baño María a una temperatura de 70 °C. El sol así obtenido se envejeció durante 120 min a una temperatura de 50°C. Los soles mixtos fueron obtenidos a partir de la mezcla de los soles puros en diferentes proporciones, con el fin de obtener las siguientes relaciones molares Biovidrio/Alúmina: 1/0, 2/1, 1/1, 1/2 y 0/1. Cada mezcla de soles se dejó bajo agitación durante una hora.

2.2 Obtención y caracterización de polvos y películas de Biovidrio/Al₂O₃

Mediante el secado de los soles de biovidrio/alúmina a 70 °C durante 12 h se obtuvieron xerogeles, los cuales fueron calcinados a 700 °C, bajo condiciones de velocidad de calentamiento de 5°Cmin⁻¹ y 1 hora de tiempo de sostenimiento a la máxima temperatura. Los polvos cerámicos así obtenidos, fueron caracterizados con ayuda de las técnicas de FT-IR (Espectrómetro de infrarrojos SHIMADZU FTIR-8400S) y DRX (Difractómetro de rayos X Bruker modelo D8 ADVANCE, usando radiación CuK α , producida a 40 kV y 30 mA, en el rango de ángulos difracción 2 θ de 10° a 70°.

A partir de los soles de Biovidrio/Alúmina con diferentes composiciones y con ayuda de la técnica dip-coating, se depositaron películas biocerámicas sobre sustratos de acero inoxidable AISI 316L con

dimensiones de 25 mm × 25 mm × 3 mm. Previamente, los sustratos fueron desbastados con lijas de SiC, números 80, 120, 180 y 240, con el fin de activar la superficie y favorecer la adherencia de los recubrimientos. Posteriormente, se limpiaron en un baño de ultrasonido con etanol y luego con acetona durante 15 min a 30°C cada uno, finalizando con un secado en aire caliente. Para la obtención de los recubrimiento se empleó un equipo inmersor de velocidad variable, operado con una velocidad de 6 cm/min. Luego se secaron a temperatura ambiente y se sinterizaron a 700 °C, bajo las mismas condiciones de calentamiento utilizadas para los polvos. Las diferencias morfológicas y composicionales de las películas se analizaron mediante la técnica MEB-EDS (Microscopio electrónico de barrido FEI modelo QUANTA FEG 650).

2.3 Bioactividad de los recubrimientos

Las probetas con los diferentes recubrimientos fueron inmersas durante siete días en el fluido corporal simulado (SBF) a 37°C, siguiendo el protocolo establecido por Kokubo [13]. En la Tabla 1 se compara la composición del SBF empleado con la del plasma sanguíneo. Durante el tiempo de inmersión se hizo seguimiento a las variaciones de las concentraciones de calcio y fósforo en el SBF, para lo cual se utilizaron, respectivamente, las técnicas de espectroscopia de absorción atómica (Espectrofotómetro de absorción atómica Buck Scientific 210 VGP) y colorimétrica del método del ácido vanadomolibdofosfórico (Espectrofotómetro Ultravioleta Visible THERMO SCIENTIFIC modelo GENESYS 10S Vis).

Tabla 1. Composición iónica del SBF en comparación con la del plasma sanguíneo humano [13].

ión	Plasma (mM)	SBF (mM)
Na ⁺	142,0	142,0
K ⁺	5,0	5,0
Mg ²⁺	1,5	1,5
Ca ²⁺	2,5	2,5
Cl ⁻	103,0	147,8
HCO ₃ ⁻	27,0	4,2
HPO ₄ ²⁻	1,0	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5	0,5
pH	7,2-7,4	7,4

2.4 Caracterización electroquímica

Con el fin de evaluar el carácter protector contra la corrosión de los sustratos de acero AISI 316L y el efecto sobre el mismo de la reactividad química (bioactividad) de los diferentes recubrimientos, se realizaron pruebas electroquímicas mediante las técnicas de Resistencia a la Polarización Lineal (RPL), Polarización Potenciodinámica y Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS), antes y después de exponer las probetas al fluido fisiológico simulado durante 7 días.

Todas las mediciones electroquímicas fueron llevadas a cabo con ayuda de un potenciostato Gamry 600, en una celda de tres electrodos, usando un electrodo de referencia de calomel saturado (SCE) y grafito como contraelectrodo. El área de trabajo fue 1 cm^2 del sustrato recubierto. Como electrolito se utilizó la solución SBF, la cual se mantuvo a una temperatura constante de $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Para las pruebas RPL se realizó un barrido de potencial de $\pm 20 \text{ mV}$ desde el potencial de circuito abierto (PCA), a una velocidad de $0,2 \text{ mV/s}$. Por su parte, para los ensayos de polarización potenciodinámica se trabajó en el rango de potencial entre $-0,1 \text{ V}$ y $1,8 \text{ V}$ vs. SCE a una velocidad de barrido de $0,35 \text{ mV/s}$. Finalmente, las pruebas EIS se llevaron a cabo en el intervalo de frecuencia entre 100 KHz y 100 mHz , con una amplitud del potencial de perturbación sinusoidal de $\pm 10 \text{ mV}$ y densidad de 10 puntos de frecuencia por década. Los resultados fueron representados en los diagramas de Bode, para obtener los parámetros cinéticos característicos de los procesos de corrosión.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de los polvos de Biovidrio/Alúmina

Siguiendo la metodología descrita en el apartado 2.1, se obtuvieron los soles de biovidrio y alúmina con las siguientes especificaciones: Para el sol de biovidrio, se obtuvo un volumen final de 8 mL con concentración $2,5 \text{ M}$ de SiO_2 , pH 1 y viscosidad de $4,78 \text{ cP}$. Por su parte, el volumen final del sol de alúmina fue $5,31 \text{ mL}$, con concentración $0,44 \text{ M}$, pH 2,0 y viscosidad de 5 cP . A partir de tales soles se sintetizaron todos los biocerámicos dentro del sistema biovidrio- Al_2O_3 .

En la Figura 1 se presentan los difractogramas obtenidos para los diferentes polvos cerámicos, la

ausencia de picos relevantes en éstos, demuestra el carácter amorfo, tanto de los materiales puros como de los compuestos biovidrio/alúmina, lo cual está relacionado con las condiciones utilizadas para el tratamiento térmico (700°C y 1 hora de sostenimiento). No se trabajó con condiciones de calcinación más agresivas para evitar el daño del acero AISI 316L durante la sinterización de las películas.

