

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

Mecanosíntesis de biomateriales base magnesio (Mg), mediante molienda mecánica (MM)

**TESIS PROFESIONAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

**PRESENTA:
MTRO. GONZAGA SEGURA SERGIO RUBÉN**

ASESOR INTERNO: DR. ARTURO MOLINA OCAMPO

SINODALES:

Dr. José Gonzalo González Rodríguez

Dra. Marisol Güizado Rodríguez

Dra. Cecilia Cuevas Arteaga

Dr. René Guardián Tapia

Dr. Álvaro Torres Islas

Dr. Jesús Mario Colín De la Cruz



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS
Definición de Posgrado en Ingeniería y Ciencias Aplicadas



Cuernavaca, Morelos, 12 de marzo de 2021.

DR. JUAN CARLOS GARCÍA CASTREJÓN
COORDINADOR DEL POSGRADO EN
INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS
P R E S E N T E

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada: Mecanosíntesis de biomateriales base magnesio (Mg), mediante molienda mecánica (MM), que presenta el alumno **Sergio Rubén Gonzaga Segura**, para obtener el título de **Doctorado en Ingeniería y Ciencias Aplicadas**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es **APROBATORIO**.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. JOSÉ GONZALO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
DRA. MARISOL GUIZADO RODRÍGUEZ
DRA. CECILIA CUEVAS ARTEAGA
DR. RENÉ GUARDIÁN TAPIA
DR. ÁLVARO TORRES ISLAS
DR. JESÚS MARIO COLÍN DE LA CRUZ
DR. ARTURO MOLINA OCAMPO

Se adiciona efirma UAEM



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JOSE GONZALO GONZALEZ RODRIGUEZ | Fecha:2021-03-12 12:32:41 | Firmante
 uYPTuZ0c0ftP0/ca6LjadfxsacWYj7RzeKw9xl8DKlJ+z9pL3xUw8baA5jU0YefqY1Y6X25axzDGDYjkl6wMxHV7aoZwDzQRw1dWWB9+XaHqByWqA96obSF1EQ8l266ID+fwdxh
 KEg1Gf06q5JXPJJKKXtss7SmuFlsP66sp6EsmMFZXEEyibOy1qInfgV+H6SOhrBIWNI0EUeW56TvrTw86AuRmMoc00f112XbyNW7X2YGT136lJ4A7ejxOliZVLqe9xIWSWG6GJC
 gveLTCJTY73f7aUNdxE4eQW+DCEw/pl3/9P4MQr0IOSNEY5HjpCe/5YUducesRRQ==

ALVARO TORRES ISLAS | Fecha:2021-03-12 14:46:57 | Firmante
 QwjeJqnSay8obDe8JfWubudSdhxGSUE65MpW7+rarUJVBkilaJuTDFzif3W5OWWB60BAM8Du3CBchCwzCiqQfXMTdfouMbEXCiHqImQOIY2qA7X/MzGfQ0wIqR6+Yt1VUA0
 MTa93XJBWA5utCQLM9uLFLK4IVF7DhyfWMg3hBw2cQ/ry2C15qBoAPibXZV/pOvsqBT3dJxFrnlLoEG/ZoEeEB1FAI7b+61WBL0amVN54mdvmlUsU7nqXRSQgDtwGlpQ3
 B6cmgtVDARmQ26gQbsYUMZ6/MYAEBfQGsYKMsu6all/eALkiky5v5JqIEMAJXWawUy2Y5tAqRA==

CECILIA CUEVAS ARTEAGA | Fecha:2021-03-12 17:40:23 | Firmante
 JEPcQZTFM28qE6cfUJv3TK9ygbRMj2+o3KDs2PyEinkChNjmfQwtpy+bpkQ8d1P27lwhwWKBV0grfG0ggDBn4B4/EsgrRHsB0aOO7CYhSBd80x2lx3LRuR9ZKv98r+s7vUq+8ln
 4VB2kO+IWXAdKz/Or4n6+fn35f2fFSWxSF3sU46s8SF1eGK3zgMgGrCgkG1EpmrEcxzo+3D/MDenc/b5/BXN+Kl7uI9GYh4/RBgXQqifXP3BjfmHrQYI08DmFWTHKaixOW4pPbit
 E6lksuShR89148072Q0nOeyhYOHOU2T9YG17uhhtBEmVlJf76hAeRe859/+s0YDlIlgx==

RENE GUARDIAN TAPIA | Fecha:2021-03-12 20:28:31 | Firmante
 vHjK+ZW4dHSapio6EwBxoiEvh9JU7vEwU4XuoykXsg2O1WmID7zIomwre/TE8J9EmiV8bRR+jAOHBFGAgWoga47c/jvpLBMgkxPaQ50w1BKPLk04zv3z7JjcH6LLg1bGCa
 1paE8hf/vrkwho+9jO4QHhVcE9YcvjJfHHR/3oaRI/2BhybF2GLT2f7dkly3o0gdPTe5Hsx1b3yWPDREPvwmQLEEDZlepDx1DUKnp4qGky1aOuJpnukMzbcK+gMGYOZQSK1D
 FDYIIsJgvRz+7WltdPdEWLQQ4Z4XmG6JBa8ZwFNf97gTeidKvMwhr+uuj+kv0HorXmLaqg==

JESUS MARIO COLIN DE LA CRUZ | Fecha:2021-03-16 09:25:08 | Firmante
 A1CjfhRH72B5KfhOJvMBcfJnBU2jxvV7TjYsEI9cGSIVnNx/MKPE7/hEiklJ/qy2eoBSxZtrGYX5d8fQnzUaINV3mbZZezLDNvIjvP7r8aYESHlB4tanP29z18P82121wKyNjMwAbi/i
 vfnEXGNcYA9pSDXfLqOfxt43Zn7BpWii5ZbZdrzT046tHWesEOwwwetV2gZmOZG5FkyXyT6o1ydPA4OyK642ORQ1vie5cYy0vZoz07Uf27p6loujQqSrHGu7qnQ6IU1U/fja
 Q4YU0ulwJvJvNkCOWJEU2a9drNwWqyn9vMNEf8ILABZZ1ryDmBrYKf9ASvMboQ==

ARTURO MOLINA OCAMPO | Fecha:2021-05-03 20:02:18 | Firmante
 tG+kiCIDosyYJ5lZKvIS0Os4mHAJZ65StNyhQdYXoisiQ1bTFDjN0XKMCbELSKnWBUyCmIUdfUMakb95Yr+U1+6V4kgWZ9Inztm4xUp4y6ZYNZ84XZ/zlZ2u1XvYhq61kDwWa
 G6XRmM+Q5GvpalzR3tdTweO6IbVclucZCdu6g5xmELOtZ3ztWH3Z43vNO4HfmFwP2liAnUq2tcwkhWcP83JxqSMwjhRkKkEjPbqKeETuDCk1PaQyggNFys3ldTqUYBvDsfqj7U
 VrDaTfSMOouNDpJJKHfZCgbhKyeoneu9P0jCfStfHZuwYIGu1KwvoGNFDbk070aw65Dm74A==

MARISOL GUIZADO RODRIGUEZ | Fecha:2021-05-20 12:33:20 | Firmante
 oApvQX1Y04wkG56vSbib090jHVks9v2P8IPuDuwCOZ5+3aduPyEFZggYU3ACjJQRX07U6J2iad0lappgirKxHnx5p5UY4UBtnV53zi0lysVXy+LC9JvVTRHnqSqt7pU5X1JdGW3g
 BFCfQk0781lCWNRwYWF3+OcaUj1W9DKMW1N0H7G/z5+cOvOURngM25jAfTzGQ66LNEabHL4lfeOeN9FFre8BgTBXcerMk.Jopv8/roOBQDdZiQKRj1wsPV9brpi+ny22Pgwgnz
 yMOAwCewIKVv9+rASoeQM4HH+paJwFIDwat8h+44MMq+axGuu/DoIMwD6G42TIsx7C5SanbQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
 escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



tj19Wc

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/zqnBoTT5WNvsegHWPWhMm6zfx8kScUu>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
 2017-2023

Índice.

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Agradecimientos.....	3
Introducción.....	4
Capítulo 1.....	6
Hipótesis.....	6
Justificación.....	6
Objetivo general.....	6
Objetivos específicos.....	6
Marco teórico.....	7
1.1 Propiedades mecánicas del Mg.....	7
1.2 Propiedades de corrosión.....	8
1.3 Biocompatibilidad.....	9
1.4 Proceso de molienda mecánica.....	12
1.5 Ventajas de molienda mecánica.....	13
1.6 Equipo para molienda mecánica.....	14
1.7 Control de proceso.....	15
1.8 Procesamiento del polvo.....	16
1.9 Colisión bola-polvos-bola.....	16
1.10 Etapa inicial del procesamiento.....	18
1.11 Procesamiento intermedio.....	18
1.12 Etapa final de procesamiento.....	19

1.13 Finalización del proceso.....	19
1.14 Consolidación: compactación y sinterizado.	20
1.15 Factores que afectan el proceso de molienda mecánica.....	20
1.15.1 Parámetros de molienda.	20
1.16 Materiales empleados para la elaboración de biomateriales.....	23
1.16.1 Magnesio.....	23
1.16.2 Propiedades.	24
1.16.3 Biomateriales base magnesio.	25
1.16.4. Magnesio y sus aleaciones.	27
1.16.5 Corrosión del magnesio y sus aleaciones.....	29
1.16.6 Mecanismos para controlar la velocidad de corrosión.....	31
1.17 Zinc.....	32
1.17.1 Características	33
1.17.2 Fuentes dietéticas de zinc.....	34
1.18 Calcio.	35
1.18.1 Propiedades del calcio.....	35
1.18.2 Usos del calcio.	36
1.18.3 Fisiología.....	36
1.18.4 Fuentes de calcio.	37
1.19 Diagramas de fase Mg-Zn y Mg-Zn-Ca.....	37
CAPÍTULO 2.....	39
2 Proceso experimental.....	39
2.1. Materiales empleados.....	39
2.2 Preparación de los materiales previo al proceso de aleación mecánica.	40

2.3	Equipo empleado en el procedimiento experimental	40
2.4	Procedimiento empleado para el encapsulado de los polvos	42
2.5	Descripción del procedimiento experimental.	43
2.6	Variables del proceso de Molienda Mecánica y de las Muestras	44
2.7	Caracterización microestructural.....	44
2.7.1	Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).	44
2.7.2	Técnica de Difracción de Rayos X (DRX).	45
2.8	Proceso de compactación.	46
2.9	Proceso de sinterización.	47
2.10	Propiedades mecánicas medición de microdureza vickers (Hv).	50
2.11.	Medidas electroquímicas	53
2.11.1	Corrosión.....	53
2.11.2.	Reacciones de corrosión electroquímica	54
2.11.3.	Curvas de polarización potenciodinámica	54
2.11.4.	Comportamiento activo	55
2.11.5.	Comportamiento pasivo	55
2.12.	Pruebas de citotoxicidad.	56
Capítulo 3	58
3.	Resultados y discusión.....	58
3.1.	Caracterización microestructural mediante MEB.	58
3.1.1	Polvos iniciales de Mg, Zn y Ca.	58
3.1.2	Mezcla de polvos Mg65%Zn30%Ca5%, 2,5,10,15 y 20 horas de molienda 400 rpm.	59
3.1.3	Mezcla de polvos Mg70%Zn25%Ca5%, 2,5,10,15 y 20 horas de molienda 400 rpm.	60
3.2.	Caracterización estructural mediante difracción de rayos x.	64
3.3.	Tamaño de cristalito	69

3.4. Proceso de sinterización.....	70
3.5. Microdureza de las muestras sinterizadas.....	73
3.6. Medidas electroquímicas curvas de polarización.....	74
3.7. Pruebas de inmersión.....	77
3.8. Prueba indirecta de citotoxicidad.....	79
3.8.1 Evaluación de la citotoxicidad.....	81
Conclusiones.....	83
Anexos.....	835
Referencias.....	89

Índice de Figuras

Figura 1.1 Propiedades mecánicas de distintos materiales.....	8
Figura 1.2. Tamaño de partícula.....	13
Figura 1.3. Tipos de molinos.....	15
Figura 1.4. Colisión bola-polvos-bola.....	17
Figura 1.5. Partícula durante el proceso inicial.....	18
Figura 1.6. Partícula durante el proceso intermedio.....	19
Figura 1.7. Partícula durante el proceso final.....	19
Figura 1.8. Producción anual del Mg comparada con otros materiales.....	24
Figura 1.9. Celda unitaria, direcciones y planos del magnesio.....	25
Figura 1.10. Esquema mostrando la tensión de fluencia y el módulo elástico.....	27
Figura 1.11. Estabilidad y tiempo de post-implantación.....	30
Figura 1.12. Comparación entre estructuras obtenidas por metalurgia de polvos y fundición.....	32
Figura 1.13. Estructura cristalina del Zn.....	33

Figura 1.14. Estructura cristalina del Ca	35
Figura 1.15. Diagrama de fases Mg-Zn y Mg-Zn-Ca	38
Figura 2.1. Molino planetario	41
Figura 2.2. Cámara de vacío	41
Figura 2.3. Bomba de vacío	41
Figura 2.4. Viales y balines	41
Figura 2.5. Báscula de precisión	41
Figura 2.6. Polvos iniciales de Mg, Zn y Ca	41
Figura 2.7. Molde, dado y punzón para compactación	42
Figura 2.8 Descripción del proceso	43
Figura 2.9. Microscopio electrónico de barrido	44
Figura 2.10. Difracción de Rayos X	46
Figura 2.11. Prensa Hidráulica, Marca FIICSA	47
Figura 2.12. Proceso del sinterizado	47
Figura 2.13. Mufla Marca Thermo modelo F47915.....	49
Figura 2.14. Diagrama de temperatura de las muestras sinterizadas	49
Figura 2.15. Micro Identador Matzuzawa modelo MHT2	50
Figura 2.16. Identador piramidal e Impronta piramodal Vickers.	52
Figura 2.17. Ensayo vickers	52
Figura 2.18. Curvas de polarización potenciodinámicas	55
Figura 2.19. Potenciostato GillAC	56
Figura 3.1. Micrografías de Mg, Zn y Ca	58
Figura 3.2. Evolución morfológica de las partículas Mg65%Zn30%Ca5%	59
Figura 3.3. Mapeo químico Mg65%Zn30%Ca5%	60
Figura 3.4. Evolución del tamaño de partícula de Mg65%Zn30%Ca5%	61
Figura 3.5. Evolución morfológica de partículas de Mg70%Zn25%Ca5%	62
Figura 3.6. Mapeo químico Mg70%Zn25%Ca5%	63

Figura 3.7. Evolución del tamaño de partícula Mg65%Zn30%Ca5%	64
Figura 3.8. DRX Mg	65
Figura 3.9. DRX Zn	66
Figura 3.10 DRX Ca	66
Figura 3.11. DRX Mg65%Zn30%Ca5%	67
Figura 3.12. DRX Mg70%Zn25%Ca5%	68
Figura 3.13. Tamaño promedio de cristalito	69
Figura 3.14. Muestras sinterizadas	70
Figura 3.15. Mapeo químico muestra sinterizada de Mg65%Zn30%Ca5%	71
Figura 3.16 Mapeo químico muestra sinterizada de Mg70%Zn25%Ca5%	71
Figura 3.17. Difractograma muestra sinterizada de Mg65%Zn30%Ca5%	72
Figura 3.18. Difractograma muestra sinterizada de Mg70%Zn25%Ca5%	72
Figura 3.19 Huellas Identadas	74
Figura 3.20. Curvas de polarización potenciodinámicas	75
Figura 3.21. Capa de óxido	76
Figura 3.22. Energía de dispersión de rayos X (EDS),	77
Figura 3.23. Prueba de inmersión	78
Figura 3.24. Placa multipozos	79
Figura 3.25. Proliferación celular	81
Figura 3.26. Pruebas de citotoxicidad	82

Índice de Tablas

Tabla 1.1 Propiedades mecánicas de diferentes tejidos en comparación con las actuales aleaciones biomédicas de magnesio y biomateriales tradicionales	7
Tabla 1.2. Velocidad de corrosión/ electroquímica in vitro ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$).....	9
Tabla 1.3. Inmersión velocidad de corrosión en vitro ($\text{mg}/\text{cm}^2\text{h}$).	10
Tabla 1.4. Fisiopatología y toxicología del Mg y algunos elementos de aleación	10
Tabla 1.5. Propiedades del magnesio	25
Tabla 1.6. Influencia de elementos e impurezas en las propiedades y procesos de las aleaciones Mg a temperatura ambiente.	28
Tabla 1.7. Funciones fisiológicas del zinc	34
Tabla 2.1 Composición de las aleaciones	40
Tabla 3.1 Microdureza Hv	73
Tabla 3.2. Solución Hank	75
Tabla 3.3 Resultados de Ecorr e Icorr	75
Tabla 3.4 Velocidad de degradación.....	79
Tabla 3.5 Resultados (RGR)	82

Resumen.

El magnesio (Mg) es uno de los materiales más prometedores debido a su ligereza ya que actualmente es utilizado para aplicaciones de bioingeniería. El Mg posee una serie de características atractivas que hacen que los materiales a base de Mg sean potencialmente utilizados para aplicaciones en la industria médica debido a su buena biocompatibilidad y biodegradabilidad.

En este trabajo, se sintetizaron aleaciones ternarias de Mg-Zn-Ca, mediante molienda mecánica (MM). El objetivo de este trabajo fue la evaluación del efecto citotóxico de las aleaciones base Mg producidas por MM, así como el efecto del tiempo de molienda en sus propiedades microestructurales, las aleaciones base Mg se sintetizaron en un molino planetario bajo atmósfera de argón usando un recipiente y balines de acero inoxidable. El proceso de molienda se llevó a cabo a 400 rpm durante varios tiempos de molienda 2, 5, 10,15 y 20 h. El análisis de refinamiento de los patrones de difracción de rayos X muestra la presencia de la fase MgZn. Los resultados mostraron que es posible obtener aleaciones mediante MM, los polvos obtenidos por MM en diferentes tiempos se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (MEB) y difracción de rayos X (DRX). Los ensayos de microdureza Vickers (Hv) se realizaron aplicando una carga de indentación de 200 g. La citotoxicidad es muy importante para determinar algún efecto tóxico de las aleaciones base Mg, las pruebas citotóxicas se llevaron a cabo por el método de Sulforodamina B (SRB) el cual reveló que las aleaciones de Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% no inducían toxicidad en las células.

Abstract

Magnesium (Mg) is one of the most promising materials due to its lightness and because it is currently used for bioengineering applications. Mg possesses a number of attractive characteristics that make Mg-based materials potentially used for applications in the medical industry due to its good biocompatibility and biodegradability.

In this work, ternary alloys of Mg-Zn-Ca were synthesized by mechanical milling (Mm). The objective of this work was the evaluation of the cytotoxic effect of the Mg base alloys produced by MM, as well as the effect of the milling time on their microstructural properties, the Mg base alloys were synthesized in a planetary mill under argon atmosphere using a container stainless steel and balls. The milling process was carried out at 400 rpm for various millin times 2, 5, 10, 15 and 20 hours. The refinement analysis of the X-ray diffraction patterns shows the presence of the MgZn phase. The results showed that it is possible to obtain alloys by MM, the alloyed powders obtained by MM at different times were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD). The Vickers microhardness tests (Hv) were carried out by applying an indentation load of 200 gr. Cytotoxicity is very important to determine some toxic effect of Mg base alloys, cytotoxic tests were carried out by the Sulforhodamine B (SRB) method which revealed that Mg65% Zn30% Ca5% and Mg70% Zn25%Ca5% alloys did not induce toxicity in the cells.

Agradecimientos

Agradezco a mis padres Agustín Gonzaga Villanueva y Elsa segura torres por darme la vida, a mis hermanos y amigos de toda la vida por estar conmigo en los momentos de éxitos y fracasos. Agradezco a los amigos que hice en todo este tiempo en el CIICAp especialmente a Alejandro sedano Aguilar y Heriberto Sotelo Pliego compañeros de laboratorio por hacer los días de trabajo más agradables, a los profesores por brindarme consejos, conocimiento y enseñanzas. También agradezco al Doctor Rene Guardián Tapia por brindarme su apoyo, su tiempo, consejos y conocimientos, y por último y el más importante agradezco a mi asesor el Doctor Arturo Molina Ocampo ya que sin él no pudiese haber terminado este trabajo de investigación, gracias por todo el apoyo recibido. Quiero dedicar un agradecimiento especial al doctor Jesús Santa Olalla Tapia (Q.E.P.D) de la facultad de medicina por brindarme la experiencia poder llevar acabo las pruebas citotóxicas y a mis compañeros de la facultad de medicina de la (UAEM) del laboratorio de Biología de Células Troncales, especialmente a mi compañero Luis Carlos Ríos Tapia. Por ultimo quisiera agradecer a CONACyT por brindarle el apoyo y financiamiento todo este tiempo para poder realizar mis experimentos ya que sin este no hubiese sido posible.

Introducción.

Las aleaciones de magnesio (Mg) han demostrado ser aptas para implantes temporales en aplicaciones biomédicas debido a su peso ligero, así como por su módulo de elasticidad y resistencia a la compresión que son compatibles con los del hueso natural [1, 2]. La densidad de Mg es $1,738 \text{ g/cm}^3$, que es sólo ligeramente menor que la del hueso natural ($1.8\text{-}2.1 \text{ g/cm}^3$), mientras que el módulo elástico de Mg puro es de 45 GPa, en comparación con el hueso humano (40-57 GPa) [3]. El magnesio es un cofactor para muchas enzimas y estabiliza las estructuras de ADN y ARN [4,5], es biocompatible y biodegradable en el fluido corporal humano, eliminando así la necesidad de una segunda operación para eliminar un implante temporal. Estudios previos sobre aleaciones biomédicas de magnesio se centraron principalmente en dos aspectos. Por un lado, los investigadores de biomateriales se han dedicado a las evaluaciones de corrosión y biocompatibilidad de las aleaciones comerciales de magnesio y por otro lado a la investigación de un nuevo sistema de la aleación del magnesio que contienen elementos no tóxicos o baja toxicidad. Generalmente, los biomateriales degradables deben tener suficiente resistencia a la corrosión, la tasa de degradación debe coincidir con la tasa de cicatrización del tejido y tener buena biocompatibilidad. Las principales investigaciones sobre el magnesio y sus aleaciones se encuentran enfocadas en el desarrollo de métodos que puedan mejorar su resistencia a la corrosión, manteniendo sus propiedades químicas y mecánicas, para ello se ha recurrido tanto a la modificación química, como a la mejora en la tecnología de fabricación y en protegerlo superficialmente. La modificación química del Mg que permita obtener aleaciones que bajo condiciones ambientales puedan alcanzar resistencia a la corrosión comparable o mejor que la de un acero suave, ha retomado el interés por el uso industrial de estas aleaciones. En ese sentido, las aleaciones con mayor aplicación debido a la mejora alcanzada en resistencia mecánica, oxidación y corrosión son las aleaciones de magnesio de la serie AM (aleados con Al y Mn) y las de la serie AZ (aleados con Al

y Zn). De entre ellas, las aleaciones AM50 y AZ91D son las más usadas actualmente, en la industria del automóvil en usos tales como paneles, volante, elevadores de asiento y tapa de levas, deflectores, carcasa de embrague. Sin embargo, sus aplicaciones siguen siendo restringidas, especialmente por la presencia en su microestructura de compuestos intermetálicos Al-Mn y fase β -Mg₁₇Al₁₂ que generan pares microgalvánicos que limitan su resistencia tanto a la corrosión como a la oxidación. La adición de elementos lantánidos (RE), tales como Ce, Nd (mezcla metálica), Y, etc, parece ser que ha reducido en cierta medida estas limitaciones. Sin embargo, el uso de aleaciones de Mg generalmente no es recomendable porque la mayoría de los elementos de aleación pueden ser tóxicos para el cuerpo humano, solo un número limitado de elementos son adecuados para usar en aleaciones de Mg para aplicaciones biomédicas de acuerdo a los requisitos de biocompatibilidad, entre ellos se encuentran el Zn y el Ca [6,7]. La mayoría de las aleaciones comerciales de magnesio contienen Al y tierras raras, sin embargo, el Al es un neurotóxico [8], y hepatotoxicidad grave que se ha detectado después de la administración de tierras raras [9]. En este estudio las aleaciones de Mg-Zn-Ca fueron producidas por molienda mecánica (MM), ya que es una vía efectiva para producir aleaciones metálicas con microestructura fina [10,11]. La MM es un proceso único de reacción en estado sólido que se desarrolla entre la superficie de los polvos a temperatura ambiente, consecuentemente puede ser usado para sintetizar aleaciones imposibles o difíciles de obtener por métodos convencionales, todo esto gracias a la singularidad del proceso para procesar nuevos materiales. El proceso de molienda mecánica ha atraído mucha atención e inspirado numerosas investigaciones debido a sus resultados prometedores y a su potencial científico. Sin embargo, hay poca información disponible sobre la producción de las aleaciones de Mg preparadas por la técnica de MM, por tal motivo es necesario realizar más investigaciones para producir aleaciones base Mg con las propiedades deseadas para aplicaciones como implante temporal.

