

**Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas,  
Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado.  
Doctorado en Ciencias Aplicadas**

Doctorando  
***Esp. Alex Iván Kociubczyk***

## **Estructuras de solidificación y propiedades de aleaciones destinadas a la sustitución de tejidos duros**

**Tesis de Doctorado presentada para obtener el título de  
“Doctor en Ciencias Aplicadas”**

“Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899”.

Directora  
***Dra. Alicia Esther Ares***  
Co-Director  
***Dr. Ricardo Gregorutti***

**Posadas, Misiones 2021**



Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES**  
**Facultad de Ciencias Exactas Químicas y**  
**Naturales**



**ESTRUCTURAS DE SOLIDIFICACIÓN Y PROPIEDADES DE**  
**ALEACIONES DESTINADAS A LA SUSTITUCIÓN DE TEJIDOS**  
**DUROS**

**Esp. Alex Iván KOCIUBCZYK**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de  
la Universidad Nacional de Misiones para optar al grado académico de

**DOCTOR EN CIENCIAS APLICADAS**

Posadas, República Argentina

**2021**

**Directora**

Dra. Alicia Ares

**Co-Director**

Dr. Ricardo Gregorutti

**TRIBUNAL EXAMINADOR** (Resolución Consejo Directivo N° 611-19)

Dra. Lilián Diana MORO	Universidad Nacional del Sur
Dra. Marina Inés QUIROGA	Universidad Nacional de Misiones
Dr. Pedro Darío ZAPATA	Universidad Nacional de Misiones

**DEFENSA ORAL Y PÚBLICA** (Disposición N°355/21)

Posadas, 29 de Abril de 2021

**ESTRUCTURAS DE SOLIDIFICACIÓN Y PROPIEDADES DE  
ALEACIONES DESTINADAS A LA SUSTITUCIÓN DE TEJIDOS  
DUROS**

**Alex Iván KOCIUBCZYK**

**Lugar de desarrollo del trabajo de tesis**

Laboratorio de Corrosión (PROMyF-FCEQyN-UNaM)

Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación  
Tecnológica (LEMIT-CIC)

**COMISIÓN DE SUPERVISIÓN**

(Resolución Consejo Directivo N° 253-13 y 189-15)

Dr. Alfredo GONZÁLEZ	Universidad Nacional de La Plata
Dra. Elena BRANDALEZE	Universidad Tecnológica Nacional
Dr. David BRUSILOVSKY	Universidad Nacional de Misiones

**CARRERA DE DOCTORADO EN CIENCIAS APLICADAS**

Proyecto de Carrera N° 10933/11

Con reconocimiento de la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación  
Universitaria (CONEAU) N°344/11

## **Agradecimientos**

---

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a las siguientes personas e Instituciones que colaboraron e hicieron posible el desarrollo de este trabajo.

A mis Directores, la Dra. Alicia E. Ares y el Dr. Ricardo W. Gregorutti por sus aportes, paciencia y dedicación en el desarrollo de esta tesis.

A la Dra. Claudia M. Méndez por su colaboración en la realización de esta tesis.

Al Dr. Alberto S. Fenocchio, a la Dra. Jacquie D. Caffetti y el Lic. Sergio Müller del Laboratorio de Citogenética General y Monitoreo Ambiental (IBS-UNaM-CONICET). Por la gran colaboración para el desarrollo del presente trabajo.

Al Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones por el lugar de trabajo.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina por la beca otorgada para realizar el doctorado.

Al Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica por el lugar de trabajo.

A todo el equipo de trabajo del laboratorio de solidificación del LEMIT por su colaboración en múltiples ensayos.

A mi familia y amigos por el apoyo constante que me brindaron durante el desarrollo de esta tesis.

Al Ing. Federico Harms, por la colaboración y el interés puesto en este tema.

**ÍNDICE**

<b>RESUMEN .....</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>9</b>
<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>10</b>
1.1 Antecedentes.....	10
1.2 Hipótesis .....	13
1.3 Objetivo General.....	13
1.4 Objetivos específicos .....	13
1.5 Referencias .....	15
<b>CAPÍTULO 2 – SOLIDIFICACIÓN DE PRÓTESIS METÁLICAS .....</b>	<b>19</b>
2.1 Marco teórico.....	19
2.1.1 Mecanismos de formación de cristales.....	19
2.1.2 Redistribución del soluto.....	25
2.1.3 Fundición por cera perdida.....	34
2.2 Metodología experimental.....	40
2.2.1 Experiencias de solidificación.....	40
2.2.2 Ensayos metalográficos .....	45
2.2.3 Ensayos mecánicos de microdureza .....	46
2.2.4 Parámetros metalográficos .....	47
2.2.5 Análisis de composición de los elementos .....	47
2.2.6 Parámetros térmicos .....	48
2.2.7 Determinación del punto de fusión .....	49
2.2.8 Diseño por surgencia.....	50
2.3 Resultados y discusión .....	52
2.3.1 Solidificación en estado estable .....	52
2.3.2 Análisis de las curvas de enfriamiento .....	53
2.3.3 Análisis térmico diferencial (Curva de enfriamiento vs velocidad de enfriamiento).....	58
2.3.4 Análisis de las estructuras de solidificación .....	61
2.3.5 Análisis de la composición de los elementos en las aleaciones .....	65
2.3.6 Determinación de los valores de microdureza “HV” .....	68
2.3.7 Relación entre microdureza HV, espaciamiento dendrítico secundario y tamaño de grano .....	68

2.4	Conclusiones.....	72
-----	-------------------	----

2.5	Referencias .....	73
-----	-------------------	----

## **CAPÍTULO 3 - ELECTROQUÍMICA EN LOS IMPLANTES METÁLICOS..... 78**

3.1	Marco teórico.....	78
-----	--------------------	----

3.1.1	Fundamentos de los mecanismos de corrosión .....	79
-------	--------------------------------------------------	----

3.1.2	Mecanismo de liberación de iones y partículas .....	86
-------	-----------------------------------------------------	----

3.1.3	Determinación de las propiedades electroquímicas .....	87
-------	--------------------------------------------------------	----

3.2	Metodología experimental.....	92
-----	-------------------------------	----

3.2.1	Preparación de la muestra.....	92
-------	--------------------------------	----

3.2.2	Confección de los electrodos de trabajo.....	93
-------	----------------------------------------------	----

3.2.3	Celda electroquímica.....	93
-------	---------------------------	----

3.2.4	Solución electrolítica.....	94
-------	-----------------------------	----

3.2.5	Temperatura de trabajo.....	94
-------	-----------------------------	----

3.2.6	Pruebas potenciodinámicas cíclicas .....	94
-------	------------------------------------------	----

3.2.7	Espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) .....	95
-------	---------------------------------------------------------	----

3.2.8	Ensayo potenciodinámico-potenciostático-potenciodinámico (PD-PS-PD) .....	95
-------	---------------------------------------------------------------------------	----

3.3	Resultados y discusión .....	96
-----	------------------------------	----

3.3.1	Pruebas potenciodinámicas cíclicas .....	96
-------	------------------------------------------	----

3.3.2	Resultados del EIS .....	109
-------	--------------------------	-----

3.4	Conclusiones.....	120
-----	-------------------	-----

3.5	Referencias .....	121
-----	-------------------	-----

## **CAPÍTULO 4 - EFECTOS GENOTÓXICOS, CITOTÓXICOS Y CITOSTÁTICOS ..... 127**

4.1	Marco teórico.....	127
-----	--------------------	-----

4.1.1	Biocompatibilidad .....	127
-------	-------------------------	-----

4.1.2	Toxicología genética .....	128
-------	----------------------------	-----

4.1.3	El rol de los elementos que componen las aleaciones .....	129
-------	-----------------------------------------------------------	-----

4.1.4	Reacciones biológicas a los productos de corrosión .....	132
-------	----------------------------------------------------------	-----

4.1.5	Ensayo Citómico de Micronúcleos por Bloqueo de la Citocinesis .....	134
-------	---------------------------------------------------------------------	-----

4.1.6	Ensayo Cometa.....	135
-------	--------------------	-----

4.2	Metodología experimental.....	136
-----	-------------------------------	-----

4.2.1	Obtención de los extractos iónicos.....	136
-------	-----------------------------------------	-----

4.2.2	Toma de Muestra y Unidad Experimental .....	136
-------	---------------------------------------------	-----

4.2.3	Tratamientos.....	137
-------	-------------------	-----

4.2.4	Viabilidad Celular (VC) .....	138
-------	-------------------------------	-----

4.2.5	Ensayo Cometa (EC).....	139
-------	-------------------------	-----

4.2.6	Ensayo Citómico de Micronúcleos por bloqueo de la Citocinesis (CBMN).....	140
4.2.7	Control Negativo .....	141
4.2.8	Control Positivo.....	141
4.2.9	Análisis Estadístico .....	142
4.3	Resultados y discusión .....	143
4.3.1	Ensayo Cometa.....	143
4.3.2	Ensayo Citómico de Micronúcleos.....	148
4.4	Conclusiones.....	156
4.5	Referencias .....	157
<b>CAPÍTULO 5 - CONCLUSIONES GENERALES .....</b>		<b>162</b>
<b>RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS.....</b>		<b>164</b>
<b>PRODUCCIÓN CIENTÍFICA.....</b>		<b>165</b>
<b>PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DENTRO DE LOS CUALES SE DESARROLLÓ LA TESIS .....</b>		<b>167</b>
<b>BECAS Y SUBSIDIOS CON LOS QUE SE FINANCIÓ LA TESIS .....</b>		<b>168</b>
<b>ANEXO I - RESULTADOS PRELIMINARES DE SOLIDIFICACIÓN.....</b>		<b>170</b>
<b>ANEXO II - ANÁLISIS TÉRMICO DIFERENCIAL.....</b>		<b>178</b>
<b>ANEXO III - CONSENTIMIENTO INFORMADO.....</b>		<b>180</b>
<b>ANEXO IV – CRITERIOS UTILIZADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS BINUCLEADAS, LOS MICRONÚCLEOS Y LOS TIPOS CELULARES REQUERIDOS PARA EL ANÁLISIS EN EL CBMN .....</b>		<b>186</b>



### Resumen

Los biomateriales se implantan con el objeto de reemplazar y/o restaurar tejidos vivos y sus funciones, lo que implica que estén expuestos de modo temporal o permanente a la acción de los fluidos del cuerpo. En la presente tesis, se abordan las relaciones existentes entre las propiedades estructurales y su interacción con el cuerpo humano, buscando mejorar su desempeño.

Las aleaciones utilizadas para estos fines, deben ser aceptadas por el cuerpo humano sin causar efectos adversos como alergia, inflamación o toxicidad. Por lo tanto, es importante que presenten adecuadas propiedades mecánicas, resistencia a la corrosión y biocompatibilidad.

En este trabajo se evaluaron distintos parámetros de solidificación, electroquímicos y biocompatibilidad de prótesis obtenidas mediante fundición por cera perdida. En la solidificación se analizaron los parámetros térmicos, tales como: velocidad de enfriamiento, gradiente térmico, tiempo de solidificación local y temperaturas de *solidus* y *liquidus*. Se examinaron las características metalográficas de la macro y microestructura resultante, la composición a nivel macro y microscópico y la microdureza. Además, se establecieron las relaciones entre los parámetros térmicos y metalográficos y se analizó la correlación entre los parámetros metalográficos y la microdureza. El análisis electroquímico mediante curvas de polarización y espectroscopía de impedancia electroquímica, realizados a diferentes condiciones de pH y temperatura, permitió determinar la resistencia a la corrosión. Por último, los efectos genotóxicos, citotóxicos y citostáticos se evaluaron mediante ensayo cometa y ensayo Citómico de Micronúcleos por bloqueo de la Citocinesis.

La región más fina de las prótesis metálicas mostró velocidades de enfriamiento y gradientes térmicos superiores comparada con la región más gruesa. Esto, promovió una estructura de grano refinada con una composición mayor de los aleantes Cr y Mo, lo que impulsó una mejora en las condiciones de resistencia a la corrosión, debido a que la película pasiva se forma con mayor velocidad producto del aumento en la fracción de bordes de grano. Sin embargo, el análisis genotóxico, citotóxico y citostático reveló que, tiene más importancia el tipo de ion que se libera frente a otros parámetros como los estructurales.

**Palabras Claves.** Corrosión, Solidificación, Genotoxicidad, Biomaterial.

### Abstract

Biomaterials are implanted to replace and / or restore living tissues and their functions, which implies that they are temporarily or permanently exposed to the action of body fluids. This thesis addresses the relationships between structural properties and their interaction with the body, seeking to improve their performance.

The alloys used for these purposes must be accepted by the human body without causing adverse effects such as allergy, inflammation or toxicity. Therefore, it is important that they have adequate mechanical properties, corrosion resistance and biocompatibility.

In this work, different solidification, electrochemical and biocompatibility parameters of prostheses obtained by lost wax casting, were evaluated. In the solidification, the thermal parameters were analyzed, such as: cooling rate, thermal gradient, local solidification time and solidus and liquidus temperatures. The metallographic characteristics of the resulting macro and microstructure, the composition at the macro and microscopic level and the micro hardness were also evaluated. Furthermore, the relationships between the thermal and metallographic parameters were established, and the correlation between the metallographic parameters and the microhardness were analyzed. Electrochemical analysis, using polarization curves and electrochemical impedance spectroscopy, carried out under different pH and temperature conditions, allowed to determine the corrosion resistance. Finally, the genotoxic, cytotoxic and cytostatic effects were evaluated by means of the comet assay and the Cytokinesis blockade of Micronucleus Cytomic assay.

The thinnest region of the metal prostheses showed higher cooling rates and thermal gradients compared to the thickest region. This promoted a refined grain structure with a higher composition of Cr and Mo alloys, which boosted the corrosion resistance conditions since it improved the passive film due to the increase in the fraction of grain edges. However, the genotoxic, cytotoxic and cytostatic analysis revealed that the type of ion released is more important than other parameters such as the structural ones.

**Keywords.** Corrosion, Solidification, Genotoxicity, Biomaterial.

## **Capítulo 1 - Introducción**

### **1.1 Antecedentes**

Los materiales metálicos presentan buenas propiedades mecánicas respecto a otros materiales como los polímeros y los cerámicos. Esto hace que sean los materiales más adecuados para ciertas aplicaciones estructurales, como las prótesis articulares, las placas de osteosíntesis, los tornillos de fijación e implantes dentales, entre otras. No todos los materiales metálicos son aceptados biológicamente por parte de los tejidos que están en contacto con ellos, y los estudios de biocompatibilidad son fundamentales para la selección de los que se pueden utilizar como biomateriales (1–10). Por otra parte, los materiales metálicos implantables, deben presentar una buena resistencia a la corrosión, ya que, si se produce la oxidación del metal por el ambiente hostil del cuerpo humano, además de que el implante se debilita, se produce una liberación de productos de corrosión a los tejidos circundantes que producen efectos no deseables.

El método de conformación de los implantes de los diferentes materiales juega un papel muy importante en las propiedades mecánicas de los materiales metálicos. Los procedentes de la solidificación (colados) son materiales con propiedades mecánicas inferiores a los forjados o conformados por deformación plástica. Sin embargo, podrían obtenerse implantes con geometrías complicadas y con ventajas económicas.

Hay que señalar que la obtención de implantes mediante solidificación no es aconsejable para el titanio y sus aleaciones, debido a que el titanio tiene una elevada afección por los elementos intersticiales (oxígeno, nitrógeno, carbono, hidrógeno) produciendo su incorporación un aumento muy brusco de la resistencia mecánica y un descenso muy importante en la ductilidad, adquiriéndose un comportamiento frágil. Por tanto, los tratamientos térmicos a los que puede ser sometido el material, como la sinterización de esferas sobre el substrato para las prótesis de recubrimiento poroso, deben realizarse en vacío, o bien, con atmósfera controlada de gas noble.

Otro método utilizado para la fabricación de implantes, especialmente de la aleación Cromo-Cobalto, es el pulvimetalúrgico (11–13). Está basado en la compactación y sinterización de pequeñas partículas de la aleación. La sinterización se puede realizar a una elevada presión

y temperatura con el fin de eliminar la porosidad. Con este método se obtienen piezas sin heterogeneidades en la composición química, microestructuras homogéneas y controladas y se evitan los rechupes (contracciones de volumen producidos en la solidificación).

Sin embargo, un análisis global de los actuales procesos de manufactura de piezas y componentes metálicos muestra que, con excepción de los artículos producidos por técnicas de metalurgia de polvo, todos los demás pasan por lo menos una vez por el proceso de solidificación. Con la fusión de los metales existe una disminución abrupta en la viscosidad, de tal forma que, esencialmente se puede acomodar el metal líquido en un molde de determinada geometría para proporcionar la forma final de una pieza. Esto hace que la fundición constituya la ruta más económica en la conformación de una pieza metálica, siempre que el punto de fusión no sea extremadamente elevado.

La estructura formada inmediatamente después de la solidificación determina las propiedades del producto final, no sólo para las piezas que ya tienen esencialmente la forma final, sino también para los productos que se desarrollarán para la producción de chapas, cables o que serán forjados. Aunque se cree que grandes defectos en la estructura de solidificación pueden ser eliminados durante la etapa de conformación plástica de lingotes, esto no ocurre exactamente de esa forma en la práctica. Las características mecánicas de este producto final dependerán de la macroestructura y la microestructura resultante (14,15).

La macroestructura de las piezas de fundición o bien de los lingotes, pueden presentarse en forma de granos completamente columnares o totalmente equiaxiales, dependiendo de la composición química de la aleación y de las condiciones de solidificación. No obstante, una forma estructural más compleja se compone de las dos zonas estructurales (columnar y equiaxial). Esa forma mixta de solidificación se produce cuando los granos equiaxiales son capaces de nuclear y crecer en el líquido adelante del frente de crecimiento columnar, causando la transición de estructura columnar a equiaxial (TCE). La predicción de esta transición es de gran interés en el diseño de las propiedades mecánicas de los productos fundidos.

La microestructura de solidificación se caracteriza principalmente por una gran variedad de granos policristalinos. Dentro de cada grano existe una red de ramificaciones dendríticas, caracterizada por bajas concentraciones de soluto en las ramificaciones propiamente dichas,

y elevadas concentraciones de soluto en los intersticios de las ramificaciones (para las aleaciones con un coeficiente de redistribución de soluto menor que la unidad). Si existiera la presencia de gases disueltos en el metal líquido, las regiones interdendríticas son especialmente adecuadas para atrapar las burbujas, principalmente debido a la contracción que se produce por la solidificación del líquido contenido entre los brazos dendríticos.

Es evidente que la interfase externa de esa red dendrítica, formada por el borde de grano, es también un área preferencial para la formación de porosidad y la precipitación de segundas fases o eutécticos. Las inclusiones no metálicas también se asocian con los límites de grano y las regiones interdendríticas. Además de estos obstáculos al deslizamiento durante la aplicación de esfuerzos mecánicos, están los límites de grano como factores adicionales (16–25). De acuerdo con la literatura, a medida que el tamaño de grano disminuye, hay una tendencia a un aumento de la resistencia mecánica. En particular, se puede citar la conocida ecuación de Hall-Petch, en la que la tensión de fluencia es proporcional a la inversa de la raíz cuadrada del diámetro del grano (26–28). La literatura también señala el efecto del espaciamiento dendrítico como factor de influencia, indicando que el grado de refinamiento del espaciamiento dendrítico puede ser aún más influyente sobre las propiedades mecánicas que el tamaño de grano (29–31).

Hasta la actualidad las aleaciones más ampliamente estudiadas como implantes metálicos son los aceros inoxidable austeníticos 316L (32–35), las aleaciones base cobalto (36–38) y las aleaciones base titanio (39–42).

Al aumentar la velocidad de enfriamiento durante el proceso de solidificación de aleaciones de CoCrMo, se produce una reducción del tamaño de granos y esto a su vez impacta en un aumento de la microdureza. (43). Como así también, con el aumento de la velocidad de enfriamiento el espaciamiento entre las dendritas disminuye (44)

En cuanto a la corrosión, las aleaciones de acero inoxidable son susceptibles a la corrosión localizada por iones de cloruro y compuestos de azufre reducidos. Como producto de ello, las fallas en los implantes se producen por diferentes mecanismos de corrosión (45). Por otro lado, en las aleaciones base de cobalto (Co) se aprecia una mejor resistencia a la corrosión dado que el Co también contribuye a la resistencia, como así también el cromo (Cr) (46). En

aleaciones de Co encontraron una mayor liberación de iones metálicos, por lo que aumenta la toxicidad (47).

En general, el acero inoxidable 316L muestra relativamente buena biocompatibilidad, pero a un nivel menos satisfactorio que CoCrMo y aleaciones de titanio, debido a las variaciones en la velocidad de corrosión (48). La evaluación *in vitro* mostró que la aleación CoCrMo es mucho menos tóxica que el cobalto o que el níquel puro debido a su excelente resistencia a la corrosión (49).

Sin embargo, resulta necesario la realización de un trabajo sistemático a fin de determinar la influencia de las variables térmicas de solidificación en las propiedades mecánicas, electroquímicas y de biocompatibilidad, y su correlación con los parámetros estructurales, enfocando el estudio en los aceros inoxidables. Los profesionales del Programa de Materiales y Fisicoquímica de Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones (PROMyF-FCEQyN-UNaM), en conjunto con profesionales que se desempeñan en el Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica (LEMIT-CIC), La Plata, decidieron desarrollar una línea de investigación en la búsqueda de estas dependencias.

### 1.2 Hipótesis

Existe relación entre los procesos de solidificación, el comportamiento electroquímico y la biocompatibilidad de las prótesis metálicas.

### 1.3 Objetivo General

Solidificar y determinar la relación entre los parámetros térmicos, mecánicos, electroquímicos y de biocompatibilidad de aceros inoxidables austeníticos y de aleaciones de cobalto y, además, correlacionar con los parámetros estructurales.

### 1.4 Objetivos específicos

- Analizar los parámetros térmicos mediante experiencias de solidificación con diferentes aceros inoxidables y aleaciones de cobalto.
- Determinar el grado de biocompatibilidad de estas aleaciones solidificadas.

- Observar la macro y la microestructura resultante, para el levantamiento de los perfiles de los tamaños de granos y los espaciamentos dendríticos.
- Determinar la resistencia a la corrosión (determinación de los parámetros electroquímicos) de las aleaciones solidificadas.
- Analizar la influencia de las características del electrolito (pH y Temperatura) y la micro y macroestructura en la resistencia a la corrosión.
- Establecer leyes empíricas correlacionando:
  1. Los espaciamentos dendríticos primarios y secundarios con los tiempos locales de solidificación para cada probeta de aleación en estudio.
  2. Los perfiles de microdureza, con los perfiles de los tamaños de granos y los espaciamentos dendríticos en las probetas.

## 1.5 Referencias

1. Asri RIM, Harun WSW, Samykano M, Lah NAC, Ghani SAC, Tarlochan F, et al. Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2017;77:1261–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.102>
2. Cui C. Biocompatibility and fabrication of in situ bioceramic coating/titanium alloy biocomposites. *Met Biomed Devices*. 2010;202–32.
3. Ghosh S, Sanghavi S, Sancheti P. Metallic biomaterial for bone support and replacement [Internet]. *Fundamental Biomaterials: Metals*. Elsevier Ltd; 2018. 139–165 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102205-4.00006-4>
4. Love B. Chapter 7 - Metallic biomaterials. *Biomater A Syst Approach to Eng Concepts*. 2017;159–84.
5. Manam NS, Harun WSW, Shri DNA, Ghani SAC, Kurniawan T, Ismail MH, et al. Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review. *J Alloys Compd* [Internet]. 2017;701:698–715. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.01.196>
6. Nakajima M, Shimizu T, Kanamori T, Tokaji K. Fatigue crack growth behaviour of metallic biomaterials in a physiological environment. *Fatigue Fract Eng Mater Struct*. 1998;21(1):35–45.
7. Nakano T. Mechanical properties of metallic biomaterials. *Met Biomed Devices*. 2010;71–98.
8. Niinomi M. Fatigue failure of metallic biomaterials [Internet]. 2nd ed. *Metals for Biomedical Devices*. Elsevier Ltd.; 2019. 153–188 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102666-3.00005-5>
9. Okazaki Y. Selection of metals for biomedical devices [Internet]. 2nd ed. *Metals for Biomedical Devices*. Elsevier Ltd.; 2019. 31–94 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102666-3.00002-X>
10. Black J. Orthopaedic Biomaterials in Research and Practice. In: *Biomaterials*. New York: Churchill Livingstone; 1988. p. 394.
11. Andani MT, Shayesteh Moghaddam N, Haberland C, Dean D, Miller MJ, Elahinia M. Metals for bone implants. Part 1. Powder metallurgy and implant rendering. *Acta Biomater* [Internet]. 2014;10(10):4058–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2014.06.025>
12. Lee PW, Trubel Y, Iacocca R, German RM, Ferguson B, Eisen WB, et al. Volume 7: Powder Metal Technologies and Applications. In: *ASM Metals Handbook*. First prin. ASM; 1998.
13. Chandrasekaran M. Forging of metals and alloys for biomedical applications [Internet]. 2nd ed. *Metals for Biomedical Devices*. Elsevier Ltd.; 2019. 293–310 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102666-3.00010-9>



14. Kurz W, Fisher DJ. Fundamentals of Solidification. Trans Tech Publ. 1984;(February 2004).
15. Chalmers B. Principles of solidification. New York: Wiley; 1964.
16. Southin RT. Nucleation of the Equiaxed Zone in Cast Metals. Trans Metall Soc Aime. 1967;239:220–5.
17. Morando R. The Development of Macrostructure in Ingots of Increasing Size. Metall Trans. 1970;1(May):1407–12.
18. Siqueira C a., Cheung N, Garcia a. Solidification thermal parameters affecting the columnar to equiaxed transition. Vol. 33, Metallurgical and Materials Transactions. 2002. p. 2107–17.
19. Siqueira CA, Cheung N, Garcia A. The columnar to equiaxed transition during solidification of Sn–Pb alloys. 2003;351:126–34.
20. Browne DJ. A New Equiaxed Solidification Predictor from a Model of Columnar Growth. ISIJ Int. 2005;45(1):37–44.
21. Hunt JD. Steady state columnar and equiaxed growth of dendrites and eutectic. Mater Sci Eng. 1984;65(1):75–83.
22. Gäumann M, Trivedi R, Kurz W. Nucleation ahead of the advancing interface in directional solidification. Mater Sci Eng A. 1997;226–228:763–9.
23. Zhu P, Smith RW. Dynamic simulation of crystal growth by Monte Carlo method—II. Ingot microstructures. Acta Metall Mater. 1992;40(12):3369–79.
24. Wang CY, Beckermann C. Equiaxed dendritic solidification with convection: Part I. multiscale/multiphase modeling. Metall Mater Trans A. 1996;27A:2754–83.
25. Beckermann W and. Part II. Numerical Simulations for an Al-4 Wt Pct Cu Alloy. Metall Mater Trans A. 1996;27(September):2765–83.
26. Ralston KD, Birbilis N, Davies CHJ. Revealing the relationship between grain size and corrosion rate of metals. Scr Mater [Internet]. 2010;63(12):1201–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scriptamat.2010.08.035>
27. Asaro RJ. Micromechanics of Crystals and Polycrystals. Vol. 23, Advances in Applied Mechanics. 1983. 1–115 p.
28. Hall EO. The deformation and ageing of mild steel: II Characteristics of the Lüders deformation. Proc Phys Soc Sect B. 1951;64(9):742–7.
29. Ares AE, Gassa LM, Schvezov CE, Rosenberger MR. Corrosion and wear resistance of hypoeutectic Zn-Al alloys as a function of structural features. Mater Chem Phys [Internet]. 2012;136(2–3):394–414. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2012.06.065>
30. Osório WR, Garcia A. Modeling dendritic structure and mechanical properties of Zn-Al alloys

- as a function of solidification conditions. *Mater Sci Eng A*. 2002;325(1–2):103–11.
31. Osório WR, Santos C a., Quaresma JM V, Garcia a. Mechanical properties as a function of thermal parameters and microstructure of Zn-Al castings. *J Mater Process Technol*. 2003;143–144(1):703–9.
  32. Dux KE. Implantable Materials Update. *Clin Podiatr Med Surg* [Internet]. 2019;36(4):535–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cpm.2019.06.001>
  33. Goriainov V, Cook R, Latham JM, Dunlop DG, Oreffo ROC. Bone and metal: An orthopaedic perspective on osseointegration of metals. *Acta Biomater* [Internet]. 2014;10(10):4043–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2014.06.004>
  34. Lo KH, Shek CH, Lai JKL. Recent developments in stainless steels. *Mater Sci Eng R Reports*. 2009;65(4–6):39–104.
  35. Talha M, Behera CK, Sinha OP. A review on nickel-free nitrogen containing austenitic stainless steels for biomedical applications. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2013;33(7):3563–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.06.002>
  36. Ivanova EP, Bazaka K, Crawford RJ. Metallic biomaterials: types and advanced applications. *New Funct Biomater Med Healthc*. 2014;121–47.
  37. Narushima T. New-generation metallic biomaterials [Internet]. 2nd ed. *Metals for Biomedical Devices*. Elsevier Ltd.; 2019. 495–521 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102666-3.00019-5>
  38. Wilson J. Metallic biomaterials [Internet]. *Fundamental Biomaterials: Metals*. Elsevier Ltd; 2018. 1–33 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-102205-4.00001-5>
  39. Long M, Rack HJ. Titanium alloys in total joint replacement—a materials science perspective. *Biomaterials*. 1998;19:1621–93.
  40. Shah FA, Trobos M, Thomsen P, Palmquist A. Commercially pure titanium (cp-Ti) versus titanium alloy (Ti6Al4V) materials as bone anchored implants - Is one truly better than the other? *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2016;62:960–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.01.032>
  41. Lütjering G. Influence of processing on microstructure and mechanical properties of ( $\alpha + \beta$ ) titanium alloys. *Mater Sci Eng A*. 1998;243(1–2):32–45.
  42. Abdel-Hady Gepreel M, Niinomi M. Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation. *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2013;20:407–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2012.11.014>
  43. Alvarez-Vera M, Hernández-Rodríguez A, Hernández-Rodríguez MAL, Juárez Hernández A, Benavides-Treviño JR, García-Duarte JH. Effect of cooling rate during solidification on the hard

- phases of M23C6-type of cast CoCrMo alloy. *Metalurgija*. 2016;55(3):382–4.
44. Ramírez-Vidaurre LE, Castro-Román M, Herrera-Trejo M, García-López C V., Almanza-Casas E. Cooling rate and carbon content effect on the fraction of secondary phases precipitate in as-cast microstructure of ASTM F75 alloy. *J Mater Process Technol*. 2009;209(4):1681–7.
  45. Ravichandran K, Sivakumar M, Sankara Narayanan TSN, Rajeswari S. Predicting the susceptibility of stainless steel materials to localized attack ? a new approach. *J Mater Sci Lett*. 1995;14(5):317–8.
  46. Dong H, Nagamatzu Y, Chen K-K, Tajima K, Kakigawa H, Shi S, et al. Corrosion Behavior of Dental Alloys in Various Types of Electrolyzed Water. *Dent Mater J*. 2003;22(4):482–93.
  47. Hiromoto S, Onodera E, Chiba A, Asami K, Hanawa T. Microstructure and corrosion behaviour in biological environments of the new forged low-Ni Co-Cr-Mo alloys. *Biomaterials*. 2005;26(24):4912–23.
  48. Chen Q, Thouas GA. Metallic implant biomaterials. *Mater Sci Eng R Reports* [Internet]. 2015;87:1–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mser.2014.10.001>
  49. Evans EJ, Thomas IT. The in vitro toxicity of cobalt-chrome-molybdenum alloy and its constituent metals. *Biomaterials*. 1986;7(1):25–9.

## Capítulo 2 – Solidificación de prótesis metálicas

### 2.1 Marco teórico

#### 2.1.1 Mecanismos de formación de cristales

Los metales solidificados (piezas moldeadas, lingotes, aleaciones coladas de manera continua, materiales solidificados direccionalmente, soldaduras, etc.) consisten en estructuras de granos, en una o en varias fases, formados durante la solidificación por uno o más de los diversos tipos de transformación de fase que puede ocurrir en el enfriamiento. Después de verter el material fundido al molde el gradiente de temperatura de las paredes disminuye, los núcleos que cristalizaron y sobreviven a la zona chill, continúan creciendo dendríticamente preferentemente en una dirección normal a la isoterma liquidus en el sistema de solidificación, es decir, se alargan en una dimensión paralela a la dirección del flujo de calor y se denominan estructura de granos columnares. Por otro lado, los núcleos pueden crecer de forma similar en todas las direcciones en suspensión en un líquido subenfriado y son denominadas estructura de granos equiaxiales. Con frecuencia se puede observar que el crecimiento de los granos columnares termina con la aparición de una zona equiaxial. La zona donde las estructuras de grano columnar y equiaxial coexisten con frecuencia se la denomina zona de transición de estructura columnar a equiaxial “TCE”(1). En la Figura 2.1 se puede observar las diferentes estructuras de solidificación.

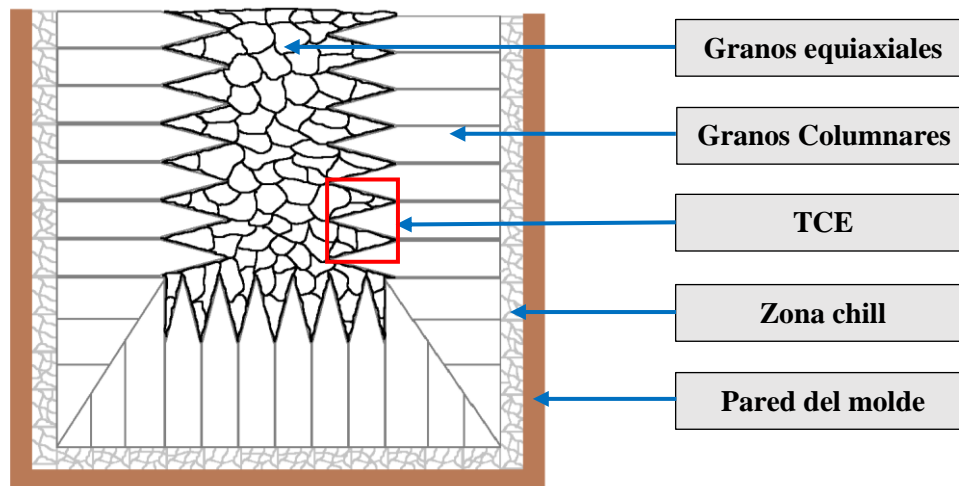


Figura 2.1 - Estructuras de solidificación en un lingote.

Los mecanismos propuestos difieren según cómo, dónde y cuándo se cree que los granos equiaxiales se originan durante la solidificación.

### 2.1.1.1 Hipótesis sobre el subenfriamiento constitucional

Esta hipótesis propuesta por *Winegar* y *Chalmers* (2), supone que en la región donde se encuentra la interface de avance sólido-líquido el líquido se enriquece en soluto. Dicho líquido, en la proximidad de la interface, puede tener una temperatura menor que la temperatura de equilibrio entre el sólido y el líquido para cualquier líquido restante. La transferencia de calor por conducción a través de la interface desde el líquido restante puede enfriarlo por debajo de la temperatura de equilibrio, como puede verse en la Figura 2.2. Esto conlleva a que el subenfriamiento constitucional sea superior a un valor crítico y que, por lo tanto, se produce la nucleación de los granos equiaxiales.

Para que exista crecimiento dendrítico el subenfriamiento, definido como la diferencia entre la temperatura de equilibrio líquido/sólido y la temperatura actual del líquido, debe ser positivo. Esto no se observa cuando trabajamos con materiales puros, ya que la única forma de mantener un subenfriamiento positivo es a través de la transferencia de calor de la fase líquida, por lo que no se aprecia crecimiento dendrítico en ellos.

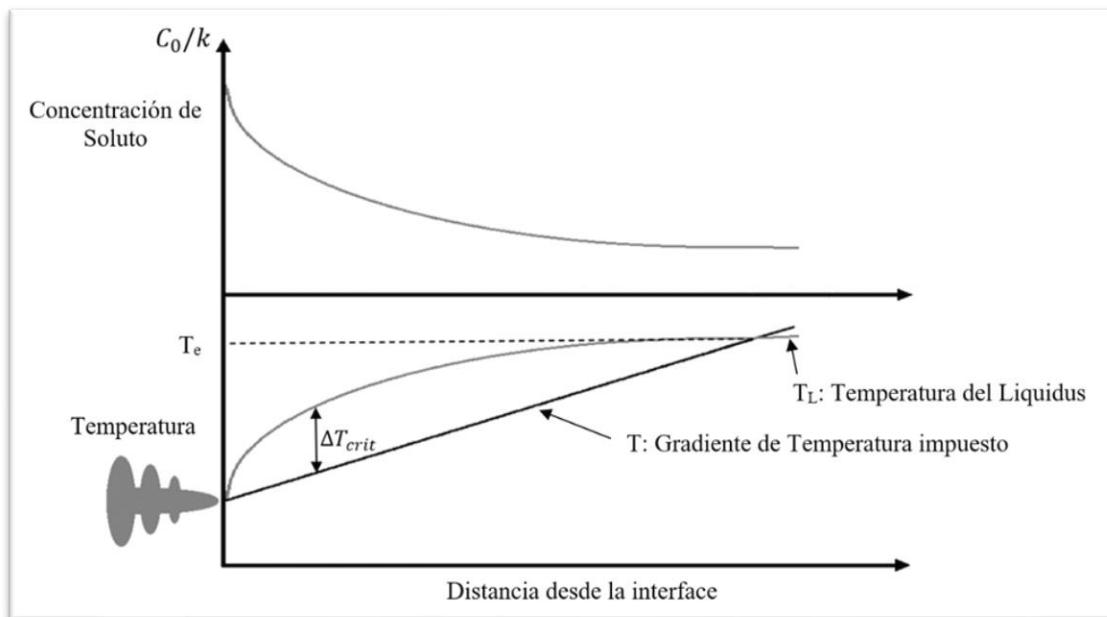


Figura 2.2 - Diagrama de interface de avance sólido-líquido.

### 2.1.1.2 Hipótesis del big bang o cristal de enfriamiento libre

Esta teoría desarrollada por *Chalmers* (3), afirma que al verter un material fundido en un molde, los granos equiaxiales nuclean en las paredes del molde “zona chill” durante el enfriamiento rápido. Los núcleos que no se adhieren a la pared son barridos, hacia el interior de la fundición, por el flujo de fluidos que se produce al derramar el metal caliente, algunos de estos núcleos son refundidos en el líquido y otros sobreviven. Aquellos que superan la refusión crecen en la masa fundida y rechazan el soluto. De este modo, forman una pequeña región de líquido sobreenfriado constitucionalmente. Esta región sobreenfriada protege algunos de los cristales previamente nucleados, que se extienden aún más en el líquido para temperaturas de vertido más bajas y mayores contenidos de soluto. Los cristales que sobreviven al sobrecalentamiento se llevan al centro de la fundición mediante turbulencia y convección. El crecimiento de estos cristales continúa de manera equiaxial hasta el choque y su presencia inhibe el crecimiento adicional de la zona columnar (4,5).

De esta manera se puede explicar, al menos de una manera sencilla, la variación en la macroestructura observada con la temperatura de vertido. Al trabajar con temperaturas de vertido mayores se produce una disminución en la región térmicamente subenfriada y se prolonga el tiempo durante el cual el molde absorbe el sobrecalentamiento. Como consecuencia de ello se producirán menos cristales y la cantidad que sobrevivan será menor. Por otro lado, si la turbulencia aumenta en consecuencia genera una disminución en el tamaño de grano y un incremento en la zona equiaxial.

Posteriormente *Biloni* y *Chalmers* (6), propusieron que la teoría de cristal de enfriamiento libre era válida siempre y cuando la velocidad de extracción de calor sea alta y la temperatura a la cual es vertido el material fundido sea baja.

### 2.1.1.3 Refusión de los brazos dendríticos

La teoría formulada por *Jackson et. al.* se ha convertido en una de las teorías más aceptadas para la formación de la zona equiaxial.

A partir de observaciones del crecimiento de los brazos secundarios de las dendritas, en experimentos de fundición con aleaciones de Ni-Cu y análogos orgánicos transparentes, propuso que crecían con una forma de cuello, producto de la acumulación de soluto cerca de

la base de esta. La difusión de soluto en el líquido a granel se encuentra restringida en la base por el brazo primario sólido, y el líquido en esta región ya se encuentra enriquecido en soluto por el crecimiento de este brazo. En dicha región, se observa un cambio en la temperatura de solidificación del equilibrio local, el soluto que se acumula limita el crecimiento en la base del brazo secundario, y en la punta el crecimiento se produce de una manera casi perfecta debido a que la difusión en esta región es casi ilimitada. Luego ocurre un desprendimiento de fragmentos de cristal al líquido a granel causado por el flujo de fluidos, como se muestra en la Figura 2.3.

*Jackson et. al.* (7), han propuesto que la principal fuente de brazos desprendidos en piezas fundidas es la fusión a través de la interacción entre dos flujos de difusión: calor y composición. El crecimiento de la punta del brazo puede liberar suficiente calor para fundir el vástago o la región del cuello, el cual se encuentra con una pureza más baja y por lo tanto un punto de fusión inferior. El calor generado por el crecimiento del brazo primario en un líquido relativamente puro también puede contribuir a la fusión.

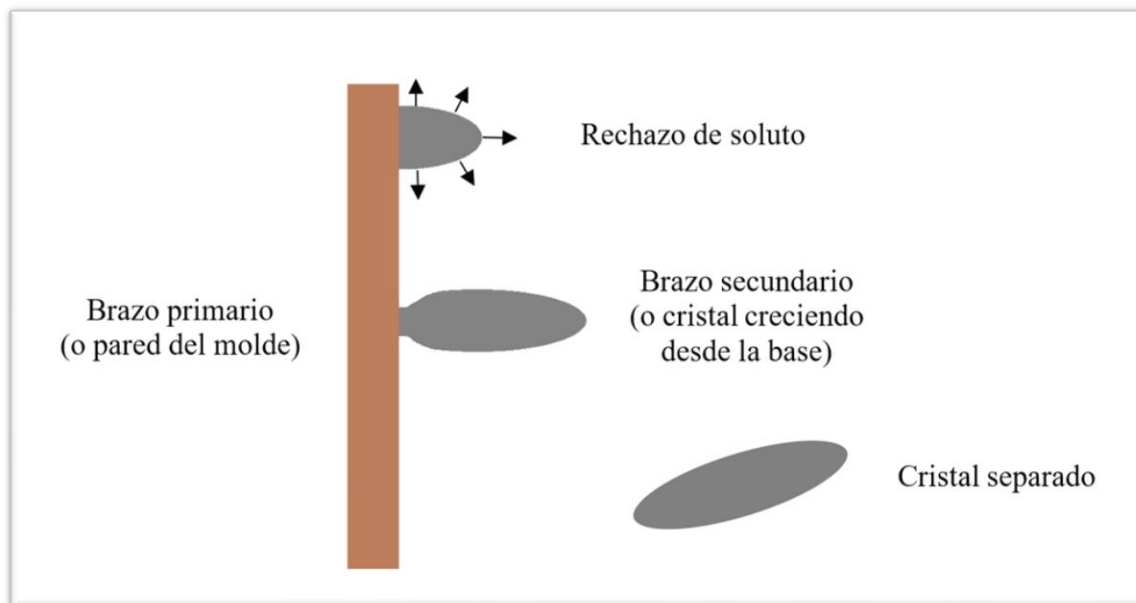


Figura 2.3 - refusión de brazos dendríticos.

La refundición de los brazos dendríticos puede ocurrir por recalentamiento del sistema completo o por la recalentamiento local, producida por el sólido más puro que crece lentamente a una

temperatura más alta y por fluctuaciones causadas por la mezcla, debida al efecto de la convección o la agitación; es decir que, los brazos dendríticos son arrastrados al centro del líquido fundido por convección y flotabilidad, donde pueden crecer. Además, los brazos dendríticos que crecen en el centro de la fundición deben estar subenfriados constitucionalmente.

El mecanismo de energía superficial de refusión fue investigado por *Paradies et. al.* (8,9), aplicando el concepto de maduración de *Oswald*, por el cual el transporte de masa se produce entre dos cristales esféricos de diferente tamaño que se encuentran próximos. El subenfriamiento requerido para la solidificación adicional es inversamente proporcional a la curvatura del cristal. La transferencia de calor tiene lugar entre los dos, con el cristal más grande creciendo a expensas del más pequeño. Si consideramos ahora que el cuello y la cabeza de un brazo de dendrita se comportan como dos cristales esféricos, existe efectivamente una transferencia de sólido entre los dos, impulsada por una reducción de la energía libre.

#### 2.1.1.4 Lluvia de partículas de dendrita

*Southin* (10) sugirió, que la zona del lingote que se encuentra expuesto a la atmosfera forma una capa dendrítica gruesa en la superficie. Los granos dendríticos que nuclean en esta región son independientes del sólido nucleado en las paredes del molde. En algún momento, las dendritas o los fragmentos de dendrita se desprenden de esta capa, por algún mecanismo que no es claro, pero *Southin* sugirió que el peso de un cristal que crece desde la superficie podría ser suficiente para superar las fuerzas de tensión superficial que lo sujetan a la capa dendrítica de la superficie, por lo tanto, decantarán en el líquido hasta que se encuentren con los granos columnares que crece en las paredes del molde. Luego, la transferencia de calor en esas condiciones se produce en la dirección de extracción de calor hacia la pared del molde, al igual que en la zona columnar. El crecimiento de esa dendrita continuará hasta encontrarse con otra dendrita que ha caído desde el líquido. De esta manera observó que, los granos en la zona equiaxial tienen forma de cometa, con una cabeza dendrítica gruesa de la capa superficial y una cola que crece en contacto con la zona columnar circundante. Esta teoría no requiere del subenfriamiento constitucional en el líquido, debido a que los granos pueden crecer al entrar en contacto con el material sólido a través del cual se transferirá rápidamente



el calor. Esto sucederá cuando el crecimiento de la cola que queda en el líquido no es obstaculizado por el contacto con otra dendrita.

Si se produce un aumento en el número de fragmentos que decantan desde la superficie, esto reducirá el tiempo y el espacio para el crecimiento de la cola del cometa y una correspondiente reducción en el tamaño de los granos. De esta manera, si se trabaja con un sobrecalentamiento del material fundido que es vertido en el molde, se producirá un aumento en el tamaño de los granos equiaxiales, ya que a mayor temperatura se reduce el número de dendritas que caen desde la superficie en la parte superior del molde.

### 2.1.1.5 Teoría de la separación

Esta teoría propuesta por *Ohno et al.* (11), supone que los granos que comprenden la zona equiaxial se originan en las etapas tempranas de la solidificación. Mediante microscopía óptica observaron directamente el inicio de la solidificación en la pared del molde en experiencias de solidificación unidireccional en sistemas de aleaciones de Sn-Bi, Bi-Sn, Sn-Pb y Pb-Sn en tubos horizontales de vidrio borosilicatado transparente. Observaron que en presencia de soluto los cristales crecían en forma granular unidos a la pared a través de cuellos estrechos. Luego los cristales se desprendían de la pared del molde, debido a la fusión de los cuellos causada por el flujo de fluido generado por la convección térmica, y se movían hacia el extremo caliente del líquido. Estos cristales posteriormente actuaban como núcleos para la formación de los granos en la zona equiaxial.

El autor *Ohno* afirma que a mayor subenfriamiento se formaron dendritas con brazos secundarios de cuello que posteriormente se rompen debido a la recalcancia, es decir, la fusión del brazo de dendrita, formando una estructura equiaxial muy fina.

### 2.1.1.6 Sobreenfriamiento en la punta de la dendrita

*Hunt* (12), encontró que la región al frente del crecimiento dendrítico no poseía una capa muy extensa enriquecida en soluto (suele ser del orden del radio de la punta de la dendrita), ya que la mayoría del soluto expulsado es empujado hacia los costados entre las dendritas, por lo que el espesor la capa de soluto en la punta de esta disminuye.

Sin embargo, la punta de dendrita crece a una temperatura muy por debajo de la temperatura de equilibrio para la aleación en general, de modo que existe un líquido ampliamente subenfriado que se extiende hasta las puntas de dendrita.

Entonces, basado en el concepto del subenfriamiento constitucional; es decir en que los cristales equiaxiales crecen en un líquido subenfriado, *Hunt* utilizó una teoría de nucleación (heterogénea) y crecimiento para describir el fenómeno del crecimiento equiaxial en estado estacionario.

El calor latente evoluciona rápidamente cerca de las puntas de dendrita subenfriadas y se representa como una discontinuidad en la entalpía en el frente, mientras que el semisólido detrás de las puntas se modela como una zona *mushy*. Se supone que la fracción líquida en la masa semisólida está relacionada con la temperatura mediante la ecuación de *Scheil* (13–15), truncada en un subenfriamiento que está determinado por el flujo de calor en la punta (16). La velocidad de una punta de dendrita se rige por una relación de velocidad parabólica y subenfriamiento. El calor latente se libera detrás de las puntas de dendrita a medida que las dendritas van entrando en a zona pastosa cuando disminuye la temperatura.

### **2.1.2 Redistribución del soluto**

Para una aleación o metal impuro, las composiciones entre las fases sólida y líquida generalmente serán diferentes, por lo tanto, la solidificación también requerirá el transporte de elementos de aleación. En ausencia de convección, las ecuaciones 2.1 y 2.2 son las que rigen en la difusión de calor y soluto y se pueden escribir como:

$$\frac{\partial T_i}{\partial t} = \alpha_i \nabla^2 T_i \quad (2.1)$$

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = D_i \nabla^2 C_i \quad (2.2)$$

donde  $i$  representa la fase sólida (S) o líquida (L),  $C_i$  es la concentración de soluto en la fase  $i$ ,  $T_i$  es la temperatura en la fase  $i$ ,  $D_i$  es el coeficiente de difusión del soluto,  $\alpha_i$  es el coeficiente de difusión térmica, y  $t$  representa el tiempo. En la interfaz entre el sólido y líquido, ambas fases se mantienen a la temperatura de la interfaz como se muestra en la ecuación 2.3.

$$T_S^I = T_L^I = T_I \quad (2.3)$$

donde  $T_I$  es la temperatura en la interface sólido / líquido (S / L) y el superíndice I denota el valor en la interfaz. Las composiciones de las dos fases están relacionadas según la ecuación 2.4:

$$C_S^I = kC_L^I \quad (2.4)$$

donde k es el coeficiente de distribución definido por la parte del diagrama de fases que se muestra en la Figura 2.4.

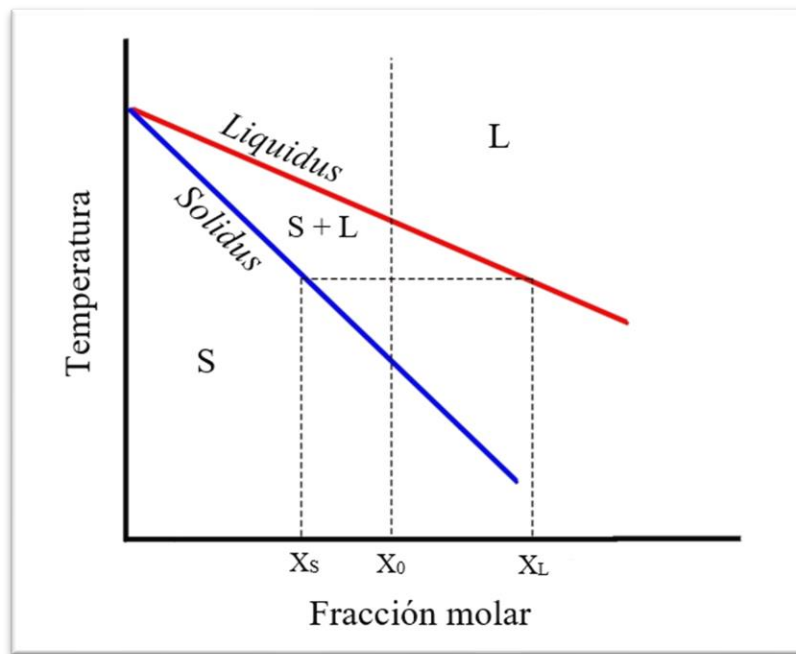


Figura 2.4 – Diagrama de fases general para una aleación binaria durante la solidificación en equilibrio para  $k < 1$ .

La redistribución de los solutos en el proceso de solidificación de aleaciones es un problema vital que determina las morfologías del crecimiento y la distribución de fases, así como la segregación. Describir el comportamiento del crecimiento de la interface sea estable o inestable, es bastante más complejo debido a la redistribución del soluto que ocurre durante la solidificación, producto de la segregación tanto en la microescala como en la macroescala, lo que causa una variación de la temperatura de equilibrio en la interface.

Cada uno de los casos de redistribución de soluto se analiza considerando un sistema geométrico muy simple, en el que se consideran los siguientes aspectos (17):

- La interface es plana y se mueve a velocidad constante  $V'$ .
- La composición es uniforme a través de cualquier sección transversal.
- El transporte de soluto es paralelo a la dirección del movimiento de la interface, esto indica que el flujo de calor “ $q$ ” y la difusión de soluto son uniaxiales.

2.1.2.1 *Partición de soluto y la relación de partición en el proceso de solidificación*

La relación de partición de soluto  $k$ , es uno de los parámetros más importante para la redistribución de solutos en el proceso de solidificación. El mismo se puede analizar en tres niveles diferentes, es decir, la partición en equilibrio  $k_0$  para la solidificación en condiciones de equilibrio, la relación de partición eficiente  $k_e$  para la solidificación en condiciones cercana al equilibrio y la partición real  $k_a$  para la solidificación en condiciones donde no hay equilibrio. Las tres situaciones diferentes se muestran en la Figura 2.5.

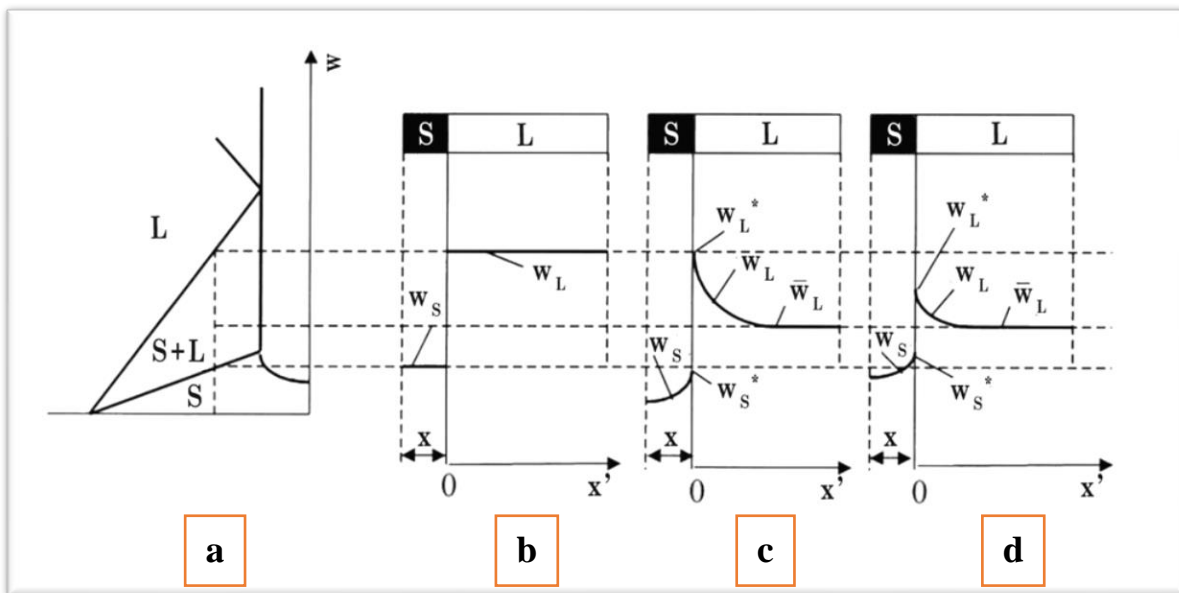


Figura 2.5. Redistribución de soluto en la interface Sólido/Líquido. a) Diagrama de fase; b) Distribución en equilibrio; c) Distribución cerca del equilibrio; d) Distribución de no equilibrio.

