



---

**Nuevo tratamiento de oxidación en aleaciones de NiTi  
para aplicaciones biomédicas. Caracterización  
superficial y respuesta biológica *in vitro***

---

**Alexandra Michiardi**

Memoria de Tesis presentada para optar al grado de Doctor por la  
Universitat Politècnica de Catalunya

Co-dirigida por  
Profesor Francisco Javier Gil Mur  
Dr. Conrado José Aparicio Bádenas

Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metal·lúrgica  
E.T.S. d'Enginyeria Industrial de Barcelona  
Universitat Politècnica de Catalunya

Diciembre 2005

# 4 Evaluación y comparación de la resistencia a la corrosión entre superficies de NiTi con y sin tratamiento de oxidación

---

|  |            |
|--|------------|
| <b>4.1 Cuantificación de la liberación de los iones Ni al medio exterior</b> | <b>146</b> |
| 4.1.1 Objetivos  | 146        |
| 4.1.2 Toxicidad del Ni: estado del arte                                      | 147        |
| 4.1.3 Materiales   | 148        |
| 4.1.4 Métodos  | 149        |
| 4.1.4.1 Liberación de Ni en SBF  | 150        |
| 4.1.4.2 Liberación e incorporación de Ni en cultivos osteoblásticos          | 150        |
| 4.1.4.3 Espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito (GFAAS)      | 151        |
| 4.1.4.4 Estadística  | 152        |
| 4.1.5 Resultados   | 152        |
| 4.1.5.1 Liberación de Ni en SBF  | 152        |
| 4.1.5.2 Liberación e incorporación de Ni en cultivos osteoblásticos          | 154        |
| 4.1.5.2.1 Liberación de Ni en los sobrenadantes                              | 154        |
| 4.1.5.2.2 Incorporación de Ni por las células                                | 155        |
| 4.1.6 Discusión  | 157        |
| 4.1.7 Conclusiones   | 161        |
| <b>4.2 Caracterización de la resistencia a la corrosión electroquímica</b>   | <b>162</b> |
| 4.2.1 Objetivos  | 162        |
| 4.2.2 Introducción   | 163        |
| 4.2.2.1 Corrosión: aspectos generales  | 163        |
| 4.2.2.2 Estado del arte  | 163        |
| 4.2.3 Materiales   | 164        |
| 4.2.4 Métodos  | 165        |
| 4.2.4.1 Celda de corrosión   | 165        |
| 4.2.4.2 Circuito abierto   | 167        |
| 4.2.4.3 Voltametría cíclica  | 167        |
| 4.2.4.5 Rayado   | 168        |
| 4.2.4.5.1 Obtención de la raya   | 168        |

|  |     |
|--|-----|
| 4.2.4.5.2 <i>Caracterización de la raya</i>                      | 168 |
| 4.2.4.6 Observación por microscopía electrónica de barrido (MEB) | 169 |
| 4.2.4.7 Cuantificación de la liberación de Ni                    | 169 |
| 4.2.5 Resultados   | 169 |
| 4.2.5.1 Superficies no rayadas                                   | 169 |
| 4.2.5.1.1 <i>Potenciales de corrosión</i>                        | 169 |
| 4.2.5.1.2 <i>Potenciales de rotura de capa</i>                   | 171 |
| 4.2.5.2 Superficies rayadas                                      | 174 |
| 4.2.5.2.1 <i>Caracterización de las rayas</i>                    | 174 |
| 4.2.5.2.2 <i>Ensayos electroquímicos</i>                         | 175 |
| 4.2.5.3 Observación por microscopía electrónica de barrido       | 177 |
| 4.2.5.4 Liberación de iones                                      | 178 |
| 4.2.6 Discusión  | 178 |
| 4.2.7 Conclusiones   | 180 |

En el presente capítulo, se estudiará la influencia del nuevo método de oxidación OT sobre la liberación de los iones Ni al medio y sobre la resistencia a la corrosión electroquímica de la aleación de NiTi.

En el apartado 4.1 se cuantificará la liberación de iones Ni en *Simulated Body Fluid* (SBF), que es un fluido con concentración iónica y pH similar a la del plasma humano. Además, se evaluará la liberación de los iones Ni en medio de cultivo, en las mismas condiciones experimentales que el estudio celular *in vitro* del capítulo 6. En esta parte, se cuantificará también la incorporación de Ni en las células osteoblásticas estudiadas. Esto, con el objetivo de poder establecer correlaciones entre la respuesta biológica obtenida *in vitro* (capítulo 6) y la cantidad de Ni liberado al medio y/o incorporado en las células durante el experimento.

En el apartado 4.2 se caracterizará la resistencia a la corrosión electroquímica del material, comparando los valores de los potenciales de corrosión y de rotura de capa obtenidos a 37°C y en solución de Hanks para cada tipo de superficie. Además, se evaluará la influencia del daño de la capa de óxido superficial sobre la resistencia a la corrosión, tanto en el caso de las superficies no tratadas como de las superficies tratadas por OT.

## **4.1 Cuantificación de la liberación de los iones Ni al medio exterior**

### **4.1.1 Objetivos**

Los objetivos de esta parte son:

- 1) Estudiar y comparar la liberación de los iones Ni en el medio exterior de las superficies de NiTi no tratadas (NT) y tratadas con el nuevo tratamiento de oxidación (OT) elegido en el capítulo 2.
  
- 2) Cuantificar y comparar la incorporación de los iones Ni en las células osteoblásticas cultivadas sobre superficies NT y OT.

#### 4.1.2 Toxicidad del Ni: estado del arte

Es difícil saber si el Ni es un elemento esencial para el buen funcionamiento del metabolismo humano, ya que por su abundancia en la naturaleza y en los alimentos es complicado mantener una dieta deficiente en Ni. Además, no se conocen cofactores ni enzimas dependientes del Ni en organismos complejos. Sin embargo, algunos resultados de experimentos animales con dietas deficientes en Ni sugirieron que el Ni puede ser responsable de algunas funciones fisiológicas [Nmg75]; [Nsm84]; [Shs86]; [Ski96].

Por otra parte, sí que es claro que a altas concentraciones, el Ni puede inducir alergias, reacciones tóxicas y cancerígenas [Dsa02]; [Dvb89]; [Pel79]; [Thi94]; [Wos01].

Los estudios epidemiológicos establecen una tasa de sensibilidad al Ni de hasta un 20% en mujeres jóvenes, y de entre un 2 a un 4% en los hombres [Bla99]; [Ryh99]. El mecanismo por el cual ocurre la sensibilización al Ni es conocido. Los iones  $Ni^{2+}$  se acoplan a una proteína transportadora para formar un complejo que actúa de antígeno, llamado haptén [Bla99]. Este antígeno activa células de Langerhans que lo van a presentar a linfocitos-T. De esta manera, se desarrollan células T de memoria. Una vez en circulación en el cuerpo, estas células son capaces de desencadenar reacciones inmunitarias cuando se encuentran de nuevo con el mismo antígeno (alergógeno) [Rns97]; [Ryh99]. Además, existen resultados *in vivo* [Bsa98] que demuestran que el Ni activa la respuesta inmunitaria tanto en pacientes sensibilizados al Ni como en pacientes no alérgicos

Por otra parte, se demostró que el Ni tiene la capacidad de transformar muchos tipos de células en tumores [Bla87]; [Dca79]; [Pdx93]. Sin embargo, a pesar de los grandes progresos de los últimos años, los mecanismos celulares por los cuales ocurren las reacciones cancerígenas no son del todo conocidos. El exhaustivo trabajo de revisión bibliográfica de Denkhaus y Salnikov [Dsa02] sobre estos mecanismos se puede consultar para más detalles de lo que se expone a continuación.

Se piensa que el Ni puede ser absorbido por las células por diversos caminos. Podría ser por difusión transmembranaria [Fmu86], vía los canales de calcio [Aam93]; [San95]; [Zya93] o también por fagocitosis cuando las partículas son más grandes.

Se demostró que la concentración máxima de iones Ni en las células fibroblásticas humanas se encuentra en el citosol. El segundo lugar de alta concentración es el núcleo, seguido por las mitocondrias [Mlu02].

Uno de los posibles mecanismos involucrados en la carcinogenicidad del Ni, y que ha sido muy estudiado en la literatura [Kas95]; [Kfc91], es la producción de especies oxidantes muy reactivas (ROS, *Reactive Oxygen Species*) inducida por algunos metales. Se sabe que el Ni induce la formación de radicales libres [Vmc05], que pueden modificar las moléculas de ADN, y/o causar la rotura del citoesqueleto de actina de las células [Dmc95]; [Lsu95]. Además, se observó [Poj03] que la formación de las ROS debido a la presencia del Ni era precisamente en los lisosomas donde se acumulaba.

Otro mecanismo posible es la modificación o inactivación de la expresión génica debida a la metilación del ADN. En particular, se puede alterar la expresión de algunos factores de transcripción [Dsa02].

Además, el Ni interactúa fuertemente con proteínas, pudiendo alterar su función biológica. Esto puede provocar cambios en la homeostasis intracelular y también en la regulación de la expresión génica [Dsa02].

Finalmente, se sugirió que los iones  $Ni^{2+}$ , aunque en concentraciones no tóxicas, podían inhibir la reparación del ADN, lo que podía contribuir a su genotoxicidad [Wbl04].

Hoy en día, la biocompatibilidad de las aleaciones NiTi no está perfectamente establecida debido a que existen estudios contradictorios en la literatura. Aunque la mayoría de los trabajos demuestran una citocompatibilidad, y en general una biocompatibilidad comparable a la de los aceros inoxidables y del Ti [Ayr98]; [Rns97]; [Sha95]; [Wvs97] existen también trabajos en los que implantes de NiTi indujeron respuestas biológicas negativas [Alb94]; [Bbr96]; [Cmo81]. A pesar de que estas reacciones inapropiadas se han atribuido, en algunos casos, más a los tratamientos superficiales (como por ejemplo la esterilización por óxido de etileno [Bbr96]) que a las características intrínsecas del material [Sha01], el amplio uso del NiTi en aplicaciones biomédicas está todavía restringido.

En consecuencia, la búsqueda de nuevos tratamientos superficiales que permiten disminuir significativamente la liberación de los iones Ni al medio exterior tiene un interés tecnológico primordial.

#### 4.1.3 Materiales

Se usaron discos de NiTi de fase martensítica, pulidos y lavados según el protocolo descrito en el apartado 1.5.5.

Se estudiaron tres grupos de superficies:

- Grupo 1: pulido especular, no tratado (NT)
- Grupo 2: grupo 1 + tratado por oxidación térmica durante 2h30 (OT), según la descripción del capítulo 2.
- Grupo 3: grupo 2 + bañado en agua hervida durante 1 hora (OT+AH).

Cada uno de los tres grupos se componía de tres discos.

Se eligió estudiar el grupo 3 para evaluar la influencia, en la cesión de los iones Ni, de un posterior tratamiento en agua hirviendo, desarrollado por Shabalovskaya et al. [Sha95]; [Sha96]; [Sra03]. Este tratamiento es muy eficaz para reducir la concentración de Ni superficial, y se estudió en el capítulo 2, sin previa oxidación térmica.

La superficie aparente de estos discos era de unos 1.2 cm<sup>2</sup>. En el cálculo final se tomaron en cuenta los valores de las áreas reales en función del tratamiento, según los resultados obtenidos por interferometría en el apartado 3.3.

#### 4.1.4 Métodos

Se realizaron dos experimentos separados. El primer experimento se realizó en Simulated Body Fluid (SBF, pH=7.4, *tabla 4.1*), un fluido acelular cuya concentración iónica es similar a la del plasma sanguíneo. El segundo experimento se llevó a cabo en medio de cultivo (DMEM con 10% de FCS, 1% L-Glutamina, 1% Penicilina-Estreptomicina y 1% Piruvato; composición ampliamente detallada en el capítulo 6) y con células de línea MG63 cultivadas sobre la superficie de los materiales. Estas células osteoblásticas son las mismas que se usaron para los ensayos *in vitro* del capítulo 6, en el cual se encuentra una descripción detallada de sus características.