Capítulo 1.

Hipótesis.

La Molienda mecánica (MM) puede ser un proceso efectivo para la síntesis de aleaciones base magnesio (Mg), con características biocompatibles y biodegradables en fluidos corporales al proporcionarle una microestructura que mejore sus propiedades para este fin.

Justificación.

Actualmente existe poca información sobre las características de biomateriales base magnesio elaborados mediante metalurgia de polvos. El presente trabajo pretende ampliar la información sobre la producción y propiedades de aleaciones base Mg para aplicación como implante temporal.

Objetivo general

Estudiar la biocompatibilidad, biodegradabilidad y el comportamiento mecánico de aleaciones de magnesio, zinc y calcio elaboradas mediante el proceso de molienda mecánica para aplicaciones como implantes temporales.

Objetivos específicos

Producir, caracterizar microestructural y mecánicamente aleaciones base Mg adicionadas con cantidades de Zn y Ca mediante metalurgia de polvos.

Analizar el comportamiento del material sintetizado, así como su tiempo de degradación en ambientes que simulen fluidos humanos para la realización de estudios biocompatibles.

Determinar la aleación con la composición más adecuada para su uso como implantes temporales de acuerdo a los resultados de las evaluaciones realizadas.

Marco teórico.

En el presente capítulo se describe de manera detallada las propiedades de los materiales empleados el proceso del aleado mecánico, así como sus ventajas, desventajas, características, factores que afectan el procesamiento y variables a tomar en cuenta además se presenta información sobre el sistema de molienda mecánica (MM).

1.1 Propiedades mecánicas del Mg.

La implantación de biomateriales, tales como placas óseas y stents (malla extensible que se utiliza para abrir arteria) se utiliza para sustituir al tejido humano, lo que significa que deben coincidir con la propiedad mecánica de los tejidos (Figura 1.1). La Tabla 1 [12–15] [5-9] resume las propiedades mecánicas de las aleaciones de magnesio investigadas en la actualidad y los biomateriales tradicionales, en comparación con la de los tejidos humanos. Se puede observar que las aleaciones de magnesio indican un módulo de elasticidad mucho más cercano al hueso cortical comparado con el Ti6Al4V tradicional, una mejor ductilidad que el material denominado como HA sintético y una resistencia mayor que el material DL-PLA.

Tabla 1. Propiedades mecánicas de diferentes tejidos en comparación con las actuales aleaciones biomédicas de magnesio y biomateriales tradicionales.

Tejido/Material	Densidad g/cm ³	Resistencia a la compresión / MPa	Resistencia a la tracción final / MPa	Limite elástico MPa.
Hueso cortical	1.8-2.0	164-240	35-283	104.9-114.3
Hueso esponjoso	1.0-1.4		1.5-38	
Ti6Al4V	4.43		830-1025	760-880
HA sintético	3.05-3.15	100-900	40-200	
Mg-fundido	1.74		86.8±2.5	20.9±2.3
AZ91D-fundido	1.81	160	230	150
AZ31-extruido	1.78	60-70	235	125-135
LAE442			247	148
WE43-extruido T5	1.84		280	195
AM60B-fundido	1.78	130	220	
Mg-Zn-Mn-extruido			280.3±0.9	246.5±4.5
Mg-1Ca-extruido.			239.6±7.2	135.6±5.4

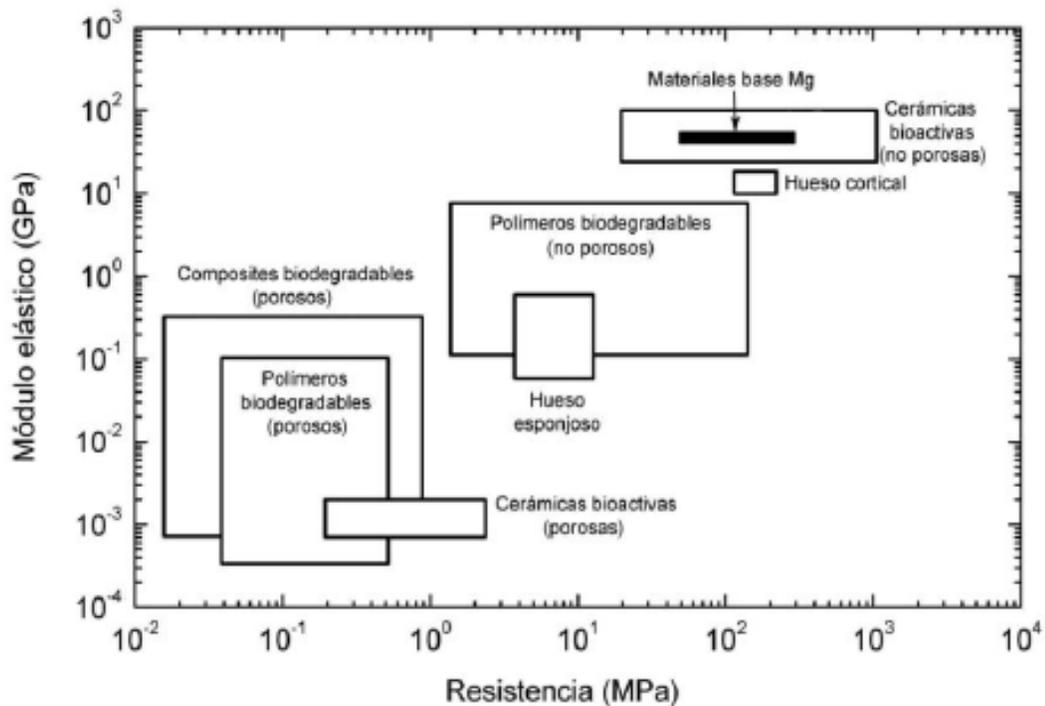


Figura 1.1 Propiedades mecánicas de distintos materiales en comparación con distintos materiales de base Mg.

Las aleaciones de magnesio tienen un amplio rango de resistencia a la tracción y elongación, de 86,8 a 280 MPa y de 3% a 21,8%, respectivamente. En un trabajo realizado mostró que la adición de Al, Ag, In, Si, Sn, Zn y Zr podría mejorar tanto la resistencia y la elongación de las aleaciones de magnesio [1].

1.2 Propiedades de corrosión.

Otro rendimiento vital para el biomaterial degradable elaborado con aleación de magnesio, es la velocidad de degradación, es decir, la velocidad de corrosión. No sólo es importante para el período de cicatrización del tejido, sino que también influye en la pérdida de propiedades mecánicas de los biomateriales durante la degradación. Una aplicación prometedora de la aleación del magnesio es el stent absorbible, Zartner et al. Implantaron stent metálico absorbible diseñado (AMS, Biotronik, Bülach, Suiza), las características mecánicas y de degradación del stent de magnesio demostraron ser adecuadas para asegurar la reperfusión de la arteria

pulmonar izquierda. Para biomateriales ortopédicos, se necesita de alrededor de 3 a 4 meses para que se lleve a cabo la formación de fibroblastos y condroblastos en la zona de fractura a la formación de hueso nuevo y finalmente la consolidación de hueso sólido para restaurar la mayor parte de la fuerza original del hueso [16]. Es decir, la aleación de magnesio debe mantener su propiedad mecánica durante al menos 3 meses como implante ortopédico para evitar la segunda ocurrencia de fractura resultante de la rápida degradación del implante de aleación de magnesio. La Tabla 2 y la Tabla 3 [18-26] muestran la velocidad de corrosión in vitro en diferentes soluciones fisiológicas y la velocidad de corrosión in vivo de las aleaciones de magnesio actualmente investigadas. Se puede observar que las aleaciones LAE442 y Mg-Mn-Zn muestran la tasa de corrosión más lenta, con un porcentaje de degradación de alrededor del 30% y 54% después de 18 semanas de implantación in vivo (Tabla 3).

Tabla 2. Velocidad de corrosión/ electroquímica in vitro ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)

Material.	0.9 NaCl	Solución Hank's.	SBF	m-SBF
Mg puro (99.95%)		15.98	86.06	
AZ31	34.10	31.60		
AZ91	22.56			65.70
WE43	27.30	30.60	16.03	
ZE41				
LAE442				
AZ91Ca				17.80
AZ61Ca				36.50
Mg-Mn-Zn fundido.		1.45-1.60		
Mg-Mn-Zn extruido.			79.17	
Mg-Mn-Y extruido.		1.88-4.47		
Mg-1Ca fundido.			546.09	
Mg-1Ca extruido.			75.65	

1.3 Biocompatibilidad.

La bioseguridad y la biocompatibilidad de los biomateriales absorbibles deben ser considerados, ya que todos los elementos de la aleación de magnesio entrarán en el cuerpo humano. En la Tabla 3, la aleación fundida de Mg-1Ca indica la mayor

tasa de corrosión (0.136 mg/cm²h) entre otras aleaciones de magnesio, mientras que la cantidad de liberación diaria de Mg está todavía en niveles de miligramo. Esto significa que la liberación de Mg durante el proceso de degradación es segura para el ser humano. El resultado de la implantación in vivo también indicó que la aleación de Mg-1Ca mostró buena biocompatibilidad [16]. La Tabla 4 [27,28] resume la fisiopatología y la toxicología del Mg y de otros elementos de aleación utilizados en las aleaciones de magnesio investigadas actualmente.

Tabla 3. Inmersión velocidad de corrosión in vitro (mg/cm²h)

Material.	0.9 NaCl	Solución Hank´s.	SBF	Velocidad de corrosión in vitro (mg/cm ² año)
Mg puro (99.95%)		0.011	0.038	
AZ31		0.0065		1.17
AZ91		0.0028		1.38
WE43			0.085	1.59
ZE41		0.0626		
LAE442				0.39
AZ91Ca				
AZ61Ca				
Mg-Mn-Zn fundido.		0.003-0.010		
Mg-Mn-Zn extruido.			0.05	0.92
Mg-Mn-Y extruido.			0.015-0.04	
Mg-1Ca Fundido.			0.136	2.28
Mg-1Ca Extruido.			0.040	

Tabla 4. Fisiopatología y toxicología del Mg y algunos elementos de aleación.

Elemento.	Nivel de suero sanguíneo	Fisiopatología	Toxicología	Subsidio diario
Elemento esencial.				
Mg	0.9 mmol/L	Activador de muchas enzimas; Coregulador de síntesis de proteínas y contracción muscular; Estabilizador de ADN y ARN	Casi ninguna evidencia indica toxicidad de magnesio	0.7 g
Ca	1.3 mmol/L	Mineral más abundante y principalmente almacenado en huesos y dientes; Participación coagulación sanguínea;	Trastorno del metabolismo del calcio; cálculos renales.	0.8 g

		Activador o estabilizador de enzimas.		
Zn	46µmol/L	Elemento traza esencial; Aparece en todas las clases de enzimas.	Neurotóxico y dificultan el desarrollo óseo a mayor concentración.	15 g.
Mn	1 mmol/L	Elemento traza esencial; Activador de la enzima; La deficiencia de Mn está relacionada con la osteoporosis, diabetes mellitus, aterosclerosis.	El exceso de Mn resulta en neurotóxico.	4 mg.
Elemento esencial potencial.				
Si		Agente de unión cruzada de estructuras de membrana de base de tejido conjuntivo; Necesario para el crecimiento de una calcificación ósea	El SiO ₂ excesivo causa enfermedades pulmonares.	
Otros elementos				
Li	2-4 ng/g	Se utiliza en el tratamiento de las psicosis maniaco-depresivas	Reducción de la función renal y trastornos del sistema nervioso central.	0.2-0.6 mg.
Al	2.1-4.8 µg		Neurotóxico y acumulación en el hueso.	Cantidad total en los humanos <300 mg
Zr	total<250 mg.		Alta concentración en el hígado y la vesícula biliar	3.5 mg.
Y-Re	<47 µg.	Compuesto de fármacos para el tratamiento del cáncer.	Acumulación en el hueso y el hígado.	

En el diseño de biomateriales degradables, los elementos con potenciales problemas toxicológicos deben ser idealmente evitados si es posible, y estos elementos deben usarse sólo en cantidades mínimas aceptables si no pueden excluirse del diseño. Ya que el Ca, el Zn y el Mn son esenciales para el ser humano; estos tres elementos deben ser la primera opción como elemento de aleación para la aleación biomédica de magnesio [29]. Por lo tanto, incluso si la velocidad de

corrosión de la aleación de magnesio se estima en $0,2 \text{ mg/ cm}^2 \text{ h}$ (referida a la tasa de corrosión más alta $\text{mg/ cm}^2 \text{ h}$ en la Tabla 3), la cantidad de liberación diaria de Ca y Zn es 0.096 y 00.288 mg/ cm^2 , que está por debajo de la tolerancia diaria. Se ha informado que la aleación de magnesio con 1,5% en peso de Mn, mostró buena resistencia a la corrosión y propiedades mecánicas [29], y la liberación diaria de Mn es de aproximadamente $0,072 \text{ mg/cm}^2$, que es seguro para el ser humano. La microaleación con Si también puede ser una buena opción porque el Si puede mejorar la resistencia de la aleación de magnesio, sin embargo, la adición de 1% en peso de Si puede resultar en una pobre resistencia a la corrosión.

Otras opciones como elementos aleantes en las aleaciones de Mg son el Li, el Al y el Zr. Los experimentos in vivo de las aleaciones LAE442 y AZ91 demostraron que estas dos aleaciones de magnesio tenían una buena biocompatibilidad [18, 19]. Sin embargo, dada la toxicidad severa del Li y el Al, la adición de estos dos elementos debe hacerse de una manera cautelosa. El Zr se considera un elemento de microaleación, cuyo contenido no es superior al 0,8% en peso [29]. Por lo tanto, el Zr puede usarse para refinar el grano y mejorar las propiedades mecánicas y de corrosión, ya que no se encuentra toxicidad obvia. El uso práctico de las aleaciones de magnesio biodegradables enfrenta el reto de que sus tasas de corrosión / degradación en un entorno fisiológico son demasiado rápidas. Uno de los procedimientos útiles para disminuir la velocidad de corrosión de las aleaciones de magnesio es la modificación de la superficie, incluyendo el tratamiento térmico alcalino [30, 31], la oxidación [32], el tratamiento de fosfatación [33], y la electrodeposición [34,35].

1.4 Proceso de molienda mecánico.

El proceso de molienda mecánico es un medio para producir polvos de materiales compuestos con microestructuras extremadamente finas y controladas. Consecuentemente puede usarse para producir aleaciones difíciles o imposibles de producir por métodos convencionales de fundición.

El proceso fundamental de la molienda mecánico para producir polvos de materiales con microestructuras controladas consiste en la repetición de soldadura, fractura y re-soldadura de una mezcla de polvo de partículas en una carga seca con bolas altamente energéticas. Produciéndose la aleación de los polvos, con el transcurso del tiempo al llegar a condiciones en que la tasa de soldadura y fractura se encuentra en balance [36] y de esta manera se obtiene una distribución estrecha de tamaño de partículas como se ilustra en la Figura 1.2, en donde las partículas más grandes se fracturan y las más pequeñas sufren soldadura en frío [37] de tal manera que son las partículas que se encuentran en equilibrio de soldadura y fractura las que conforman la mayoría de los polvos finales.

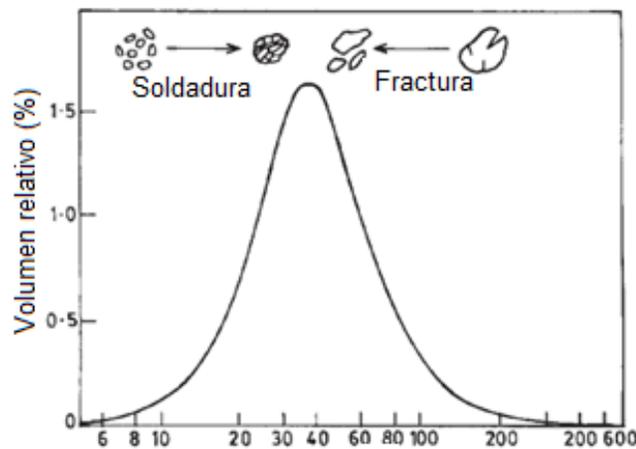


Figura 1.2. Tamaño de partícula durante MM (μm).

En contraste, la molienda de bolas en un régimen de baja energía reduce gradualmente el tamaño de las partículas de polvo metálico. En este caso los efectos de la soldadura fría son minimizados hasta que el polvo alcanza tamaños tan pequeños como un micrómetro, en donde debido al trabajo en frío, empieza a existir un balance entre los procesos de soldadura y fractura.

1.5 Ventajas de la molienda mecánico.

El proceso de molienda mecánico tiene varias ventajas únicas que lo hacen óptimo para la investigación y obtención de materiales avanzados como son:

- La homogeneidad del polvo es independiente del tamaño de los polvos iniciales.
- Dispersiones homogéneamente finas se pueden obtener en tamaños de partícula de 1 micra o menos, con una alta concentración de elementos de aleación sin la oclusión de aire.
- Las aleaciones de metal líquido son más prácticas y económicas para desarrollar una aleación. Pero para los casos en que no es posible obtener aleaciones homogéneas por estos métodos, el valor de la aleación mecánica se vuelve evidente.
- El aleado mecánico es un proceso de aleación en frío, por lo cual se puede manejar materiales inflamables de manera segura con ciertas precauciones o bajo atmósferas inertes.

1.6 Equipo empleado para la molienda mecánico.

En el proceso de molienda mecánico, la carga de polvos es colocada en un contenedor con un medio apropiado de molienda bajo una atmósfera inerte o controlada. Los medios típicos de molienda usados incluyen bolas de acero de alta dureza, acero inoxidable o materiales cerámicos. El contenedor que contiene la mezcla de polvos y el medio de molienda se coloca en un molino de bolas para empezar el proceso de molienda mecánica.

En la actualidad existen varios tipos de molinos convencionales, en los cuales las bolas colisionan con las partículas de una manera altamente energética. Para que suceda esto, se requiere operar el molino a velocidades menores a la velocidad crítica que causaría que las bolas se fijen a las paredes internas del molino y disminuir el peso del polvo en relación con el de las bolas. Las bolas en aleación mecánica normalmente consisten en bolas de acero, las bolas fabricadas de aleaciones similares al material que va a ser procesado pueden usarse para evitar la contaminación a través del desgaste de las bolas [36].

Los molinos más usados en la actualidad se muestran en la Figura 1.3 se dividen en: molino Atricinador Szegvari, molino vibratorio Spex y molino planetario.

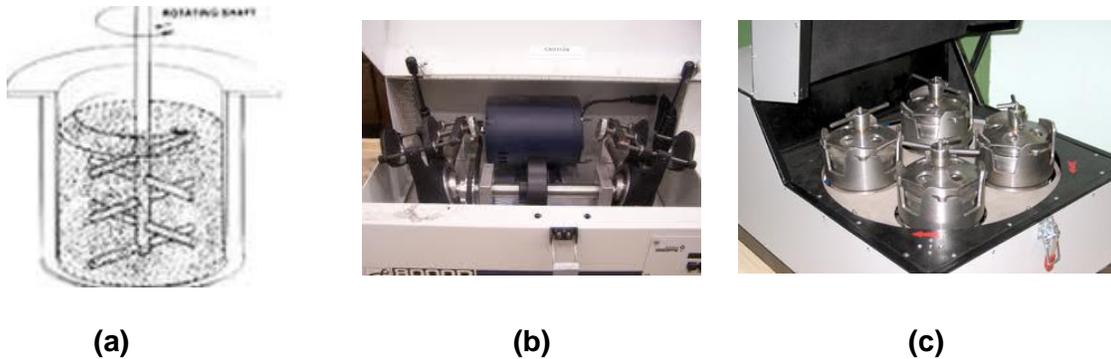


Figura 1.3. Molinos (a) atricinador (b) vibratorio y (c) planetario.

El molino planetario es apropiado para propósitos de investigación en laboratorios para producir cantidades pequeñas de polvos, del orden de unos pocos gramos (2 gramos). El movimiento del molino involucra rotación del tazón sobre dos ejes verticales paralelos separados, análogo a la rotación de la tierra cerca del eje central y los contenedores giran en la dirección opuesta y sobre su propio eje. Las ventajas de este tipo de molino yacen en que, al ser de baja energía, este proceso es óptimo para estudiar de manera controlada la evolución de los polvos y obtener así fases metaestables con un procedimiento controlado y favorable para su repetición, lo cual lo hace idóneo para la investigación científica.

1.7 Control de proceso.

Es crítico establecer un equilibrio entre la fractura y soldadura en frío para alear mecánicamente de manera satisfactoria. Desarrollar este equilibrio puede requerir diferentes modificaciones del proceso dependiendo del sistema de aleación involucrado. Un agente controlador del proceso (PCA) como el ácido esteárico $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$) el cual se adiciona para prevenir la soldadura excesiva de las partículas entre sí, o con las bolas, y establecer un equilibrio dinámico entre la soldadura y fractura de las partículas [38].

Otra forma consiste en modificar la forma de deformación de las partículas de polvo para que se fracturen antes de deformarse. Esto puede ser logrado a través de la molienda criogénica. La distribución de tamaño de partícula de los polvos aleados mecánicamente va de un tamaño promedio de 50 a 200 micrómetros; lo cual está en función del tamaño inicial del polvo y su distribución y composición. Los polvos que fácilmente se sueldan en frío como el aluminio, crecen rápidamente en tamaño, la longitud del diámetro de la partícula a la cual se estabiliza la distribución del tamaño del polvo depende del tipo y cantidad del PCA. En muchos casos después de largos periodos del proceso de aleado mecánico, el PCA se alea con las partículas de polvo. La flexibilidad de la aleación mecánica es tal que se puede alterar la distribución del tamaño de polvo al procesarlo más allá de su punto de homogeneidad con o sin la adición de agentes extras de control del proceso.