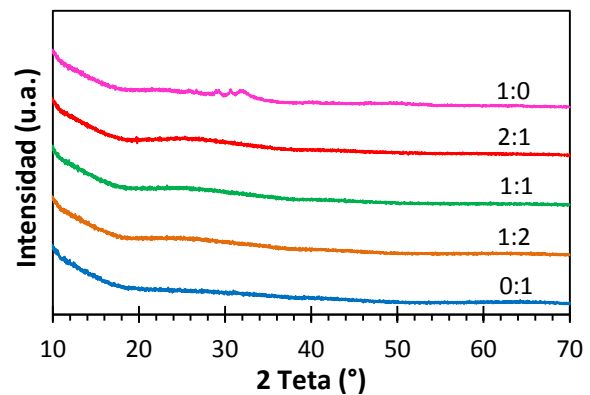


Figura 1. Difractogramas de rayos x de los polvos de biovidrio/ Al_2O_3 calcinados a 700°C .

En la Figura 2 se presentan los espectros FTIR de los cerámicos en estudio calcinados a 700°C . Para la muestra de biovidrio (relación 1:0) se distinguen las bandas típicas de dicho cerámico en los modos de vibración: $1040 - 1100 \text{ cm}^{-1}$, correspondiente al estiramiento asimétrico Si-O-Si (s, asym) [14, 15], 719 y 800 cm^{-1} para la banda con modo de vibración similar a la anterior, pero representativa del enlace Si-O simétrico (s, sym) [16]. La vibración basculante del enlace Si-O-Si (r) es identificada a 450 cm^{-1} , mientras que el pico ubicado a 936 cm^{-1} se relaciona con el enlace sin puente de oxígeno (NBO) Si-O-NBO o Si-O-Ca [14]. La banda en las longitud de onda $562-603 \text{ cm}^{-1}$ es asignada al modo de vibración de flexión del grupo P-O [14], como también corresponde a este enlace el pico a 1140 cm^{-1} [15]. Por su parte, en el espectro de la muestra de Al_2O_3 (relación 0:1) se observa una gran banda en el rango de 400 a 900 cm^{-1} aproximadamente, dentro de la cual se distinguen dos zonas asociadas a los enlaces Al-O en la alúmina: la primera entre 500 y 750 cm^{-1} , corresponde al modo de estiramiento de los enlaces Al-O con coordinación octaédrica

(AlO₆), mientras que la segunda, ubicada a 750-850 cm⁻¹ se relaciona con la coordinación tetraédrica (AlO₄) [17]. La ausencia de estructura fina en la región de 400 a 900 cm⁻¹ podría indicar la presencia de Al₂O₃ nano-estructurado en el estado amorfo [17].

Aunque en los espectros de los materiales compuestos biovidrio/Al₂O₃ (relaciones 1:2, 1:1 y 2:1) es posible diferenciar las principales bandas de los compuestos puros, las intensidades de tales bandas están apreciablemente disminuidas. La gran banda del biovidrio, relacionada con los enlaces Si-O-Si, Si-O-Ca y P-O y centrada a 1030 cm⁻¹, además de atenuarse, es desplazada hacia valores de longitud de onda mayores, lo cual se relacionaría con la formación del enlace Si-O-Al [18]. Adicionalmente, la interrelación biovidrio-Al₂O₃ parece favorecer la adsorción de humedad en la superficie del material compuesto, dado que las dos bandas asociadas al agua adsorbida (ubicadas alrededor de 3400 y 1600 cm⁻¹) se intensifican de manera conjunta en los espectros de los materiales mixtos.

A partir de los resultados obtenidos por FTIR para las diferentes relaciones biovidrio/ Al₂O₃, se puede inferir la reorganización de la estructura interna del material compuesto por efecto de la formación del enlace Al-O-Si, en el cual los átomos de aluminio reemplazan a los de calcio. Es de esperarse que tal modificación afecte las características reactivas y bioactivas del biovidrio [19].

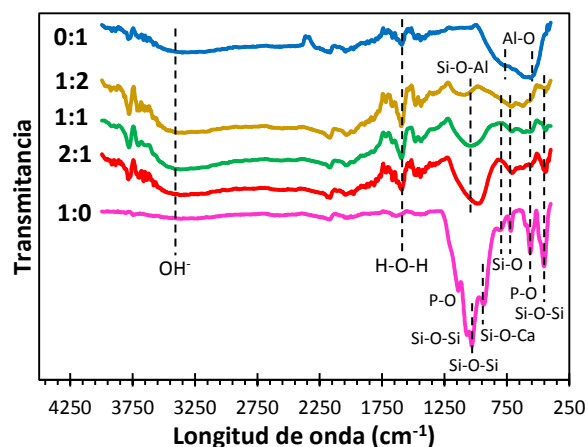


Figura 2. Espectros FT-IR de los polvos de biovidrio/Al₂O₃ calcinados a 700°C.

3.2 Evaluación de la bioactividad

3.2.1 Evolución con el tiempo del pH y de las concentraciones de calcio y fósforo en el SBF

En la Figura 3 se muestra la variación del pH durante el ensayo de bioactividad para las diferentes películas. Es característico que en la prueba de bioactividad *in vitro* de materiales bioactivos, el SBF incremente el pH hacia valores básicos, mostrando que hay un intercambio entre el ión H₃O⁺ en el SBF y el Ca²⁺ del recubrimiento (Reacción (1)), lo cual conduce a la saturación del medio en Ca²⁺ y a su posterior precipitación. Por el contrario, la disminución del pH a valores menos básicos, indica que hay consumo de iones OH⁻, los cuales son adsorbidos en la superficie y atraen a los iones Ca²⁺, que junto con los iones PO₄³⁻ forman la hidroxiapatita (HA) (reacción (2)). En principio, las curvas de pH para todas las muestras indicarían la ocurrencia de las dos etapas antes mencionadas, es decir: disolución del recubrimiento (Reacción (1)) y precipitación de apatitas (Reacción (2)), las cuales están relacionadas con el aumento y disminución del pH, respectivamente. No obstante, en la práctica las medidas de pH realizadas en el seno del fluido fisiológico simulado no reflejan los verdaderos cambios de pH del fluido adyacente al biomaterial. Por lo anterior, resulta difícil relacionar el carácter bioactivo de los recubrimientos sólo con las medidas de pH en el SBF. Sin embargo, las curvas de pH parecen indicar que el recubrimiento de biovidrio es más bioactivo que los demás, debido a la marcada disminución del pH de la solución durante los dos últimos días.

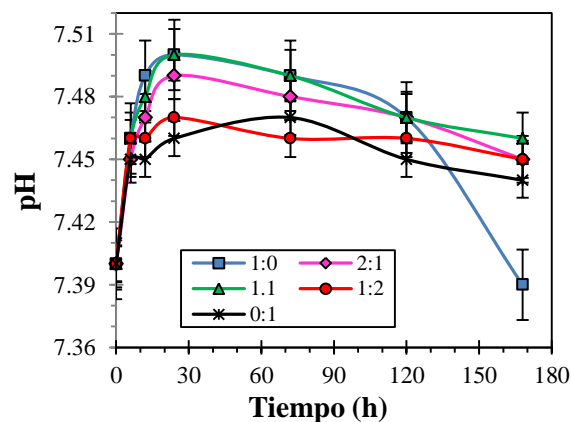
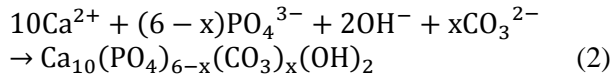
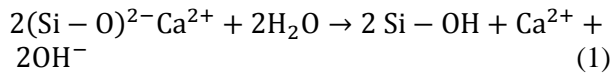


Figura 3. Evolución con el tiempo del pH del SBF.