2.1.2.2 *La solidificación de equilibrio*

la redistribución del soluto cerca de la interfaz de crecimiento en el proceso de equilibrio de una aleación binaria se muestra en la Figura 2.5 (b). La relación de partición de equilibrio puede ser determinado por las condiciones de equilibrio termodinámico como se expresa en la ecuación 2.5.

$$k_0 = \frac{w_S}{w_L} = \frac{f_L}{f_S} \exp\left(\frac{\mu_0^L(T) - \mu_0^S(T)}{RT}\right) \quad (2.5)$$

Donde R es la constante de los gases, w el contenido de soluto,  $\mu_0^L(T)$  el potencial químico estandar y f el coeficiente de actividad. Los subíndices L y S son para el líquido y el sólido respectivamente. Los valores de  $k_0$  no son constantes, cambia con la composición química y la temperatura, además otros factores pueden influir en su valor, como la curvatura de la interface, presión, etc. (18).

### 2.1.2.3 La solidificación cerca del equilibrio

La difusión de soluto no es suficiente en el líquido y el sólido cerca del equilibrio, pero en la interface de crecimiento la partición de soluto está en equilibrio. Podemos utilizar la proporción de partición eficiente, que se muestra en la ecuación 2.6, para el proceso de solidificación cercano al equilibrio:

$$k_e = \frac{w_S^*}{w_L} \quad (2.6)$$

La constante  $k_e$  depende del reparto en el equilibrio  $k_0$  y de la difusión del soluto, *Borton et al.* (19) Propusieron el modelo matemático que se expresa en la ecuación 2.7.

$$k_e = \frac{k_0}{k_0 + (1 - k_0) \exp(-\mu/D_L \delta)} \quad (2.7)$$

Donde  $D_L$  es el coeficiente de difusión,  $\mu$  la velocidad de crecimiento y  $\delta$  es el espesor de la capa límite de soluto determinado por las condiciones de transporte de soluto, como así también de la convección, etc. Cuando  $D_L \rightarrow \infty$ ,  $\mu \rightarrow 0$  entonces  $k_e \rightarrow k_0$

### 2.1.2.4 La solidificación de no equilibrio

La partición real del soluto se relaciona con el proceso de solidificación de no equilibrio  $k_a$  definida en la ecuación 2.8.

$$k_a = \frac{w_S^*}{w_L^*} \quad (2.8)$$

*Backer* (20), *Jackson* (21) y *Aziz* (22) lo han determinado mediante análisis dinámico. El modelo más popular es el modelo de *Aziz* según la ecuación 2.9 para crecimiento gradual:

$$k_a = k_0 + (1 - k_0) \exp\left(-\frac{1}{b}\right) \quad (2.9)$$

Y para crecimiento continuo la ecuación 2.10

$$k_a = \frac{b+k_0}{b+1} \quad (2.10)$$

Donde  $b = \frac{\mu\lambda}{D_i}$  depende del coeficiente de difusión  $D_i$  en la interface se crecimiento, puede ser aproximado al del líquido,  $\mu$  la velocidad de crecimiento y  $\lambda$  es el espacio atómico.

Entonces  $k_a \rightarrow 1$  cuando  $\mu \rightarrow \infty$  y  $k_a \rightarrow k_0$  cuando  $\mu \rightarrow 0$ .

### 2.1.2.5 Solidificación direccional con interface planar

La redistribución de soluto para la solidificación direccional con interface plana ofrece una base conceptual para los demás procesos complicados. Si despreciamos la difusión del soluto en el sólido, la distribución del soluto a lo largo de la longitud de crecimiento será según la ecuación 2.11.

$$w_S = k_0 w_L(x, x')_{x'=0} = k_0 w_L^* \quad (2.11)$$

donde se muestra  $x$  y  $x'$  en la Fig. 2.5. El problema principal es todavía determinar  $w_L(x, x')$  Para un proceso con una mezcla completa en el líquido, se puede usar el siguiente modelo *Pfann* (23) que se muestra en la ecuación 2.12.

$$w_S = k w_0 \left(1 - \frac{x}{L}\right)^{-(1-k)} \quad (2.12)$$

Para un proceso con difusión controlada, la distribución de soluto en la muestra se divide en tres secciones; transitoria inicial, estable y transitoria final.

#### a) Sección transitoria inicial

Es la región de alta concentración de solutos que se acumula adyacente a la interface durante la primera parte de la solidificación y el aumento transitorio resultante de la concentración al valor de estado estable, en el sólido producido.

i) Modelo de *Smith* (24), ecuación 2.13.

$$w_S = \frac{w_0}{2} \left\{ 1 + \operatorname{erf} \left[ \frac{1}{2} \left( 1 - \frac{\mu x}{D_L} \right)^{1/2} \right] + (2k - 1) \exp \left[ -k(1 - k) \frac{\mu x}{D_L} \right] \operatorname{erfc} \frac{2k-1}{2} \left( \frac{\mu x}{D_L} \right)^{1/2} \right\} \quad (2.13)$$

Donde  $\operatorname{erf}()$  es la función error y  $\operatorname{erfc}()$  es la anti función error.

ii) Modelo de *Tiller* (25), ecuación 2.14.

$$w_S = w_0 \left[ 1 - (1 - k) \exp \left( -\frac{\mu k}{D_L} x \right) \right] \quad (2.14)$$

iii) Modelo de *Pohl* (26), ecuación 2.15.

$$w_S = kW_L \Big|_{x'=0} = kW_0 \left[ 1 + \frac{1-k}{k} \left( 1 - \exp \left( -(1 - k) \frac{\mu k}{D_L} x \right) \right) \right] \quad (2.15)$$

**b) Sección estable**

En esta sección  $w_S \cong w_0$  y es la zona del líquido frente a la interface de crecimiento, lo importante es determinar la distribución de soluto que es aquella que define el subenfriamiento constitucional, tal como lo resolvieran *Tiller et al.* (25).

**c) Sección transitoria final**

Estos modelos fueron presentados por *Kurz y Fisher* (27) y *Smith et. al.* (24). Ambos modelos requieren una distribución de soluto en estado estable en el líquido, delante de la interface Sólido/Líquido, antes de que alcance la sección final. El soluto debe aparecer en la última parte para solidificar, lo que produce un aumento transitorio en la concentración.

*2.1.2.6 Redistribución de solutos durante la solidificación dendrítica y la microsegregación*

En la solidificación dendrítica un fenómeno que se observa comúnmente es la segregación a microescala, que habitualmente es considerada un defecto de solidificación. Los siguientes parámetros se pueden utilizar para la evaluación de la microsegregación (28,29).

Relación de segregación  $q$ , ecuación 2.16.

$$q = \frac{w_{max}}{w_{min}} \quad (2.16)$$

donde  $w_{max}$  y  $w_{min}$  son los valores máximos y mínimos de las concentraciones de soluto en la microestructura, respectivamente.

Relación de segregación  $\eta$ , ecuación 2.17.

$$\eta = \frac{w-w_0}{w_0} \quad (2.17)$$

donde  $w$  es la concentración de soluto en la posición especificada, y  $w_0$  es la concentración promedio de soluto en la aleación.

Las fracciones volumétricas de no equilibrio eutéctico  $\varphi_E$  o las segundas fases  $\varphi_{II}$ , ecuación 2.18 y 2.19.

$$\varphi_E = \frac{V_E}{V} \quad (2.18)$$

$$\varphi_{II} = \frac{V_{II}}{V} \quad (2.19)$$

donde  $V$  es el volumen total de la aleación,  $V_E$  es el volumen de la fase eutéctica y  $V_{II}$  es el de la segunda fase.

Para descripción de la microsegregación es necesario determinar la relación entre la concentración de solutos en la interfaz de crecimiento  $w_S^*$  y la fracción sólida  $\phi_S$ . En el proceso de solidificación dendrítica, la difusión de soluto en el líquido suele ser considerablemente alta como para asumir que,  $w_L \cong w_L^*$ . Por lo tanto,  $w_S^*$  está determinado por  $w_L$ . El problema es la determinación de la función  $w_L - \phi_S$ . La difusión absoluta en el sólido generalmente se ignora en el modelo convencional. Sin embargo, esto realmente depende del valor del siguiente parámetro de difusión, ecuación 2.20.

$$a = D \frac{\tau}{L^2} \quad (2.20)$$

donde  $D$  es el coeficiente de difusión,  $\tau$  es el tiempo de difusión y  $L$  es la distancia de difusión. Si  $a \gg 1$ ; se supone que la difusión es lo suficientemente alta y el modelo de equilibrio se puede utilizar para describir la distribución de solutos, en la ecuación 2.21.

$$w_S = kw_L \frac{kw_0}{1-(1-k)\phi_S} \quad (2.21)$$

En cambio, si  $a \ll 1$ ; se puede ignorar la difusión y utilizar la ecuación 2.22 de Scheil, es decir:

$$w_S \cong kw_0(1 - \phi_S)^{-(1-k)} \quad (2.22)$$



Los modelos revisados por *Clyne y Kurz* (30) descuidaron la difusión en el sólido. Por lo que, el autor *Wanqi Jie* (31) sugiere un método para la evaluación de la difusión del soluto en el sólido, y las funciones de redistribución de soluto de  $w_L - \phi_S$  se dedujeron para diferentes procesos de crecimiento (32) con las consideraciones de las morfologías de crecimiento y las velocidad de crecimiento. Un proceso de crecimiento lineal, es decir,  $\frac{d\phi_S}{d\tau} = K$ ; es para el proceso de crecimiento Bridgman y crecimiento parabólico, es decir  $\frac{d\phi_S}{d\tau} = K\tau^{-1/2}$ , es para el proceso de fundición normal.

a) Dendritas tipo placa, velocidad de crecimiento lineal, ecuación 2.23.

$$\phi_S = \left(1 + \frac{ak}{1-\beta^2}\right) \left[1 - \left(\frac{w_L}{w_0}\right)^{\frac{(1-\beta^2)}{(1-k)}}\right] \quad (2.23)$$

b) Dendritas tipo placa, velocidad de crecimiento parabólico, ecuación 2.24.

$$\phi_S = \frac{1}{1 + \frac{2ak}{1-\beta^2}} \left[1 - \left(\frac{w_L}{w_0}\right)^{\frac{(1-\beta^2)}{(1-k)}\left(1 - \frac{2ak}{1-\beta^2}\right)}\right] \quad (2.24)$$

c) Dendritas tipo aguja, velocidad de crecimiento lineal, ecuación 2.25.

$$\phi_S = \frac{1}{1 + \frac{\pi ak}{1-\beta^2}} \left[1 - \left(\frac{w_L}{w_0}\right)^{\frac{(1-\beta^2)}{(1-k)}\left(1 - \frac{\pi ak}{1-\beta^2}\right)}\right] \quad (2.25)$$

d) Dendritas tipo aguja, velocidad de crecimiento parabólico, ecuación 2.26.

$$\phi_S = \frac{B_1 \left[1 - \left(\frac{w_L}{w_0}\right)^{A\sqrt{B^2-2B}}\right]}{1 + \left(\frac{B_1}{B_2}\right)\left(\frac{w_L}{w_0}\right)^{A\sqrt{B^2-2B}}} \quad (2.26)$$

Donde  $A = \frac{2\pi ak}{1-k}$ ,  $B = \frac{1-\beta^2}{2\pi ak}$ ,  $B_1 = B - \sqrt{B^2 - 2B}$ ,  $B_2 = B + \sqrt{B^2 - 2B}$ ,  $a = D_S \frac{\tau_f}{L^2}$ ,  $\beta$  la tasa de contracción,  $D_S$  el coeficiente de difusión en el sólido,  $\tau_f$  el tiempo local de solidificación y  $L$  es el espacio de media dendrita.

### 2.1.2.7 Macrosegregación y el parámetro de control

La formación de macrosegregación depende principalmente del flujo de líquido en la zona pastosa, así como de la partición de solutos en la interface y la difusión en el líquido y el sólido. El flujo de líquido puede ser promovido por la contracción de solidificación y la convección natural causada por la diferencia de densidades del líquido debido a la concentración y temperatura no homogéneas del soluto. La convección natural en la zona pastosa puede ser descrita por la ley de Darcy (33–40). Un parámetro de control B para la macrosegregación fue presentada por *W. Jie* (41), en la ecuación 2.27.

$$B = \frac{d\rho_L}{dT_L} = \frac{\partial\rho_L}{\partial T_L} + \frac{1}{m} \frac{\partial\rho_L}{\partial w_L} \quad (2.27)$$

Donde  $T_L$  es una función de  $\varphi_S$ , el parámetro B puede ser substituido por  $B' = \frac{d\rho_L}{d\varphi_L}$ . Cuando  $B < 0$  o  $B' < 0$ , el líquido en la zona pastosa fluirá hacia arriba y se formará una segregación positiva en la parte superior del molde para los elementos con  $k_0 < 1$ . De lo contrario, cuando  $B > 0$  o  $B' > 0$ , el líquido en la zona blanda descenderá y se formará una segregación positiva en la parte inferior de la colada. El flujo líquido en la zona pastosa también es la razón de la formación del canal de segregación. Si  $B \rightarrow 0$  o  $B' \rightarrow 0$ , la convección natural en la zona pastosa eliminará la macrosegregación.

El autor estudió la macrosegregación en lingotes de acero según los siguientes supuestos:

- a) Se alcanza el equilibrio local de la partición de soluto en la interface de crecimiento y esta relación puede aproximarse a la de la aleación binaria Fe-x.
- b) La variación de la fracción sólida con la temperatura puede describirse con la de la aleación binaria Fe-C.
- c) La difusión en el líquido interdendrítico es suficiente para todos los elementos.
- d) Los elementos que presentan una difusión suficiente en el sólido (denominados elementos i), para ellos se utilizará la ecuación de equilibrio para la redistribución de solutos, y para aquellos elementos con difusión despreciable en el sólido, (denominados j). Se puede utilizar la ecuación de *Scheil*.

Basados en estos supuestos se obtuvo la ecuación 2.28.

$$\frac{d\rho_L}{d\varphi_L} = \frac{\partial\rho_L}{\partial T} \frac{\partial T}{\partial\varphi_L} + \sum_i \frac{\partial\rho_L}{\partial w_{Li}} \frac{\partial w_{Li}}{\partial\varphi_L} + \sum_j \frac{\partial\rho_L}{\partial w_{Lj}} \frac{\partial w_{Lj}}{\partial\varphi_L} \quad (2.28)$$

Donde  $w_{Li}$  y  $w_{Lj}$  son las concentraciones de los elementos  $i$  y  $j$ .

### ***2.1.3 Fundición por cera perdida***

Es un proceso ampliamente utilizado durante siglos. Conocido por su capacidad para producir piezas con geometría compleja, con dimensiones precisas y un excelente acabado superficial. La técnica cuenta con principios básicos, de gran simplicidad y eficiencia en el proceso de fundición. Además, en las últimas décadas ha seguido expandiéndose no solo debido a las ventajas que ofrece en el proceso de fundición, sino también en la fabricación de una variedad de productos (42). Se utiliza para fabricar piezas que van desde ruedas de turbocompresor hasta cabezas de palos de golf, desde cajas electrónicas hasta implantes de reemplazo de cadera, como los que veremos en el desarrollo de esta tesis, también ingeniería general hasta ingeniería aeroespacial (43).

En el proceso de fundición por cera perdida, se produce un modelo generalmente utilizando una mezcla de ceras que se inyectan en una matriz metálica, una vez frío se quita de la matriz. El modelo se ensambla en un corredor de cera, donde posteriormente se va a alimentar con el material fundido. El conjunto completo, comprendido por una serie de modelos individuales, además de la copa de vertido del molde, los corredores, elevadores y entradas se denomina “árbol”. Una vez ensambladas las partes de cera que componen el árbol, se realiza la inmersión en barro primario, el cual contiene una suspensión de material refractario, seguidamente se aplica un recubrimiento de partículas refractarias secas y se deja reposar hasta que se seque, esto forma una delgada carcasa que cubre completamente el árbol, con la excepción del punto de entrada para metal fundido. En el proceso de revestimiento cerámico, se repite la aplicación de lechada y estuco (partículas refractarias), con secado entre cada capa sucesiva, hasta lograr el espesor de revestimiento deseado. Después de completar la construcción de la carcasa, se procede al descerado en autoclave. Luego se lleva el molde cerámico a un horno para realizar la cocción de este. Es una práctica normal, realizar la colada una vez que los moldes se retiran del horno de cocción mientras todavía están a una temperatura elevada. Después de enfriar a temperatura ambiente, la fundición se separa de las guías y las bandas y se termina de la manera habitual, es decir, granallado, rectificado de

trozos de entrada, tratamiento térmico, si corresponde, seguido de inspección y pruebas de control de calidad según sea necesario (44). El proceso se ilustra en la Figura 2.6.

Mediante el control del proceso de solidificación en la fundición por cera perdida, se puede ajustar los parámetros para obtener estructura de grano y estructura dendrítica según las características que se desea tener en la pieza a desarrollar. *Zhuang y Langer* trabajaron con control del proceso de enfriamiento en la obtención de piezas para la aleación ASTM F75, para lo cual, emplearon moldes cerámicos tradicionales enfriados por aire y moldes metálico enfriado por agua para obtener dos estructuras de fundición diferente: la dendrítica gruesa, que es la que se obtiene en el proceso de colada tradicional, y estructura de grano equilibrada, que es una estructura de fundición modificada, producto del enfriamiento rápido. Los autores concluyeron que el enfriamiento rápido, al tener una estructura de granos equiaxiales finos, mejoraba notablemente las propiedades mecánicas transitorias y permanentes (45).

Dependiendo de los detalles exactos del proceso de fundición, algunas características microestructurales pueden entrar en juego afectando fuertemente a las propiedades del

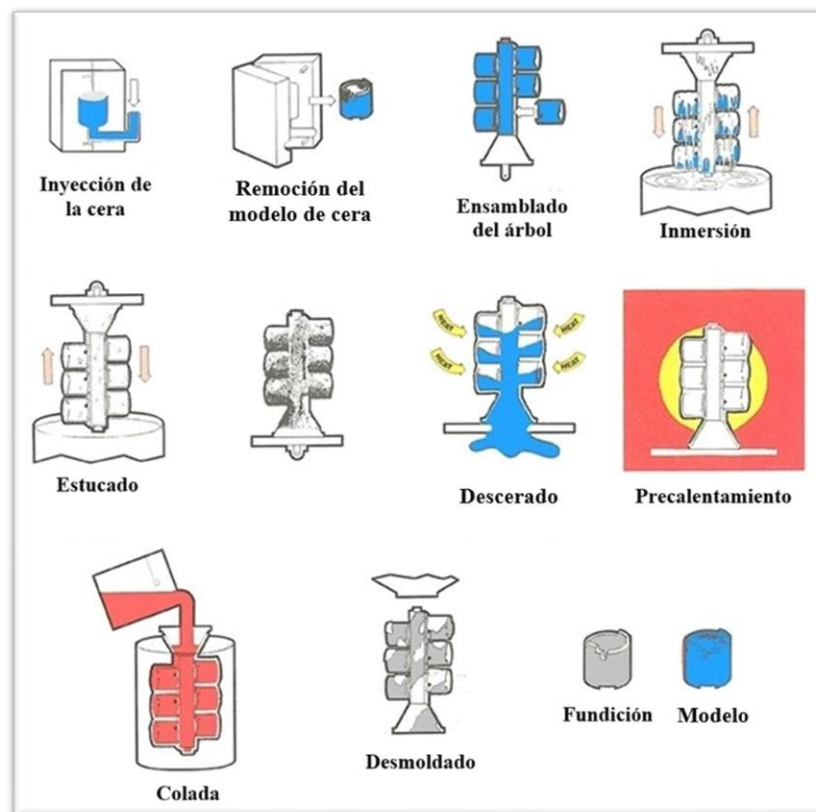


Figura 2.6 - Etapas del proceso de fundición por cera perdida

implante. La aleación F75 as-cast típicamente consiste en una matriz rica en  $\alpha$ -Co más carburos en los límites interdendrítico y de grano (principalmente  $M_{23}C_6$ , donde M representa Co, Cr o Mo). Debido a las condiciones de enfriamiento rápido, es posible que se desarrolle una microestructura "con núcleo". Es decir, las regiones interdendríticas se vuelven ricas en soluto (Cr, Mo, C) y contienen carburos, mientras que las dendritas se agotan en Cr y se enriquecen en Co. Esto crea una situación electroquímica desfavorable, con las regiones empobrecidas en Cr anódicas respecto al resto de la microestructura. Por otro lado, con la solidificación en la fundición por cera perdida, se forman dendritas y granos relativamente grandes. Esto generalmente no es deseable porque disminuye el límite elástico a través de una relación Hall-Petch entre el límite elástico y el diámetro del grano. Por último, pueden surgir defectos de fundición, por ejemplo, pueden aparecer inclusiones no metálicas (desprendidas de las paredes del horno o del molde) en la aleación, esto afecta a las propiedades mecánicas de los implantes (46,47).

*Padilha et. al.* (48), por medio de microanálisis con Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos-X (EDX) calcularon las relaciones de partición de soluto de los contenidos de Si, Mo, Cr, Fe y Ni en austenita a los de ferrita delta para piezas de acero inoxidable AISI 304 y DIN 1.4583, con geometría de diferentes espesores, solidificadas por la técnica de fundición por cera perdida. Las relaciones de partición fueron:  $Fe_{\delta} / Fe_{\gamma} = 0,93$ ;  $Cr_{\delta} / Cr_{\gamma} = 1,4$ ;  $Mo_{\delta} / Mo_{\gamma} = 1,29$  y  $Ni_{\delta} / Ni_{\gamma} = 0,39$  (acero AISI 304), y  $Fe_{\delta} / Fe_{\gamma} = 0,96$ ;  $Cr_{\delta} / Cr_{\gamma} = 1,32$ ;  $Mo_{\delta} / Mo_{\gamma} = 1,53$  y  $Ni_{\delta} / Ni_{\gamma} = 0,55$  (acero DIN 1.4583).

En las aleaciones de acero inoxidable tipo 316L como lo es la desarrolla según el estándar ASTM F745 por fundición por cera perdida, muestra una microestructura compuesta de una matriz austenítica y con formación de  $\delta$ -ferrita en los espacios interdendríticos, como consecuencia de la microsegregación de los elementos de la aleación. Por otro lado, en los espacios interdendríticos hay una mayor concentración de Cr y Mo, como consecuencia de su coeficiente de partición  $k < 1$ , que promueve la segregación directa hacia el último líquido en solidificar. En contraste, la concentración de Ni es mayor en el cuerpo de la dendrita porque este elemento se segrega inversamente como consecuencia de su coeficiente de partición  $k > 1$  (49,50).

*M. Alvarez-Vera et. al.* (51), mostraron que la precipitación de las fases secundarias y el tamaño de grano de las aleaciones de CoCrMo se modificaron mediante el control de la velocidad de enfriamiento durante el proceso de solidificación. La precipitación de fases secundarias, a una velocidad de enfriamiento rápida, mostró una reducción del tamaño nominal de partículas y granos. Observaron una ligera diferencia entre la microdureza de la velocidad de enfriamiento lenta y rápida de 347,6 a 355,8 HV respectivamente.

En el caso de la aleación ASTM F75 *Kaiser R. et. al.* (52), solidificaron muestras con diferentes geometrías enfriadas naturalmente, demostraron que el tiempo de solidificación aumenta con el aumento del grosor de la sección. También mostraron que el espaciamiento de los brazos secundarios aumenta con el aumento de la sección.

En otro trabajo desarrollado por *Kaiser R. et. al.* (53), se encontró que la temperatura de solidificación de la aleación ASTM F75 inicia a los 1387 °C y detectaron una precipitación interdendrítica a los 1220 °C. Al realizar experiencias con diferentes condiciones de enfriamiento, observaron que la microestructura en general consistía en una matriz dendrítica con fases secundarias precipitadas en los límites de grano y zonas interdendríticas. El análisis EDX mostró que la fase secundaria era pobre en cobalto y ricas en cromo y molibdeno en comparación con la matriz. Por otro lado, demostraron que la separación del brazo de dendrita secundario disminuye al aumentar la velocidad de enfriamiento.

Por otro lado, *Ramírez et. al.* (54), encontraron en la aleación ASTM F75 la presencia de carburos del tipo  $M_{23}C_6$  y  $M_{12}C$  y de la fase sigma (CoCr) que se forman a una temperatura cercana a los 1200°C. Se encontró que la fracción de tamaño y área de carburos disminuye significativamente con el aumento de la velocidad de enfriamiento. Las pruebas de dureza mostraron que esta aumentaba ligeramente con el aumento de la velocidad de enfriamiento. Las microestructuras más gruesas y los granos más grandes producto de la variación de la velocidad de enfriamiento. Esto, parecen favorecer la ductilidad, sin embargo, es posible que la disminución de la ductilidad pueda estar relacionada con el tipo y la morfología de los carburos presentados.

*K. Beer-Lech et. al.* (55), mostraron que existe una relación muy fuerte entre el contenido de carbono y la microestructura de la aleación Co-Cr-Mo. Observando que consisten en estructuras de matriz de solución  $\beta$ -Co y el carburo  $M_{23}C_6$  precipita en los espacios

interdendríticos, así como en los límites de los bordes de grano. También se encontró matriz de solución  $\alpha$ -Co. Cuando la concentración de carbono aumenta el porcentaje de precipitados aumenta y su naturaleza cambia de bloque eutéctico a bloque denso. Además, con el aumento del contenido de carbono la temperatura de equilibrio del líquido disminuye y aumenta la temperatura de equilibrio del sólido.

*Fleming et. al.* (56), encontraron que al aumentar la potencia de inducción suministrada se producen piezas más homogéneas, ya que observaron una menor dispersión de los datos obtenidos en las mediciones de las propiedades mecánicas, por otro lado, aumenta la media de los valores obtenidos en las mediciones de las propiedades mecánicas de ASTM F75. El aumento en la velocidad de calentamiento acorta los tiempos para alcanzar la temperatura de fundición y disminuye los costos de ciclo. También hubo una reducción inferida del tamaño de grano.

*Campbell* (57), señala que la velocidad de agitación por inducción de la masa fundida producidas por las altas densidades de potencia de inducción puede exacerbar el arrastre de óxido.

*V. Amigo Borrás et. al.* (58), demostraron que al realizarle un tratamiento térmico a la aleación Co-Cr-Mo se modificaba la distribución y tamaño de los carburos lo que produce un impacto en la dureza del material, observando que se produce un fenómeno de segregación de molibdeno en los carburos precipitados en el sinterizado, cambiando de esta manera la morfología de estos. El tratamiento de solubilización final disuelve gran parte de los precipitados, sobre todo los que se encuentran en borde de grano, y genera la reprecipitación de los mismos en forma más fina mejorando levemente la dureza del material.

*Ramirez-Vidaurri et. al.* (59), realizaron experiencias de solidificación direccional con enfriamiento rápido en aleaciones base de Co biocompatible, con el fin de estudiar el efecto de las condiciones de solidificación en la evolución de la fracción sólida en función de la temperatura. Eligieron cinco velocidades de extracción calórica en el rango de 1,2 a 18 °C / min. Se emplearon dos gradientes de temperatura: 6 y 12 °C / mm. Donde observaron que la solidificación de esta aleación se inicia a 1407 °C y termina alrededor de 1206 °C con la precipitación de una segunda fase. La microsegregación aumenta a medida que los brazos de dendrita secundarios se hacen más pequeños. Sin embargo, el análisis térmico diferencial,

DTA, realizados para esta aleación sugieren que el efecto del subenfriamiento para el inicio de la solidificación en la temperatura de precipitación en fase sigma estaría relacionado con el efecto del subenfriamiento en la microsegregación generada durante la solidificación, que tenderá a disminuir a medida que aumente el subenfriamiento de la solidificación.

En otro trabajo *Ramirez-Vidaurre et. al.* (60), solidificaron cilindros de diferentes diámetros por medio de la técnica de fundición por cera perdida. Mostraron que, durante la etapa de solidificación inicial, de 1390 a 1350 °C, las velocidades de enfriamiento promedio para los cilindros pequeños, medianos y grandes son 100, 60 y 20 °C/min, respectivamente. Cuando el cilindro alcanza temperaturas de alrededor de 1100 °C, la velocidad de enfriamiento para los diferentes cilindros varía de 8 a 16 °C / min. Estas velocidades de enfriamiento están 35 °C/min por debajo de la velocidad de enfriamiento a la que se encuentra la estructura laminar, cuya formación se observó a 989 °C. Como número de referencia de las velocidades de enfriamiento alcanzadas en los cilindros, el valor promedio de la separación secundaria del brazo dendrítico en los cilindros grande, mediano y pequeño fue de 45, 40 y 32 μm, respectivamente.



## 2.2 Metodología experimental

*En este segmento se describe:*

- a) La metodología utilizada en la preparación de las aleaciones;*
- b) El horno, los moldes y las termocuplas utilizados;*
- c) Las experiencias de solidificación en la fundición de precisión y la preparación metalográfica de las probetas;*
- d) Los ensayos de microdureza y la metodología utilizada en la determinación de los parámetros metalográficos: los espaciamientos dendríticos y los tamaños de los granos;*
- e) Los análisis de composición de los elementos en las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745;*
- f) La metodología utilizada en la determinación de la curva de enfriamiento y los parámetros térmicos.*

### 2.2.1 Experiencias de solidificación

#### 2.2.1.1 Moldes

Para elaborar los moldes se realizó inyección de cera en una matriz con la forma de las prótesis de cadera. Luego se sueldan con calor a lo que será el ataque del racimo, cilindro de cera con un extremo con forma cónica por donde ingresa el material fundido. Luego se desarrolló un lavado con acetona del modelo de cera para eliminar los elementos que puedan impedir el perfecto mojado del barro sobre el mismo.

El racimo se sumergió en un barro cerámico compuesto por una mezcla de árido refractario de granulometría muy fina (mesh 325) y una solución acuosa inorgánica de sílice coloidal, con una viscosidad correspondiente a un tiempo de escurrimiento de 30 s en la copa Ford 4. La capa primaria del racimo fue espolvoreado (estucado) con un árido refractario de granulometría intermedia (mesh 80 – 100) por medio de las máquinas de lluvia (rain machine). En esta capa es importante obtener una baja rugosidad de la superficie expuesta al contacto con el metal que sobre ella solidifica, siendo responsable de la terminación superficial de las piezas así elaboradas. Para ello se utilizó zircón un material refractario que es química y térmicamente estables.

Para las capas subsiguientes, se elaboró un barro con un árido refractario de mayor granulometría (mesh 200) y un tiempo de escurrimiento mayor, de 90 s. El estucado se realizó

con un material sílicoaluminoso (chamote) de mayor granulometría (mesh 25-60). El procedimiento se repitió hasta completar un total de 5 capas las cuales le confieren al molde la resistencia mecánica necesaria para soportar los esfuerzos generados y controlan la permeabilidad de los gases.

Entre capas, se dejó secando en condiciones ambientales de 22 °C y una humedad de 60 %.

Para el descerado de los moldes se utilizó un autoclave, donde el vapor ingresado aporta la cantidad suficiente de calor para fundir la cera presente en el molde, las condiciones de trabajo fueron a 140°C y una presión entre 6 – 8 kg/cm<sup>2</sup>.

Por último, se calcinó la cascara para que obtenga la máxima resistencia mecánica y eliminar el resto de cera proveniente del descerado. Para ello se calentó gradualmente hasta llegar a una temperatura de 850°C y se inspeccionó que no tengan grietas donde pudiera perderse el material fundido en las coladas.

### 2.2.1.2 Horno de fundición

La fundición se realizó por medio de un horno de inducción de 30 kg de capacidad como el que se muestra en la Figura 2.7. El llenado se realizó por gravedad mediante una cuchara.



*Figura 2.7 - Horno de inducción.  
(Imagen obtenida por el autor)*

### 2.2.1.3 Horno de precalentamiento

Como práctica habitual del proceso de fundición de precisión, el molde cerámico se precalentó para aumentar su permeabilidad y reducir el gradiente térmico de enfriamiento, con el fin de mejorar la colabilidad. Para llevar a cabo el precalentamiento del molde, se

montó un horno circular de resistencia eléctrica, necesario para llevar a la temperatura de trabajo de los moldes y mantener estático el mismo para montar el sistema de medición de temperatura. El control de la temperatura del horno se logró con una termocupla tipo K y se conectó a un controlador, la disposición del sistema se puede observar en el esquema de la Figura 2.8.



*Figura 2.8 – Disposición de las termocuplas en el horno de precalentamiento.  
(imágenes obtenidas por el autor)*

El horno se cubrió con lana mineral como aislante térmico, dejando al descubierto únicamente la boca de alimentación del molde cerámico.

#### 2.2.1.4 Termocuplas

Para el registro de las temperaturas en el horno de precalentamiento se utilizó una termocupla tipo K de diámetro exterior 0,5 mm.

- Tipo K: Cromel (+) – Alumel (-).
- Rango de utilización: -200 °C a 1372°C (-5,891 a 48,838 mV).
- Límite de error:  $\pm 2,2$  °C.

Para el registro de las temperaturas durante las experiencias se utilizaron cuatro termocuplas tipo S de diámetro exterior 0,5 mm.

- Tipo S: Pt-10Rh (+) – Pt (-).
- Rango de utilización: 0 °C a 1600°C - 0,000 a 18,687 mV.
- Límite de error:  $\pm 1,5$  °C.

En la Figura 2.9 se presenta una disposición esquemática de la prótesis y la disposición de las cuatro termocuplas tipo S.

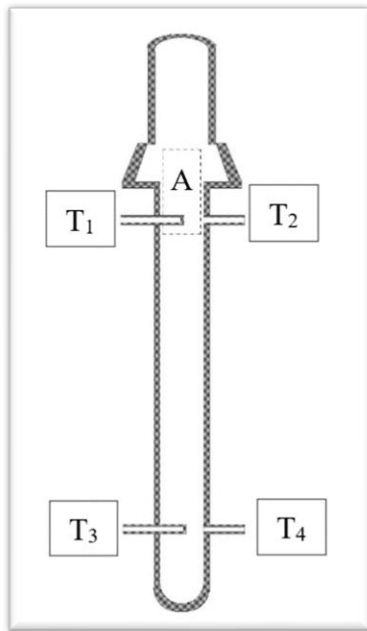


Figura 2.9 - Disposición de los termopares en el molde.

### 2.2.1.5 Sistema de adquisición de datos

Se utilizó para medir y registrar la temperatura en el interior de la cavidad del molde, se conformó con 5 termopares tipo S dispuestas dos en el vástago femoral (la zona más fina de la pieza), una de ellas en el centro y la otra en la pared del molde separadas entre sí por una distancia de 6 mm; otras dos termocuplas se ubicaron en la región más gruesa, próxima al cabezal femoral, una de ellas en el centro de la prótesis y la otra en la pared del molde separadas entre sí por una distancia de 7 mm; la última de ellas se ubicó en la zona de alimentación para registrar la temperatura de entrada de la masa fundida, Figura 2.9. Las termocuplas estaban conectadas a un registrador electrónico Field Logger (Marca: NOVUS, posee 8 canales de entrada digital y salida con relé).

### 2.2.1.6 Sistema de registro de las temperaturas

Las temperaturas se registraron a intervalos de 50 ms utilizando una computadora. Se utilizó un software (FieldLogger 1.4.6) para registrar y almacenar los datos obtenidos por las termocuplas durante el proceso de solidificación, además de posibilitar el monitoreo en

A = Zona alimentación del material fundido.

T<sub>1</sub> = Temperatura en el centro de la prótesis en la zona cercana al cabezal femoral (CC).

T<sub>2</sub> = Temperatura en la superficie de la prótesis en la zona cercana al cabezal femoral (CP).

T<sub>3</sub> = Temperatura en el centro de la prótesis en la zona del vástago femoral (VC).

T<sub>4</sub> = Temperatura en la superficie de la prótesis en la zona del vástago femoral (VP).

tiempo real de los datos medidos, obteniendo como resultado la curva de enfriamiento de la aleación. Todo el sistema de adquisición de datos y registro de las temperaturas puede ser observado en el esquema de la Figura 2.10.

### 2.2.1.7 Experiencias de fundición de precisión

Las experiencias de solidificación en aleaciones ASTM F75 (61) y ASTM F745 (62) que se hicieron en el laboratorio son de dos tipos. El primero, con la finalidad de obtener aleaciones que permitan medir los parámetros metalográficos, la microdureza y realizar los ensayos electroquímicos y de genotoxicidad. El segundo, para obtener los datos de temperatura en función del tiempo “curva de enfriamiento” a partir de los cuales se obtuvieron los parámetros térmicos de cada aleación solidificada.

Se procedió de la siguiente manera:

- 1- Se confeccionaron los moldes según lo establecido anteriormente.
- 2- Se montó el sistema de termocuplas en la cascara cerámica dispuesta para realizar la experiencia de solidificación. Previamente las termocuplas se cubrieron con una fina capa de este cerámico utilizado en los moldes (silice coloidal), lo que permite proteger la termocupla del material fundido.
- 3- Una vez montadas los termopares, se conectaron al sistema de adquisición de datos y la cascara de puso a precalentar una hora hasta homogeneizar la temperatura como se muestra en la Figura 2.10.
- 4- Se trozaron los materiales de manera que pudieran ser introducidos dentro de la cavidad del horno de inducción.
- 5- Luego se encendió el horno y cuando el material estaba completamente fundido se le agregó CaSi para desoxidar y limpiar de escorias antes de volcarlo a la cuchara.
- 6- Antes de realizar la colada del material fundido se encendió el sistema de adquisición de datos para registrar los valores de temperatura al momento de la colada y durante la solidificación de la pieza.
- 7- Posteriormente el material fundido se saca del horno y se posiciona la cáscara para efectuar colada, se le vierte el metal por medio de una cuchara.
- 8- Se dejó enfriar en contacto con el aire del medio ambiente lindante al molde.

- 9- Al finalizar el proceso de solidificación se colectaron los datos del registro de temperatura por medio del software FieldLogger.
- 10- Paralelamente se realizaron coladas en otras cascaras en las mismas condiciones, pero sin registro de temperatura. Las que se utilizaron para realizar las experiencias que permitan medir los parámetros metalográficos, la microdureza y realizar los ensayos electroquímicos y de genotoxicidad.



*Figura 2.10 - Sistema de adquisición de datos y horno de precalentamiento.  
(Imagen obtenida por el autor)*

### **2.2.2 Ensayos metalográficos**

#### *2.2.2.1 Preparación metalográfica de las probetas*

Una vez finalizado el proceso de solidificación se seccionó la probeta con una sierra circular de banco con flujo de refrigerante. Se dividió en dos partes para analizar, se cortó un trozo del vástago femoral y otro en la zona cercana al cabezal femoral a fin de prepararla para obtener macrografías y micrografías.

#### *2.2.2.2 Preparación para el análisis de la macroestructura*

Una vez seccionada la prótesis se procedió a realizar el desbaste mecánico (bajo flujo de agua constante para lubricar y remover el material residual). Para el mismo se utilizaron papeles abrasivos de diferentes granulometrías, desde #60 hasta #1500. El procedimiento se llevó a cabo utilizando una pulidora (marca PULIMET) que posee una velocidad de 250 rpm. Para concluir con el revelado de las macrografías se realizó el ataque químico a temperatura

ambiente y por un tiempo aproximado que va de 5 a 20 segundos utilizando las siguientes soluciones (63,64):

a- Baraha: 20 mL HCl: 100 mL H<sub>2</sub>O: 1 g K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: para la aleación ASTM F745.

b- Una solución saturada de FeCl<sub>3</sub> en HCl durante 5 min, y luego usando la misma solución con HNO<sub>3</sub> al 5% aproximadamente otros 5 min. Para la aleación ASTM F75.

Una vez revelada la macroestructura se la observó por inspección visual y/o por medio de una lupa compuesta.

### *2.2.2.3 Preparación para el análisis de la microestructura*

A fin de analizar la microestructura, las probetas cortadas se desbastaron mecánicamente, en la sección transversal, con papeles abrasivos que van desde #60 hasta #2500, terminando el pulido con pasta de diamante de 0,25 $\mu$ m (0,25.10<sup>-6</sup>m). Por último, para revelar las micrografías se realizó el ataque químico con una solución de agua regia para la aleación ASTM F745: 10 mL HNO<sub>3</sub>: 30 mL HCl: 10 mL CH<sub>3</sub>COOH (se precalienta a 60°C la muestra de metal) (63,65). Para las probetas de la aleación ASTM F75 se utilizó: una solución saturada de FeCl<sub>3</sub> en HCl durante 5 min, y luego usando la misma solución con HNO<sub>3</sub> al 5% aproximadamente otros 5 min.

Las microestructuras finales se observaron en un microscopio óptico (modelo: XJL-17, marca: ARCANO) y microscopio electrónico de barrido (FEI-Quanta 2000).

### *2.2.3 Ensayos mecánicos de microdureza*

Todos los ensayos de microdureza que se detallan a continuación fueron realizados según la norma estándar ASTM E384-99 (66), a temperatura ambiente, utilizando el microdurómetro Vickers (Marca: Future-Tech FM-800, Laboratorio de Ciencia de los Materiales PROMyF). El tiempo de indentación en cada una de las probetas ensayadas fue de 15 segundos. Se tomó un promedio de tres mediciones (con una carga de 50 gf para la fase  $\gamma$  y de 25 gf para la fase interdendrítica) que han sido realizadas en cada una de las zonas antes mencionadas.

### 2.2.4 Parámetros metalográficos

#### 2.2.4.1 Tamaño de grano

Para medir el tamaño de los granos columnares y equiaxiales se utilizó la norma estándar ASTM E 112 (67).

La metodología utilizada para la medición del tamaño de grano en ambas aleaciones es la siguiente (68).

- Se dividió la prótesis en dos zonas de análisis la parte más fina del vástago y en la región más gruesa del cabezal
- Se analizó la sección lateral de ambas zonas, debido a que es la parte que se encuentra en contacto con los fluidos corporales.
- Se determinó la morfología de los granos, si correspondían a columnas o granos equiaxiales, a través de las mediciones de los diámetros.

Las medidas de tamaño de grano se efectuaron en 3 probetas de cada aleación y en las diferentes regiones de la prótesis.

#### 2.2.4.2 Medición de los espaciamientos dendríticos

Se midieron los espaciamientos dendríticos utilizando la técnica de intercepción lineal (68). Mediante esta técnica se obtuvieron los tamaños de los espaciamientos dendríticos primarios " $\lambda_1$ ", secundarios " $\lambda_2$ ".

Los espaciamientos dendríticos primarios " $\lambda_1$ " y secundarios " $\lambda_2$ " se determinaron en las dos aleaciones (ASTM F745 y ASTM F75), Cada una de las medidas corresponden a un promedio de 15 efectuadas en las dos zonas de análisis (vástago y acetábulo).

### 2.2.5 Análisis de composición de los elementos

Las medidas de composición de las aleaciones ASTM F745 y ASTM F75 se llevaron a cabo en un Microscopio Electrónico de Barrido (FEI-Quanta 2000) (LIMF-UNLP) en el cual se determinó la variación de la composición de los elementos principales en la aleación, tanto a nivel macroscópico como microscópico.



En la microestructura se midió la composición de los elementos principales de las aleaciones (Fe, Co, Cr, Mo y Ni) se realizaron en tres experiencias diferentes de cada una de las aleaciones (ASTM F75 y ASTM F745), Se efectuaron las medidas de composición en la dendrita (fase  $\alpha$ ), en la zona interdendrítica,  $\delta$ -ferrita y en las inclusiones no metálicas.

La relación de segregación (I) la expresamos como el cociente entre el valor de concentración en el centro de la dendrita ( $C_D$ ) y el valor en el área interdendrítica ( $C_I$ ) para cada elemento como se expresa en la ecuación 2.29.

$$I_x = \frac{C_{Dx}}{C_{Ix}} \quad (2.29)$$

### 2.2.6 Parámetros térmicos

Se determinó la curva de enfriamiento (temperatura versus tiempo) de cada aleación, los parámetros térmicos que se obtuvieron de la curva de enfriamiento (69–71) son:

➤ **Velocidad de enfriamiento “T”**

La velocidad instantánea de enfriamiento  $\ll \dot{T} \gg$  para cada una de las termocupas se calculó a partir de la siguiente ecuación 2.30:

$$\dot{T}_i = \frac{\Delta T}{\Delta t} = \frac{T_i^t - T_i^{t-1}}{t^t - t^{t-1}} \quad (2.30)$$

Donde

i: ubicación de la termocupla en la probeta.

$T^t$ : Temperatura medida por la termocupla en el instante t (°C)

$T^{t-1}$ : Temperatura medida por la termocupla en el instante previo a t (°C)

$t^t$ : Tiempo medido en el instante t (s)

$t^{t-1}$ : Tiempo medido en el instante previo a t (s)

➤ **Gradientes de temperatura en el líquido “GL”**

Los gradientes de temperatura en el líquido “GL” delante de la interfase líquida ó (L)/(S+L) para cada par de termocuplas, en la pared y el centro de cada zona de análisis, se calcula mediante la siguiente ecuación 2.31:

$$G = \frac{T_C - T_P}{\Delta x} \quad (2.31)$$

donde:

G- Es el gradiente promedio en el intervalo considerado en °C/cm.

T<sub>C</sub>- Es la temperatura que registra la termocupla en la posición del centro de la zona de análisis, en °C.

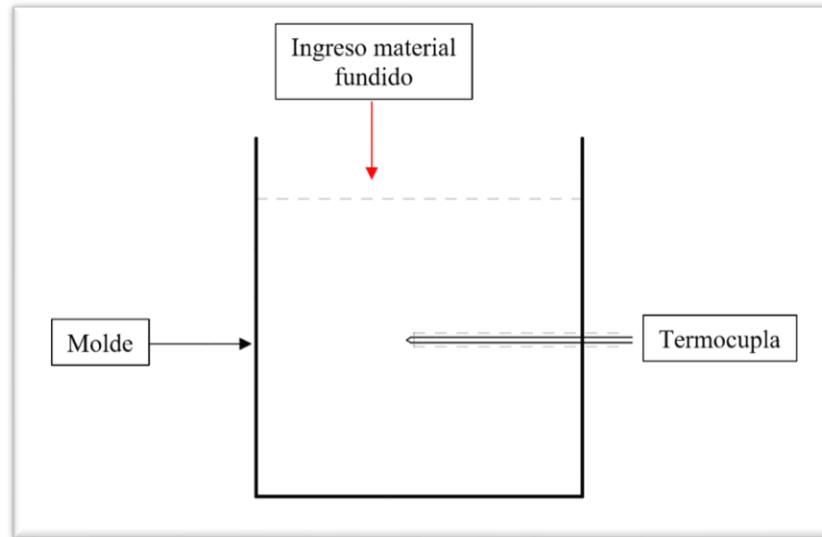
T<sub>P</sub>- Es la temperatura que registra la termocupla en la posición de la pared de la zona de análisis, en °C.

Posición del frente de solidificación para la temperatura de solidus y liquidus

- ***Velocidades de las interfases líquida “VL” y sólida “VS”.***
- ***Velocidad de solidificación local “V\*”.***
- ***Promedio de velocidad de solidificación  $V_{avg} = \frac{T_{liq} - T_{sol}}{t_{sol} - t_{liq}}$***
- ***Rango total de enfriamiento  $\Delta T = T_{liq} - T_{sol}$***

### ***2.2.7 Determinación del punto de fusión***

Para ambas aleaciones se llevó a cabo una experiencia de solidificación simulando las condiciones de estabilidad, con medición de temperatura, en un molde cilíndrico con un volumen mucho mayor al de la pieza a analizar como se muestra en la Figura 2.11.



*Figura 2.11 – Solidificación en un gran volumen.*

### **2.2.8 Diseño por surgencia**

Las experiencias se realizaron con un diseño de alimentación por surgencia, en búsqueda de un ingreso de masa fundida con un flujo laminar, que permita desarrollar las mediciones con el mínimo de perturbaciones.

La disposición de la prótesis y los termopares se muestra en la Figura 2.12, en donde se puede apreciar que tanto la pieza como los termopares se dispusieron de forma horizontal y el material fundido ingresa por la parte inferior de la misma. El codo en forma de U, en la parte inferior, tiene el propósito de reducir las perturbaciones en el flujo al momento de llenar la cavidad del molde que forma la pieza a analizar. En la entrada de la sección en U se adicionó un filtro de espuma refractaria, con bajo coeficiente de expansión térmica, lo que también ayuda a reducir las perturbaciones del flujo al ingresar a la cavidad de la pieza. Tanto la

sección en U, como la espuma refractaria, ayudan a generar un flujo laminar de la masa fundida al ingresar a la pieza a producir.



*Figura 2.12 - Molde con diseño por surgencia.  
(Imagen obtenida por el autor)*

Además de los cuatro termopares que se colocaron en la pieza, tanto en la pared como en el centro de cada sección, se adicionó un quinto termopar que se ubicó en el centro del cilindro de alimentación, para registrar la T de ingreso del metal líquido.

## 2.3 Resultados y discusión

*En este apartado se presentan y discuten los resultados obtenidos referentes a:*

- a) Ensayos preliminares y puesta a punto de las experiencias de solidificación;*
- b) Las características del proceso de solidificación por cera perdida;*
- c) La obtención de las curvas de enfriamiento y la determinación de los parámetros térmicos: el grado de sobrecalentamiento; la determinación de las temperaturas de liquidus y solidus, las velocidades de enfriamiento, los tiempos de solidificación local;*
- d) Las microestructuras de las aleaciones ASTM F745 y ASTM F75 solidificadas por cera perdida.*
- e) Los análisis de composición a nivel macroscópico y microscópico;*
- f) La determinación de los parámetros metalográficos: los espaciamientos dendríticos y el tamaño de los granos;*
- g) La relación entre los espaciamientos dendríticos secundarios con el contenido de soluto en las probetas y con el tamaño de los granos;*
- h) La relación entre los parámetros térmicos y metalográficos;*

Para llevar a cabo las experiencias de solidificación y poder medir los parámetros térmicos en ellas, se llevó a cabo una serie de ensayos preliminares que permitieron ajustar la técnica y disminuir los errores que puedan afectar los resultados de las experiencias.

### 2.3.1 Solidificación en estado estable

Al desarrollar una experiencia con un proceso de solidificación lento que permita equiparar las condiciones a las de equilibrio, se pudo obtener el valor de temperatura al cual solidifica la aleación en condiciones estables y compararlas con las obtenidas en las experiencias donde la solidificación es mucho más rápida.

Se llevó a cabo experiencias para las dos aleaciones, dando como resultado una temperatura de inicio de solidificación de 1440°C y 1445°C para las aleaciones ASTM F745 y ASTM F75 respectivamente. Las curvas de enfriamiento para ambos materiales se muestran en el ANEXO I.

Estos resultados sugirieron que existía una necesidad de agregar una quinta termocupla en la sección de mayor volumen del racimo para obtener datos de las condiciones de solidificación en un estado cercano al estable que permitan comparar con los que se obtienen al medir en la sección de la prótesis.

### 2.3.2 Análisis de las curvas de enfriamiento

A continuación, se muestran los resultados de tres experiencias de solidificación realizadas por fundición a la cera perdida, con un diseño de cascara donde la cavidad de la prótesis es alimentada por surgencia.

Los resultados de las curvas de enfriamiento correspondiente a la aleación ASTM F745 se ilustran en la Figura 2.13.

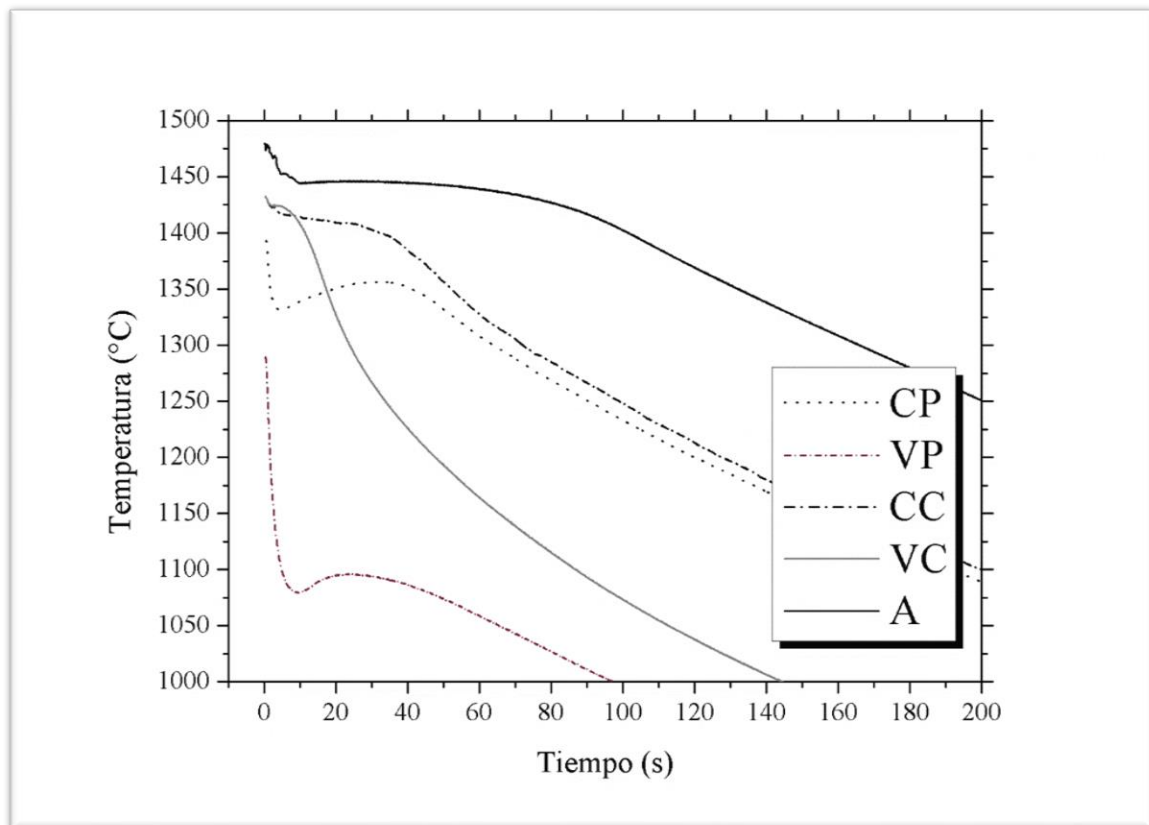


Figura 2.13 - Curvas de enfriamiento para la aleación ASTM F745.