**Tabla 4.1:** Concentración iónica del SBF y del plasma sanguíneo.

|                                | Concentración (mM) |                |                  |                  |                 |                               |                                |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|                                | Na <sup>+</sup>    | K <sup>+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Cl <sup>-</sup> | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> |
| <b>SBF</b>                     | 142.0              | 5.0            | 1.5              | 2.5              | 148.8           | 4.2                           | 1.0                            | 0.5                           |
| <b>Plasma sanguíneo humano</b> | 142.0              | 5.0            | 1.5              | 2.5              | 103.0           | 27.0                          | 1.0                            | 0.5                           |

Se observaron todas las superficies por microscopía electrónica de barrido (MEB), antes y después de los experimentos.

#### 4.1.4.1 Liberación de Ni en SBF

En este experimento se estudiaron discos de la aleación 12, de fase martensítica (*tabla 1.2*).

Se sumergieron cada uno de los discos en 6 ml de SBF previamente calentado a 37°C, en botes individuales de polietileno estériles. Se taparon los botes, se sellaron con parafilm® y se pusieron en un incubador a 37°C. Se prepararon también botes sólo con SBF para servir de blanco control.

Al cabo de 1h y 5h, 1, 2, 5, 15 y 30 días, se recogieron 800 µl de medio. El quinto día se renovaron todas las soluciones por SBF fresco para evitar la saturación del medio.

Todos los líquidos recogidos a los distintos tiempos fueron analizados por espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito (GFAAS). Se determinó por este método la cantidad de iones Ni liberados al medio, con un límite de detección en las condiciones de ensayo de 4.24 ppb (ng/ml).

#### 4.1.4.2 Liberación e incorporación de Ni en cultivos osteoblásticos

En este experimento se estudiaron discos de la aleación martensítica Ale 1, de fase martensítica (*tabla 1.2*). No se estudiaron discos del grupo 3.

Se incubaron cada uno de los discos con 300 µl de medio y  $12 \cdot 10^3$  células del tipo MG63. Se dejaron proliferar las células durante 11 días, renovando el medio al cabo de 1, 3, 6 y 9 días. Además, se prepararon pocillos de una placa de cultivo de 48 pocillos, cultivando también  $12 \cdot 10^3$  células por pocillo, para servir de control en el experimento (superficie TCPS, *Tissue Culture Polystyren*) (*figura 4.1*).

Los días 1, 3, 6 y 9 se llevaron a analizar los medios por GFAAS para la determinación de la cantidad de Ni liberado en estas condiciones.

|   | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  |
|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| A | D1 | D1 | D1 | D3 | D3 | D3 | D6 | D6 |
| B | D6 | D9 | D9 | D9 |    |    |    |    |
| C |    |    |    |    |    |    |    |    |
| D |    |    |    |    |    |    |    |    |
| E |    |    |    |    |    |    |    |    |
| F |    |    |    |    |    |    |    |    |

**Figura 4.1:** Esquema del emplazamiento de los pocillos que sirvieron de control. Se usaron triplicados para el primer (D1), tercero (D3), sexto (D6) y noveno (D9) días.

También, se determinó la cantidad de Ni incorporado en las células al cabo de 6 y 9 días, siguiendo un protocolo inspirado en el trabajo de Wataha et al. [Whc93]. Se lavaron los discos de cada material seis veces con PBS (Phosphate Buffered Saline). Se recogió la solución del último lavado para analizar y comprobar que no se detectaba Ni. Se desengancharon las células con 300  $\mu$ l de M-PER®, (descripción detallada en el capítulo 6) y se llevaron a analizar las soluciones obtenidas por GFAAS. También se analizaron las soluciones de PBS, medio completo y M-PER® para poder determinar sus respectivos niveles de Ni y restar esta cantidad a los valores obtenidos para los distintos fluidos analizados. El número de células a cada tiempo y sobre cada tipo de material fue determinado con un test WST (descripción detallada en el capítulo 6) en pocillos independientes. Los valores obtenidos sirvieron para normalizar los resultados de incorporación de Ni en las células.

#### 4.1.4.3 Espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito (GFAAS)

La espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito es un método analítico para la determinación de los elementos químicos, basado en la absorción de una radiación por los átomos libres. En este método se transforma la muestra líquida (conteniendo el elemento que se quiere cuantificar) en vapor atómico. Esta atomización se lleva a cabo por calentamiento a alta temperatura (entre 2000 y 3000°C), mediante resistencias eléctricas, dentro de un horno de grafito puro. A continuación, se mide la absorción del vapor a una longitud de onda característica de cada elemento. Para esto, se utiliza una fuente de radiación llamada lámpara de cátodo hueco. El cátodo de esta lámpara está constituido del mismo elemento que el que se quiere analizar. En consecuencia, sólo se puede analizar un elemento químico por medida. Finalmente, se compara la absorción de la muestra respecto a unos patrones de concentración conocida.

#### 4.1.4.4 Estadística

Para evaluar si las diferencias entre los valores medios obtenidos en cada caso son estadísticamente significativas, se han calculado las tablas ANOVA de un factor y se ha aplicado el test de comparaciones múltiples de Fisher o de Tukey, dependiendo del caso. Se empleó el test de Tukey, en lugar del de Fisher, para la comparación de varios grupos de muestras de diferentes tamaños. En ambos casos, se eligió como valor de significación  $p < 0.05$ . Estos tests se llevaron a cabo con la ayuda de un software apropiado (Minitab™ Release 13.1).

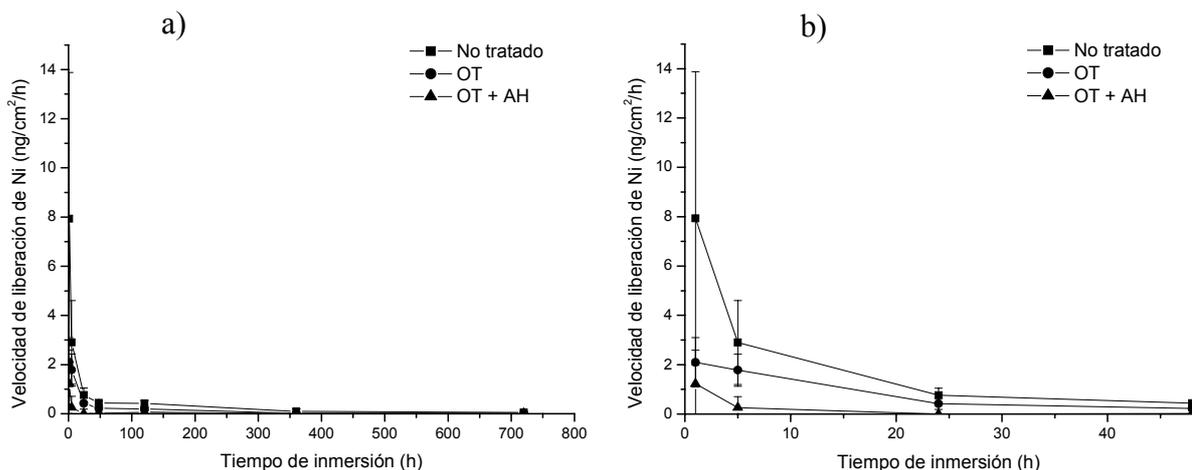
### 4.1.5 Resultados

#### 4.1.5.1 Liberación de Ni en SBF

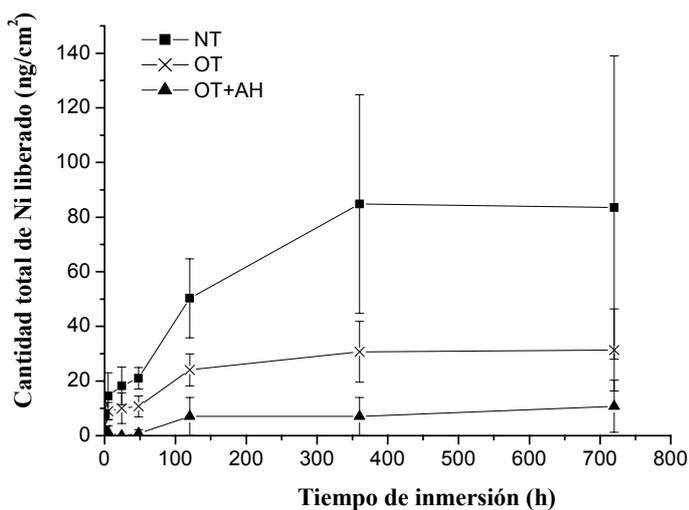
Los resultados muestran que para los tres grupos de superficies, la liberación máxima de iones Ni ocurre dentro de la primera hora de inmersión, y luego disminuye con el tiempo hasta estabilizarse y tender hacia cero a partir del quinto día (*figura 4.2 a y 4.2 b*).

Las diferencias entre superficies no tratadas (NT) y tratadas (OT) son estadísticamente significativas sólo a partir de 48h. A pesar de que esta diferencia no es estadísticamente significativa en los tiempos cortos de inmersión, por efecto de las elevadas desviaciones estándares, en la primera hora de inmersión, el tratamiento térmico (OT) disminuye la liberación de Ni un 73% en comparación con las muestras NT. A tiempos más largos, la disminución promedio de la liberación de Ni debida al OT se sitúa entre un 40 y un 60% (*figura 4.3*).

Al cabo de 15 días y 1 mes, la cantidad de Ni liberado desde las superficies OT es un 63% menor que la liberada desde las superficies no tratadas (*figura 4.3*).



**Figura 4.2:** a) Velocidad de liberación de los iones Ni en función del tiempo de inmersión en SBF y del tipo de superficie. b) Detalle de la misma gráfica para las primeras 48 h.



**Figura 4.3:** Cantidad total de Ni liberado en SBF en función del tipo de superficie.

El tratamiento en agua hirviendo (OT+AH) disminuye aún más la liberación de Ni, y al cabo de 24 h de inmersión, la liberación se ve interrumpida casi por completo (figura 4.2 b). Al cabo de un mes, se liberó un 87% menos Ni que la cantidad total liberada por las superficies NT (figura 4.3).

La liberación total de Ni al cabo de un mes de inmersión es de aproximadamente 85, 31, y 11 ng/cm<sup>2</sup> para las superficies NT, OT, y OT+AH, respectivamente (figura 4.3). Estos valores se pueden también expresar con otras unidades (tabla 4.2), a veces usadas en la literatura.