En la Figura 4 se presentan las curvas de variación de las concentraciones de calcio y fósforo en solución, durante los 7 días de inmersión de las probetas recubiertas en el fluido fisiológico simulado (SBF). Siendo las incertidumbres máximas para las medidas de Ca y P de 0,7 ppm y 0,5 ppm, respectivamente. Para el calcio (Figura 4a) se observa que las curvas presentaron un máximo común a los 3 días. Sin embargo, en el ensayo con la película de biovidrio (relación 1:0) se presentó el mayor valor de concentración de calcio ($144,5 \pm 0,2$ ppm), mostrando que es la más reactiva. A medida que se aumenta el contenido de alúmina en el material compuesto, se disminuye el valor de la máxima concentración de calcio en solución, pudiéndose inferir que la reactividad química del biorecubrimiento disminuye al aumentar su contenido en alúmina, resultados similares han sido reportados por otros autores, tales como Gross y Strunz [20] y Jallot *et al.* [21]. En este mismo sentido, la curva para la película de Al_2O_3 (relación 0:1) no mostró variación en la concentración de Ca, indicando su carácter inerte en el SBF. El decaimiento en la concentración de calcio después del máximo, es un indicativo de que posiblemente se ha presentado la precipitación de apatitas, al consumirse iones Ca^{2+} para su formación (Reacción (2)).

La variación en la concentración de fósforo se muestra en la Figura 4b, la cual también puede ser empleada para evaluar la bioactividad de los recubrimientos. Se observa, al igual que para la curva de Ca, que disminuye la disolución y precipitación de P al aumentarse el porcentaje de alúmina en el material compuesto. La máxima disolución de fósforo se presentó a diferentes tiempos para las diferentes películas, alcanzándose el mayor valor ($74,35 \pm 0,14$ ppm P) para en el ensayo con la película de biovidrio (relación 1:0) luego de 24 h, mientras que para los recubrimientos mixtos (relaciones 2:1, 1:1 y 1:2) la máxima disolución se obtuvo a las 72 h. Nuevamente el

comportamiento del recubrimiento de Al_2O_3 es el de un material bioinerte, dado que la concentración de fósforo en el SBF se mantuvo constante.

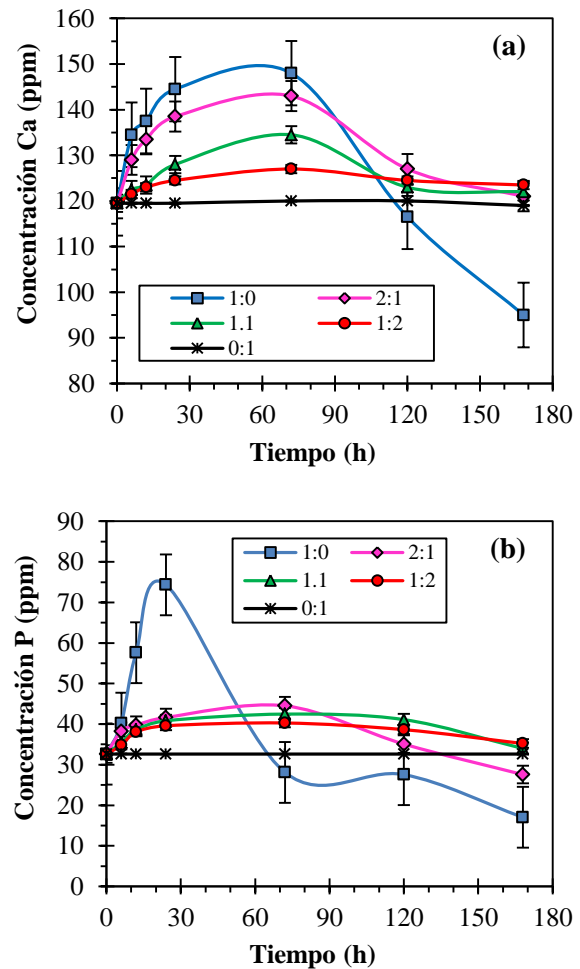


Figura 4. Variación con el tiempo de las concentraciones de calcio (a) y fósforo (b) en el SBF.

Al comparar las variaciones, con el tiempo, de las concentraciones de calcio y fósforo en el SBF en contacto con el biovidrio, es evidente que la etapa de disolución de calcio (72 h) es más prolongada que la del fósforo (24 h), lo cual puede relacionarse con el hecho de que se alcanza más rápido el nivel de saturación del P que del Ca en el SBF, lo que da lugar a la formación inicial de una capa rica en fósforo sobre el biovidrio [22], la cual se enriquece en calcio a medida que éste se precipita por efecto de la saturación de la solución en dicho elemento. Diversos investigadores [22, 23, 24] también han reportado la acelerada precipitación del fósforo en comparación con la de calcio, la cual es favorecida por la fuerte adsorción de los iones fósforo sobre la

superficie del biovidrio [23], motivo por el cual Hench [25] considera que el fosfato no es crítico en el biovidrio para la formación de las apatitas, dado que para ello bastaría con los iones fósforo adsorbidos desde la solución.

De estos resultados se concluye que el biovidrio es el cerámico más bioactivo de los estudiados, mientras que el de alúmina es bioinerte. Por su parte, los recubrimientos en composiciones intermedias parecen tener un carácter bioactivo intermedio, mostrando que la presencia de alúmina en la película de biovidrio puede llegar a controlar la cinética de formación de apatitas sobre el sustrato metálico.

3.2.2 Cambios morfológicos de los recubrimientos por su exposición al fluido fisiológico

En la Figura 5 se comparan las fotomicrografías MEB de los diferentes recubrimientos antes (lado izquierdo) y después (lado derecho) de su inmersión en el fluido fisiológico simulado durante 7 días, también se presentan algunos resultados de los micro-análisis EDS realizados sobre las zonas indicadas con un cuadro en cada fotomicrografía. Las fotomicrografías de las películas originales evidencian el agrietamiento de las mismas, defecto común en los recubrimientos obtenidos por la técnica sol-gel y originado por la evaporación de solventes y la contracción del cerámico durante su sinterización. No fue posible medir con precisión los espesores de los recubrimientos, pero de las fotomicrografías MEB es evidente que éstos son menores a 1 μm .