La mayor extracción calórica fue en la superficie del vástago, debido a la mayor superficie de extracción y menor masa de líquido. En orden decreciente estuvieron: la superficie del cabezal, el centro del vástago y el centro del cabezal. Esto está de acuerdo con la relación

superficie de extracción calórica/masa líquida. Debido a la mayor extracción calórica, hubo más subenfriamiento en las cercanías de la pared de la cáscara. Mientras que en el centro se definieron mejor las mesetas de solidificación. Hubo una clara diferencia entre el centro del cabezal y el del vástago, en los tiempos de solidificación. En la superficie del cabezal, el líquido se subenfrió, pero dio indicios de terminar de solidificar al mismo tiempo que en el centro, ya que las pendientes empiezan a bajar casi simultáneamente. En la zona cercana a la superficie del vástago no se apreció la meseta de solidificación. Se estima que, el líquido al llegar a dicha región solidifica casi instantáneamente al estar muy subenfriado. Al final, las pendientes en estado sólido son prácticamente las mismas, con las diferencias de temperaturas propias de cada zona.

A continuación, se muestran en la Figura 2.14 los resultados de las curvas de enfriamiento de una de las experiencias en la que se solidificó la aleación ASTM F75 en moldes cáscara. La mayor extracción calórica, que se puede observar en esta experiencia, se da en el centro

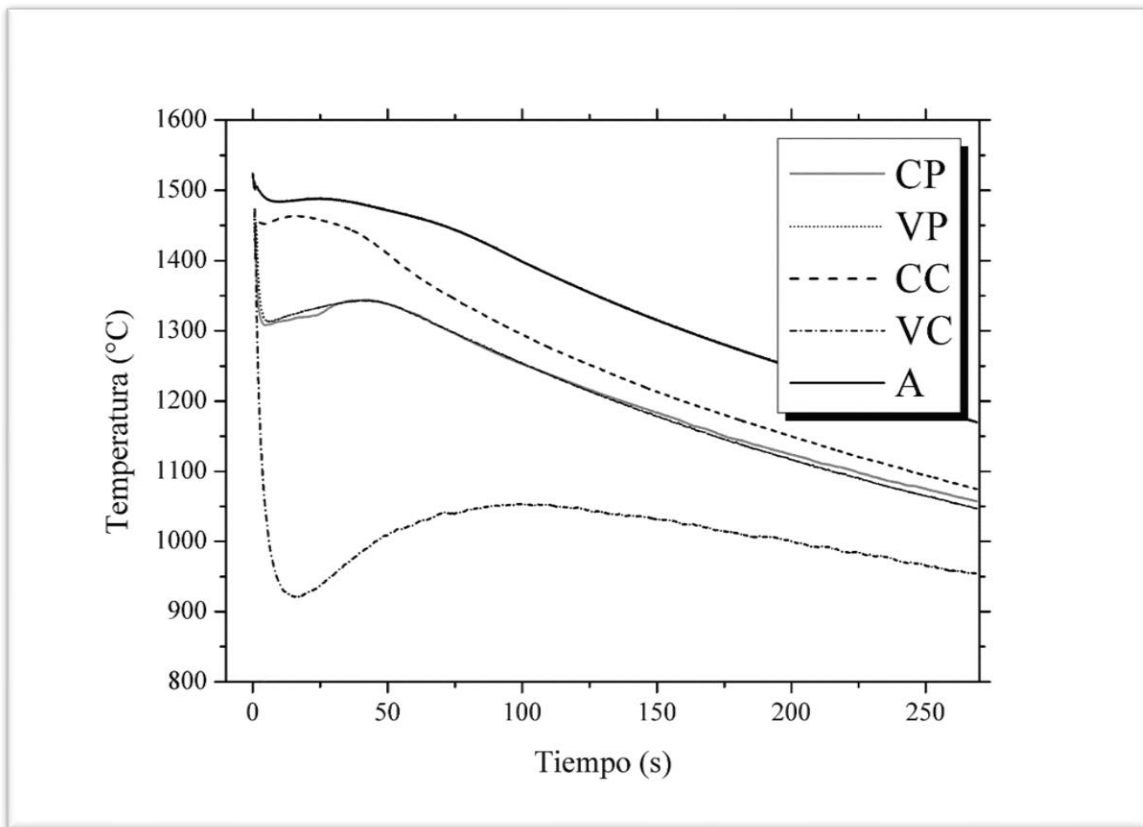


Figura 2.14 - Curvas de enfriamiento para la aleación ASTM F 75.

del vástago, que puede ser atribuida a la llegada de líquido subenfriado. En orden decreciente

estuvieron: la superficie del cabezal y el centro del vástago con extracción de calor muy similares y por último el centro del cabezal. Esto está de acuerdo con la relación entre la superficie de extracción calórica y la masa líquida. Debido a la mayor extracción calórica, hay más subenfriamiento en las cercanías de la pared de la cáscara, a excepción de lo que sucede en el centro del vástago. Mientras que en el centro se definen mejor las mesetas de solidificación.

No se puede evaluar si existe una diferencia en los tiempos de solidificación al analizar dos termopares ubicados en la misma posición, centro o superficie, en algunos casos no se puede evaluar la diferencia en los tiempos de solidificación debido a que el líquido al llegar a dicha región solidifica casi instantáneamente al estar muy subenfriado.

### 2.3.2.1 *Tiempo de solidificación local*

En la Tabla 2.1 se muestran los valores del tiempo de solidificación local “ $t_{sl}$ ”, para cada una de las termocuplas.

*Tabla 2.1 - Tiempo de solidificación local para las diferentes aleaciones*

Región	ASTM F745 (s)	ASTM F75 (s)
CP	48,55	-
CC	44,74	50,4
VP	-	-
VC	12,15	-

Lo que se puede observar en la Tabla 2.1 es que los tiempos de solidificación locales son mayores en la región del cabezal, lo que se debe a que esa sección contiene un mayor volumen lo que se traduce en una extracción calórica más lenta.

En la aleación ASTM F75 una sola termocupla logró mostrar en la curva de enfriamiento la presencia del efecto de la solidificación.

### 2.3.2.2 *Temperaturas de liquidus “ $T_L$ ”, solidus “ $T_S$ ”*

En la Tabla 2.2 se presentan los valores de las temperaturas de liquidus “ $T_L$ ” y solidus “ $T_S$ ” medidos en cada una de las experiencias.



Lo que se puede observar es que las temperaturas de *liquidus* y *solidus* en ambas aleaciones son superiores en la región central de la prótesis. Esto tiene sentido ya que en las paredes del molde la extracción de calor fue mayor, por lo que, se produjo el mayor subenfriamiento.

Tabla 2.2 - Temperatura del Liquidus y Solidus para las diferentes aleaciones

Región	ASTM F745 (s)		ASTM F75 (s)	
	T <sub>L</sub>	T <sub>S</sub>	T <sub>L</sub>	T <sub>S</sub>
CP	1332,8	1328,2	1312	-
CC	1415,8	1354	1453,9	1400,1
VP	1079,7	-	1312,7	-
VC	1424,4	1362	967,1	-

### 2.3.2.3 Gradientes de temperatura “GL”

En la Figura 2.15 se presenta la curva de gradientes de temperaturas en función del tiempo para la aleación ASTM F745. Se realizó una ampliación del primer minuto (60 s) del proceso de solidificación, cada curva representa el gradiente en una región de la prótesis, donde un par de termocuplas se encuentran enfrentadas, una en la pared del molde y la otra en el centro de esa sección de la pieza.

A tiempo cero el material fundido comienza a ingresar el molde, esto se puede observar en la Figura 2.15 evidenciándose la gran diferencia de gradiente térmico, producto de la menor temperatura de la pared del molde. Al cabo de un segundo el gradiente en ambas regiones llega a un valor mínimo. El gradiente térmico en la región del acetábulo (G-Cabezal) presenta un valor menor al compararlo con la otra zona de la pieza, lo que sugiere que la velocidad de crecimiento de la interface Sólido/Líquido es mayor en la región del acetábulo.

En el caso de la aleación ASTM F75, teniendo en cuenta que de las curvas de enfriamiento no se pudo obtener precisión sobre la transformación L-S, en la mayoría de las termocuplas a excepción de la que se ubicaba en el centro del acetábulo, el gradiente térmico entre el termopar de la pared y el centro de la pieza en esa región mostró un comportamiento similar a la aleación de acero inoxidable.

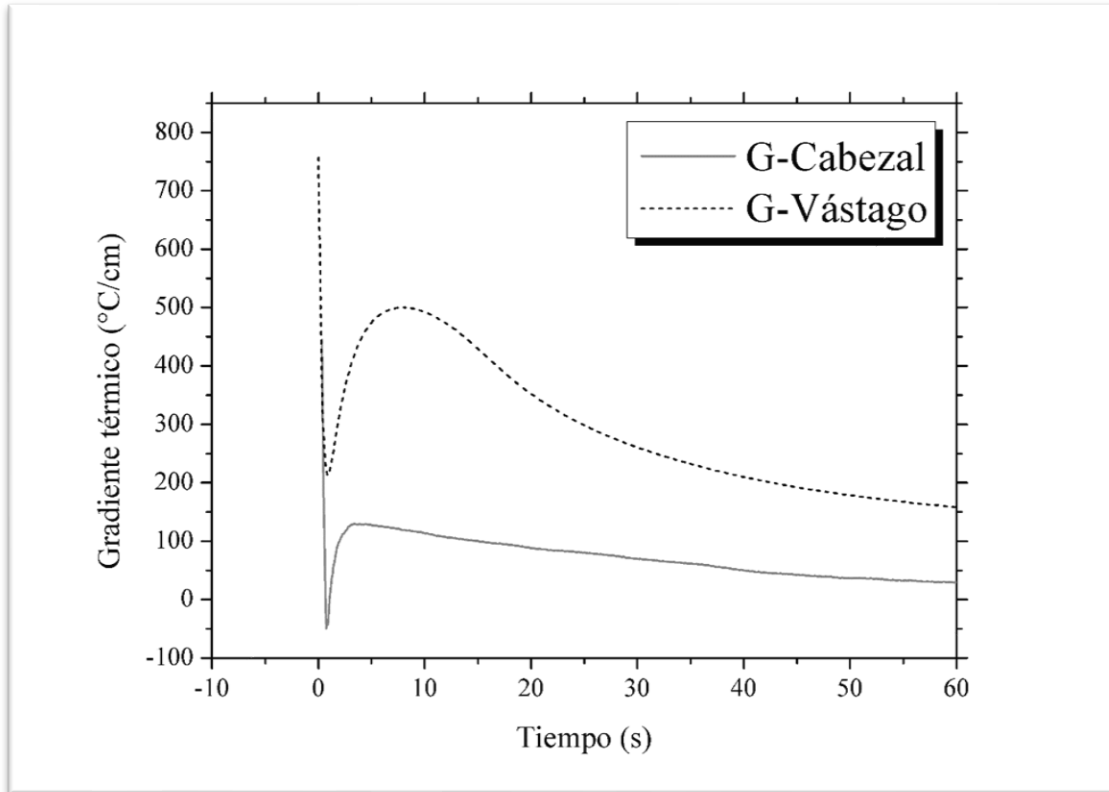


Figura 2.15 - Gradiente de temperatura en función del tiempo para ambas regiones de la aleación ASTM F745.

2.3.2.4 Velocidad de enfriamiento

Tabla 2.3 - Velocidades de enfriamiento (°C/s)

		<i>Vástago</i>		<i>Acetábulo</i>		<i>Alimentación</i>
		<i>Superficie</i>	<i>Centro</i>	<i>Superficie</i>	<i>Centro</i>	
<i>Velocidad del Líquido</i>	<i>ASTM F745</i>	62,15	5,85	40,13	5,93	2,64
	<i>ASTM F75</i>	24,65	7,88	17,13	4,27	5,17
<i>Velocidad del Sólido</i>	<i>ASTM F745</i>	1,58	7,73	2,43	1,45	3,02
	<i>ASTM F75</i>	1,76	0,66	1,84	0,77	2,3

La Tabla 2.3 muestra los resultados de las velocidades de enfriamiento para las diferentes aleaciones y secciones en la que se analizó. La mayor extracción calórica es en la superficie del vástago, debido a la mayor superficie de extracción y menor masa de líquido. En orden decreciente están: la superficie del cabezal, el centro del vástago y el centro del cabezal. Esto

está de acuerdo con la relación superficie de extracción calórica/masa líquida. Debido a la mayor extracción calórica, hay un mayor subenfriamiento en las cercanías de la pared de la cáscara. Mientras que en el centro se definen mejor las mesetas de solidificación. Hay una clara diferencia entre los registros del centro del cabezal y el del vástago, en los tiempos de solidificación, llegando a ser hasta tres veces mayor en la zona más gruesa de la prótesis. En la zona cercana a la superficie del vástago no se aprecia la meseta de solidificación. Se estima que el líquido al llegar solidifica casi instantáneamente al estar muy subenfriado. Al final, las pendientes en estado sólido son prácticamente las mismas, con las diferencias de temperaturas propias de cada zona.

### ***2.3.3 Análisis térmico diferencial (Curva de enfriamiento vs velocidad de enfriamiento)***

La derivada de la temperatura en función del tiempo se calculó a partir de las curvas de enfriamiento registradas que se muestran en las Figuras 2.13 y 2.14.

Al enfrentar la curva de enfriamiento con la de velocidad de enfriamiento, se observa que el primer pico superior corresponde al inicio de la reacción de solidificación. El pico inferior corresponde al cambio de pendiente en la curva de enfriamiento, que está en estrecha relación con la caída de entalpía. En el caso de  $VP$  vs  $dVP/dt$  en la Figura 2.16, no se puede observar la caída de entalpía, lo que puede atribuirse a que el equipo, o el termopar, no logró detectar el momento de la solidificación en la pared del vástago. Estos puntos son los que indican el inicio y fin de la solidificación.

Tanto en la curva de enfriamiento como en la velocidad de enfriamiento no se detectaron otras transformaciones porque no existen o posiblemente porque el calor latente liberado es muy bajo por lo que la sensibilidad del equipo no lo detecta.

Si comparamos los tiempos de solidificación en los dos puntos de una misma región (pared-centro) se observa que, en el centro de la prótesis, la meseta de solidificación culmina tiempo después que la que se encuentra en la pared, tanto en el cabezal como en el vástago.

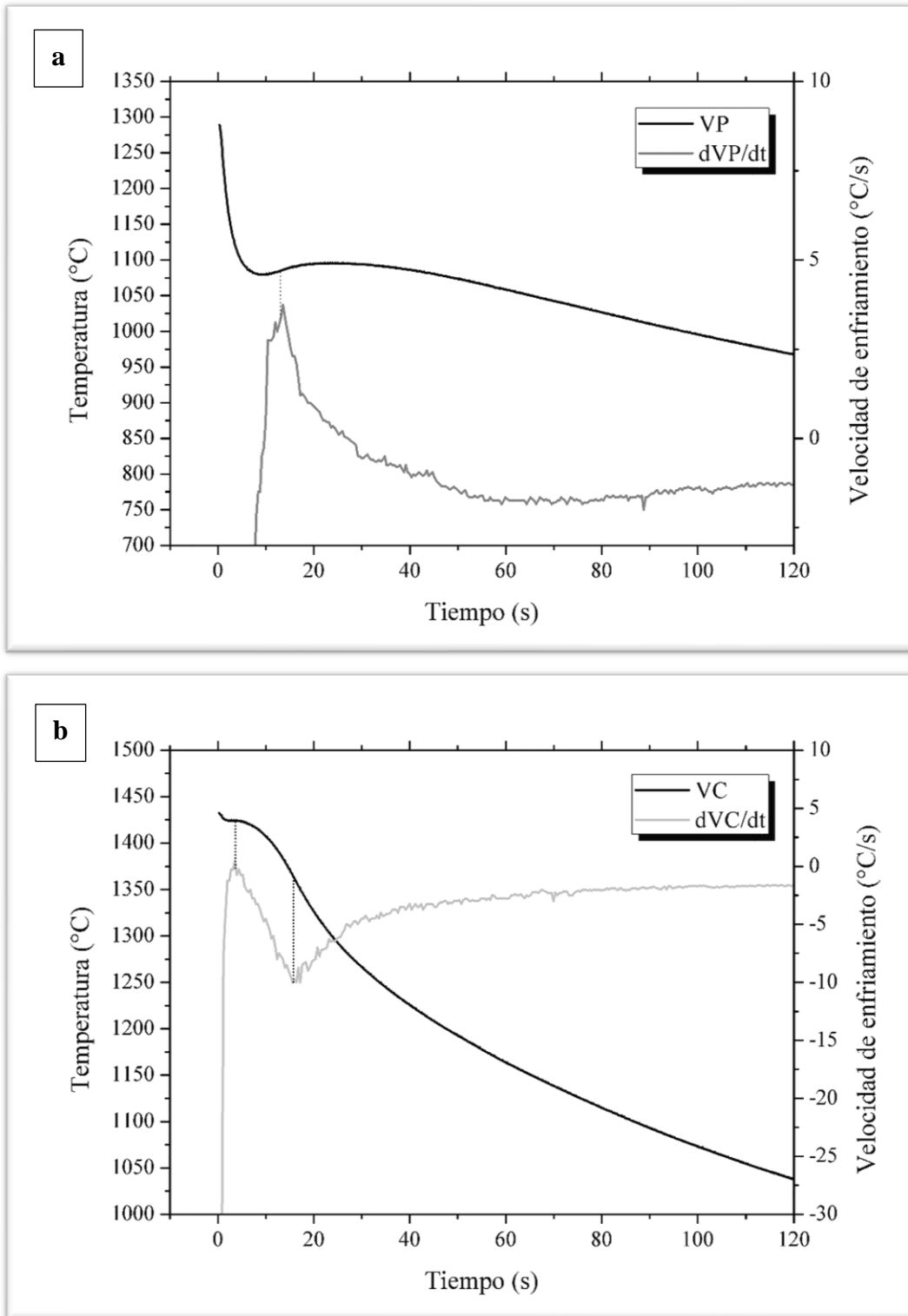


Figura 2.16 - Análisis térmico diferencial para la región del vástago de la prótesis ASTM F745. a) termopar en la pared; b) termopar en el centro.

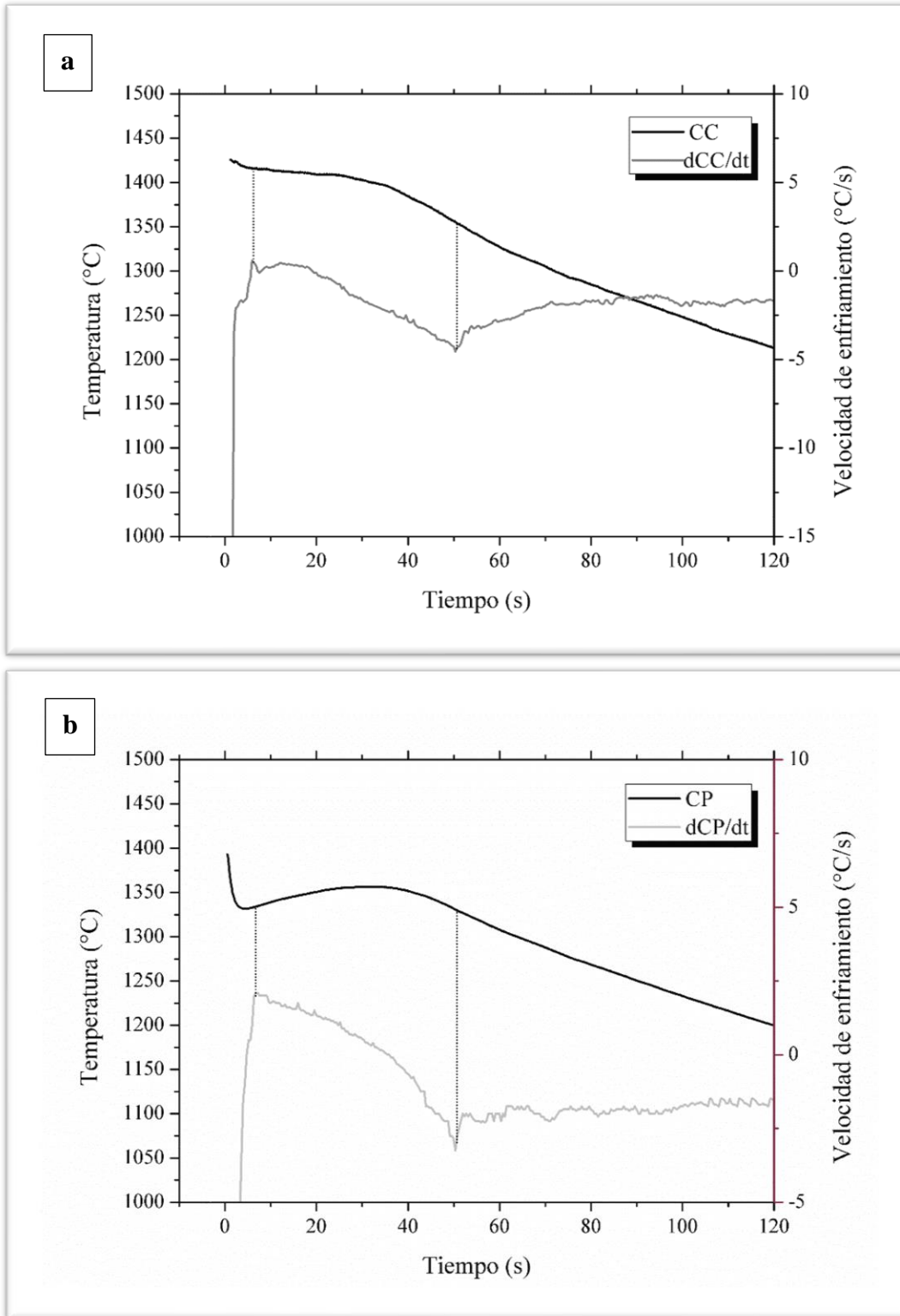


Figura 2.17 - Análisis térmico diferencial para la zona del cabezal de la aleación ASTM F745. a) termopar en el centro; b) termopar en la pared.

Al enfrentar la curva de enfriamiento con la de velocidad de enfriamiento, se observa que todas las curvas presentan mesetas que pueden interpretarse como aquellas que se producen durante la solidificación. Sin embargo, solo en la región centro del cabezal femoral  $CC$  vs  $dCC/dt$  que se muestra en la Figura 2.17, se puede apreciar los picos, que son el producto de los cambios entálpicos, correspondientes a las reacciones que dan inicio y fin a la solidificación.

En las demás curvas que se muestran en el ANEXO II, no se puede observar la caída de entalpía.

Si comparamos los tiempos de solidificación en los dos puntos de una misma región del cabezal (pared-centro) se observa que, en ambas regiones la meseta de solidificación culmina al mismo tiempo.

### ***2.3.4 Análisis de las estructuras de solidificación***

#### ***2.3.4.1 Análisis de la microestructura***

En esta sección se estudian las microestructuras de las aleaciones ASTM F745 y ASTM F75. En la Figura 2.18, se presentan las micrografías de ambas aleaciones, correspondientes a cortes transversales de la zona del vástago y cabezal femoral. La microestructura en bruto de cola obtenida en ambos materiales consistió en dendritas de austenita con el desarrollo de ramas secundarias. Además, se observa la presencia de inclusiones no metálicas de  $Al_2O_3$  en ambas aleaciones. En la aleación de acero inoxidable se puede apreciar la formación de  $\delta$ -ferrita en los espacios interdendríticos como consecuencia de la microsegregación de Cr y Mo, elementos que estabilizan dicha fase (49).

La microestructura dendrítica de la región del vástago en ambas aleaciones es más fina que la que presenta la zona del cabezal, con separaciones de los brazos dendríticos primarios  $\lambda_1$  y secundarios  $\lambda_2$  más pequeños.

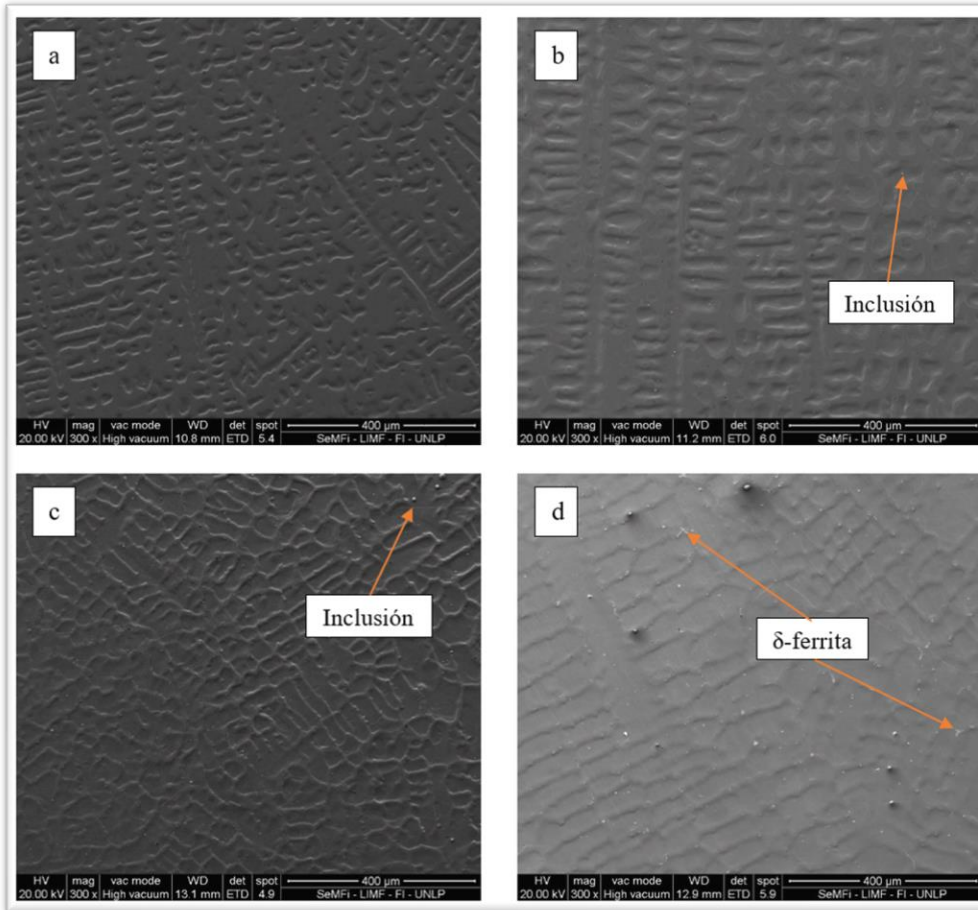


Figura 2.18 - Micrografías de las aleaciones ASTM F745 y ASTM F75 a) Vástago ASTM F75; b) Cabezal ASTM F75; c) Vástago ASTM F745; d) Cabezal ASTM F745.

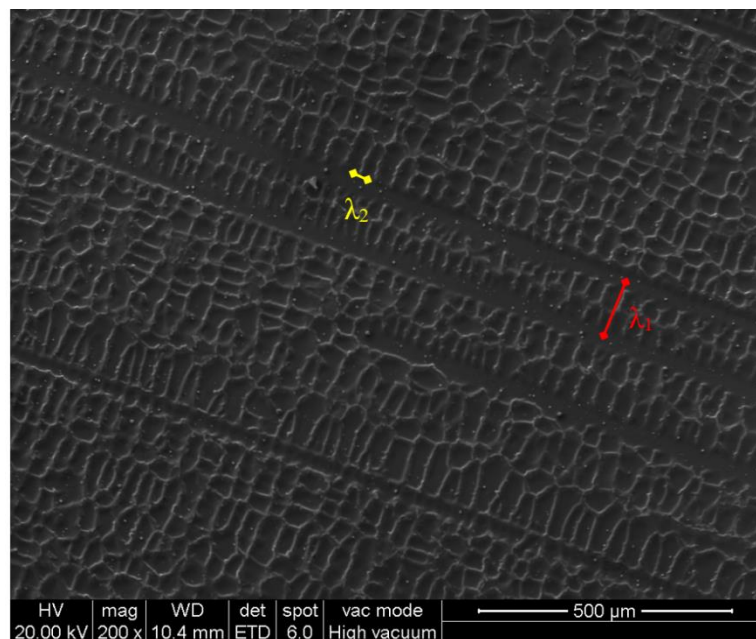


Figura 2.19 – Puntos de medición del espaciamiento dendrítico.

En la Figura 2.19, se puede observar cómo fueron medidos los espaciamientos  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  en las micrografías utilizando el método de intercepción lineal.

En la Tabla 2.9, se presentan los valores de espaciamiento dendrítico y su respectivo desvío estándar. Se puede observar que los valores de  $\lambda_1$  son mayores en la zona de acetábulo que en la zona vástago. El mismo comportamiento se observó al analizar los valores de  $\lambda_2$  para ambas aleaciones. Lo que es un resultado esperado, ya que las separaciones de los brazos dendríticos primarios y secundarios dependen inversamente del producto del gradiente térmico y velocidad de crecimiento, estando estos parámetros directamente relacionados con la velocidad de enfriamiento. Cuanto mayor es la velocidad de enfriamiento, mayores son el gradiente térmico y la velocidad de crecimiento y, en consecuencia, menor es el espacio entre los brazos dendríticos (27,37,49). Como hemos visto en la sección de curvas de enfriamiento, la región del vástago presenta valores de gradiente térmico mayores que en la zona del cabezal, como así también el tiempo de solidificación local fue menor en dicha región.

Tabla 2.4 - Espaciamiento dendrítico en las diferentes zonas de cada aleación.

	<i>Región</i>	<i>Espaciamiento dendrítico primario (<math>\mu\text{m}</math>)</i>	<i>Espaciamiento dendrítico secundario (<math>\mu\text{m}</math>)</i>
<i>ASTM F75</i>	<i>VF</i>	$49,78 \pm 21,59$	$20,38 \pm 3,99$
	<i>CF</i>	$58,15 \pm 20,18$	$38,2 \pm 6,85$
<i>ASTM F745</i>	<i>VF</i>	$52,31 \pm 19,12$	$25,68 \pm 4,17$
	<i>CF</i>	$62,42 \pm 16,45$	$51,76 \pm 9,27$



**2.3.4.2** *Análisis de la macroestructura*

Como se puede apreciar en la Figura 2.20, la estructura de granos que se obtiene es equiaxial.

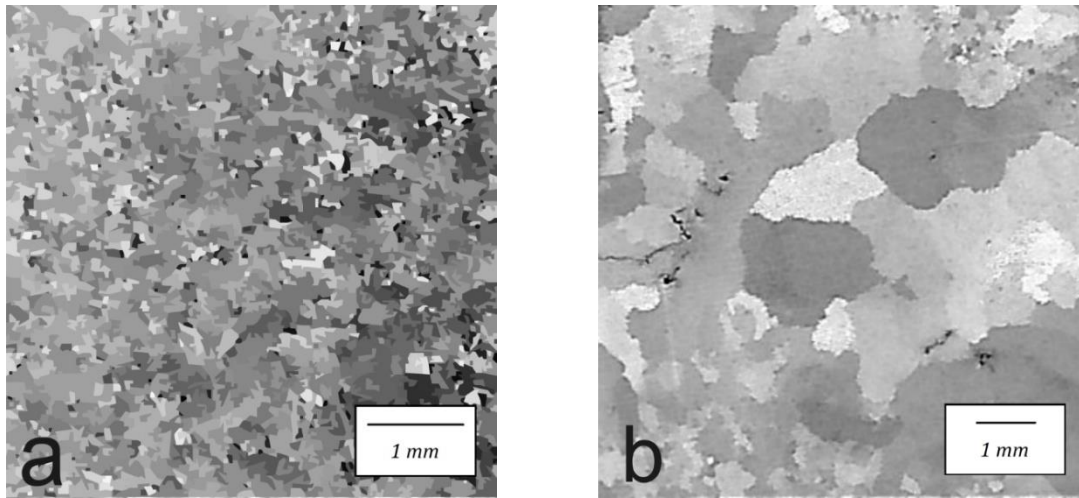


Figura 2.20 - macrografías de la aleación ASTM F75 a) VF; b) CF.

Los resultados de las mediciones de tamaño de grano y su desvío estándar se muestran en la Tabla 2.10.

Tabla 2.5 - Tamaño de grano de las diferentes aleaciones.

<b>Región</b>	<b>ASTM F75 (mm)</b>	<b>ASTM F745 (mm)</b>
<b>VF</b>	$0,26 \pm 0,18$	$0,37 \pm 0,19$
<b>CF</b>	$1,15 \pm 0,62$	$1,08 \pm 0,99$

Se puede apreciar que en ambas aleaciones el tamaño de los granos en la zona del vástago es menor que en el cabezal de la prótesis. Este comportamiento es atribuible a la mayor velocidad de enfriamiento y gradiente térmico que promueven la formación de una mayor cantidad de núcleos en la región.

### 2.3.5 *Análisis de la composición de los elementos en las aleaciones*

#### 2.3.5.1 *Variación de la composición en la macroestructura*

Las medidas de composición se realizaron en dos secciones de las probetas solidificadas “as cast”, en la sección del vástago (VF) y la sección próxima al cabezal femoral (CF), para ambas aleaciones como se muestra en la Figura 2.21.

En la Tabla 2.4, se presenta la variación del porcentaje en peso de los elementos principales (Fe, Co, Cr, Mo y Ni) de las aleaciones, en las dos secciones, y para las distintas composiciones.

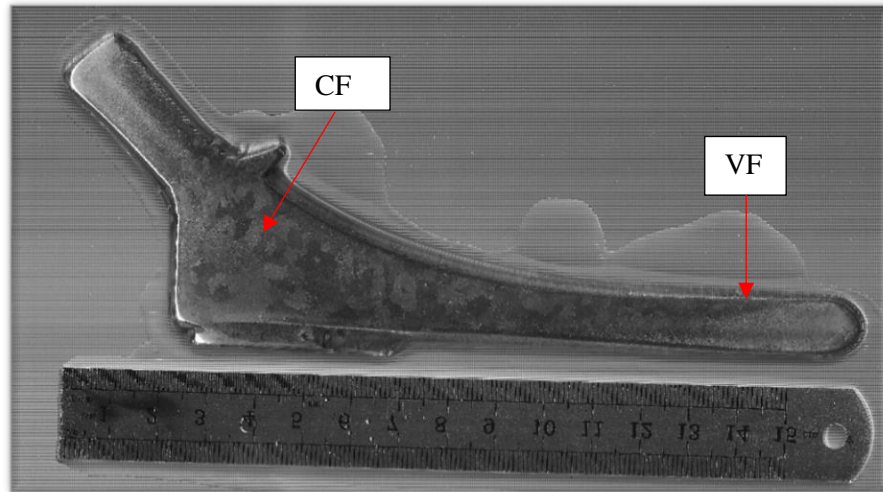


Figura 2.21 - Aleación ASTM F745, donde se puede observar las secciones donde se realizaron las mediciones de composición.

Tabla 2.6 - Composición (% en peso) en las diferentes zonas de las aleaciones

	ASTM F745		ASTM F75	
	VF	CF	VF	CF
<i>Fe</i>	61,9	67,22	0,7	0,65
<i>Co</i>	-	-	64,3	59,28
<i>Cr</i>	25,91	20,62	26,83	27,86
<i>Mo</i>	3,28	2,97	8,06	11,5
<i>Ni</i>	8,91	9,19	-	-

En la Tabla 2.4 se puede observar que para la aleación ASTM F745 los elementos aleantes Cr y Mo presentan una composición en peso mayor en la sección del vástago. En el caso del

Ni, se produce el caso contrario, la composición es menor que en la sección del vástago femoral.

Para el caso de la aleación ASTM F75, se puede observar que los elementos aleantes Cr y Mo presentan una composición en peso mayor en la sección próxima al cabezal femoral.

**2.3.5.2 Variación de la composición en la microestructura**

En la Tabla 2.5, se puede observar que la composición del Cr y Mo en la aleación ASTM F745 son muy superiores en la zona interdendrítica, donde se encuentra la mayor cantidad del soluto segregado debido a que su coeficiente de partición es  $k < 1$ ; en cambio el Ni presenta una leve segregación inversa ya que su coeficiente de partición  $k_{Ni} > 1$ . Para el caso de la aleación ASTM F75 podemos observar, de igual manera que en la aleación de acero inoxidable, que la composición del Cr y Mo aumentan considerablemente en la zona interdendrítica, esto se debe a que también en esta aleación los coeficientes de partición  $k_{Cr} < 1$  y  $k_{Mo} < 1$ , lo que promueve la segregación directa hacia el último para enfriar el líquido. Este resultado concuerda con los obtenidos por *Padilha et. al.* y *Ed-Hadad et. al.* (48,50).

Tabla 2.7 - Composición (% en peso) de las diferentes fases en la aleación ASTM F745.

	VF		CF	
	Fase $\gamma$	Interdendrítica	Fase $\gamma$	Interdendrítica
<b>Fe</b>	64,81	63,42	72,93	67,89
<b>Cr</b>	17,51	18,39	15,20	17,96
<b>Mo</b>	2,21	2,47	1,64	2,99
<b>Ni</b>	15,04	15,24	9,78	10,62
<b>Si</b>	0,43	0,48	0,45	0,53

Tabla 2.8 - Composición (% en peso) de las diferentes fases en la aleación ASTM F75.

	VF		CF	
	Fase $\alpha$	Interdendrítica	Fase $\alpha$	Interdendrítica
<b>Co</b>	69,26	60,95	68,07	46,19
<b>Cr</b>	25,76	27,91	25,69	30,03
<b>Mo</b>	4,98	11,14	4,71	22,70
<b>Fe</b>	-	-	1,53	1,08

En la Tabla 2.5, se indica que la composición del Hierro en la aleación ASTM F745 es mayor en el interior de la dendrita donde se forma la fase  $\gamma$ , y disminuye en la zona interdendrítica. Comportándose de manera totalmente contraria a la variación de los demás elementos, la concentración de Fe es mayor en el interior de la dendrita porque este elemento se segrega inversamente como consecuencia de su coeficiente de partición  $k > 1$ . Lo mismo se puede apreciar en la Tabla 2.6 para el Cobalto en la aleación ASTM F75, es mayor el contenido en el interior de la dendrita donde se forma la fase  $\alpha$ , y disminuye en la zona interdendrítica.

### 2.3.5.3 Relación de segregación de soluto

A través de EDS se analizaron los valores de concentración de los diferentes elementos de la aleación y en las diferentes zonas como se expresó en el punto anterior.

Tabla 2.9 - Valores de relación de segregación ( $I_x$ ) para las diferentes aleaciones y zona.

	ASTM F745		ASTM F75	
	VF	CF	VF	CF
<i>Fe</i>	1,02	1,07	-	1,42
<i>Co</i>	-	-	1,14	2,12
<i>Cr</i>	0,95	0,85	0,92	0,85
<i>Mo</i>	0,89	0,55	0,44	0,21
<i>Ni</i>	0,98	0,92	-	-
<i>Si</i>	0,89	0,85	-	-

Como podemos ver en la Tabla 2.7, en el caso de la aleación de acero inoxidable, el Fe es segregado hacia el cuerpo de la dendrita y los demás elementos de la aleación hacia el área interdendrítica. En el caso de la aleación ASTM F75 se observó un comportamiento similar, donde el Co es segregado hacia el cuerpo de la dendrita y los demás elementos de la aleación hacia el área interdendrítica. Al comparar los valores entre regiones, se observó en ambas aleaciones que la segregación aumenta para todos los elementos hacia las regiones mencionadas anteriormente. El Cr mostró un aumento de la segregación hacia la región interdendrítica, alrededor del 10 %, en la región CF. El Mo mostró un aumento mayor de la segregación hacia la región interdendrítica, alrededor del 50 %, en la región CF. Esto se debe a la menor velocidad de enfriamiento en la zona del cabezal femoral, por lo que aumenta el tiempo de solidificación local y esto permite una mayor difusión de los elementos que componen la aleación.

**2.3.6 Determinación de los valores de microdureza “HV”**

En la Tabla 2.6, se muestran los valores de HV para ambas fases (fases  $\Upsilon$  e interdendrítica) y sus respectivos desvíos estándar, para las aleaciones ASTM F745 y ASTM F75, en las zonas del vástago y el acetábulo.

Tabla 2.10 Valores de Microdureza HV en las diferentes fases de las aleaciones.

<i>Muestra</i>	<i>Vástago</i>		<i>Cabezal</i>	
	<i>Dendrita</i>	<i>Interdendrítico</i>	<i>Dendrita</i>	<i>Interdendrítico</i>
<i>ASTM F745</i>	272,93 ± 22,99	306,78 ± 33,73	261,99 ± 41,71	249,02 ± 20,54
<i>ASTM F75</i>	195,82 ± 15,11	248,07 ± 18,05	209,69 ± 12,36	286,61 ± 28,71

Los resultados informados en la Tabla 2.8, indican que la microdureza para la aleación ASTM F745 fue ligeramente mayor en la región del vástago respecto del acetábulo. Este resultado es el esperado, ya que las secciones más pequeñas presentan velocidades de enfriamiento mucho mayor y esto se traduce en una dureza mayor.

Además, se puede observar en la que las medidas de microdureza para la aleación ASTM F745 son mayores en la fase interdendrítica que en la fase  $\Upsilon$  producto del mayor contenido de Cr y Mo segregados.

En la aleación ASTM F75 podemos apreciar un comportamiento similar, la microdureza es mayor en la fase interdendrítica, producto de la segregación de Cr y Mo hacia esa fase. Al analizar entre las regiones de esta aleación se puede observar un comportamiento inverso al de la aleación de acero inoxidable, el molibdeno es segregado hacia la zona del acetábulo, como se puede ver la macrosegregación en la Tabla 2.4, provocando que la microdureza aumente.

**2.3.7 Relación entre microdureza HV, espaciamento dendrítico secundario y tamaño de grano**

A continuación, se presenta la relación entre la microdureza y el tamaño del espaciamento  $\lambda_2$  y la microdureza y el tamaño de los granos “g”.

**2.3.7.1** *La microdureza versus la distancia del espaciamiento dendrítico secundario  $\lambda_2$* 

El análisis de la relación entre la distancia de los espaciamientos dendríticos secundarios “ $\lambda_2$ ” y los valores de microdureza se realizaron para un total de 6 probetas (3 de ASTM F745 y 3 de ASTM F75).

La relación entre los espaciamientos dendríticos  $\lambda_2$  y los valores de microdureza se pueden observar para dos probetas de distintas composiciones (ASTM F745 y ASTM F75) en la Figura 2.22.

Se puede ver que para las dos aleaciones los valores de HV se incrementan a medida que aumentan los valores de los espaciamientos dendríticos  $\lambda_2$ .

Las relaciones entre HV y  $\lambda_2$  se obtuvieron mediante el uso de un análisis de regresión, y los resultados se dieron como:

$$HV_{745} = 171,37 \lambda_2^{0,132} \quad (2.32)$$

$$HV_{75} = 126,04 \lambda_2^{0,2254} \quad (2.33)$$

La ecuación 2.32 representa la relación entre la microdureza y el espaciamiento dendrítico secundario para la aleación ASTM F745 y la ecuación 2.33 la relación para la aleación ASTM F75.

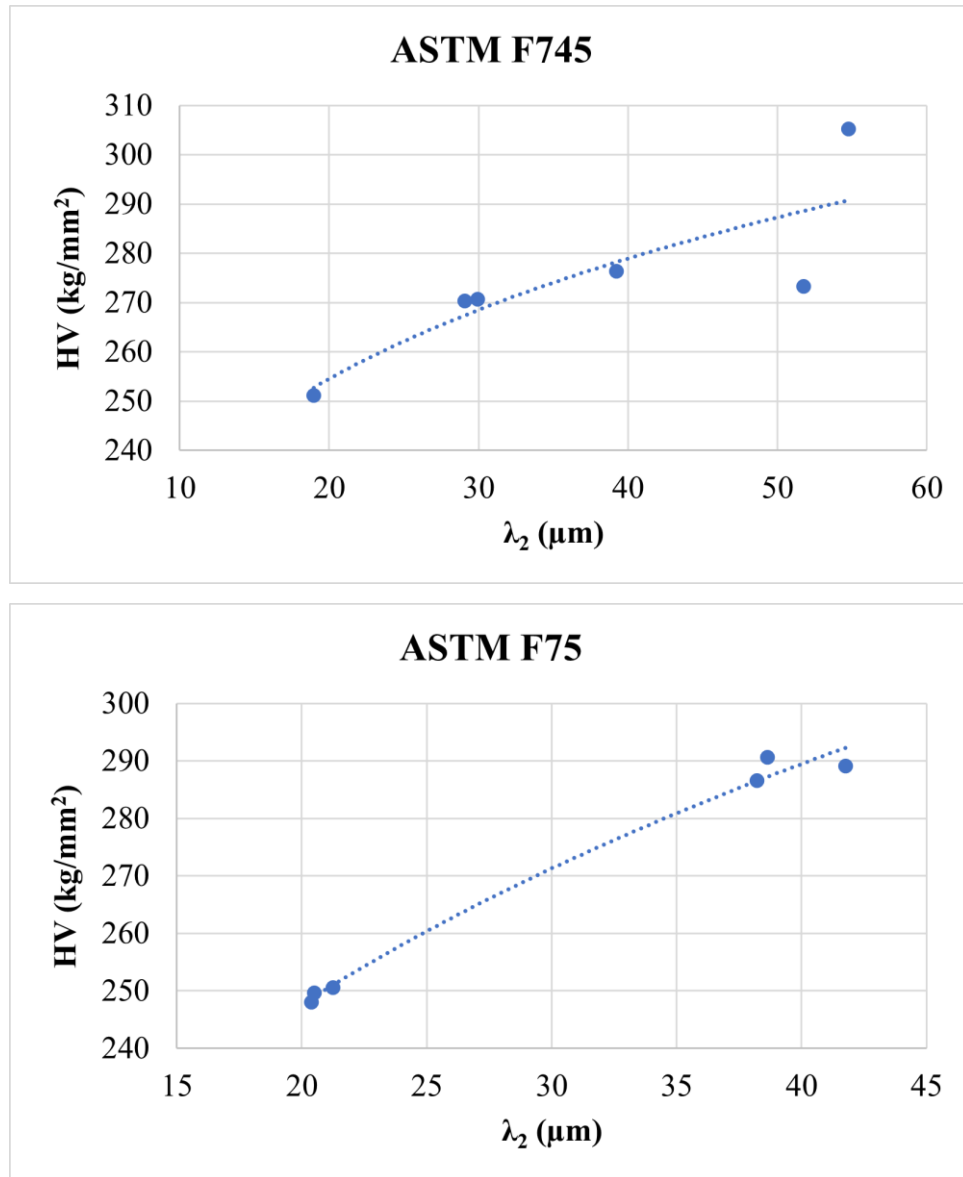


Figura 2.22 - Gráficas de microdureza vs espaciamento dendrítico secundario.

### 2.3.7.2 Microdureza versus tamaño de granos

El análisis de la relación entre los valores de microdureza y el tamaño de grano se realizaron para un total de 6 probetas (3 de ASTM F745 y 3 de ASTM F75).

Se puede observar en la Tabla 2.11, que los valores de HV disminuyen a medida que aumentan los valores del tamaño de grano en el caso de la aleación ASTM F745. Al analizar

la otra aleación ASTM F75 se puede apreciar que sucede lo contrario, la microdureza aumenta al aumentar el tamaño de grano.

Tabla 2.11 - Tamaño de grano vs Microdureza

	<b>Tamaño de grano <math>g</math></b> <b>(mm)</b>	<b>Microdureza HV</b> <b>(kg/mm<sup>2</sup>)</b>
<b>ASTM F745</b>	0,37	289,86
	1,08	255,51
<b>ASTM F75</b>	0,26	221,94
	1,15	248,15

Las relaciones entre HV y  $g$  se obtuvieron mediante el uso de un análisis de regresión, y los resultados se dieron como:

$$HV_{745} = 257,72 g^{-0,117} \quad (2.34)$$

$$HV_{75} = 245,59 g^{0,0754} \quad (2.35)$$

La ecuación 2.34 representa la relación entre la microdureza y el tamaño de grano para la aleación ASTM F745 y la ecuación 2.35 la relación para la aleación ASTM F75.

A diferencia del análisis con el espaciamiento dendrítico, el tamaño de grano tiene un comportamiento disímil en ambas aleaciones. Autores como *Ares et. al.* u *Osorio et. al.* sugieren que el espaciamiento dendrítico  $\lambda_2$  es un parámetro más importante para la determinación de las propiedades mecánicas que el tamaño de grano. Esto se debe a que el espaciamiento dendrítico es independiente de la estructura de grano (columnar o equiaxial) (72,73).



### 2.4 Conclusiones

Los tiempos de solidificación locales son mayores en la región del cabezal, lo que se debe a que esa sección contiene un mayor volumen, lo que se traduce en una extracción calórica más lenta.

En la aleación ASTM F745, se observó que el gradiente térmico en la región del cabezal femoral presenta un valor menor al compararlo con la otra zona de la pieza, lo que sugiere que la velocidad de crecimiento de la interface Sólido/Líquido es menor en esa región.

Las medidas de composición en la zona interdendrítica contiene un porcentaje mayor de Cromo y Molibdeno para ambas aleaciones. En la aleación ASTM F745, el Niquel se ve reducido en composición en esta zona. En todos los casos esté de acuerdo con lo que se espera según sus coeficientes de reparto.

Tanto el espaciamiento dendrítico primario " $\lambda_1$ " como el secundario " $\lambda_2$ ", mostraron ser mayores en la zona del cabezal femoral de la prótesis para ambas aleaciones, debido a la velocidad de enfriamiento menor.

El tamaño de grano, para ambas aleaciones, presentó mayores valores en la zona del cabezal femoral, debido a que presenta una velocidad de enfriamiento menor.

La microdureza expuso valores superiores en la región interdendrítica que en la fase  $\gamma$ , debido a la segregación de elementos como el Cr y Mo.

Existe una correlación entre los valores de microdureza Vickers y las medidas de espaciamiento dendrítico secundario. Mostrando que se incrementa la dureza a medida que aumenta los valores el espaciamiento dendrítico secundario en ambas aleaciones.

La correlación entre los valores de microdureza Vickers y tamaño de grano muestra resultados disimiles. Revelando que se incrementa la dureza a medida que aumenta los valores de tamaño de grano en la aleación ASTM F75. En la aleación ASTM F745 se observa lo contrario. Por lo que el tamaño de grano no es un buen parámetro para predecir las propiedades mecánicas en las prótesis.

## 2.5 Referencias

1. Spittle JA. Columnar to equiaxed grain transition in as solidified alloys. 2006;51(4):247–69.
2. Winegard WC, Chalmers B. Supercooling and dendritic freezing in alloy. *Trans Am Soc Met.* 1954;46:1214.
3. Chalmers B. The structure of ingots. *J Aust Inst Met* [Internet]. 1963;8(3):255–63. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0000252668&partnerID=tZOtx3y1>
4. Doherty RD, Cooper PD, Bradbury MH, Honey FJ. On the columnar to equiaxed transition in small ingots. *Metall Trans A.* 1977;8(3):397–402.
5. Bower TF, Flemings MC. Formation of the chill zone in ingot solidification. *Trans Metall Soc Aime.* 1967;16(February).
6. Biloni H, Chalmers B. Origin of the Equiaxed Zone in Small Ingots. *J Mater Sci.* 1968;3:139–49.
7. Jackson A, Hunt JD, Uhlmann DR, Seward TP. On the Origin of the Equiaxed Zone in Castings. 1966;236(February):149–58.
8. Paradies CJ, Glicksman ME. Flow Interactions with Dendritic Mushy Zones. *Interact Dyn Convect Solidif.* 1992;81–91.
9. Paradies CJ, Smith RN, Glicksman ME. The influence of convection during solidification on fragmentation of the mushy zone of a model alloy. *Metall Mater Trans A Phys Metall Mater Sci.* 1997;28(13):875–83.
10. Southin RT. Nucleation of the Equiaxed Zone in Cast Metals. *Trans Metall Soc Aime.* 1967;239:220–5.
11. Ohno A. The Formation of Cast Structures. In: *Solidification.* Berlin, Heidelberg: Springer; 1987. p. 3–41.
12. Hunt JD. Steady state columnar and equiaxed growth of dendrites and eutectic. *Mater Sci Eng.* 1984;65(1):75–83.
13. Flood SC, Hunt JD. Columnar and equiaxed growth. II. Equiaxed growth ahead of a columnar front. *J Cryst Growth.* 1987;82(3):552–60.
14. Nomura H, Qiu P, Takita M, Poolthong N. Semi-Solid Processing of Cast Iron. *Metall Trans.* 2001;42(2):303–8.
15. Patterson JP, Jones DRH. Production of rapidly cooled sheet by novel continuous-casting process. *Met Technol.* 1981;8(1):103–7.
16. Rappaz M, Thévoz PH. SOLUTE DIFFUSION MODEL FOR EQUIAXED DENDRITIC

- GROWTH. *Acta Metall.* 1987;35(7):1487–97.
17. Chalmers B. *Principles of solidification*. New York: Wiley; 1964.
  18. He Z, Zhou H, Zhang Z, Li L. The solute redistribution during solidification of Al-Si-Mg alloys. *Adv Mater Res.* 2012;368–373:979–82.
  19. Burton JA, Prim RC, Slichter WP. The Distribution of Solute in Crystals Grown from the Melt. Part I. Theoretical. 1987;1987(1953).
  20. Coriell JW, Cahn SR. Rapid Solidification [Internet]. *Laser and Electron Beam Processing of Materials*. ACADEMIC PRESS, INC.; 1980. 89–103 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-746850-1.50016-5>
  21. Jackson KA, Gilmer GH, Lea HJ, Hill M. Solute trapping PART II: Enhanced Solubilities Trappings, and Zone Refining. *Laser Electron Beam Process Mater.* 1980;104–10.
  22. Aziz MJ. Model for solute redistribution during rapid solidification. *J Appl Phys.* 1982;1158(1982):1158–68.
  23. Pfann WG. Principles Zone-Melting. *Trans Metall Soc Aime.* 1952;(July):747–53.
  24. Smith VG, Tiller WA, Rutter JW. A Mathematicak Analysis of Solute Redistribution. *J Phys.* 1955;33:723–45.
  25. Tiller WA, Jackson KA, Rutter JW, Chalmers B. The redistribution of solute atoms during solidification of metals\*. *Acta Metall.* 1953;1:428–37.
  26. Pohl RG. Solute Redistribution by Recrystallization. *J Appl Phys.* 1954;25(9):1170–8.
  27. Kurz W, Fisher DJ. *Fundamentals of Solidification*. *Trans Tech Publ.* 1984;(February 2004).
  28. He S, Li C, Guo R, Xuan W, Wang J, Ren Z. Evolution of microsegregation in directionally solidified Al–Cu alloys under steady magnetic field. *J Alloys Compd.* 2019;800:41–9.
  29. Brody HD. *Solute Redistribution in Dendrite Solidification*. the USA: Massachusetts Institute of Technology; 1965. p. 161.
  30. Clyne TW, Kurz W. Solute Redistribution During Solidification with Rapid Solid State Diffusion. *Metall Trans A.* 1981;12 A(June):965–71.
  31. Jie W. Solute redistribution and segregation in solidification processes. *Sci Technol Adv Mater.* 2001;2:29–35.
  32. Jie W. Further Discussions on the Solute Redistribution during Dendritic Solidification of Binary Alloys. *Metall Mater Trans B.* 1994;25 B(October):731–9.
  33. Maples AL, Poirier DR. Convection in the Two-Phase Zone of Solidifying Alloys. *Metall Trans B.* 1984;15B(March):163–72.
  34. Marchetti E, May O, Girard J, Hildebrand H-F, Migaud H, Pasquier G. Biomateriales en cirugía ortopédica. *EMC - Técnicas Quirúrgicas - Ortop y Traumatol [Internet]*. 2010;2(3):1–

24. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211033X10700839>
35. Szekely J, Jassal AS. An Experimental and Analytical Study of the Solidification of a Binary Dendritic System. *Metall Trans B*. 1978;9B(September):389–98.
36. Kubo K, Pehlke RD. Mathematical modeling of porosity formation in solidification. *Metall Trans B*. 1985;16(2):359–66.
37. Flemings MC. Solidification processing. *Metall Trans*. 1974;5(10):2121–34.
38. Simpson M, Flemings MC. Effects of Gravity on Interdendritic Flow: An Analytic Approach. *Metall Trans A*. 1984;15A(November):2095–7.
39. Murakami K, Shiraishi A, Okamoto T. Fluid flow in interdendritic space in cubic alloys. *Acta Metall*. 1984;32(9):1423–8.
40. Streat N, Weinberg F. Interdendritic fluid flow in a lead-tin alloy. *Metall Trans B*. 1976;7(3):417–23.
41. Wanqi J, Yaohe Z. Formation of Hot-Top Segregation in Steel Ingot and Effect of Steel Compositions. *Metall Trans B*. 1988;20B(OCTOBER):723–30.
42. Singh S, Singh R. Precision investment casting: A state of art review and future trends. *Proc Inst Mech Eng Part B J Eng Manuf*. 2016;230(12):2143–64.
43. Srinivasa R, Patil R. Characterization of Casting and Deformation Process of a Metal Alloy. *Int Res J Eng Technol*. 2017;4(2):1740–6.
44. Green-Spikesley E. Investment casting. *Int J Mater Eng Appl*. 1979;1(6):328–34.
45. Zhuang LZ, Langer EW. Effects of cooling rate control during the solidification process on the microstructure and mechanical properties of cast Co-Cr-Mo alloy used for surgical implants. *J Mater Sci*. 1989;24(2):381–8.
46. Brunski JB. *Metals: Basic Principles* [Internet]. Third Edit. Vol. 69, *Biomaterials Science: An Introduction to Materials: Third Edition*. Elsevier; 2013. 111–119 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00013-9>
47. Giacchi J V., Morando CN, Fornaro O, Palacio H a. Microstructural characterization of as-cast biocompatible Co-Cr-Mo alloys. *Mater Charact* [Internet]. 2011;62(1):53–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchar.2010.10.011>
48. Padilha AF, Tavares CF, Martorano MA, Açotécnica SA. Delta Ferrite Formation in Austenitic Stainless Steel Castings Abstract . The effects of chemical composition and cooling rate on the delta ferrite formation in austenitic stainless steels have been investigated . Ferrite fractions measured by a magnetic . 2013;732:733–8.
49. Gregorutti RW, Grau JE, Elsner CI. Microstructural, mechanical and electrochemical characterisation of biomaterial ASTM F745 cast by vacuum. *Mater Sci Technol*.