1.8 Procesamiento del polvo.

La molienda mecánica comienza con la difusión individual de los constituyentes del polvo, los cuales pueden tener tamaño que van desde 50 a 200 micrómetros. La molienda de polvo dependiendo del tipo de aleación a producir contiene 1 o más componentes de metales dúctiles. El polvo inicial puede poseer prácticamente cualquier morfología, en este caso la forma de las partículas de polvo depende en gran medida de la técnica empleada en producirlo, entre algunos de los métodos se puede mencionar: polvo electro-depositado, atomizado por gas o agua e incluso producción de polvo que fue previamente aleado. La colisión inicial de bola-polvo-bola causa que el polvo del metal dúctil se aplane y se endurezca por deformación mecánica. La severa deformación plástica incrementa la razón de superficie-volumen de la partícula y rompe la capa superficial de contaminantes absorbidos. En el caso de polvos intermetálicos se fracturan y son refinados en tamaño [36].

1.9 Colisión bola-polvos-bola.

Una sola colisión bola-polvos-bola [39] que ocurre de manera inicial en el proceso de Molienda Mecánica (MM) impacta miles de partículas con un peso aproximado

de 2×10^{-4} g, dando lugar a la modificación de las partículas de polvo de tal forma que adquiera dos morfologías. Cuando las partículas de metal que fueron previamente aplanadas se superponen (Figura 1.4), automáticamente las interfaces limpias de metal se colocan en contacto íntimo, formando uniones por soldadura en frío y acumulando capas de partículas de polvo constituida de varias combinaciones de los constituyentes originales. Los constituyentes más frágiles tienden a ser ocluidos por los constituyentes dúctiles y son atrapados en los compuestos. Las partículas de los compuestos pueden fracturarse, de tal manera que son estos eventos de soldadura en frío y fractura que continúan durante todo el proceso, dando lugar a que las partículas se refinan en tamaño y tiendan a homogenizarse. A la vez que los polvos se sueldan en frío entre sí los mismos también pueden recubrir las bolas de molienda y las paredes interiores de los viales de molienda, dependerán del sistema particular de aleación y del agente de control de procesamiento usado. Si no se controla la cantidad de polvo pegado en las paredes, esto dará lugar a la formación de deshomogeneidades en el polvo de la aleación [36].

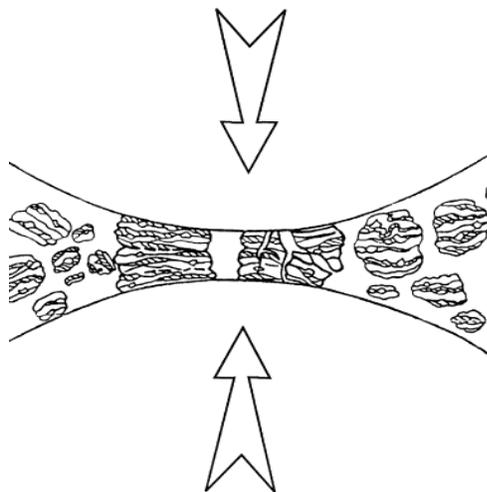


Figura 1.4. Colisión bola-polvos-bola.

1.10 Etapa inicial del procesamiento

En la etapa inicial del procesamiento, las partículas están constituidas por capas compuestas en forma de “sándwich” de los componentes iniciales (Figura 1.5), las partículas del compuesto pueden variar en tamaño desde unos pocos micrómetros a cientos de micrómetros. En esta etapa, también puede estar presente el polvo inicial fragmentado que no ha sido soldado en frío, los constituyentes de polvo iniciales son identificables dentro del compuesto. El sistema coloidal en el que una sustancia se dispersa en forma de partículas en un medio que puede ser gaseoso, líquido o sólido (dispersoide) se encuentra cerradamente espaciado a lo largo de las uniones soldadas mientras que el espacio entre las soldaduras, igual al espesor laminar es bastante grande. La composición química de las partículas varía significativamente de partícula a partícula.

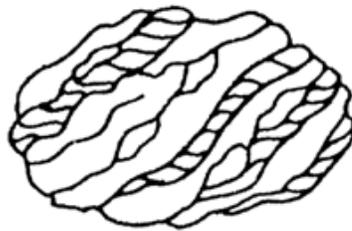


Figura 1.5. Partícula durante el proceso inicial.

1.11 Procesamiento intermedio

Las partículas de polvo del compuesto son más refinadas mientras la fractura y la soldadura en frío continúa. En el estado intermedio, las partículas consisten en láminas de morfología compleja (Figura 1.6), al comienzo de este proceso, la disolución de los elementos y la formación de áreas de solución sólida a través de las partículas de polvo de la matriz se facilita por un ligero calentamiento, defectos de red o cristalinos y cortas distancias de difusión. El calentamiento producido por la energía cinética es absorbido por el polvo procesado, y el severo trabajo en frío producido por el proceso de MM también ayuda a la difusión suministrando muchos

sitios de difusión con baja energía. Además de provocar que la distancia de difusión disminuya a distancias micrométricas [40].

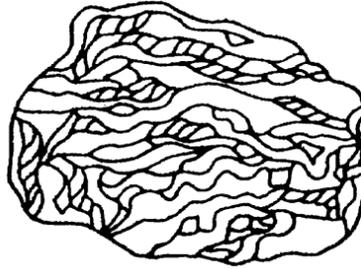


Figura 1.6. Partícula durante el proceso intermedio

1.12 Etapa final de procesamiento

En esta etapa de procesamiento, las láminas se vuelven más finas y complejas (Figura 1.7), mientras el proceso está a punto de culminarse. La composición de las partículas individuales converge hacia la composición inicial de la mezcla del polvo.

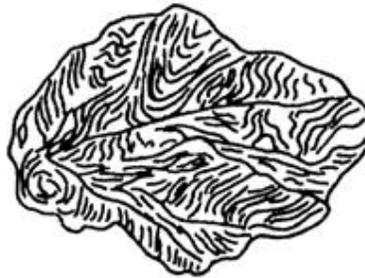


Figura 1.7. Partícula durante el proceso final.

1.13 Finalización del proceso

Al finalizar la molienda mecánica, las partículas de polvo tienen una estructura metaestable extremadamente deformada y conteniendo dispersoides. En esta etapa del proceso, las laminillas ya no se revelan por microscopía óptica. El espaciamiento máximo de soldadura es de 0.7 micrómetros mientras que el valor promedio es considerado más fino. La continuación del proceso de MM más allá de este punto no puede mejorar físicamente la distribución de los dispersoides.

1.14 Consolidación: compactación y sinterizado.

En el proceso de molienda mecánica la mayoría de los polvos se consolidan principalmente mediante dos procesos compactación uniaxial de los polvos y sinterización, que pueden ser efectuados de manera sucesiva o simultánea. Las barras extruidas pueden entonces ser termo-mecánicamente procesadas a una gran variedad de estructuras de granos [36]. Después de la producción de polvos metálicos, la secuencia convencional de la metalurgia de polvos consiste en tres pasos:

- 1) Combinación y mezclado de los polvos.
- 2) Compactación uniaxial, en la cual se presan los polvos para obtener la forma deseada.
- 3) Sinterizado, que implica calentamiento a una temperatura por debajo del punto de fusión para provocar la unión de las partículas en estado sólido y el fortalecimiento de la parte.

Estos tres pasos se denominan operaciones primarias de la metalurgia de polvos. En ocasiones también se ejecutan operaciones secundarias destinadas a mejorar la precisión dimensional, incrementar la densidad y otros propósitos. A continuación, se hace una revisión de los puntos mencionados. La mezcla molida debe ser presionada lo suficiente para que soporte la fuerza de la eyección del molde y que pueda ser movida antes del sinterizado. El compactado es una etapa muy importante ya que la forma y las propiedades mecánicas finales de la pieza están fuertemente relacionadas con la densidad obtenida después del compactado. La microestructura de los compactos depende, como es de esperarse, de la elaboración de su proceso. También, asociados a la matriz, existen poros o intersticios íter-partículas, que resultan del acomodo de las mismas partículas por la presión [41].

La sinterización consiste en un tratamiento sólido de un polvo previamente compactado a una temperatura inferior a la fusión del constituyente principal en la cual sus partículas se unen por fenómenos de soldadura en estado sólido. La sinterización se utiliza de modo generalizado para producir formas a partir de polvos cerámicos, metálicos o compuestos. Como resultado del procesado por aleado mecánico se obtienen polvos metálicos compuestos. El polvo obtenido de la molienda mecánica de tamaño de grano nanocrystalino [41], le confieren una alta dureza.

1.15 Factores que afectan el proceso de la molienda mecánica.

1.15.1 Parámetros de molienda.

Se ha reportado [39] que los parámetros que repercuten durante la molienda son:

a) Energía de impacto.

Depende del molino en específico, la densidad y tamaño de bolas. Se ha observado que la microdureza desarrollada en las microestructuras de aleaciones mecánicas es dependiente de la energía de impacto. También se ha observado que en molinos de alta energía el grado de cristalización aumenta, mientras que en molinos de baja energía la predomina la amorfización.

b) Tamaño de la bola de molienda.

El tamaño de la bola afecta el tamaño, morfología, temperatura de recristalización y entalpía del polvo producido. Los eventos de soldadura/fractura pueden ser aumentados usando un rango de tamaño de bolas diferentes en lugar de usar bolas del mismo tamaño.

c) Relación peso bolas- peso polvo.

El aumento de la relación peso bolas- peso polvo reduce el movimiento libre lo cual disminuye la frecuencia de las colisiones. En general se ha encontrado que la relación óptima entre peso bolas- peso polvo se encuentra en un rango de 5:1 a 30:1 y para el caso que se requiera producir materiales amorfos se utiliza un valor de aproximadamente de 100 a 1.

d) Velocidad.

La velocidad del molino es una de las variables más importantes a considerar. Velocidades de rotación muy bajas, conllevan a periodos muy largos de molienda y una baja homogeneidad en la aleación debido al suministro inadecuado de energía cinética. Sin embargo, cuando el molino opera a velocidades muy altas, puede producir calentamiento excesivo y alto desgaste de las bolas causando contaminación por parte del medio de molienda y los viales.

e) Atmósfera.

Es necesario controlar la atmósfera de molienda en el que se realiza el aleado mecánico, debido a que se han demostrado notables niveles de contaminación con solo pequeñas cantidades de O_2 o H_2O , los cuales pueden afectar de manera muy importante al producto final. Es por esto que el proceso de aleado mecánico suele ser realizado en atmósferas inertes. Debido a que los polvos producidos por aleado mecánico son muy finos, estos presentan áreas superficiales muy grandes, por lo cual, los polvos son muy reactivos, siendo capaces de reaccionar con otros gases además del oxígeno, como son el hidrógeno y nitrógeno. Sus efectos se ven reflejados en contaminación, en la formación de la aleación e incluso en la constitución de las fases finales. Esto conduce a tomar en consideración a la atmósfera como uno de los factores más importantes en el proceso.

El nitrógeno es un gas muy estable e inerte cuando se calienta a altas temperaturas. Pero en el caso de la aleación mecánica se muestra inestable debido a que reacciona con la mayoría de los elementos, resultando en la formación de nitruros. Es por esto que el argón es uno de los gases más empleados en el proceso de aleado mecánico para prevenir la oxidación y contaminación de los polvos [39].

f) Tiempo de molienda

El tiempo de molienda es uno de los parámetros más importantes en la molienda de los polvos. El tiempo requerido varía dependiendo del tipo de molino, velocidad, relación peso bolas / peso polvo y temperatura. Por lo cual el tiempo necesario debe de decidirse para las combinaciones de los parámetros anteriores y para el sistema

de polvo en particular. Como sea, también debe de tenerse presente que los niveles de contaminación aumentan además de que algunas fases indeseables se forman si el polvo se muele más tiempo del requerido.

1.16 Materiales empleados para la elaboración de biomateriales

1.16.1 Magnesio

En 1775, el químico escocés Joseph Black descubrió que la magnesia contenía un nuevo elemento, magnesio; pero fue incapaz de aislar este elemento. En 1808, el magnesio fue descubierto y aislado por el químico y científico británico Sir Humphrey Davy, a través de la descomposición del sulfato de magnesio húmedo por electrólisis usando una celda voltaica y un cátodo de mercurio. Los usos del magnesio como material estructural fueron como elemento de aleación principalmente en las aleaciones de aluminio. También se utilizó para la desoxidación de los aceros, productos pirotécnicos e industria química, superando éstos a los usos estructurales [42]. Las aplicaciones del magnesio se extendieron tanto en la primera como en la Segunda Guerra Mundial, principalmente en la aviación militar y en la industria nuclear. En 1944, el consumo había llegado hasta 228,000 toneladas [43], para desplomarse después de la guerra a sólo 10,000 toneladas por año. La necesidad de reducir el peso de los componentes de los coches para cumplir con la legislación que limitaba las emisiones contaminantes y el consumo de combustibles fósiles por razones de tipo medio ambiental, económico y conservación de reservas energéticas, ha renovado el interés en el magnesio. Por eso la tecnología tiende a emplear componentes con el menor peso posible [44]. En el campo de la industria del automóvil, se ha llegado a estimar que, si los motores se hicieran, algún día, de aleaciones de magnesio, el peso de los automóviles disminuiría entre 900 y 1.200 kg [45,46]. Como se muestra en la Figura 1.8, la producción mundial de magnesio se ha mantenido relativamente constante entre los años 1970 y finales de 1990. En 1998, la demanda de magnesio ascendió hasta

360,000 toneladas por año. Sin embargo, durante la década de 1994 a 2004 ha aumentado a unas 15,000 toneladas.

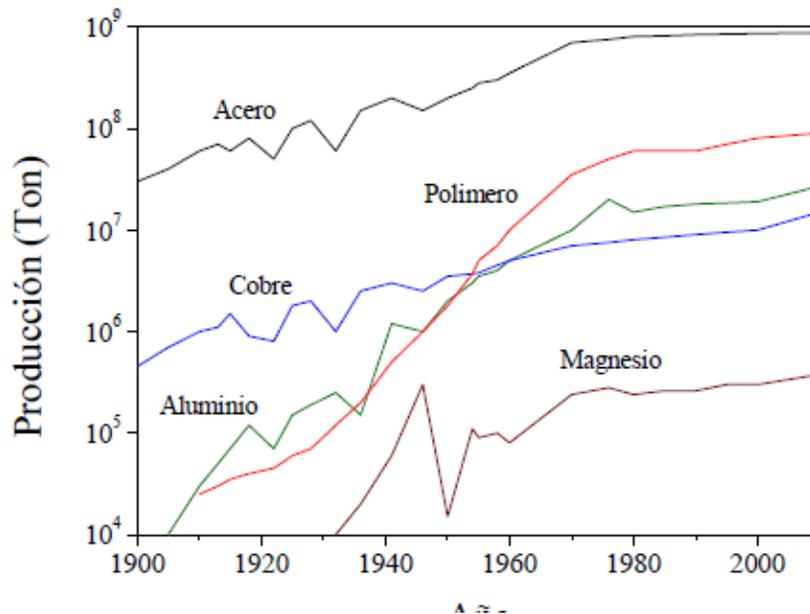


Figura 1.8. Producción anual del Mg comparada con otros materiales

Debido principalmente a la baja densidad y alta resistencia en relación con su peso de las aleaciones de magnesio y sus aleaciones, es previsible que amplíen su campo de aplicación de forma considerable [47].

1.16.2 Propiedades.

El magnesio es el sexto elemento más abundante, constituyendo el 2% de la masa total de la corteza de la Tierra, no se encuentra en forma elemental en la naturaleza, pero sí en su estado combinado. Las formas más importantes en las que se encuentra presente el magnesio son: la magnesita $MgCO_3$ (27% Mg), dolomita $MgCO_3 \cdot CaCO_3$ (13% Mg), y carnalita $KCl \cdot MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (8% Mg), así como en el agua de mar, que contiene 0,13% Mg es decir 1300 ppm (tercer catión más abundante entre los minerales disueltos en el agua de mar). El magnesio se obtiene por electrólisis de $MgCl_2$ anhidro fundido, por reducción térmica de dolomita o por extracción de óxido de magnesio procedente del agua mar. A modo de ejemplo, en

1997 de la producción mundial de alrededor de 436,000 toneladas [48] el 75% se realizó por electrólisis de sales fundidas y el 25% por reducción térmica [49]. El magnesio tiene una estructura cristalina hexagonal compacta (HC) (Figura 1.9), por ello no es susceptible de conformación en frío lo que dificulta su deslizamiento en los planos basales y le obliga a deslizar en los planos prismáticos y piramidales [50]. Los parámetros de red del magnesio puro, aumentan con el aumento de la temperatura favoreciendo su conformación en caliente.

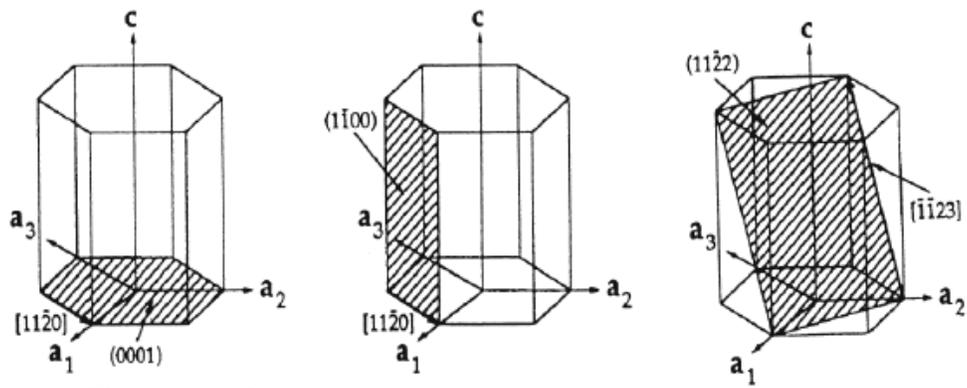


Figura 1.9. Celda unitaria, direcciones y planos del magnesio.

El magnesio puede presentar riesgo de explosión durante la fundición y el mecanizado, ya que se combina con facilidad con el oxígeno y puede arder, especialmente si se encuentra en forma de polvo y a alta temperatura. En la Tabla 5 se muestran las propiedades más importantes del magnesio puro.

Tabla 5. Propiedades del magnesio.

Densidad (g/cm ³)	1.738 (20°C)
Módulo de Young (GPa)	45
Límite elástico (MPa)	69-100
Carga de rotura (MPa)	80-180
Dureza Vickers (Hv)	30-45
Temperatura de fusión (°C)	650
Conductividad eléctrica (m/Ω mm ⁻²)	22.4
Potencial normal (V _{H⁺/H₂})	-2.37

1.16.3 Biomateriales base magnesio.

Dentro de las aplicaciones de materiales metálicos como biomateriales, se pueden destacar dos grandes grupos:

- Implantes permanentes, cuya función es reemplazar un tejido u órgano dañado. Son de larga permanencia, que puede llegar a los 10 - 15 años. Ejemplos típicos son los implantes de cadera, rodilla o dentales.
- Implantes temporales, cuya función no es de reemplazar al tejido sino de ayudar a repararlo.

El magnesio (Mg) es un elemento esencial en el metabolismo, siendo el cuarto ion más abundante en el organismo. Su deficiencia está asociada a varias patologías por lo que son necesarias dosis diarias de 75-80 mg para niños y de 1000 mg para adultos. La mayor parte del magnesio en el organismo se almacena en el cuerpo en los compartimentos intracelulares de los tejidos blandos y el exceso de dicho elemento se elimina fácilmente por la orina. Además, es necesario para la incorporación de calcio al hueso, estimula su crecimiento y ayuda a la reparación ósea [51]. Por lo mencionado anteriormente, el magnesio es un metal biocompatible, es decir, sus iones no son citotóxicos ni es rechazado por el organismo. El magnesio es ampliamente utilizado en aplicaciones ingenieriles por su alta relación (resistencia/peso). Posee una densidad de 1.74 g/cm^3 , la cual representa 1,5 y 4,6 veces menos la densidad del aluminio y el acero respectivamente, manteniendo una relativa alta resistencia (del orden de 100MPa). A su vez, cabe destacar que la densidad del magnesio es levemente menor a la del hueso (de 1.8 a 2.1 g/cm^3). Una de sus principales características mecánicas es el bajo módulo elástico (40-45GPa) en comparación con otros metales (110 GPa en aleaciones de titanio y 200 GPa en aceros) acercándose considerablemente al valor que toma en el hueso (3-30 GPa) (Figura 1.10). Este parámetro es fundamental para reducir o evitar el fenómeno de “stress shielding”, el cual consiste en la reabsorción y desaparición del hueso circundante al implante, como resultado de la distribución inhomogénea de cargas.

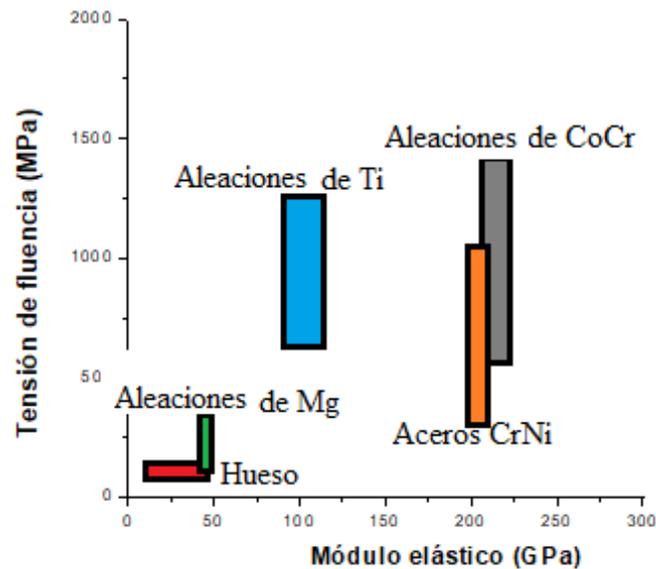


Figura 1.10. Esquema mostrando la tensión de fluencia y el módulo elástico.

Considerando los biomateriales reabsorbibles, las aleaciones de magnesio pueden ser comparadas con los implantes comerciales biodegradables de tipo polimérico, dentro de los cuales aquellos obtenidos a partir de ácido poliglicólico y ácido poliláctico son los más difundidos. A pesar de que estos materiales han encontrado gran variedad de aplicaciones biomédicas tanto en elementos tipo stent como en tornillos de fijación, su capacidad de carga está restringida por la resistencia mecánica, que representa aproximadamente la mitad de los valores normalmente alcanzados en aleaciones de magnesio [51]. Hasta aquí se ha visto que el magnesio cumple tanto los requerimientos mecánicos como de biocompatibilidad. No obstante, la principal limitación en el uso de estos materiales está relacionada con la elevada velocidad de corrosión que sufren en medios fisiológicos. Los mayores esfuerzos en investigación están ligados a controlar la velocidad a la que el metal se disuelve a través de variados mecanismos.