Las diferencias en el carácter bioactivo de los recubrimientos se ve reflejado en la morfología de los precipitados formados sobre las películas durante su exposición al fluido fisiológico simulado. En primer lugar, la película de biovidrio (Figura 5a) fue completamente recubierta de una capa de fosfato de calcio con la morfología de "coral", típica de las apatitas deficientes en calcio [26], esto demuestra el carácter bioactivo del material, tal como se dedujo del análisis del SBF (Figura 4). De acuerdo con los micro-análisis EDS del nuevo recubrimiento, se determinó que la relación Ca/P es de aproximadamente 1,46, siendo este valor menor al estequiométrico para la hidroxiapatita (1,67), lo cual indicaría la amorficidad de las apatitas formadas [27]. Por su parte, sobre los recubrimientos

biovidrio/ Al_2O_3 de 2:1, 1:1 y 1:2 (figuras 5 b-d) sólo se observan acumulaciones aisladas de precipitados globulares, además, fue evidente que la cantidad de precipitados fue menor con el aumento de la cantidad Al_2O_3 en la película, lo cual se relaciona con una cinética de formación de apatitas más lenta. A pesar de las limitaciones de la técnica EDS, los micro-análisis realizados sobre los precipitados de las tres películas mixtas, indicarían que la cinética de precipitación de calcio se ralentiza con el aumento del contenido de alúmina en el recubrimiento, dado que las relaciones Ca/P de los precipitados fueron 1,69, 1,50 y 0,41 para las películas biovidrio/alúmina de 2:1, 1:1 y 1:2, respectivamente. Tales resultados son coherentes con las cinéticas de disolución de calcio (Figura 4a), teniendo en cuenta que a mayor disolución de calcio, es de esperarse una cinética de precipitación de tal elemento más rápida. La menor bioactividad de estos recubrimientos estaría relacionada con el reemplazo parcial de los enlaces Si-O-Ca por los Si-O-Al; actuando el aluminio como una barrera para la generación de los enlaces Si-OH, disminuyéndose así los sitios de nucleación disponibles. De esta forma el aluminio controla la bioactividad de los recubrimientos [9].

Finalmente, los análisis EDS para el recubrimiento de Al_2O_3 (Figura 5e) no evidenciaron su enriquecimiento en Ca o P por su exposición al SBF, ni cambios morfológicos importantes en éste, lo que comprueba el carácter bioinerte del mismo.

3.3 Caracterización electroquímica de los recubrimientos

Al poner en contacto el acero AISI 316L con el SBF ocurren procesos electroquímicos, como la disolución del metal y pasivación del mismo, por lo cual es importante conocer el efecto que tienen los recubrimientos sobre la resistencia a la corrosión de dicho material. A continuación se presentan los resultados de la caracterización electroquímica de las probetas por tres técnicas: Resistencia a la polarización lineal, polarización potenciodinámica y espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS). Los ensayos se realizaron antes y después de la inmersión de las probetas en SBF durante 7 días.

3.3.1 Resistencia a la polarización lineal (RPL)

Las curvas RPL para las diferentes probetas (Figura 6) mostraron, de forma general, que los sustratos

recubiertos presentaron mayores valores de potencial a circuito abierto PCA en comparación al acero desnudo, es decir, se desplazaron hacia potenciales más nobles, indicando que hay un carácter protector por parte de la película frente a la corrosión del metal. Sin embargo, la probeta recubierta con biovidrio (Relación 1:0) presentó un

valor de PCA más negativo respecto al acero desnudo, ocasionado por la acelerada disolución del recubrimiento, dejando zonas libres por donde el SBF penetra hasta llegar a la superficie del metal, oxidándolo y haciendo que éste presente potenciales en una zona activa.

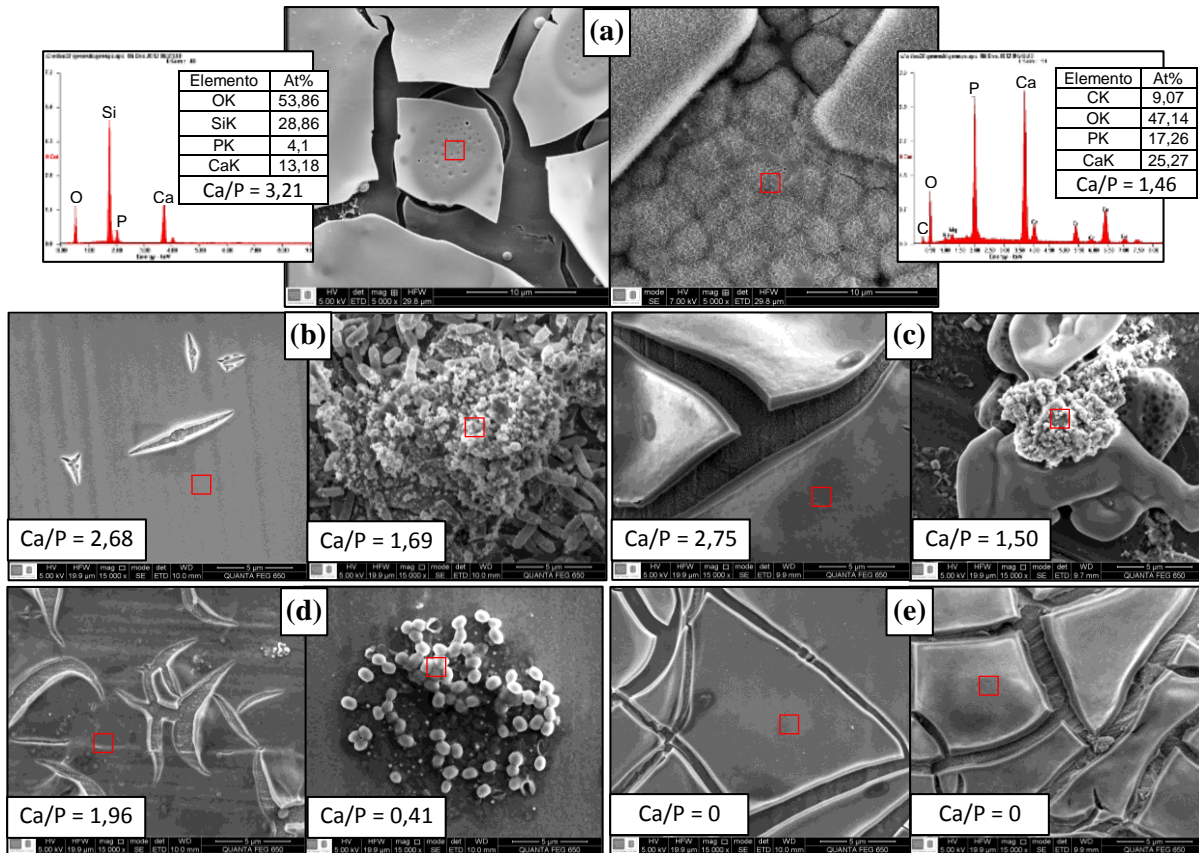


Figura 5. Fotomicrográficas MEB de las muestras originales (izquierda) y luego de exponerlas al SBF (derecha). Relaciones biovidrio/alúmina: 1:0 (a), 2:1 (b), 1:1 (c), 1:2 (d) y 0:1 (e).