- 2012;28(6):742–7.
50. El-Hadad S, Khalifa W, Nofal A. Surface modification of investment cast-316L implants: Microstructure effects. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2015;48:320–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.038>
  51. Alvarez-Vera M, Hernández-Rodríguez A, Hernández-Rodríguez MAL, Juárez Hernández A, Benavides-Treviño JR, García-Duarte JH. Effect of cooling rate during solidification on the hard phases of M23C6-type of cast CoCrMo alloy. *Metalurgija*. 2016;55(3):382–4.
  52. Kaiser R, Williamson K, O'Brien C, Browne DJ. Effects of section size, surface cooling conditions, and crucible material on microstructure and as-cast properties of investment cast Co-Cr biomedical alloy. *Metall Mater Trans A Phys Metall Mater Sci*. 2013;44(12):5333–42.
  53. Kaiser R, Williamson K, O'Brien C, Ramirez-Garcia S, Browne DJ. The influence of cooling conditions on grain size, secondary phase precipitates and mechanical properties of biomedical alloy specimens produced by investment casting. *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2013;24:53–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2013.04.013>
  54. Ramírez LE, Castro M, Méndez M, Lacaze J, Herrera M, Lesoult G. Precipitation path of secondary phases during solidification of the Co-25.5%Cr-5.5%Mo-0.26%C alloy. *Scr Mater*. 2002;47(12):811–6.
  55. Beer-Lech K, Surowska B, Pałka K, Walczak M. Analysis of the Carbon Content Effect on the Microstructure and Thermal Behavior of Cobalt-Matrix Dental Alloy. *Int J Met* [Internet]. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1007/s40962-019-00381-6>
  56. Fleming TJ, Kavanagh A, Duggan G, O'Mahony B, Higgins M. The effect of induction heating power on the microstructural and physical properties of investment cast ASTM-F75 CoCrMo alloy. *J Mater Res Technol* [Internet]. 2019;8(5):4417–24. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.07.052>
  57. Campbell J. *Castings*. segunda. Elsevier Ltd; 2003. 329 p.
  58. Amigó Borrás V, Paolini A, Moreno Ballester JF, Vicente Escuder A, Romero Sanchis F. Estudio de la Influencia de los Tratamientos Térmicos en la Microdureza y Microestructura de la Aleación Co-Cr-Mo. *Univ Politécnica Val Actas, VII Congr Nac Propiedades Mecánicas Sólidos*. 2002;487–96.
  59. Ramírez-Vidaurre LE, Herrera-Trejo M. Effect of cooling rate and undercooling on solid fraction evolution in an ASTM F75 alloy. *Trans Indian Inst Met*. 2007;60(2–3):311–5.
  60. Ramírez-Vidaurre LE, Castro-Román M, Herrera-Trejo M, García-López C V., Almanza-Casas E. Cooling rate and carbon content effect on the fraction of secondary phases precipitate in as-cast microstructure of ASTM F75 alloy. *J Mater Process Technol*. 2009;209(4):1681–7.

61. Methods ST. F 745 - Standard Specification for 18Chromium-12 . 5Nickel-2 . 5Molybdenum Stainless Steel for Cast and Solution-Annealed Surgical Implant Applications. ASTM International. ASTM International; 2000. p. 1–3.
62. Methods ST. F 75 - Standard Specification for Cobalt-28 Chromium-6 Molybdenum Casting Alloy and Cast Products for Surgical Implants. ASTM International. ASTM International; 1998. p. 1–3.
63. Metallography and Microstructures 2004 ASM. In: ASM Handbook [Internet]. ASM International; 2004. p. 1184. Available from: <http://www.worldcat.org/oclc/42469467>
64. Petzow G. Metallographic Etching. 2nd Editio. ASM International; 1999. 200 p.
65. Voort G Vander. Metallography: Principles and Practice. ASM International; 2007. 773 p.
66. Method ST. E 384 - Standard Test Method for Microindentation Hardness of Materials. ASTM International. ASTM International; 1999. p. 24.
67. Methods ST. E 112 - Standard test methods for determining average grain size. ASTM International. ASTM International; 1996. p. 1–26.
68. Boyer HE, Gall TL. Metals Handbook Desk Edition. Second Edi. Davis JR, editor. ASM International; 1998.
69. Ares AE, Gueijman SF, Schvezov CE. An experimental investigation of the columnar-to-equiaxed grain transition in aluminum – copper hypoeutectic and eutectic alloys. *J Cryst Growth* [Internet]. 2010;312(14):2154–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2010.04.040>
70. Gueijman SF, Schvezov CE, Ares AE. Vertical and Horizontal Directional Solidification of Zn-Al and Zn-Ag Diluted Alloys. *Mater Trans*. 2010;51(10):1861–70.
71. Jacek N, Dariusz S, Krzysztof K, Hubert M, Maciej M, Waldemar Z. Influence of process parameters on cooling conditions in nickel base superalloy investment casting. *Key Eng Mater*. 2015;641:124–31.
72. Osório WR, Garcia A. Modeling dendritic structure and mechanical properties of Zn-Al alloys as a function of solidification conditions. *Mater Sci Eng A*. 2002;325(1–2):103–11.
73. Ares AE, Schvezov CE. The effect of structure on tensile properties of directionally solidified Zn-based alloys. *J Cryst Growth* [Internet]. 2011;318(1):59–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2010.11.112>

## Capítulo 3 - Electroquímica en los implantes metálicos

### 3.1 Marco teórico

Los bioimplantes se utilizan cada vez más en la ingeniería reconstructiva de tejidos para mejorar la calidad de vida de las personas. Además, en traumatología, los implantes de carga se utilizan para el reemplazo de rodilla y cadera. Un aspecto importante de las aleaciones utilizadas para estos fines es que deben ser aceptadas por el cuerpo humano sin causar efectos adversos como alergia, inflamación y toxicidad. Asimismo, deben ser resistentes a la corrosión y al desgaste porque promueven la liberación de iones metálicos a los tejidos, lo que afecta la biocompatibilidad y el rendimiento mecánico de implantes. La resistencia a la corrosión puede verse afectada por el entorno fisiológico del cuerpo humano, que se compone de sangre y otros componentes como sodio, proteínas, minerales, aniones ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{-2}$ , etc.), cationes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ , etc.) y oxígeno disuelto. El equilibrio de las reacciones de corrosión en el bioimplante puede ser alterado por moléculas biológicas debido al consumo de productos en las reacciones anódicas y catódicas. Otro factor que debe considerarse es la variación del pH. El cuerpo humano normalmente mantiene el nivel de pH cercano a 7,4, pero este valor puede ser alterado por diferentes circunstancias. Accidentes, desequilibrios en el sistema biológico causados por enfermedades e infecciones o secreciones de células inflamatorias y hematomas podría causar variaciones en el pH entre 4 y 9. Además, después de la cirugía, el pH puede variar entre 5,3 y 5,6 cerca del implante (1–4).

La aleación de cobalto-cromo-molibdeno ASTM F75 y el acero inoxidable ASTM F745 se usa ampliamente como biomaterial debido a su alta resistencia mecánica y alta resistencia a la corrosión y al desgaste (5–11). Estas propiedades están directamente relacionadas con la microestructura del material, que está determinada por el proceso de fabricación. El proceso Investment Casting (IC), es uno de los métodos utilizados para elaborar implantes quirúrgicos (12), debido a su bajo costo y porque permite producir dispositivos cuya geometría sería difícil de procesar mediante el forjado en frío y en caliente, como las prótesis de articulación de rodilla. Las principales características a tener en cuenta en una microestructura en bruto de la colada ("as cast") son el espacio dendrítico primario y secundario, y la microsegregación en las regiones interdendríticas. En IC, estos parámetros están definidos por las temperaturas de la masa fundida y el molde de la carcasa (13,14). Además, la presencia de oxígeno en la

atmósfera durante los diferentes pasos del proceso de fundición promueve la formación de inclusiones no metálicas. Estas partículas pueden producir fallas por fatiga mecánica, corrosión o una combinación de ambas (15,16). La variación en la macro y la microestructura podría provocar cambios en la superficie que pueden afectar el comportamiento electroquímico de los bioimplantes, lo que depende de varios factores como tamaño y morfología de los granos, la densidad límite de los granos, la orientación, la disposición dendrítica, la distribución del soluto y el comportamiento anódico y catódico de cada componente de aleación (17–25). El objetivo de este segmento es evaluar y comparar la resistencia a la corrosión a través de técnicas de polarización cíclica y espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) en diferentes regiones de una prótesis de cadera fundida en ASTM F75 y ASTM F745 obtenida por IC. Los análisis se realizaron a pH ácido y alcalino, y a dos temperaturas: 37 y 42 ° C.

### ***3.1.1 Fundamentos de los mecanismos de corrosión***

#### *3.1.1.1 Conceptos generales*

El estudio de la corrosión consiste en la investigación del deterioro de los materiales por el medio en el que son usados. Los materiales metálicos, como los que se utilizan en la elaboración de prótesis, se ponen en contacto con un ambiente agresivo y forman un sistema termodinámicamente inestable (26).

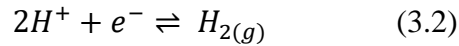
Los procesos de corrosión pueden ser clasificados según el medio en corrosión química y corrosión electroquímica. Esta última, es de nuestro interés ya que es el proceso al cual se somete la prótesis al introducirla al cuerpo humano.

La corrosión en dichas circunstancias implica una reacción electroquímica donde se produce la transferencia de electrones. Una reacción electroquímica consta de dos semireacciones.

La semireacción anódica es una reacción de oxidación que libera electrones, por ejemplo, un metal que se convierte en iones metálicos se muestra en la ecuación 3.1. La otra semirreacción catódica es un proceso de reducción que gana electrones, por ejemplo, una reducción de protones forma gas hidrógeno en la ecuación 3.2. Las dos semireacciones unidas forman una reacción electroquímica general que es lo que ocurre en la corrosión:







Las reacciones en la corrosión pueden ser examinadas por dos teorías básicas. La primera con un desarrollo termodinámico que caracteriza las fuerzas impulsoras de las reacciones de corrosión, revelando si las reacciones del sistema pueden ocurrir. La otra teoría se introduce en los procesos cinéticos relacionados con la velocidad de reacción, dando una noción de la rapidez con la que ocurren los procesos de corrosión.

Al introducirnos en el análisis termodinámico, la fuerza impulsora que permite que una reacción ocurra, viene dada por el cambio de energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ). Cuando  $\Delta G$  es negativo, la reacción correspondiente transcurre espontáneamente.

$\Delta G$  está asociado con el potencial de electrodo según la ecuación 3.3:

$$\Delta G = -nFE \quad (3.3)$$

donde  $n$  es el número de electrones intercambiados (equivalentes/mol),  $F$  es la constante de Faraday y  $E$  es el potencial de electrodo (de la semireacción) que los electrones deben superar para transferir al medio.

Para la reacción global la expresión de energía libre es similar, donde  $E$  es el potencial de la celda electroquímica dado por la ecuación 3.4:

$$E_{Celda} = E_{Cátodo} - E_{Ánodo} \quad (3.4)$$

Los potenciales estándar de los electrodos vienen establecidos para soluciones 1 M y a una temperatura de 25°C, pero no es de interés práctico trabajar en esas condiciones. Para determinar los potenciales que corresponden a diversas concentraciones y temperaturas, se recurre a la denominada ecuación 3.5, propuesta por Nernst:

$$E_{eq} = E^0 - \frac{RT}{nF} \log \frac{a_{oxidadas}}{a_{reducidas}} \quad (3.5)$$

donde  $E_{eq}$  es el potencial de equilibrio en las nuevas condiciones,  $E^0$  es el potencial normal de electrodo (obtenido de la tabla correspondiente),  $R$  la constante de los gases (8,314 J/(K mol)),  $T$  la temperatura de trabajo (en K),  $n$  el número de electrones intercambiados en la reacción,  $F$  la constante de Faraday, y  $a_{oxidadas}$  y  $a_{reducidas}$  las actividades de las especies oxidadas y reducidas.

Es preciso resaltar el significado práctico del potencial de equilibrio  $E_{eq}$ . A dicho potencial, las velocidades de las reacciones para la reacción, como se muestra en la Figura 3.1, son iguales tanto de izquierda a derecha como de derecha a izquierda, por lo que no existirá una producción neta de ningún producto. Si se aplica al sistema un potencial por encima del de equilibrio ( $E > E_{eq}$ ), la termodinámica (ecuación de Nernst) indica que el sistema reaccionará aumentando el contenido de iones  $M^+$  en solución, por lo que las especies oxidadas son las estables (por favorecerse el proceso de corrosión), mientras que a potenciales por debajo del de equilibrio, las especies reducidas son las estables (al favorecerse el proceso de reducción).

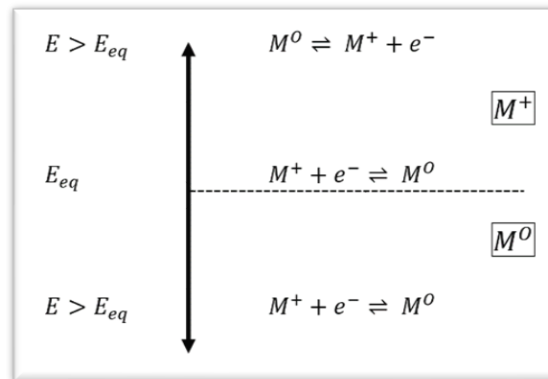


Figura 3.1 - Reacciones según el potencial de equilibrio.

El otro factor que rige la corrosión es el proceso cinético que determina qué tan rápido ocurre. Las reacciones electroquímicas “producen” o “consumen” electrones, por lo que la velocidad del flujo electrónico desde o hacia la interfase que reacciona, es una medida de la velocidad de reacción. El flujo electrónico es medido frecuentemente como corriente,  $I$ , en Amperes, donde 1 Ampere es igual a 1 coulomb de carga ( $6,2 \cdot 10^{18}$  electrones) por segundo.

La proporcionalidad entre la velocidad de reacción,  $r$ , (en moles/s) está dada por la Ley de Faraday, como se expresa en la ecuación 3.6.

$$r = \frac{I}{nF} \quad (3.6)$$

donde  $F$  es la constante de Faraday (96500 coulomb/equivalente) y  $n$  es el número de electrones intercambiados en la reacción (equivalentes/mol). La corriente se expresa en términos de densidad de corriente ( $i$ ), dividiendo la corriente ( $I$ ) por el área ( $a$ ) donde las reacciones se llevan a cabo, la velocidad de reacción también estará expresada por unidad de área ( $\text{moles s}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ ).

La energía de activación del proceso ( $\Delta G^*$ ) es un factor que influye en la velocidad de reacción química. Teniendo en cuenta la ecuación de Arrhenius, para un rango de temperaturas moderadas, la velocidad de reacción se puede expresar de la forma de la ecuación 3.7.

$$r = A e^{-\frac{\Delta G^*}{RT}} \quad (3.7)$$

donde  $A$  es el “factor preexponencial”,  $R$  es la constante de los gases y  $T$  la temperatura absoluta. Si igualamos las ecuaciones 3.6 y 3.7, teniendo en cuenta la densidad de corriente, podemos llegar a la ecuación 3.8.

$$i_0 = nFA e^{-\frac{\Delta G^*}{RT}} \quad (3.8)$$

Donde  $i_0$  es la densidad de corriente de intercambio, dado que el equilibrio es dinámico, ya que en esas condiciones la velocidad de la reacción de reducción es igual a la velocidad de la reacción de oxidación (26).

Por supuesto que en el equilibrio no hay un flujo neto de corriente, ya que la velocidad de generación de electrones por oxidación es exactamente igual a la velocidad de consumo de electrones por reducción. Por ese motivo, la medida directa del valor de  $i_0$  resulta imposible.

Por otro lado, muchos elementos pueden formar una barrera cinética conocida como la película pasiva (generalmente una capa de óxido) formada sobre una superficie metálica. La cual reduce el intercambio de electrones que permite que las reacciones de oxidación y reducción sucedan. Cr y Ti, dos elementos de uso común en aleaciones de implantes, son muy activos de acuerdo con la termodinámica (27). Sin embargo, las películas pasivas formadas espontáneamente en estos dos metales son muy densas e intactas, evitando la disolución activa de sustratos metálicos. Esta pasivación de Cr y Ti permite que las aleaciones tales como acero inoxidable, Co-Cr-Mo y Ti posean una alta resistencia a la corrosión.

### 3.1.1.2 Tipos de corrosión en los implantes

La corrosión que se suele observar en los implantes puede ser general o localizada. La corrosión general implica la disolución uniforme de la superficie metálica, mientras que el ataque localizado ocurre en sitios específicos de una superficie metálica, donde aumenta la velocidad de disolución local. Para las aleaciones utilizadas en implantes de cadera, los tipos más relevantes son la corrosión localizada, como la corrosión galvánica, el picado, la corrosión en rendijas y la corrosión asistida mecánicamente.

La **corrosión galvánica** es un proceso electroquímico por el cual los metales pueden formar un par galvánico en un medio electrolítico. Todos los metales están dentro del espectro conocido como la serie electroquímica, en función de sus potenciales de reducción. El metal más activo, con un potencial de electrodo más bajo, tiende a oxidarse preferentemente a su otro par. Esto se debe a la fuerza impulsora de la diferencia de potencial de electrodo que se genera entre estos dos metales.

Estudios *in vitro* mostraron que el acero inoxidable forma un par galvánico con cualquier otra combinación de metal excediendo el umbral de resistencia a la corrosión. Por su parte, las aleaciones de titanio forman pares galvánicos teóricamente estables con aleaciones de cobalto y otras aleaciones de titanio utilizadas en cirugía ortopédica, debido a que la velocidad de corrosión es muy baja. Esto fue corroborado al no encontrarse casos de corrosión generalizada en las interfaces Co-Ti de implantes recuperados (28–31).

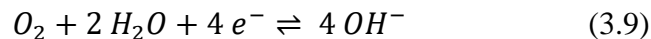
Para el caso de implantes que permanecen en un ambiente poco agresivo, la película pasiva formada en la superficie del metal sirve de barrera eficaz contra la corrosión, siendo el riesgo de corrosión galvánica insignificante (32).

Por otro lado, la Comisión Técnica de Materiales de la Association for Osteosynthesis / Association for the Study of Internal Fixation AO/ASIF, en 1998, recomendó que “Se debe evitar la unión o contacto de implantes de acero inoxidable con implantes de aleación de titanio y cobalto sin alea”.

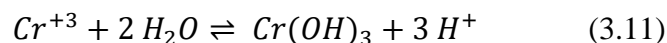
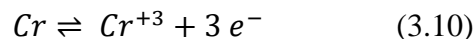
Las películas pasivas que forman los óxidos poseen una notable capacidad para proteger a una amplia gama de metales y aleaciones, utilizados en las prótesis, contra la corrosión. Pero, las películas pasivas a menudo se rompen en ciertas áreas y es allí donde son susceptibles a

la corrosión localizada. Las formas más comunes de ataque localizado son la corrosión en rendijas y picado.

La **corrosión por rendijas** ocurre dentro de espacios confinados o debajo de superficies metálicas protegidas. Esto ocurre en espacios geométricos como las interfaces modulares de los implantes de cadera. Al comienzo, la reducción de oxígeno se produce tanto en la superficie metálica expuesta al electrolito como en la parte de la superficie metálica dentro de la rendija. Sin embargo, la superficie de metal que no se encuentra en la situación de rendija, esto quiere decir que se encuentra expuesto al electrolito en general posee una concentración de oxígeno estable. Por el contrario, dentro del espacio libre en la rendija, el oxígeno se agota debido a la dificultad de difusión en esta. Por lo tanto, se produce una diferencia en la concentración de  $O_2$  entre la solución del exterior y la del interior de la rendija, lo que se convierte en la fuerza impulsora que hace que el metal expuesto a una menor concentración de  $O_2$  tenga un potencial más negativo para la reducción de oxígeno. Esta diferencia de potencial de electrodo entre el metal interno y externo iniciará la corrosión de los metales en la rendija. Un ejemplo de las reacciones electroquímicas en la corrosión por rendijas, para el metal que se encuentra fuera de la rendija (cátodo), se expresa en la ecuación 3.9.



Para el metal en el interior de la rendija (ánodo), las reacciones están dadas por las ecuaciones 3.10 y 3.11.



Como se observa en la reacción anódica, la composición electrolítica dentro de la rendija se volverá ácida, debido a la hidrólisis provocada por los cationes metálicos. Este electrolito se vuelve más agresivo provocando la ruptura de la capa pasiva y continuará disolviendo el elemento metálico.

En la **corrosión por picado** se produce la descomposición localizada de las películas pasivas, generalmente causadas por iones halógenos como el cloruro, lo que lleva a la formación

posterior de hoyos en estos sitios. El ion cloruro es un fuerte donante de electrones con un volumen relativamente pequeño y alta difusividad. Al mismo tiempo, tiende a interactuar con los aceptores de electrones, como los cationes metálicos, lo que da como resultado la descomposición de la película pasiva. La corrosión por rendijas y picado difieren en sus mecanismos de iniciación, pero comparten un mecanismo de propagación similar (33).

Por lo general, las aleaciones de acero inoxidable tipo AISI 316L son más susceptibles a la corrosión por picado y rendija que las aleaciones de CoCr y Ti (34–36). Esto puede atribuirse a la variación en el contenido de los aleantes como Cr y Mo que afectan a la resistencia a la corrosión. En las aleaciones de Co el contenido de Cr y Mo es mucho mayor que en los aceros inoxidables, lo que hace que sean menos susceptibles a la corrosión localizada (37). Las condiciones de la superficie, como la rugosidad, pueden impactar en el comportamiento ante la corrosión localizada (32).

La **corrosión intergranular** es una forma de corrosión localizada que acontece por la disolución preferencial de las zonas correspondientes a los límites de grano. El fenómeno tiene gran importancia ya que puede afectar las propiedades mecánicas de un sistema, debido a que una cantidad relativamente pequeña de material atacado, se puede desintegrar totalmente una pieza metálica (26).

Estudios previos, realizados en implantes recuperados, analizaron la corrosión intergranular como un mecanismo de degradación en las aleaciones a base de cobalto, sin lograr hasta el momento ninguna tendencia en la que los límites de grano, si los hay, son menos susceptibles a la corrosión (37).

La **corrosión por desgaste** generalmente ocurre cuando las películas pasivas se dañan por el desgaste mecánico. Comúnmente se observa en los implantes modulares la corrosión por fricción y la tribocorrosión.

La corrosión por fricción se produce por el desgaste inducido por micromovimientos en implantes modulares, el cual rompe la película pasiva exponiendo el metal libre al medio corrosivo hasta que se forme una nueva película pasiva (38–40).

La tribocorrosión se usa para describir la corrosión asistida por desgaste en áreas específicas como la superficie de la articulación, se caracteriza por una gran amplitud del desgaste. La

consecuencia directa de la tribocorrosión es la liberación de restos de desgaste de los materiales del rodamiento (41–43).

### *3.1.1.3 El ambiente biológico que enfrentan los materiales metálicos*

En condiciones normales el fluido corporal es un ambiente relativamente suave de una solución buffer a un pH aproximado de 7,4 a unos 37°C. Sin embargo, se encuentran en él una gran cantidad de elementos que pueden promover procesos corrosivos en las prótesis implantadas, como ser los iones cloruro, proteínas, aminoácidos, caída de pH localizada y oxidantes inducidos por células (4,44–46). Además, la concentración de oxígeno disuelto en los fluidos corporales es lo suficientemente alta como para retrasar la regeneración de la película de óxido superficial y se liberan grandes cantidades de iones metálicos cuando la película se rompe. La concentración de los iones cloruro en el líquido sinovial es similar a la del suero, además contiene glúcidos, lípidos y proteínas (47).

El pH del fluido corporal por lo general permanece constante, pero en ciertas circunstancias como cuando recién se implanta la prótesis puede disminuir hasta valores cercanos a 5 y luego se recupera a valores normales. En otros casos, se observó la caída en los valores de pH en implantes revisados debido a la corrosión por rendija (48).

Sin embargo, el pH puede cambiar de acuerdo con la disociación de la proteína en el fluido corporal y su punto isoeléctrico (generalmente 5–7). Esta disminución puede acelerar la corrosión de las aleaciones utilizadas en los implantes de cadera. La presencia de proteínas en el entorno fisiológico afectará la corrosión de los materiales metálicos al cambiar la mecánica y la cinética de las reacciones de corrosión en la superficie de estos (49–52).

Por lo tanto, es extremadamente difícil simular el entorno exacto in vivo en una configuración de laboratorio.

### *3.1.2 Mecanismo de liberación de iones y partículas*

En las aleaciones del tipo Co-Cr-Mo, al formarse una película pasiva en la superficie se favorece la liberación de iones preferentemente de cobalto. La pasivación de las aleaciones de Co-Cr-Mo se produce naturalmente al entrar en contacto con el aire, con un espesor aproximado de 2 nm; la película que se forma al sumergir la aleación en agua desionizada se compone mayormente de  $Cr_2O_3$  y  $MoO_3$ , que se distribuyen más hacia la capa interna de la

película de óxido,  $Cr(OH)_3$ , y en menor proporción aparecen especies oxidadas que contienen Co. Al sumergir las muestras en solución de Hanks, que simulan el comportamiento de los fluidos corporales, el cobalto se disuelve y quedan en el óxido superficial las especies  $Cr^{+3}$ ,  $Mo^{+4}$ ,  $Mo^{+5}$ ,  $Mo^{+6}$  y disminuye la formación de hidróxidos de Cr (53,54).

En pruebas de inmersión estática, la cantidad de iones de Cr liberados de los implantes es extremadamente baja comparado con los demás iones. Sin embargo, en implantes de largo plazo elaborados en la aleación tipo Co-Cr-Mo, se observaron elevados contenidos de Cr y Co en sangre y orina, en pacientes con reemplazos metálicos de cadera. La liberación de Cr se asocia a la irrupción de la película pasiva provocado por el desgaste mecánico (4,55).

### ***3.1.3 Determinación de las propiedades electroquímicas***

#### ***3.1.3.1 Curvas de polarización potenciodinámicas***

Denominamos curva de polarización a la gráfica que obtenemos de la densidad de corriente en función del potencial. Un material metálico, al estar expuesto a un medio, puede encontrarse al potencial de equilibrio termodinámico, donde se producirá intercambio de iones entre ambos, pero no habrá pasaje neto en ninguna dirección. Por otro lado, al circular una corriente neta el potencial del metal varía, dando lugar a un sobrepotencial. El sobrepotencial define el comportamiento del metal y puede mantenerse arbitrariamente en cualquier valor. Si el sobrepotencial es positivo, en la interfase metal-solución circulará una corriente positiva y el material se oxidará. En la práctica se mide la corriente que circula para diferentes sobrepotenciales aplicados, de esa manera se obtiene la curva de polarización (26).

En la Figura 3.2 se muestra un ejemplo de curva de polarización potenciodinámica. Podemos observar que, el barrido en el sentido anódico inicia en el punto 1 y progresa adquiriendo valores en el sentido de los potenciales positivos hasta el punto 2 que es el punto en el que se invierte el sentido, realizando un barrido en el sentido catódico, el progreso ahora es en sentido de los potenciales negativos hasta llegar al punto 3 donde se atravesó la intersección con la curva de barrido anódico.



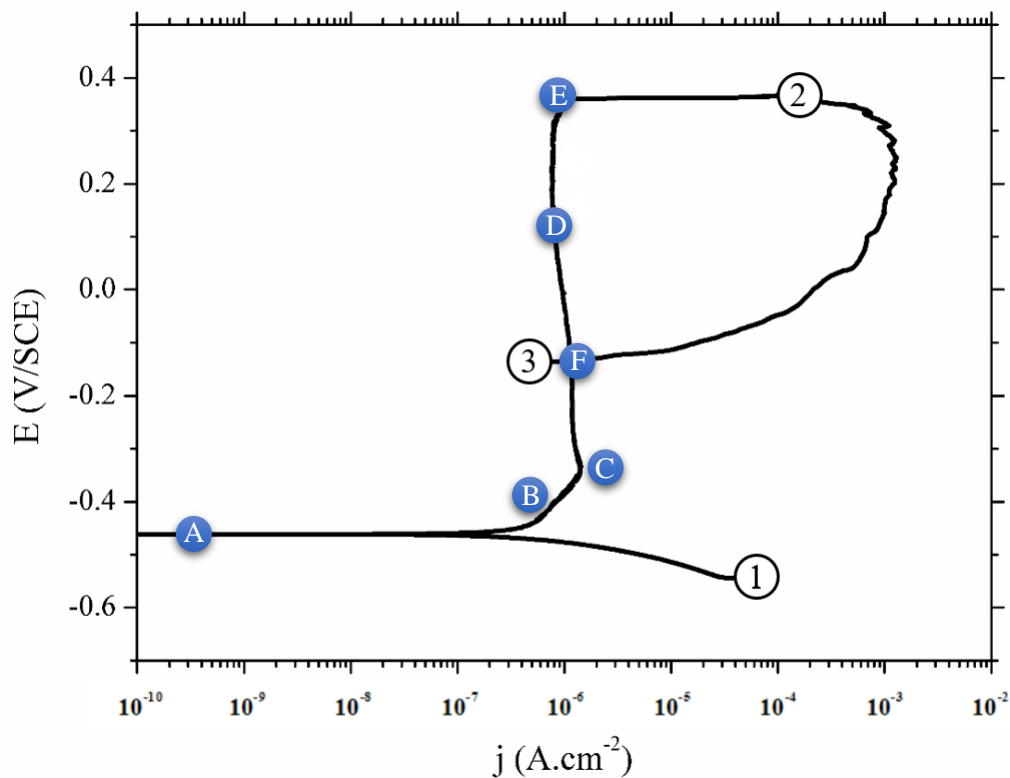


Figura 3.2 - Curva de polarización potenciodinámica.

Se pueden destacar algunos puntos de interés en la curva, en el punto A se encuentra el potencial de circuito abierto ( $E_{corr}$ ), donde la suma de las corrientes anódicas y catódicas es cero, la corriente medida es nula. A medida que progresa el ensayo entramos en la zona B donde la reacción dominante es la oxidación metálica, y es denominada zona de disolución activa. El punto C es el potencial de pasivación, a partir del cual, a medida que el potencial aumenta la densidad de corriente disminuye hasta alcanzar un valor de corriente bajo e independiente del potencial, denominada corriente del estado pasivo, en ese punto estamos en la zona D. Al alcanzarse el potencial del punto E la película pasiva se rompe y la densidad de corriente aumenta rápidamente. Este punto se conoce como potencial de picado ( $E_{pit}$ ) o de ruptura de película pasiva, en algunos casos este aumento puede ser producto de cambios en el estado de oxidación de los elementos que conforman la película. Una vez que se llega al punto 2 y se invierte el sentido del barrido, lo que observamos es la formación de un ciclo de histéresis (diferencia entre el barrido ascendente y descendente) hasta alcanzar el punto F donde apreciamos que el ciclo de histéresis se cierra durante el barrido descendente después

de la propagación de la corrosión localizada, a ese punto lo denominamos potencial de repasivación ( $E_{rp}$ ) (56).

*Shih et. al.* (57) analizaron tanto *in vitro* como *in vivo*, mediante técnicas de polarización cíclica, el efecto de diferentes procesos de pasivación en la resistencia a la corrosión. Concluyeron que las propiedades del óxido formado en la superficie es un factor predominante para explicar la resistencia a la corrosión a diferencia del espesor del de este, que presenta relevancia menor.

### 3.1.3.2 Espectroscopía de impedancia electroquímica

La técnica permite realizar una caracterización dinámica a través de la aplicación de una perturbación senoidal de potencial eléctrico de pequeña amplitud y frecuencia variable al material estudiado y, el registro de la respuesta en corriente dentro de una celda electroquímica. La impedancia se define como el cociente entre el potencial aplicado y la intensidad medida a la salida (58). Al no ocasionar cambios en el material a ensayar, la señal de baja amplitud brinda información más real sobre el comportamiento del sistema y, por medio de la variación de la frecuencia de perturbación en un amplio rango, podemos detectar mediante un único experimento la mayoría de los procesos de relajación que se producen en la interfase metal/electrolito.

A partir de las mediciones de desfase y de amplitud de la respuesta, es posible obtener la impedancia de transferencia electroquímica del material estudiado ( $Z^*$ ) como se expresa en la ecuación 3.12. La corriente resultante tiene igual frecuencia que el potencial aplicado, pero la magnitud y fase son diferentes (58).

$$Z^* = \frac{E_0}{I_0} = \frac{E_0 \operatorname{sen}(\omega t)}{I_0 \operatorname{sen}(\omega t + \varphi)} = Z_0 \frac{\operatorname{sen}(\omega t)}{\operatorname{sen}(\omega t + \varphi)} \quad (3.12)$$

Donde  $E_0$  es el potencial,  $I_0$  es la intensidad,  $\omega$  es la frecuencia y  $\varphi$  es el desfase. De esta manera, podemos expresar la impedancia en función de una magnitud  $Z_0$  y un desfase  $\varphi$ .

La impedancia es un número complejo por lo que la podemos representar en coordenadas cartesianas o polares, la relación entre ambas se expresa en la ecuación 3.13. De la parte real  $Z'$  se puede calcular la resistencia  $R$  y de la parte imaginaria  $Z''$  la capacitancia  $C$ .

$$Z^* = a \cos(\varphi) + b \operatorname{sen}(\varphi) = Z' + Z''i = R - \frac{1}{\omega c} \quad (3.13)$$

$$|Z| = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (3.14)$$

$$\tan(\varphi) = \frac{b}{a} \quad (3.15)$$

La técnica de correlación de una onda seno es el método más preciso para medir la impedancia. Mide una frecuencia por vez y al realizar un barrido de la frecuencia de señal aplicada se construye el espectro. La señal medida se multiplica con una onda seno y una onda coseno de referencia obtenida del generador e integrada sobre el total del número de ciclos.

Los resultados obtenidos en el ensayo de EIS se representan gráficamente de dos maneras. El **Diagrama de Bode**, donde se representa el logaritmo del módulo de la impedancia ( $\log|Z|$ ) y el desfase ( $\varphi$ ) en función del logaritmo de la frecuencia ( $\log \omega$ ). El **Diagrama de Nyquist**, donde se representa la parte imaginaria multiplicada por -1 ( $-Z''$ ), frente a la parte real ( $Z'$ ).

La interpretación del espectro de impedancias requiere la selección de un modelo eléctrico apropiado que se ajuste a los datos experimentales, lo que se conoce como circuito equivalente propuesto por *Randles* (59). A través del modelo, las medidas obtenidas proporcionan información relacionada con la resistencia del electrolito ( $R_u$ ), que es la resistencia que se produce entre el electrodo de trabajo y el de referencia. La reacción electroquímica sobre el electrodo de trabajo metálico en este caso puede representarse por medio de la resistencia de transferencia de carga ( $R_t$ ). La capacitancia de la doble capa de Helmholtz ( $C_{dl}$ ), se produce por la acumulación de cargas de valor igual y signo opuesto a la acumulación de cargas inducida en la superficie del metal. La resistencia del electrolito se obtiene a altas frecuencias y los datos adquiridos a bajas frecuencias dan información de la cinética de la reacción, efectos de difusión, adsorción de especies intermedias, falta de homogeneidad superficial y aparición de películas superficiales. Según el modelo que se proponga y la forma de proponerlo, se puede obtener información de los parámetros característicos del mismo.

Polo et. al. (60) realizaron estudios de espectroscopia de impedancia electroquímica sobre el acero AISI 316L en una solución electrolítica de NaCl 5% a temperatura ambiente en las regiones pasivas y de picado. Los resultados mostraron que las zonas pasivas tienen un comportamiento capacitivo, la región de picado muestran comportamiento capacitivo que engloba un proceso de transferencia de carga a altas frecuencias, mientras que, a frecuencias intermedias los diagramas tienden a definir un bucle inductivo que puede atribuirse a procesos de adsorción-desorción. A bajas frecuencias, se identifican procesos de difusión.

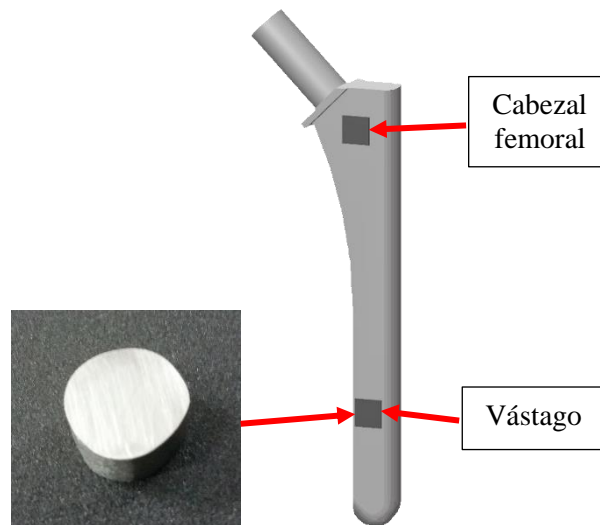
## 3.2 Metodología experimental

*En este segmento se describe:*

- a) Preparación de la muestra metálica a ensayar;*
- b) Condiciones de la solución electrolítica (tipo de electrolito, pH y Temperatura);*
- c) Dispositivos y equipamiento utilizados en las experiencias;*
- d) Los diferentes ensayos realizados;*
- e) Parámetros establecidos para los ensayos;*

### 3.2.1 Preparación de la muestra

Se obtuvieron muestras de dos segmentos de la prótesis de cadera, la zona próxima al cabezal femoral y de la región del vástago como se muestra en la Figura 3.3, los cuales se cortaron con sierra metálica. La superficie de las muestras se limpió de impurezas (óxidos, rebaba, etc) con papel abrasivo.



*Figura 3.3 - Prótesis de cadera.*

### 3.2.2 *Confección de los electrodos de trabajo*

Las muestras metálicas se soldaron, con estaño, a un cable de cobre. Para proteger el cable del medio electrolítico, se utilizó un tubo de vidrio como aislante. Tanto la muestra como el tubo se cubrieron con resina epoxi para sellar las partes que no eran de interés para el análisis, como se muestra en la Figura 3.4.



*Figura 3.4 - Confección de electrodo de trabajo.  
(Imagen obtenida por el autor)*

La superficie de las muestras a analizar (correspondientes a los lados expuestos a fluidos corporales) se desbastó con papel abrasivo SiC de diferentes tamaños de grano (# 120- # 2500), bajo un flujo de agua constante, y se limpió rápidamente con agua y alcohol y secó con aire caliente.

### 3.2.3 *Celda electroquímica*

La celda está compuesta de vidrio resistente a la temperatura con la capacidad de albergar tres electrodos:

- *Electrodo de trabajo:* compuesta como se mencionó anteriormente.
- *Electrodo de referencia:* se utiliza un electrodo de Calomelanos saturado (SCE).
- *Contraelectrodo:* confeccionado con un alambre de Platino (Pt).

Además, cuenta con un orificio para el regulador de entrada de gas con dos pasos, lo que permite burbujear el gas en la solución o en la superficie; y cuenta con otro orificio para la salida de este, el cual posee un controlador por burbujeo para constatar el flujo constante del gas, como se muestra en la Figura 3.5.



*Figura 3.5 - Celda electroquímica.  
(Imagen obtenida por el autor)*

### **3.2.4 Solución electrolítica**

Se utilizó una solución electrolítica de NaCl al 0,9 % (en peso), la cual se preparó a partir de reactivo analítico y agua desmineralizada con una conductividad menor a 10  $\mu$ S. La solución resultante tiene un pH muy cercano a la neutralidad. Las experiencias se realizaron a diferentes pH de solución (5, 7 y 9). Para disminuir el pH de la solución, la corrección se realizó con HCl y en el caso de la solución con un pH superior a la neutralidad la corrección se realizó con NaOH.

### **3.2.5 Temperatura de trabajo**

Las experiencias se realizaron a dos temperaturas diferentes (37 °C y 42 °C). Para controlar la temperatura de la solución se introdujo la celda electroquímica en un baño termostático durante el periodo del ensayo.

### **3.2.6 Pruebas potenciodinámicas cíclicas**

Las pruebas potenciodinámicas cíclicas se realizaron de acuerdo con ASTM F-2129 (61). Las mediciones se realizaron con un potencióstato / galvanostato / ZRA GAMRY® referencia 600. Antes de comenzar la solución de prueba se purgó con gas N<sub>2</sub> durante 15 minutos. El potencial de circuito abierto (OCP) se monitoreó durante 1 hora y luego la exploración potenciodinámica comenzó en la dirección anódica, a una velocidad de 0,167 mV / s desde un potencial 100 mV por debajo del OCP. El barrido se invirtió después de pasar el umbral de densidad de corriente a un valor de dos mayor que la densidad actual de décadas de picado.

### ***3.2.7 Espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS)***

Las mediciones de la espectroscopía de impedancia electroquímica se realizaron con un potenciostato / galvanostato / ZRA GAMRY® referencia 600. Antes de comenzar la solución de prueba se purgó con gas N<sub>2</sub> durante 15 minutos. Después de una hora de exposición de las muestras a OCP, se realizó la medida utilizando un rango de frecuencia de 100 kHz a 1 mHz y una amplitud potencial de  $\pm 10$  mV.

### ***3.2.8 Ensayo potenciodinámico-potenciostático-potenciodinámico (PD-PS-PD)***

Las mediciones se realizaron con un potenciostato / galvanostato / ZRA GAMRY® referencia 600. Antes de comenzar la solución de prueba se purgó con gas N<sub>2</sub> durante 15 minutos. El potencial de circuito abierto (OCP) se monitoreó durante 1 hora y luego la exploración potenciodinámica comenzó en la dirección anódica, a una velocidad de 0,167 mV / s desde un potencial de 100 mV por debajo del OCP. El potencial se escaneó a valores levemente superiores a los correspondientes al cambio de pendiente y el pico de densidad de corriente observados para las experiencias realizadas a los diferentes pH de la solución electrolítica, la velocidad de escaneo fue de 0,167 mV /s. Una vez que se alcanza el valor cercano al cambio de pendiente se mantuvo el potencial potenciostáticamente durante 1 h. Luego, se realizó el escaneo de polarización inversa hasta completar el ciclo de histéresis.



### 3.3 Resultados y discusión

*En este segmento se presentan y discuten los resultados obtenidos referentes a:*

- a) Ensayos potenciodinámicos cíclicos.*
- b) Ensayos de Espectroscopía de impedancia electroquímica.*
- c) Influencia de la variación de las características del medio (pH, Temperatura y microestructura).*

#### 3.3.1 Pruebas potentiodinámicas cíclicas

La susceptibilidad a la corrosión localizada se evaluó mediante pruebas de polarización cíclica. Esta técnica permite evaluar el potencial de corrosión ( $E_{\text{corr}}$ ), el potencial de cambio del estado de oxidación ( $E_{\text{ox}}$ ) y el potencial de repasivación ( $E_{\text{rp}}$ ).

El  $E_{\text{corr}}$  es el potencial en la condición de circuito abierto, cuando no hay flujo de corriente neto;  $E_{\text{ox}}$  es el nivel de polarización en el cual la corriente anódica aumenta considerablemente con el potencial aplicado, lo que indica un cambio en el estado de oxidación de la película pasiva; y  $E_{\text{rp}}$  es el potencial al que se completa el ciclo de histéresis en la exploración de polarización inversa.

Estos parámetros están relacionados con la susceptibilidad de las aleaciones a sufrir corrosión localizada y la capacidad para su desarrollo. La diferencia ( $E_{\text{ox}} - E_{\text{corr}}$ ) representa el rango en el que la aleación permanece pasiva. Cuanto mayor es esta diferencia, menor es la susceptibilidad a la corrosión localizada.

Las Figuras 3.6 y 3.7 muestran las curvas de polarización correspondientes a las regiones VF y CF de la prótesis femoral, obtenidas a 37 y 42 ° C, para todos los valores de pH evaluados. Los valores de los parámetros electroquímicos obtenidos a partir de las curvas de polarización se resumen en la Tabla 3.1

##### 3.3.1.1 Efecto del pH en la aleación ASTM F75

Las curvas de polarización experimentaron cambios relevantes con la variación del pH. La exploración de polarización a pH = 5 mostró el rango de pasividad más alto. El aumento en la densidad de corriente anódica ocurrió a potenciales que van desde 0,500 a 0,600 V / SCE.

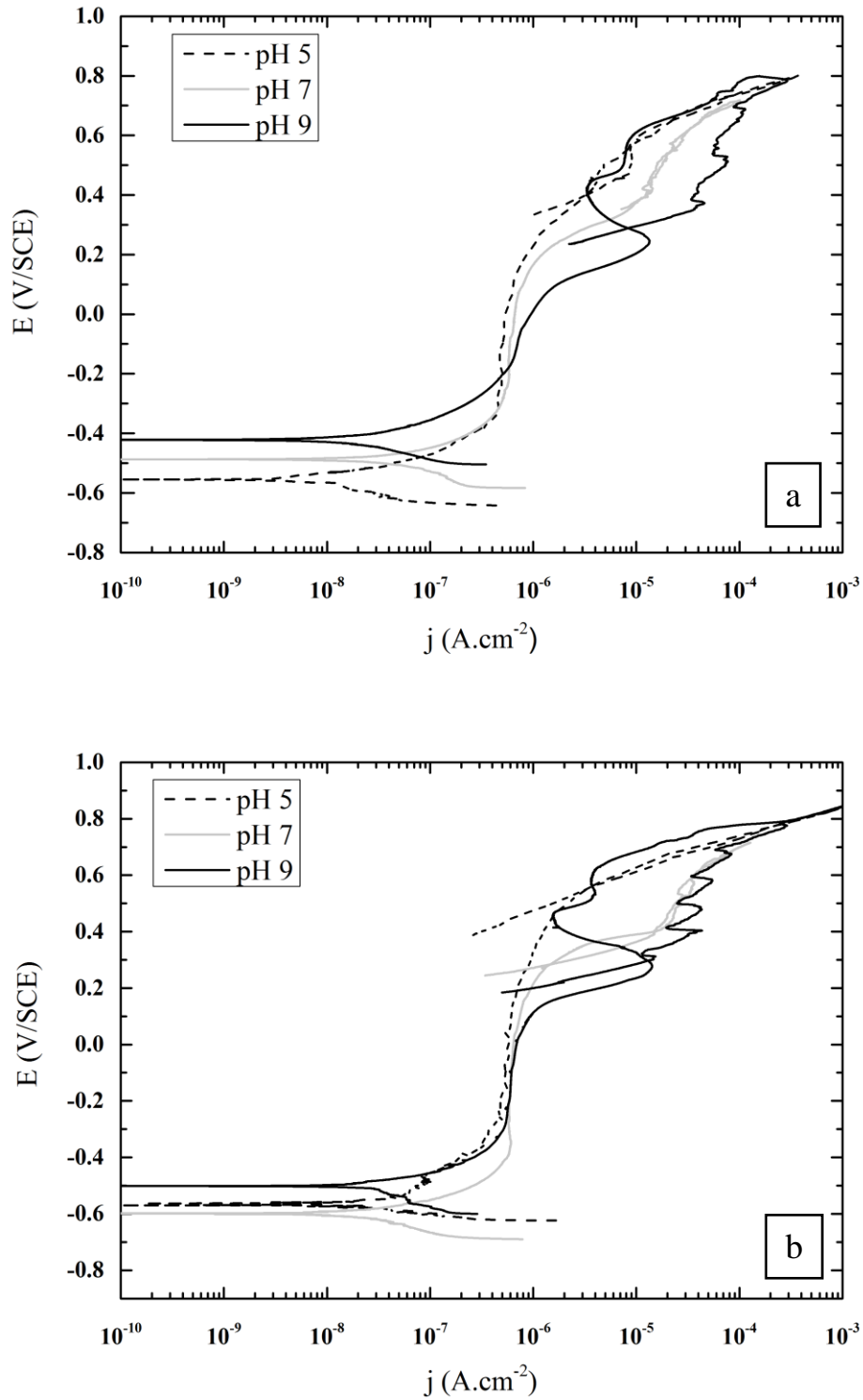


Figura 3.6 - Curvas de polarización para ASTM F75 en una solución de NaCl al 0,9 % (en peso) para la región VF: (a) 37°C, (b) 42°C.

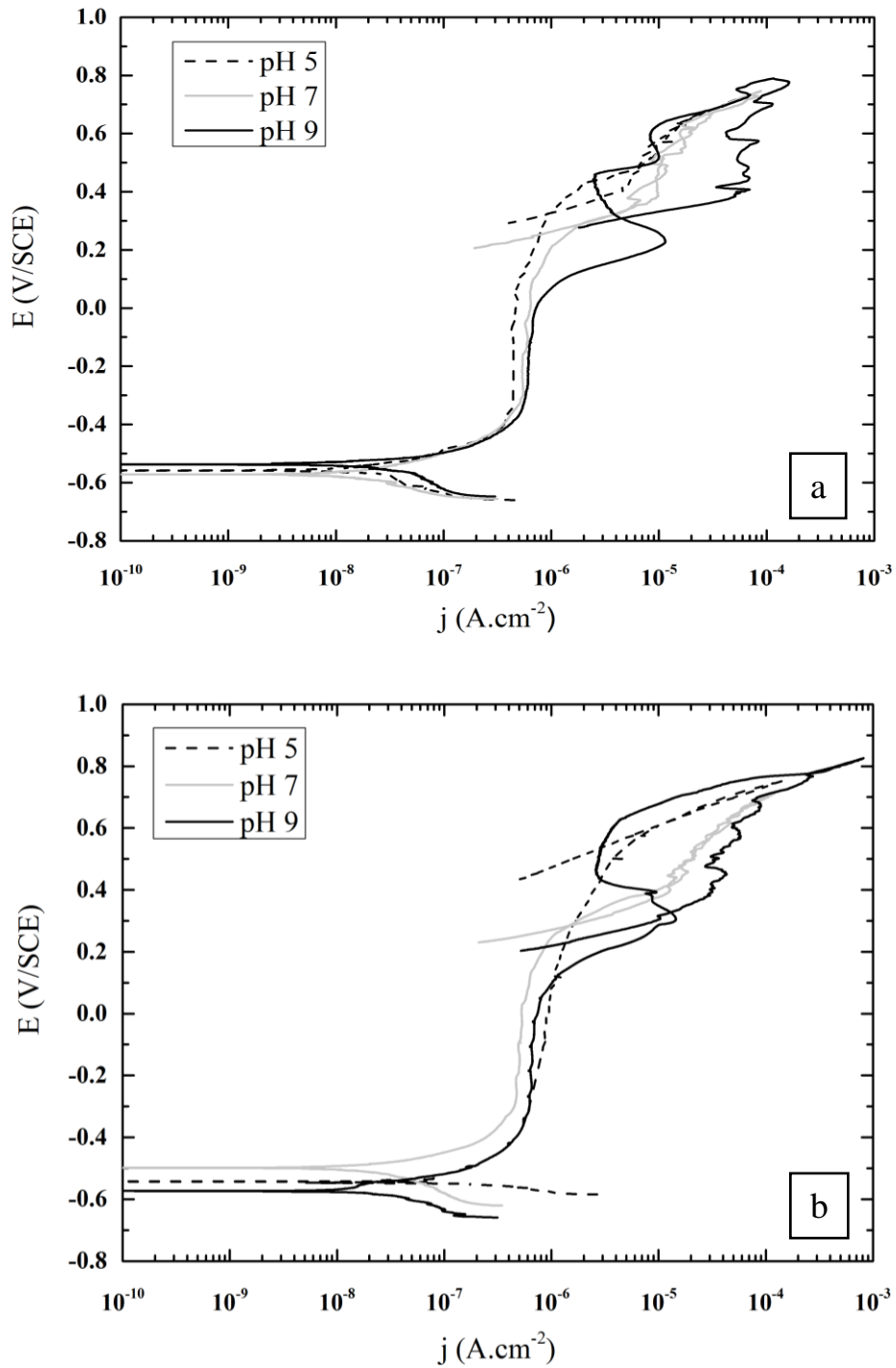


Figura 3.7 - Curvas de polarización para ASTM F75 en una solución de NaCl al 0,9 % (en peso) para la región CF: (a) 37°C, (b) 42°C.

A medida que el pH aumentó, el rango de pasividad disminuyó. A pH = 7, el aumento en la densidad de corriente anódica se observó a potenciales entre 0,250 y 0,300 V / SCE.