**Tabla 4.2:** Cantidad total de Ni liberado al cabo de un mes de inmersión en función del tratamiento superficial, expresada en distintos sistemas de unidad.

| Tratamiento        | NT   | OT   | OT + AH |
|--------------------|------|------|---------|
| ng/cm <sup>2</sup> | 85   | 31   | 11      |
| µg/ml              | 0.29 | 0.13 | 0.04    |
| µmol/l             | 4.94 | 2.21 | 0.68    |

#### 4.1.5.2 Liberación e incorporación de Ni en cultivos osteoblásticos

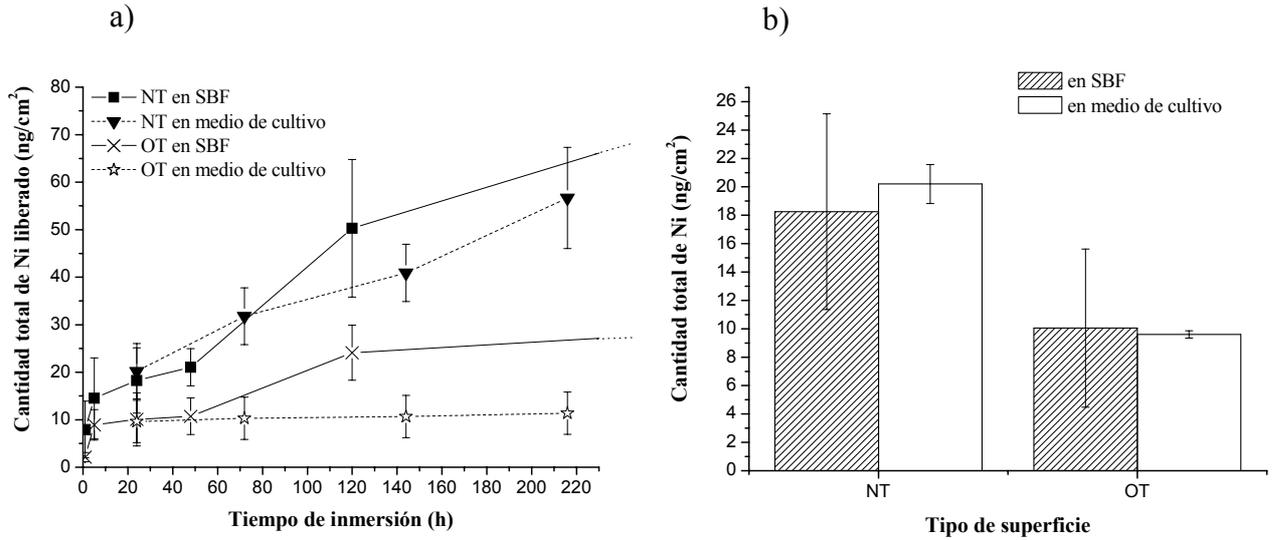
##### 4.1.5.2.1 Liberación de Ni en los sobrenadantes

No existen diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos en medio de cultivo y los resultados obtenidos en SBF (*figuras 4.4 a y 4.4 b*). Sin embargo, a tiempos de inmersión largos se observan cantidades de Ni liberado mayores para las muestras sumergidas en SBF que para las muestras sumergidas en medio de cultivo.

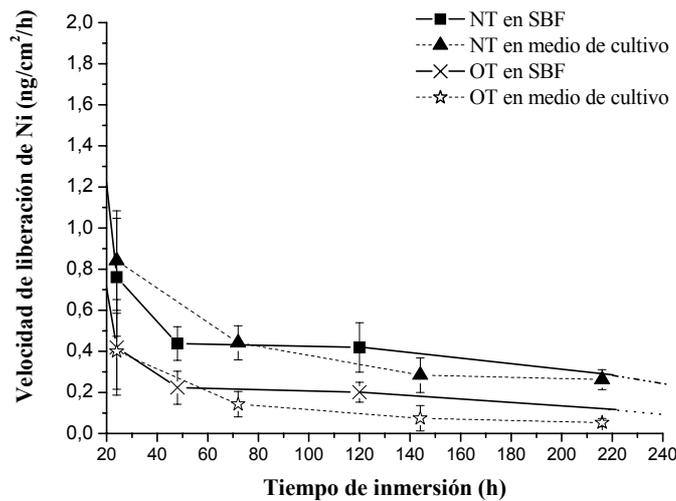
La cantidad de Ni contenido en el sobrenadante de las muestras control (superficies TCPS) está por debajo del límite de detección.

A partir del tercer día, las diferencias entre superficies NT y OT son estadísticamente significativas.

Es interesante notar que la velocidad de liberación de los iones Ni en ambos medios sigue exactamente la misma tendencia, tanto para las superficies NT como para las superficies OT (*figura 4.5*). Sin embargo, se puede apreciar una estabilización más rápida en el caso de la liberación en SBF. Además, se observa que las curvas de las superficies NT están descaladas hacia valores superiores en comparación con las curvas de las muestras OT, independientemente del medio de inmersión.



**Figura 4.4:** a) Comparación de la cantidad total de Ni liberado en función del medio de inmersión para las superficies NT y OT. b) Comparación de la cantidad total de Ni liberado al cabo de 24h para las superficies NT y OT en función del medio de inmersión.

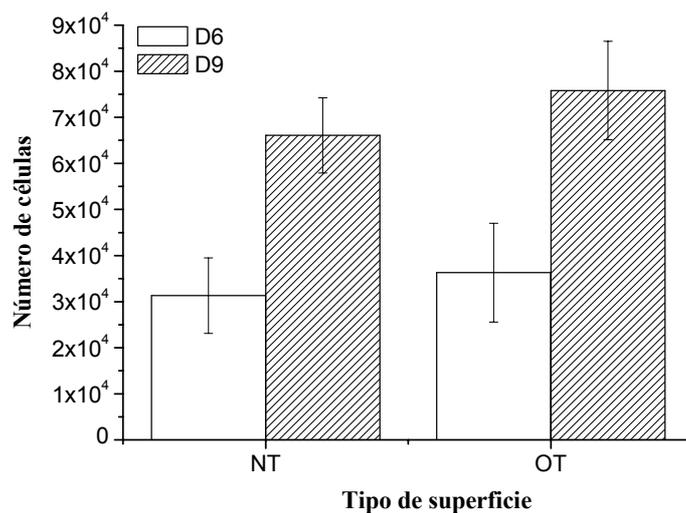


**Figura 4.5:** Comparación de la velocidad de liberación de Ni en función del medio de inmersión, para las muestras NT y OT.

#### 4.1.5.2.2 Incorporación de Ni por las células

Se obtuvieron los números de células presentes el sexto y noveno día en las superficies NT y OT mediante el test WST (figura 4.6). Estos valores sirvieron para normalizar los valores de Ni incorporado por célula. Este test se llevó a cabo en pocillos independientes de los pocillos de donde se recogieron los lisados celulares. El sexto día de cultivo (D6), durante la recogida de los

lisados, y debido a los sucesivos lavados con PBS, se observó que muchas células se desenganchaban de las superficies de los materiales. En consecuencia, estos lisados celulares deberían contener un número de células menor al número obtenido con el test WST. Sin embargo, al noveno día (D9), se evitó la pérdida de células realizando un pipeteado más cuidadoso. En este caso, se considera que el valor del número total de células que sirvió a la normalización de los resultados es el correcto.

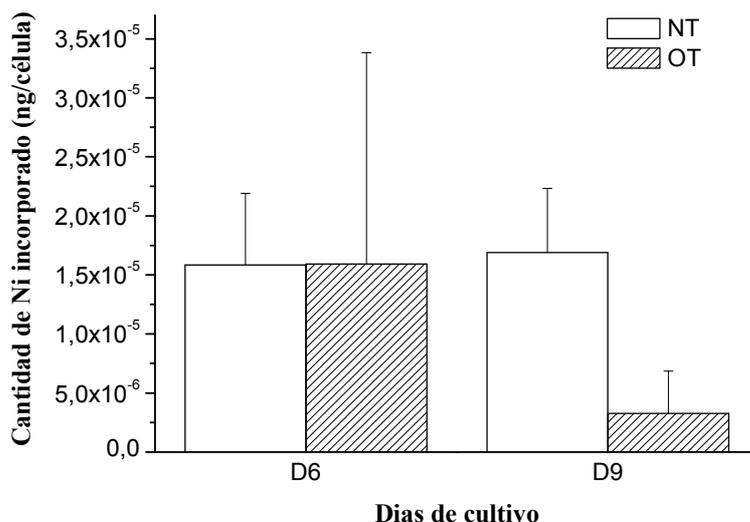


**Figura 4.6:** Resultados del test WST en función del tipo de superficie, llevado a cabo después de 6 y 9 días de cultivo (D6 y D9).

No se observó ninguna incorporación de Ni en las células de la placa control (superficie TCPS).

Al sexto día se había incorporado Ni en las células cultivadas sobre NiTi NT y OT sin ninguna diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, en el D9 las células cultivadas sobre NiTi NT habían incorporado significativamente más Ni que las que estaban cultivadas sobre NiTi OT (*figura 4.7*).

La cantidad de Ni incorporado en las células cultivadas sobre las superficies OT es menor el noveno día que el sexto día, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa, probablemente a causa de la gran desviación estándar en el día 6. Para las superficies NT, las diferencias entre la cantidad de Ni incorporada el sexto día y el noveno día no son estadísticamente significativas (*figura 4.7*).



**Figura 4.7:** Cantidad de Ni incorporado en las células MG63 al cabo de 6 y 9 días (D6 y D9), en función de la superficie.

#### 4.1.6 Discusión

El óxido formado por OT reduce la cantidad de iones Ni liberados al medio. Los valores ligeramente superiores de la cantidad total final de Ni liberado por las muestras sumergidas en SBF respecto a las muestras sumergidas en medio de cultivo (*figura 4.4 a*), tanto en las NT como en las OT, pueden ser debidas a la diferencia de composición química de estos dos tipos de muestras. Las muestras del ensayo en SBF tenían una cantidad de Ni en su composición ligeramente superior a las muestras utilizadas en medio completo (*tabla 1.4*). Sin embargo, este resultado también podría ser debido a que una parte del Ni liberado en el medio de cultivo se ha incorporado en el interior de las células, tal y como se ha demostrado (*figura 4.7*). También podría ser debido a la diferencia de composición química y pH entre los dos medios estudiados.

El decalaje de las curvas de liberación de Ni, hacia valores superiores, de las superficies NT en comparación con las OT, pero con la misma tendencia, corrobora la observación de Thierry et al. [Ttt00], según la cual la velocidad de liberación de Ni está gobernada por la cantidad de Ni en la superficie del material. Como se ha visto en el capítulo 2, la cantidad de Ni en la superficie del NiTi OT es significativamente menor que en la superficie del NiTi NT.

El posterior baño en agua hirviendo (OT+AH) ofreció mejores resultados (*figura 4.3*, menor liberación de Ni) comparado con las muestras OT. Esto podría ser debido a que durante el baño, los iones Ni que permanecieron en la superficie del material, después de realizado el tratamiento

OT, hayan encontrado un medio y unas condiciones apropiados para su liberación, tal como propusieron Shabalovskaya et al. [San95]. En consecuencia, como el óxido es protector y actúa de barrera a la difusión de iones, ya no se liberan más iones en el medio.

Los resultados obtenidos en este estudio corroboran los resultados de la bibliografía [Gpl99]; [Hcl03]; [Ttt00]; [Wvs97]: la liberación de Ni en función del tiempo sigue una ley logarítmica, es decir que la velocidad de liberación es mayor los primeros tiempos de inmersión en el medio, y luego se va estabilizando.

En la literatura existen dos hipótesis distintas para explicar porque la velocidad de liberación de Ni al medio se hace menor a medida que pasa el tiempo. La primera es que la formación de una capa de fosfato de calcio en la superficie del material a tiempos largos de inmersión en un fluido fisiológico protege al material y va impidiendo la liberación de los iones Ni [Wvv98]. Sin embargo, se observaron las muestras por MEB, antes y después del experimento, y no se observó ninguna diferencia en la morfología de las superficies OT o NT. Así que no se puede corroborar esta hipótesis.

La segunda hipótesis establece que la superficie del material se va pasivando con el tiempo de inmersión a 37°C en un fluido fisiológico [Wvs97], es decir que el espesor de la capa protectora de óxido va aumentando con el tiempo. Sin embargo, Thierry et al. [Ttt00] no observaron modificación en el espesor del óxido superficial después de 21 días de inmersión en una solución de Hanks. En el presente trabajo, no se disponen de datos sobre el espesor del óxido antes y después del experimento. Sin embargo, es muy probable que la segunda hipótesis sea la que explica los resultados de las superficies NT. Estas superficies se van pasivando con el tiempo cuando están sumergidas a 37°C en un fluido fisiológico. En cambio, las superficies OT fueron oxidadas a 400°C y las superficies OT+AH, fueron además bañadas posteriormente en agua hirviendo, así que no se espera una pasivación mucho mayor de estas superficies una vez sumergidas en fluido fisiológico. En este caso, está claro que la velocidad de liberación de Ni está relacionada con la cantidad de Ni en la superficie del material. A tiempos mayores de inmersión, menor es la cantidad de Ni que queda en la superficie. Como el óxido formado por OT actúa de barrera a la difusión de los iones que están en las capas inferiores del material, se estabiliza la liberación de los iones, hasta casi ser nula.