Se observa que las curvas con mayor pendiente corresponden a las probetas recubiertas con los materiales compuestos Biovidrio:Al₂O₃ 1:1, 1:2 y 0:1, evidenciándose mayores valores de resistencia a la polarización (R_p) con respecto al acero desnudo, es decir, dichas películas hacen que el acero 316L presente menores velocidades de corrosión, al ser una propiedad inversa al R_p . Mientras que las curvas de las películas de la relación 1:0 y 2:1 tuvieron pendientes menores a la del acero descubierto, lo que indica menor valor de R_p . Tal comportamiento está relacionado con la alta reactividad del biovidrio. Por tanto, tales recubrimientos permiten

que haya mayor degradación del acero AISI 316L, en comparación a las demás relaciones, ya que al disolverse llevan a un incremento de iones en la interfase película/electrolito.

En la Figura 7, se observan las curvas de RPL para las muestras luego de siete días de inmersión. El cambio más llamativo de las curvas con relación a las obtenidas para las películas originales, ocurre para la probeta recubierta con biovidrio (Relación 1:0), encontrándose que su PCA se desplazó hacia una zona más noble o a un valor más positivo respecto a las demás relaciones. Es decir, dicha

película tuvo un comportamiento más protector, característica proporcionada por la formación de una capa homogénea de apatitas después de los siete días de inmersión en *SBF*.

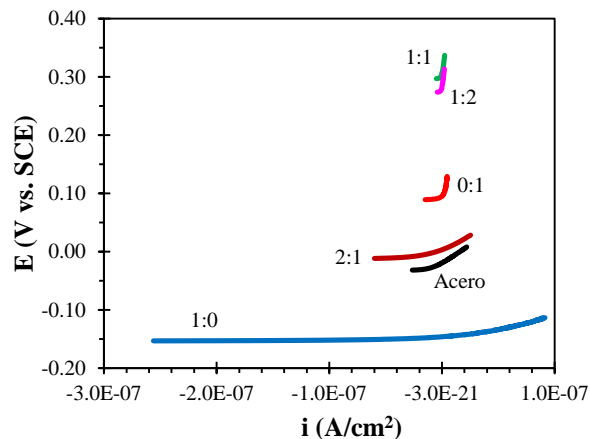


Figura 6. Curvas de resistencia a la polarización lineal para los recubrimientos originales.

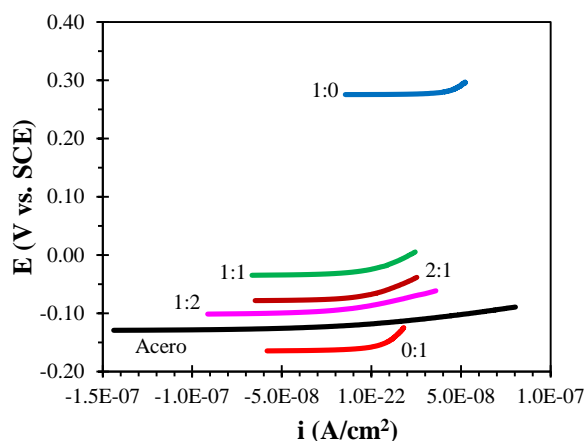


Figura 7. Curvas de resistencia a la polarización lineal para los recubrimientos luego de su inmersión en *SBF* durante 7 días.

Cabe resaltar que en la Figura 7 también se observa que la pendiente de todas las curvas de las probetas recubiertas es mayor a la del acero descubierto, lo cual indica mayor resistencia a la polarización, es decir, que le confieren al acero, en mayor o menor medida, protección contra la corrosión.

3.3.2 Curvas de polarización potenciodinámica

En la Figura 8 se presentan las curvas de polarización potenciodinámica de los recubrimientos originales, así mismo en la Tabla 2 se resumen los parámetros electroquímicos

determinados a partir de tales curvas y teniendo en cuenta la norma ASTM G102-89 [28].

Estos resultados (Figura 8 y Tabla 2) confirman las observaciones hechas de las curvas de RPL para las muestras antes de inmersión, es decir que el recubrimiento de biovidrio presenta un potencial de corrosión menor respecto a las demás muestras y una mayor i_{corr} que la obtenida para el acero desnudo, indicando que este recubrimiento es el que reacciona en mayor medida con el *SBF*, como se demostró anteriormente con el estudio de bioactividad. En este proceso ocurre la liberación de iones Ca^{2+} y P^{4+} por parte del recubrimiento y Fe^{2+} por parte del acero AISI 316L, correspondientes a los fenómenos de reactividad del recubrimiento y corrosión del sustrato[29].

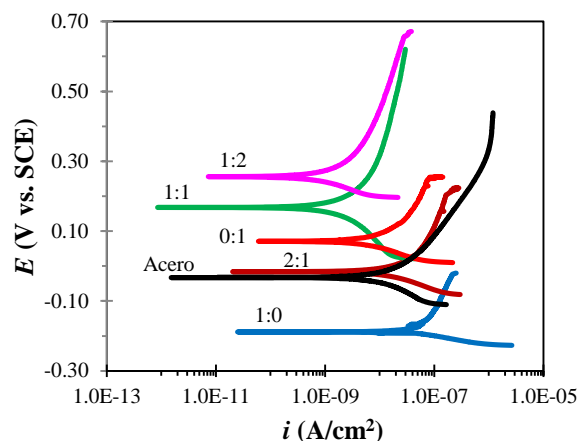


Figura 8. Curvas de polarización potenciodinámica para los recubrimientos originales.

También se observa en la Tabla 2 que los recubrimientos 2:1, 1:1, 1:2 y 0:1 presentaron menores valores de i_{corr} en comparación con el acero desnudo, por lo tanto estos presentan carácter protector ante la disolución del metal. Con base en los resultados obtenidos por esta técnica, se puede decir que las películas 1:2 y 1:1, son las que presentan mayor protección del acero AISI 316L, para un corto periodo de exposición en *SBF*.

Las curvas de polarización potenciodinámica para las películas expuestas al *SBF* durante 7 días, son mostradas en la Figura 9. Los parámetros electroquímicos obtenidos a partir de tales curvas son presentados en el Tabla3, incluyendo los valores de R_p derivados de la Figura 7.

Tabla 2. Parámetros electroquímicos de los recubrimientos originales.