1.16.4. Magnesio y sus aleaciones.

La designación de las aleaciones de magnesio generalmente sigue a la nomenclatura dada por la American Society for Testing Materials (ASTM), la cual

utiliza una combinación de letras y números para indicar elementos aleantes y porcentajes.

Tabla 6. Influencia de elementos e impurezas en las propiedades y procesos de las aleaciones Mg a temperatura ambiente [52].

Elemento de aleación/ impurezas	UTS	Ductilidad	Dureza	Resistencia a alta temperatura	Refinamiento de grano
Aluminio	+	+	+		+
Calcio	+				+
RE				+	+
Cobre	-	+			-
Hierro		+			
Litio	-	+			
Manganeso	+	+			+
Silicio		-	+	+	
Zinc	+	-			
Zirconio	+	+		+	++

UTS= Tensión ultima, ++= excelente, +=Buena, -= -mala.

En la Tabla 6 pueden verse los efectos de los algunos elementos en la mayoría de las propiedades mecánicas, así como en el refinamiento de tamaño de grano. Además, considerando su efecto en la velocidad de corrosión, los elementos presentes pueden clasificarse en:

- Elementos perjudiciales: Fe, Ni, Co, Cu
- Elementos de efecto moderado (dependiente de la concentración): Zn, Ca, Mn, RE
- Elementos de efecto positivo: Al

Por otro lado, entre estos elementos Zn, Ca y Mn son esenciales para el organismo, y las tierras raras (RE) exhiben propiedades anti-cancerígenas [55]. A su vez el Mn es agregado para reducir el efecto perjudicial de las impurezas [55].

Debido al gran efecto del aluminio en las propiedades mecánicas y frente a corrosión, las aleaciones de magnesio pueden ser divididas en tres grandes grupos:

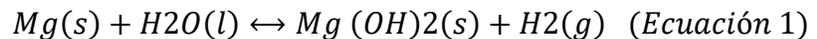
- Aleaciones de Mg puro con trazas de otros elementos.

- Aleaciones de Mg-Al.
- Aleaciones de Mg libres de Al.

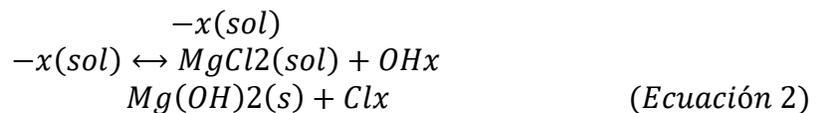
Si bien se conoce que el aluminio tiene efecto neurotóxico en el cuerpo humano y que su acumulación en el tejido cerebral está ligada a desordenes como el mal de Alzheimer, la demencia y la demencia senil [56], aleaciones de Mg-Al como la AZ31, AZ61 y AZ91, junto con otras aleaciones como AE21, LAE442, WE43, ZX21, son utilizadas en aplicaciones como la traumatología, la cirugía cardiovascular y maxilofacial, o en odontología.

1.16.5 Corrosión del magnesio y sus aleaciones.

Cuando el magnesio se encuentra en contacto con humedad o un medio acuoso, la superficie del mismo reacciona (Ec. 1) con el agua dando lugar a una fina película protectora de hidróxido de magnesio.



Sin embargo, cuando la presencia de cloruros en el medio corrosivo está por encima de los 30 mmol/l [54], el hidróxido de magnesio se disuelve localmente para formar cloruro de magnesio, según (Ec. 2). Esto da lugar al fenómeno de corrosión por picado, que puede ser observado en aleaciones de magnesio in vivo, donde el contenido de cloruros del organismo está en el orden de 150 mmol/l y la velocidad de corrosión aumenta.



Tanto el magnesio como sus aleaciones contienen, ya sea en solución o precipitados, elementos que pueden actuar generando pares galvánicos y por lo tanto modificando la velocidad de corrosión. Estos elementos pueden dividirse en impurezas (Fe, Co, Cu, Ni) o elementos de aleación (Al, Ca, Zn, Zr, Nd, tierras raras). En general, el efecto de las impurezas mencionadas es altamente nocivo,

mientras el efecto de los elementos aleantes dependerán de que elemento se trate y de los rangos de composición en que se encuentren.

Las consecuencias de la alta velocidad de corrosión implican en primera medida un riesgo de pérdida prematura de integridad mecánica. Lo que se requiere es que el comienzo de la degradación del material, junto con el deterioro de su desempeño, se produzca al mismo tiempo que el tejido dañado recupera sus funciones (Figura 1.11 (c)). Por otro lado, los productos de la reacción de disolución del Mg (Ec. 1) generan burbujas de H_2 y una alcalinización local, siendo ambas perjudiciales para el organismo. El H_2 producido por el implante es causa de dolor, inflamación local y necrosis del tejido circundante, mientras que el aumento del pH perjudica a todos los procesos fisiológicos que dependan del mismo y por encima de 8 tiene un efecto tóxico [54]. Por las consecuencias anteriormente mencionadas es de especial importancia elevar la resistencia a la corrosión del magnesio, que puede lograrse ya sea alterando la composición química del mismo, modificando su microestructura (a través del procesado) o modificando la superficie del material.

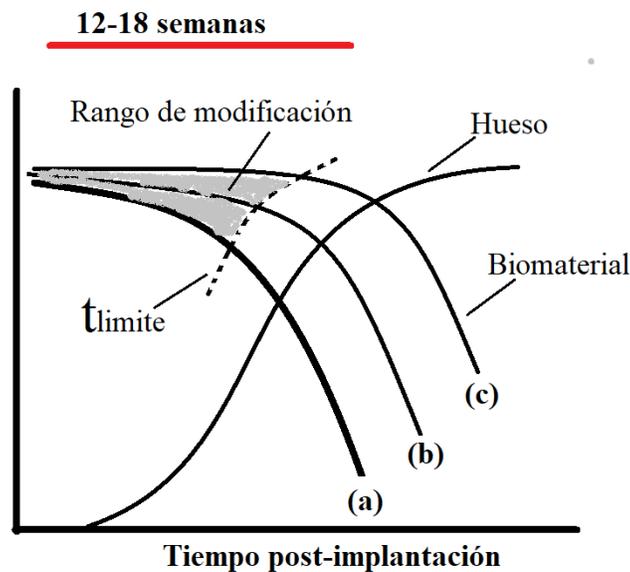


Figura 1.11. Estabilidad y tiempo de post-implantación. a) Mg puro en contacto con fluido humano. b) estabilidad mejorada pero insuficiente. c) estabilidad ideal.

1.16.6 Mecanismos para controlar la velocidad de corrosión

Fijada la composición de la aleación, la velocidad de corrosión puede controlarse a través de dos grandes vías. La primera involucra el control de la microestructura, el tamaño de grano, la presencia y distribución de precipitados, etc. La segunda, plantea la modificación de la superficie con recubrimientos, que pueden dividirse a grandes rasgos en recubrimientos de conversión y recubrimientos de deposición. Los recubrimientos de conversión consisten en películas protectoras preparadas utilizando métodos químicos (inmersión en baños para formar fosfato de calcio o fluoruros) o electroquímicos (pasivación, anodizado, etc.). Además, los recubrimientos por deposición pueden ser divididos en orgánicos, inorgánicos o metálicos. Por último, las superficies de Mg y sus aleaciones pueden ser modificadas por otras técnicas tales como implantación de iones, recubrimiento por fusión con láser o haz de electrones, modificación de la superficie con plasma, etc [54]. Las principales tecnologías utilizadas para producir piezas e implantes de magnesio y sus aleaciones incluyen la fundición, el trabajado mecánico y la metalurgia de polvos. Cada una de ellas da lugar a macro y microestructuras totalmente diferentes, por lo tanto, las propiedades mecánicas y de corrosión son variables. La técnica de fundición representa el principal método de fabricación, en parte por la posibilidad que ofrece de producir piezas de forma casi neta y con un costo razonable para bajas producciones [55]. De manera general, puede decirse que las piezas fundidas poseen el mayor grado de segregación de aleantes y un tamaño de grano relativamente grande en comparación con los producidos por metalurgia de polvos. Se ha mencionado anteriormente que la segregación en aleaciones de magnesio da lugar a la formación de pares galvánicos y por lo tanto acelera la velocidad de corrosión de la pieza, teniendo efectos claramente adversos en lo que respecta a materiales para uso biomédico. Por otro lado, es conocido que los bordes de grano, al ser regiones de mayor energía actúan en general como sitios anódicos frente al interior de los mismos. No obstante, menores tamaños de cristal traen aparejado un menor grado de segregación de aleantes. La combinación de

estos efectos en las aleaciones de magnesio da como resultado que la velocidad de corrosión disminuya con la disminución del tamaño de grano [55]. En este sentido, los mecanismos de deformación plástica que sufren las aleaciones trabajadas posibilitan la reducción del tamaño de los cristales y homogeneización de la microestructura, siendo la extrusión uno de los principales métodos de trabajado mecánico. La vía pulvimetalúrgica, en cambio, al partir de pequeñas partículas de magnesio, cuya superficie se encuentra naturalmente oxidada, da lugar a estructuras con una gran cantidad de inclusiones de óxido de magnesio y poros (Figura 1.12) [56]. Estos defectos son sitios en los que potencialmente pueden darse fenómenos de corrosión localizada.

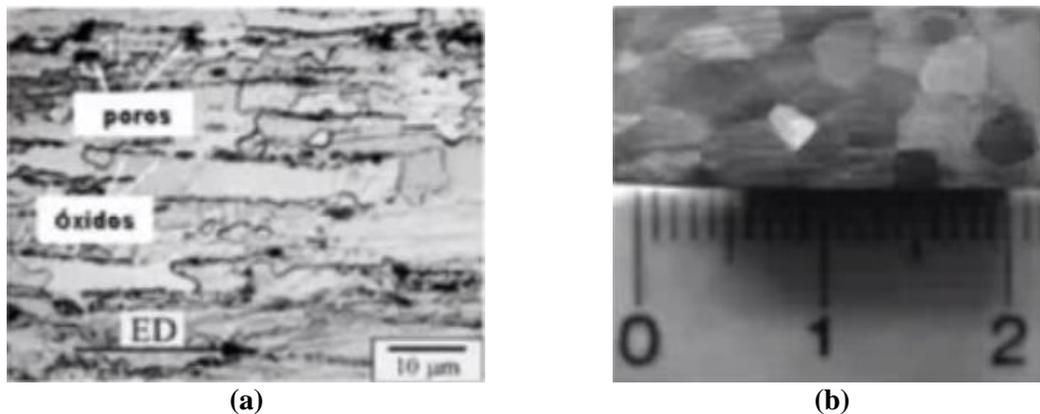


Figura 1.12. Comparación entre estructuras obtenidas por (a) metalurgia de polvos y (b) por fundición.

1.17 El Zinc.

El zinc es un componente natural de nuestra corteza terrestre y es parte inherente de nuestro medio ambiente. Está presente, no sólo en las rocas y suelos sino también en el aire, el agua, las plantas, animales y seres humanos [57]. El zinc posee una estructura hexagonal compacta (Figura 1.13) y desempeña un papel esencial en los procesos biológicos de todos los organismos vivos; por este motivo se denomina al zinc un elemento esencial. El zinc es vital para el correcto funcionamiento del sistema inmunológico, para la digestión, reproducción, los

sentidos del gusto y del olfato y otros muchos procesos naturales [57]. El zinc se emplea en varias formas médicas y farmacéuticas, como por ejemplo en vendajes, tabletas antigripales, tratamientos para la piel, bloqueadores solares en crema y loción, tratamientos para quemaduras y heridas, champús y cosméticos [57]. Cada año se utilizan casi diez millones de toneladas de zinc primario y reciclado. Actualmente el zinc es uno de los materiales más importantes de la sociedad.

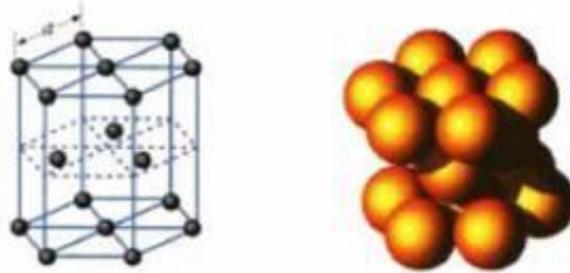


Figura 1.13. Estructura cristalina del Zn.

1.17.1 Características

El zinc se caracteriza por ser un elemento ampliamente distribuido en la naturaleza, pero no es abundante, ya que representa sólo el 0,012% de la corteza terrestre [58,59]. En los suelos su concentración media es de 50 mg/kg³. Actualmente la mayor parte del zinc producido se emplea en la galvanización del hierro y acero, así como en la manufacturación del latón [60]. Los objetos galvanizados (alambres, clavos, láminas, etc.) se emplean en la industria del automóvil, la construcción, equipamientos de oficinas y utensilios de cocina, etc. También se utilizan grandes cantidades de zinc en la obtención de aleaciones, y en polvo se utiliza como agente reductor. Es uno de los elementos esenciales más abundantes en el cuerpo humano y al ser un ión intracelular se encuentra en su mayoría en el citosol. Su cantidad en el individuo adulto oscila entre 1 y 2,5 g [61]. Tanto el Zn, como el Cu y el Se intervienen en procesos bioquímicos necesarios para el desarrollo de la vida. Entre estos cabe destacar la respiración celular, la utilización de oxígeno por parte de la célula, la reproducción tanto de ADN como de ARN, el mantenimiento de la integridad de la membrana celular y la eliminación de radicales libres [62]. Actúa

como cofactor y como integrante de al menos 200 enzimas, como aldolasas, deshidrogenasas, esterasas, peptidasas, fosfatasa alcalina, anhidrasa carbónica, superóxido-dismutasa y ADN y ARN polimerasas, implicadas en el metabolismo energético y de los hidratos de carbono, en las reacciones de biosíntesis y degradación de proteínas, en procesos biosintéticos de ácidos nucleicos y en el transporte de CO₂, etc. En la Tabla 7 se agrupan las funciones fisiológicas del zinc [63-80].

Tabla 7. Funciones fisiológicas del zinc.

Función cerebral.
Respuesta frente al stress.
Crecimiento e integridad celular.
Mantiene la homeostasis de los tejidos epiteliales.
Citoprotector: propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.
Metabolismo del hueso pues es constituyente de la matriz, es un activador de varias metaloenzimas e incrementan los parámetros de la formación del hueso
Fertilidad y reproducción: importante para el desarrollo y crecimiento fetal.
Mantenimiento de la función ocular normal.
Visión nocturna.
Agente inmunorregulador y regulador en diferentes mediadores de la inmunidad como enzimas y citoquinas, lo que explica la importancia del zinc en las regulaciones de la activación, proliferación y apoptosis de las células linfoides.
Función cardiovascular y promoción de fuerza en personas sanas y atletas. Suplementación del zinc tiene efectos positivos en los parámetros hematológicos de atletas.
Determinados elementos traza, como es el caso del zinc, intervienen en la regulación de la presión sanguínea, actuando por lo tanto en ciertos tipos de hipertensión arterial.
Sentido del gusto y del apetito, debido a ellos, una terapia con zinc aumentando la recuperación de pacientes que sufren anorexia nerviosa por un incremento en la ganancia de peso y mejora la ansiedad y depresión de los estos pacientes.

1.17.2 Fuentes dietéticas de zinc.

El zinc está extensamente distribuido en alimentos y bebidas, pero tal como ocurre con otros elementos, los contenidos son tremendamente variables y en general bajos. Son los productos de origen marino, principalmente los mariscos (ostras y crustáceos), los alimentos más ricos en Zn, seguidos de las carnes rojas, derivados lácteos y huevos, y los cereales integrales. Los vegetales, con excepción de las leguminosas, no son alimentos que presenten contenidos en zinc altos.

1.18 Calcio.

El calcio es un elemento químico de aspecto blanco plateado con número atómico 20. Su símbolo es Ca, cuenta con una estructura cubica centrada en las caras (CCC) (Figura 1.14) y pertenece al grupo de los metales alcalinotérreos y su estado habitual en la naturaleza es sólido. El calcio es necesario para el desarrollo y el mantenimiento del esqueleto y de las funciones neuromuscular y cardíaca; la evidencia científica señala una fuerte asociación entre baja ingesta y disminución de la densidad mineral ósea, por lo tanto, la ingesta adecuada de este mineral puede tener impacto en la reducción de las fracturas originadas por osteoporosis.

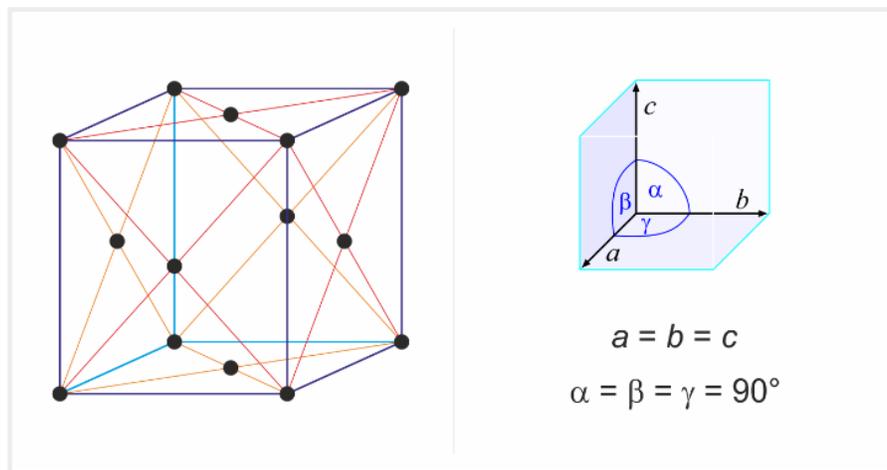


Figura 1.14. Estructura cristalina del Ca.

1.18.1 Propiedades del calcio

Los metales alcalinotérreos, entre los que se encuentra el calcio, tienen propiedades entre las que está el ser blandos, coloreados y tener una baja densidad. Los elementos como el calcio tienen una baja energía de ionización. Todos los metales alcalinotérreos forman compuestos iónicos a excepción del berilio. El estado del calcio en su forma natural es sólido (paramagnético). El calcio es un mineral que nuestro organismo necesita para su correcto funcionamiento y se puede encontrar en los alimentos. Se estima que un incremento de masa ósea del 10% podría reducir el riesgo de las fracturas en un 50% [81].

1.18.2 Usos del calcio.

- El calcio se utiliza como un agente reductor con el fin de extraer metales como el uranio, zirconio y torio.
- El queso se hace mediante el uso de iones de calcio que realizan la coagulación de la leche.
- El cemento y el mortero, mezclas importantes en la construcción de edificios y otras cosas, se hacen con calcio.
- El hidróxido de calcio se utiliza para determinar si el dióxido de carbono está presente. Se utiliza comúnmente en los laboratorios de ciencias.
- Los insecticidas (productos químicos que matan a las plagas) se realizan con arseniato de calcio.

1.18.3 Fisiología

El calcio es el mineral más abundante del cuerpo, constituye entre el 1.5 – 2% del peso corporal y representa el 39% del total de los minerales corporales. Aproximadamente 99% está en los huesos y en los dientes, el 1% restante en la sangre, en los líquidos extracelulares y en el espacio intracelular [82]. Adultos absorben aproximadamente el 30% del calcio ingerido [83]. Algunos componentes de la dieta como los fitatos (pan integral, cereales y semillas), los oxalatos (espinaca, ruibarbo, nueces), los taninos (té), la fibra (celulosa, hemicelulosa, lignina) y las pectinas de bajo metoxilo, reducen la absorción]; las proteínas de origen animal, principalmente carnes con alto contenido de aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), el sodio y el té incrementan las pérdidas urinarias [84]. Otros factores de la dieta como los oligosacáridos, la fibra dietética y los péptidos de fosfovítina también afectan la absorción [85]. De otra parte, compuestos como la vitamina D, la lactosa, los fosfopéptidos y la proteína láctea incrementan la absorción [86].

1.18.4 Fuentes de calcio.

Las principales fuentes de calcio son la leche y los productos lácteos como el yogurt y el queso; la leche además de aportar calcio es una buena fuente de proteína, vitamina D (si es fortificada), potasio, magnesio, fósforo, riboflavina, tiamina y zinc; algunos alimentos vegetales como la espinaca, el brócoli, las semillas y las nueces, contienen pequeñas cantidades de calcio pero su biodisponibilidad disminuye por el contenido de fitatos y oxalatos; otras fuentes son los cereales fortificados.

1.19 Diagramas de fase Mg-Zn y Mg-Zn-Ca.

En este apartado se presenta el diagrama de fases del sistema binario y ternario de Mg-Zn y Mg-Zn-Ca (Figura 1.15) en el cual se muestran las regiones donde existen las posibles fases que se pueden formar durante el proceso de molienda mecánica. Como se puede observar en la Figura 15.a, los porcentajes aproximados de 25% y 30% en peso de Zn se encuentra la fase Mg_7Zn_3 en la cual la región de liquidus empieza a estar presente a una temperatura de 340 °C. También se puede encontrar la fase intermetálica MgZn que está presente aproximadamente hasta los 325°C, la fase MgZn es probable que se forme durante el proceso de aleado mecánico debido a la poca energía suministrada durante el proceso de molienda. En la Figura 1.15. b se observa que no es posible formar ningún tipo de fase de Mg, Zn y Ca esto es debido a la poca cantidad suministrada de Ca y a la poca energía que se puede liberar durante la molienda mecánica.