A potenciales entre 0,350 y 0,400 V / SCE, la curva cambió la pendiente, como consecuencia del comienzo de las reacciones transpasivas. En estas dos curvas de polarización, se observó un circuito de histéresis estrecho, un comportamiento característico de los materiales con alta resistencia a la corrosión localizada. La curva de polarización realizado a pH = 9 mostró un pico a potenciales cercanos a 0,280 V / SCE, lo que indicaría la existencia de una reacción transpasiva. Luego, la densidad de corriente continuó aumentando desde potenciales cercanos a 0,470 V / SCE, terminando con un amplio bucle de histéresis. Según el comportamiento común de los materiales con alto contenido de cromo, como los aceros inoxidable, las reacciones transpasivas implican la oxidación de Cr<sup>+3</sup> a Cr<sup>+6</sup>, lo que conduce a la formación de iones solubles (62).

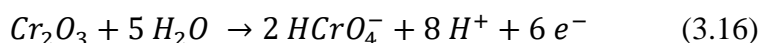
Tabla 3.1 - Parámetros electroquímicos de las pruebas potenciodinámicas cíclicas para la aleación ASTM F75.

	VF			CF	
	pH	T (37°C)	T (42°C)	T (37°C)	T (42°C)
<b>E<sub>corr</sub> (V)</b>	5	-0,528 ± 0,080	-0,692 ± 0,169	-0,548 ± 0,149	-0,474 ± 0,072
	7	-0,525 ± 0,052	-0,583 ± 0,049	-0,563 ± 0,039	-0,575 ± 0,101
	9	-0,499 ± 0,072	-0,518 ± 0,020	-0,541 ± 0,030	-0,604 ± 0,035
<b>E<sub>ox</sub> (V)</b>	5	0,360 ± 0,144	0,402 ± 0,126	0,462 ± 0,085	0,333 ± 0,153
	7	0,238 ± 0,031	0,260 ± 0,042	0,239 ± 0,036	0,276 ± 0,052
	9	0,107 ± 0,014	0,156 ± 0,104	0,099 ± 0,031	0,129 ± 0,046
<b>E<sub>ox</sub>-E<sub>corr</sub> (V)</b>	5	0,888	1,090	1,010	0,807
	7	0,764	0,843	0,801	0,851
	9	0,607	0,675	0,641	0,733

Para verificar si el aumento en la densidad de corriente en los experimentos a  $\text{pH} = 7$  y  $\text{pH} = 9$  fue causado por corrosión localizada o por un cambio en el estado de oxidación del cromo, la técnica potenciodinámica-potenciostática-potenciodinámica (PD-PS-PD) fue realizado. Esta técnica ha sido utilizada por otros autores para determinar la existencia de corrosión localizada en aleaciones de níquel-cromo-molibdeno en soluciones de bicarbonato. (63) Las exploraciones se realizaron a  $0,500 \text{ V} / \text{SCE}$  para solución de  $\text{pH} = 7$  y  $0,300 \text{ V} / \text{SCE}$  para solución de  $\text{pH} = 9$ . Estos potenciales son ligeramente más altos que los correspondientes al cambio de pendiente y el pico de densidad de corriente observados a esos  $\text{pH}$ , respectivamente. En ambas pruebas, el potencial se mantuvo potenciostáticamente durante 1 h. Luego, se escaneó nuevamente a un potencial menor que el potencial al que se completa el ciclo de histéresis en el escaneo de polarización inversa. Los resultados se muestran en la Figura 3.8, donde no se observó un ciclo de histéresis positiva, que indicara la aparición de corrosión localizada. Este resultado confirma que el aumento en la densidad de corriente anódica puede describirse por el cambio en el estado de oxidación del cromo, que conduce a la formación de otros óxidos de cromo solubles en la película superficial. Las curvas de polarización de las Figuras 3.6 y 3.7 muestran que el potencial al que ocurre el cambio de oxidación disminuye a medida que aumenta el  $\text{pH}$ , lo que resulta en la reducción de la región pasiva. Al mismo tiempo, la variación del  $\text{pH}$  podría promover la formación de otros óxidos de cromo, según el diagrama de Pourbaix en soluciones acuosas Figura 3.9 (64).

Aunque las condiciones termodinámicas del diagrama de Pourbaix están lejos de las expuestas en el presente trabajo, puede servir como referencia para explicar el comportamiento de las curvas de polarización obtenidas a los diferentes valores de  $\text{pH}$  estudiados.

A  $\text{pH} = 5$ , el aumento en la densidad de corriente cercana a  $0,550 \text{ V} / \text{SCE}$  podría estar relacionado con el cambio de  $\text{Cr}^{+3}$  a  $\text{Cr}^{+6}$ , de acuerdo con la siguiente reacción:



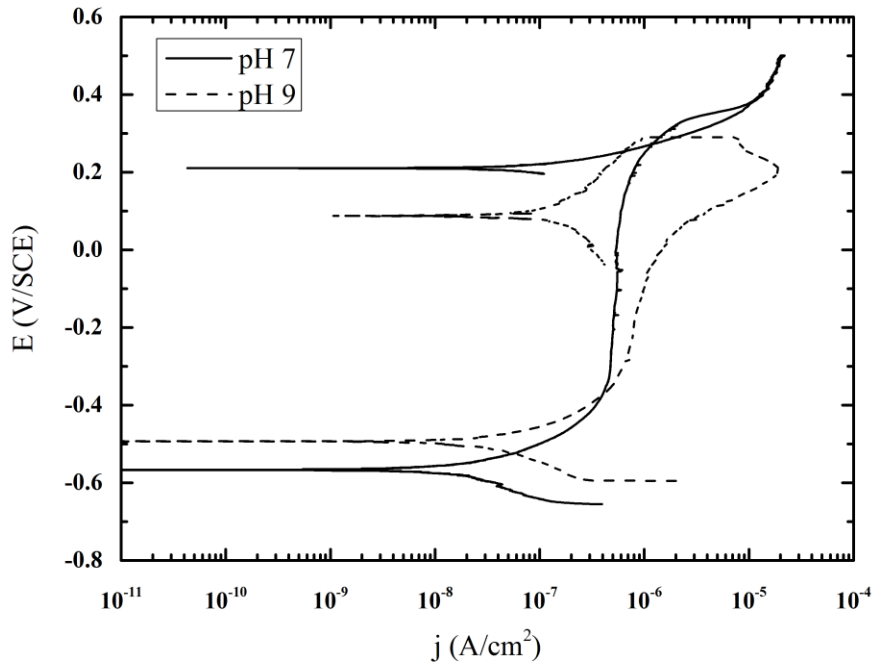


Figura 3.9 - Curvas potenciodinámicas – potenciostáticas – potenciodinámicas (PD-PS-PD) obtenidas en una solución de NaCl al 0,9% (en peso) a pH = 7 y pH = 9.

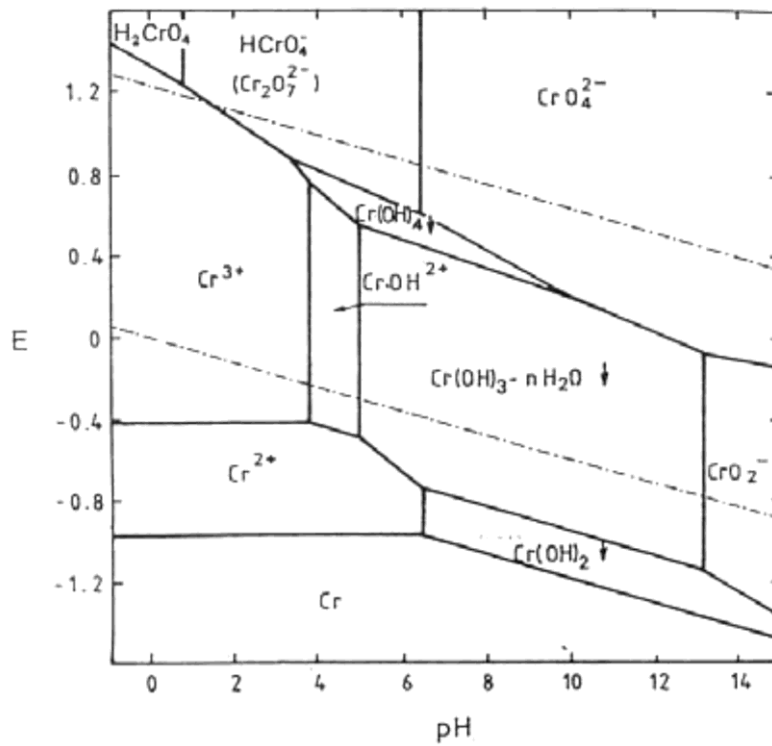


Figura 3.8 - Diagrama de Pourbaix de Cr.

Las curvas correspondientes a  $\text{pH} = 7$  mostraron dos aumentos en la densidad de corriente. El primero podría atribuirse al cambio en el estado de oxidación de  $\text{Cr}^{+3}$  a  $\text{Cr}^{+6}$  para formar  $\text{CrO}_4^{-2}$ . Según *Schmuki et al.* (65), el  $\text{CrO}_4^{-2}$  formado está atrapado por la película pasiva de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  en primera instancia. Luego, a medida que aumenta el potencial, pasa a la solución electrolítica, que se refleja en el segundo aumento de corriente. Este comportamiento está de acuerdo con investigaciones previas sobre la disolución transpasiva de las películas de óxido de cromo (66,67). Como es bien sabido, el componente principal de la película de óxido pasivo es el cromo (aproximadamente 90% de óxidos de cromo). En trabajos anteriores, (54,68,69) *Milosev* estudió la composición de la película de óxido en diferentes soluciones mediante espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS). En la solución de cloruro de sodio, como en el presente trabajo, la composición en la región pasiva está compuesta principalmente por óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) e hidróxido de cromo [ $\text{Cr}(\text{OH})_3$ ], con menor contenido de óxidos de cobalto y molibdeno ( $\text{CoO}$  y  $\text{MoO}_3$ ).

En la región transpasiva, el análisis XPS mostró la presencia de  $\text{Cr}^{+6}$  en la capa de óxido. *Milosev* también sugirió la formación de óxidos de  $\text{Co}_2\text{O}_3$  /  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , como consecuencia del cambio en el estado de oxidación del cobalto de  $\text{Co}^{+2}$  a  $\text{Co}^{+3}$ .

Como se mencionó anteriormente, la curva de polarización correspondiente a  $\text{pH} = 9$  difiere de las de  $\text{pH} 5$  y  $7$ , en que la región transpasiva es más notable. El pico correspondiente a la transformación transpasiva ocurrió a potenciales cercanos a  $0,280 \text{ V} / \text{SCE}$ . Al mismo tiempo, se observó otro pico cercano a  $0,490 \text{ V} / \text{SCE}$ , que podría estar relacionado con el cambio en el estado de oxidación del cobalto, según lo informado por otros autores, quienes han declarado que un aumento en la densidad de corriente en torno a  $0,4 \text{ V} (\text{SCE})$  también se asocia con la conversión de  $\text{Co}^{+2}$  a  $\text{Co}^{+3}$  (70–72). Otra diferencia relevante es el ciclo de histéresis observado en esta curva, lo que indicaría que a  $\text{pH} = 9$ , el material es más susceptible a la corrosión localizada.

El análisis microscópico realizado después de las pruebas electroquímicas, que se muestra en la Figura 3.10, reveló un picado superficial, que denotaría la existencia de corrosión localizada.

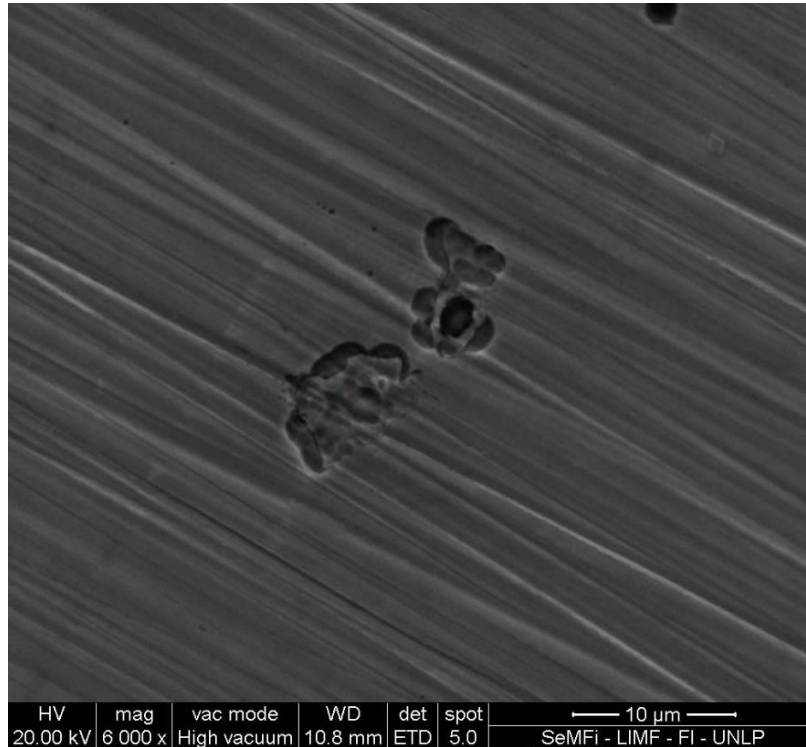


Figura 3.10 - Imagen de superficie de la región CF probada a pH = 9.

Este picado superficial se desarrolló principalmente alrededor de inclusiones no metálicas, que parecen ser sitios preferenciales para la corrosión localizada. Esta característica podría atribuirse a la disminución del potencial al que comienza la corrosión localizada.

### 3.3.1.2 Efecto del pH en la aleación ASTM F745

La variación del pH del electrolito provocó cambios importantes en las curvas de polarización que se presentan en las Figuras 3.11 y 3.12. La exploración de polarización a pH = 5 en promedio mostró el rango de pasividad más alto. A medida que el pH aumentó, el rango de pasividad disminuyó levemente.

El aumento en la densidad de corriente anódica, asociado a procesos de picado y rendija, ocurrió a potenciales que van desde 0,150 a 0,300 V / SCE para los ensayos realizados con electrolito a pH = 5. Con el aumento del pH se observó una disminución de los potenciales al cual la densidad de corriente se incrementa rápidamente. A medida que aumenta el pH se observó que disminuye el potencial al cual la densidad de corriente anódica aumenta, lo que



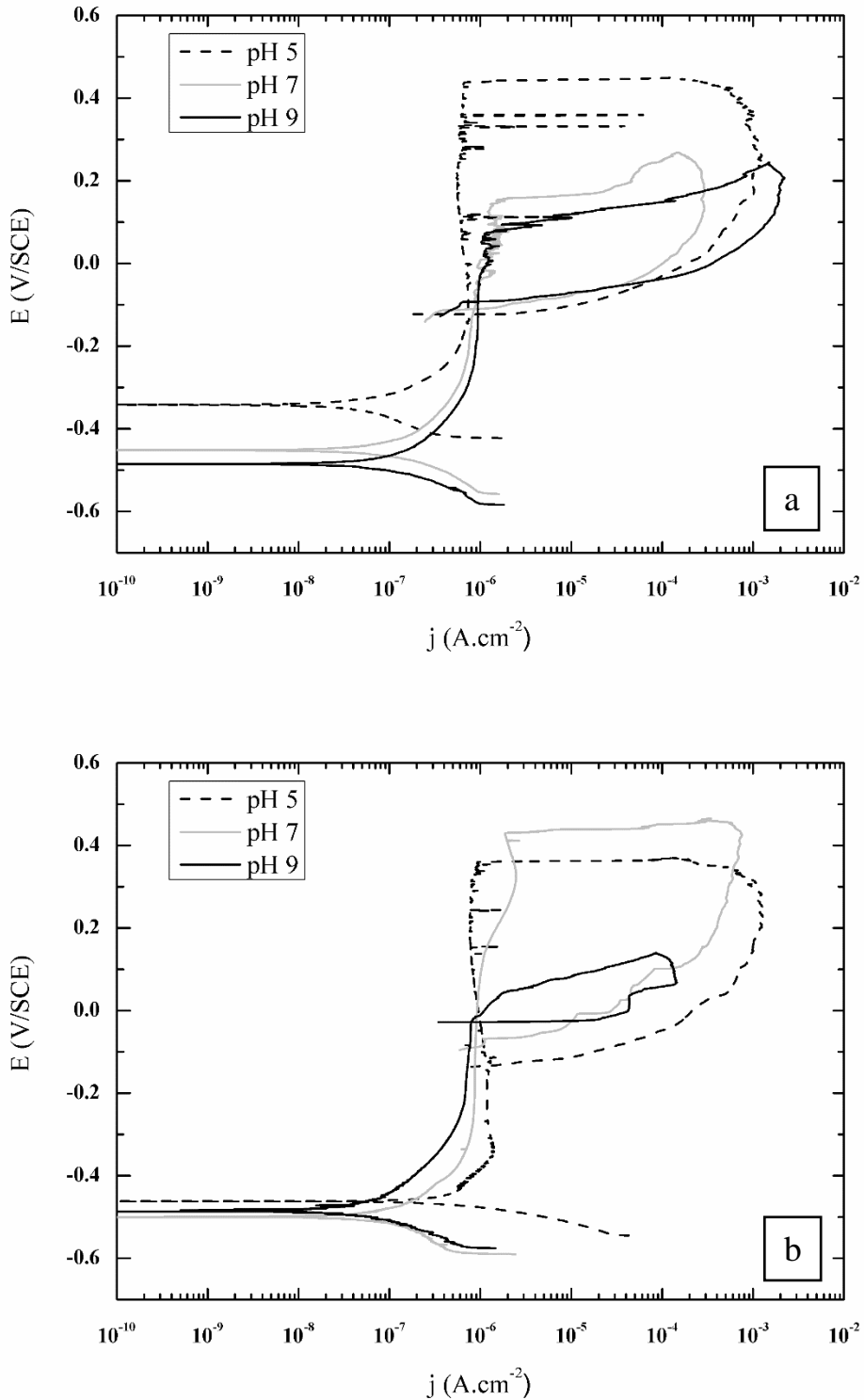


Figura 3. 11 - Curvas de polarización para ASTM F745 en una solución de NaCl al 0,9 % (en peso) para la región VF: (a) 37°C, (b) 42°C.

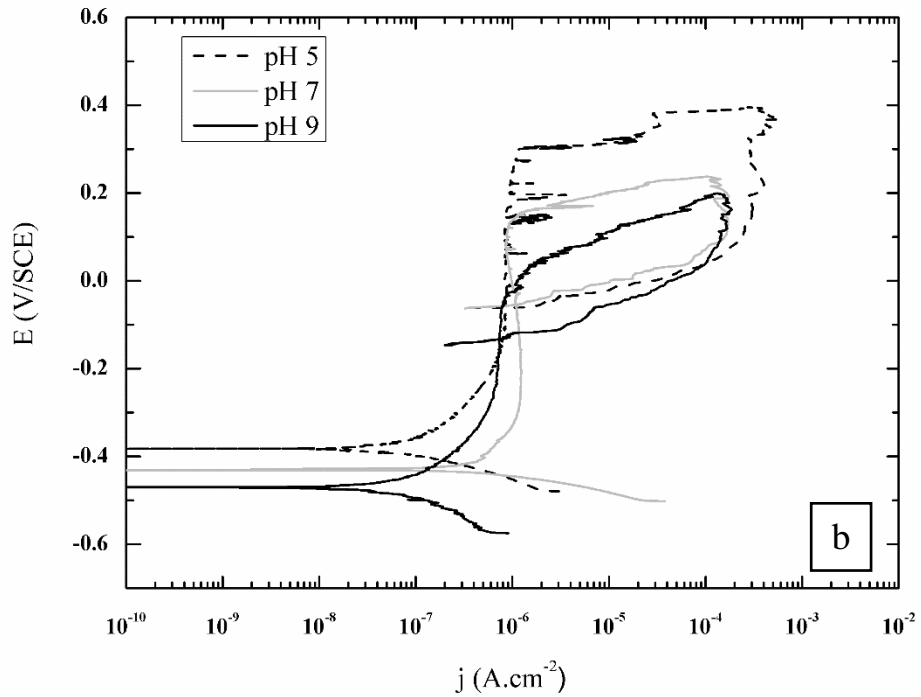
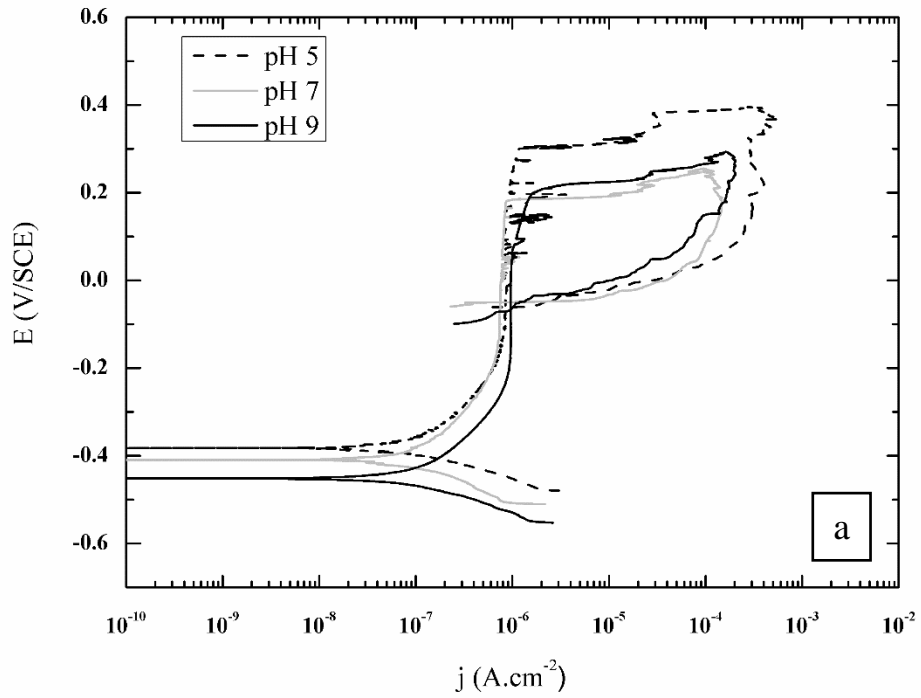


Figura 3.12 - Curvas de polarización para ASTM F745 en una solución de NaCl al 0,9 % (en peso) para la región CF: (a) 37°C, (b) 42°C.

está de acuerdo con la disminución del potencial que se establece en el diagrama de Pourbaix de la Figura 3.13 para la disolución de la película pasiva formada por  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ .

En todas las experiencias se observó procesos de corrosión localizada del tipo picado y rendija que son muy característicos de este tipo de material, como se muestra en la Figura 3.14.

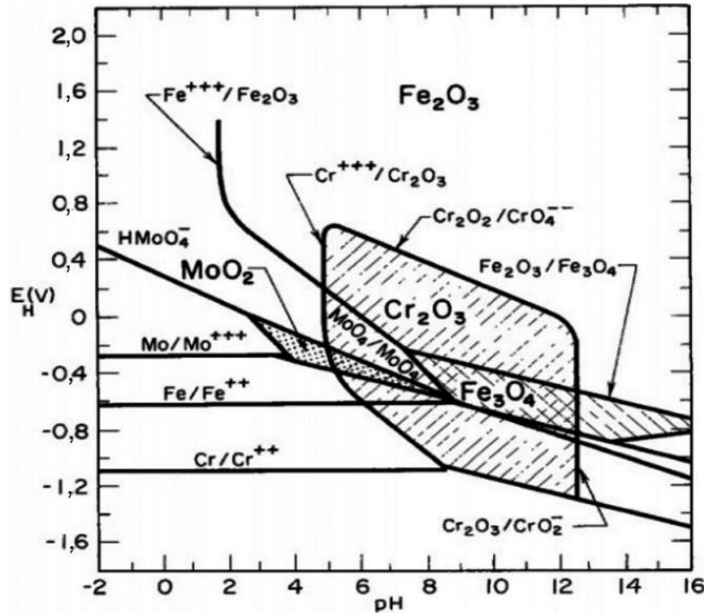


Figura 3. 13 - Diagrama de Pourbaix combinado de Fe – Cr – Mo.

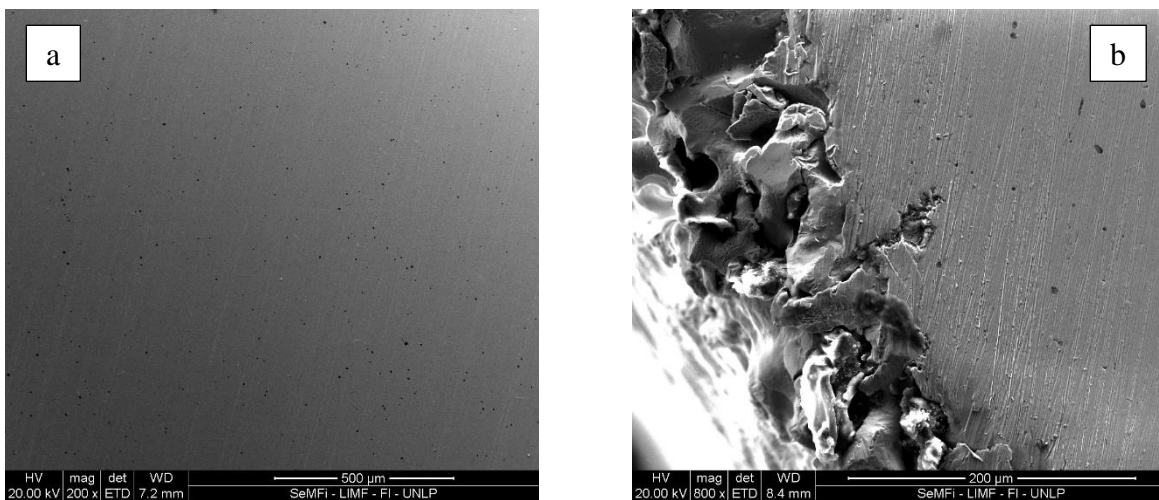


Figura 3. 14 - Corrosión localizada en ASTM F745. a) Picadura; b) Rendija.

La diferencia entre  $E_{\text{pit}}$  y  $E_{\text{corr}}$ , que se muestra en la Tabla 3.2, es una medida de la tendencia a la nucleación de picado. El valor obtenido de esta diferencia disminuye con el aumento del pH, la resistencia del material a la corrosión por picado aumenta cuando esta diferencia aumenta, por lo que la resistencia a la corrosión localizada de esta aleación disminuye a medida que aumenta el pH.

Tabla 3.2 - Parámetros electroquímicos de las pruebas potenciodinámicas cíclicas para la aleación ASTM F745.

	pH	VF		CF	
		37°C	42°C	37°C	42°C
$E_{\text{corr}}$ (V)	5	-0,393 ± 0,072	-0,408 ± 0,071	-0,441 ± 0,049	-0,425 ± 0,057
	7	-0,512 ± 0,088	-0,505 ± 0,006	-0,429 ± 0,030	-0,447 ± 0,028
	9	-0,466 ± 0,037	-0,483 ± 0,011	-0,468 ± 0,025	-0,476 ± 0,013
$E_{\text{pit}}$ (V)	5	0,289 ± 0,207	0,256 ± 0,149	0,161 ± 0,136	0,212 ± 0,120
	7	0,210 ± 0,083	0,300 ± 0,180	0,166 ± 0,020	0,179 ± 0,059
	9	0,135 ± 0,090	0,052 ± 0,096	0,169 ± 0,047	0,04 ± 0,092
$E_{\text{pit}}-E_{\text{corr}}$ (V)	5	0,682	0,665	0,602	0,6375
	7	0,722	0,805	0,5955	0,626
	9	0,601	0,535	0,6375	0,516

La existencia de un bucle de histéresis en las curvas potenciodinámicas cíclicas presentadas en las Figuras 3.11 y 3.12 indica que es posible la repasivación de un picado existente. Cuanto mayor sea el ciclo de histéresis, más difícil será la repasivación.

Los bucles de histéresis muestran una tendencia a disminuir con el aumento del pH, lo que indica que aumenta la capacidad de repasivación. La región potencial por encima de  $E_{\text{rp}}$  y por debajo de  $E_{\text{b}}$  se considera un área pasiva en la que la pasividad es inestable en la que no aparecen nuevas picaduras, pero las existentes pueden progresar. Cuanto más estrecho sea el bucle de histéresis, definido a partir de los datos  $E_{\text{pit}}-E_{\text{rp}}$  en las curvas de polarización cíclica, más fácilmente el picado se volverá a pasivar.

### 3.3.1.3 Efecto de la temperatura

El análisis de la variación de temperatura de 37 a 42 °C no indicó diferencias significativas en las curvas de polarización. De los valores reportados en la Tabla 3.1, se puede resaltar que para la aleación ASTM F75 el  $E_{\text{corr}}$  cambió ligeramente hacia potenciales más bajos, mientras

que  $E_{ox}$  cambió a potenciales más altos a 42 ° C. De acuerdo con estas variaciones, el rango de pasividad fue ligeramente mayor a 42 ° C, para todos los valores de pH analizados.

De la Tabla 3.2 vemos que los valores reportados para la aleación ASTM F745 muestran una ligera tendencia del  $E_{corr}$  hacia potenciales más electronegativos con el aumento de la temperatura. El  $E_{pit}$  no muestra una tendencia clara.

En sus pruebas con Nitinol y acero inoxidable 316L, *Trépanier y Pelton (73)* descubrieron que, a medida que aumentaba la temperatura, las curvas de polarización cambiaban ligeramente hacia potenciales más electronegativos. Sus experimentos se realizaron en un rango de temperatura de 10 a 80 ° C. En el presente trabajo, el rango de temperatura estudiado (37–42 ° C) fue estrecho como para observar cambios relevantes en las curvas de polarización.

### 3.3.1.4 Efecto de la microestructura

La microestructura de la aleación ASTM F75 en la región VF es más fina, con un menor espaciamiento interdendrítico y, en consecuencia, una menor microsegregación que en la región CF. Las curvas de polarización revelaron que, en la muestra correspondiente a la CF,  $E_{corr}$  fue menor que la de la VF. Al mismo tiempo,  $E_{ox}$  y el rango de pasividad también fueron menores en la CF.

Aunque estas diferencias no fueron relevantes, suponen que la inmensidad de la microestructura sería perjudicial para la resistencia a la corrosión localizada. Estos resultados están de acuerdo con los de *Hiramoto et al (74)*, en sus pruebas en aleaciones de Co-27Cr-6Mo. Estos autores encontraron que la OCP en aleaciones con base de Co con un tamaño de grano más grande es ligeramente menor que la de la misma aleación con menor tamaño de grano. Estos autores concluyeron que el aumento de los límites de grano con el refinado de grano conduce al aumento de la reacción anódica y provoca el cambio negativo de la OCP.

En el caso de la aleación ASTM F745 se observó un comportamiento similar. El potencial  $E_{corr}$  para la región CF varía levemente hacia valores más electropositivos y en el caso del potencial  $E_{pit}$  hacia valores más electronegativos. Esto reduce el rango de pasividad y, en consecuencia, disminuye la resistencia a la corrosión en dicha región. Esto puede estar asociado a la disminución de Cr y Mo en la sección más gruesa de la prótesis (CF) producto

del efecto de la macro y micro segregación que se expresaron en la Tabla 2.6 y 2.7 en el capítulo de solidificación de prótesis metálicas.

### 3.3.2 Resultados del EIS

Por medio de EIS se determinaron los procesos cinéticos en la película pasiva, además de su espesor, constante dieléctrica y coeficiente de difusión. Además, se analizaron los cambios en la película pasiva causados por variaciones en las condiciones de prueba, como la temperatura, la composición de electrolitos y el pH (75).

Los datos experimentales para ambas aleaciones se ajustaron de acuerdo con los circuitos eléctricos equivalentes que se muestran en la Figura 3.15, donde  $R_u$  representa la resistencia a los electrolitos. En la interfaz de electrolito / película pasiva, se produce una capacitancia de doble capa ( $C_{dl}$ ), que se representa mediante una combinación de un elemento de fase constante ( $Q_t$ ) y la resistencia a la transferencia de carga ( $R_t$ ). La resistencia a la polarización ( $R_p$ ), se define como la suma de  $R_t$  y  $R_u$ . La película pasiva está representada por un elemento de fase constante, ( $Q_{ox}$ ), con resistencia  $R_{ox}$ . Tanto  $Q_t$  como  $Q_{ox}$  representan  $C_{dl}$  y la capacitancia de la película pasiva respectivamente cuando son capacitancias ideales, es decir, cuando los coeficientes de identidad  $n_t$  y  $n_{ox}$  están cerca de 1.

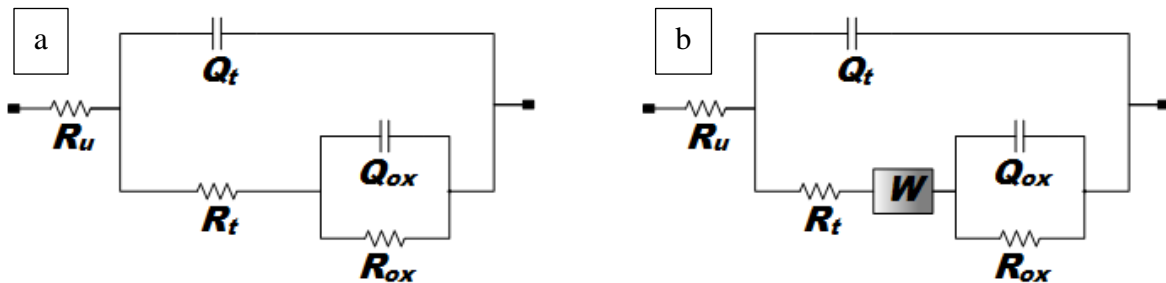


Figura 3. 15 - Circuito equivalente en una solución de NaCl al 0,9% en peso. (a) ASTM F75 (pH 5 y 7) y ASTM F745 (todos los pH), (b) ASTM F75 (pH 9).

El elemento de fase constante se introduce debido a la rugosidad, impurezas, dislocaciones o límites de grano en la superficie. Estas inhomogeneidades se presentan a nivel microscópico debajo del óxido y la interfaz electrolito / película pasiva. La relación para la impedancia de un elemento de fase constante es la expresada en la ecuación 3.17.

$$Z = \frac{1}{Q(i\omega)^n} \quad (3.17)$$

donde Q y n son parámetros independientes, n = 1 representa un condensador, n = 0.5 representa un elemento de Warburg (W), n = 0 representa una resistencia y n = -1 representa un inductor. El elemento W representa la difusión unidireccional a través de la doble capa, que puede estar relacionada con la difusión del oxígeno disuelto en el electrolito.

Los valores de los parámetros electroquímicos obtenidos del ajuste para la aleación ASTM F75 se enumeran en la Tabla 3.3 y para la aleación ASTM F745 en la Tabla 3.4.

Tabla 3.3 - Parámetros electroquímicos de las pruebas EIS para la aleación ASTM F75.

	pH	VF		CF	
		T (37°C)	T (42°C)	T (37°C)	T (42°C)
<b>R<sub>p</sub></b> (Ω.cm <sup>2</sup> )	5	3,35E+05	1,15E+05	4,18E+04	4,30E+05
	7	3,37E+05	1,99E+04	2,46E+05	3,15E+05
	9	7,96E+05	2,94E+05	2,85E+04	3,34E+04
<b>Q<sub>t</sub></b> (Ω <sup>-1</sup> cm <sup>2</sup> s <sup>n</sup> )	5	4,25E-05	3,66E-05	4,18E-05	4,31E-05
	7	2,80E-05	1,25E-05	2,74E-05	2,49E-05
	9	2,98E-05	2,33E-05	1,63E-05	3,40E-05
<b>n<sub>t</sub></b>	5	0,887	0,860	0,895	0,890
	7	0,907	0,940	0,882	0,892
	9	0,919	0,890	0,907	0,902
<b>Q<sub>ox</sub></b> (Ω <sup>-1</sup> cm <sup>2</sup> s <sup>n</sup> )	5	8,29E-05	1,74E-04	6,42E-05	8,33E-05
	7	7,37E-05	6,93E-06	3,60E-04	3,77E-05
	9	2,50E-05	1,11E-05	2,53E-05	1,28E-05
<b>n<sub>ox</sub></b>	5	0,810	0,812	0,703	0,792
	7	1,00	0,892	1,00	1,00
	9	0,950	0,853	1,00	1,00
<b>R<sub>ox</sub></b> (Ω.cm <sup>2</sup> )	5	3,27E+06	2,31E+06	1,05E+06	7,34E+05
	7	1,66E+05	1,95E+06	1,39E+05	8,50E+05
	9	1,34E+06	1,71E+07	3,25E+05	2,74E+05

Tabla 3. 4 - Parámetros electroquímicos de las pruebas EIS para la aleación ASTM F745.

	pH	VF		CF		
		T (37°C)	T (42°C)	T (37°C)	T (42°C)	
<b>R<sub>p</sub></b>	5	5,59E+03	5,24E+03	1,72E+04	1,26E+03	
<b>(Ω.cm<sup>2</sup>)</b>	7	2,16E+03	1,82E+03	1,56E+03	3,58E+02	
	9	4,22E+02	1,72E+05	7,65E+04	1,25E+02	
	<b>Q<sub>t</sub></b>	5	5,22E-05	5,01E-05	1,04E-04	1,03E-04
<b>(Ω<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup>s<sup>n</sup>)</b>	7	7,99E-05	7,27E-05	7,00E-05	8,09E-05	
	9	9,57E-05	1,33E-04	1,06E-04	1,91E-04	
	<b>n<sub>t</sub></b>	5	0,853	0,849	0,867	0,864
7		0,853	0,834	0,876	0,879	
9		0,779	0,807	0,842	0,824	
<b>Q<sub>ox</sub></b>	5	2,17E-04	2,12E-04	3,01E-04	3,50E-04	
	<b>(Ω<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup>s<sup>n</sup>)</b>	7	5,21E-06	4,54E-06	3,42E-06	4,96E-06
		9	6,52E-06	4,22E-11	2,11E-10	1,24E-05
<b>n<sub>ox</sub></b>		5	0,658	0,663	0,816	0,876
	7	1	1	1	1	
	9	1	1	1	1	
<b>R<sub>ox</sub></b>	5	1,28E+06	2,20E+06	1,96E+05	1,35E+05	
	<b>(Ω.cm<sup>2</sup>)</b>	7	1,14E+06	1,46E+06	1,15E+06	1,18E+06
		9	4,38E+05	3,17E+05	2,33E+05	2,44E+05

### 3.3.2.1 Efecto del pH en los ensayos EIS

La Figura 3.16 muestra el efecto de los tres valores de pH analizados en la aleación ASTM F75.



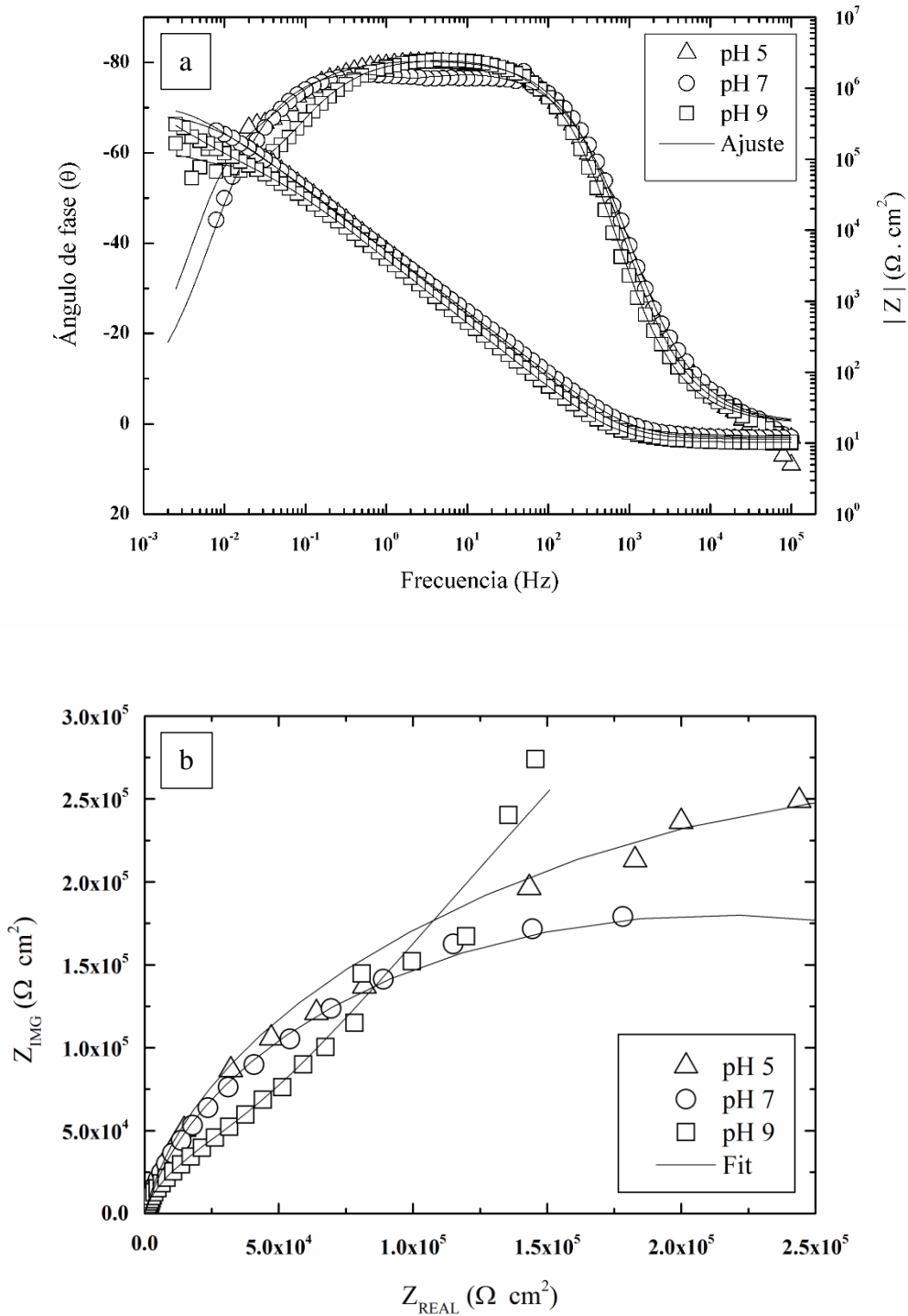


Figura 3.16 - Efecto del pH en una solución de NaCl al 0,9% en peso en la aleación ASTM F75. (a) diagrama de Bode, (b) diagrama de Nyquist.

A pH = 5, se observó que el circuito equivalente que modela los datos experimentales está compuesto por dos elementos paralelos RQ, que describen el comportamiento de la doble capa eléctrica y la película pasiva. En contraste, cuando el pH se incrementó hasta un valor neutral, el circuito equivalente experimentó algunos cambios. El nuevo modelo que representa los datos experimentales estaba compuesto por dos elementos: un RQ, que representa la doble capa eléctrica, y RC, que muestra que la película pasiva tiene un comportamiento capacitivo puro. A pH básico, el nuevo circuito equivalente incorpora un elemento Warburg que representa la difusión dimensional de especies cargadas a través de la doble capa.

La resistencia a la polarización aumentó con el aumento del pH en la VF, debido a la disminución en la velocidad de disolución de la película pasiva. El comportamiento en la CF fue opuesto, revelando que la  $R_p$  disminuye a medida que aumenta el pH. El elemento de fase constante disminuyó con el aumento del pH. Esto puede implicar una disminución en la cantidad de cargas presentes en la doble capa eléctrica. Por otro lado, el coeficiente  $n_t$  asociado con el elemento de fase constante mostró, en la mayoría de los casos, una tendencia a aumentar con el aumento del pH. Esto sugiere que la capa pasiva se vuelve más compacta y, en algunos casos, se comporta como un condensador puro. Al mismo tiempo, podría indicar que los iones están más ordenados en la doble capa eléctrica.

El análisis del elemento de fase constante, que representa la película pasiva, reveló que la capacitancia disminuye con el aumento del pH. Esta característica puede estar relacionada con el aumento del espesor de la película pasiva que, según la ecuación 3.18, es inversamente proporcional a la capacitancia. Finalmente,  $R_{ox}$  no mostró tendencia al aumento del pH.

La capacitancia es directamente proporcional a la constante dieléctrica del óxido  $\epsilon$  e inversamente proporcional al espesor de la película pasiva  $d$ , como se expresa en la ecuación 3.18 (76):

$$C = \frac{\epsilon\epsilon_0 A}{d} \quad (3.18)$$

donde  $\epsilon_0$  es la permitividad dieléctrica en el vacío y A es la región superficial efectiva.

Como resumen del efecto del pH en los resultados del EIS para la aleación ASTM F75, debe destacarse que a medida que aumenta el pH, la película pasiva se vuelve más compacta y gruesa. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en CPT, que mostraron que el potencial de corrosión se desplaza hacia potenciales ligeramente más anódicos a medida que aumenta el pH. Sin embargo, las pruebas de impedancia mostraron un comportamiento aleatorio de las resistencias presentes en la superficie al aumentar el pH del electrolito, lo que dificulta encontrar una relación entre las pruebas de CPT y EIS.

La Figura 3.17 muestra el efecto de los tres valores de pH analizados en la aleación ASTM F745. El circuito equivalente que modela los datos experimentales está compuesto por dos elementos paralelos RQ, que describen el comportamiento de la doble capa eléctrica y la película pasiva. En este caso el acero inoxidable no presentó cambios en el circuito equivalente al variar el pH, como se expresó para la aleación de cobalto.

La resistencia a la polarización ( $R_p$ ), mostró un comportamiento similar al de la aleación ASTM F75, aumentando en la VF y disminuyendo en la CF.

El elemento de fase constante aumentó con el aumento del pH. Esto se puede asociar a un aumento en la cantidad de cargas presentes en la doble capa eléctrica. Al analizar el coeficiente  $n_t$  se observó en la mayoría de los casos una tendencia a disminuir con el aumento del pH, si aceptamos que este parámetro es una medida de la falta de homogeneidad de la superficie, entonces la disminución de  $n_t$  debería estar relacionada con cierto aumento de la heterogeneidad resultante de la rugosidad de la superficie del metal (77), como así también podría estar asociado al desorden de los iones en la doble capa eléctrica.

El elemento de fase constante asociado a la película pasiva mostró que la capacitancia tiende hacia valores más pequeños y los valores de  $R_{ox}$  son más bajos a medida que aumenta el pH. Lo que puede estar relacionado con el aumento de espesor de la película pasiva. Al analizar el coeficiente  $n_{ox}$  se observó una tendencia a aumentar con el aumento del pH, lo que indica que la película pasiva se vuelve más compacta.

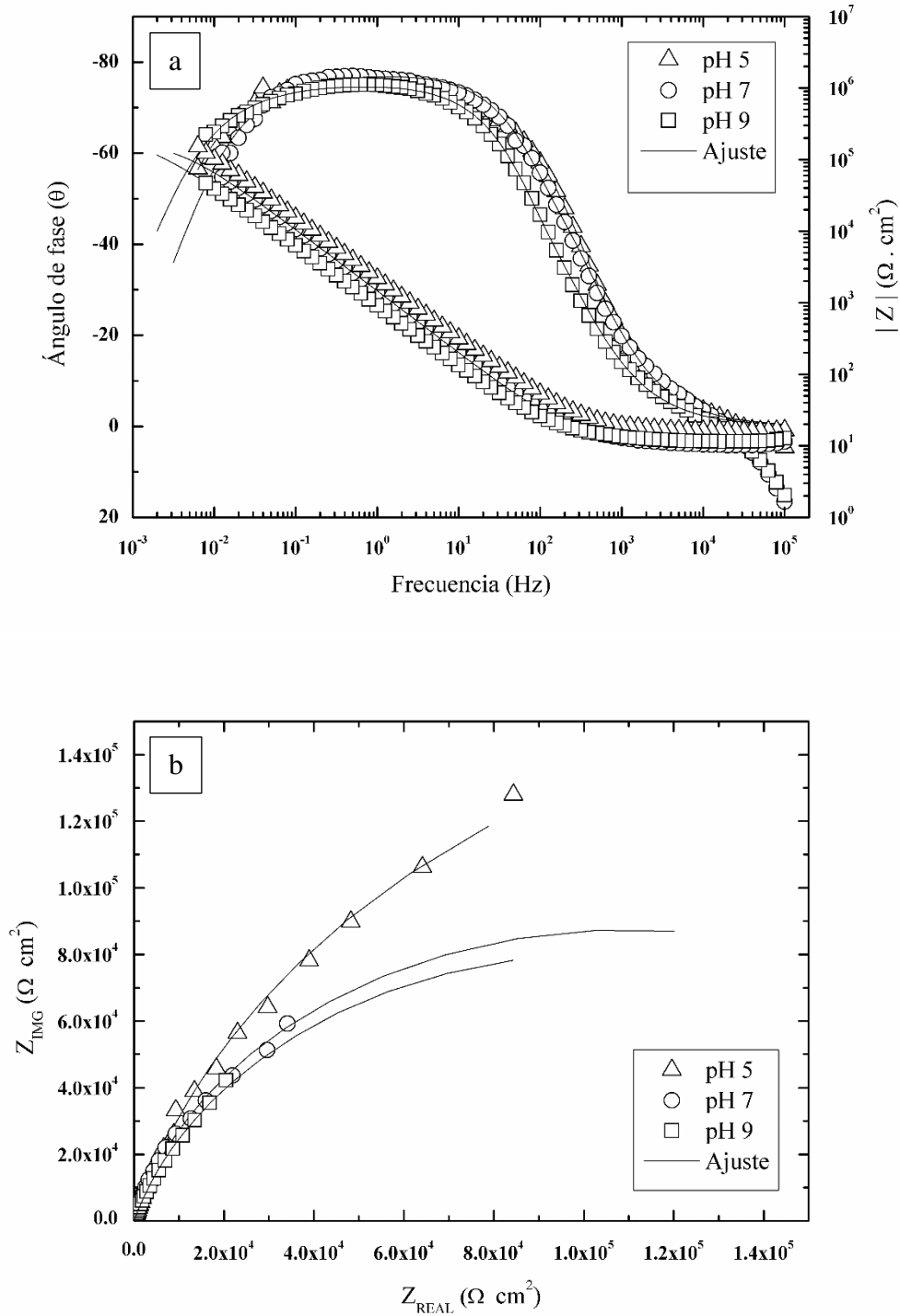


Figura 3.17 - Efecto del pH en una solución de NaCl al 0,9% en peso en la aleación ASTM F745. (a) diagrama de Bode, (b) diagrama de Nyquist.

### 3.3.2.2 Efecto de la temperatura

En la aleación ASTM F75 se observó que  $R_p$  disminuyó a medida que la temperatura aumentó en la VF. Esta variación se debió al aumento en la velocidad de disolución de la película pasiva en esa región. En contraste,  $R_p$  aumentó con la temperatura en la CF.

El elemento de fase constante, asociado con la doble capa eléctrica, disminuyó a medida que la temperatura aumentó en la VF, lo que podría atribuirse a la disminución de las cargas presentes en la doble capa eléctrica. Por el contrario, en el CF, la capacitancia aumentó con la temperatura debido al aumento de las cargas en esa capa. Por otro lado, el coeficiente  $n$  asociado con el elemento de fase constante disminuyó a medida que aumentó la temperatura. Esta característica fue manifestada como un aumento en el desorden de iones en la doble capa eléctrica, lo que condujo a una mayor difusión de las cargas en la interfaz electrolito / película pasiva. Este comportamiento se observó para todos los valores de pH evaluados, excepto para  $\text{pH} = 7$ .

Con respecto al elemento de fase constante, asociado con el óxido, la capacitancia aumentó con la temperatura a pH ácido, mientras que disminuyó con la temperatura cuando el pH se vuelve neutro o básico.

El coeficiente  $n$  asociado con los elementos de fase constante mostró una tendencia a aumentar con la temperatura a  $\text{pH} = 5$ , lo que indica que la capa pasiva se vuelve más compacta. A pH neutro y básico, el  $n_{\text{ox}}$  disminuyó con la temperatura en el CF, lo que indica que, en este caso, la capa pasiva es menos compacta. En la CF, la película pasiva se comporta como un condensador puro.

La resistencia  $R_{\text{ox}}$  disminuyó al aumentar la temperatura a  $\text{pH} = 5$ , en respuesta a una mayor velocidad de disolución, en coincidencia con los resultados obtenidos por Valero Vidal *et al.* (75) En contraste, a  $\text{pH} = 7$ ,  $R_{\text{ox}}$  aumentó con la temperatura, mientras que a  $\text{pH} = 9$  no hubo una tendencia definida.

Observado la Figura 3.18 muestra que la curva de ángulo de fase cambia a frecuencias más altas con el aumento de la temperatura y el módulo de impedancia a frecuencias más bajas. Por lo tanto, se puede resaltar que a medida que aumenta la temperatura, la película pasiva se vuelve menos compacta en la VF. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en

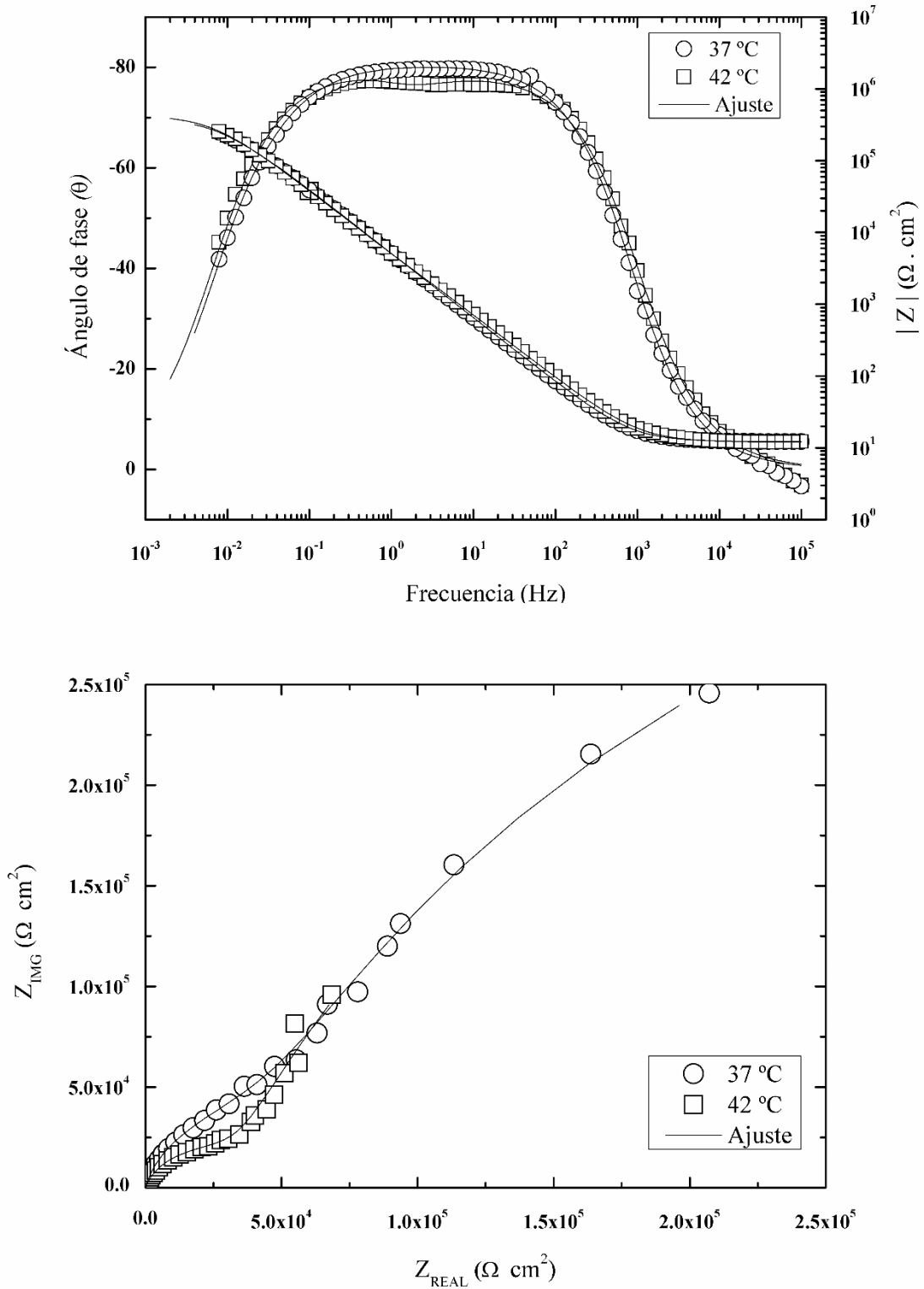


Figura 3.18 - Efecto de la temperatura en una solución de NaCl al 0,9% en peso en la aleación ASTM F75. (a) diagrama de Bode, (b) diagrama de Nyquist.