Los valores de la cantidad de Ni liberado por las superficies de NiTi, consultados en la literatura son difícilmente comparables ya que los tratamientos de preparación, limpieza y esterilización del material suelen variar de un estudio a otro. También, algunos autores [Phl05]; [Reh04] sólo expresan los resultados en ppm, en lugar de  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  [Hcl03]; [Shw04]; [Ttt00]; [Wvs97]; [Wvv98], y tampoco dan detalles del volumen del electrolito o del área superficial de las

muestras estudiadas. Sin embargo, todos los valores publicados, incluidos los de este trabajo, son del mismo orden de magnitud.

Aunque la cantidad de iones Ni liberada es mucho menor que los 600-2500  $\mu\text{g}$  correspondientes a la cantidad crítica para inducir alergias [Hcl03], incluso en el caso de las superficies no tratadas, esta cantidad podría ser suficiente para inducir respuestas inflamatorias a largo plazo o para alterar el comportamiento celular.

Se demostró que aún a concentraciones subtóxicas, los iones metálicos podían alterar el comportamiento de los osteoblastos [Swh97]. En el caso concreto de los iones Ni, se observó una disminución significativa de la actividad de la fosfatasa alcalina (ALP) y de la síntesis de ADN a una concentración ocho veces menor (76  $\mu\text{mol/l}$ ) que la concentración necesaria para inducir una disminución del 50% de la actividad de la SDH (*Succinate Dehydrogenase*, una enzima de las mitocondrias que es activa si las células son viables, descripción detallada en el capítulo 5). En este mismo trabajo, es muy interesante el hecho de que una concentración de Ni no tóxica, es decir que no induce una disminución de la actividad de la SDH, suprime la expresión génica de la osteocalcina.

En otros trabajos se demostró que los iones Ni podían inducir la secreción de diferentes citocinas involucradas en el proceso de inflamación. Se demostró que la cantidad de Il1- $\beta$  (estimador potente de la resorción ósea [Hlo02]) secretada por los monocitos, debida a la liberación de iones Ni, con una concentración de 7.2  $\mu\text{g/ml}$ , era suficiente para inducir indirectamente la secreción de moléculas de adhesión intercelular (ICAM1) por parte de las células endoteliales [Wlm99]. En otro trabajo, se afirmó que esta concentración crítica podía ser aún más baja (5,87  $\mu\text{g/ml}$ ) [Mwl05]. Estas ICAM1 tienen un papel importante en el reclutamiento de leucocitos hacia el sitio de inflamación durante, por ejemplo, una hipersensibilidad por contacto [Ryh99], en la respuesta inflamatoria a largo plazo, y posiblemente también en la restenosis de las arterias debida a la formación de trombos en la superficie de los stents [Mwl05]. Por otra parte, se observó un incremento de la proliferación de linfocitos y de la secreción de Il10, para una concentración tan baja como 1.2  $\mu\text{g/ml}$  en personas alérgicas al Ni [Caa03]. Además, se observaron también alteraciones en la secreción de Il1- $\beta$  a una concentración tan baja como 1.7  $\mu\text{mol/l}$  [Wrh96].

Por otra parte, los lugares de implantación que favorecen la acumulación local del Ni liberado, pueden superar con mayor facilidad los límites críticos para inducir reacciones adversas. En consecuencia, aunque las superficies no tratadas liberan cantidades de Ni aparentemente no tóxicas, el nuevo tratamiento OT permite disminuir el riesgo a reacciones adversas, reduciendo la cantidad de Ni liberado al medio.

En cuanto a la cantidad de Ni incorporado por las células, en el caso de que los lavados con PBS hayan afectado al número de células contado el sexto día de una manera distinta en función de la superficie, no se puede sacar ninguna conclusión, ya que no se puede predecir la tendencia.

Sin embargo, considerando que los lavados con PBS afectaron de la misma manera tanto las superficies OT como NT, se puede decir que al cabo de seis días las células cultivadas sobre las superficies NT o OT incorporan una misma cantidad de Ni.

En cualquier de los dos casos, los valores absolutos obtenidos el sexto día tendrían que ser menor a los reales. En consecuencia, la cantidad de Ni incorporado por las células (ng/célula) cultivadas sobre las superficies OT es mucho menor el noveno día (D9) en comparación con el sexto día (D6). Este resultado podría explicarse de tres maneras distintas:

1) El Ni podría ser incorporado preferencialmente por algunas células, que entre el sexto y el noveno día se mueren y se desenganchan del material. En consecuencia, la cantidad de Ni incorporado por célula es más bajo [Whc93].

2) También, podría ser que la incorporación sea parcialmente reversible, como lo observaron Wataha et al. [Whc93]. Así que entre el sexto y el noveno día, una parte del Ni incorporado se libera de nuevo al medio.

3) Por fin, ya que la liberación de Ni al medio entre el sexto y el noveno día es muy baja (*figura 4.4 a*), y que el número de células se ha multiplicado por dos (*figura 4.6*), la cantidad de Ni por célula es más pequeña.

Para las superficies NT, es posible que la cantidad incorporada el noveno día sea menor que el sexto día, y que las hipótesis anteriores sean también válidas en este caso. Sin embargo, la tendencia es mucho menos marcada y la masa de Ni por célula es mucho mayor que para OT. Estos resultados podrían ser debidos a que la incorporación de Ni siempre es proporcional a la cantidad disponible en el medio [Wch93]. Las superficies NT siguen proveyendo suficiente Ni al medio, entre el sexto y el noveno día, para ser incorporado por las células.

La incorporación y acumulación de iones  $Ni^{2+}$  por las células podría provocar los posibles mecanismos involucrados en la toxicidad y carcinogenicidad descritos en la introducción. Además, parece ser que el daño del ADN y la transformación de las células sólo depende de la concentración molar de los iones  $Ni^{2+}$  disueltos. En consecuencia, podría ser que una vez incorporados a la célula, el potencial de transformación de los iones Ni dependa únicamente de la cantidad disponible de estos iones [Sha96].

Como consecuencia, el OT podría mejorar las propiedades de biocompatibilidad a largo plazo del material NiTi y reducir los riesgos de sensibilización y alergias al Ni.

#### **4.1.7 Conclusiones**

- El tratamiento de oxidación (OT) reduce de manera significativa la liberación de Ni al medio.
- Es posible reducir aún más la cantidad de Ni liberado mediante un posterior baño en agua hirviendo.
- Las células osteoblásticas cultivadas sobre superficies tratadas con OT incorporan una cantidad de Ni mucho menor que cuando se cultivan sobre superficies de NiTi sin tratamiento.

En consecuencia, el material NiTi tratado por el nuevo tratamiento de oxidación podría minimizar el riesgo de alergias y sensibilización al Ni, así como mejorar la citocompatibilidad y, en general, la respuesta biológica en el lugar de implantación.

El nuevo tratamiento superficial sobre las aleaciones de NiTi podría ser un buen candidato para diversas aplicaciones biomédicas.

## **4.2 Caracterización de la resistencia a la corrosión electroquímica**

### **4.2.1 Objetivos**

Los objetivos de la segunda parte de este capítulo son:

- 1) Evaluar la influencia del tratamiento de oxidación OT sobre los valores de los potenciales de corrosión y los potenciales de rotura de capa de las aleaciones de NiTi, comparado con las superficies no tratadas (NT).
- 2) Evaluar la influencia de la composición química y/o de la fase de las aleaciones de NiTi sobre los valores de los potenciales de corrosión y los potenciales de rotura de capa.
- 3) Evaluar el efecto del daño del óxido superficial, producido por un rayado controlado, sobre la resistencia a la corrosión de las aleaciones de NiTi NT y OT.

## **4.2.2 Introducción**

### 4.2.2.1 Corrosión: aspectos generales

Como se comentó en el capítulo 1, el uso de materiales metálicos implantados en el cuerpo humano puede llevar a procesos de degradación electroquímica, y consecuentemente a la liberación de productos de corrosión y de iones que pueden ser tóxicos, como es el caso de los iones Ni. Por esta razón, la caracterización de la resistencia a la corrosión electroquímica de un material metálico durante el proceso de evaluación de su biocompatibilidad es imprescindible

La buena resistencia a la corrosión generalmente observada para las aleaciones de NiTi se debe a la presencia de una capa de óxido de titanio que pasiva el material dentro de un rango amplio de potenciales [Alr99]; [Flm01]; [Sha96] [Wvv98]. Sin embargo, la destrucción parcial de esta capa pasiva puede llevar a problemas de corrosión localizada, o corrosión por picaduras, acompañados por una liberación importante, tanto de iones de Ni como de iones de Ti. Por esto, además de la resistencia a la corrosión, es relevante evaluar la capacidad de repasivación del material [Rvi00].

Para una determinada naturaleza de metal y sus aleaciones, las principales características superficiales que influyen sobre la resistencia a la corrosión son la presencia de heterogeneidades fisicoquímicas y topográficas. Los materiales constituidos de más de una fase [Lan93], la presencia de precipitados en la matriz [Lan93], el aumento de la rugosidad [Brg00]; [Geg00], son algunos de los elementos que pueden afectar negativamente a la resistencia a la corrosión de las aleaciones de NiTi.

### 4.2.2.2 Resistencia a la corrosión del NiTi: estado del arte

Existen muchos trabajos dedicados al estudio y la evaluación de la resistencia a la corrosión de las aleaciones de NiTi. Las diferencias que pueden existir entre ellos residen en (i) el tipo de ensayo electroquímico que se lleva a cabo, (ii) la naturaleza química y temperatura del electrolito, y (iii) la preparación superficial del material. De hecho, las discrepancias que se han observado en los resultados están generalmente asociadas al estado superficial de las muestras ensayadas. En general, se admite que las aleaciones de NiTi exhiben una resistencia a la corrosión similar a la de los aceros inoxidables, e incluso del Ti puro [Ron96]; [Rvi00]; [Sha01]; [Sha02]. Los potenciales de rotura de capa obtenidos por ensayos potenciodinámicos varían entre 0,1 y 2V (respecto al electrodo de referencia de calomelanos, SCE), en función de

los tratamientos superficiales. El potencial de rotura de 2V se obtuvo para una superficie atacada químicamente y tratada posteriormente en un baño de agua hirviendo [Sha02]. Sin embargo, el valor promedio obtenido para una superficie pulida, sin ningún otro tipo de tratamiento superficial posterior, se sitúa alrededor de 0.8-1.2 V (respecto a SCE). Por encima del potencial de rotura, se observó que el material sufre, en general, una corrosión localizada caracterizada por la formación de picaduras, debido a la presencia de iones agresivos, y sobre todo de los cloruros, en las soluciones salinas electrolíticas. Además, otros trabajos basados en la realización de ensayos potenciostáticos (según la norma ASTM F746) y/o con técnicas de rayado, demostraron que el NiTi tiene una capacidad de repasivación muy débil en comparación con el Ti puro [Ron96]; [Rvi00]. En estos trabajos, los valores de potenciales máximos a los cuales una superficie de NiTi rayada es capaz de repasivarse se sitúan entre 190 y 280 mV (respecto a SCE), en comparación con 800 mV para el Ti puro. Además, las ligeras diferencias que existen entre los resultados de distintos estudios podrían ser debidas a la diferencia de carga aplicada durante los ensayos de rayado [Kru79].