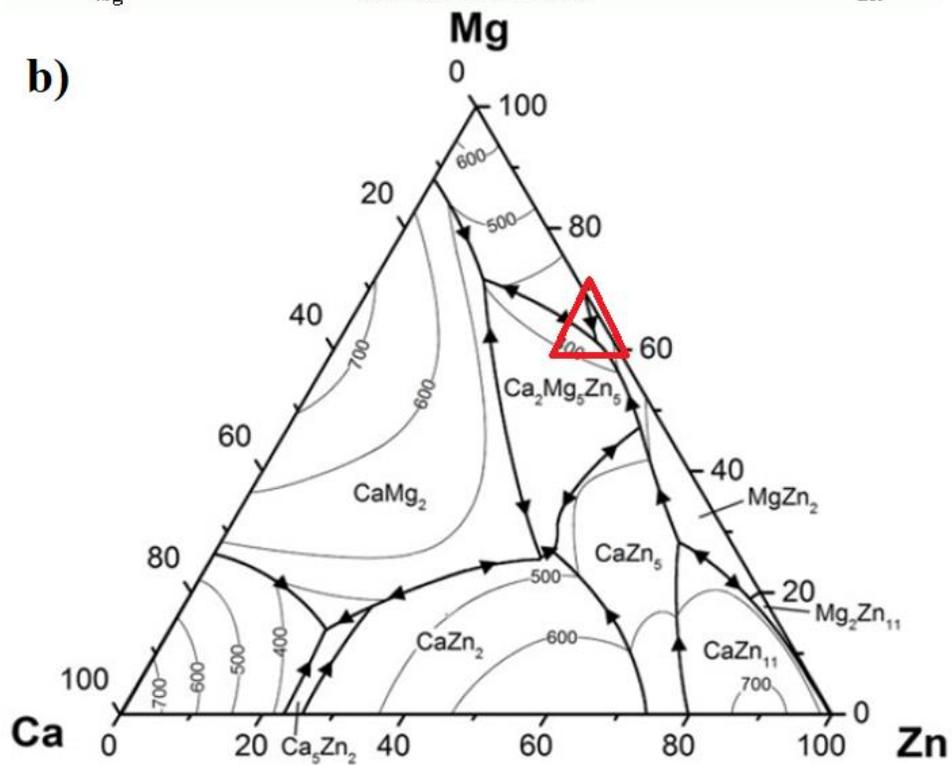
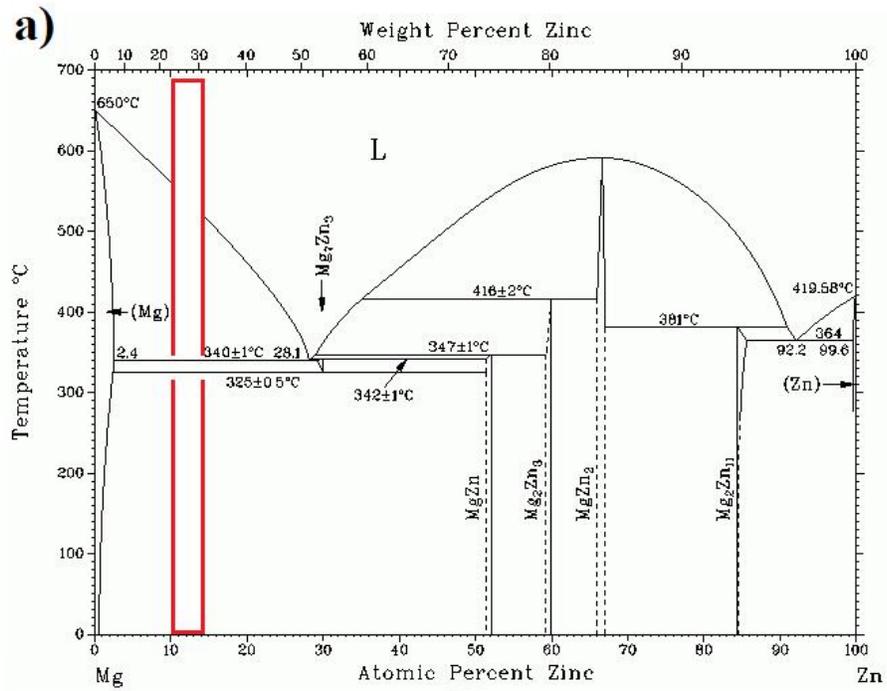


Figura 1.15. Diagrama de fases a) Mg-Zn y b) Mg-Zn-Ca. [87,88]

Capítulo 2

2 Proceso experimental

En este capítulo se describe los materiales, equipo y procedimiento experimental empleado en la síntesis de las aleaciones de matriz base Mg reforzado con partículas de Zn y Ca, también se menciona y describen las diferentes técnicas de caracterización microestructural además de las pruebas de toxicidad realizadas a las aleaciones sintetizadas.

2.1. Materiales empleados

Los elementos empleados para elaborar las aleaciones consistieron en: magnesio de pureza comercial (99.7%) con tamaño promedio de partícula de 30 μm , Zn (99.87%) con tamaño promedio de 8 μm y Ca (99.98%) con tamaño promedio de 20 μm (todos los elementos utilizados fueron en polvo).

De manera general, todos los reactivos empleados fueron:

- Partículas de polvo de (Mg).
- Partículas de polvo de (Zn).
- Partículas de polvo de (Ca).
- Gas argón (Ar).
- Ácido estérico ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$).

Previo al proceso de molienda mecánica a la mezcla de polvos se les adicionó desaglomerante (ácido estérico) con el fin de evitar la aglomeración de polvos a medida que el tiempo transcurriera durante el proceso de la molienda mecánica.

Así mismo, los polvos se encapsularon en los viales de molienda bajo una atmósfera de argón empleándose una cámara de vacío antes del proceso de MM.

2.2 Preparación de los materiales previo al proceso de aleación mecánica.

A continuación, se describe los porcentajes en peso de las distintas cantidades de los materiales utilizados de Mg, Zn y Ca para la síntesis de cada aleación con una cantidad de 5 g (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Composición de las aleaciones

Aleación	% Peso Mg	% Peso Zn	% Peso Ca
Mg65%Zn30%Ca5%	3.25 g	1.5 g	0.25 g
Mg70%Zn25%Ca5%	3.5 g	1.25 g	0.25 g

2.3 Equipo empleado en el procedimiento experimental

En este apartado se muestran los diversos equipos y dispositivos empleados en la parte del desarrollo experimental del presente trabajo. El molino empleado en el desarrollo experimental del presente proyecto, fue el molino planetario, el cuál es utilizado normalmente para realizar molienda mecánica de baja energía. La Figura 2.1 muestra el molino de bolas planetario marca Pulverisette 7, que es donde se sometieron a molienda los polvos contenidos en los viales. La Figura 2.2 y 2.3 muestran la cámara y bomba de vacío que es donde se encapsularon los viales junto con los balines utilizados (Figura 2.4), posteriormente los polvos a utilizar (Figura 2.6) se pesaron en una báscula de precisión (Figura 2.5) para ser colocados y encapsularlos en una atmosfera de argón para finalmente ser introducidos en el molino, una vez terminado el proceso de MM se consolidan los polvos obtenidos mediante compactación (Figura 2.7) y sinterizado.



Figura 2.1. Molino planetario.



Figura 2.3. Bomba de vacío.



Figura 2.2. Cámara de vacío.



Figura 2.4. Viales y balines.



Figura 2.5. Báscula de precisión.



Figura 2.6. a), b) y c) . Viruta de Mg, polvos partículas de zinc y calcio.



Figura 2.7. Molde, dado y punzón para compactación.

2.4 Procedimiento empleado para el encapsulado de los polvos.

(a) Limpieza de los equipos de molienda.

Previo al proceso de molienda mecánica, primero se limpiaron los viales y balines, los cuales se encuentran en contacto con las partículas de los polvos, esto se llevó a cabo primero mediante la molienda de los viales y balines con alcohol metílico, finalmente con una limpieza también con alcohol para evitar que se haya contaminación en el vial.

(b) Pesado de los polvos

El pesado de los polvos se realizó en una báscula electrónica de alta precisión debido a la poca cantidad de material a emplear, se cuidó que la báscula estuviera limpia y tarada mientras se vertieron los polvos en unos contenedores de papel aluminio que al obtener la cantidad deseada se vaciaron en un contenedor de plástico y se procederá a limpiar el material, la báscula y el contenedor de papel aluminio para pesar el resto del polvo necesario para las muestras de la aleación.

(c) Realización del encapsulado de los polvos metálicos bajo una atmósfera de argón.

Posteriormente se cerró la cámara de vacío con los aditamentos de molienda en su interior y se procedió a extraer el aire del interior de la cámara con una bomba de vacío. Una vez realizado el vacío en la cámara se procedió a suministrar una atmosfera de argón al interior de la cámara para proceder a inyectar el agente desaglomerante a la mezcla de polvos junto con los balines alojados en el interior

del vial y así poder cerrar el vial con su tapa. Una vez cerrado el vial con la mezcla precursora de polvos elementales, se procedió a sacarlos en su conjunto de la cámara de vacío para pasar a la siguiente etapa de MM.

(d) Inicio del proceso de molienda mecánica.

Una vez que se encapsularon los polvos bajo atmósfera de argón en los viales se procedió a abrir la cámara y a llevar el vial al molino, sujetando para este propósito los viales con los brazos de sujeción, finalmente se encendió el molino a una velocidad programada de 400 rpm para someter a molienda mecánica a una serie de muestras. Finalmente, las muestras después de la molienda deben de abrirse en la cámara de vacío debido a que el tamaño muy fino de partícula reacciona químicamente y de manera rápida con el oxígeno generando combustión instantánea debido a la oxidación.

2.5 Descripción del procedimiento experimental.

En la Figura 2.8 se ilustra un diagrama de bloques del procedimiento. Experimental seguido para sintetizar y procesar las aleaciones propuestas en el presente trabajo.

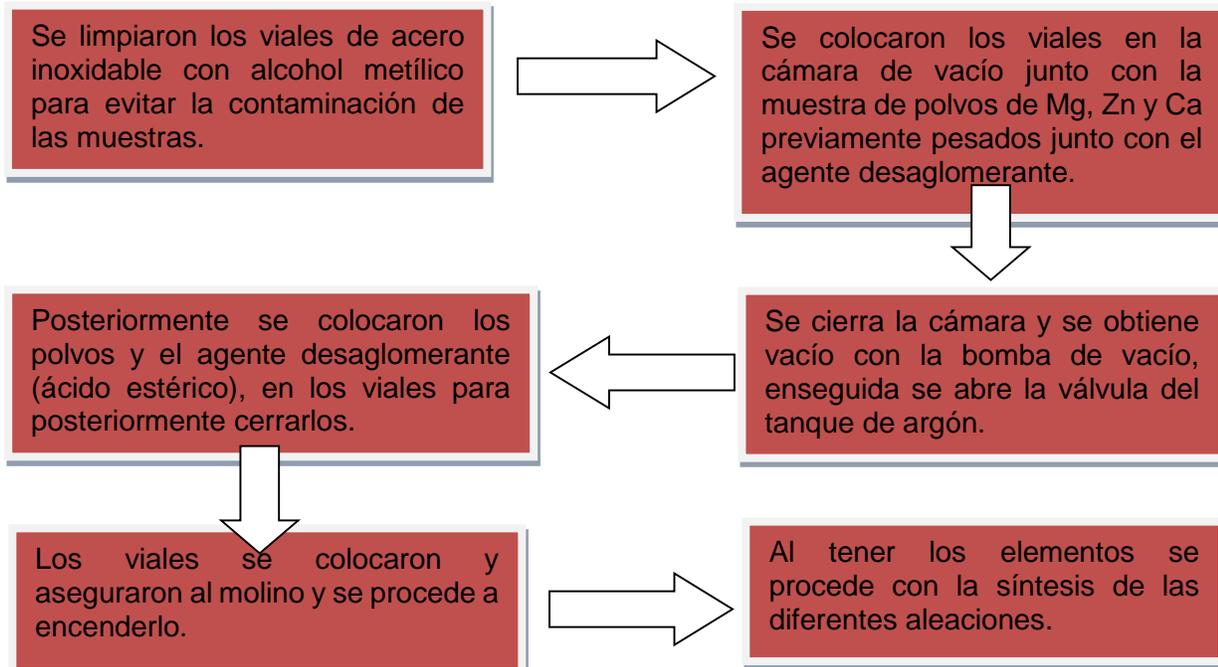


Figura 2.8. Descripción del proceso de MM.

2.6 Variables del proceso de molienda mecánica.

Durante el proceso de molienda mecánica, el parámetro constante que se utilizó fueron:

- La velocidad de molienda.
- 400 rpm.

Variables respecto a la composición de las muestras: Mg65%Zn30% Ca5% y Mg70% Zn25%Ca5% de cada elemento utilizado.

Tiempo de Molienda: 2, 5, 10, 15 y 20 h.

2.7 Caracterización microestructural.

A continuación, se hace una descripción de manera general y breve de cada una de las técnicas que se emplearon para la caracterización estructural, microestructural de los compuestos producidos y procesados en el presente trabajo.

2.7.1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

Se aplicó ésta técnica a las muestras con la finalidad de observar morfología y tamaño de partículas; así mismo, para realizar análisis químico cualitativo y cuantitativo de los elementos presentes en los materiales compuestos, además de realizar mapeos de composición química.



Figura 2.9. Microscopio electrónico de barrido marca estereoscan 440.

Se obtuvieron imágenes de las muestras a distintos aumentos empleando electrones secundarios y/o electrones retrodispersados.

La técnica de electrones secundarios se empleó fundamentalmente para caracterizar la morfología y el tamaño de partículas de la mezcla de polvos de Mg, Zn y Ca a distintas magnificaciones y en las muestras que habían sido sometidos a distintos tiempos de molienda. La técnica de electrones retrodispersados se utilizó con el propósito de revelar las diferentes fases presentes en la mezcla por la diferencia de contraste que brindan los electrones retrodispersados de la muestra y que son sensibles al número atómico de los elementos que constituyen las muestras. La caracterización se efectuó en un Microscopio Electrónico de Barrido (Figura 2.9) marca estereoscan 440 conectado a un detector Oxford Pentafel de silicio con ventana de berilio (Be) y resolución de 163 eV acoplado a un software de espectroscopia de dispersión de energía (EDS), para realizar microanálisis químico. La técnica de EDS (Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X) acoplada al MEB, se aplicó con el propósito de realizar análisis químico puntual en cada una de las partículas, para después realizar un análisis estadístico de la composición química de ambas fases. Los mapeos químicos por rayos X, se efectuaron en las muestras con la finalidad de determinar el grado de homogeneidad química de los elementos contenidos en los especímenes en función del tiempo de procesamiento, así como también caracterizar la distribución de la fase de refuerzo más dura en la matriz metálica.

2.7.2 Técnica de Difracción de Rayos X.

Con el propósito de analizar mediante Difracción de Rayos X (DRX) las muestras sin moler y las muestras sujetas a distintos tiempos de procesamiento, se colocaron los polvos sobre un porta muestras de vidrio para posteriormente realizar el barrido con la radiación del Cu-K α . Se empleó esta técnica de análisis con el propósito de caracterizar la evolución estructural a medida que avanza el tiempo de molienda

para las diferentes composiciones sintetizadas. Mediante el análisis por DRX se determinó la evolución de las fases presentes y tamaño de cristalito en los diferentes tiempos de molienda empleados para las composiciones. De la misma manera se utilizó esta técnica con el propósito de determinar si durante la molienda mecánica pudo haber tenido lugar la posible precipitación de segundas fases. Para realizar dicho análisis se utilizó un Difractómetro Bruker D2 Phaser con 30 kv y 20 mA, Figura 2.10 los especímenes fueron barridos con un filtro de radiación Cu-K α con una longitud de onda $\lambda=1.5418 \text{ \AA}$., en un rango de 20 a 80 θ .

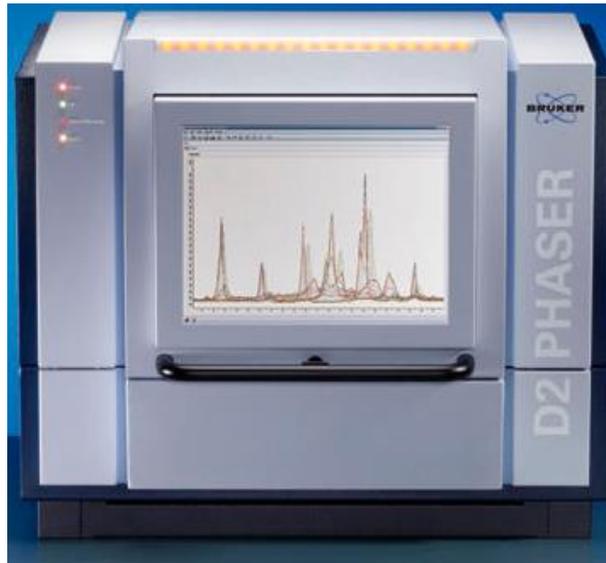


Figura 2.10. Difractómetro de Rayos X marca Bruker D2 Phaser con 30kv y 20 mA.

El tamaño de cristalito se determinó a partir de los anchos de pico a la mitad de sus alturas mediante la fórmula de Scherr's.

2.8 Proceso de compactación.

El proceso de compactación se llevó a cabo en una prensa hidráulica marca FIICSA (Figura 2.11) la presión utilizada fue de 500 Mpa, los moldes utilizados fueron de acero endurecido con un diámetro de $\frac{1}{2}$ pulgada, el punzón estuvo elaborado de acero inoxidable con un diámetro de $\frac{1}{2}$ pulgada.



Figura 2.11. Prensa Hidráulica, Marca FIICSA.

2.9 Proceso de sinterización.

La sinterización consiste en un tratamiento sólido de un polvo previamente compactado a una temperatura inferior a la fusión del constituyente principal en la cual sus partículas se unen por fenómenos de soldadura en estado sólido. Como resultado del procesado por aleado mecánico se obtienen polvos metálicos compuestos. En el trabajo se desarrolló un procesado de consolidación (Figura 2.12), que utiliza un solo ciclo de prensado y sinterización. El propósito es investigar la respuesta mecánica de compactos sinterizados de $Mg65\%Zn30\%Ca5\%$ y $Mg70\%Zn25\%Ca5\%$.

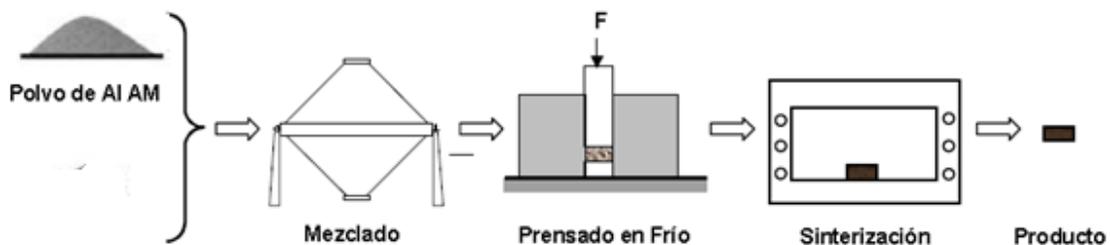


Figura 2.12. Proceso del sinterizado.

Proceso:

El proceso de sinterización se divide en una serie de etapas las cuales son:

a) La Mezcla

En la etapa del mezclado se debe alcanzar una mezcla homogénea de las aleaciones. Los polvos fueron mezclados durante 20 h a una velocidad de 400 rpm sus composiciones fueron las siguientes: Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5%.

b) El compactado:

La mezcla se introdujo en un molde de acero y se presionó para obtener la forma del molde. La presión a la cual se sometió es de 500 MPa. La mezcla debe ser presionada lo suficiente para que soporte la fuerza de la eyección del molde y que pueda ser movida antes del sinterizado. El compactado es una etapa muy importante ya que la forma y las propiedades mecánicas finales de la pieza están fuertemente relacionadas con la densidad al presionar. La microestructura de los compactos depende principalmente de la elaboración de su proceso, así como el polvo molido compactado en estado verde. Además, que en la matriz existen poros o intersticios ínter-partículas, que resultan del acomodo de las mismas partículas por la presión [89].

c) Sinterización

La etapa de la sinterización es clave para el proceso de la metalurgia de polvos. Es aquí en donde la pieza adquiere la resistencia y fuerza para realizar su función. Para describir este proceso ocurre una difusión atómica y las partes unidas durante el proceso de compactación se fortalecen y crecen hasta formar una pieza uniforme. Esto puede inducir a un proceso de recristalización y un incremento en el tamaño de los granos. Esta operación, casi siempre, se lleva a cabo dentro de un ambiente de atmósfera controlada y a temperaturas entre el 60 y 90% de la temperatura de fusión del mayor constituyente. El horno eléctrico se usa en la mayoría de los casos, las atmósferas controladas son una parte esencial en casi cualquier proceso de

sinterización ya que previenen la oxidación y otras reacciones que se realizan durante el proceso. Algunas de las atmósferas más usadas son las compuestas con hidrógeno seco o con hidrocarburos sometidos parcialmente a la combustión en este caso se llevó acabo en un molde con argón y se colocó las muestras en verde dentro del molde para poder ser introducidos al horno a una temperatura inicial de 200 °C por 30 minutos para posteriormente incremento a 300°C por una hora para finalmente incrementarse a 400 °C y mantenerla por 4 h obteniéndose una pastilla sólida y rígida. La sinterización se realizó en una mufla marca Thermo modelo F47915 (Figura 2.13), que puede alcanzar los 1100 grados centígrados.



Figura 2.13. Mufla Marca Thermo modelo F47915.

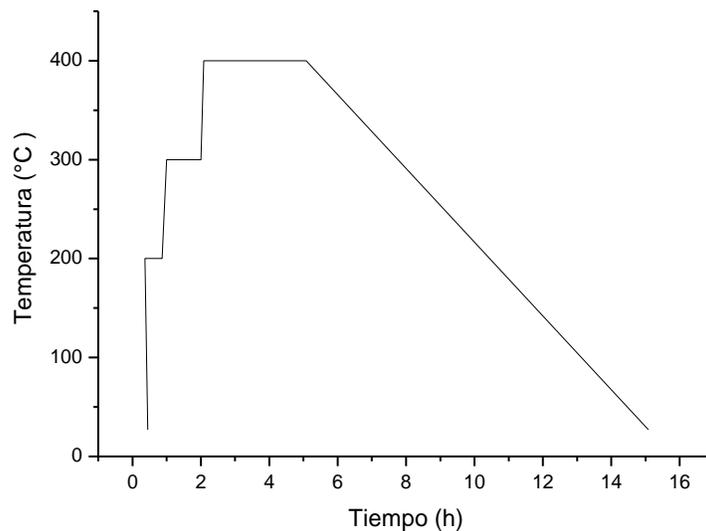


Figura 2.14. Diagrama de temperatura de las muestras sinterizadas.

En la Figura 2.14 se puede observar el aumento de la temperatura conforme transcurre el tiempo el aumento se observa que es rápido y en cambio la disminución es lenta.

2.10 Propiedades mecánicas medición de microdureza Vickers.

El equipo usado para esta prueba fue un microdurómetro marca Matzuzawa modelo MHT2 (Figura 2.15) con un tiempo de 25 segundos en cada indentación y una carga aplicada de 200 g a cada muestra se le realizó 5 indentaciones.



Figura 2.15. Micro Indentador Matzuzawa modelo MHT2.

La molienda mecánica permite obtener aleaciones con microestructuras muy finas [89], los procesos basados en técnicas de metalurgia de polvos, son muy adecuados para la fabricación de aleaciones por las bajas temperaturas a las que se trabaja, siempre en estado sólido. Estas técnicas permiten el empleo de cualquier tipo de refuerzo (incluso en altos porcentajes) y matriz, al evitarse o minimizarse la reacción entre ambos. La optimización de la calidad de la molienda mecánica implica la necesidad de disponer de técnicas de caracterización metalográfica que permitan determinar las principales características microestructurales: fases, bordes de grano, precipitados, etc. Los métodos metalográficos establecen instrucciones

precisas sobre la preparación de las muestras. Además, muchos métodos que son efectivos a la hora de determinar ciertas fases en aleaciones comerciales, sin embargo, no sirven o producen resultados diferentes al introducir modificaciones en ellas 90].

La observación metalográfica de las muestras compactadas ha requerido una cuidadosa preparación previa, que se ha iniciado con la compactación de los polvos previamente obtenidos. Como el material se ha sometido a 400 °C durante la sinterización, la temperatura no afecta su estructura. La preparación metalográfica consta de un desbaste muy leve, en húmedo, sobre diferentes lijas de carburo de silicio (400, 600, 1000 y 2000), y un pulido a espejo en un paño con alúmina. La microdureza es la propiedad de la capa superficial de un material de resistir la deformación elástica, plástica y destrucción, en presencia de esfuerzos de contacto locales inferidos por otro cuerpo más duro, el cual no sufre deformaciones residuales (identador o penetrador). Durante las mediciones estandarizadas de dureza Vickers se hace penetrar un identador de diamante en forma de pirámide de cuatro caras con un ángulo determinado en el vértice. La utilización de una pirámide de diamante tiene las siguientes ventajas:

- 1) Las improntas resultan bien perfiladas y cómodas para la medición.
- 2) La forma de las improntas es geoméricamente semejante a la Figura 2.16, por lo cual la dureza para un mismo material es constante, independientemente de la magnitud de la carga.
- 3) Este método es aplicable con igual éxito para los materiales blandos y duros, sobre todo para los ensayos de probetas delgadas y capas superficiales.