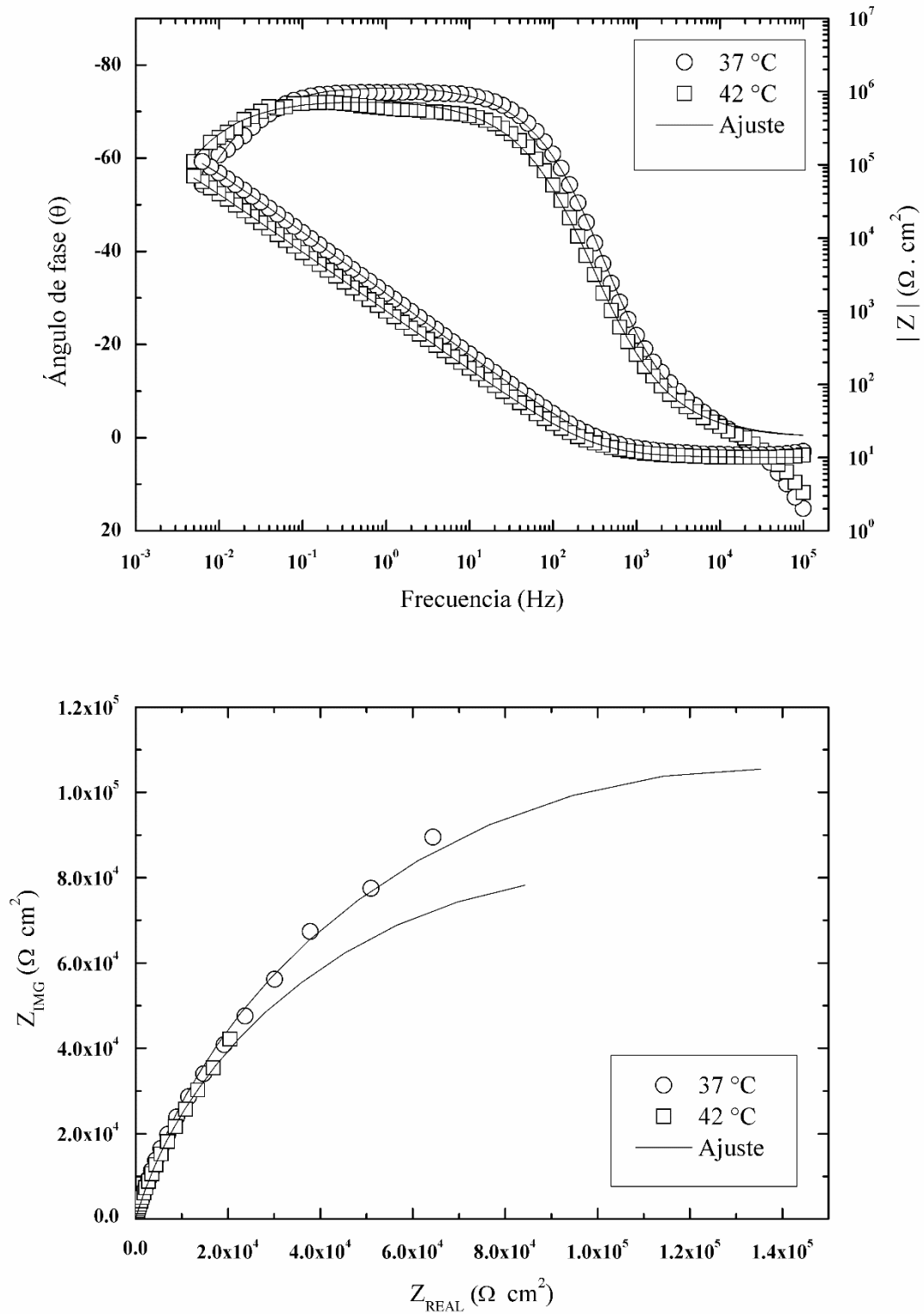


Figura 3.19 - Efecto de la temperatura en una solución de NaCl al 0,9% en peso en la aleación ASTM F745. (a) diagrama de Bode, (b) diagrama de Nyquist.

CPT, que mostraron que el potencial de corrosión se desplaza hacia potenciales ligeramente más catódicos a medida que aumenta la temperatura.

En la aleación ASTM F745 se observó que la  $R_p$  aumentó con el aumento de la temperatura, lo que indica que la velocidad de disolución de la película pasiva disminuyó. Los elementos de fase constante asociados a la doble capa eléctrica y la película pasiva no presentaron cambios significativos con el cambio de la temperatura.

En la Figura 3.19 se puede observar que la curva de ángulo de fase cambia a frecuencias más bajas con el aumento de la temperatura y el módulo de impedancia a frecuencias más bajas. Por lo tanto, a medida que aumenta la temperatura, la película pasiva se vuelve más compacta.

La resistencia  $R_{ox}$  aumentó al aumentar la temperatura, relacionado a una menor velocidad de disolución.

### 3.3.2.3 Efecto de la microestructura

En la aleación ASTM F75 se observó que, tanto  $R_p$  como  $R_{ox}$  disminuyeron en la región CF, lo que indica que esa región es menos resistente a la corrosión.

Se observó que la región CF presenta un aumento en los valores de los elementos de fase constante de la doble capa eléctrica y el coeficiente  $n_t$  asociado a este elemento no evidencia variación significativa. Esto indica que hay una mayor cantidad de cargas presentes en la interfaz electrolito / película pasiva.

La película pasiva en la región CF mostró un aumento en el elemento de fase constante y el coeficiente  $n_{ox}$  asociado a este, lo que indica que la película es más delgada y compacta.

En el caso de la aleación ASTM F745 se observó un comportamiento similar.



### 3.4 Conclusiones

La aleación ASTM F75 mostró una disminución en la pasividad de la película de óxido de cromo en soluciones de cloruro de sodio a valores de pH crecientes. Se podría inferir que la disminución de la pasividad es causada por reacciones transpasivas que promueven la formación de iones  $CrO_4^{-2}$  solubles. La transpasividad fue más notable en las muestras analizadas a pH = 9, en las que también se observó evidencia de corrosión localizada. El mecanismo por el cual se disuelve la película pasiva de óxido de cromo es la disminución de resistencia de la película con el aumento del pH, promoviendo la difusión de especies cargadas. Finalmente, ni la variación en la microestructura ni la temperatura mostraron efectos significativos sobre el comportamiento electroquímico de la aleación.

En el caso de la aleación ASTM F745 las curvas de polarización mostraron que los mecanismos de corrosión predominantes son el picado y la rendija muy característicos de este tipo de aleación. La resistencia a la corrosión disminuye con el aumento del pH del medio. Esto se vio reflejado al disminuir el potencial de nucleación del picado, producto de la disolución de la película pasiva de  $Cr_2O_3$  según lo establecido en el diagrama de Pourbaix. Por otro lado, se observó una disminución de la región de pasividad que es inestable con el aumento del pH, lo que indica que mejora la capacidad de repasivación de la región afectada por el picado o rendija.

La película pasiva aumenta en espesor y se vuelve más compacta al aumentar el pH. Sin embargo, la resistencia de la película disminuye haciéndola más susceptible a la corrosión localizada. La temperatura tuvo un efecto contrario, donde se observó un pequeño aumento de la resistencia de la película al aumentar la temperatura, producto de una menor velocidad de disociación del óxido de la película pasiva.

### 3.5 Referencias

1. Manivasagam G, Dhinasekaran D, Rajamanickam A. Biomedical Implants: Corrosion and its Prevention - A Review~!2009-12-22~!2010-01-20~!2010-05-25~! Recent Patents Corros Sci. 2010;2(1):40–54.
2. Hansen DC. Metal Corrosion in the Human Body: The Ultimate Bio-Corrosion Scenario. *Interface*. 2008;17:31–4.
3. Chen Q, Thouas G a. Metallic implant biomaterials. *Mater Sci Eng R Reports* [Internet]. 2015;87:1–57. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927796X14001077>
4. Hanawa T. Metal ion release from metal implants. *Mater Sci Eng C*. 2004;24(6-8 SPEC. ISS.):745–52.
5. Hendra H, Dadan R, R.P DJ. Metals for Biomedical Applications. *Biomed Eng - From Theory to Appl*. 2011;411–31.
6. Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. *Biomaterials Science*. Biomaterials Science. 1996. 1–9 p.
7. Gregorutti RW, Grau JE, Elsner CI. Microstructural, mechanical and electrochemical characterisation of biomaterial ASTM F745 cast by vacuum. *Mater Sci Technol*. 2012;28(6):742–7.
8. Kapranos P, Corney C, Pola A, Jolly M. *Comprehensive Materials Processing* [Internet]. Vol. 5, Advanced Casting Methodologies: Investment Casting, Centrifugal Casting, Squeeze Casting, Metal Spinning, and Batch Casting. Elsevier; 2014. 37–67 p. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080965321005203>
9. Pattnaik S, Karunakar DB, Jha PK. Developments in investment casting process - A review. *J Mater Process Technol* [Internet]. 2012;212(11):2332–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2012.06.003>
10. Marti a. Cobalt-base alloys used in bone surgery. *Injury*. 2000;31 Suppl 4:18–21.
11. Patel B, Favaro G, Inam F, Reece MJ, Angadji A, Bonfield W, et al. Cobalt-based orthopaedic alloys: Relationship between forming route, microstructure and tribological performance. *Mater Sci Eng C*. 2012;32(5):1222–9.
12. Methods ST. F 75 - Standard Specification for Cobalt-28 Chromium-6 Molybdenum Casting Alloy and Cast Products for Surgical Implants. ASTM International. ASTM International; 1998. p. 1–3.
13. Kaiser R, Williamson K, O'Brien C, Browne DJ. Effects of section size, surface cooling

- conditions, and crucible material on microstructure and as-cast properties of investment cast Co-Cr biomedical alloy. *Metall Mater Trans A Phys Metall Mater Sci*. 2013;44(12):5333–42.
14. Kaiser R, Williamson K, O'Brien C, Ramirez-Garcia S, Browne DJ. The influence of cooling conditions on grain size, secondary phase precipitates and mechanical properties of biomedical alloy specimens produced by investment casting. *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2013;24:53–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2013.04.013>
  15. Teoh SH. Fatigue of biomaterials: A review. *Int J Fatigue*. 2000;22(10):825–37.
  16. Sudhakar K V. Metallurgical investigation of a failure in 316L stainless steel orthopaedic implant. *Eng Fail Anal*. 2005;12(2):249–56.
  17. Ralston KD, Birbilis N, Davies CHJ. Revealing the relationship between grain size and corrosion rate of metals. *Scr Mater* [Internet]. 2010;63(12):1201–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scriptamat.2010.08.035>
  18. Gollapudi S. Grain size distribution effects on the corrosion behaviour of materials. *Corros Sci* [Internet]. 2012;62:90–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.corsci.2012.04.040>
  19. Osório WR, Freire CM, Garcia A. The role of macrostructural morphology and grain size on the corrosion resistance of Zn and Al castings. *Mater Sci Eng A*. 2005;402(1–2):22–32.
  20. Osório WR, Freire CM, Garcia A. The effect of the dendritic microstructure on the corrosion resistance of Zn-Al alloys. *J Alloys Compd*. 2005;397(1–2):179–91.
  21. Ralston KD, Birbilis N. Effect of grain size on corrosion: A review. *Corrosion*. 2010;66(7):0750051–07500513.
  22. Lashgari HR, Zangeneh S, Hasanabadi F, Saghafi M. Microstructural evolution during isothermal aging and strain-induced transformation followed by isothermal aging in Co-Cr-Mo-C alloy: A comparative study. *Mater Sci Eng A* [Internet]. 2010;527(16–17):4082–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msea.2010.03.018>
  23. Narushima T, Mineta S, Kurihara Y, Ueda K. Precipitates in biomedical Co-Cr alloys. *Jom*. 2013;65(4):489–504.
  24. Kociubczyk A, Mendez C, Gregorutti R, Ares A. Electrochemical Tests in Stainless Steel Surgical Implants. *Procedia Mater Sci*. 2015;9:335–40.
  25. Ralston KD, Fabijanic D, Birbilis N. Effect of grain size on corrosion of high purity aluminium. *Electrochim Acta* [Internet]. 2011;56(4):1729–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2010.09.023>
  26. Galvele JR, Duffó GS. *CORROSIÓN*. Instituto. Buenos Aires: Jorge Baudino Ediciones; 2006. 387 p.
  27. Wang Q, Eltit F, Wang R. Corrosion of Orthopedic Implants [Internet]. *Encyclopedia of*

- Biomedical Engineering. Elsevier Inc.; 2017. 1–21 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.99863-5>
28. Lucas LC, Buchanan RA. Investigations on the galvanic corrosion of multialloy total hip prostheses. 1981;15:731–47.
  29. Griffin CD, Buchanan RA, Lemons JE. In vitro electrochemical corrosion study of coupled surgical implant materials. *J Biomed Mater Res*. 1983;17(3):489–500.
  30. Jacobs JJ, Gilbert JL, Urban RM. Corrosion of metal orthopaedic implants. *J Bone Jt Surg - Ser A*. 1998;80(2):268–82.
  31. Høl PJ, Mølster A, Gjerdet NR. Should the galvanic combination of titanium and stainless steel surgical implants be avoided? *Injury*. 2008;39(2):161–9.
  32. Virtanen S, Milošev I, Gomez-Barrena E, Trebše R, Salo J, Kontinen YT. Special modes of corrosion under physiological and simulated physiological conditions. *Acta Biomater*. 2008;4(3):468–76.
  33. McCafferty E. Introduction to corrosion science. *Introduction to Corrosion Science*. 2010. 1–575 p.
  34. Gurappa I. Characterization of different materials for corrosion resistance under simulated body fluid conditions. 2002;49:73–9.
  35. Walczak J, Shahgaldi F, Heatley F. In vivo corrosion of 316L stainless-steel hip implants : morphology and elemental compositions of corrosion products. 1998;19.
  36. Sivakumar M, Surech Kumar Dhanadurai K, Rajeswari S. Failures in stainless steel orthopaedic implant devices : A survey. *J Mater Sci Lett*. 1995;14:351–4.
  37. Panigrahi P, Liao Y, Mathew MT, Fischer A, Wimmer MA, Jacobs JJ, et al. Intergranular pitting corrosion of CoCrMo biomedical implant alloy. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013;102B(4):850–9.
  38. Gilbert JL, Buckley CA, Jacobs JJ, Al GET. In vivo corrosion of modular hip prosthesis components in mixed and similar metal combinations . The effect of crevice , stress , motion , and alloy coupling. 1993;27:1533–44.
  39. Hallab NJ, Jacobs JJ. Orthopedic Implant Fretting Corrosion. *Corros Rev*. 2003;21(2–3):183–213.
  40. Swaminathan V, Gilbert JL. Fretting corrosion of CoCrMo and Ti6Al4V interfaces. *Biomaterials*. 2012;33(22):5487–503.
  41. Wimmer MA, Mathew MT, Laurent MP, Nagelli C, Liao Y, Marks LD, et al. Tribochemical Reactions in Metal-on-Metal Hip Joints Influence Wear and Corrosion. *Met HIP Replace DEVICES*. 2013;1–18.

42. Büscher R, Dudzinski W, Gleising B, Wimmer MA, Fischer A. Subsurface Microstructure of Metal-on-Metal Hip Joints and Its Relationship to Wear Particle Generation. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*. 2004;72:206–14.
43. Yan Y, Neville A, Dowson D. Tribo-corrosion properties of cobalt-based medical implant alloys in simulated biological environments. *Wear*. 2007;263(7-12 SPEC. ISS.):1105–11.
44. Talha M, Ma Y, Kumar P, Lin Y, Singh A. Role of protein adsorption in the bio corrosion of metallic implants – A review. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* [Internet]. 2019;176(June 2018):494–506. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.01.038>
45. Merritt K, Brown SA. Effect of proteins and pH on fretting corrosion and metal ion release. *J Biomed Mater Res*. 1988;22(2):111–20.
46. Williams RL, Brown SA, Merritt K. Electrochemical studies on the influence of proteins on the corrosion of implant alloys. *Biomaterials*. 1988;9(2):181–6.
47. Prekasan D, Saju KK. Review of the Tribological Characteristics of Synovial Fluid. *Procedia Technol* [Internet]. 2016;25(Raerest):1170–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.protcy.2016.08.235>
48. Willert HG, Brobäck LG, Buchhorn GH, Jensen PH, Köster G, Lang I, et al. Crevice Corrosion of Cemented Titanium Alloy Stems in Total Hip Replacements. *Clin Orthop Relat Res*. 1996;333:51–75.
49. Black J. *Biological Performance of Materials: Fundamentals of Biocompatibility*. Fourth Edi. New York: Taylor & Francis Group, LLC; 2005.
50. Valero Vidal C, Olmo Juan A, Igual Muñoz A. Adsorption of bovine serum albumin on CoCrMo surface: Effect of temperature and protein concentration. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 2010;80(1):1–11.
51. Okazaki Y, Gotoh E. Comparison of metal release from various metallic biomaterials in vitro. *Biomaterials*. 2005;26(1):11–21.
52. Igual Munoz A, Schwiesau J, Jolles BM, Mischler S. In vivo electrochemical corrosion study of a CoCrMo biomedical alloy in human synovial fluids. *Acta Biomater* [Internet]. 2015;21(March):228–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2015.03.008>
53. Hanawa T, Hiromoto S, Asami K. Characterization of the surface oxide  $\text{Co} \pm \text{Cr} \pm \text{Mo}$  alloy after being located in quasi-biological environments using XPS. 2001;183:68–75.
54. Milošev I, Strehblow HH. The composition of the surface passive film formed on CoCrMo alloy in simulated physiological solution. *Electrochim Acta*. 2003;48(19):2767–74.
55. Metikoš-Huković M, Pilić Z, Babić R, Omanović D. Influence of alloying elements on the corrosion stability of CoCrMo implant alloy in Hank's solution. *Acta Biomater*.

- 2006;2(6):693–700.
56. Frankel GS. Pitting corrosion of metals: A Review of the Critical Factors. *J Electrochem Soc.* 1998;145(6):2186–98.
57. Shih C-C, Shih C-M, Su Y-Y, Su LHJ, Chang M-S, Lin S-J. Effect of surface oxide properties on corrosion resistance of 316L stainless steel for biomedical applications. *Corros Sci.* 2004;46(2):427–41.
58. Barsoukov E, Macdonald RJ. Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications [Internet]. Second edi. Barsoukov E, Macdonald RJ, editors. Vol. 125, *Journal of Applied Electrochemistry*. John Wiley and Sons, Inc.; 2013. 39–45 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2013.07.057>
59. Randles JEB. KINETICS OF RAPID ELECTRODE REACTIONS. *Faraday Soc* [Internet]. 1947;1:11–9. Available from: <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevB.95.134414>
60. Polo JL, Torres CL, Cano E, Bastidas JM. Estudio de impedancia de la corrosión del acero inoxidable AISI 316L en las regiones pasiva y de picadura. *Rev Metal.* 1999;35(6):368–78.
61. ASTM F2129-19a. Standard Test Method for Conducting Cyclic Potentiodynamic Polarization Measurements to Determine the Corrosion Susceptibility of Small Implant Devices, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2019, [www.astm.org](http://www.astm.org). ASTM Int [Internet]. 2001;13.01(November):1–9. Available from: <https://www.astm.org/Standards/F2129.htm>
62. Adler TA, Aylor D, Bray A. Corrosion: Fundamentals, Testing, and Protection. In: *ASM Handbook*. Cramer, S. ASM International; 2003. p. 42–51.
63. Mishra AK, Ramamurthy S, Biesinger M, Shoosmith DW. The activation/depasivation of nickel-chromium-molybdenum alloys in bicarbonate solution: Part i. *Electrochim Acta* [Internet]. 2013;100:118–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2013.03.161>
64. Takeno N. Atlas of Eh-pH diagrams. Intercomparison of thermodynamic databases. *Natl Inst Adv Ind Sci ...* [Internet]. 2005;(419). Available from: [https://scholar.google.ca/scholar?hl=en&q=Atlas+of+Eh-pH+diagrams&btnG=&as\\_sdt=1%2C5&as\\_sdtp=#2](https://scholar.google.ca/scholar?hl=en&q=Atlas+of+Eh-pH+diagrams&btnG=&as_sdt=1%2C5&as_sdtp=#2)
65. Schmuki P. Transpassive Dissolution of Cr and Sputter-Deposited Cr Oxides Studied by In Situ X-Ray Near-Edge Spectroscopy. *J Electrochem Soc.* 1996;143(12):3997.
66. Hodgson AWE, Kurz S, Virtanen S, Fervel V, Olsson COA, Mischler S. Passive and transpassive behaviour of CoCrMo in simulated biological solutions. *Electrochim Acta.* 2004;49(13):2167–78.

67. Pound BG. Electrochemical behavior of cobalt - Chromium alloys in a simulated physiological solution. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2010;94(1):93–102.
68. Saji VS, Choe HC. Electrochemical behavior of Co-Cr and Ni-Cr dental cast alloys. *Trans Nonferrous Met Soc China (English Ed [Internet]*. 2009;19(4):785–90. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1003-6326\(08\)60350-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1003-6326(08)60350-7)
69. Milošev I. The effect of biomolecules on the behaviour of CoCrMo alloy in various simulated physiological solutions. *Electrochim Acta*. 2012;78:259–73.
70. Pound BG. Passive films on metallic biomaterials under simulated physiological conditions. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2014;102(5):1595–604.
71. Kocijan A, Milošev I, Pihlar B. Cobalt-based alloys for orthopaedic applications studied by electrochemical and XPS analysis. *J Mater Sci Mater Med*. 2004;15(6):643–50.
72. Behazin M, Biesinger MC, Noël JJ, Wren JC. Comparative study of film formation on high-purity Co and Stellite-6: Probing the roles of a chromium oxide layer and gamma-radiation. *Corros Sci [Internet]*. 2012;63:40–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.corsci.2012.05.007>
73. Trépanier C, Pelton AR. Effect of temperature and pH on the corrosion of nitinol. *Med Device Mater II - Proc Mater Process Med Devices Conf 2004*. 2005;392–7.
74. Hiromoto S, Onodera E, Chiba A, Asami K, Hanawa T. Microstructure and corrosion behaviour in biological environments of the new forged low-Ni Co-Cr-Mo alloys. *Biomaterials*. 2005;26(24):4912–23.
75. Valero C, Igual A. Electrochemical Aspects in Biomedical Alloy Characterization: Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Biomed Eng Trends Mater Sci*. 2011;
76. Cassar J, Mallia B, Karl A, Buhagiar J. EIS of carburised CoCrMo: Evolution of parameters characterising the metal-electrolyte interface. *Surf Coatings Technol [Internet]*. 2016;292:90–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2016.03.033>
77. Popova A, Sokolova E, Raicheva S, Christov M. AC and DC study of the temperature effect on mild steel corrosion in acid media in the presence of benzimidazole derivatives. *Corros Sci*. 2003;45(1):33–58.

## **Capítulo 4 - Efectos Genotóxicos, Citotóxicos y Citostáticos**

*Este capítulo se desarrolló en colaboración con el Laboratorio de Citogenética General y Monitoreo Ambiental. Instituto de Biología Subtropical. Universidad Nacional de Misiones (IBS-UNaM-CONICET). Con la colaboración del Lic. Sergio Müller que a partir de los resultados realizó la tesina “Evaluación de los efectos Genotóxicos, Citotóxicos y Citostáticos en Linfocitos Humanos expuestos a Biomateriales utilizados en Prótesis de Cadera” para la obtención del título de Licenciado en Genética.*

### **4.1 Marco teórico**

#### **4.1.1 Biocompatibilidad**

Williams (1) define la biocompatibilidad como la capacidad de un material para funcionar con una respuesta adecuada del huésped en una situación específica. Esto cubre todos los aspectos de la función del biodispositivo, incluida la interacción de las células y los tejidos con los biomateriales implantados.

Las prótesis metálicas que se utilizan para la sustitución de tejidos duros están diseñadas para usarse en contacto íntimo con tejido vivo, por lo que es esencial que el material implantado no cause efectos adversos o que estos sean lo menor posible (2).

En la práctica, la biocompatibilidad es compleja. La inercia, en el sentido fisiológico, requiere mucho más que resistir la degradación a nivel atómico o molecular, aunque se pretenda lograr eso es extremadamente difícil. Muchas aleaciones utilizadas como implantes, aunque presentan una gran resistencia a la corrosión, podrían corroerse en el cuerpo, lo que se podría apreciar por la presencia de iones metálicos en los tejidos circundantes, así como el suero y la orina. En muchos materiales, aunque el componente principal en sí mismo puede ser excepcionalmente inerte, a menudo hay componentes menores, tal vez impurezas o aditivos que pueden liberarse dependiendo de las condiciones del entorno (3).

Los requisitos para esta biocompatibilidad varían según las aplicaciones médicas específicas. La liberación de iones metálicos puede inducir el rechazo de un implante o conducir a la falla final. Por lo tanto, se pretende que un implante metálico esté hecho de elementos no tóxicos y, por lo tanto, no cause reacciones inflamatorias o alérgicas en el cuerpo humano (4).



La biocompatibilidad de los biomateriales se clasifica según su capacidad para inducir la muerte celular o tisular (citotoxicidad), la formación de cáncer (carcinogenicidad), el daño genético (mutagenicidad y genotoxicidad), las respuestas inmunes (pirogenicidad y alergenicidad) o coagulación de la sangre (trombogenicidad). Teniendo en cuenta todos estos tipos de problemas de biocompatibilidad, cualquier requisito de un dispositivo médico para realizar una función útil es una demanda adicional basada en la seguridad biológica, es decir, la biocompatibilidad (5).

La biocompatibilidad del material implantado incluye no solo las interacciones químicas del material con el sistema fisiológico del huésped (por ejemplo, corrosión de aleaciones y toxicidades de iones metálicos), sino también los impactos físicos del material implantado en los tejidos circundantes (las propiedades mecánicas del material) (3).

### 4.1.2 Toxicología genética

En primer lugar, veamos algunos conceptos básicos (6):

- **Efecto Citostático:** Se pueden definir como aquellas sustancias que interactúan en gran parte con el ADN o sus precursores y que poseen la capacidad de impedir o inhibir la síntesis de nuevo material genético, restringiendo la maduración y proliferación celular, actuando sobre fases específicas del ciclo celular; y por ello son activas frente a células que se encuentran en proceso de división. Este mecanismo hace que, a su vez, sean por sí mismas carcinógenas, mutágenas y/o teratógenas.
- **Mutágeno:** Agente físico o químico que provoca o magnifica la mutación genética. La mutación genética es la modificación permanente en la cantidad o en la estructura de material genético de un organismo que produce un cambio de las características del fenotipo de dicho organismo. Las alteraciones pueden afectar a un solo gen, a un conjunto de genes o a un cromosoma entero.
- **Genotóxico:** Es aquel agente, radiación o sustancia química que induce una ruptura en el ADN y que potencialmente puede provocar mutación o cáncer.

Las propiedades genotóxicas de los elementos que integran las aleaciones metálicas son un criterio fundamental para la selección de materiales que cumplan con su función de manera segura y con buena biocompatibilidad.

La toxicología genética evalúa los efectos de los agentes químicos y físicos en el material hereditario (ADN) y en los procesos genéticos de las células vivas. Pueden evaluarse directamente midiendo la interacción de los agentes con el ADN o indirectamente a través de la evaluación de la reparación del ADN o la producción de mutaciones genéticas o alteraciones cromosómicas (7).

Los elementos metálicos forman parte de los organismos vivos y participan en muchas funciones. Pueden ser elementos estructurales, estabilizadores de estructuras biológicas, componentes de mecanismos de control (por ejemplo, en nervios y músculos) y, en particular, activadores o componentes de sistemas redox. Por lo tanto, algunos metales son elementos esenciales, y su deficiencia resulta en el deterioro de las funciones biológicas (8).

Los metales esenciales, cuando están presentes en exceso, pueden ser tóxicos. En el caso de exposición excesiva pueden dar lugar a toxicidad sistémica. La toxicidad es explicable en base a la interferencia con los sistemas bioquímicos celulares. Los metales a menudo interactúan en sitios importantes como los grupos sulfhidrilo (SH) de los sistemas enzimáticos. También pueden competir con otros metales esenciales como cofactores enzimáticos. Además, los iones producto de la oxidación de los metales pueden bioacumularse y unirse de forma covalente a macromoléculas como proteínas y ADN (9), generar estrés oxidativo e interrumpir los mecanismos de reparación del ADN. Esto puede desencadenar una serie de eventos que conducen, en última instancia, a enfermedades tales como el cáncer (10,11).

### ***4.1.3 El rol de los elementos que componen las aleaciones***

Las aleaciones de acero inoxidable tipo ASTM F745, hemos visto que se componen de una base de Fe y elementos aleantes como el Cr, Mo, Ni, entre otros. Las aleaciones base cobalto como la ASTM F75, se componen de una matriz de Co y elementos aleantes como el Cr y Mo principalmente. Algunos de estos elementos son necesarios para muchos de los procesos biológicos normales, sin embargo, algunos de ellos pueden causar efectos tóxicos cuando interactúan con los tejidos o fluidos circundantes.

#### 4.1.3.1 Hierro

El Fe está presente en las células del cuerpo humano y tiene varias funciones vitales. Muchas enzimas vitales para la vida contienen hierro, como la catalasa y las lipoxigenasas, así como los citocromos, que oxidan los nutrientes de los alimentos para producir energía. El hierro también es un componente esencial de la hemoglobina, una proteína que contiene hierro en la sangre que se une y transporta oxígeno a los tejidos desde los pulmones (12).

La liberación excesiva de iones de Fe puede causar el aumento de los niveles de Fe en sangre. El hierro ferroso liberado reacciona con los peróxidos y producen radicales libre altamente reactivos; estos pueden dañar el ADN, las proteínas, lípidos y otros componentes celulares. Esto puede afectar a las células de órganos como el corazón o el hígado lo que deriva en problemas como la acidosis metabólica, insuficiencia hepática, coagulopatía, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, daño de órganos a largo plazo e incluso la muerte si no se trata (13).

Se ha demostrado que el aumento de las reservas corporales de hierro aumenta el riesgo de varios cánceres inducidos por estrógenos, por ejemplo el cáncer de mamas (14).

Hasta la actualidad no se ha reportado casos de efecto adverso causado por la liberación de hierro de los implantes de acero inoxidable.

#### 4.1.3.2 Cromo

El cromo es un cofactor en la regulación de los niveles de azúcar en la sangre. Si los niveles de Cr disminuyen puede causar hiperglucemia (exceso de azúcar en sangre) y glucosuria (glucosa en la orina) (15).

La toxicidad del Cr depende del estado de oxidación, los más comunes son  $\text{Cr}^{+3}$  y  $\text{Cr}^{+6}$ . Los compuestos de Cr trivalente insolubles en agua y el Cr metálico no son peligrosos para la salud. Mientras que el  $\text{Cr}^{+6}$  presenta propiedades cancerígenas que se han estudiado bastante, el polvo de cromo utilizado en empresa de tinte de cromo ha generado cáncer en los trabajadores. Las sales de cromo que se utilizan en curtiembres, en pinturas, cemento, etc provocan reacciones alérgicas en los trabajadores. El contacto con productos que contienen cromatos provoca dermatitis alérgica y dermatitis irritante, causando ulceraciones en la piel (16,17).

El  $\text{Cr}^{+6}$  una vez que llega al torrente sanguíneo, daña los riñones, el hígado y las células sanguíneas a través de reacciones de oxidación, lo que resulta en hemólisis, que causa insuficiencia renal y hepática (18). El  $\text{Cr}^{+6}$  ingresa a la célula a través de canales aniónicos no específicos, y se reduce metabólicamente por agentes que incluyen ascorbato, glutatión y cisteína a especies como  $\text{Cr}^{+5}$ ,  $\text{Cr}^{+4}$  y  $\text{Cr}^{+3}$ . El  $\text{Cr}^{+3}$  tiene una capacidad de permeabilidad de membrana baja por lo que le resulta difícil atravesar la membrana celular, quedando atrapada en la célula donde puede unirse al ADN y producir daño genético que conduce a la inestabilidad genómica (19).

### 4.1.3.3 Cobalto

El cobalto se encuentra principalmente en la maduración de los glóbulos rojos humanos como componente de la vitamina B12 (cianocobalamina). La vitamina B12 desempeña un papel fundamental en la extracción de energía de proteínas y grasas (20).

La metilcobalamina promueve la síntesis de metionina. El suministro de metionina finalmente influye en la síntesis de ADN. El Co interviene en los procesos metabólicos de lípidos y aminoácidos (21).

Sin embargo, se han observado en el caso de algunos individuos, reacciones de hipersensibilidad que causa un daño más severo en los tejidos en las zonas cercanas a la prótesis, provocados por la liberación de partículas metálicas en reemplazos de cadera hechos con aleaciones de cobalto (22). Se ha informado que después de 4 o 5 años algunos pacientes, con prótesis de aleación de cobalto, presentaron síntomas sistémicos y neurológicos producto del efecto tóxico del cobalto (23).

El exceso de cobalto en las células tiene efectos perjudiciales al afectar el metabolismo celular y la maquinaria de replicación y reparación del ADN, debido a la unión de los iones de cobalto a proteínas específicas y a su funcionalidad (24).

### 4.1.3.4 Molibdeno

El Molibdeno es un elemento necesario para varias enzimas que intervienen en el metabolismo celular. La enzima sulfito oxidasa participa en el metabolismo de los aminoácidos a base de azufre. La xantina oxidasa cataliza la hidroxilación oxidativa de purinas y piridinas, incluida la conversión de hipoxantina en ácido úrico. La aldehído oxidasa

es responsable de la oxidación de las purinas, pirimidinas y pteridinas, y también participa en el metabolismo del ácido nicotínico (25).

La toxicidad del Molibdeno es menor que la de otros metales (Cr, Co y Ni). Los estudios sobre las concentraciones de cromo, cobalto y molibdeno en pacientes con reemplazo total de cadera con prótesis metálicas han demostrado que el nivel de molibdeno en suero es generalmente bajo, en comparación con los otros metales con mayor toxicidad. Hasta el momento, no se informan datos sobre la toxicidad sistémica del molibdeno en pacientes con implantes metálicos (26).

### *4.1.3.5 Níquel*

El níquel tiene un papel importante como oligoelemento esencial. Forma parte de la ureasa, una enzima que ayuda a la hidrólisis de la urea. En la sangre, el níquel se une principalmente a la fracción de albúmina, pero también a algunas otras proteínas del suero (27).

En situaciones en las que se implantó níquel puro intramuscularmente o dentro del hueso se observó irritación y necrosis local severa en los tejidos. Los iones metálicos que se liberan por procesos de corrosión de los implantes que contienen níquel pueden migrar hacia órganos distantes y atravesar con mayor facilidad la membrana celular. El níquel puede acumularse y causar toxicidad sistémica y la reacción posterior del huésped a los productos de corrosión (28).

### *4.1.4 Reacciones biológicas a los productos de corrosión*

Como se trató anteriormente, los procesos de corrosión que afectan a los implantes producen la liberación de iones o partículas que componen la aleación. Estos productos están asociados a reacciones adversas que afectan la vida útil de la prótesis y la salud del paciente. Por lo que se vuelve importante comprender la interacción de los productos liberados con los tejidos y las células, así como los efectos de estos en la salud del paciente.

En pacientes con prótesis de cadera puede observarse reacciones adversas en el tejido local (RATL) periprotésico, causando la destrucción de músculos y ligamentos, efectos de presión en venas y nervios (29).

Debido a la alta prevalencia de estas lesiones en la articulación de metal sobre metal o metal sobre polímero sugiere que la corrosión en diferentes superficies de implantes, especialmente en las uniones modulares, tienen un papel importante en el desarrollo de RATL (30).

Estudios "*in vitro*" han demostrado que el Co, a una concentración de  $6 \text{ mg L}^{-1}$ , puede inducir apoptosis en diferentes poblaciones celulares, que es similar a la concentración de Co en el líquido sinovial en algunos pacientes con RATL. Otro posible mecanismo es la degeneración y destrucción de los vasos sanguíneos del tejido afectado, generado por la inflamación prolongada. Este fenómeno generaría un entorno hipóxico que desencadenaría la muerte celular masiva observada en los tejidos RATL (31).

Los iones de cromo pueden generar mutaciones y reducir la funcionalidad celular, esto se produce cuando el  $\text{Cr}^{+6}$  penetra las células a través de los canales de sulfato y se reduce intracelularmente a  $\text{Cr}^{+3}$  que se combina con el ADN y las proteínas. En los tejidos periprotésicos el  $\text{Cr}^{+3}$  no tiene efecto cancerígeno debido a su dificultad para penetrar en la membrana celular. No obstante, estudios "*in vitro*" han demostrado que en altas concentraciones puede inducir la muerte celular debido a la inducción de hipoxia en las células expuestas al Co (32,33).

La presencia de partículas o de iones lixiviados de estas, pueden generar efectos negativos en los tejidos circundantes. Se ha demostrado que a menor tamaño de partícula la superficie expuesta aumenta lo que produce un aumento en la lixiviación de iones de metal (34). Las partículas con morfología extraña pueden causar una respuesta de cuerpo extraño. Estudios "*in vitro*" han demostrado que las partículas de CoCr activan los macrófagos aumentando la secreción de citocinas (35). Al no poder degradar estas partículas, sintetizan una mayor cantidad de enzimas y moléculas oxidativas, lo que genera un estrés oxidativo que conduce al daño celular y acelera la lixiviación iónica de las partículas metálicas (36).

Un estudio realizado en células de linfocitos, fibroblastos y osteoblastos expuestos a iones metálicos reveló que, los determinantes primarios de la respuesta celular son la composición y la concentración, no el tipo de célula, donde iones de Co, Ni y V requieren una menor concentración para inducir toxicidad, que los iones de Al, Cr, Fe y Mo. Los estudios clínicos de los niveles de metales en pacientes con artroplastias articulares demuestran que Co y V están presentes "*in vivo*" a concentraciones que demostraron toxicidad en ensayos "*in vitro*".

Esto podría indicar que el Co y V pueden tener un papel más importante en la respuesta celular local en comparación con otros metales aleados. Las concentraciones de metal encontradas como tóxicas para las poblaciones de células periprotésicas pueden servir como pautas conservadoras para predecir la exposición a metales tóxicos (37).

#### ***4.1.5 Ensayo Citómico de Micronúcleos por Bloqueo de la Citocinesis***

Para la detección del potencial mutagénico de agentes de riesgo, suelen emplearse test “*in vitro*” como el Ensayo Citómico de Micronúcleos por Bloqueo de la Citocinesis (CBMN). Esta prueba cuenta con diversos biomarcadores que permiten medir el daño genotóxico (micronúcleos, puentes nucleoplásmicos y gemaciones nucleares), citotóxico (a través de la necrosis y apoptosis celular) y la citostasis.

Durante la división celular el material genético contenido en el núcleo celular se replica y divide equitativamente dando lugar a dos células hijas idénticas; este proceso puede producirse de manera errónea durante la replicación y posterior división del ADN, debido a roturas cromosómicas y al efecto de sustancias genotóxicas, produciéndose pérdida cromosómica y haciendo que el reparto del material genético no sea equitativo. El material genético que se desprende queda excluido y no se incorpora correctamente al núcleo de la célula hija, originando un nuevo núcleo de menor tamaño que el primario denominado “micronúcleo”, visible fácilmente al microscopio óptico. El material genético desprendido puede derivar de cromosomas enteros o, más frecuentemente, de fragmentos cromosómicos acéntricos que quedan excluidos de los núcleos de las nuevas células durante la anafase mitótica (38).

Las gemaciones nucleares pueden formarse cuando un núcleo elimina ADN amplificado, por fragmentos cromosómicos acéntricos terminales o intersticiales o cuando ocurre la rotura de un puente nucleoplásmico entre dos núcleos y los restos remanentes retroceden. Las gemaciones nucleares se caracterizan por tener la misma morfología que un MN, con la excepción de que están unidos al núcleo por un tallo estrecho o ancho de material nucleoplásmico (39).

Durante la aplicación del CBMN, se utiliza Citocalasina B para inhibir la citocinesis y obtener células binucleadas, de esta forma se garantiza que el recuento de micronúcleos (MN)

y los otros biomarcadores sea restringido a células que hayan completado un ciclo de división celular.

La evaluación de la citotoxicidad a partir de la presencia de células apoptóticas y necróticas, como también la estimación de la citostasis a partir del índice de división nuclear, son otras propiedades importantes que permite detectar esta técnica (40,41).

#### **4.1.6 Ensayo Cometa**

El ensayo cometa (EC) o electroforesis en gel de células individuales (SCGE por sus siglas en inglés) suele utilizarse para la evaluación del daño en el ADN de células eucariotas. Es una técnica que puede emplearse en condiciones neutras y alcalinas, en poco tiempo brinda información acerca de roturas de cadena sencilla y doble en el ADN, sitios lábiles alcalinos y la capacidad o no de reparación de estos daños. La formación de cometas se produce por la relajación del ADN superenrollado en un bucle estructural de ADN donde una ruptura de ADN libera ese bucle para extenderse como un halo al migrar hacia el ánodo por efecto de un campo electroforético. Según el grado de ruptura con que se encuentre el ADN a causa de los tratamientos, puede observarse a los nucleoides como formas similares a cometas, producto de la migración del ADN fragmentado durante la electroforesis (42).

En un estudio realizado por *Faccioni et. al.* (43) demostraron mediante la técnica de ensayo cometa los posibles efectos toxicológicos del níquel y el cobalto. Al analizar células de mucosa oral en pacientes que utilizaban ortodoncia de aleaciones de acero inoxidable, Ni-Ti, Ni-Co, las células expuestas a estas aleaciones presentaron roturas de ADN.

*Zhang et. al.* (44) a través de ensayo cometa demostraron que la exposición ocupacional crónica al cromo trivalente puede conducir a un daño detectable en el ADN de los linfocitos periféricos humanos. El daño se asoció con los niveles de cromo en la sangre.

En este contexto, el presente trabajo pretende evaluar los efectos genotóxicos, citotóxicos y citostáticos en linfocitos humanos (LH) expuestos en cultivo a dos concentraciones de extractos iónicos obtenidos a partir de las aleaciones de cromo cobalto (ASTM F75) y acero inoxidable (ASTM F745) utilizadas como prótesis de cadera.



## **4.2 Metodología experimental**

*En este segmento se describe:*

- a) Preparación de la extracción iónica.*
- b) Toma de muestra y unidad experimental.*
- c) Descripción del Ensayo Cometa y el ensayo Citómico de Micronúcleos.*
- d) Análisis de los datos.*

### **4.2.1 Obtención de los extractos iónicos**

Se realizaron extracciones iónicas de trozos de las regiones del cabezal y el vástago de las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745. Los segmentos fueron desbastados con papel abrasivo de SiC (#240 a #2000), luego se esterilizaron utilizando óxido de etileno.

Posteriormente, trabajando en un flujo, se realizó la siembra de los trozos metálicos estériles en solución fisiológica manteniendo una relación de extracción de 1,25 cm<sup>2</sup>/mL (área superficial / volumen de solución) a 37°C durante 72 h según el protocolo descrito en las normas ISO 10993-12 (45).

Los tratamientos 1 al 12 se emplearon para testear la genotoxicidad por medio del EC en dos tiempos de exposición (3 y 24 h).

Por otra parte, los tratamientos 13 al 18 se utilizaron para el análisis del potencial genotóxico, citotóxico y citostático por medio del CBMN.

Los tiempos de exposición propuestos se ajustaron a las recomendaciones internacionales para la aplicación de ambos biomarcadores genéticos (40,46).

### **4.2.2 Toma de Muestra y Unidad Experimental**

Para el estudio los participantes realizaron una encuesta previo consentimiento informado (Anexo III). Se analizaron 4 voluntarios saludables, dos mujeres y dos hombres, en el rango de edades de 25 s 65 años, con las características de no ser fumadores o bebedores ocasionales, no consumir drogas y no estar expuestos s sustancias potencialmente tóxicas. Todas las personas residentes de la ciudad de Posadas, Misiones.

Se realizó la extracción de muestras de sangre venosa del brazo de cada donante, con jeringa heparinizada y en condiciones estériles.

Los cultivos celulares se realizaron en el medio de cultivo PB-max®, que consiste en un medio completo suplementado y desarrollado para el cultivo a corto plazo de linfocitos de sangre periférica para estudios citogenéticos y procedimientos de diagnóstico “*in vitro*”. El mismo fue fraccionado en tubos centrífugos de polipropileno con tapa rosca y estériles, a razón de 2,5 mL de medio por cada tubo, totalizando 30 cultivos de linfocitos por cada voluntario.

En cada tubo de cultivo se sembraron 14 gotas de sangre periférica de cada donante, obteniéndose un volumen final de aproximadamente 3 mL, siendo considerado cada uno de éstos como unidad experimental (u.e.). A continuación, las unidades experimentales fueron cultivadas a 37 °C en estufa, durante 24 horas para estimular el crecimiento de los linfocitos.

### 4.2.3 *Tratamientos*

Todos los tratamientos fueron preparados bajo condiciones estériles en flujo laminar y mantenidos en estufa a 37°C. De cada tratamiento listado a continuación, se estudiaron dos concentraciones (X y 2X) de acuerdo con el volumen de extracto iónico al que fueron expuestos los linfocitos, siendo éstas 1:1 v/v y 1:2 v/v (Unidad experimental: Tratamiento) respectivamente.

- 1) Extracto iónico de la región Cabezal ASTM F75, linfocitos expuestos durante 3 h.
- 2) Extracto iónico de la región Cabezal ASTM F75, linfocitos expuestos durante 24 h.
- 3) Extracto iónico de la región Vástago ASTM F75, linfocitos expuestos durante 3 h.
- 4) Extracto iónico de la región Vástago ASTM F75, linfocitos expuestos durante 24 h.
- 5) Extracto iónico de la región Cabezal ASTM F745, linfocitos expuestos durante 3 h.
- 6) Extracto iónico de la región Cabezal ASTM F745, linfocitos expuestos durante 24 h.
- 7) Extracto iónico de la región Vástago ASTM F745, linfocitos expuestos durante 3 h.
- 8) Extracto iónico de la región Vástago ASTM F745, linfocitos expuestos durante 24 h.

- 9) Control negativo con vehículo líquido (solución fisiológica), linfocitos expuestos durante 3 h.
- 10) Control negativo con vehículo líquido (solución fisiológica), linfocitos expuestos durante 24 h.
- 11) Control positivo con Etilmetanosulfonato (EMS), linfocitos expuestos durante 3 h.
- 12) Control positivo con EMS, linfocitos expuestos durante 24 h.
- 13) Extracto iónico de la región Cabezal ASTM F75, linfocitos expuestos durante 72 h.
- 14) Extracto iónico de la región Vástago ASTM F75, linfocitos expuestos durante 72 h.
- 15) Extracto iónico de la región Cabezal ASTM F745, linfocitos expuestos durante 72 h.
- 16) Extracto iónico de la región Vástago ASTM F745, linfocitos expuestos durante 72 h.
- 17) Control negativo con vehículo líquido (solución fisiológica), linfocitos expuestos durante 72 h.
- 18) Control positivo con EMS, linfocitos expuestos durante 72 h.

Debido a que se realizaron 4 repeticiones por cada tratamiento (correspondientes a las muestras obtenidas de cada donante voluntario), para este estudio se utilizaron un total de 120 unidades experimentales. Por cada voluntario se emplearon 6 u.e. para los controles y 12 u.e. por cada concentración v/v analizada (1:1 y 1:2 - u.e.: Tratamiento), sumando un total de 30 u.e. por donante.

#### **4.2.4 Viabilidad Celular (VC)**

La prueba de exclusión de colorante para la evaluación de viabilidad celular se basa en que las células que presentan daño en la membrana plasmática van a presentar un cambio en su coloración, mientras que las células no dañadas aparecerán translúcidas al microscopio.

Para ello, una vez cumplido el tiempo de exposición, se procedió a la cosecha de los tratamientos, estos fueron retirados de la estufa y centrifugados durante 5 minutos. Luego de descartar el sobrenadante, una alícuota de 10  $\mu$ L de la muestra fue homogenizada con 150  $\mu$ L de PBS y 10  $\mu$ L del colorante vital Azul de Tripán. Partiendo de la nueva suspensión, se

sembraron 10  $\mu\text{L}$  en cámara de Neubauer y se procedió al conteo de linfocitos en microscopio óptico bajo aumento de 40x. Por cada repetición/tratamiento, se contaron un total de 100 linfocitos, los cuales se clasificaron como viables (linfocitos sin colorear), inviables (linfocitos totalmente coloreados de azul) o comprometidos (linfocitos apenas coloreados de azul). El porcentaje de viabilidad celular se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% VC u.e = 100 - N^{\circ} Inviabiles - N^{\circ} Comprometidas$$

Donde:

% VC u.e = porcentaje de células viables de unidad experimental expuesta al tratamiento.

N° Inviabiles = número de células inviables.

N° Comprometidas = número de células comprometidas.

Se examinó la viabilidad celular de cada tratamiento antes del desarrollo de los ensayos cometa. Aquellos tratamientos cuyos porcentajes de viabilidad celular fueron inferiores al 70% se consideraron citotóxicos y se excluyeron al momento de realizar el ensayo cometa (47).

#### **4.2.5 Ensayo Cometa (EC)**

La técnica de ensayo cometa se realizó siguiendo el protocolo descrito por *Singh et al.* (48), con modificaciones.

Luego de la cosecha de los tratamientos, a partir del pellet resultante de cada tratamiento, se extrajo una muestra de 70  $\mu\text{L}$  y se homogenizó con 100  $\mu\text{L}$  de agarosa de bajo punto de fusión (LMP). Posteriormente, a partir de esa suspensión, se sembraron por duplicado 70  $\mu\text{L}$  en portaobjetos recubiertos con 2 capas de agarosa de punto de fusión normal (NMP), previamente solidificada, y fueron cubiertos con cubreobjetos y almacenados en heladera (4 °C) hasta que las muestras se solidificaran. Luego, se retiraron los cubreobjetos y se procedió a la lisis celular en solución de lisis fría ( $\text{H}_2\text{O}$  destilada, NaCl, EDTA, tampón Tris, NaOH, Triton X – 100, DMSO, pH 10,0) a 4 °C durante 1 hora como mínimo. Transcurrido el tiempo de lisis, los portaobjetos se colocaron en una cuba con una solución tampón de electroforesis ( $\text{H}_2\text{O}$  destilada, NaOH, EDTA, pH>13) durante 20 minutos para permitir la desnaturalización del ADN. Seguidamente, se inició la electroforesis a 25 V y 300 mA durante 20 minutos a 4

°C para evitar daños en el ADN debido al calor generado durante el flujo de la corriente. Al finalizar la corrida electroforética, los portaobjetos fueron neutralizados mediante 3 lavados de 5 minutos cada uno con solución tampón TRIS (H<sub>2</sub>O destilada, TRIS, pH 7,5). Para evitar daños adicionales al ADN producto de la exposición directa con la luz, los ensayos se realizaron en condiciones de oscuridad. Una vez secos, los geles fueron fijados con etanol absoluto y coloreados con bromuro de etidio para ser analizados en microscopio de fluorescencia (aumento de 40x) a ciegas por un único observador.

Se analizaron 100 células o nucleoides (50 por cada duplicado) por cada repetición de tratamiento. Los cometas se clasificaron visualmente de acuerdo con el daño generado (porcentaje de migración de ADN en la cola), en 5 clases: clase 0 (sin daño), clase 1 (daño mínimo), clase 2 (daño moderado), clase 3 (daño intenso), clase 4 (daño máximo).

El Índice de Daño (ID) en el ADN por cada tratamiento y controles se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$ID = (0xA) + (1xB) + (2xC) + (3xD) + (4xE)$$

Donde:

0, 1, 2, 3 y 4 corresponden a las distintas clases de cometas.

A, B, C, D y E al número de nucleoides que presentan la clase correspondiente de daño.

#### ***4.2.6 Ensayo Citómico de Micronúcleos por bloqueo de la Citocinesis (CBMN)***

El Ensayo Citómico de Micronúcleos por Bloqueo de la Citocinesis (CBMN) se llevó a cabo según el protocolo propuesto por *Fenech* (40), con modificaciones.

Los linfocitos humanos que se utilizaron para los diferentes ensayos fueron cultivados durante 72 horas en estufa a 37 °C. Transcurridas las primeras 44 h de cultivo, se agregó citocalasina B en una relación de 6 µg/mL por u.e. para inhibir el ensamblaje de microfilamentos de actina y así bloquear la citocinesis. Los cultivos se retiraron de la estufa al completarse el tiempo de exposición, luego se centrifugaron por 5 minutos para descartar el medio de cultivo sobrenadante, seguidamente se adicionó 2 mL de KCl para hipotonizar y permitir que los linfocitos se hinchen. El tratamiento hipotónico se detuvo mediante

centrifugación por 5 minutos y se descartó el sobrenadante. Las células se fijaron con 2,5 mL de fijador Farmer (metanol-ácido acético, 3:1) y se centrifugaron durante 8 minutos, esto se repitió 2 veces más y posterior a la eliminación del sobrenadante. La suspensión resultante fue goteada sobre portaobjetos limpios, dejándolos secar a temperatura ambiente. Luego, fueron coloreadas con Giemsa al 10 % durante 9 minutos para el análisis genotóxico, citotóxico y citostático en microscopio óptico bajo aumento 40x.

La genotoxicidad se evaluó a través de la estimación de las frecuencias de Micronúcleos (MN), Puentes Nucleoplásmicos (NPB por sus siglas en inglés) y Gemaciones Nucleares (Nbud por sus siglas en inglés) sobre un total de 1000 células Binucleada (BN) analizadas.

La **citotoxicidad** se estimó por medio de la frecuencia de células necróticas y apoptóticas en un total de 500 células analizadas.

El efecto **citostático** se analizó mediante el cálculo del índice de división nuclear (IDN) a partir del conteo de células con un solo núcleo (Mononucleadas), dos núcleos (Binucleadas), tres núcleos (Trinucleadas) y 4 o más núcleos (Polinucleadas) sobre un total de 500 células, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$IDN = \frac{1xMononucleada + 2xBinucleada + 3xTrinucleada + 4xPolinucleada}{500}$$

Los criterios utilizados para la identificación de las células binucleadas, los micronúcleos y los tipos celulares requeridos para el análisis en el CBMN fueron los definidos por *Fenech et al.* (49) y se disponen en el Anexo IV.