Por otra parte, es interesante destacar que los tratamientos térmicos realizados a presión atmosférica suelen deteriorar la resistencia a la corrosión de las aleaciones NiTi, debido a la presencia de un óxido mixto de Ni y de Ti en la superficie [Phl05].

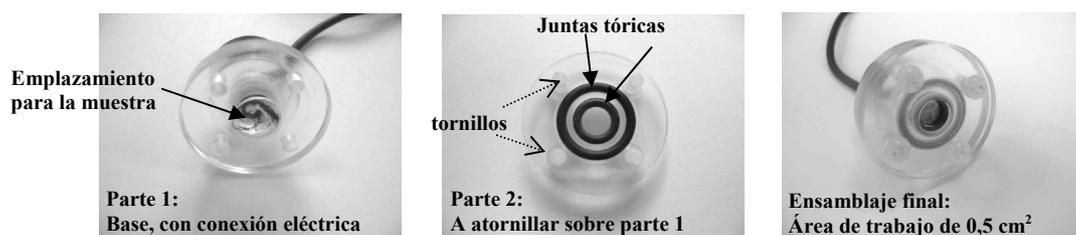
#### 4.2.3 Materiales

Se estudiaron discos de aleaciones de NiTi tratadas por el nuevo tratamiento de oxidación (OT), y no tratadas (NT), pulidos y lavados según las indicaciones detalladas en el apartado 1.5.5. Todas las aleaciones de la *tabla 1.2* se estudiaron en una primera parte, con el fin de determinar la influencia de la composición y/o de la fase sobre los valores de potencial libre y potencial de rotura de capa.

Para los ensayos llevados a cabo con las superficies rayadas, se ensayaron solamente superficies de Ale28, de fase martensítica (con restos de austenita a 37°C), y de Ale27, de fase austenítica.

El área superficial de todas las muestras expuestas al electrolito fue de unos 0,5 cm<sup>2</sup>, gracias al uso de una celda de PMMA mecanizada especialmente para simplificar la preparación de las muestras y asegurar un buen aislamiento de las partes que no estaban en contacto con el electrolito, evitando así los problemas de aireación diferencial (*figura 4.8*).

Se usaron un mínimo de dos discos de cada grupo de material en cada ensayo, para ensayar la reproducibilidad de los resultados.



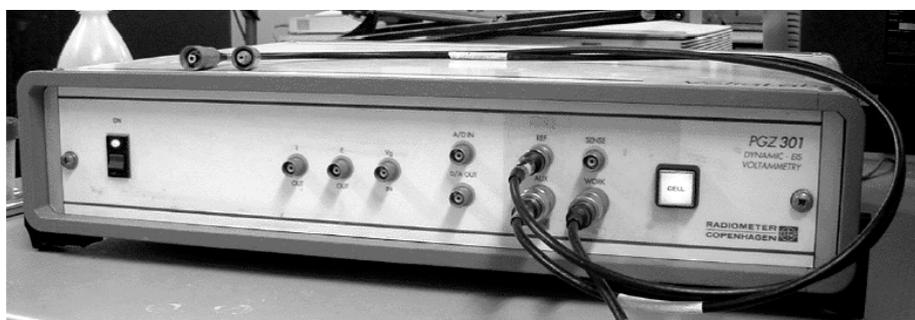
**Figura 4.8:** Celda de PMMA compuesta de dos partes distintas. La primera parte es una base con conexión eléctrica en la cual se coloca la muestra, y la segunda parte se atornilla encima de la primera. Esta segunda parte incorpora dos juntas tóricas para asegurar un buen aislamiento de las partes que no deben estar en contacto con el electrolito. Una vez ensamblada, la superficie de trabajo es de 0,5 cm<sup>2</sup>.

## 4.2.4 Métodos

### 4.2.4.1 Celda de corrosión

Para realizar los ensayos de corrosión se empleó un potencióstato Voltalab 40 PGZ031 Dynamic (Radiometer Copenhagen) (figura 4.9). Se trabajó con un electrodo de referencia Ag/AgCl, y con un contraelectrodo de platino. Estos dos electrodos, así como el electrodo de trabajo (material ensayado), fueron sumergidos en 125 ml de solución salina de Hanks (HBSS, tabla 4.3), mantenida a 37°C en un baño termostático durante la realización del ensayo. El electrolito se renovó después de cada ensayo.

El electrodo de referencia Ag/AgCl tiene un potencial 46V menor que el potencial del electrodo de referencia de calomelanos.



**Figura 4.9:** Potencióstato Voltalab40 PGZ031 Dynamic (Radiometer Copenhagen) utilizado para realizar los ensayos de corrosión.

Toda la celda de corrosión fue colocada dentro de una jaula de Faraday (figura 4.10), para minimizar el efecto de las corrientes parásitas producidas por la presencia de otros equipos y aparatos del entorno.

**Tabla 4.3:** Composición química del HBSS empleado como electrolito en los estudios electroquímicos.

| Sales inorgánicas                                   | Concentración (g/l) |
|---|---------------------|
| CaCl <sub>2</sub> anhidro                           | 0.14                |
| KCl   | 0.40                |
| MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O                | 0.10                |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                | 0.10                |
| NaCl  | 8.00                |
| NaHCO <sub>3</sub>                                  | 0.35                |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O | 0.09                |
| <i>Otros componentes</i>                            |                     |
| p-Glucosa   | 1.00                |
| Rojo fenol  | 0.01                |
| pH = 7.2  |                     |

Después de una estabilización de la temperatura a 37°C, se llevó a cabo el ensayo de potencial libre, es decir en circuito abierto, seguido del ensayo de voltametría cíclica, con la aplicación de un barrido de potenciales a una velocidad determinada y la medición de la corriente eléctrica correspondiente.



**Figura 4.10:** Celda de corrosión sumergida en un baño termostático mantenido a 37°C, y colocada dentro de una jaula de Faraday.

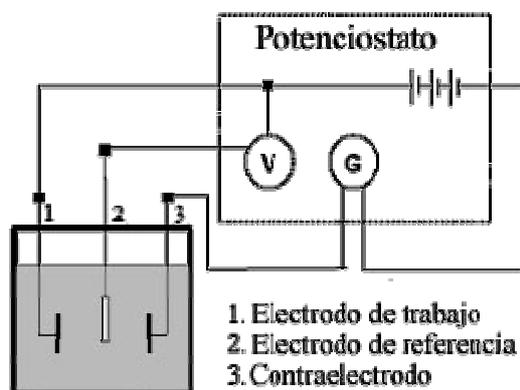
## 4.2.4.2 Circuito abierto

Los ensayos de circuito abierto se llevaron a cabo de acuerdo con la norma ASTM G31-90. Se determinaron los potenciales libres, o potenciales de corrosión  $E_{\text{corr}}$ , de cada superficie a partir de las curvas de potencial en función del tiempo, tomando en cuenta el valor de estabilización. El potencial se considera estabilizado cuando la variación, medida en 30 minutos, no supera los 3 mV. En general, la duración de estos ensayos para los materiales estudiados fue de 180 minutos aproximadamente.

## 4.2.4.3 Voltametría cíclica

Los ensayos de voltametría cíclica se realizaron de acuerdo con la norma ASTM G61-86. Después de la estabilización de las superficies al valor del potencial de corrosión, se les aplicó un potencial de 300 mV inferior, y se barrieron todos los potenciales a una velocidad de 1 mV/s hasta alcanzar 2500 mV en la dirección más noble. Finalmente, se revirtió el barrido hasta el estado inicial con la misma velocidad. Durante todo el ensayo se registraron los valores de densidad de corriente ( $I$ ) correspondientes a cada valor de potencial ( $V$ ) (figura 4.11), y de esta manera se obtuvieron las curvas de polarización cíclica ( $I$  vs  $V$ ).

El potencial al cual la densidad de corriente aumenta de forma abrupta y continúa, es el potencial de rotura de capa. Cuando, a este potencial, la superficie deja de ser pasiva y el material empieza a corroerse de manera incontrolada, se le llama potencial de picadura.



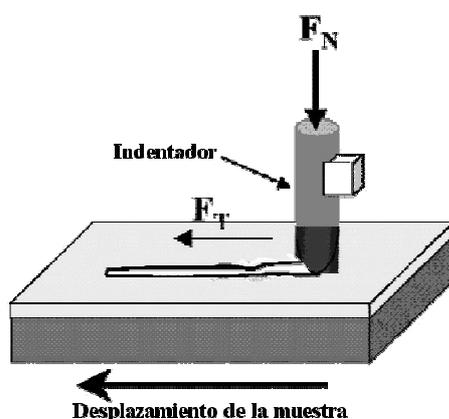
**Figura 4.11:** Esquema eléctrico de un ensayo de voltametría cíclica.

#### 4.2.4.4 Rayado

Se realizaron ensayos de voltametría cíclica sobre superficies recién rayadas y sonicadas, para evaluar la influencia de un daño producido en el óxido superficial protector sobre la resistencia a la corrosión de las aleaciones de NiTi NT y OT.

##### 4.2.4.4.1 Obtención de la raya

Las superficies NT y OT se rayaron mediante la aplicación de una carga determinada con un indentador esférico de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro, con un equipo Revetest (CSM Instruments) (figura 4.12).



**Figura 4.12:** Esquema del método utilizado para producir rayas con una carga controlada, y a una velocidad controlada.

Las rayas de 2 mm de longitud se produjeron a una velocidad de 5 mm/min, y con dos cargas distintas de 10 N y 0,9 N.

##### 4.2.4.4.2 Caracterización de la raya

Se caracterizaron las rayas producidas en la superficie de los materiales estudiados mediante la técnica de microscopía interferométrica descrita en el apartado 3.3.3.2, y con el mismo equipo WYKO NT1100 (Veeco). Se obtuvieron perfiles bidimensionales de los cuales se determinaron la anchura y la profundidad de las rayas, en cada superficie. Además, se obtuvieron imágenes 3D para la evaluación cualitativa del aspecto general de las rayas producidas.

## 4.2.4.5 Observación por microscopia electrónica de barrido (MEB)

Las superficies de las muestras se observaron por MEB después de la realización de los ensayos electroquímicos. Se desbastaron rápidamente todas las muestras con un disco abrasivo P400 antes de la observación microscópica para asegurar la visibilidad de todas las picaduras, en el caso que fuesen presentes. Todas las muestras se limpiaron en un baño de acetona y con ultrasonidos durante 10 minutos, previamente a la observación.

## 4.2.4.6 Cuantificación de la liberación de Ni

Después de cada ensayo, se recogieron 500  $\mu\text{l}$  del electrolito y se cuantificó la cantidad de iones Ni presentes mediante la técnica de espectroscopia de adsorción atómica en horno de grafito (GFAAS), detallada en el apartado 4.1.4.3. Las áreas superficiales reales de cada muestra, determinadas por interferometría en el capítulo 3, se emplearon para el cálculo final.

## 4.2.5 Resultados

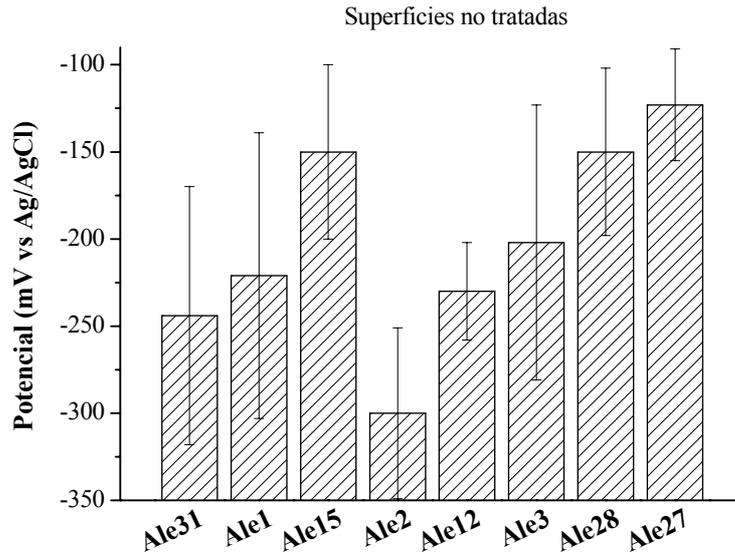
## 4.2.5.1 Superficies no rayadas

## 4.2.5.1.1 Potenciales de corrosión

Los potenciales de corrosión,  $E_{\text{corr}}$ , obtenidos para las distintas superficies NT varían entre -300 y -120 mV (*tabla 4.4*). A pesar de que la Ale27, única de fase austenítica, presenta el valor más alto de potencial de corrosión, no existe ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las distintas aleaciones, por lo que ni la composición ni la fase del material parece tener una clara influencia (*figura 4.13*).