Material	E_{corr} (mV)	B_c (mV/Década)	B_a (mV/Década)	R_p ($M\Omega\text{-cm}^2$)	$10^3 \times i_{corr}$ ($\mu\text{A/cm}^2$)	$10^3 \times V_{corr}$ (mpy)
1:0	-189	-27	45	0,25	28,70	11,89
2:1	-16	-49	78	1,28	10,20	4,23
1:1	168	-130	78	13,23	1,60	0,66
1:2	26	-47	83	18,46	0,71	0,29
0:1	71	-46	77	2,23	5,61	2,33
Acero desnudo	-33	-75	74	1,99	8,11	3,36

Tabla 3. Parámetros electroquímicos para los recubrimientos luego de su inmersión en SBF durante 7 días.

Material	E_{corr} (mV)	B_c (mV/Década)	B_a (mV/Década)	R_p ($M\Omega\text{-cm}^2$)	$10^3 \times i_{corr}$ ($\mu\text{A/cm}^2$)	$10^3 \times V_{corr}$ (mpy)
1:0	-34	-20	77	2,22	3,08	1,28
2:1	-95	-48	82	1,42	9,29	3,85
1:1	-56	-38	96	1,31	9,07	3,76
1:2	-102	-50	79	0,93	14,30	5,93
0:1	-206	-20	13	0,97	7,67	3,18
Acero desnudo	-139	-42	76	0,60	19,70	8,16

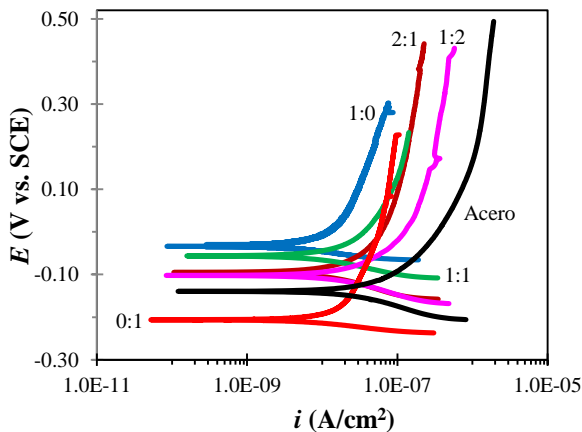


Figura 9. Curvas de polarización potenciodinámica para los recubrimientos luego de su inmersión en SBF durante 7 días.

De estos resultados (Figura 9 y Tabla 3), se evidencia la menor velocidad de corrosión ($1,28 \times 10^{-3}$ mpy) para la película 1:0 (Biovidrio) en comparación con las demás muestras, teniendo ésta mayor carácter protector. Por otro lado, al comparar los parámetros electroquímicos de cada película

antes y después de inmersión en SBF durante 7 días, es evidente que el recubrimiento de biovidrio fue el único que aumentó de manera notable la resistencia a la polarización, pasando de $0,25 M\Omega\text{-cm}^2$ a $2,22 M\Omega\text{-cm}^2$. Tales resultados permiten concluir que la capa de producto del fenómeno de bioactividad (apatitas) aumenta el carácter protector de la película sobre el sustrato.

En cuanto a los recubrimientos con relaciones Biovidrio/ Al_2O_3 intermedias, los resultados de la Tabla 3 indican que al aumentar el contenido de Al_2O_3 , la resistencia a la polarización aumenta, lo que podría estar relacionado con una mayor densificación de los compites. Luego de la exposición prolongada en SBF (Tabla 3), sólo el material compuesto con mayor contenido de biovidrio (Relación 2:1) aumentó su R_p , lo cual se puede explicar por el hecho de que al contener mayor cantidad de biovidrio es más reactiva que las otras y los precipitados formados sellan en algún grado las porosidades originales del recubrimiento. Por su parte, en los otros dos recubrimientos, con menor contenido de biovidrio (Relaciones 1:1 y

1:2), la R_p se ve afectada por la exposición al SBF, lo cual puede estar relacionado con la disolución parcial de la película y poca formación de precipitados. Es decir, la liberación de iones calcio y fósforo (ver Figura 4) o disolución de la película, es la responsable de la disminución del carácter protector. Estos resultados llevan a proponer que el biovidrio parece estar reaccionando, pero debido a su baja concentración en la película, o quizá a la baja cinética con la que lo hace, no alcanza una concentración crítica de iones (Ca^{2+} y PO_4^{2-}) en la interfase que lleve a la formación de la película de apatitas.

Por su parte, las propiedades protectoras del recubrimiento de Al_2O_3 también se ven disminuidas, seguramente por efecto de su disolución e hidratación. Esto teniendo en cuenta que la disolución del material conlleva a una disminución de la densidad o aumento de la porosidad. Finalmente, se observa que luego del contacto con el SBF, todos los recubrimientos presentan mayor resistencia a la corrosión que el acero desnudo, justificando su uso como material protector ante la degradación del metal.

3.3.3 Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS)

En la Figura 10 se presentan los diagramas de Bode para todos los recubrimientos antes y después de su exposición al SBF durante 7 días. Los valores de impedancia mostrados en esta figura son empleados para describir el comportamiento protector de los recubrimientos desarrollados. Adicionalmente, también permite el estudio de las constantes de tiempo relacionadas con la resistencia a la transferencia de carga empleada para conocer la degradación del acero inoxidable 316L, la porosidad de las películas y el comportamiento bioactivo de los recubrimientos.

Los espectros de EIS en la Figura 10 indican que los recubrimientos aumentan la resistencia a la degradación del acero, al obtenerse mayores valores de impedancia a bajas frecuencias que el correspondiente al acero desnudo, tanto en los ensayos realizados a pocas horas de inmersión en SBF, como en aquellos llevados a cabo luego de siete días de inmersión. En la Figura 10a se puede observar que la película de biovidrio (relación 1:0) fue la única que presentó menor impedancia en el rango de 0,01-0,1 HZ, mostrando que para estas

frecuencias la alta reactividad del biovidrio en pocas horas de exposición permite el mayor deterioro del acero 316L. Pero posteriormente ocurre la protección del metal al irse depositando la película de apatitas, funcionando ésta como una barrera a la difusión de especies electro-activas y al ataque de las especies químicas, Cl^- , O_2 y H_2O , presentes en el SBF, al sellarse los poros y defectos superficiales del recubrimiento. Sin embargo, los valores de impedancia medidos después de 7 días de exposición continúan siendo menores que los del acero desnudo, contradiciendo lo observado en la caracterización con corriente directa, donde se observó un mayor valor de R_p y una menor i_{corr} , en comparación con el acero desnudo, Figuras 7 y 9, respectivamente. Esta controversia radica en la diferente perturbación empleada para la medición, mientras que las técnicas de corriente directa no permiten diferenciar la contribución hecha por la película de óxido sobre la resistencia a la transferencia de carga, la perturbación hecha con corriente alterna, a diferentes frecuencias, permite diferenciar los procesos involucrados en el proceso corrosivo que ocurren a diferente velocidad. Por lo que, aunque con las técnicas de corriente directa se observa que el recubrimiento de biovidrio lleva a un incremento en el carácter protector con el tiempo de exposición, por la precipitación de apatitas en la superficie del electrodo, la caracterización mediante EIS muestra que el proceso corrosivo continúa presentándose a través de los poros de la película formada durante la exposición, y que es necesario incluir un material adicional, como la alúmina en este caso, para brindarle al recubrimiento un carácter protector contra la corrosión del acero.