### 4.2.7 Control Negativo

Para el Control Negativo (Ctrl Neg) se expuso la unidad experimental al mismo vehículo líquido utilizado en la extracción iónica (solución fisiológica) y se mantuvo las mismas condiciones aplicadas en todos los ensayos, con el objetivo de observar el daño basal de cada individuo y realizar las comparaciones correspondientes con los distintos tratamientos.

### 4.2.8 Control Positivo

Se evaluó el empleo de la droga ethyl metanosulfonato (EMS) como control positivo (Ctrl Pos) para los EC y CBMN en cultivo de linfocitos humanos.

El EMS es ampliamente utilizado como control positivo en varios sistemas biológicos en estudios de mutagénesis, debido a que es un agente alquilante y cancerígeno en mamíferos produciendo aberraciones cromosómicas importantes. En condiciones estándar, es estable y permanece como un líquido incoloro soluble en agua (47,50,51).

No se halló en la literatura el empleo de EMS como control positivo en la evaluación de biomarcadores genéticos en cultivos “*in vitro*” de linfocitos humanos, por lo que debió establecerse la concentración adecuada de esta droga para el EC y el CBMN. Para ello, se analizaron distintas concentraciones de EMS utilizadas en otras investigaciones con diferentes tipos celulares y/o compuestos con propiedades similares (50,52,53). Se partió de la concentración de 240  $\mu\text{L}$  EMS/mL, reduciendo la dosis a 160  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , 80  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , 40  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , 20  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , 10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , 4  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , 2  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , 1  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , hasta alcanzar la concentración de 0,5  $\mu\text{L}$  EMS/mL.

#### **4.2.9 Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos de cada técnica aplicada fueron sometidos a un análisis estadístico de homogeneidad de varianza y de distribución normal de Shapiro Wilks. Según el tipo de distribución de los datos, se emplearon los métodos paramétricos ANOVA (nivel de confianza del 95 %) y de comparaciones múltiples LSD Fisher; o no paramétricos de Kruskal Wallis, mediante el programa Infostat (54).

Para comparar los efectos generados entre cada aleación, todos los datos obtenidos en los ensayos de EC y CBMN fueron clasificados solo por tipo de aleación sin diferenciar en regiones de una misma aleación. Los datos de las diferentes regiones se consideraron como repeticiones de un mismo tratamiento. Se obtuvieron dos mediciones por cada voluntario, dando un total de 8 repeticiones.

Posteriormente, se realizaron las comparaciones estadísticas entre las regiones cabezal y vástago de cada aleación y entre aleaciones a partir de los biomarcadores genéticos evaluados mediante las técnicas EC y CBMN, analizando un total de 4 repeticiones por tratamiento (1 por cada voluntario).

### 4.3 Resultados y discusión

En este segmento se presentan y discuten los resultados obtenidos referentes a:

- d) *Ensayos Cometa*
- e) *Ensayo Citómico de Micronúcleos por bloqueo de la Citocinesis (CBMN)*

#### 4.3.1 Ensayo Cometa

##### 4.3.1.1 Análisis de Viabilidad Celular

Las concentraciones de EMS mayores a 5  $\mu\text{L EMS} / \text{mL Sn}$  final utilizadas como control positivo, resultaron citotóxicas para los linfocitos, con porcentajes de viabilidad inferiores al 10%. Las concentraciones comprendidas entre 5 - 2  $\mu\text{L EMS/mL}$ , presentaron valores en el rango de 90 a 95% de viabilidad celular, pero al no alcanzar un número suficiente de nucleoides en los portaobjetos analizados en el microscopio de fluorescencia, no se pudo realizar el análisis de EC. Los ensayos en los que se empleó una concentración de 0,5  $\mu\text{L EMS/mL}$  mostraron una viabilidad celular entre 93 y 95% para las 3 y 24 h respectivamente, con un número aceptable de nucleoides para el cálculo del ID en el ADN y por lo tanto fue la seleccionada como concentración del control positivo.

En la Tabla 4.1 se muestran los valores medios de viabilidad celular obtenidos luego de la exposición de los linfocitos a los tratamientos de las aleaciones y a los controles.

Tabla 4. 1 - Valor Medio del % de VC estimado en linfocitos humanos expuestos a concentraciones X y 2X de las aleaciones analizadas durante 3 h y 24 h de exposición.

Tratamiento	VC (%) 3 h		VC (%) 24 h	
	X	2X	X	2X
ASTM F75	97,88	97,75	98,13	98,00
ASTM F745	98,25	98,63	98,00	98,00
Ctrl Neg	99,00		98,00	
Ctrl Pos	93,50		95,00	

Al analizar los resultados de VC en relación con las diferentes regiones cabezal (C) y vástago (V) para cada aleación, se encontró que la supervivencia celular fue superior al 90% tanto en los tratamientos como en los controles. Los resultados se muestran en la Tabla 4.2.



Tabla 4. 2 - Valor Medio del % de VC estimado en linfocitos humanos expuestos a concentraciones X y 2X de las regiones C y V para las aleaciones estudiadas durante 3 h y 24 h de exposición.

Tratamiento	VC (%) 3 h		VC (%) 24 h	
	X	2X	X	2X
ASTM F75 - C	97,75	98,00	97,50	97,50
ASTM F75 - V	98,00	97,50	98,75	98,50
ASTM F745 - C	98,00	98,25	98,00	97,67
ASTM F745 - V	98,50	99,00	98,00	98,33
Ctrl Neg	99,00		98,00	
Ctrl Pos	93,50		95,00	

#### 4.3.1.2 Genotoxicidad

En la Tabla 4.3 se presentan los valores de los ID en el ADN de los linfocitos, obtenidos mediante la técnica de EC para el análisis del efecto genotóxico de las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745.

Tabla 4. 3 - ID en el ADN (Media  $\pm$  DE) estimado en linfocitos humanos expuestos a concentraciones X y 2X de las aleaciones, Ctrl Neg y Ctrl Pos durante 3 h y 24 h de exposición.

Tratamiento	ID 3 h		ID 24 h	
	X	2X	X	2X
ASTM F75	27,38 $\pm$ 6,95*	29,71 $\pm$ 11,54*	32,29 $\pm$ 4,31*	30,17 $\pm$ 7,99*
ASTM F745	26,75 $\pm$ 8,73*	24,14 $\pm$ 6,87*	25,86 $\pm$ 4,88*	22,71 $\pm$ 7,27*
Ctrl Neg	10,25 $\pm$ 2,87		6,00 $\pm$ 3,65	
Ctrl Pos	81,67 $\pm$ 8,39*		96,33 $\pm$ 7,57*	

\* diferencia significativa con respecto al control negativo ( $p < 0,05$ ).

Para ambos tiempos de exposición y concentraciones analizadas se observan valores significativamente mayores en comparación con el control negativo en ambas aleaciones. Sin embargo, al comparar entre los tiempos de exposición de 3 h y 24 h y entre las concentraciones X y 2X analizadas, no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), como se puede apreciar en la Figura 4.1.

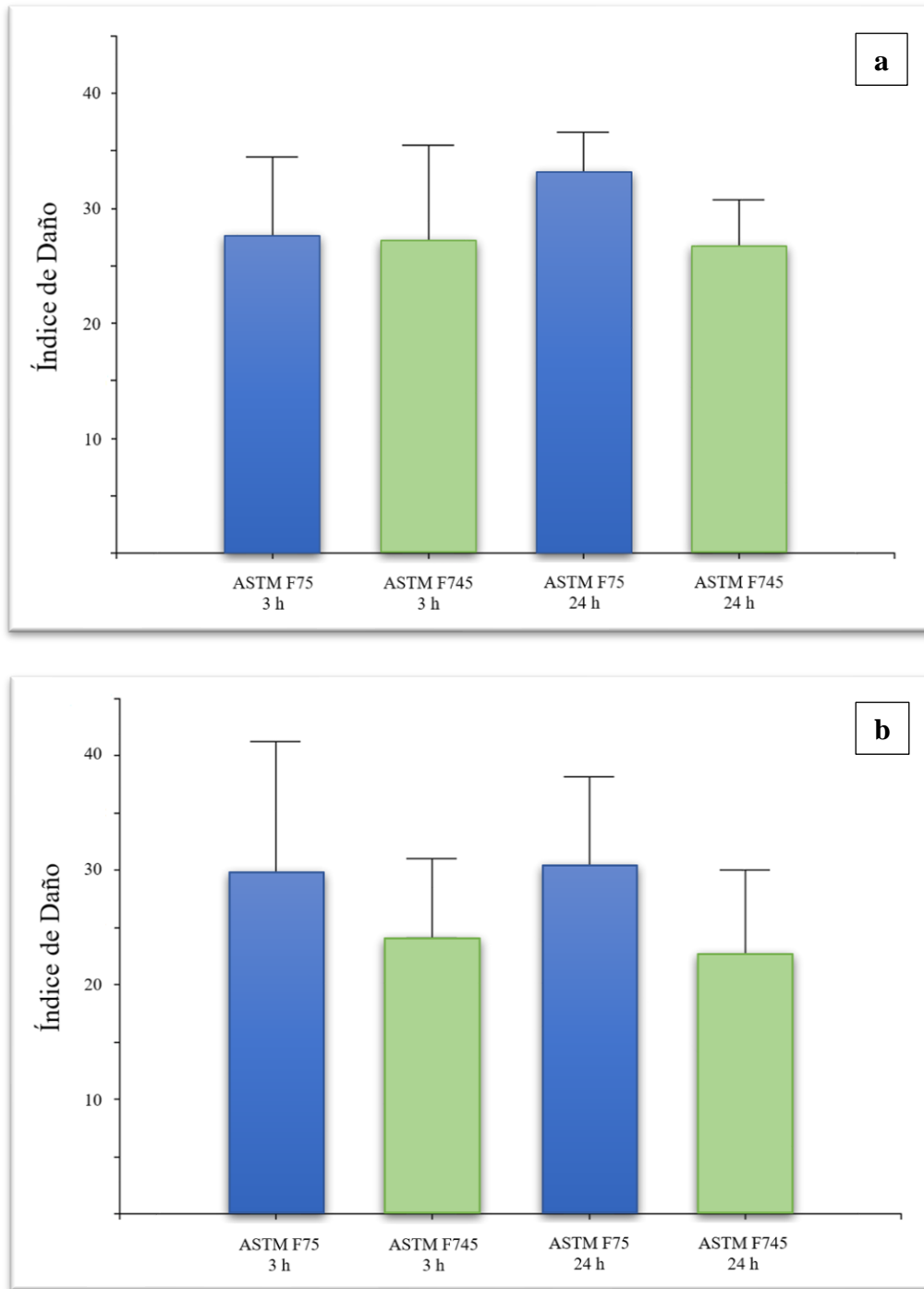


Figura 4.1 - Comparación de los ID en el ADN de linfocitos humanos inducidos por las aleaciones a diferentes tiempos de exposición. a) Tratamientos X. b) tratamiento 2X.

En la figura 4 se presentan los tipos celulares (nucleoides) observados durante la aplicación de la técnica de ensayo cometa, en microscopio de fluorescencia 40x.

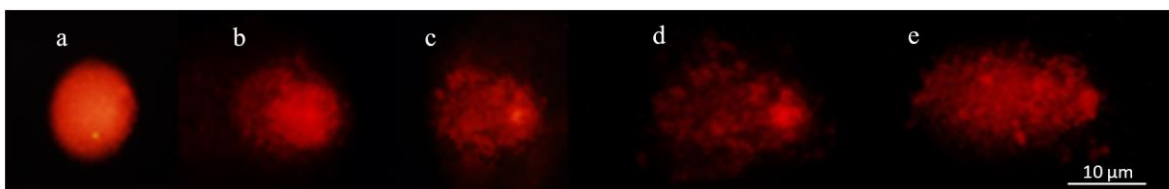


Figura 4.2 - Nucleoides con forma de cometa, analizados durante el EC y clasificados de acuerdo con el daño en el ADN en: a) clase 0 (sin daño); b) Clase 1 (daño mínimo); c) Clase 2 (daño moderado); d) Clase 3 (daño intenso); e) Clase 4 (daño máximo).

La genotoxicidad también se analizó mediante la técnica ensayo cometa en las diferentes regiones de las aleaciones base cobalto y acero inoxidable. En la Tabla 4.4 se muestran los valores de ID obtenidos. Todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al control negativo ( $p < 0,05$ ).

Tabla 4. 4 - ID (Media  $\pm$  DE) estimado en linfocitos humanos expuestos a concentraciones X y 2X de las regiones C y V de las aleaciones analizadas y ambos controles durante 3 h y 24 h de exposición.

Tratamiento	ID 3 h		ID 24 h	
	X	2X	X	2X
ASTM F75 - C	30,25 $\pm$ 1,26 <sup>a</sup>	24,00 $\pm$ 8,29 <sup>ab</sup>	33,67 $\pm$ 5,03 <sup>a</sup>	26,67 $\pm$ 3,51 <sup>a</sup>
ASTM F75 - V	26,00 $\pm$ 11,27 <sup>ab</sup>	37,33 $\pm$ 12,01 <sup>a</sup>	31,25 $\pm$ 4,11 <sup>a</sup>	33,67 $\pm$ 10,50 <sup>ac</sup>
ASTM F745 - C	22,75 $\pm$ 8,26 <sup>a</sup>	21,75 $\pm$ 5,19 <sup>a</sup>	23,00 $\pm$ 1,00 <sup>a</sup>	24,33 $\pm$ 5,51 <sup>a</sup>
ASTM F745 - V	30,75 $\pm$ 8,18 <sup>a</sup>	27,33 $\pm$ 8,62 <sup>a</sup>	28,00 $\pm$ 5,72 <sup>a</sup>	21,50 $\pm$ 9,00 <sup>ac</sup>
Ctrl Neg	10,25 $\pm$ 2,87		6,00 $\pm$ 3,65	
Ctrl Pos	81,67 $\pm$ 8,39 <sup>a</sup>		96,33 $\pm$ 7,57 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup> diferencia significativa con respecto al Ctrl Neg ( $p < 0,05$ ).

<sup>b</sup> diferencia significativa con respecto a ASTM F75-V 2X 3 h ( $p < 0,05$ ).

<sup>c</sup> diferencia significativas entre regiones de distinta aleación ( $p < 0,05$ ).

El análisis estadístico, al comparar entre regiones, mostró a las 3 h de ensayo que el tratamiento (ASTM F75 – V) correspondiente a la región del vástago de la aleación de cobalto y a una concentración de extracto iónico de 2X, presentó diferencias significativas con respecto a la otra región de la misma aleación y para la misma concentración de extracto

iónico; la misma diferencia se observó con la misma región (ASTM F75 – V) pero a concentración de extracto iónico X de la misma aleación.

En cuanto a las diferencias encontradas entre ambas aleaciones, la región del vástago de la aleación de cobalto (ASTM F75 – V) a las 24hs de exposición, presentó índices de daño en el ADN significativamente mayores con respecto al tratamiento equivalente para la otra aleación (ASTM F745 – V).

Los resultados muestran que los linfocitos expuestos a las diferentes concentraciones de extractos iónicos presentaron daño en el ADN significativamente mayor en comparación con el Ctrl Neg ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, el daño producto del aumento de concentración de los extractos iónicos no fue suficiente para relacionarlos con un efecto dosis respuesta.

La aleación base en Cobalto presentó mayores valores de ID para ambos tiempos de exposición y dosis analizadas, se evidencia una mayor diferencia en los tratamientos 2X. No obstante, la comparación entre diferentes aleaciones no mostró diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ). *Hallab et. al.* (37) obtuvieron resultados similares, al realizar estudios en células de linfocitos, fibroblastos y osteoblastos expuestos a iones metálicos, revelando que, los iones de Co, Ni y V requieren una menor concentración para inducir una toxicidad similar a la que producen los iones de Al, Cr, Fe y Mo. *Caicedo et. al.* (55) también demostraron al trabajar con linfocitos, que los iones de Co inducen porcentajes de daño mayor que los del Cr.

Los efectos genotóxicos observados en la aleación ASTM F75 se debe a que el Co induce roturas de cadenas de ADN, intercambios de cromátidas hermanas y aneuploidía, transformación morfológica y compite con ligandos en los dominios de las proteínas involucradas en el metabolismo celular y la maquinaria de replicación y reparación del ADN (24,56).

A diferencia de lo que expusimos en este trabajo *Davies et. al.* (57) en un estudio similar, demostraron al trabajar con fluido sinovial de implantes que las aleaciones de CoCr presentaban daño en el ADN en fibroblastos humanos, pero las aleaciones de acero inoxidable no presentaron daño significativo. Esto puede deberse a la sinergia entre el Co y el Cr, ya que el Co puede aumentar el daño de los iones de  $Cr^{+3}$  o  $Cr^{+6}$ . Sin embargo, tienen

en común que la aleación base cobalto, además de resultar genotóxica, presentó valores de ID mayores que la aleación de acero inoxidable atribuible a la rotura en la cadena de ADN, enlaces cruzados y sitios lábiles alcalinos.

Resultados similares se encontraron al exponer células CHO a extractos iónicos de aleaciones de acero inoxidable, advirtiendo el potencial genotóxico de ese material (58). También, al exponer células de pulmón A549 a partículas de acero inoxidable, se evidenció daño significativo en el ADN (59).

Al analizar la magnitud del daño en relación con el tiempo de exposición, se observó para ambas aleaciones que la variación del daño en el ADN con el aumento del tiempo de exposición no es significativa. La genotoxicidad del Ni y el Fe puede causar la generación de especies reactivas de oxígeno y la inhibición de la reparación del ADN, lo que podría inducir la transformación o muerte celular (58). El efecto carcinogénico del Cr se encuentra limitado por su solubilidad, en el transcurso de la reducción de Cr<sup>+6</sup> a Cr<sup>+3</sup> pueden producirse una serie de lesiones genéticas aductos Cr-ADN, enlaces cruzados entre ADN-proteínas, quiebres de cadena sencilla y oxidaciones de base (60).

### ***4.3.2 Ensayo Citómico de Micronúcleos***

#### ***4.3.2.1 Genotoxicidad***

En la Figura 4.3 se representa la media ( $\pm$  DE) de la frecuencia de MN obtenidos en los ensayos de CBMN en linfocitos humanos para los diferentes tratamientos y controles. Se observó que para ambas aleaciones y a diferentes concentraciones de exposición la diferencia es significativa con respecto al control negativo ( $p < 0,05$ ). Además, la frecuencia de MN estimada para ambas aleaciones duplica la del Ctrl Neg.

Las comparaciones con el Ctrl Pos se realizaron con los ensayos que se utilizó EMS en una concentración de 0,5  $\mu$ L/mL, ya que este presentó el mayor índice de división nuclear (IDN>1) además de un número suficiente de células binucleadas (BN) para el recuento. Los ensayos realizados con EMS con concentraciones de 2 – 5  $\mu$ L/mL, presentaron únicamente células Mononucleadas (IDN=1) y debido a la ausencia de células binucleadas no pudo realizarse el ensayo de genotoxicidad. Las concentraciones de EMS superiores a 5  $\mu$ L/mL,

presentaron una toxicidad elevada para los linfocitos y no se pudo estimar el índice de genotoxicidad ya que no se encontraron células en división.

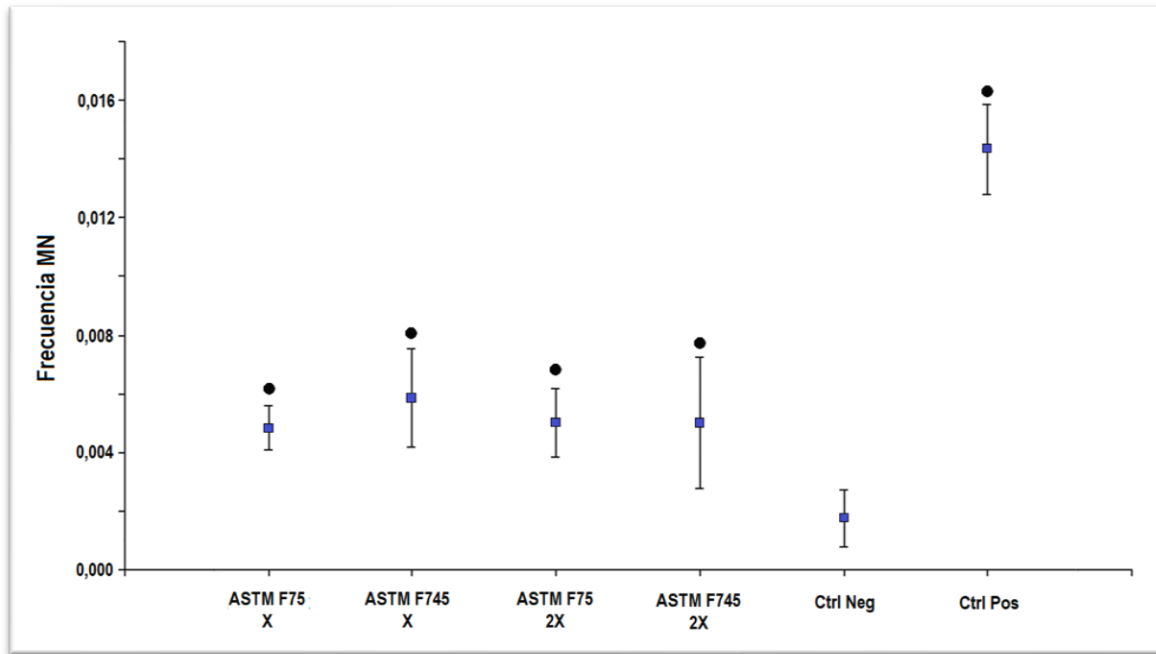


Figura 4.3 - Medias ( $\pm$  DE) de frecuencias de MN inducidos en linfocitos humanos expuestos a extractos iónicos de ASTM F75 y ASTM F745 en concentraciones 1:1 y 1:2 v/v (X y 2X) y Controles negativo (Ctrl Neg) y positivo (Ctrl Pos) durante 72 h de exposición. La frecuencia de MN se estimó en 1000 células binucleadas por unidad experimental.

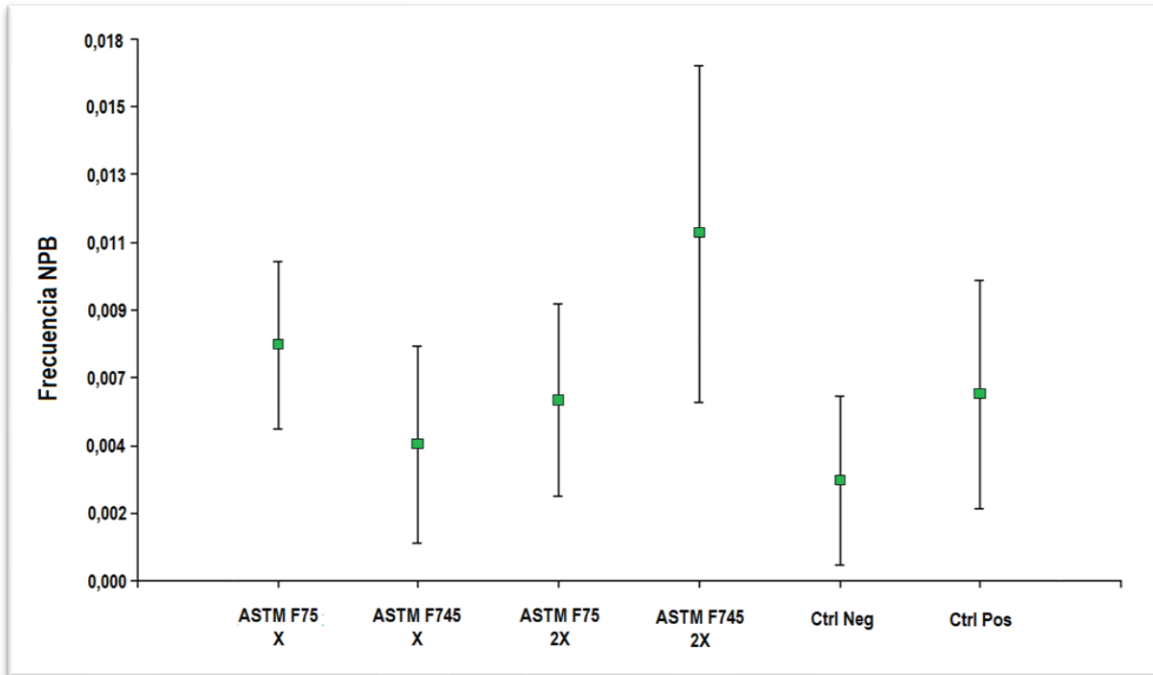
● diferencia significativa con respecto al control negativo ( $p < 0,05$ ).

Al comparar la frecuencia de MN entre las diferentes aleaciones y concentraciones de extracto iónico no se observaron diferencias significativas.

Por otra parte, en la Figura 4.4 se muestra la frecuencia de puentes nucleoplásticos (NPB) y en la Tabla 4.5 la frecuencia de gemaciones nucleares (NBud) en linfocitos. Se puede observar que ambas frecuencias no presentan diferencias estadísticamente significativas en relación con el Ctrl Neg. Sin embargo, la aleación ASTM F745 con un tratamiento de concentración 2X presentó un aumento considerable en la media de NPB observados.

La variación de concentración del extracto iónico de X a 2X no mostró evidencias significativas en el efecto genotóxico. Daley *et. al.* (61) sugiere que la frecuencia de

micronúcleos varía de forma lineal según la dosis en células amnióticas cultivadas con distintas concentraciones de iones en líquido periprotésico para aleaciones de Cobalto y acero inoxidable. Esto no se observó en los resultados expuestos en este trabajo, ya que posiblemente la diferencia de concentraciones entre tratamientos fue muy baja.

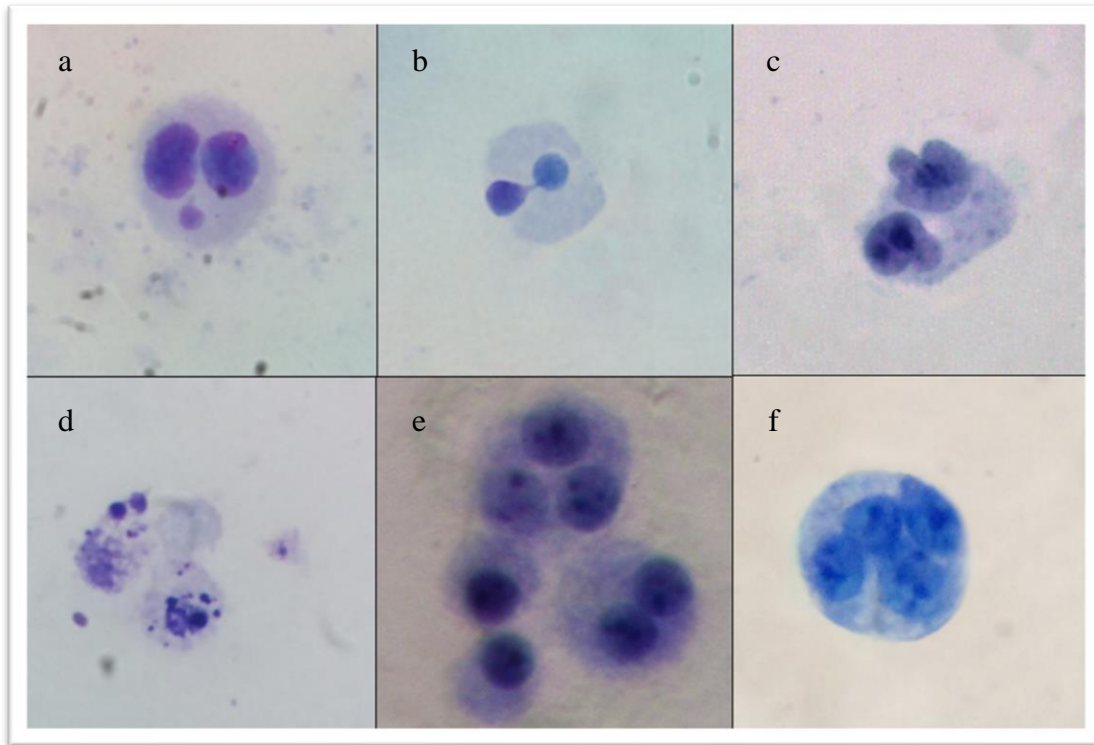


*Figura 4.4 - Medias ( $\pm$  DE) de frecuencias de puentes nucleoplásmicos (NPB) inducidos en linfocitos humanos expuestos a las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745 en concentraciones 1:1 y 1:2 v/v (X y 2X) y a los controles negativo (Ctrl Neg) y positivo (Ctrl Pos) durante 72 h de exposición. La frecuencia de NPB se estimó en 1000 células binucleadas por unidad experimental.*

*Tabla 4. 5 - Medias ( $\pm$  DE) de frecuencias de NBud inducidas en linfocitos humanos expuestos a las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745 en concentraciones X y 2X y a los Ctrl Neg y Ctrl Pos durante 72 h de exposición. Se estimó en 1000 células binucleadas por unidad experimental.*

Aleaciones	NBud	
	X	2X
ASTM F75	0,0025 $\pm$ 0,00207	0,00243 $\pm$ 0,0027
ASTM F745	0,00317 $\pm$ 0,00264	0,00129 $\pm$ 0,00076
Ctrl Neg	0,00225 $\pm$ 0,00171	
Ctrl Pos	0,001 $\pm$ 0,00058	

En la Figura 4.5 se muestran los tipos de linfocitos y biomarcadores observados en el ensayo CBMN.



*Figura 4. 5 - Tipos de linfocitos humanos y biomarcadores observados/analizados durante la aplicación del Ensayo Citomicro de Micronucleos por bloqueo de la citocinesis (CBMN) a) linfocito BN con micronúcleo; b) puente nucleoplásmico; c) gemaciones nucleares; d) célula apoptótica; e) linfocitos con uno, dos y tres núcleos; f) linfocito multinucleado con 4 núcleos.*

Los micronúcleos observados para los tratamientos realizados con la extracción iónica de la aleación ASTM F75 pueden ser producidos por eventos clastogénicos y aneugénicos, produciendo igual proporción de fragmentos cromosómicos como de pérdidas de cromosomas enteros. En estudios anteriores realizados por *De Boeck et. al* (62) se sugiere que las células de linfocitos expuestas a iones de Co tienen la capacidad de generar micronúcleos.

La aleación ASTM F745 mostró una elevada frecuencia de NPB indicadores de la inestabilidad cromosómica, esto se debe a que pueden generarse cromosomas dicéntricos a causa de una mala reparación de roturas de ADN de doble cadena o debido a fusiones de telómeros.



Al evaluar si existía algún efecto proveniente de las diferentes regiones de una misma aleación, el análisis estadístico mostró que la región del vástago de la aleación ASTM F75 a la concentración de extracto iónico de 2X no mostró diferencia significativa con relación al Ctrl Neg ( $p>0,05$ ). El resto de los tratamientos para las demás aleaciones, regiones y concentraciones analizados mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al Ctrl Neg ( $p<0,05$ ). En la Figura 4.6 se muestran los valores de las frecuencias de MN obtenidos para las diferentes regiones de las aleaciones analizadas.

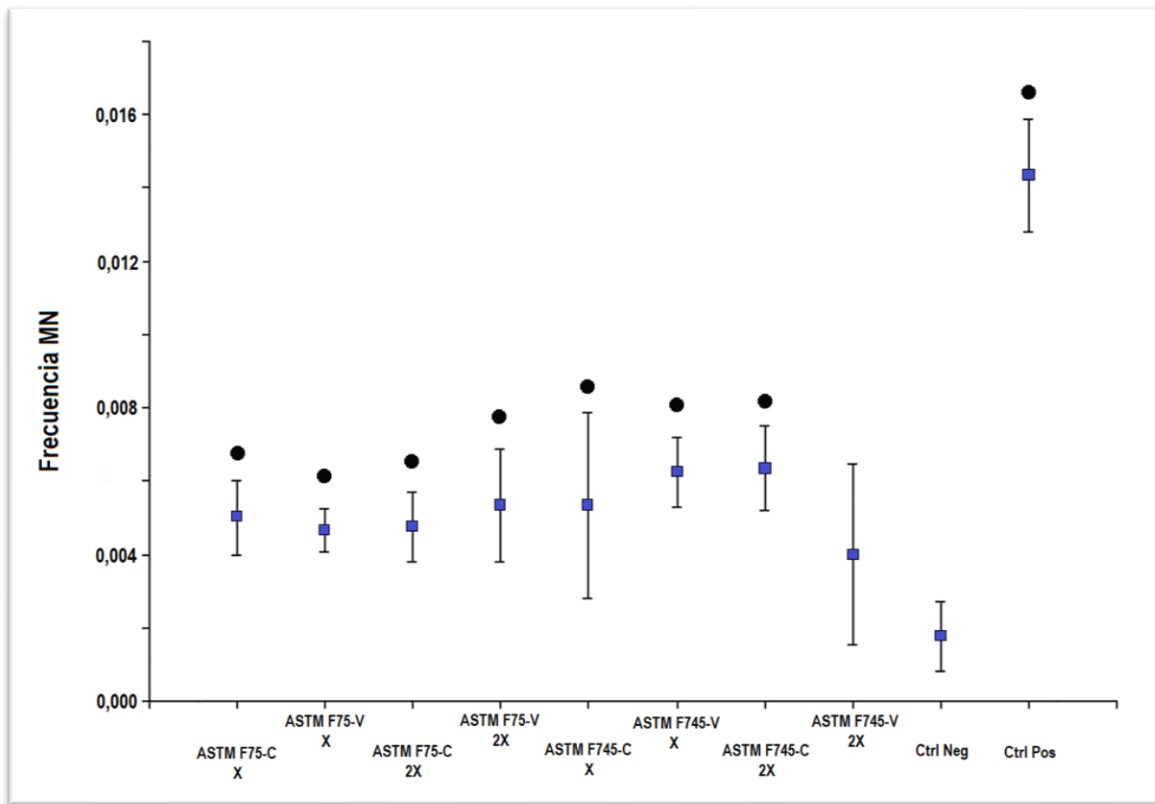


Figura 4.6 - Medias ( $\pm DE$ ) de frecuencias de MN inducidos en linfocitos humanos expuestos a las diferentes regiones de las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745 en concentraciones X y 2X y Ctrl Neg y Ctrl Pos durante 72 h de exposición. Se estimó en 1000 células binucleadas por unidad experimental.

- diferencia significativa con respecto al control negativo ( $p<0,05$ ).

En la Figura 4.7 se muestran los valores de las frecuencias de NPB obtenidos para las diferentes regiones de las aleaciones analizadas. El análisis reveló que las regiones del cabezal y el vástago de la aleación ASTM F745, a una concentración de tratamiento de 2X,

mostraron valores significativamente mayores para estos biomarcadores en relación con el Ctrl Neg.

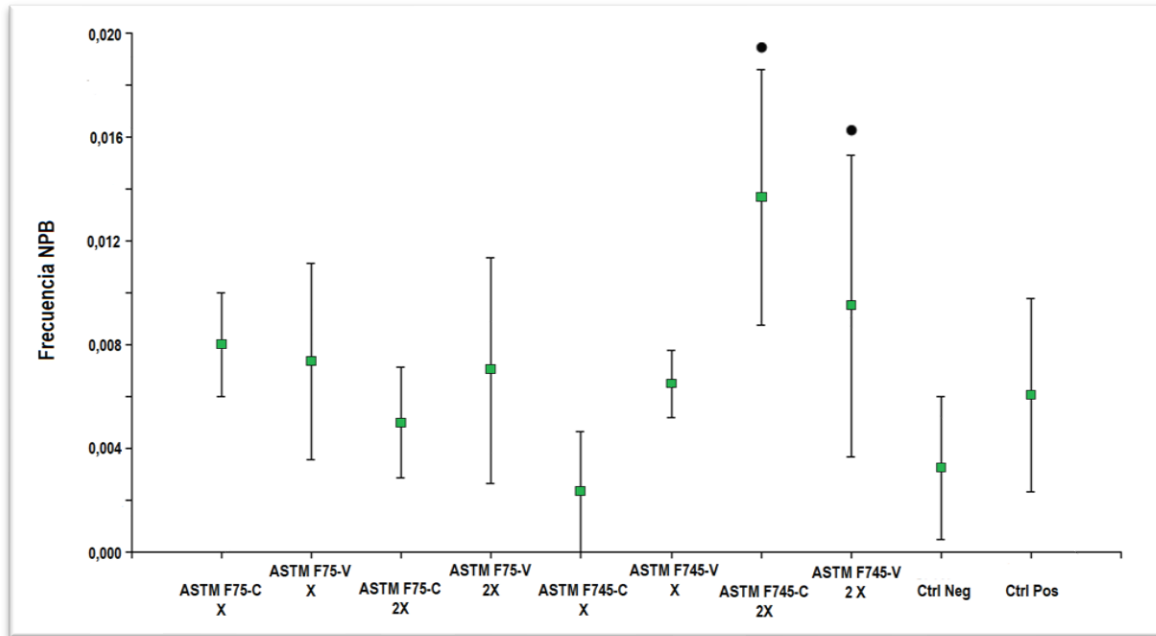


Figura 4. 7 - Medias ( $\pm$  DE) de frecuencias NPB inducidos en linfocitos humanos expuestos a extractos iónicos de las diferentes regiones de las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745 en concentraciones X y 2X y Ctrl Neg y Ctrl Pos durante 72 h de exposición. Se estimó en 1000 células binucleadas por unidad experimental.

● diferencia significativa con respecto al control negativo ( $p < 0,05$ ).

Tabla 4.6 - Medias ( $\pm$  D.E.) de frecuencia NBud inducidos en linfocitos humanos expuestos a extractos de las diferentes regiones de las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745 en concentraciones X y 2X y Ctrl Neg y Ctrl Pos durante 72 h de exposición. Se estimó en 1000 células binucleadas por unidad experimental.

Aleaciones	NBud	
	X	2X
ASTM F75 - C	0,0027 $\pm$ 0,0025	0,0027 $\pm$ 0,0031
ASTM F75 - V	0,0023 $\pm$ 0,0021	0,002 $\pm$ 0,0026
ASTM F745 - C	0,001 $\pm$ 0,0017	0,001 $\pm$ 0,001
ASTM F745 - V	0,004 $\pm$ 0,0027	0,0015 $\pm$ 0,006
Ctrl Neg	0,0022 $\pm$ 0,0017	
Ctrl Pos	0,0007 $\pm$ 0,006	

En la Tabla 4.6 se muestran los valores de frecuencia de NBuds. No se encontraron diferencias significativas para las diferentes regiones de las aleaciones analizadas y a diferentes concentraciones de extracto iónico al comparar con el Ctrl Neg ( $p > 0,05$ ).

#### 4.3.2.2 Citotoxicidad

En los ensayos para evaluación de citotoxicidad en los linfocitos expuestos a diferentes concentraciones de los extractos iónicos de las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745, el recuento de células apoptóticas y necróticas no reveló daño citotóxico. Esto se debe a la muy baja frecuencia de células apoptóticas y necróticas halladas en los tratamientos.

Al realizar el análisis para las diferentes regiones de las diferentes aleaciones y concentraciones de extracto iónico, tampoco reveló daño citotóxico.

Otros autores como *Lopez et. al.* (58) y *Hedberg et. al.* (59) obtuvieron resultados similares a los presentados en este trabajo.

#### 4.3.2.3 Citostasis

En la Tabla 4.7 se presentan los valores de Índices de División Nuclear estimados para determinar la capacidad citostática de ambas aleaciones y diferentes concentraciones de extracto iónico.

Tabla 4. 7 - Media ( $\pm$  DE) del IDN producido por las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745. Se estimó a partir de la frecuencia de células mononucleadas, binucleadas, trinucleadas y polinucleadas en un total de 500 células por unidad experimental.

Aleaciones	IDN	
	X	2X
ASTM F75	1,74 $\pm$ 0,13	1,73 $\pm$ 0,15
ASTM F745	1,76 $\pm$ 0,16	1,71 $\pm$ 0,20
Ctrl Neg	1,69 $\pm$ 0,40	
Ctrl Pos	1,33 $\pm$ 0,05 *	

\* indican diferencias significativas respecto al control negativo ( $p < 0,05$ ).

Los IDN no mostraron diferencias significativas con respecto al Ctrl Neg. La variación de concentraciones de los extractos iónicos analizados (X y 2X) no afectó la división celular en los linfocitos de las unidades experimentales.

En la Tabla 4.8 se presentan los valores de IDN estimados para determinar la capacidad citostática en las diferentes regiones de ambas aleaciones y diferentes concentraciones de extracto iónico.

Las regiones Cabezal y Vástago no mostraron diferencias significativas en cuanto al tipo de aleación y concentración analizada con respecto al control negativo.

*Tabla 4. 8 - Media ( $\pm$ D.E.) del IDN estimado para evaluar el efecto citostático en cultivo de linfocitos expuestos a las regiones de las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745 y Ctrl Neg y Ctrl Pos. Se estimó a partir de la frecuencia de células mononucleadas, binucleadas, trinucleadas y polinucleadas en un total de 500 células por unidad experimental.*

Aleaciones	IDN	
	X	2X
ASTM F75 – C	1,76 $\pm$ 0,20	1,72 $\pm$ 0,21
ASTM F75 – V	1,73 $\pm$ 0,09	1,73 $\pm$ 0,08
ASTM F745 – C	1,79 $\pm$ 0,20	1,71 $\pm$ 0,29
ASTM F745 – V	1,77 $\pm$ 0,13	1,72 $\pm$ 0,14
Ctrl Neg	1,69 $\pm$ 0,40	
Ctrl Pos	1,33 $\pm$ 0,40 *	

\* indican diferencias significativas respecto al control negativo ( $p < 0,05$ ).

#### **4.4 Conclusiones**

Las células de linfocito expuestas a los iones liberados de las aleaciones ASTM F75 y ASTM F745 presentan daño genotóxico para las concentraciones analizadas, provocando lesiones tanto primarias y reparables en el ADN como daño no reparable.

Las aleaciones analizadas no mostraron actividad citotóxica ni citostática en las condiciones de ensayos propuestas.

La aleación base en Cobalto presentó mayores valores de ID para ambos tiempos de exposición y dosis analizadas. No obstante, la comparación entre aleaciones no mostró diferencias significativas en el daño generado.

La región que mostró mayor efecto genotóxico es el vástago de la aleación ASTM F75, asociada además a un efecto dosis-respuesta observado en exposiciones a corto plazo por medio del ensayo cometa. Sin embargo, se desconoce los motivos por los que el vástago mostró mayor genotoxicidad que la otra región.

La aleación ASTM F745 no presentó diferencias significativas en la genotoxicidad al comparar las diferentes regiones de la aleación por medio de los biomarcadores EC y CBMN en células de linfocitos humanos *in vitro*.

## 4.5 Referencias

1. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008;29(20):2941–53.
2. Chen Q, Thouas G a. Metallic implant biomaterials. *Mater Sci Eng R Reports* [Internet]. 2015;87:1–57. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927796X14001077>
3. Williams DF. Handbook of Biomaterial Properties. Black J, Hastings G, editors. Vol. 65, *Journal of Controlled Release*. New York: Chapman and Hall; 1998. 481–489 p.
4. Manam NS, Harun WSW, Shri DNA, Ghani SAC, Kurniawan T, Ismail MH, et al. Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review. *J Alloys Compd* [Internet]. 2017;701:698–715. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.01.196>
5. Chen Q, Thouas GA. Metallic implant biomaterials. *Mater Sci Eng R Reports* [Internet]. 2015;87:1–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mser.2014.10.001>
6. García González MI. Agentes citostáticos [Internet]. Comisión de salud pública. Madrid: Grafoffset, S.L.; 2006. 5–92 p. Available from: <http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/Agentescitostaticos.pdf>
7. Preston RJ, Hoffmann GR. Genotoxic Toxicology. In: Curtis DK, editor. *Toxicology: the basic science of poisons*. Seventh Ed. New York: McGraw-Hill; 2007. p. 381–414.
8. Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M. Toxicology of Metals: Overview, Definitions, Concepts, and Trends. In: Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, editors. *Handbook on the Toxicology of Metals* [Internet]. Fourth Edi. Elsevier; 2015. p. 1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-59453-2.00001-9>
9. Cadosch D, Chan E, Gautschi OP, Filgueira L. Review Metal is not inert : Role of metal ions released by biocorrosion in aseptic loosening — Current concepts. *J Biomed Mater Res Part A*. 2009;1252–62.
10. Azizullah A, Nasir M, Khattak K, Richter P, Häder D. Water pollution in Pakistan and its impact on public health — A review. *Environ Int* [Internet]. 2011;37(2):479–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2010.10.007>
11. Srivastava S, Mishra S, Tripathi RD, Dwivedi S, Gupta DK. Copper-induced oxidative stress and responses of antioxidants and phytochelatins in *Hydrilla verticillata* ( L . f . ) Royle & Aquat Toxicol. 2006;80:405–15.
12. Lippard SJ. Metals in Medicine. In: Bertini I, Gray H, Lippard S, Valentine J, editors. *Bioinorganic chemistry*. Mill Valley; 1994. p. 505–84.
13. Cheney K, Gumbiner C, Benson B, Tenenbein M. Survival after a severe iron poisoning

- treated with intermittent infusions of deferoxamine. *Clin Toxicol.* 1995;33(1):61–6.
14. Liehr J, Jones S. Role of Iron in Estrogen-Induced Cancer. *Curr Med Chem.* 2001;8:839–49.
  15. Denizoglu S, Duymuş ZY. Evaluation of cobalt, chromium, and nickel concentrations in plasma and blood of patients with removable partial dentures. *Dent Mater J.* 2006;25(2):365–70.
  16. Dayan AD, Paine AJ. Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: Review of the literature from 1985 to 2000. *Hum Exp Toxicol.* 2001;20(9):439–51.
  17. Hansen MB, Rydin S, Menné T, Johansen J. Quantitative aspects of contact allergy to chromium and exposure to chrome-tanned leather. *Contact Dermatitis.* 2002;(47):127–34.
  18. Oliveira SCB, Oliveira-Brett AM. In situ evaluation of chromium – DNA damage using a DNA-electrochemical biosensor. *Anal Bioanal Chem.* 2010;(398):1633–41.
  19. Nickens KP, Patierno SR, Ceryak S. Chemico-Biological Interactions Chromium genotoxicity : A double-edged sword. *Chem Biol Interact* [Internet]. 2010;188(2):276–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2010.04.018>
  20. Schwarz FJ, Kirchgessner M, Stangl GI. Cobalt requirement of beef cattle – feed intake and growth at different levels of cobalt supply. *J Anim Physiol a Anim Nutr.* 2000;83:121–31.
  21. Yamada K. Cobalt : Its Role in Health and Disease. In: Sigel A, Sigel H, Sigel RKO, editors. *Met Ions Life Sci.* 13th ed. Springer; 2013. p. 295–320.
  22. Jones DA, Lucas HK, O’Driscoll M, Prince CH, Wibberley B. COBALT TOXICITY AFTER MCKEE HIP ARTHOPLASTY. *J Bone Jt Surg.* 1975;57-B(3):289–96.
  23. Mao X, Wong AA, Crawford RW. Cobalt toxicity — an emerging clinical problem in patients with metal-on-metal hip prostheses ? *Med J Aust.* 2011;194(12):649–51.
  24. Scharf B, Clement CC, Zolla V, Perino G, Yan B, Elci SG, et al. cobalt-related toxicity. *Sci Rep.* 2014;4(5729).
  25. Turnlund JR. Molybdenum Metabolism and Requirements in Humans.
  26. Antoniou J, Dj Z, Mwale F, Minarik W, Petit A, Ol H. Metal Ion Levels in the Blood of Patients After Hip Resurfacing: A Comparison Between Twenty-eight and Thirty-six-Millimeter-Head Metal-on-Metal Prostheses. *J Bone Jt Surg.* 2008;90:142–8.
  27. Nielsen JL, Poulsen OM, Abildtrup A. Studies of serum protein complexes with nickel using crossed immunoelectrophoresis. *Electrophoresis.* 1994;15(1):666–71.
  28. Ishimatsu S, Kawamoto T, Matsuno K, Kodama Y. Distribution of various nickel compounds in rat organs after oral administration. *Biol Trace Elem Res.* 1995;49(1):43–52.
  29. Daniel J, Holland J, Quigley L, Sprague S, Bhandari M. Pseudotumors associated with total hip arthroplasty. *J Bone Jt Surg - Ser A.* 2012;94(1):86–93.

30. Cooper HJ, Urban RM, Wixson RL, Meneghini RM, Jacobs JJ. Adverse Local Tissue Reaction Arising from Corrosion at the Femoral Neck-Body Junction in a Dual-Taper Stem with a Cobalt-Chromium Modular Neck. *J Bone Jt Surg*. 2013;95:865–73.
31. Natu S, Sidaginamale RP, Gandhi J, Langton DJ, Nargol AVF. Adverse reactions to metal debris: Histopathological features of periprosthetic soft tissue reactions seen in association with failed metal on metal hip arthroplasties. *J Clin Pathol*. 2012;65(5):409–18.
32. Nyga A, Hart A, Tetley TD. Importance of the HIF pathway in cobalt nanoparticle-induced cytotoxicity and inflammation in human macrophages. *Nanotoxicology* [Internet]. 2015;9(7):905–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.3109/17435390.2014.991430>
33. Samelko L, Caicedo MS, Lim SJ, Della-Valle C, Jacobs J, Hallab NJ. Cobalt-Alloy Implant Debris Induce HIF-1 $\alpha$  Hypoxia Associated Responses: A Mechanism for Metal-Specific Orthopedic Implant Failure. *PLoS One*. 2013;8(6):1–7.
34. Papageorgiou I, Brown C, Schins R, Singh S, Newson R, Davis S, et al. The effect of nano- and micron-sized particles of cobalt-chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials*. 2007;28(19):2946–58.
35. Posada OM, Tate RJ, Grant MH. Effects of CoCr metal wear debris generated from metal-on-metal hip implants and Co ions on human monocyte-like U937 cells. *Toxicol Vitro* [Internet]. 2015;29(2):271–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2014.11.006>
36. Goode AE, Perkins JM, Sandison A, Karunakaran C, Cheng H, Wall D, et al. Chemical speciation of nanoparticles surrounding metal-on-metal hips. *Chem Commun*. 2012;48(67):8335–7.
37. Hallab NJ, Anderson S, Caicedo M, Brasher A, Mikecz K, Jacobs JJ. Effects of soluble metals on human peri-implant cells. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2005;74(1):124–40.
38. Zalacain M. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos The cytogenetic assay as a measure of genetic instability induced by genotoxic agents Correspondencia : *An Sist Sanit Navar*. 2005;28(2):227–36.
39. Fenech M, Natarajan AT. Molecular mechanisms of micronucleus , nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 2011;26(1):125–32.
40. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2007;2(5):1084–104.
41. Fenech M, Knasmueller S, Bolognesi C, Bonassi S, Holland N, Migliore L, et al. Molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxic agents can lead to micronucleus formation in lymphocytes in vivo and ex vivo in humans. *Mutat Res* [Internet]. 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.04.008>
42. Collins AR, Oscoz AA, Giovannelli L, Brunborg G, Gaiva I, Kruszewski M, et al. The comet



- assay : topical issues. *Mutagenesis*. 2008;23(3):143–51.
43. Faccioni F, Franceschetti P, Cerpelloni M, Fracasso ME. In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa cells. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 2003;124(6):687–93.
  44. Zhang M, Chen Z, Chen Q, Zou H, Lou J, He J. Investigating DNA damage in tannery workers occupationally exposed to trivalent chromium using comet assay. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2008;654(1):45–51.
  45. Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials. ISO 10993-12. 2004.
  46. OECD. OVERVIEW OF THE SET OF OECD GENETIC TOXICOLOGY TEST GUIDELINES AND UPDATES PERFORMED IN 2014-2015 TABLE. 2016. p. 1–70.
  47. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, et al. Single Cell Gel / Comet Assay : Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environ Mol Mutagen* 35206–221. 2000;35:206–21.
  48. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A Simple Technique for Quantitation Damage in Individual of Low Levels of DNA Cells. *Exp Cell Res*. 1988;175:184–91.
  49. Fenech M, Chang WP, Kirsch-volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E. HUMN project : detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res*. 2003;534:65–75.
  50. Kimura A, Miyata A, Honma M. A combination of in vitro comet assay and micronucleus test using human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutagenesis*. 2013;28(5):583–90.
  51. Di Sotto A, Mazzanti G, Carbone F, Hrelia P, Maffei F. Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis Inhibition by  $\alpha$ -caryophyllene of ethyl methanesulfonate-induced clastogenicity in cultured human lymphocytes. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen* [Internet]. 2010;699(1–2):23–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.04.008>
  52. Kiffe M, Christen P, Arni P. Characterization of cytotoxic and genotoxic effects of different compounds in CHO K5 cells with the comet assay ( single-cell gel electrophoresis assay ). *Mutat Res*. 2003;537:151–68.
  53. Burgos L, Lehmann M, Helena H, Andrade R De, Regina B, Abreu R De, et al. Ecotoxicology and Environmental Safety In vivo and in vitro genotoxicity assessment of 2-methylisoborneol , causal agent of earthy – musty taste and odor in water. *Ecotoxicol Environ Saf* [Internet]. 2014;100:282–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.10.022>
  54. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat

versión (2018) [Internet]. Córdoba: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba; 2018. p. 2018. Available from: <http://www.infostat.com.ar>

55. Caicedo M, Jacobs JJ, Reddy A, Hallab NJ. Analysis of metal ion-induced DNA damage, apoptosis, and necrosis in human (Jurkat) T-cells demonstrates Ni<sup>2+</sup> and V<sup>3+</sup> are more toxic than other metals: Al<sup>3+</sup>, Be<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Mo<sup>5+</sup>, Nb<sup>5+</sup>, Zr<sup>2+</sup>. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2008;86(4):905–13.
56. Magaye R, Zhao J, Bowman L, Ding M. Genotoxicity and carcinogenicity of cobalt-, nickel- and copper-based nanoparticles (Review). *Exp Ther Med*. 2012;4(4):551–61.
57. Davies AP, Sood A, Lewis AC, Newson R, Learmonth ID, Case CP. Metal-specific differences in levels of DNA damage caused by synovial fluid recovered at revision arthroplasty. *J Bone Jt Surg - Ser B*. 2005;87(10):1439–44.
58. Pareja López A, Garcia Garcia CP, Abad Mejía PJ, Márquez Fernandez ME. Estudio in vitro de la citotoxicidad y genotoxicidad de los productos liberados del acero inoxidable 316L con recubrimientos cerámicos bioactivos. *IATREIA*. 2007;20(1).
59. Hedberg Y, Gustafsson J, Karlsson HL, Möller L, Wallinder IO. Bioaccessibility, bioavailability and toxicity of commercially relevant iron- and chromium-based particles: in vitro studies with an inhalation perspective. *Part Fibre Toxicol*. 2010;7:1–14.
60. Arakawa H, Ahmad R, Naoui M, Tajmir-Riahi H-A. A Comparative Study of Calf Thymus DNA Binding to Cr(III) and Cr(VI) Ions. *J Biol Chem*. 2000;275(14):10150–3.
61. Daley B, Doherty AT, Fairman B, Case CP. Wear debris from hip or knee replacements causes chromosomal damage in human cells in tissue culture. *J Bone Jt Surg - Ser B*. 2004;86(4):598–606.
62. Boeck M De, Backer S De, Finsy R, Lison D, Kirsch-volders M, Boeck M De. In vitro genotoxic effects of different combinations of cobalt and metallic carbide particles is associated with an increased risk of lung cancer, while alone. In vitro, in human peripheral blood mononucleated cells underlying this higher genotoxicity is. *Mutagenesis*. 2003;18(2):177–86.