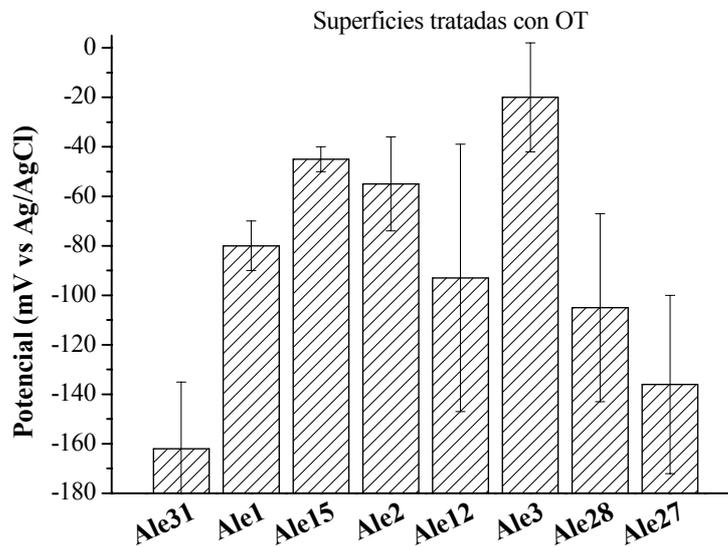
**Tabla 4.4:** Resumen de los valores medios  $E_{\text{corr}}$  obtenidos para las distintas superficies estudiadas ( $\pm$  desviación estándar). Las aleaciones están ordenadas del menor al mayor contenido en Ni.

| Aleación | No tratada    | Tratada por OT |
|----------|---------------|----------------|
| 31       | -244 $\pm$ 74 | -162 $\pm$ 27  |
| 1        | -221 $\pm$ 82 | -80 $\pm$ 10   |
| 15       | -150 $\pm$ 50 | -45 $\pm$ 5    |
| 2        | -300 $\pm$ 49 | -55 $\pm$ 19   |
| 12       | -230 $\pm$ 28 | -93 $\pm$ 54   |
| 3        | -202 $\pm$ 79 | -20 $\pm$ 22   |
| 28       | -150 $\pm$ 48 | -105 $\pm$ 38  |
| 27       | -123 $\pm$ 32 | -136 $\pm$ 36  |



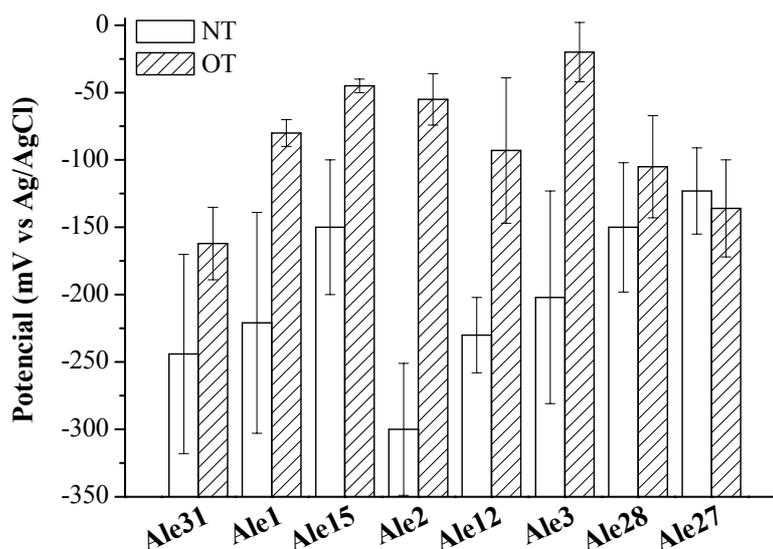
**Figura 4.13:** Potenciales de corrosión,  $E_{corr}$ , resultante de los ensayos de circuito abierto para las superficies NT. Las aleaciones están ordenadas de menor a mayor contenido en Ni (tabla 1.4).

En el caso de las superficies OT, los  $E_{corr}$  varían entre -20 y -160 mV (tabla 4.4). Tampoco se aprecian diferencias significativas relacionadas con la composición química o la fase del material (figura 4.14).



**Figura 4.14:** Potenciales de corrosión,  $E_{corr}$ , resultante de los ensayos de circuito abierto para las superficies OT. Las aleaciones están ordenadas de menor a mayor contenido en Ni (tabla 1.4).

En general, el tratamiento de oxidación OT aumenta  $E_{corr}$  hacia valores menos negativos, es decir más nobles, comparado con las superficies NT (figura 4.15).



**Figura 4.15:** Influencia del tratamiento OT sobre los valores del potencial de corrosión  $E_{corr}$  de las distintas aleaciones estudiadas. Las aleaciones están ordenadas de menor a mayor contenido en N (tabla 1.4).

En el caso de las Ale27 y Ale28, las dos únicas aleaciones que contienen fase austenítica (tabla 1.2), las diferencias que existen entre superficies NT y OT no son significativas.

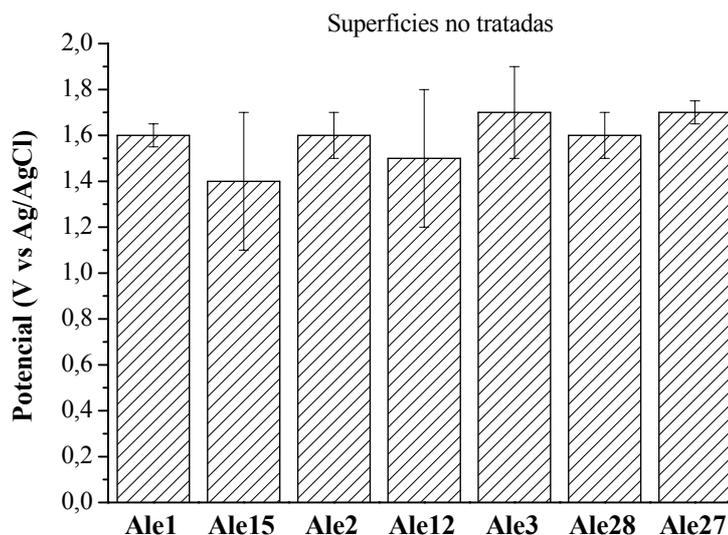
#### 4.2.5.1.2 Potenciales de rotura de capa

Los valores de potencial de picadura  $E_p$ , obtenido en el caso de las aleaciones de NiTi NT se sitúan entre 1,4 y 1,7 V (tabla 4.5), sin ninguna tendencia significativa entre las distintas aleaciones estudiadas (figuras 4.16 y 4.17).

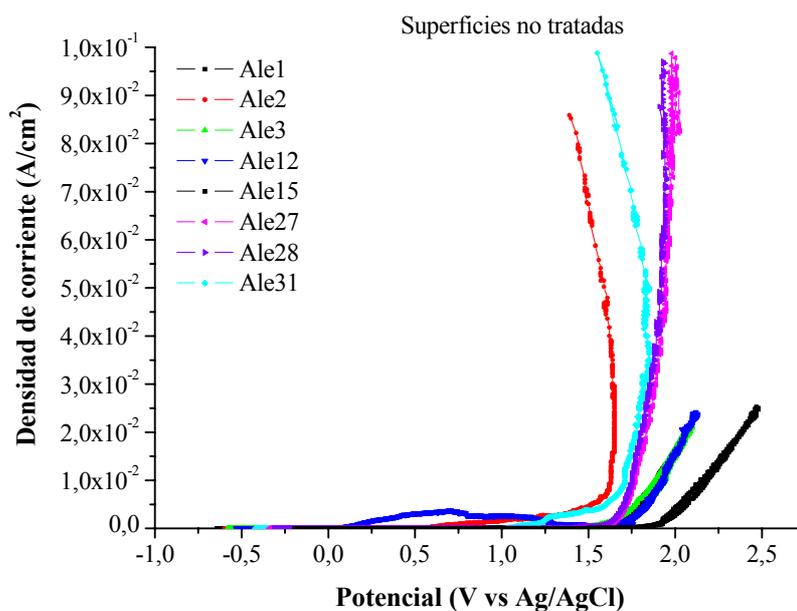
**Tabla 4.5:** Resumen de los valores medios  $E_p$  obtenidos para las distintas superficies estudiadas ( $\pm$  desviación estándar). Las aleaciones están ordenadas del menor al mayor contenido en Ni.

| Aleación | No tratada     | Tratada por OT  |
|----------|----------------|-----------------|
| 1        | 1,6 $\pm$ 0,05 | 2,3 $\pm$ 0,1   |
| 15       | 1,4 $\pm$ 0,3  | 2,35 $\pm$ 0,05 |
| 2        | 1,6 $\pm$ 0,1  | 2,5 $\pm$ 0,2   |
| 12       | 1,5 $\pm$ 0,3  | 2,4 $\pm$ 0,1   |
| 3        | 1,7 $\pm$ 0,2  | 2,4 $\pm$ 0,1   |
| 28       | 1,6 $\pm$ 0,1  | -*              |
| 27       | 1,7 $\pm$ 0,05 | -*              |

\* Valor superior al potencial máximo alcanzado durante el ensayo.



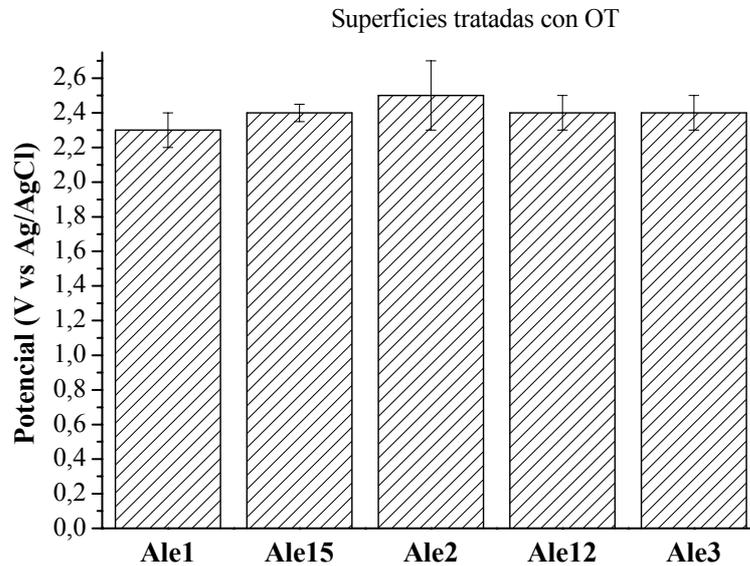
**Figura 4.16:** Potenciales de picadura  $E_p$ , resultante de los ensayos potenciodinámicos para las superficies NT. Las aleaciones están ordenadas de menor a mayor contenido en N (tabla 1.4)..