Por otra parte, el acero desnudo (Figura 10a) sólo presentó una constante de tiempo, relacionada con la transferencia de carga involucrada en el proceso corrosivo del mismo. Los altos valores de impedancia registrados indican que el acero se protege debido a la formación de una película de óxido pasiva. La disminución en el ángulo de fase y en la impedancia para el acero luego de 7 días de inmersión (Figura 10a), evidencian la degradación de la película pasiva con el tiempo de inmersión en el SBF.

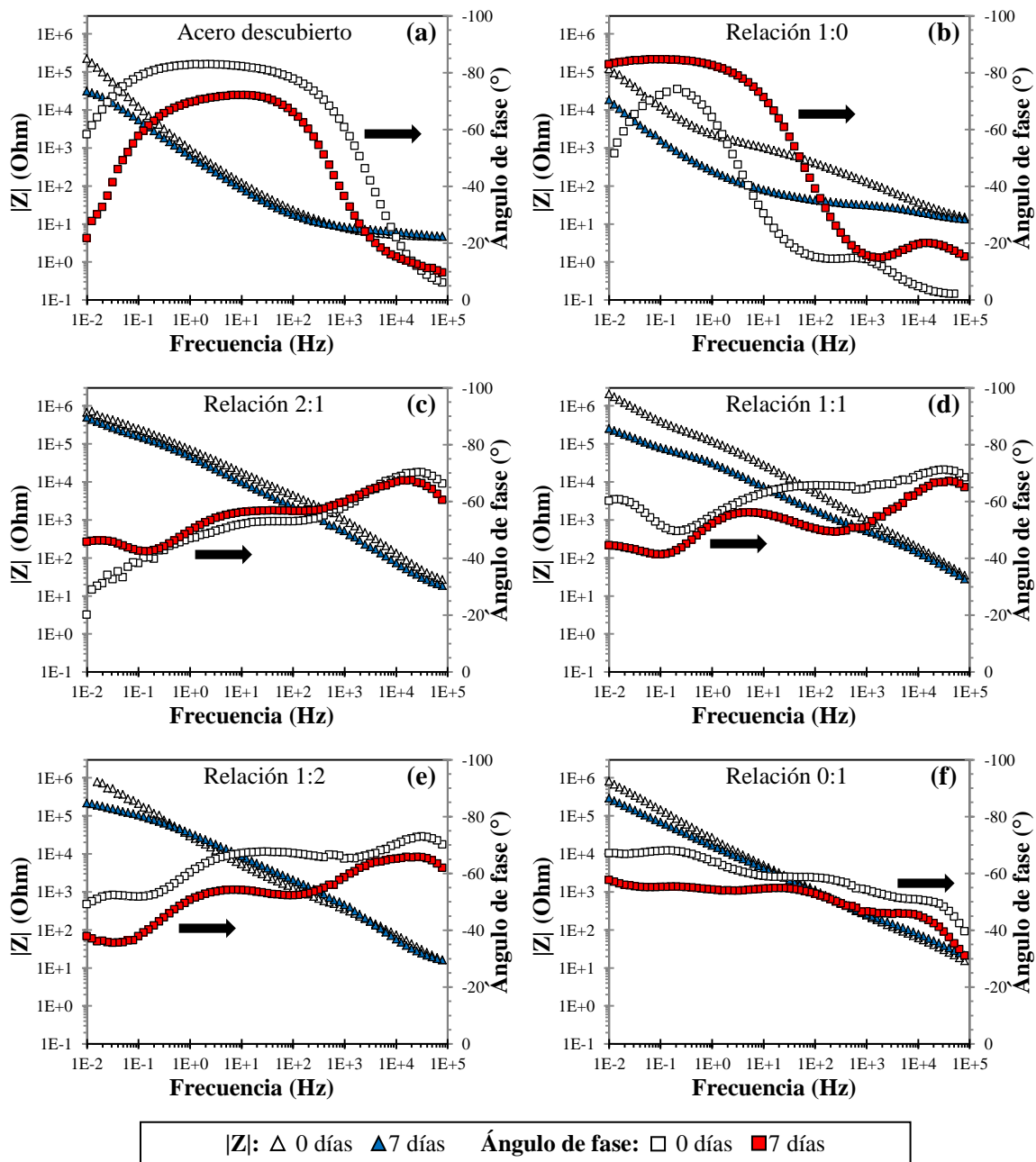


Figura 10. Diagramas de Bode para las probetas antes y después de su inmersión en SBF durante 7 días.

Para la película original de biovidrio (Figura 10b), se presentaron dos constantes de tiempo, una asociada al comportamiento a bajas frecuencias (0,1-10Hz), en donde el ángulo de fase aproximadamente de -74° , indica alta resistencia a la transferencia de carga en el corto tiempo de exposición, demostrando que hay protección del acero por parte del recubrimiento. La segunda constante de tiempo se asocia al comportamiento a altas frecuencias (1-100KHz), allí se observa que el

recubrimiento para esta relación fue poroso, al ser pequeños los ángulos de fase. Luego de 7 días en inmersión en SBF, se observa el aumento de la impedancia a baja frecuencia, lo que indica un aumento en la resistencia a la transferencia de carga (R_{ct}), incrementando el carácter protector del recubrimiento para con el metal. Lo anterior es respaldado con las impedancias mostradas para estas frecuencias (Figura 10b), evidenciándose mayor resistencia a la transferencia de carga a los siete días

de inmersión. Para la misma muestra, el aumento del ángulo de fase a alta frecuencia, estaría relacionado con el carácter bioactivo de la película, teniendo en cuenta que la deposición de apatitas contribuye a la densificación de la película, al bloquear los poros generados durante la disolución del recubrimiento, concordando estos resultados con los obtenidos en el ensayo de bioactividad.