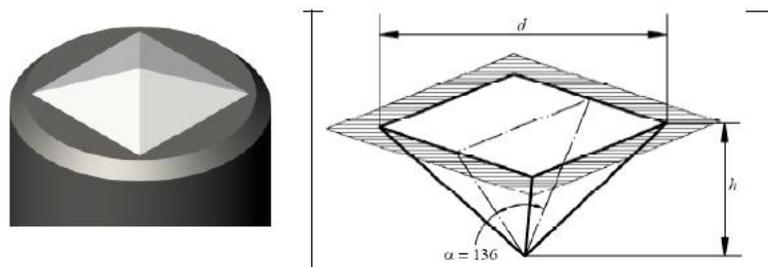


Figura 2.16. Identador piramidal e Impronta piramodal Vickers.

El estándar ASTM E 92-82 define la dureza Vickers como un método de ensayo por indentación por el cual, con el uso de una máquina calibrada, se fuerza un indentador piramidal de base cuadrada que tiene un ángulo entre caras específico, bajo una carga predeterminada, contra la superficie del material a ser ensayado y se mide la diagonal resultante de la impresión luego de remover la carga (Figura 2.17).

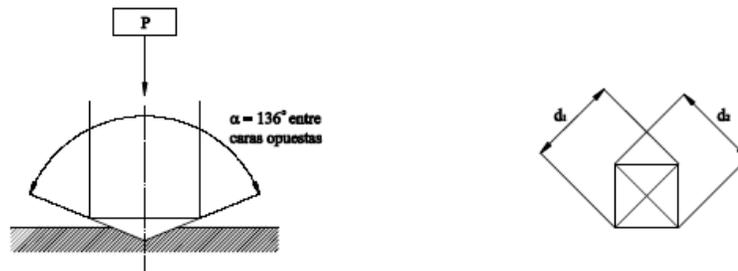


Figura 2.17. Ensayo vickers.

La magnitud de la dureza Vickers (H_v) es también un esfuerzo medido en la zona de contacto del indentador en la muestra y suele caracterizar la resistencia del material a la deformación plástica considerable, con base en esto:

$$H_v = \frac{p}{A} \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

$$H_v = \frac{2p \operatorname{sen} \alpha / 2}{d^2} \quad (\text{Ecuación 2.2})$$

Donde d es la media aritmética de las diagonales d_1 y d_2 .

$$d = \frac{d_1 + d_2}{2} \quad (\text{Ecuación 2.3})$$

Debido a que el valor del ángulo es constante e igual a 136° , en la práctica se usa la siguiente fórmula:

$$H_v = 1.8544 \frac{p}{d^2} \quad (\text{Ecuación 2.4})$$

El método estándar se realiza bajo las siguientes condiciones:

Indentador pirámide de diamante 136° .

Carga (P) = 200 g.

Duración de la carga (t) = 25 s

El número de dureza Vickers se denota como Hv.

Se ensayarán las siguientes probetas:

- 1) Muestra sinterizada de Mg.
- 2) Muestra sinterizada de Mg65%Zn30%Ca5%.
- 3) Muestra sinterizada de Mg70%Zn25%Ca5%.

Realización del ensayo:

1. Se selecciona en el equipo una carga de 0.2 kgf.
2. Se realizarán 5 indentaciones por probeta, teniendo en cuenta que la separación del borde de la probeta y de una huella al borde de la otra debe ser mayor a 3 veces la diagonal de la huella.

2.11. Medidas electroquímicas

2.11.1 Corrosión.

La corrosión, es la reacción química o electroquímica entre un material (usualmente un metal) y el ambiente que produce un deterioro de las propiedades del material [91]. La corrosión electroquímica, es la forma más común de ataque de los metales, ocurre cuando los átomos del metal pierden electrones y se convierten en iones. La corrosión electroquímica ocurre con mayor frecuencia en un medio acuoso, donde estén presentes iones en el agua o en el aire húmedo. En este proceso se crea un circuito eléctrico y el sistema se conoce como celda electroquímica.

Una celda electroquímica consta de:

- Un ánodo, que cede los electrones al circuito y se corroe.
- Un cátodo, que recibe los electrones del circuito mediante una reacción química o catódica.
- Una conexión entre el ánodo y el cátodo, por lo general por contacto físico, para permitir el flujo de electrones del ánodo al cátodo y que la reacción continúe.
- Un electrolito líquido que debe estar en contacto tanto con el ánodo como con el cátodo, el electrolito es conductor y por tanto cierra el circuito. Así este electrolito,

proporciona el medio para que los iones metálicos salgan de la superficie del ánodo y a la vez asegura que éstos se muevan hacia el cátodo para aceptar electrones.

2.11.2. Reacciones de corrosión electroquímica

Las reacciones de oxidación de los metales, son referidas como reacciones anódicas o de oxidación (pérdida de electrones del elemento) y las áreas sobre las superficies metálicas donde ocurren estas reacciones son referidas como ánodos. La reducción (ganancia de electrones por iones positivos) de las especies electroquímicas activas del electrolito son referidas como reacciones catódicas y las áreas sobre las superficies metálicas donde ocurren estas reacciones son referidas como cátodos. Ambas reacciones anódicas y catódicas deben presentarse para iniciar y mantener la corrosión metálica.

2.11.3. Curvas de polarización potenciodinámica

La cantidad de información obtenida de las medidas de corrosión electroquímica, se incrementa, cuando el intervalo de potencial de polarización es más amplio. La técnica de polarización potenciodinámica, proporciona información acerca de la cinética de la corrosión y de la tendencia del electrodo de trabajo a pasivarse. Con esta técnica electroquímica, se obtiene información que no puede ser obtenida por la técnica de polarización lineal o por la técnica de extrapolación de Tafel. Además, esta técnica permite el estudio de la corrosión uniforme y de la corrosión localizada. El rango de potencial de esta técnica es amplio, iniciando en la zona catódica en -250 mV pasando por el E_{corr} y finalizando en la zona anódica en 1600 mV aproximadamente. Las curvas de polarización potenciodinámica (Figura 34), tienen una curva de polarización catódica y una curva de polarización anódica que se extiende sobre un ancho intervalo de potencial [92].

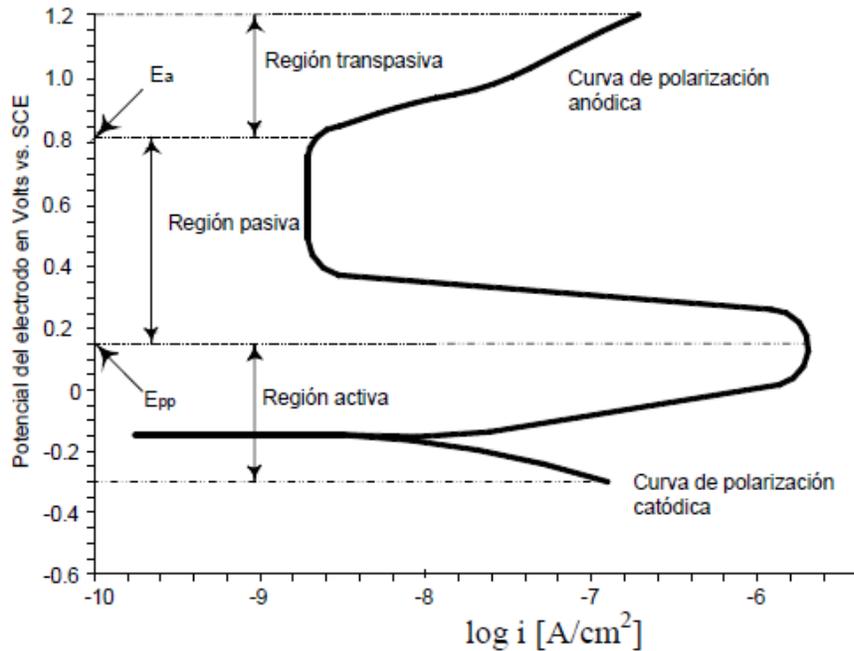


Figura 2.18. Curvas de polarización potenciodinámicas.

2.11.4. Comportamiento activo

Este comportamiento, es comúnmente observado cuando un metal produce cantidades visibles de corrosión después de una breve exposición en un electrolito. La corrosión visible, es típicamente una capa de óxido o hidróxido porosa, que se adhiere débilmente al metal y no proporciona buena protección contra la corrosión. La corrosión uniforme y la corrosión por picadura, generalmente ocurren juntas cuando un metal muestra un comportamiento activo.

2.11.5. Comportamiento pasivo

El comportamiento pasivo, ocurre cuando una delgada película protectora (pasiva) se forma sobre la superficie del metal. Cuando una película pasiva se forma sobre la superficie del metal, la corrosión no ocurre o la velocidad de corrosión es tan baja que no reduce significativamente la vida útil del metal.

Para la elaboración de este trabajo se utilizó un sistema típico de tres electrodos que consistía en barra de grafito como contraelectrodo, electrodo de platino como

electrodo de referencia y muestras de Mg, Mg65%Zn30Ca5% y Mg70%Zn25Ca5% de media pulgada de diámetro como electrodos de trabajo, las medidas electroquímicas se llevaron a cabo en un el potenciostato GillAC (Figura 2.19).

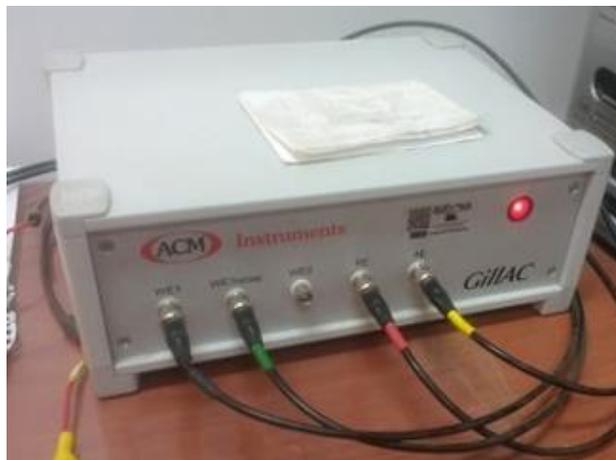


Figura 2.19. Potenciostato GillAC.

2.12. Pruebas de citotoxicidad.

La prueba de citotoxicidad se realizó por contacto indirecto. Los cultivos *in-vitro* se realizaron con líneas celulares de fibroblastos humanos primarios (**ATCC PCS-201-010**), esta línea celular fue cultivadas en DMEM suplementado con suero fetal bovino y antibióticos en una incubadora con 5% en volumen de CO². Los materiales sintetizados se pulieron con papeles de grano de SiC desde 400 # hasta 2000 #, se limpiaron ultrasónicamente con etanol durante 7 min y se esterilizaron con luz ultravioleta durante 30 min. Para la preparación del extracto se coloraron las muestras previamente esterilizadas en tubos falcón de 15 mL con 5 mL de medio de cultivo durante un tiempo de 24 h en una atmósfera con 5% de CO₂ a 37 ° C de acuerdo con el ISO 10,993-12 [93]. Una vez transcurrido el tiempo se transfirió el extracto a tubos de centrífugo falcón de 15 ml y posteriormente se almacenó a 4 ° C antes del ensayo de citotoxicidad. La concentración del extracto se diluyó al 100%, 75%, 50% y 25%, luego se colocaron en placas de cultivo celular de 96 pozos además se adicionaron pozos de control. La concentración de células sembradas

sobre las aleaciones base Mg, en los diferentes pozos fue de 1×10^4 células en 200 μL . La duración de los experimentos fue de 96 horas es el tiempo en el cual los fibroblastos alcanzan la confluencia necesaria. Luego se observó la morfología del crecimiento de las células por microscopía óptica y se probó la viabilidad de las células de fibroblastos por el método de sulforodamina *B* (SRB). Todos los ensayos fueron realizados por cuadruplicado.

Capítulo 3

3. Resultados y discusión.

En el presente capítulo se presentan los resultados de la caracterización microestructural de los materiales producidos y procesados mediante la técnica de molienda mecánica. La determinación de las características micro-estructurales de los materiales procesados se realizó mediante las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y de Difracción de Rayos X (DRX) existente en el CIICAP-UAEM. Además de las pruebas de citotoxicidad realizadas en la Facultad de Medicina-UAEM.

3.1. Caracterización microestructural mediante MEB.

3.1.1. Polvos iniciales de Mg, Zn y Ca.

En la Figura 3.1 se muestran micrografías de electrones secundarios en donde se presentan las partículas iniciales de Mg, Zn y Ca. Las micrografías electrónicas de barrido exhiben al magnesio con una morfología de partículas en forma de hojuelas, para el zinc las partículas tienen forma esférica y para el calcio se encuentran en forma irregular.

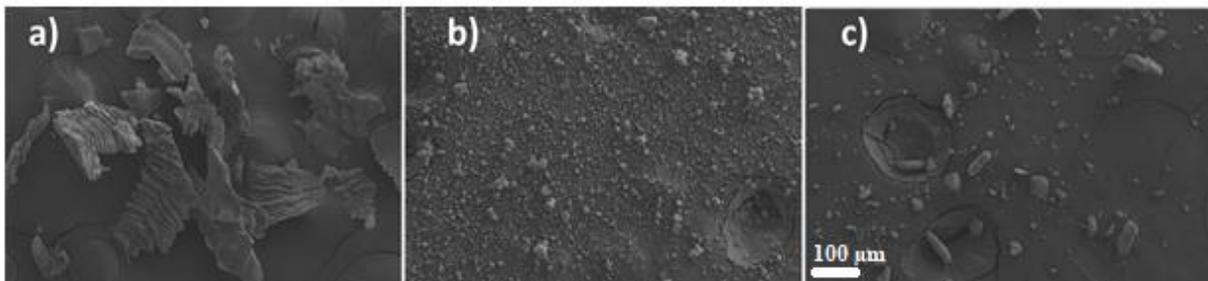


Figura 3.1. Partículas de a) Mg, b) Zn, c) Ca sin moler.

3.1.2 Mezcla de polvos de Mg65%Zn30%Ca5%, 2,5,10,15 y 20 h de molienda 400 rpm.

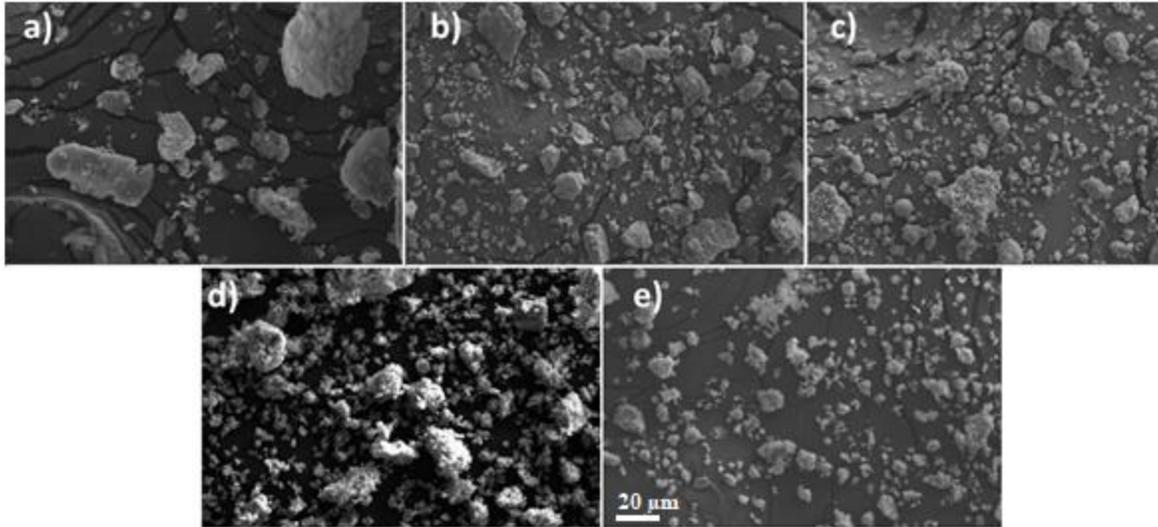


Figura 3.2. Evolución morfológica de las partículas en función del tiempo de molienda a) 2, b) 5, c) 10, d) 15, e) y 20 h, composición de Mg65%Zn30%Ca5%, a 400 rpm.

En las micrografías (Figura 3.2) se muestran la variación de la morfología y tamaño de partícula en función del tiempo de molienda. Las Micrografías electrónicas de barrido exhiben una morfología de partículas de forma irregular en función del tiempo de molienda además de una disminución en el tamaño de partícula. Las micrografías de la mezcla de polvos Mg65%Zn30%Ca5% después de 5 horas de molienda (Figura 3.2.b) se observa que ocurrieron dos tipos de mecanismos de deformación propios del aleado mecánico, la deformación dúctil, la cual forma partículas más planas y elongadas que es peculiar a la deformación que experimenta el Mg durante las primeras horas de molienda y la deformación frágil, la cual da lugar a la formación de partículas con morfología más angular e irregular, el modo de deformación dúctil ha sido reportado por H. Abdoli [94], en donde este mecanismo de deformación da lugar a la formación de partículas de mayor tamaño. Después de 10 horas de molienda (Figura 3.2.c), la mezcla de polvos de Mg65%Zn30%Ca5% se empezó a homogeneizar morfológicamente, pero se observa la presencia de conglomerados que se formaron en dos etapas, en la

primera, las partículas dúctiles de Mg, se deformaron para adoptar una morfología de hojuelas planas, después en una segunda etapa, estas hojuelas planas se soldaron entre sí para dar lugar a la formación de conglomerados. En la Figura 3.2.d se puede apreciar la disminución del tamaño de las partículas y la ausencia de partículas con morfología angular, lo cual indica que el modo de deformación dúctil esta dominando el proceso, sin embargo, la presencia de conglomerados grandes y pequeños, pueden ser un indicio de procesos de fractura originadas por el endurecimiento por trabajo, este comportamiento es similar al reportado por (H. Abdoli [94], quien produjo un material compuesto base Al mediante molienda mecánica. La mezcla de polvos sujeta a 20 h de molienda (Figura 3.2.e), se observa que el tamaño de partículas disminuyó en relación a las muestras molidas posteriormente, en cuanto a la morfología, esta se tornó irregular, indicando que predomina la ocurrencia de fracturas frágiles debido al endurecimiento por deformación que sufrieron las partículas de los polvos.

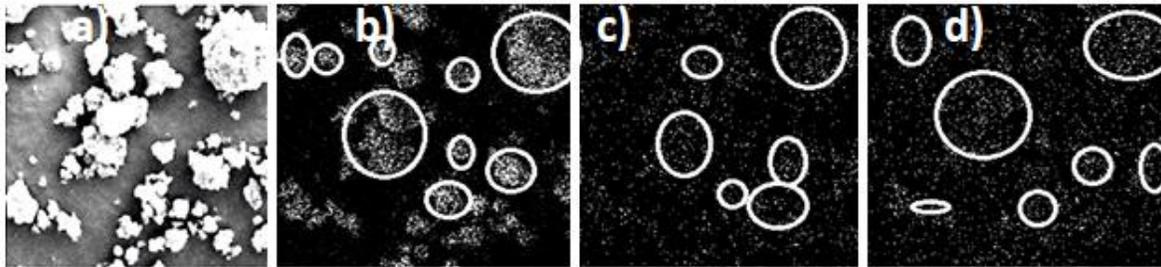


Figura 3.3. a) Micrografías mediante electrones secundarios, mapeo químico de b) magnesio, c) zinc y d) calcio, de mezcla de polvos Mg65%Zn30%Ca5%, 20 h de molienda a 400 rpm.

El análisis químico realizado arrojó un valor de concentración de 66.01%, 26.78% y 7.21% en peso de Mg, Zn y Ca, este porcentaje se encuentra distribuido en la zona analizada. En el mapeo químico de la Figura 3.3.c y 3.3.d se observan pequeñas concentraciones de Zn y Ca distribuidas en la micrografía.

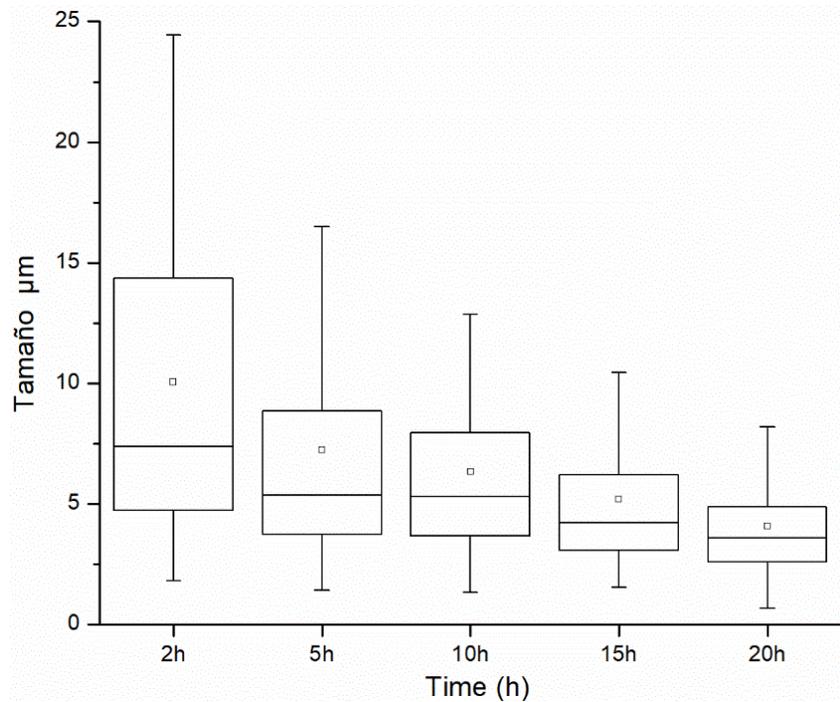


Figura 3.4. Evolución del tamaño de partícula conforme transcurre el tiempo de molienda de la muestra de Mg65%3Zn30%Ca5%.

En la Figura 3.4 se muestran la variación del tamaño de partícula en función del tiempo de molienda. De manera complementaria, la Figura 3.4 muestra que el tamaño de partícula promedio disminuyó aproximadamente de 12 a 4 μm a medida que el tiempo de molienda había transcurrido de 2 a 20 h.