## **Capítulo 5 - Conclusiones generales**

La variación en las dimensiones de la prótesis, representadas en este trabajo por dos secciones, una de mayor volumen como la del cabezal proximal al acetábulo y otras de menor volumen como la región del vástago femoral, induce cambios en las condiciones de solidificación. Esto se vio reflejado en el aumento de los tiempos de solidificación local para la región de mayor espesor, lo que se traduce en una extracción calórica más lenta. Al igual que al analizar el gradiente térmico, entre la pared del molde y el centro de la pieza, mostró que al aumentar el volumen de la pieza el gradiente disminuye provocando que la velocidad de la interface Sólido/Líquido sea menor en esta región.

Las diferencias que se producen en el tamaño de los granos de solidificación en la región del vástago, con una estructura de granos más fina, pueden atribuirse a la diferencia en las condiciones que conducen a la nucleación. En las curvas de enfriamiento, se observó que el subenfriamiento en la región más fina de la prótesis es mayor, lo que promueve que el radio crítico para que se constituya un núcleo sea menor, aumentando la cantidad de núcleos presentes en la zona y la velocidad de nucleación durante la solidificación. Todo esto provoca que el tamaño de los granos de solidificación sea menor en dicha región a diferencia de la región de mayor volumen de la prótesis.

La microestructura de la región del vástago femoral fue más delgada, con espaciamiento dendrítico primario " $\lambda_1$ " y el secundario " $\lambda_2$ " menores comparados con la otra región. Este comportamiento también puede atribuirse a la mayor velocidad de enfriamiento y, los parámetros relacionados a ella (gradiente térmico y velocidad de la interface Sólido/Líquido) que también son mayores y, en consecuencia, menores serán los espaciamientos de los brazos dendríticos.

Como efecto de la variación en las condiciones de solidificación promovidos por los cambios en las dimensiones de la prótesis, la composición de los aleantes Cr y Mo aumentaron en porcentaje en las regiones interdendríticas y en la región del cabezal femoral. Esto se produjo por la disminución de la velocidad de la interface de avance de Sólido / Líquido con respecto a la velocidad de difusión de los átomos de soluto, mejorando las condiciones para que estos se transfieran al líquido que aún no ha solidificado.

La microsegregación de los aleantes Cr y Mo al dirigirse hacia las zonas interdendríticas generaron cambios en las propiedades mecánicas haciendo que se vuelva más dura con respecto a la fase  $\gamma$ , lo que se vio reflejado en los valores de microdureza. Al mismo tiempo, se estableció que a medida que aumentan los valores de espaciamento dendrítico secundario la dureza aumenta en la región interdendrítica. En cambio, el tamaño de grano no es un buen parámetro para predecir las propiedades mecánicas de las prótesis obtenidas por solidificación.

En el caso de la resistencia a la degradación electroquímica, se demostró que el potencial de corrosión varía levemente hacia valores más electronegativos y, en el caso del potencial de picado, hacia valores más electropositivos al disminuir el tamaño de grano. Esto produce que aumente el rango de pasividad, lo que se asocia a una mayor resistencia a la corrosión. Una estructura refinada de granos mejora la resistencia a la corrosión ya que mejora la película pasiva producto del aumento en la fracción de bordes de grano. Dichas zonas aumentan la reactividad de la superficie aumentando la actividad y difusión de los electrones, dando como resultado la rápida formación de la capa protectora, incluso promoviendo una mejor adhesión de esta.

Al evaluar el daño que promueven los iones que se liberan al interactuar la prótesis con el fluido corporal circundante, se demostró que tiene más relevancia el tipo de ión que se libera ante los otros parámetros como los estructurales. Se ha observado que ambas aleaciones inducen daño genotóxico pero la aleación base Cobalto presenta el mayor índice de daño.

## **Recomendaciones para Trabajos Futuros**

A continuación, se nombran tareas que pueden ser interesantes de desarrollar a futuro:

- Análisis de estructuras de solidificación con velocidad de enfriamiento controlada.
- Profundizar los estudios de corrosión mediante curvas de polarización en fluidos que simulan a los corporales.
- Estudios de degradación por inmersión en simulación de fluidos por tiempos prolongados.
- Evaluar los recubrimientos que conforman la película pasiva en diferentes estructuras de grano y su interacción con los fluidos corporales.
- Realizar un análisis de las especies electroactivas mediante la técnica de voltametría.
- Ampliar los estudios de toxicología analizando la hemocompatibilidad de las diferentes estructuras de solidificación.

## Producción Científica

### *Publicaciones en Revistas y Capítulos de Libros*

- A. I. Kociubczyk, C. M. Mendez, R. W. Gregorutti, A. E. Ares. (2015) “Electrochemical Tests in Stainless Steel Surgical Implants”. *Procedia Materials Science*. Vol, 9, Pag, 335–340. Editorial Elsevier, Amsterdam, Países bajos. doi:10.1016/j.mspro.2015.05.002.
- A. I. Kociubczyk; C. M. Mendez; R. W. Gregorutti; A. E. Ares. (2017) “Electrochemical Analysis of The ASTM F75 Alloy at Different pH Values and Temperatures”. *Materials and Corrosion-Werkstoffe und Korrosion*; Lugar: Weinheim; p. 1 – 11
- A. I. Kociubczyk; J. E. Grau, J. L. Sarutti; R. W. Gregorutti; A. E. Ares. (2020) “Solidification analysis of a cast hip prosthesis in ASTM F745 austenitic stainless steel”. (en evaluación).

### *Presentaciones a Congresos*

- A. Kociubczyk, C. Méndez, R. Gregorutti A. Ares. Ensayos potenciodinámicos y espectroscopía de impedancia electroquímica en acero inoxidable para implantes quirúrgicos. SAM IBEROMAT XIII. 2014. Formato de Presentación: Póster.
- A. Kociubczyk, R. Gregorutti, A. Ares. Estructuras de solidificación y propiedades de aleaciones destinados a la sustitución de tejidos duros. 1º Jornada de Ciencia, Tecnología e Industria y las 2º Jornada de Jóvenes Investigadores. 2014. Formato de Presentación: Oral.
- A. I. Kociubczyk, C. M. Mendez, R. W. Gregorutti, A. E. Ares. Ensayos Potenciodinámicos y Espectroscopía de Impedancia Electroquímica en la Aleación ASTM F75. XIX Congreso Argentino de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Carácter de participación: Oral. Asociación Argentina de Investigación Fisicoquímica. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 2015.
- A. I. Kociubczyk, C. M. Mendez, R. W. Gregorutti, A. E. Ares. Resistencia a la corrosión en la aleación ASTM F75 en medio ácido. 15º Congreso Internacional en Ciencia y

Tecnología de Metalurgia y Materiales–SAM/CONAMET. Carácter de participación: Poster. Asociación Argentina de Materiales. Concepción. Chile. 2015.

- F. Harms, R. E. Burgos, A. I. Kociubczyk, C. M. Méndez, R. W. Gregorutti, A. E. Ares. Resistencia a la Corrosión de la Aleación ASTM F745 a 37°C Y 42°C. 16° Congreso Internacional de Metalurgia y Materiales – Simposio Materiales y Tecnologías para la Industria Metalmeccánica y Aeroespacial. Carácter de participación: Poster. Asociación Argentina de Materiales. Córdoba, Argentina. 2016.
- A. I. Kociubczyk, R. W. Gregorutti, A. E. Ares. Influencia de las distintas velocidades de enfriamiento en la macro y microestructura de prótesis femorales. 17° Congreso Internacional de Metalurgia y Materiales. Carácter de participación: Poster. Asociación Argentina de Materiales. Copiapó, Chile. 2017.
- S. Müller, J. D. Caffetti, A. I. Kociubczyk, A. E. Ares, A. S. Fenocchio. Estudios Preliminares de los Efectos Genotóxicos de Metales Traza como Potenciales Factores de Riesgo para la Salud Humana. Jornadas Científico Tecnológicas – UNaM. Carácter de participación: Poster. Posadas, Argentina. 2018.
- S. Müller, J. D. Caffetti, A. I. Kociubczyk, A. E. Ares, A. S. Fenocchio. Evaluación del efecto genotóxico y mutagénico en linfocitos humanos expuestos a biomateriales metálicos utilizados en implantes de cadera. XVII Congreso Latinoamericano de Genética. Carácter de participación: Poster. Mendoza, Argentina. 2019.

## **Proyectos de Investigación dentro de los cuales se desarrolló la Tesis**

- Proyecto Incentivado: ALEACIONES BASE ALUMINIO, ZINC Y ESTAÑO: OBTENCIÓN POR SOLIDIFICACIÓN DIRECCIONAL Y EVALUACIÓN DE PROPIEDADES. Código: 16/Q548. Directora: Alicia E. Ares. Aprobado por Resolución N° 207/14 del Consejo Directivo de fecha 13/06/2014. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Programa Nacional de Incentivos a Docentes Investigadores. Período de Desarrollo: 01/01/2014 al 31/12/2016.
- Proyecto Incentivado: OBTENCIÓN DE ALEACIONES BASE ALUMINIO Y ÓXIDOS PARA APLICACIONES TECNOLÓGICAS. Código: 16/Q628. Directora: Alicia E. Ares. Aprobado por Resolución N° 415/17 del Consejo Directivo de fecha 28/08/2017. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Programa Nacional de Incentivos a Docentes Investigadores. Período de Desarrollo: 01/01/2017 al 31/12/2019.



## **Becas y Subsidios con los que se financió la Tesis**

### ***Becas***

- Beca Doctoral otorgada por el CONICET. Resolución D N°4358/12. Período: 01/04/2013 – 01/04/2018.
- Beca Estímulo a la Vocación Científica. Consejo Interuniversitario Nacional (CIN). Otorgada a Federico Harms para desarrollar trabajos en el marco de la tesis. Resolución P. N° 318/15. Período: 01/09/2015-31/08/2016.

### ***Subsidios***

- Proyecto ANPCyT: INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS TÉRMICOS DE SOLIDIFICACIÓN EN LA MACRO Y LA MICROESTRUCTURA DE ALEACIONES Zn-Al Y COMPUESTOS Y SU RELACIÓN CON SUS PROPIEDADES MECÁNICAS Y ELECTROQUÍMICAS. Código: PICT-2011-1378. Investigadora Responsable: Alicia E. Ares. Aprobado por Resolución Directorio ANPCyT N° 140/12 de fecha 05/06/2012. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. Universidad Nacional de Misiones. Período de Desarrollo: 12/10/2012 al 12/10/2015.
- Proyecto ANPCyT: SELECCIÓN DE MATERIALES PARA EL MANEJO DE BIOCOMBUSTIBLES PRODUCIDOS EN LA PROVINCIA DE MISIONES. Código: PICT-2012-2952. Investigadora Responsable: Alicia E. Ares. Aprobado por Resolución Directorio ANPCyT N° 141/13 de fecha 09/05/2013. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. Universidad Nacional de Misiones. Período de Desarrollo: 06/12/2013 al 06/12/2016.
- Proyecto ANPCyT: OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES DE ALEACIONES DE TITANIO PARA LA SUSTITUCIÓN DE TEJIDOS DUROS. Código: PICT-E-2014-0170. Investigadora Responsable: Alicia E. Ares. Aprobado por Resolución N° 472/14 del 08/09/2014. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica - Universidad Nacional de Misiones. Período de Desarrollo: 01/10/2014 al 22/04/2016.

- Proyecto ANPCyT: OBTENCIÓN DE ALEACIONES BASE ALUMINIO CON DIFERENTES ESTRUCTURAS DE GRANOS Y RECUBRIMIENTOS NANOESTRUCTURADOS DE  $Al_2O_3$  PARA DISTINTAS APLICACIONES TECNOLÓGICAS. Código: PICT-2017-0079. Investigadora Responsable: Alicia E. Ares. Aprobado por Resolución N° 310/18 del 08/06/2018. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. Universidad Nacional de Misiones. Período de Desarrollo: 10/12/2018 al 10/12/2021.
- PIT-AP-BA 2016, de la Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires.

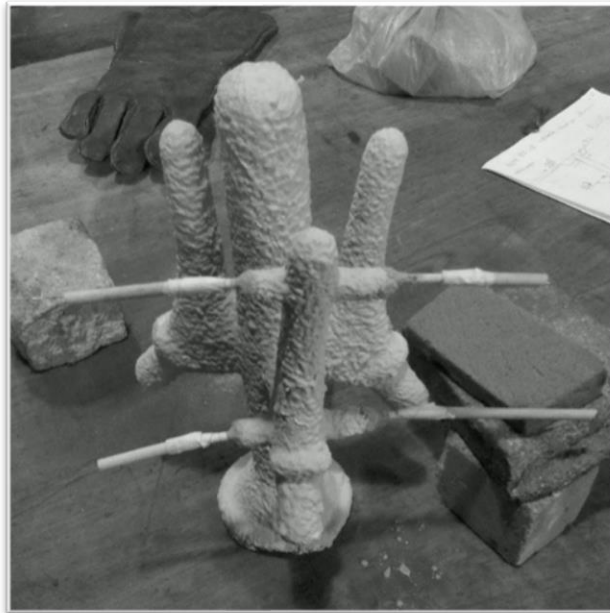
## **ANEXO I - Resultados preliminares de solidificación**

### **Experiencias con racimo cerámico completo**

En primer lugar, lo que se hizo fue disponer de los termopares, para medir la temperatura, en las dos regiones propuestas para el análisis debido a la diferencia en sus dimensiones.

En la Figura A.1. podemos ver la disposición de los termopares, los cuales fueron sujetos por un soporte premoldeado que se agregó al diseño del molde y posterior soldado al mismo a través de cerámico.

En este caso, el racimo contenía otras cavidades para obtener varias piezas a la vez, como lo es habitual en el proceso de fundición por cera perdida. El molde se precalentó antes de realizar la experiencia, para ello se utilizó un soplete de gas licuado hasta llegar a una temperatura de 680°C y a continuación se realizó la colada en ella.



*Figura A.1 - Racimo con varias prótesis.  
(Imagen obtenida por el autor)*

Se observó que, al tener varias piezas en el mismo racimo en el cual se iba a depositar el material fundido, esto complicaba la manipulación de la cascara para montar las termocuplas y el sistema de registro de datos. Como así también, las demás piezas circundantes a la que instaló los termopares aportaban calor afectando las mediciones de la superficie.

Luego se decidió eliminar las otras prótesis del racimo, dejando solamente aquella en la cual se conectan los termopares para sensar las temperaturas.

A continuación, en la Figura A.2 se presentan las curvas de enfriamiento para la aleación ASTM F745.

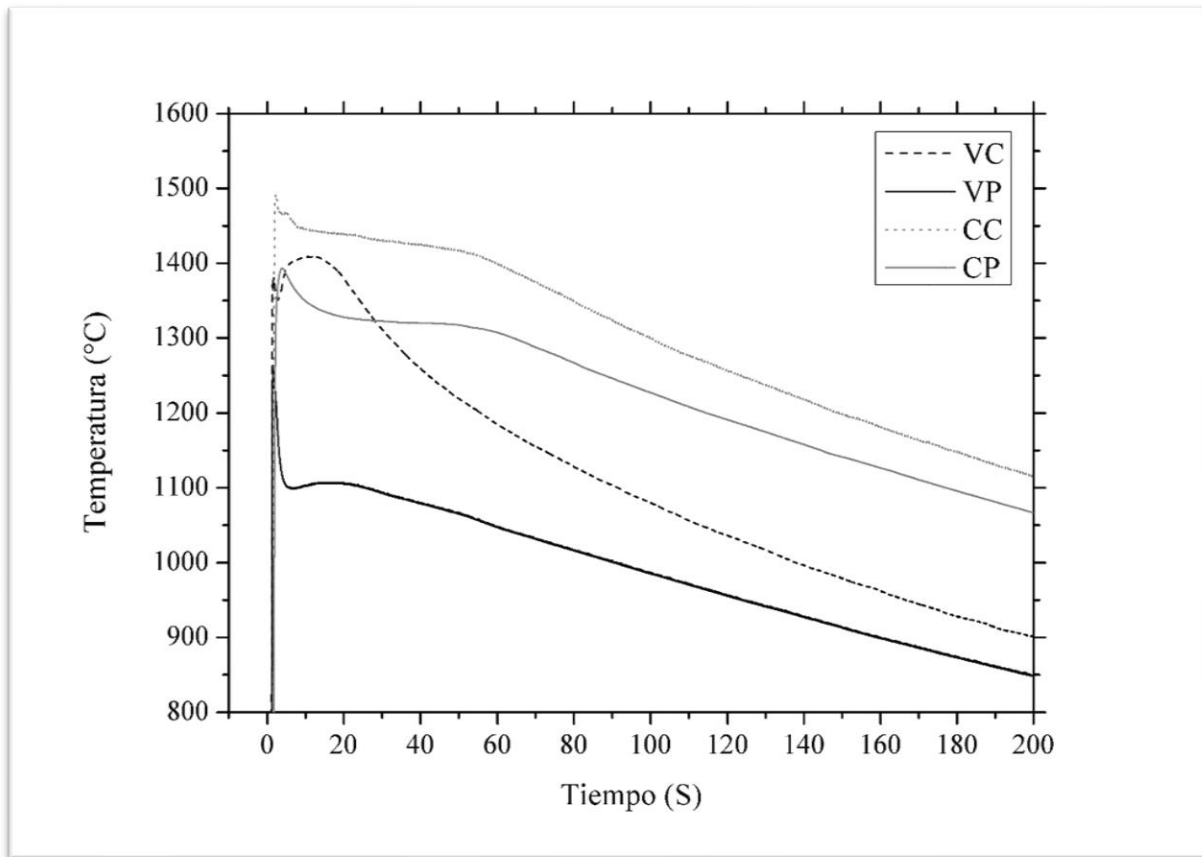


Figura A.2 - Curvas de enfriamiento para la experiencia realizada con racimo completo.

Se observa que la región del vástago es la primera en registrar por lo que se asume que el material fundido ingresa por la entrada de alimentación del molde y cae hasta la zona del vástago por acción de la gravedad, el termopar del centro es el primero en registrar el cambio de temperatura, a su vez si se compara con el termopar que se encuentra en la pared (VP) (frente al mismo), el del centro (VC) registra una mayor temperatura cercana a los 1400°C luego forma una meseta que podría atribuirse al calor latente de solidificación, instantes después decae levemente y a continuación forma un arco ascendente que alcanza un máximo de 1400 °C, que luego decrece gradualmente (esto puede ser producto del calor liberado por el resto del racimo en el cual se encuentra la probeta medida) (mera suposición). Por otro

lado, el termopar que se encuentra en la pared del vástago es la que registra la menor temperatura alcanzando una medida máxima de 1270 °C aprox., luego forma una leve meseta. Seguidamente aparece una meseta que dura unos 20 s pero a una temperatura muy por debajo del punto de solidificación.

Los termopares ubicados en la región del cabezal fueron los que midieron las mejores temperaturas. El termopar del centro del cabezal (CC) es el que por lejos muestra el mejor comportamiento de solidificación y se asemeja al mostrado en la experiencia de GRAN VOLUMEN, éste muestra un pico de temperatura cercano a los 1500 °C, luego se observa una meseta cerca de los 1470°C que dura aprox. 1,5 s. Luego presenta una segunda meseta de mayor duración (alrededor de 50 s). En el lapso de duración de la primera meseta que se observa en la curva de CC, el termopar de la pared (CP) muestra un ascenso gradual en forma de arco con una temperatura máxima registrada de aproximadamente 1400 °C, casi con la misma duración, luego muestra una segunda meseta, que dura unos 50 s, muy similar a la forma a la que se observa en el termopar del centro, pero sucede a una menor temperatura (1325 °C).

Analizando los diagramas de fases, se muestran en la Figura A.3 para los sistemas de dos componentes de los elementos más importantes que se presentan en la aleación, no se encuentra transformación alguna para los aleantes principales (Cr y Ni), lo cual junto a la curva de enfriamiento de la experiencia a GRAN VOLUMEN podría dar el sustento suficiente para afirmar que lo que sucede en la curva de CP no se debe a una transformación de fase.

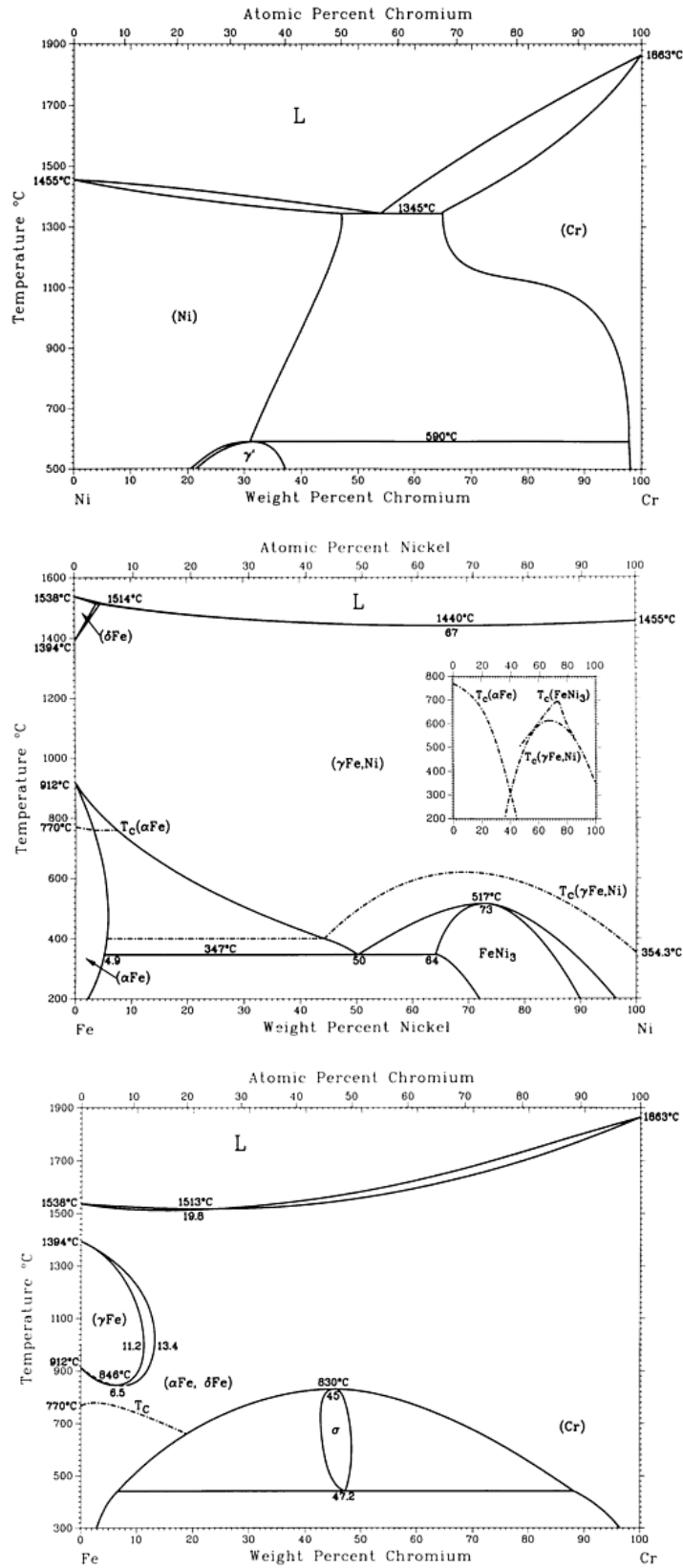
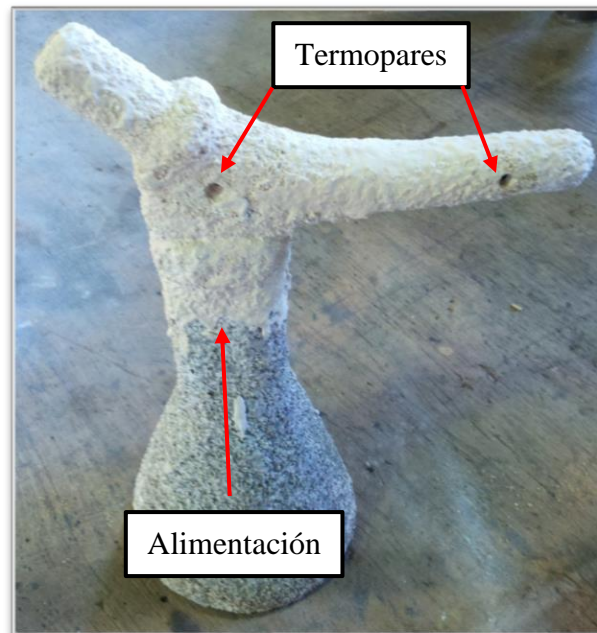


Figura A.3 - Diagrama de fases de dos componentes de los elementos de la aleación.

### Experiencias con alimentación directa en cascaras con una sola pieza

Con la intención de reducir variables y mejorar las mediciones de temperatura se propuso cambiar la disposición de la prótesis en la cascara. En este caso la alimentación de la masa fundida se hizo ingresar directamente a la prótesis, donde el material fundido fue volcado desde el vaso alimentador sobre los termopares de la región del cabezal, sin hacer el recorrido como en las experiencias anteriores.

Los termopares en vez de estar en forma vertical, con las termocuplas de la región del vástago ubicadas debajo de las del cabezal, se disponen de forma horizontal estando ambas regiones a la misma altura, Figura A.4.



*Figura A.4 - Racimo con una pieza y ataque directo.  
(Imagen obtenida por el autor)*

A continuación, se presentan las curvas de enfriamiento para la aleación ASTM F745 en la Figura A.5.

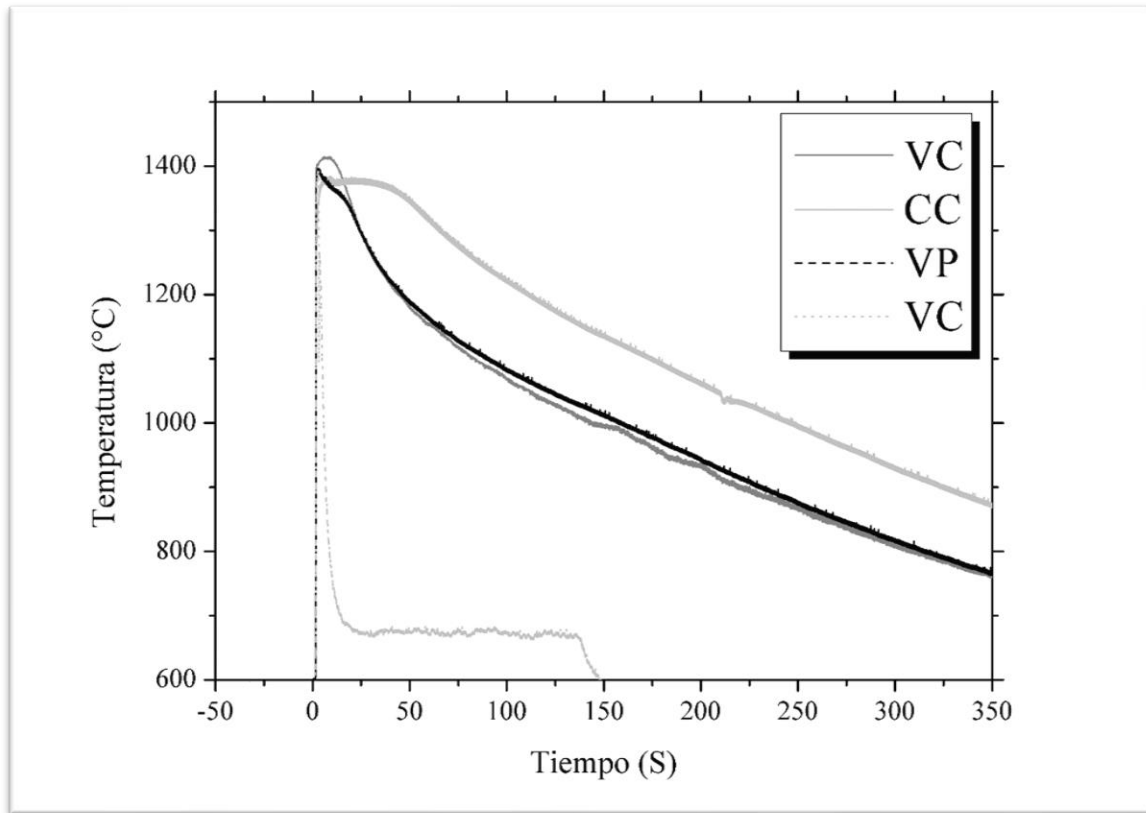


Figura A.5 - Curvas de enfriamiento para la experiencia realizada con alimentación directa y una sola pieza.

En la región del cabezal, donde el material fundido ingresaba directamente, las curvas de enfriamiento presentaron inconsistencias, en lo cual se llegó a la conclusión que al caer el material directamente sobre la termocupla, se afectaba a la medición de la temperatura, en la que se optó por trabajar con otro diseño.

Se puede observar que los termopares de la región del cabezal son los que primero registran actividad, lo cual está de acuerdo con la disposición planteada para la alimentación.

El termopar que presenta la mejor curva es VC, en él se observa un rápido aumento de temperatura – efecto de la colada – hasta una temperatura de 1400°C y se mantiene brevemente formando una meseta, luego se produce un aumento muy leve en forma de arco hasta un máximo de 1410 °C y luego desciende. Este proceso dura unos 30 segundos, lo que puede ser producto de la liberación de calor en el proceso de solidificación. En el mismo lapso para el termopar VP se observa que aumenta la temperatura hasta unos grados por debajo de lo que se observa en VC, luego aparece una pseudo meseta inclinada que podría

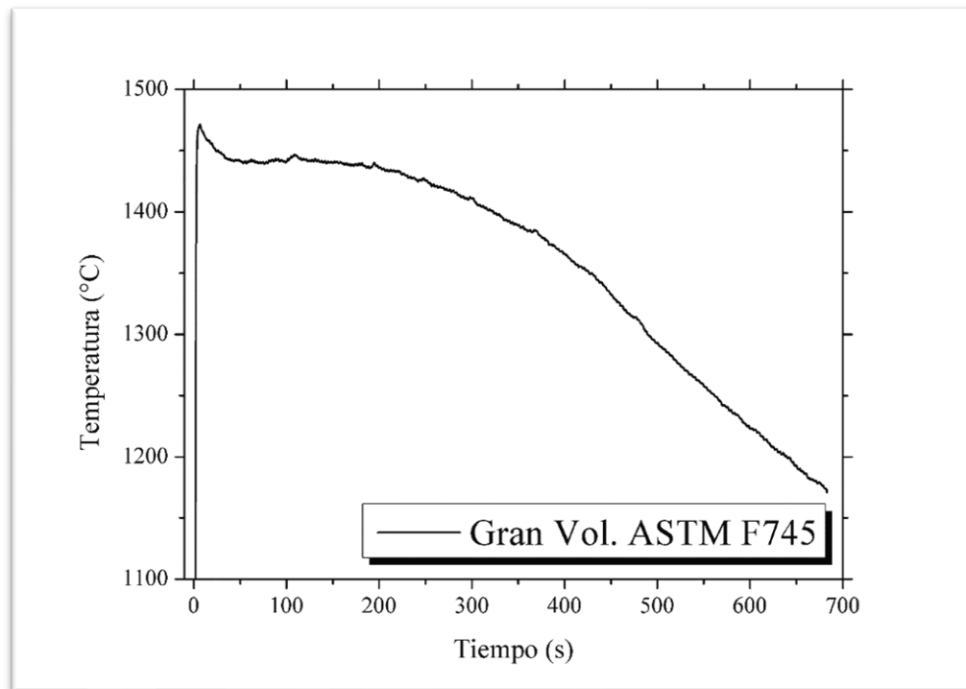


ser producto del calor latente de solidificación local o del aporte del mismo calor, pero del centro del vástago.

En la región del cabezal las curvas presentan inconsistencias. En la CC la curva presenta un aumento suave y luego forma una meseta prolongada por unos 75 s a una temperatura de 1375 °C.

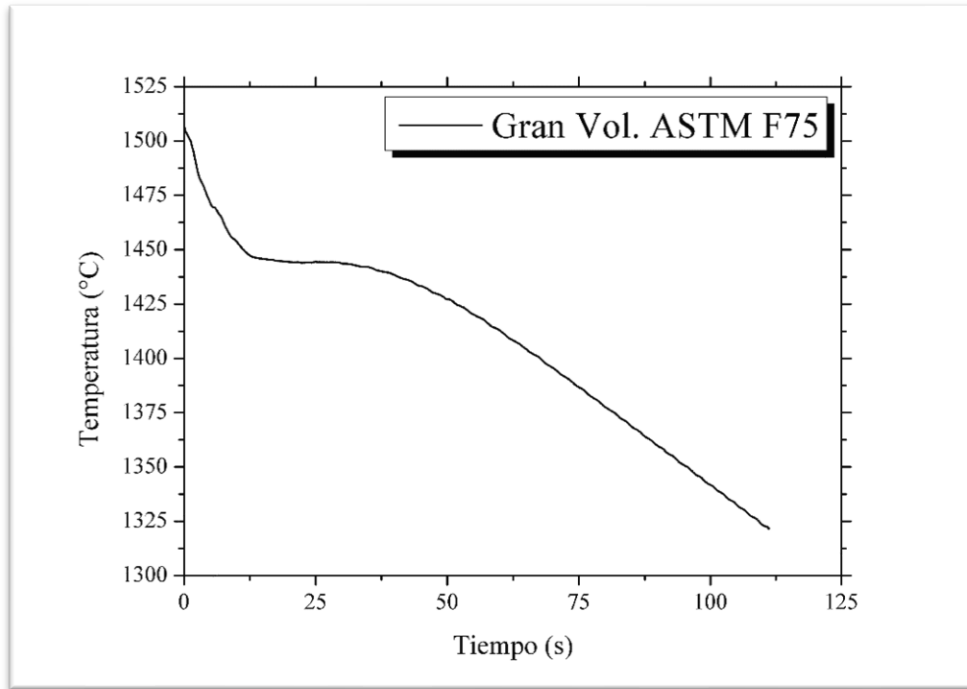
### Experiencia de solidificación en estado estable

En la Figura A.6, se muestra la curva de enfriamiento para la experiencia de enfriamiento lento al realizar una colada en un recipiente de gran volumen para la aleación ASTM F745.



*Figura A.6 - Curva de enfriamiento para la experiencia de gran volumen con la aleación ASTM F745.*

En la Figura A.7, se muestra la curva de enfriamiento para la experiencia de enfriamiento lento al realizar una colada en un recipiente de gran volumen para la aleación ASTM F75.



*Figura A.7 - Curva de enfriamiento para la experiencia de gran volumen con la aleación ASTM F75.*

## ANEXO II - Análisis térmico diferencial.

En las Figuras A.8 y A.9 se muestran las curvas de enfriamiento para la aleación ASTM F75.

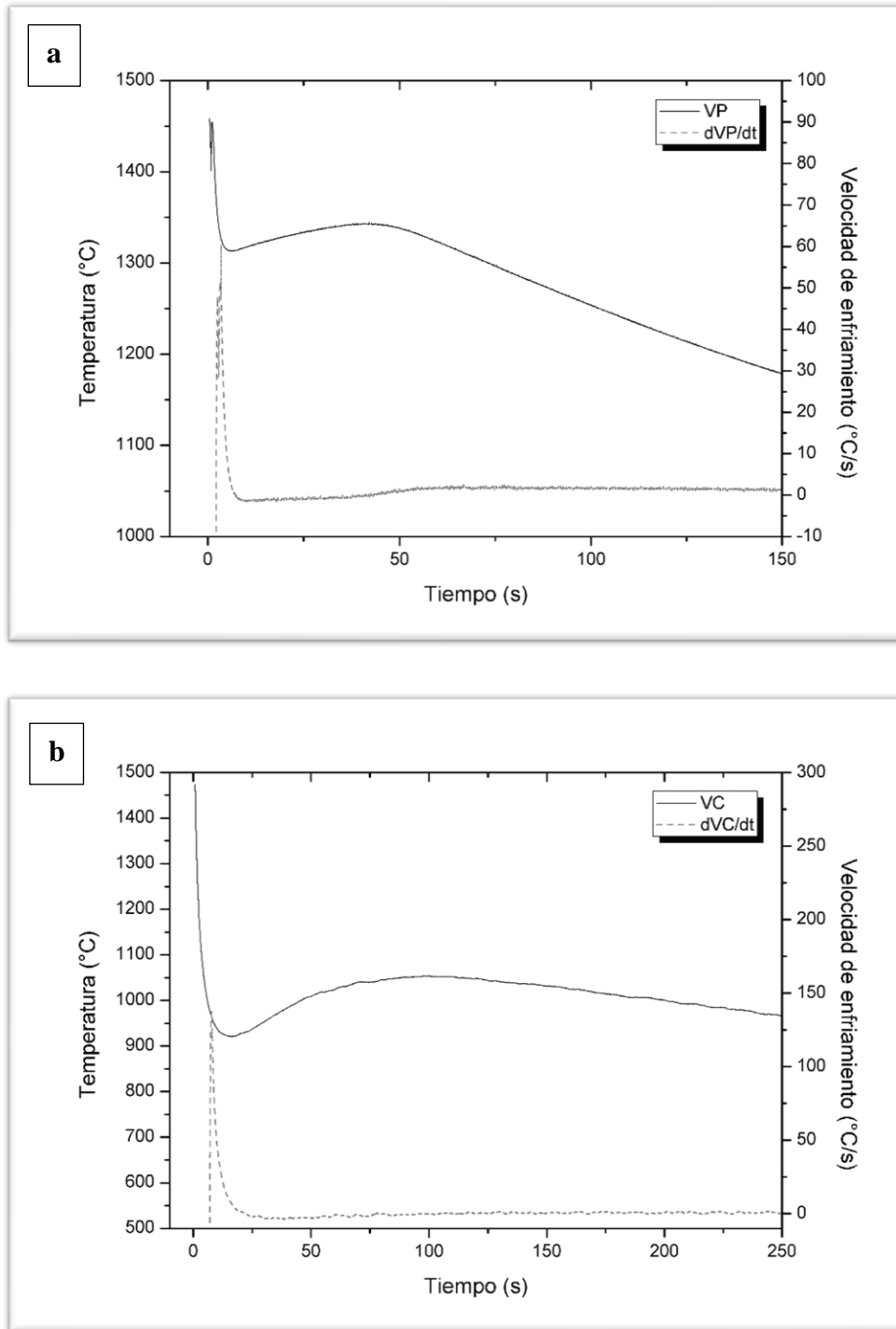


Figura A.8 - Análisis térmico diferencial para la región del vástago de la prótesis ASTM F75. a) termopar en la pared; b) termopar en el centro.

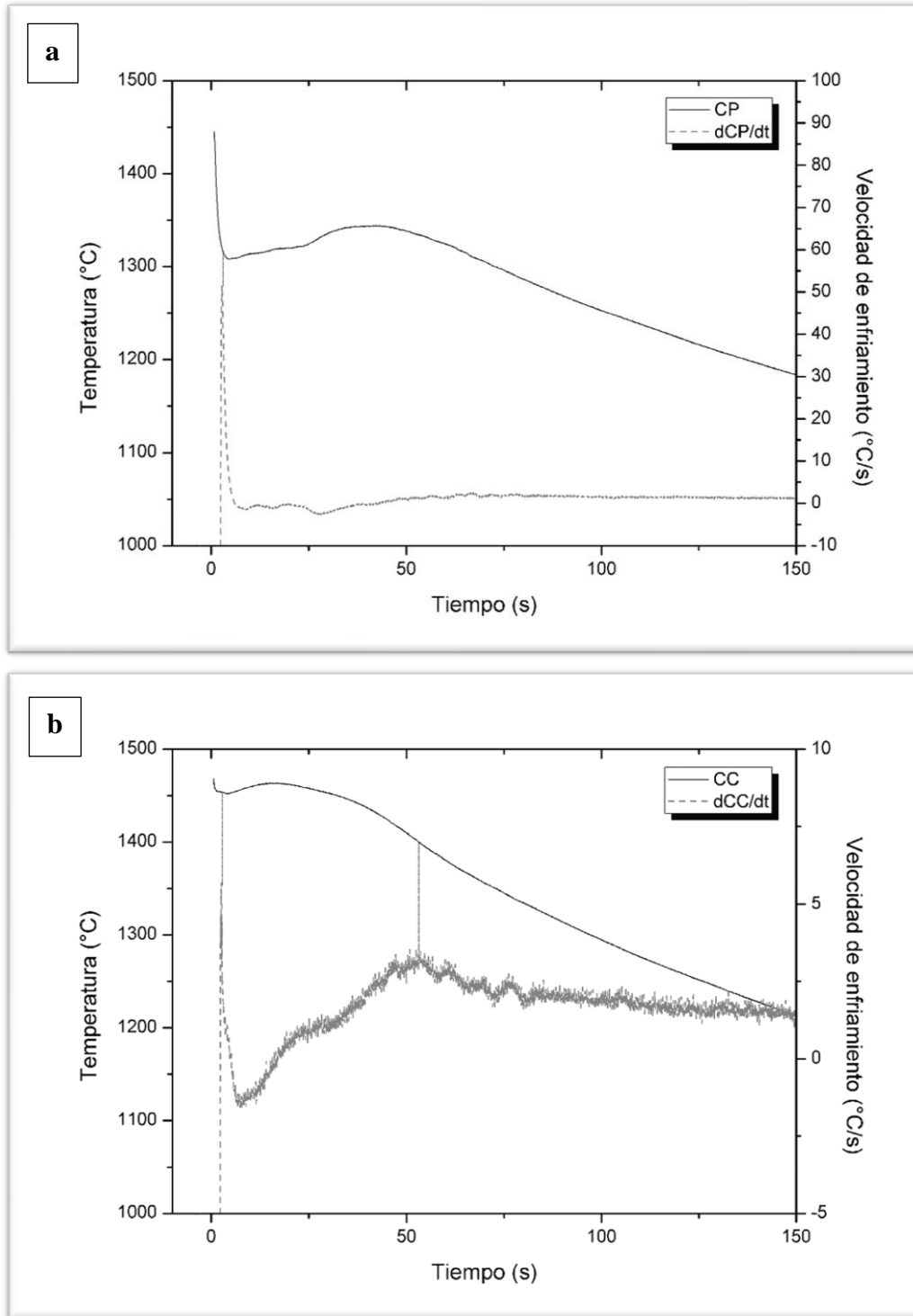


Figura A.9 - Análisis térmico diferencial para la región del cabezal de la prótesis ASTM F75. a) termopar en la pared; b) termopar en el centro

## **ANEXO III - Consentimiento Informado**

*Investigador Principal:* Dr. Alberto Sergio Fenocchio

*Institución:* Laboratorio de Citogenética General y Monitoreo Ambiental (LCGyMA);  
Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Instituto de Biología Subtropical,  
Universidad Nacional de Misiones, CONICET (IBS-UNaM-CONICET).

Este Formulario de Consentimiento Informado se dirige a hombres y mujeres docentes, investigadores y/o alumnos de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones a quienes se les invita a participar voluntariamente en la investigación: “Evaluación de los efectos Genotóxicos, Citotóxicos y Citostáticos en Linfocitos Humanos expuestos a Biomateriales utilizados en Prótesis de Cadera”.

### **Introducción**

Soy Sergio Müller, becario UNaM del Laboratorio de Citogenética General y Monitoreo Ambiental (FCEQyN; UNaM-IBS-CONICET), me encuentro realizando mi trabajo final de graduación de la carrera Licenciatura en Genética. Pretendo estudiar los posibles daños en el material genético y su efecto en la salud humana, generado por dos prótesis de cadera metálicas que son de uso común en este país. No tiene que decidir hoy si participar o no en esta investigación. Antes de decidirse, puede hablar con alguien que se sienta cómodo sobre la investigación. Puede que haya algunas palabras que no entienda. Por favor, ante cualquier inquietud no dude en preguntarme a mí, a los directores del proyecto o a cualquier miembro del equipo de investigación.

Como parte del trabajo de Graduación del Alumno Sergio Müller de la carrera Licenciatura en Genética, se le invita a participar de esta investigación donde además de evaluar la citotoxicidad y genotoxicidad de las prótesis propuestas se testeará el uso del Etilmetanosulfonato (EMS) como posible control positivo para dicha investigación.

### **Propósito**

En el campo de la salud humana la traumatología constituye una de las áreas de más antiguo desarrollo y de constante incorporación de nuevas tecnologías para resolver lesiones de los más variados orígenes. El uso de prótesis de aleaciones metálicas para reemplazo o

recuperación de cadera se encuentra en constante investigación. Por un lado, beneficia la calidad de vida y la motricidad de los pacientes y por otro lado, genera gran inquietud acerca de los efectos negativos que podrían llegar a causar los iones liberados por las prótesis en contacto con los fluidos corporales. Si bien la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer de la Organización Mundial de la Salud ha catalogado a algunos de los iones como cancerígenos, hasta el momento no se recaudó la suficiente información como para determinar que las prótesis utilizadas sean generadoras de daño en el material genético. Es por ello, que el propósito de este trabajo es evaluar el posible daño generado en los glóbulos blancos de la sangre y su material genético por las partículas (iones) que se desprenden de las diferentes prótesis metálicas en contacto con la sangre y los fluidos corporales.

### **Tipo de Intervención de Investigación**

Esta investigación incluirá una única toma de muestra de sangre de no más de 5 mililitros, sacada con una aguja y jeringa estéril de su brazo por un profesional.

### **Selección de participantes**

Estamos invitando a todos los alumnos y docentes de la Universidad Nacional de Misiones para participar en la investigación sobre los posibles efectos que puedan generar las prótesis de cadera metálicas.

### **Participación Voluntaria**

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes.

### **Procedimientos y Protocolo**

Necesitamos evaluar los dos metales usados en las prótesis porque no sabemos si generan daño en el material genético. Para hacer esto, a cada muestra de sangre de cada voluntario se le pondrá un código al azar de manera de preservar la identidad de los voluntarios. Es importante que ni nosotros ni usted sepamos cuál de las muestras corresponde a cada paciente. Esta información estará en nuestros archivos, pero no miraremos estos archivos hasta que esté terminada la investigación. Esta es la mejor manera que tenemos para hacer

una prueba sin que nos inflencie lo que pensamos o esperamos que suceda. Entonces probaremos si una de las prótesis o ambas son capaces de producir daño en el material genético. Si existe algo que le preocupe o que le moleste sobre la investigación, por favor hable conmigo o con alguno de los otros investigadores.

**Descripción del Proceso**

Durante la investigación solo hará 1 visita al laboratorio donde se le sustraerá una pequeña cantidad de sangre con una jeringa. Se probará con esta sangre si las prótesis metálicas tienen la capacidad de dañar las células. También le realizaremos una encuesta muy corta sobre su salud general.

**Duración**

La investigación durará de 12 a 24 meses en total. Solo será necesario que asista una sola vez. Luego de eso no será necesario que comparezca nuevamente al laboratorio. Al finalizar el análisis, se concluirá la investigación.

**Efectos Secundarios**

Dado que solo se trabajará con una muestra de su sangre, no hay forma que sufra ningún efecto secundario.

**Riesgos**

Durante esta investigación usted no correrá riesgo, debido que solo participará donando una muestra de sangre por única vez que será extraída por un profesional de la Salud tomando todas las precauciones necesarias, únicamente podría ocasionarle un hematoma pequeño en la zona de punción que desaparecerá al poco tiempo.

**Molestias**

Al participar de esta investigación no sufrirá ninguna molestia.

**Beneficios**

Puede que no haya beneficio para usted, pero es probable que su participación nos ayude a encontrar una respuesta a la pregunta de investigación. Puede que no haya beneficio para la

sociedad en el presente estado de la investigación, pero es probable que generaciones futuras se beneficien.

**Incentivos**

No se le dará dinero o ningún tipo de regalos por formar parte de esta investigación.

**Confidencialidad**

Con esta investigación, nosotros no compartiremos la identidad de aquellos que participen en la investigación. La información que recojamos por este proyecto de investigación se mantendrá confidencial. La información acerca de usted que se recogerá durante la investigación será puesta fuera de alcance y nadie sino los investigadores tendrán acceso a verla. Cualquier información acerca de usted tendrá un número en vez de su nombre. Solo los investigadores sabrán cuál es su número y se mantendrá la información encerrada en cabina con llave. No será compartida ni entregada a nadie.

**Compartiendo los Resultados**

El conocimiento que obtengamos por realizar esta investigación se compartirá con usted antes de que se haga disponible al público. No se compartirá información confidencial. Habrá pequeños encuentros en la comunidad y estos se anunciarán. Después de estos encuentros, se publicarán los resultados para que otras personas interesadas puedan beneficiarse de nuestra investigación.

**Derecho a negarse o retirarse**

Usted no tiene por qué formar parte en esta investigación si no desea hacerlo. Puede dejar de participar en la investigación en cualquier momento que quiera. Es su elección y todos sus derechos serán respetados.

**A Quién Contactar**

Si tiene cualquier pregunta puede hacerlas ahora o más tarde, incluso después de haberse iniciado el estudio. Si desea hacer preguntas más tarde, puede contactarse con Sergio Müller, Felix de Azara 1552, tel: 376154372431, email: [muller.serg@gmail.com](mailto:muller.serg@gmail.com)



Formulario de Consentimiento del trabajo Final de Investigación:

**“Evaluación de los efectos Genotóxicos, Citotóxicos y Citostáticos en Linfocitos Humanos expuestos a Biomateriales utilizados en Prótesis de Cadera”**

He sido invitado a participar en la investigación acerca de los posibles efectos negativos que puedan llegar a producir diferentes tipos de prótesis de cadera. Entiendo que solo participaré donando una muestra de sangre que será extraída con una aguja y jeringa de uno de mis brazos por un profesional. He sido informado de que no existen riesgos, únicamente podría aparecer un pequeño hematoma que se irá al poco tiempo. Sé que puede que no haya beneficios para mi persona y que no se me recompensará económicamente ni con un regalo. Se me ha proporcionado el nombre de un investigador que puede ser fácilmente contactado usando el nombre y la dirección que se me ha dado de esa persona.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera mi cuidado médico.

Nombre del Participante \_\_\_\_\_

Firma del Participante \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Día/mes/año

**Encuesta: "Evaluación de los efectos Genotóxicos, Citóxicos y Citostáticos en Linfocitos Humanos expuestos a Biomateriales utilizados en Prótesis de Cadera"**

Datos de la Muestra

Muestra N°	Fecha :	Lugar:
Sexo:	Masculino: O	Femenino: O
Edad (años):		

Recibió algún tipo de medicación en las últimas 48 a 72 h?	
Si: O	Que medicamento?.....
No: O	

¿Fuma?			
Si: O	→ ¿Hace cuántos años?		
	menos 10 : O	10 a 20 : O	Más de 20 : O
	¿Cuántos cigarrillos diarios?		
	menos 10 : O	10 a 20 : O	Más de 20 : O
No: O	→ Nunca : O		
	Dejó : O		
		Hace menos de 1 año? O	Hace más de 1 año? O
¿Consume drogas?			
Si : O No : O			

¿Consume Alcohol?			
Si: O	→ Ocasionalmente: O	A menudo: O	Siempre: O
	2 a 4 vasos cerveza (por sem.)	hasta 7 vasos de	Más de 7 vasos
	1 a 2 vasos vino (por Sem.)	cerveza o 4 de vino	de cerveza o más
	Otras bebidas (cuáles?) : O	(por Sem)	de 4 de vino (por
	.....	N° vasos x sem:	Sem.)
No: O			

¿Ocupación?
-------------

¿Se encuentra expuesto a productos químicos tóxicos o potencialmente tóxicos?	
No: O	
Si: O	Cual/es:.....
	¿Desde cuándo? : (Responda en n° de años aprox.):.....
¿Utiliza Protección adecuada?	
	Guardapolvos: O
	Guantes: O
	Barbijo: O
	Gafas: O
	Campana: O

## **ANEXO IV – Criterios utilizados para la identificación de las células binucleadas, los micronúcleos y los tipos celulares requeridos para el análisis en el CBMN**

Criterio para identificación de células binucleadas (BN), válidos para células con más de 2 núcleos:

1. Las células BN deben tener 2 núcleos.
2. Los dos núcleos de una célula binucleada deben tener membranas nucleares intactas y estar situados dentro del mismo límite citoplasmático.
3. Los dos núcleos de una célula binucleada deben ser aproximadamente iguales en tamaño, patrón e intensidad de tinción.
4. Los dos núcleos principales de una célula BN pueden tocarse, pero lo ideal es que no se superpongan. Una célula con dos núcleos superpuestos sólo se puede contar si los límites nucleares de cada núcleo son distinguibles.
5. La membrana de una célula binucleada debe estar intacta y ser claramente distinguible de células adyacentes.

Criterio para la identificación de micronúcleos (MN):

1. El diámetro de los MN de linfocitos humanos debe estar comprendido entre  $1/16$  y  $1/3$  del diámetro medio de los núcleos principales de una célula BN.
2. Los MN deben tener forma redonda u ovalada.
3. Los MN no deben ser refractarios y por lo tanto, fácilmente distinguibles de artefactos como las manchas de partículas.
4. Los MN no deben estar ligados o conectados a los núcleos principales.
5. El MN puede tocar, pero no superponerse a los núcleos principales y el límite micronuclear debe ser distinguible de la membrana nuclear.

6. Los MN suelen tener la misma intensidad de tinción que los núcleos principales, aunque ocasionalmente pueden ser más intensos.

Criterio para identificación de puentes nucleoplásmicos y gemaciones nucleares (NPB y Nbud):

1. El ancho de un NPB puede variar considerablemente pero no suele exceder de 1/4 del diámetro de los núcleos dentro de la célula.

2. Los NPB también deben tener las mismas características de tinción que los núcleos principales.

3. En raras ocasiones, puede observarse más de un NPB dentro de una célula binucleada.

4. Una célula binucleada con un NPB puede contener uno o más MN.

También pueden observarse células BN con uno o más NPB y sin MN.

5. Los Nbud son similares a los MN en apariencia, con la excepción de que se conectan con el núcleo mediante un puente que puede ser ligeramente más estrecho que el diámetro de la gemación o mediante un puente mucho más delgado, dependiendo de la etapa del proceso de extrusión.

6. Los Nbud suelen tener la misma intensidad de tinción que los MN.

7. Ocasionalmente, los Nbud pueden parecer estar ubicados dentro de una vacuola adyacente al núcleo.

Criterio para identificación de células apoptóticas y necróticas:

1. Las células apoptóticas tempranas pueden ser identificadas por la presencia de la condensación de cromatina dentro del núcleo y los límites citoplasmáticos y nucleares intactos.

2. Las células apoptóticas tardías exhiben fragmentación nuclear en cuerpos nucleares más pequeños dentro de un citoplasma intacto.

3. La intensidad de la tinción en el núcleo, los fragmentos nucleares y el citoplasma suele ser mayor que en las células viables.

4. Las células necróticas tempranas pueden identificarse por la presencia de un citoplasma pálido con numerosas vacuolas (principalmente en el citoplasma y algunas en el núcleo) y una membrana citoplasmática dañada con un núcleo bastante intacto.
5. Las células necróticas tardías presentan pérdida de citoplasma y membrana nuclear dañada/irregular con una estructura nuclear sólo parcialmente intacta y, a menudo, con material nuclear que se filtra desde el límite nuclear.
6. La intensidad de la tinción del núcleo y del citoplasma es normalmente menor que la observada en las células viables.