Los diagramas para las películas con composición intermedia y sólo Al_2O_3 , relaciones 2:1, 1:1, 1:2 y 0:1 (figuras 10 c-e), presentaron tres constantes de tiempo: una a bajas frecuencias, donde se evidencia que la resistencia a la transferencia de carga fue alta, produciéndose baja corrosión del metal. Otra constante se presenta a altas frecuencias, en donde se muestra que los recubrimientos fueron más densos que el recubrimiento 1:0 (Biovidrio), alcanzando valores mayores de ángulo de fase. Adicionalmente aparece, una tercera constante de tiempo, que no ha sido informada en la literatura, pero parece estar relacionada con el recubrimiento de alúmina sobre la superficie de acero, ya que esta constante de tiempo, sólo se presenta al incorporar la alúmina a la película. Luego de la inmersión en SBF durante 7 días, se observa que con respecto a la constante a bajas frecuencias, hubo disminución del carácter protector al aumentar la transferencia de carga. Para la constante a altas frecuencias, se observó un leve aumento en la porosidad, probablemente asociado a la disolución del biovidrio en la película. Tal hecho demuestra que el empleo de alúmina no sólo permite controlar la reactividad de los recubrimientos y por consiguiente su bioactividad, disminuyéndose la cantidad de apatitas depositadas en diferente medida según la cantidad de alúmina agregada al compuesto; sino que además, permite obtener recubrimientos con mayor carácter protector contra la corrosión del sustrato, superando así dos problemas principales del empleo de biovidrio como recubrimiento para implantes, es decir su acelerada reactividad con los fluidos fisiológicos que puede llevar a su desaparición antes que se inicie la formación de apatitas y la poca protección a la corrosión del sustrato metálico. En nuestro laboratorio seguimos llevando estudios enfocados en el control de la cinética de reactividad del recubrimiento y el mejoramiento de su carácter protector, mediante la formación de compuestos con materiales bioinertes [30, 31].

4. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo permiten concluir que es posible controlar la reactividad del biovidrio en los fluidos fisiológicos mediante la adición controlada de un cerámico bioinerte, como alúmina, de tal forma que durante su aplicación como recubrimiento de implantes ortopédicos, este permita la fijación del implante al hueso en todo momento, es decir antes y después del inicio de la formación de apatitas y hueso nuevo. En los materiales compuestos Biovidrio/ Al_2O_3 , los átomos de aluminio sustituyen a los de calcio en el enlace Si-O-Ca, formándose el enlace Si-O-Al, que limita la generación de los enlaces Si-OH, necesarios para la nucleación de las apatitas desde el fluido fisiológico simulado. Adicionalmente, por su baja reactividad, la adición de alúmina a los recubrimientos de biovidrio aumenta la protección contra la corrosión del sustrato metálico.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander por la financiación de esta investigación, a través del proyecto 5441 “Obtención por sol-gel de recubrimientos de biovidrio reforzado con Al_2O_3 y TiO_2 sobre Ti6Al4V y acero inoxidable AISI 316L para su uso en implantes ortopédicos”.

6. REFERENCIAS

- [1]. Vijayalakshmi U, Rajeswari S. Metallurgical and Materials Transactions A, 2012; 43 (12): 4907-4919.
- [2]. Tiwari SK, Mishra T, Gunjan MK, Bhattacharyya AS, Singh TB, Singh R, Surface and Coatings Technology. 2007; 201 (16-17): 7582-7588.
- [3]. Gurappa I. Surface and Coatings Technology, 2002; 161 (1): 70-78.
- [4]. García C, Mendoza E. Dyna, 2007; 153: 101-110.
- [5]. García JL, Hernando de Larrarnendi C, Muñoz D, Gastaminza G. Patología del Aparato Locomotor, 2004; 2 (2): 114-125.
- [6]. Geringer J, Pellier J, Taylor ML, Macdonald DD, Tribology International, 2013; 68: 67-76.
- [7]. Souto RA, Laz MM, Reis RL. *Biomaterials*, 2003; 24 (23): 4213-4221.
- [8]. Wang D, Bierwagen GP. Progress in Organic Coatings, 2009; 64 (4): 327-338
- [9]. De Aza PN, De Aza S, “Biocerámicas”. En: Sastre

- R, De Aza S, San Román J (eds.), Biomateriales. Faenza (Italia): Faenza Editrice Iberica, 2004, p. 41-64.
- [10]. Pourhashem S, Afshar A. *Ceramics International*, 2014; 40: 993-1000.
- [11]. Ravarian R, Moztarzadeh F, Solati Hashjin M, Rabiee SM, Khoshakhlagh P, Tahriri M. *Ceramics International*, 2010; 36 (1): 291-297.
- [12]. Kobayashi Y, Ishizaka T, Kurokawa Y. *Journal of Materials Science*, 2005; 40 (2): 263-283.
- [13]. Kokubo T, Takadama H. *Biomaterials*, 2006; 27 (15): 2907-2915.
- [14]. Ma J, Chen CZ, Wang DG, Hu JH. *Ceramics International*, 2011; 37 (5): 1637-1644.
- [15]. Pappas GS, Liatsi P, Kartsonakis IA, Danilidis I, Kordas G. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2008; 354 (2-9): 755-760.
- [16]. ElBatal HA, Azooz MA, Khalil EMA, Soltan Monem A, Hamdy YM. *Materials Chemistry and Physics*, 2003; 80 (3): 599-609.
- [17]. Padmaja P, Anilkumar GM, Mukundan P, Aruldhas G, Warriar KGK. *International Journal of Inorganic Materials*, 2001; 3 (7): 693-698.
- [18]. Niu X, Zhang H, Hu X, Han W. *Applied Surface Science*, 2013; 268: 265-269.
- [19]. Chatzistavrou X, Kantiranis N, Kontonasaki E, Chrissafis K, Papadopoulou L, Koidis P, Boccaccini AR, Paraskevopoulos KM. *Materials Characterization*, 2011; 62 (1): 118-129.
- [20]. Gross U, Strunz V. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1985; 19 (3): 251-271.
- [21]. Jallot E, Benhayoune H, Kilian L, Irigaray J L, Barbotteau Y, Balossier G, Bonhomme P. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2001; 233: 83-90.
- [22]. Saboori A, Rabiee M, Moztarzadeh F, Sheikhi M, Tahriri M, Karimi M. *Materials Science and Engineering C*, 2009; 29: 335-340.
- [23]. Plewinski M, Schickle K, Lindner M, Kirsten A, Weber M, Fischer H. *Dental Materials*, 2013; 29: 1256-1264.
- [24]. Souza M, Crovace M, Schröder C, Eckert H, Peitl O, Zanotto E. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2013; 382: 57-65.
- [25]. Hench LL, Andersson Ö. En: Hench LL, Wilson J (eds.) *An Introduction to Bioceramics*. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 1993. p. 1-24.
- [26]. Berbecaru C, Stan G E, Pina S, Tulyaganov D U, Ferreira J M F. *Applied Surface Science*, 2012; 258: 9840-9848.
- [27]. Kim HM, Himeno T, Kokubo T, Nakamura T. *Biomaterials*, 2005; 26 (21): 4366-4373.
- [28]. Norma ASTM G102-89, Standard Practice for Calculation of Corrosion Rates and Related Information from Electrochemical Measurements, Vol. 03.02, Filadelfia (EE.UU.): American Society for Testing and Materials, 2010.
- [29]. Galliano P, De Damborenea J, Dúran A. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 1988; 13: 723-727.
- [30]. Cárdenas DC, Acevedo P, Córdoba EM. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* 2013; 33 (2): 214-224.
- [31]. Niño AC, Mogollón MJ, Acevedo P, Córdoba EM. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* 2014; 34 (2): 240-250.