3.1.3 Mezcla de polvos Mg70%Zn25%Ca5%, 2,5,10,15 y 20 h de molienda 400 rpm

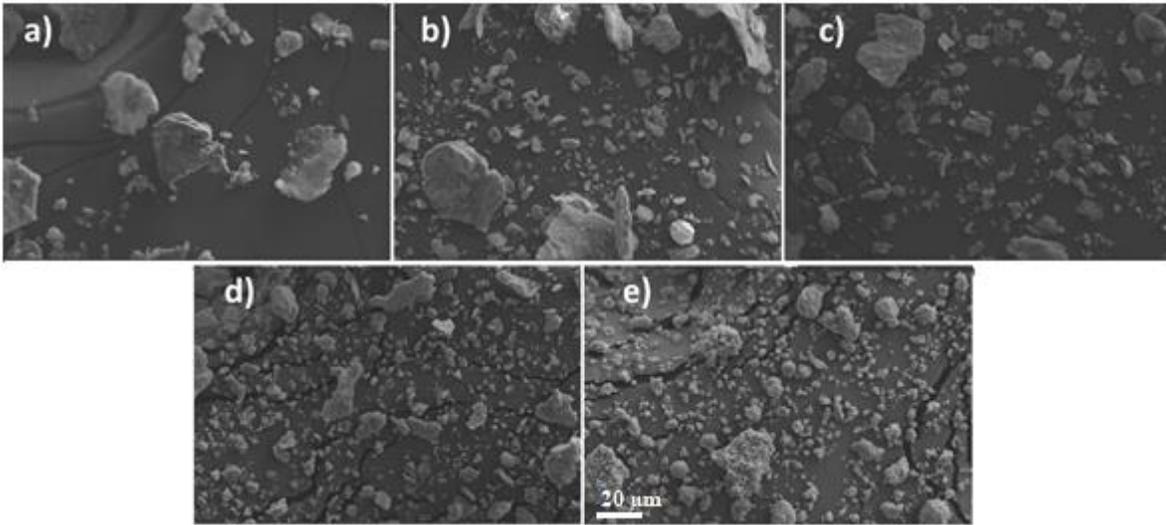


Figura 3.5. Evolución morfológica de las partículas en función del tiempo de molienda a) 2, b) 5, c) 10, d) 15, e) 20 h, composición de Mg70%Zn25%Ca5%, a 400 rpm.

En las micrografías (Figura 3.5), se muestra la mezcla de polvos de Mg70%Zn25%Ca5%, que fueron sometidas a diferentes tiempos de molienda, en la Figura 3.5.b se muestra un mayor número de conglomerados grandes debido al poco tiempo de molienda que experimentó la mezcla Mg70%Zn25%Ca5%, además se observa que el mecanismo de deformación principal hasta el momento es el de deformación dúctil, esto es por las etapas iniciales de molienda donde las partículas son suaves (ya sea que se estén empleando ambas combinaciones: dúctil - dúctil o frágil- dúctil), su tendencia a soldarse y formar partículas más grandes es elevada, esta aseveración es congruente con lo de acuerdo con lo establecido por C. Suryanarayana [95].

La mezcla de polvos Mg70%Zn25%Ca5%, después de 10 h de molienda a 400 rpm (Figura 3.5.c), se pueden observar conglomerados grandes, los cuales pudieron haberse generado debido al endurecimiento por trabajo en frío que aún no se encuentra presente del todo en el proceso de molienda. Además, se puede observar que después de 20 h de molienda (Figura 3.5.e) hubo una disminución en la

cantidad de conglomerados grandes, esto debido al fenómeno de endurecimiento por trabajo en frío del proceso de aleado mecánico, lo cual provoca que la fractura comience a ser más dominante que la soldadura, debido a que a medida que el proceso de deformación de las partículas continúan, las partículas se endurecen por trabajado mecánico, lo cual da lugar a la fragmentación y disminución del tamaño de las partículas.

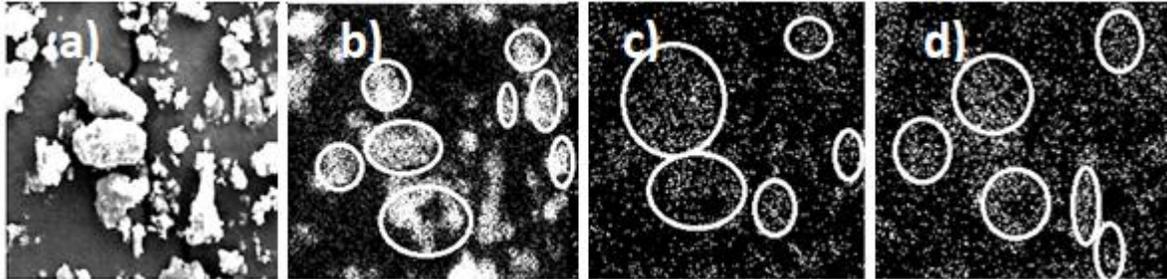


Figura 3.6. a) Micrografía mediante electrones secundarios mapeo químico del b) magnesio c) zinc y d) calcio, de mezcla de polvos Mg70%Zn25%Ca5%., 20 h de molienda a 400 rpm.

El análisis químico realizado arrojó un valor de concentración de 71.01%, 22.21% y 7.78% en peso de Mg, Zn y Ca, este porcentaje se encuentra distribuido en la zona analizada. En el mapeo químico de la Figura 3.6.c y 3.6.d se observan pequeñas concentraciones de Zn y Ca distribuidas en la micrografía.

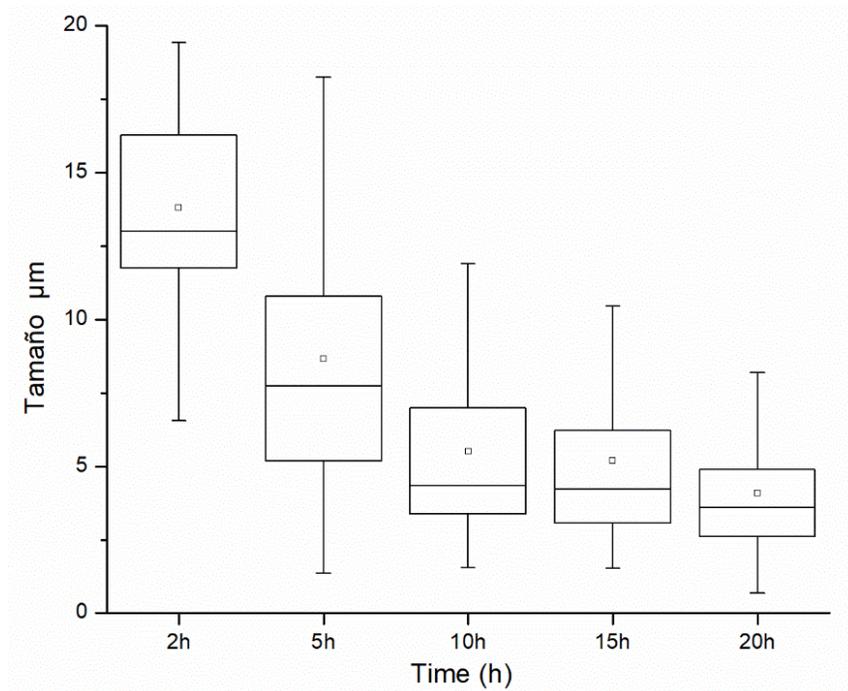


Figura 3.7. Evolución del tamaño de partícula conforme transcurre el tiempo de molienda de la muestra de Mg70%Zn25%Ca5%.

En la Figura 3.7 se muestran la variación del tamaño de partícula en función del tiempo de molienda. De manera complementaria se muestra que el tamaño de partícula promedio disminuyó aproximadamente de 14 a 5 μm a medida que el tiempo de molienda había transcurrido de 2 a 20 h.

3.2. Caracterización estructural mediante Difracción de Rayos X, DRX.

Se realizaron Análisis de Difracción de Rayos X (DRX) a los polvos iniciales de Mg, Zn y Ca. En las Figuras, 3.8, 3.9 y 3.10 se pueden observar los picos corresponden a los elementos utilizados en la síntesis de las aleaciones. En las Figuras 3.11 y 3.12 se muestran los difractogramas de las composiciones Mg65%Zn30%Ca5% y de Mg70%Zn25%Ca5% sometidas a 2, 5, 10, 15 y 20 h de tiempo de molienda. En los espectros de difracción de rayos X en ambas composiciones, se puede observar los picos pertenecientes a la fase intermetálica de MgZn la cual se produjo debido

a la difusión que experimentaron los elementos de Mg y Zn durante el proceso de molienda mecánica. También se muestra que a medida que el tiempo de molienda transcurría, los picos de difracción correspondientes de Mg, Zn y MgZn, fueron disminuyendo en intensidad. En donde este comportamiento puede estar asociado a una amorfización de los picos difractados. Además, se puede observar que los picos pertenecientes a Mg, Zn y MgZn se ensancharon a medida que el tiempo de molienda transcurría, en este caso este efecto está relacionado con la disminución del tamaño de cristalito es importante señalar que estos resultados son congruentes con investigaciones previas enfocadas a la síntesis de materiales compuestos de matriz de Al mediante MM en donde se reportó una disminución de tamaño de cristalito debido al ensanchamiento de los picos de difracción [96].

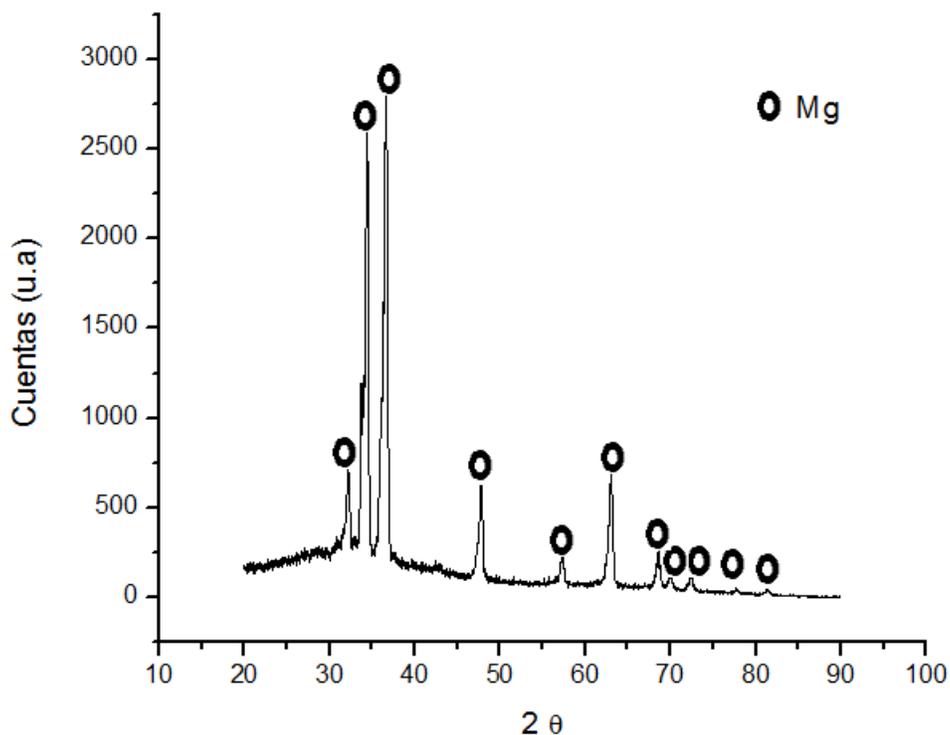


Figura 3.8. DRX Mg.

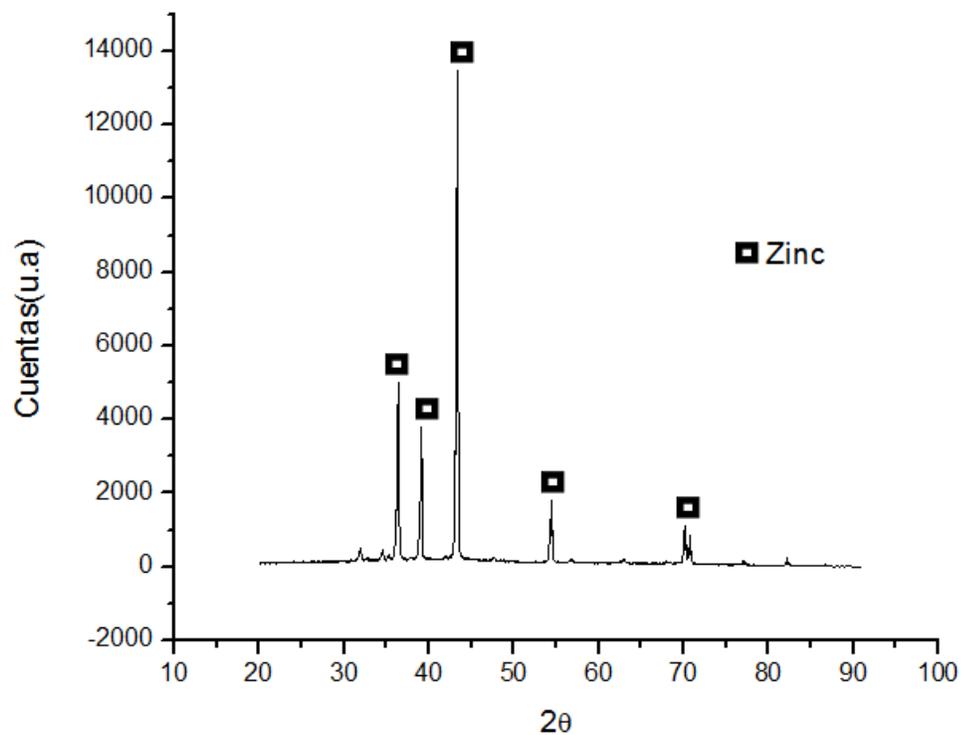


Figura 3.9. DRX Zn.

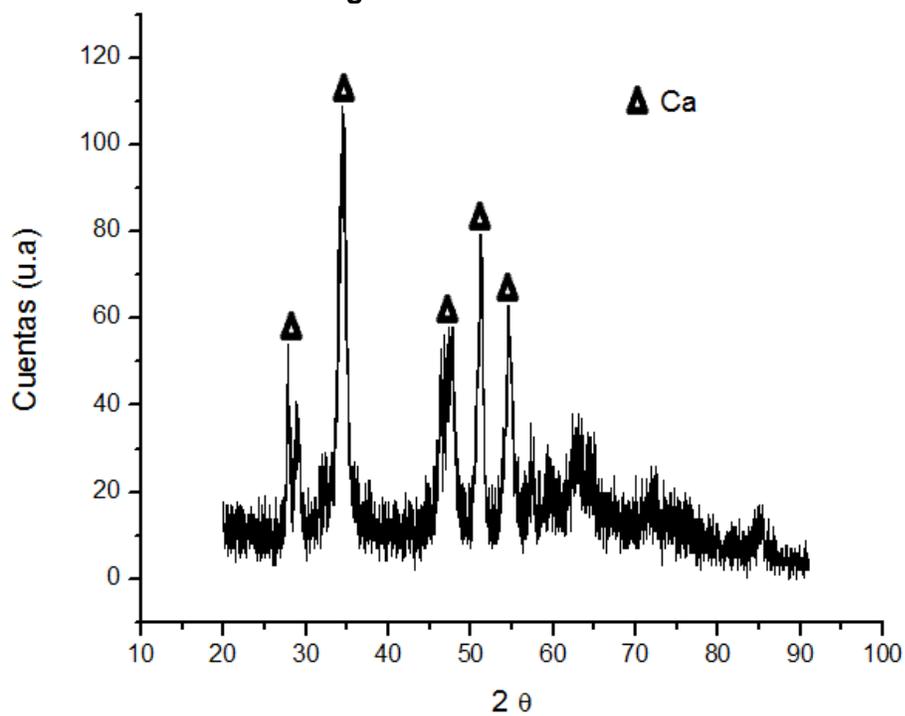


Figura 3.10. DRX Ca.

En la Figura 3.11 se muestran los perfiles de DRX de la aleación Mg65%Zn30%Ca5%, que fue sujeta a distintos tiempos de molienda. De manera similar, en 2 horas de molienda se observa los picos con mayor intensidad. Sin embargo, a medida que el tiempo de molienda avanzo este pico fue disminuyendo en intensidad, perdió su forma de punta y se tornó ancho. En donde este comportamiento podría estar vinculado a una transición de estado cristalino a amorfo. La amorfización de algunos compuestos intermetálicos por ejemplo de YCo_3 , Y_2Co_7 , YCo_5 mediante molienda mecánica fue reportado de manera previa por Oesterreicher & Parker [97].

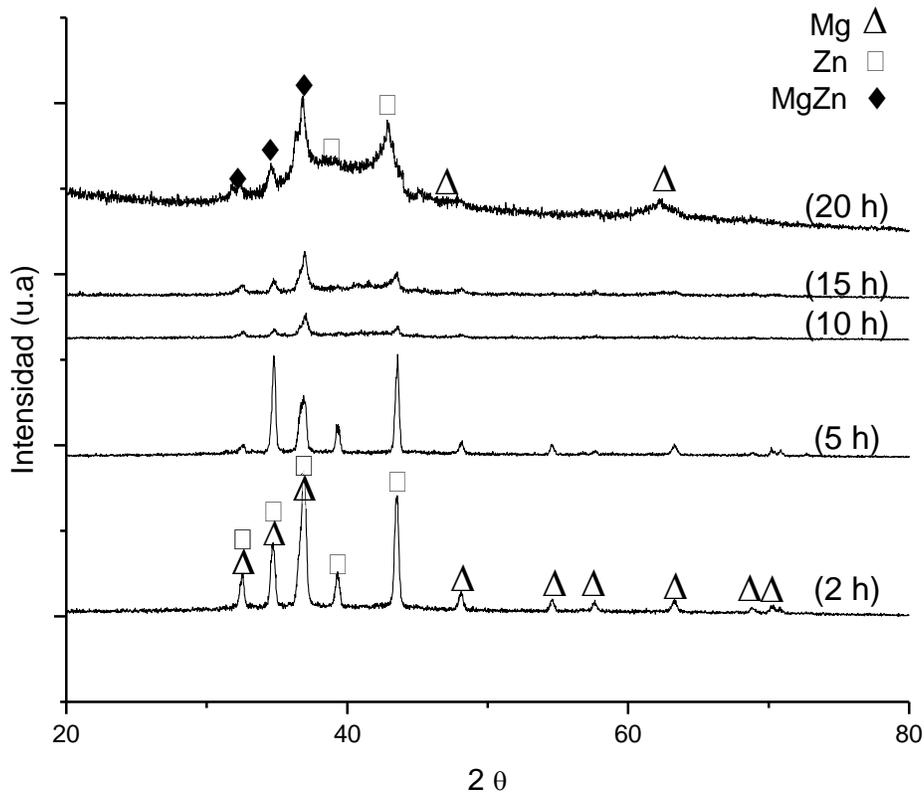


Figura 3.11. DRX Mg65%Zn30%Ca5%.

De la misma manera para la composición de Mg70%Zn25%Ca5%, en la Figura 3.12, se puede observar un ensanchamiento de los picos de difracción, lo cual está

asociado a la disminución del tamaño de cristalito. Esto debido a que el ancho de pico a la mitad de su altura es inversamente proporcional al tamaño de cristalito [98].

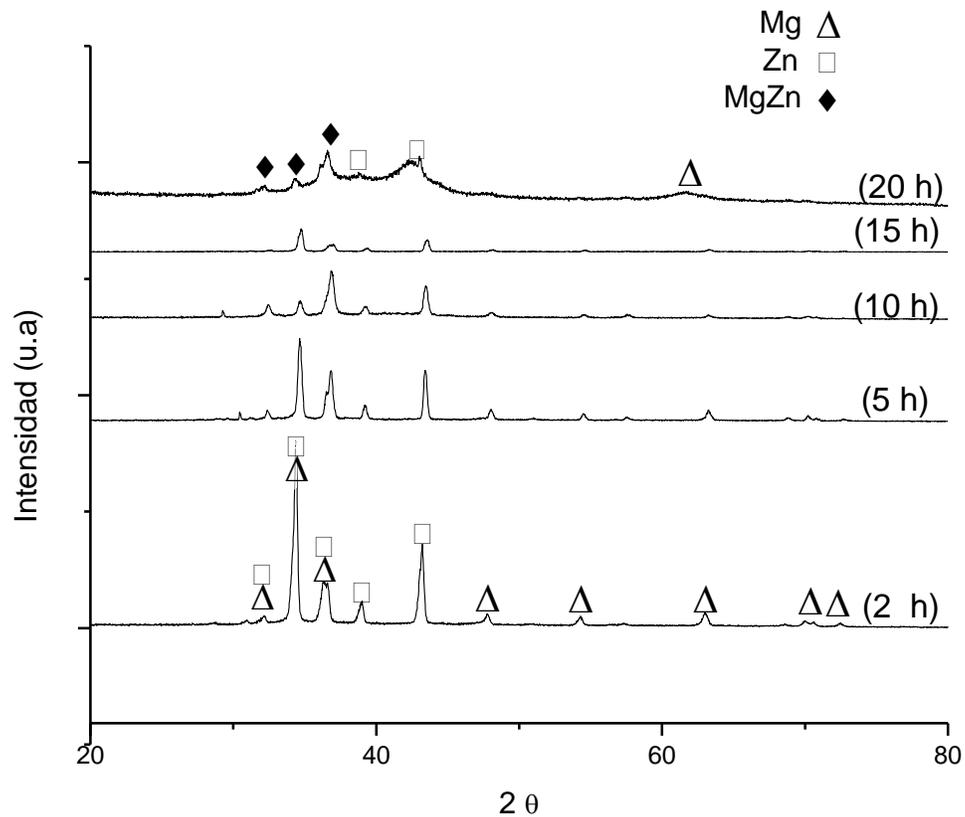


Figura 3.12. DRX Mg70%Zn25%Ca5%.

Vale la pena remarcar que tamaños de grano con dimensiones nanométricas han sido observados en casi todos los metales, intermetálicos o aleaciones sujetas a molienda o aleado mecánico (MM/AM) [99]. Varios nanocompuestos también han sido sintetizados por MM. También los nanocompuestos se han obtenido cuando las fases amorfas obtenidas por MM/AM fueron cristalizadas a temperaturas relativamente bajas [99]. Un atributo importante de estos nanocompuestos es prevenir o minimizar el crecimiento de grano hasta muy altas temperaturas.

3.3. Tamaño de cristalito

El tamaño de cristalito se obtuvo a partir de la ecuación de Scherrer [100].

$$L = \frac{K\lambda}{B\cos\theta} \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

En donde:

L = Tamaño de cristalito en dirección normal a los planos reflejantes

θ = Angulo de difracción de la reflexión

λ = Longitud de onda de los rayos X (0.15418 nanómetros para la radiación del cobre)

B = Ancho de pico a la mitad de la altura de pico de cada pico de difracción

K = Constante de proporcionalidad (0.9)

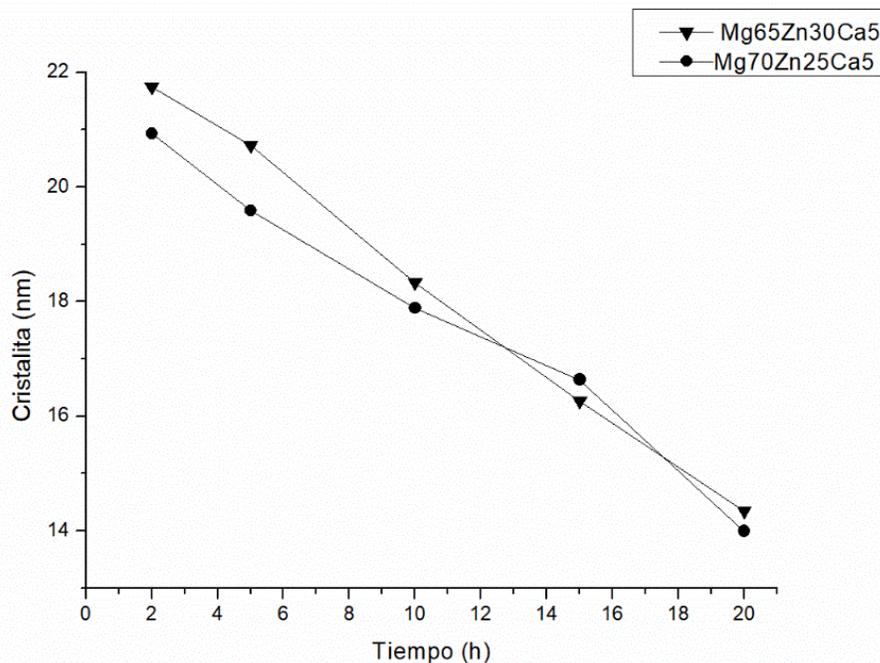


Figura 3.13. Tamaño promedio de cristalito.