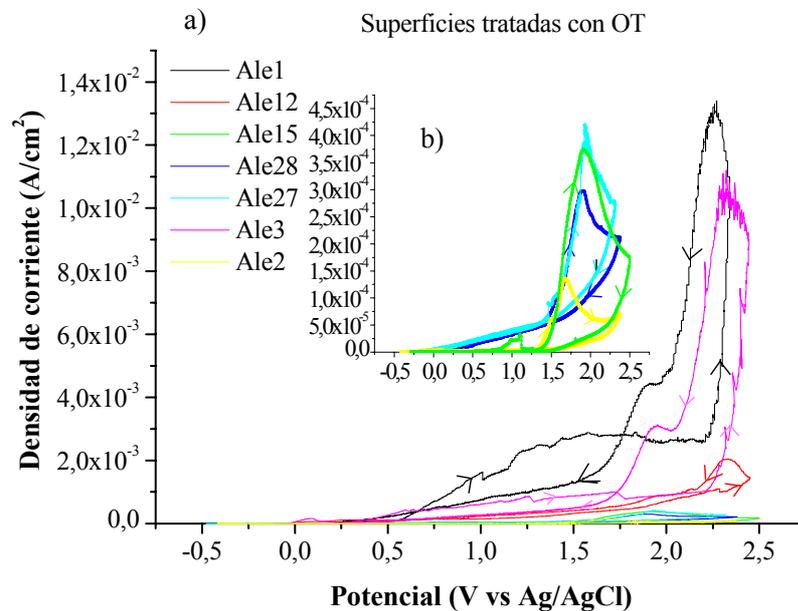
**Figura 4.17:** Ejemplo de algunas de las curvas de voltametría cíclica típicamente obtenidas para las distintas superficies no tratadas (NT) estudiadas.

En el caso de las superficies OT, los valores de potencial de rotura están alrededor de 2,3 y 2,5V (tabla 4.5). Tampoco se aprecia una tendencia significativa entre las distintas superficies estudiadas (figuras 4.18). En algunos casos no se pudo determinar el potencial de picadura para las Ale15, Ale2, Ale27 y Ale28, puesto que la densidad de corriente no sobrepasaba

0,5 mA/cm<sup>2</sup> en el rango de potenciales estudiados (figura 4.19). Para las Ale28 y Ale27 esto fue siempre el caso, por lo que su potencial de picadura es mayor al mayor potencial estudiado.

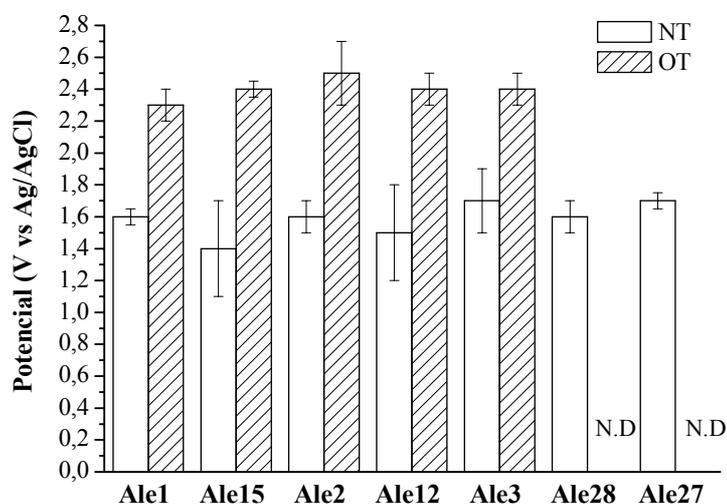


**Figura 4.18:** Potenciales de picadura  $E_p$ , resultante de los ensayos potenciodinámicos para las superficies OT. Las aleaciones Ale28 y Ale27 no aparecen puesto que su  $E_p$  es superior al mayor valor de potencial estudiado. Las aleaciones están ordenadas de menor a mayor contenido en Ni (tabla 1.4).



**Figura 4.19:** a) Ejemplo de algunas de las curvas de voltametría cíclica obtenidas para las distintas superficies OT estudiadas; b) Detalle de las curvas correspondientes a Ale2, Ale15, Ale27 y Ale28, para las cuales la densidad de corriente es del orden de magnitud de  $10^{-4}$  A/cm<sup>2</sup>.

Se observó claramente un incremento de los valores de potenciales  $E_p$  con el tratamiento OT, comparado con las superficies NT (figura 4.20).



**Figura 4.20:** Influencia del tratamiento OT sobre los valores del potencial de rotura de capa de las distintas aleaciones estudiadas. N.D.: no determinado por exceder el valor máximo de potencial estudiado. Las aleaciones están ordenadas de menor a mayor contenido en Ni (tabla 1.4).

No es relevante el valor promedio de la densidad de corriente máxima registrada durante los ensayos, ya que existe una gran dispersión entre los datos de una misma muestra, dependiendo de si se forman picaduras o no. Sin embargo, es interesante comentar que, en general, la densidad de corriente máxima registrada para las superficies NT se sitúa entre 1 y 200 mA/cm<sup>2</sup>, mientras que para las superficies OT, no sobrepasa los 15 mA/cm<sup>2</sup>.

#### 4.2.5.2 Superficies rayadas

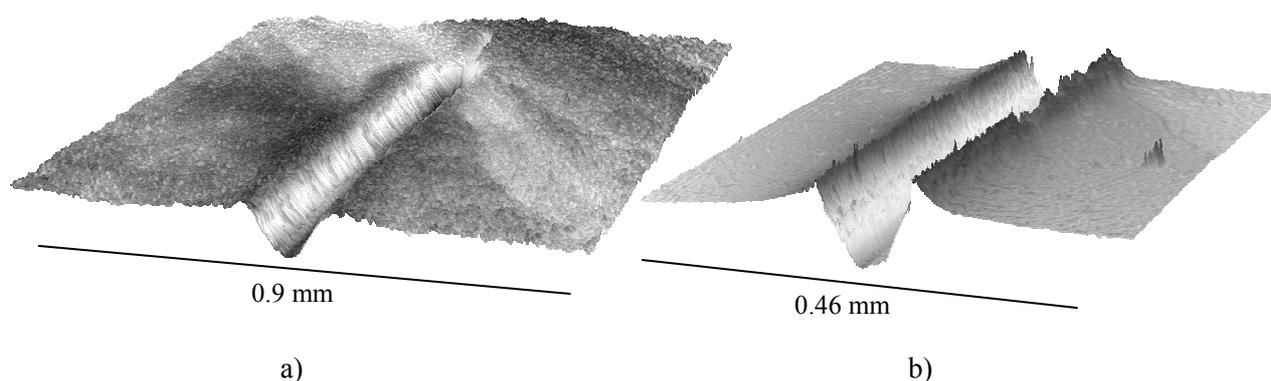
##### 4.2.5.2.1 Caracterización de las rayas

Las dimensiones de las rayas varían en función de la carga aplicada y de la aleación. Lógicamente, con la carga de 10N se obtienen rayas más anchas y más profundas que con la carga de 0,9N, para ambas aleaciones estudiadas (tabla 4.6). Además, para las mismas condiciones de carga, las rayas producidas en la superficie de Ale27, de fase austenítica, son menos anchas y menos profundas que las de Ale28, de fase martensítica con restos de austenita (tabla 4.6).

Las imágenes 3D obtenidas a partir de las dos aleaciones diferentes muestran que no existen diferencias significativas en el perfil de las rayas, excepto las dimensiones de las mismas, tal y como se comentó anteriormente (figura 4.21).

**Tabla 4.6:** Resumen de las dimensiones de las rayas producidas en la superficie de las aleaciones Ale27 y Ale28, por la aplicación de dos cargas distintas.

| Aleación | Carga aplicada (N) | Anchura ( $\mu\text{m}$ ) | Profundidad ( $\mu\text{m}$ ) |
|----------|--------------------|---------------------------|-------------------------------|
| Ale28    | 10                 | $130 \pm 13$              | $6,5 \pm 1,1$                 |
|          | 0,9                | $60 \pm 8$                | $1,1 \pm 0,3$                 |
| Ale27    | 10                 | $87,8 \pm 2$              | $3,9 \pm 0,9$                 |
|          | 0,9                | $30,2 \pm 2,5$            | $0,4 \pm 0,08$                |



**Figura 4.21:** Imágenes 3D de las rayas producidas con una carga de 10N en la superficie de a) Ale28 y b) Ale27.

#### 4.2.5.2.2 Ensayos electroquímicos

Los resultados obtenidos son independientes de la carga aplicada para obtener las rayas sobre las superficies.

En el caso de las superficies NT, los resultados son similares a los que se obtuvieron para las mismas superficies sin rayar.

Sin embargo, se obtuvieron diferencias entre las superficies OT rayadas y no rayadas. Estas diferencias dependen de la aleación. Para la Ale27, de fase austenítica, los resultados son idénticos a los que se obtuvieron para la misma aleación OT sin rayar (figura 4.22). Sin embargo, se obtuvo una dispersión entre los distintos experimentos llevados a cabo con la Ale28 OT rayada, de fase martensítica con restos de austenita (figura 4.23). Los resultados indican que

a pesar de que en algunos casos la superficie rayada resista tan bien como la superficie sin rayar (figura 4.24, curva Ale28 OT rayada con 0,9N (1)), también puede resistir menos a la corrosión y presentar un potencial de picadura inferior a las superficies sin rayar (figura 4.24, curva Ale28 OT rayada con 0,9N (2)), concretamente de 0,7 V.

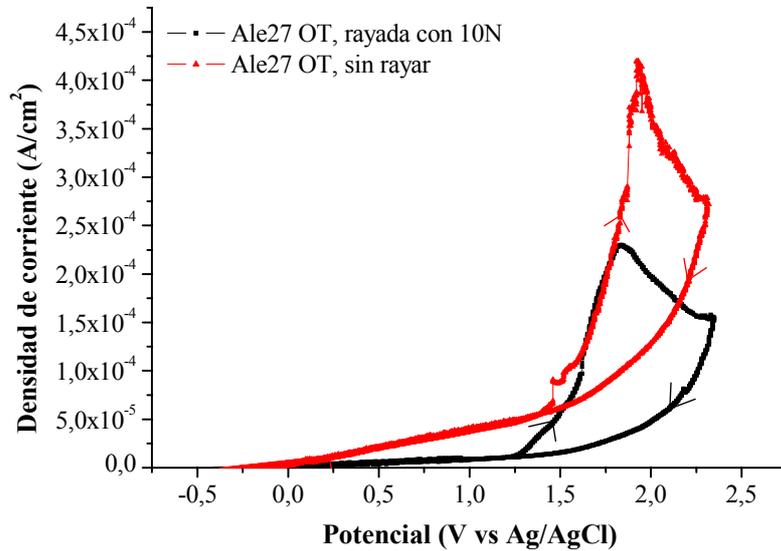


Figura 4.22: Comparación de dos curvas de voltametría cíclica típicamente obtenidas para las superficies Ale27 OT, sin rayar y rayadas. No existen diferencias significativas entre ambas.

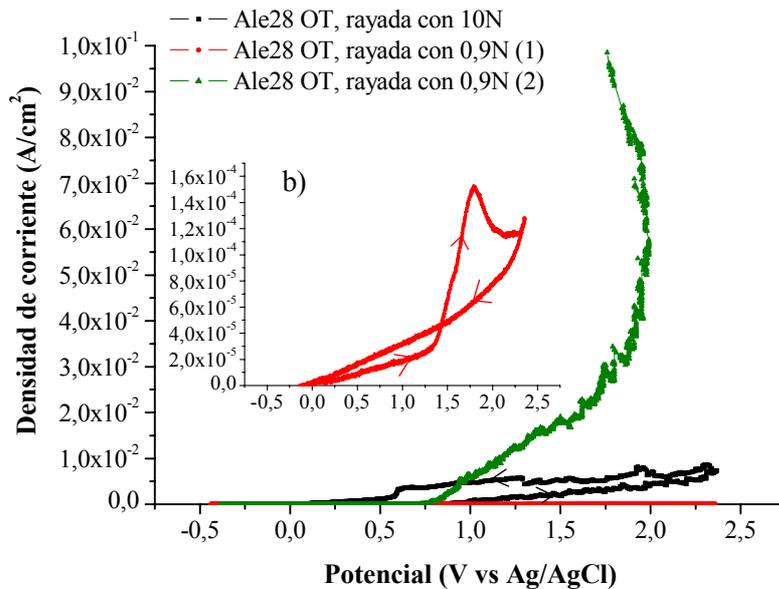
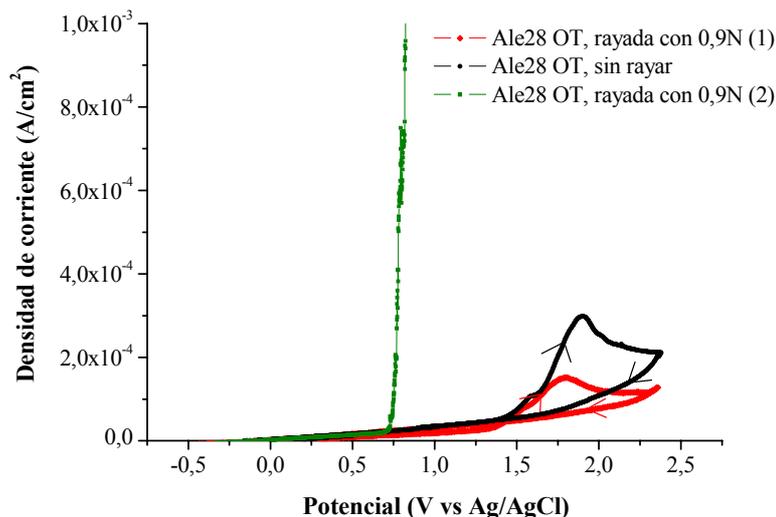


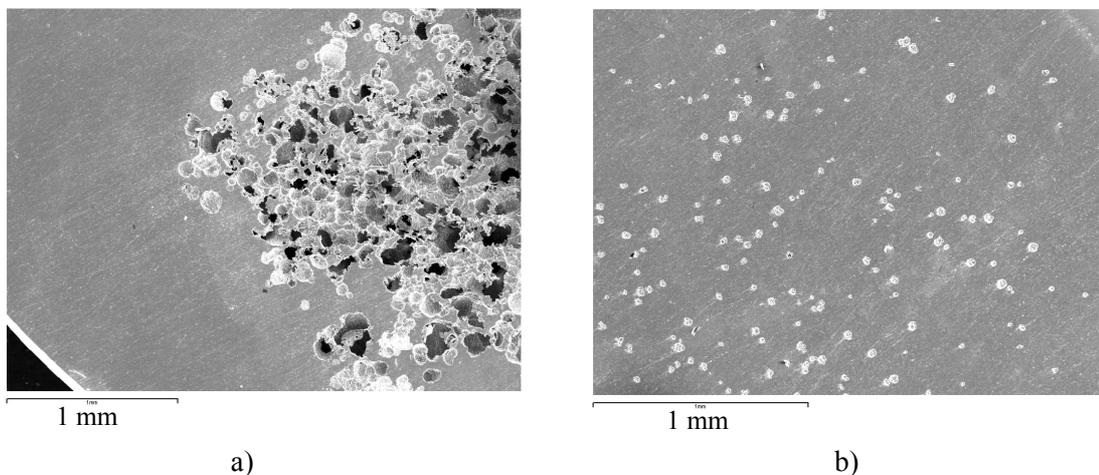
Figura 4.23: Ejemplo de tres curvas de voltametría cíclica obtenidas para las superficies Ale28 OT rayadas. Los resultados obtenidos presentan dispersión, indicando una superficie poco estable.



**Figura 4.24:** Comparación de tres curvas de voltametría cíclica obtenidas para las superficies Ale28 OT, sin rayar y rayadas. Las superficies rayadas son menos estables y pueden presentar valores de potenciales de rotura de capa inferiores a los valores obtenidos con las superficies sin rayar.

#### 4.2.5.3 Observación por microscopía electrónica de barrido

Las observaciones microscópicas están de acuerdo con los resultados potenciodinámicos. Las densidades de corriente máxima registradas para las superficies NT corresponden a la formación de picaduras grandes, muy localizadas o repartidas en toda la superficie de la muestra (*figura 4.25 a*). Asimismo, en el caso de las superficies OT, las muestras ensayadas no presentan alteraciones superficiales, salvo en algunos casos donde se observaron picaduras de pequeño tamaño repartidas sobre toda la superficie de la muestra (*figura 4.25 b*), pero en ningún caso estas picaduras son muy profundas.



**Figura 4.25:** a) Picaduras profundas y localizadas, producidas en la superficie de Ale1 NT; b) Picaduras pequeñas y repartidas, producidas en la superficie de Ale1 OT.

## 4.2.5.4 Liberación de iones

El análisis de los electrolitos recogidos después de cada ensayo muestra que en los casos para los cuales se observaron altas densidades de corriente acompañadas por la formación de picaduras, también han generado una importante liberación de iones Ni al medio.

En consecuencia, para las superficies no rayadas, la cantidad de Ni liberada por las superficies NT varía entre 1 y 500  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , mientras que para las superficies OT se sitúa entre 1 y 30  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (tabla 4.7).

En el caso de las superficies rayadas, la cantidad de Ni liberado es similar para la Ale27 y Ale28, en el caso de las superficies NT y varía entre 2 y 120  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (tabla 4.7). Para las superficies OT, las superficies Ale28 liberaron entre 20 y 530  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , mientras las superficies Ale27 liberaron entre 0,5 y 1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (tabla 4.7).

**Tabla 4.7:** Resumen de las cantidades de iones Ni liberados al electrolito durante los ensayos potenciodinámicos, en función de las superficies.

| Cantidad Ni ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) |      |                     |        |
|---|------|---------------------|--------|
| Superficies no rayadas                    |      | Superficies rayadas |        |
| NT  | OT   | NT                  | OT     |
| 1-500                                     | 1-30 | Ale28<br>2-120      | 20-530 |
|   |      | Ale27               | 0,5-1  |

## 4.2.6 Discusión

Los valores de potencial de corrosión  $E_{\text{corr}}$  obtenidos a partir de los ensayos de circuito abierto para las superficies de NiTi NT están de acuerdo con los valores publicados, obtenidos en electrolitos similares al HBSS [Phl05]; [Reh04]. Además, estos valores son muy similares a los valores obtenidos para el Ti puro [Apa04], que varían entre -275 y -150 mV, en función del tratamiento de superficie.

Para un mismo tipo de superficie, se observó una dispersión relevante en los valores de  $E_{\text{corr}}$ , pudiendo llevar a desviaciones estándares de hasta 80 mV. Esta dispersión se podría explicar por (i) la inestabilidad de la solución HBSS, ya que no es una solución tamponada, y (ii) el grosor de la capa de óxido formada tanto en las superficies NT como en las superficies OT

[Gmf97]; [Ptl96]; [Spk79]. Además, en otros trabajos sobre la corrosión del Ti puro se observaron también variaciones similares en el valor de  $E_{\text{corr}}$  [Apa04].

Se observó claramente que el nuevo tratamiento de oxidación OT aumenta de manera significativa la resistencia a la corrosión electroquímica de las aleaciones NiTi. Los potenciales de rotura de capa de las superficies OT, alrededor de 2,3-2,5 V, son incluso mayores que el máximo valor de 2V, publicado hasta el momento para otros tipos de tratamiento de superficie [Sha02], tal como se comentó en la introducción. Además, las curvas potenciodinámicas obtenidas para algunas de las superficies OT (*figuras 4.19 b y 4.22*) son cualitativamente similares a las curvas que se obtienen para el Ti puro [Acf01]; [Apa04]; [Rod00]. Es decir que el material alcanza una región de pasivación que se extiende hasta 1,5 V aproximadamente. A continuación, se produce un incremento moderado de la corriente al alcanzar 1,8 V. Finalmente, se consigue una nueva región de pasivación con bajas densidades de corriente hasta el mayor potencial conseguido durante el ensayo. La única diferencia con el Ti puro es la magnitud de la densidad de corriente alcanzada, que es mayor en el caso del NiTi OT. Estos resultados vuelven a corroborar el hecho de que el óxido formado por OT tiene propiedades similares al óxido nativo del Ti puro.

Aunque no se observaron diferencias importantes que podrían estar relacionadas con la composición química del material y/o de la fase, las superficies OT de Ale27 y Ale28, las dos únicas con fase austenítica, presentan valores de potencial de picadura superiores al mayor potencial alcanzado durante el ensayo. Además, son las únicas aleaciones cuyos potenciales de corrosión no varían con el tratamiento OT. Estos resultados vuelven a corroborar las conclusiones del capítulo 2 y del capítulo 3, según las cuales el óxido formado con OT es distinto en función de la fase.

Los ensayos de rayado pusieron de manifiesto que la mejor protección contra la corrosión, adquirida por la formación de un óxido de titanio en la superficie de las muestras de NiTi, podría perderse parcial o totalmente en caso de un daño superficial que podría ocurrir, por ejemplo, durante la manipulación quirúrgica. Además, como era de esperar, las superficies OT rayadas pueden llegar a tener una menor resistencia a la corrosión que sus homologas NT, con un menor potencial de picadura y una mayor liberación de Ni (*figura 4.24 y tabla 4.27*). Sin embargo, cabe destacar una diferencia de comportamiento entre las superficies OT de fase martensítica o austenítica. Sorprendentemente, las superficies Ale27 OT rayadas, no sufrieron ningún tipo de corrosión localizada, aún después de la aplicación de potenciales superiores a 2V. La caracterización de las rayas en estas superficies muestra que al aplicar una carga idéntica que en las superficies Ale28, se obtiene un menor daño superficial. Esto se puede explicar por la

gran capacidad de amortiguamiento de la fase austenítica, que transforma a martensita por tensión, y que por lo tanto es capaz de disipar energía y recuperar mayores deformaciones. Sin embargo, en ambos casos, la profundidad de la raya es superior al espesor de la capa de óxido formado por OT, de unos 60 nm aproximadamente, determinada en el capítulo 2 (*tablas 2.6-2.8*). Una de las posibilidades es que el óxido formado en la superficie de Ale27, muy fino, es capaz de acomodar la deformación producida por el rayado, y en consecuencia, no se fractura, al menos en el rango de cargas que se han estudiado. También, podría ser que esta superficie tenga la capacidad de repasivarse rápidamente, inmediatamente después del rayado. En el caso del óxido formado en la superficie de Ale28, éste se fractura y deja de proteger la superficie en la zona de la raya. Además, el rayado ha probablemente producido una zona de grandes tensiones residuales localizadas en la raya, lo cual afecta también negativamente a la resistencia a la corrosión de este material.

#### **4.2.7 Conclusiones**

- El comportamiento a corrosión de las aleaciones NiTi estudiadas, no tratadas, es independiente de la composición química y/o de la fase del material.
- En el caso de las aleaciones tratadas con OT, podría ser que las que contienen fase austenítica sean más resistentes que las de fase martensítica. Lo cual corrobora el hecho de que el óxido formado por OT es distinto en función de la fase.
- El nuevo tratamiento de oxidación OT mejora de manera significativa la resistencia a la corrosión electroquímica de las aleaciones de NiTi, incrementando los valores de potencial de picaduras, y disminuyendo la densidad de corriente máxima y la liberación de iones Ni al medio.
- El óxido formado con OT presenta un comportamiento potenciodinámico similar, cualitativamente, al comportamiento observado para el Ti puro.
- El daño mecánico del óxido que recubre las superficies OT no altera el comportamiento a corrosión de las superficies OT de fase austenítica. Sin embargo, puede empeorar la resistencia a la corrosión de las aleaciones de NiTi de fase martensítica.