El tamaño promedio de cristalito en función del tiempo de molienda (Figura 3.13), correspondiente a la composición Mg65%Zn25%Ca5%, muestra una disminución de 21.74 a 14.34 nm y la composición correspondiente a Mg70%Zn25%Ca5%,

muestra una disminución de 20.93 a 14.0 nm, cuando se sometieron a un tiempo de molienda de 2 a 20 h. Esta pequeña disminución en tamaño de cristalito está asociada a la energía proporcionada por la molienda (400 rpm).

3.4. Proceso de Sinterización.

Con el objetivo de sinterizar los compactos en verde previamente producidos por compactación uniaxial, se introdujeron dentro de un recipiente metálico y posteriormente se introdujo argón en una cámara de vacío con el fin de evitar la oxidación de las pastillas en verde durante el calentamiento. La primera etapa del tratamiento térmico de sinterización se efectuó mediante precalentamiento de la temperatura ambiente hasta los 200 °C por 30 min posteriormente se subió la temperatura a 300 °C por 1 h después se incrementó la temperatura a 400 °C (aproximadamente 75 % de la temperatura de fusión del Mg). Una vez que se calentó el horno hasta 400 °C, se programó el horno para que permaneciera a esta temperatura durante 4 h. La etapa final de enfriamiento consistió en apagar el horno y dejar enfriar durante 12 h en la Figura 3.14 se muestran las pastillas después del proceso de sinterizado. La Figura 3.15 y 3.16 muestran los mapeos químicos de la distribución de los elementos utilizados (Mg, Zn y Ca) en la superficie de las diferentes muestras sinterizadas.

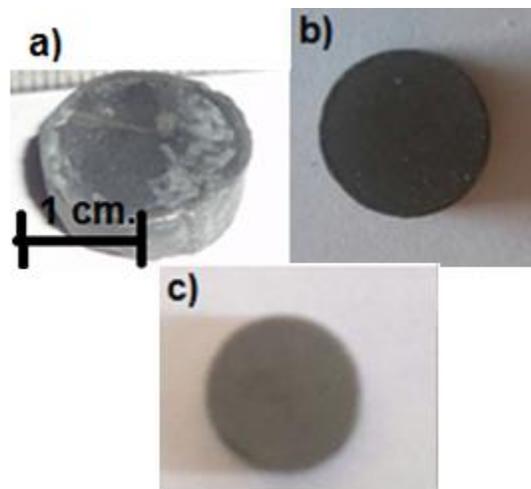


Figura 3.14. Muestras sinterizadas a) Mg, b) Mg65%Zn30%Ca5Al y c) Mg70%Zn25%Ca5.

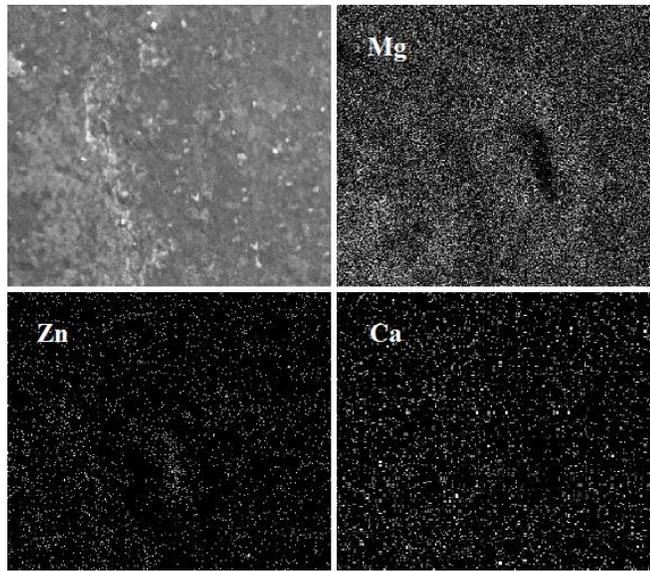


Figura 3.15. Mapeo químico muestra sinterizada de Mg65%Zn30%Ca5%

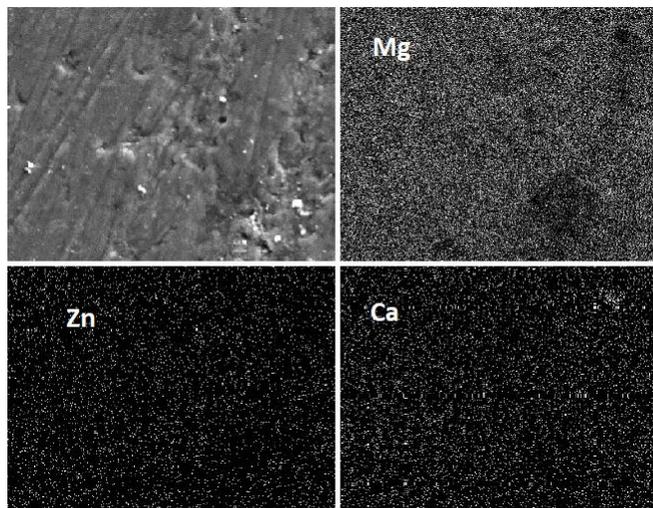


Figura 3.16. Mapeo químico muestra sinterizada de Mg70%Zn25%Ca5%.

En las Figuras 3.17 y 3.18 se muestran los Difractogramas de rayos X de las muestras de Mg65%Zn30%Ca5 y Mg70%Zn25%Ca5 después de haber sido sinterizadas en comparación con los polvos molidos de 20 horas, se puede observar en los difractogramas que los picos de difracción crecieron después del tratamiento térmico de sinterización. Donde este comportamiento puede estar asociado a la cristalización del Mg, Zn y MgZn originada por el proceso de sinterización. Esto

debido a que los picos pudieron haber exhibido cierto grado de amorficidad durante el proceso de molienda mecánica.

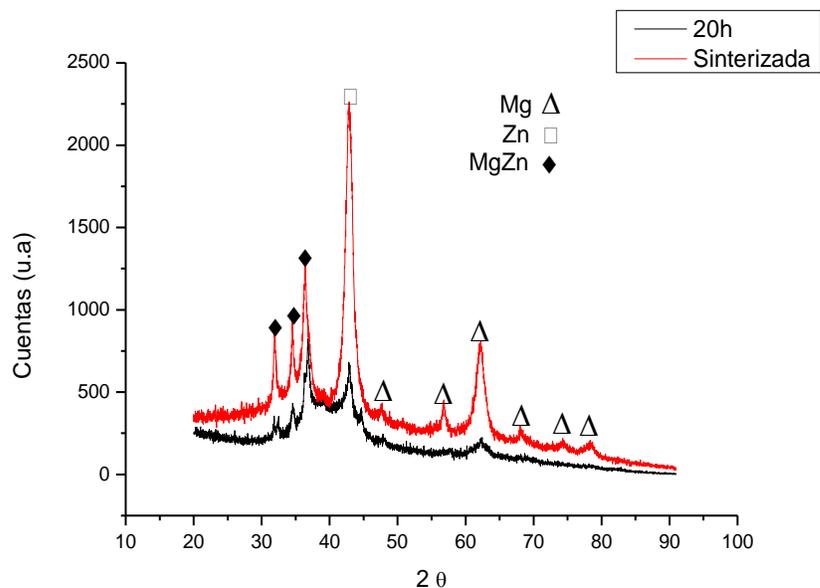


Figura 3.17. Difractograma muestra sinterizada de Mg₆₅Zn₃₀Ca₅% comparada con la de 20 horas de molienda.

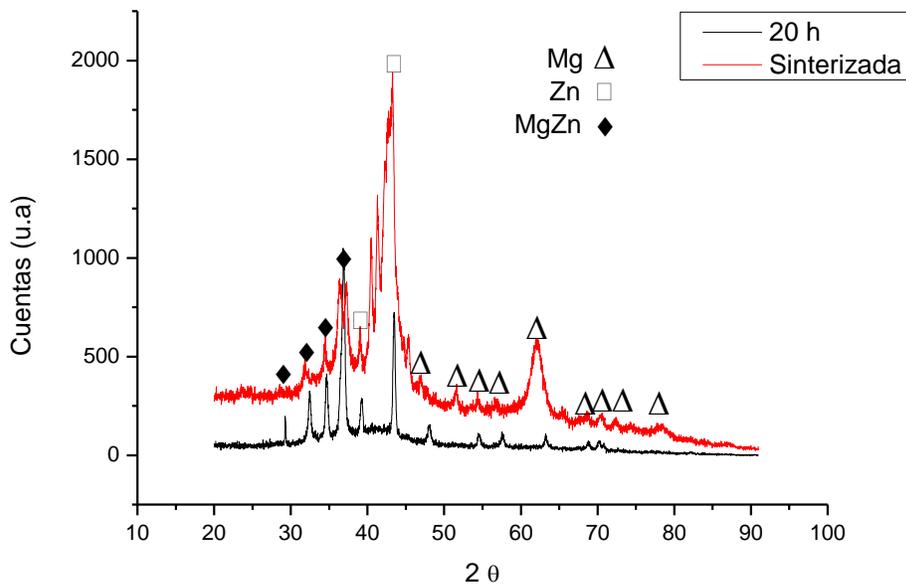


Figura 3.18. Difractograma muestra sinterizada de Mg₇₀Zn₂₅Ca₅% comparada con la de 20 horas de molienda.

3.5. Microdureza de las muestras sinterizadas.

La implantación de biomateriales, tales como placas óseas y stents, se utiliza para sustituir al tejido humano, lo que significa que deben coincidir con la propiedad mecánica de los tejidos [15,101-103]. Las aleaciones de magnesio tienen un amplio rango de resistencia a la tracción y elongación, de 86,8 a 280 MPa y de 3% a 21,8%, respectivamente.

Tabla 3.1. Microdureza Hv.

Mg	52.70 Hv
Mg65Zn30Ca5	72.80 Hv
Mg70Zn25Ca5	79.90 Hv

Como se muestra en la Tabla 3.1 la microdureza promedio de magnesio puro es de 52.7 Hv, la aleación Mg65%Zn30%Ca5% es de 72.8 Hv y para Mg70%Zn25%Ca5% es de 79.9 Hv, se puede observar en los resultados como la microdureza aumentó considerablemente para las dos aleaciones. El aumento en el valor de microdureza de las aleaciones se atribuyó principalmente al mecanismo de endurecimiento de trabajo que se produjo debido a la deformación plástica severa durante la consolidación uniaxial. Además, a medida que aumentaba el tiempo de molienda, la dispersión de partículas de Zn y Ca en la matriz de Mg aumento y durante el proceso de sinterizado dio lugar a una unión más fuerte entre partículas de refuerzo y de matriz. Las huellas originadas por el proceso de indentación (Figura 3.19.a y 3.19.b), son del magnesio puro sinterizado, mientras las de Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% se muestran en la Figura 3.19.c y 55.d. El ensayo de dureza fue realizado por un microdurómetro el cual es representado por una marca en forma de rombo para el cálculo Hv se midió de esquina a esquina y en ambos lados las diagonales para posteriormente obtener $d1$ y $d2$ (calcular d con la Ec. 3.2) una vez calculada se sustituye en la Ec. 3.3 en donde p es la carga obteniendo la

microdureza cuando menor sea la huella menor será la dureza y mayor será la resistencia a ser penetrado el material.

$$d = \frac{d1 + d2}{2} \text{ (Ecuación 3.2)} \quad H_v = 1.855 \frac{p}{d^2} \text{ (Ecuación 3.3)}$$

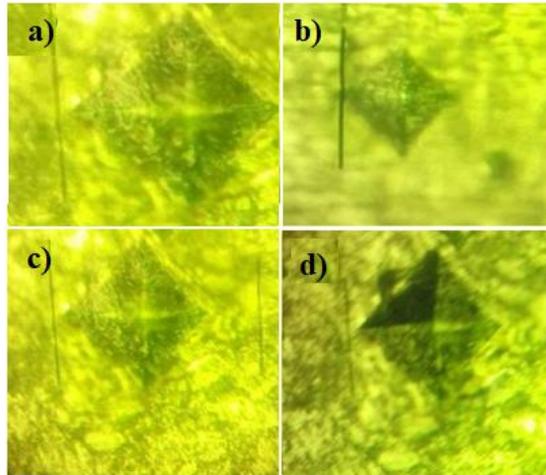


Figura 3.19. Huellas Identadas: a), b) Mg, c) Mg65%Zn30%Ca5 y d) Mg70%Zn25%Ca5.

3.6. Medidas electroquímicas curvas de polarización.

La velocidad de degradación es importante para el período de cicatrización del tejido además influye en la pérdida de propiedades mecánicas de los biomateriales durante la degradación. Para biomateriales ortopédicos se necesita 3-4 meses durante el desarrollo de fibroblastos y condroblastos en la zona de fractura para la formación de hueso nuevo. Es decir, la aleación de magnesio debe mantener su propiedad mecánica durante al menos 3 meses como implantes ortopédicos. Para la realización de las pruebas de corrosión se utilizó un sistema típico de tres electrodos que consistía en barra de grafito como contraelectrodo, electrodo de platino como electrodo de referencia y muestras de media pulgada de diámetro como electrodo de trabajo en solución Hank. (Tabla 3.2). Los resultados de la resistencia a la polarización y de la densidad de corriente de corrosión (E_{corr} e I_{corr}) de las muestras sinterizadas de Mg, Mg65%Zn30%Ca5%, Mg70%Zn25%Ca5% se muestran en la Tabla 3.3. Se puede deducir de los resultados anteriores que las muestras de Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% muestran una mejor

resistencia a la corrosión comparada con la del Mg, como se observa en la Figura 3.20.

Tabla 3.2. Solución Hank.

Componente	Concentración [g/l]
NaCl	8.0
CaCl ₂	0.14
KCl	0.40
NaHCO ₃	0.35
Glucosa	1.00
NaH ₂ PO ₄	0.10
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.10
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	0.06
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.06

Tabla 3.3 Resultados de *E_{corr}* e *I_{corr}* de las curvas de polarización potenciodinámicas.

Probeta.	<i>E_{corr}</i> (mV)	<i>I_{corr}</i> (mA/cm ²)
Mg	-1456.81	5.93 x10 ⁻¹
Mg65Zn30Ca5	-1374.45	4.02x10 ⁻¹
Mg70Zn25Ca5	-1311.61	4.54x10 ⁻¹

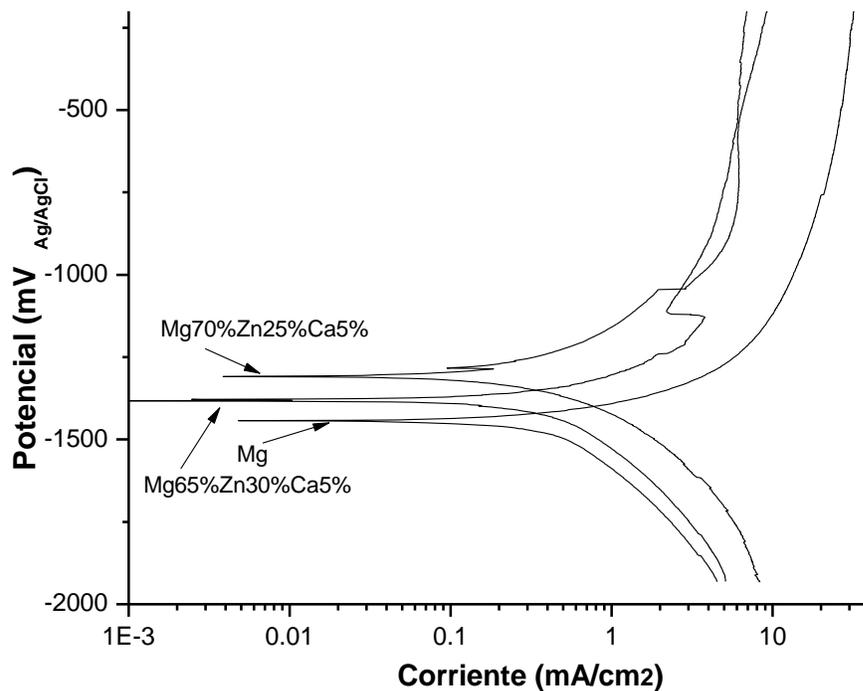


Figura 2.20. curvas de polarización potenciodinámicas.

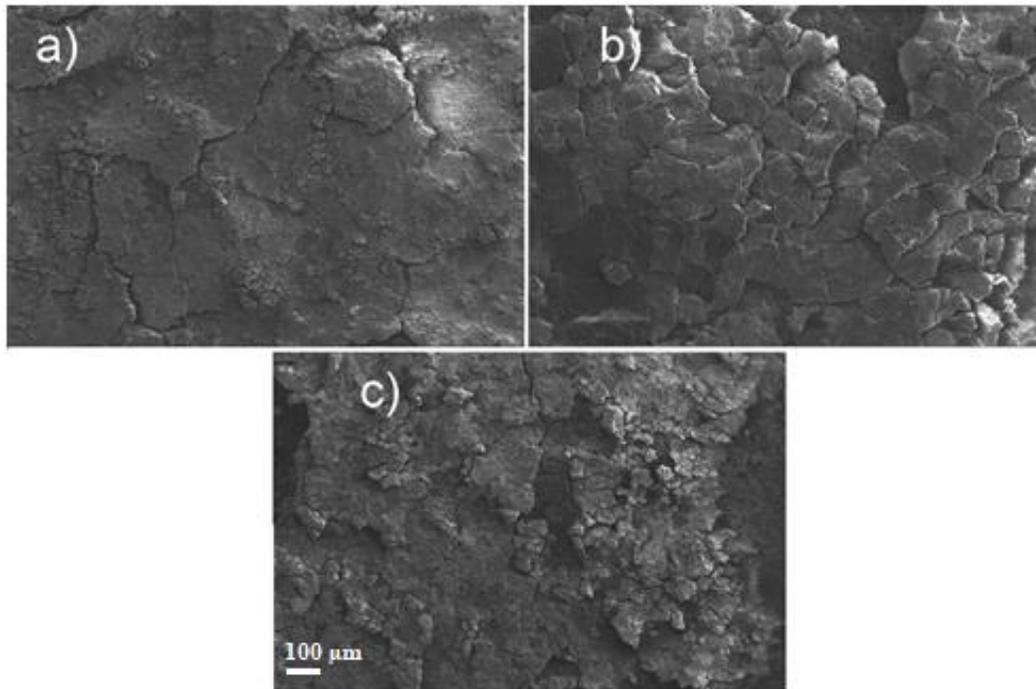


Figura 3.21. Capa de óxido después de las pruebas de corrosión, a) Mg, b) Mg65%Zn30%Ca5%, c) Mg70%Zn25%Ca5%.

En la Figura 3.21 se muestra la capa de óxido formada durante el proceso de corrosión de los diferentes tipos de muestras utilizadas. La formación de una película protectora es debido a la reacción producida durante el proceso de corrosión lo cual nos indica la formación de óxidos los cuales contribuyendo disminuir la corrosión de los materiales utilizadas.

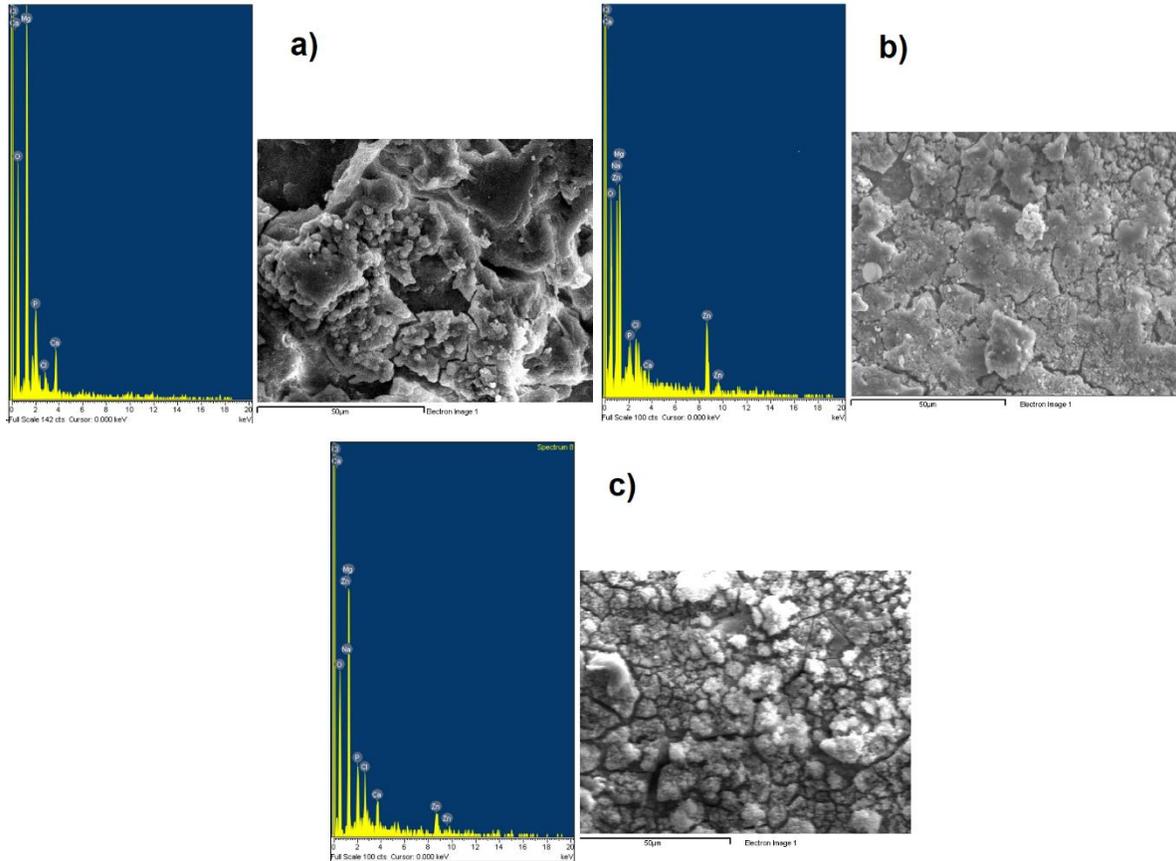


Figura 3.22. Energía de dispersión de rayos X (EDS), de las muestras corroídas a) Mg, b) Mg65%Zn30%Ca5%, c) Mg70%Zn25%Ca5%.

Los resultados de EDS (Figura 3.22) mostraron que los productos de corrosión consistían en elementos O, Mg, Zn, Ca, Cl, P y Na. Debido a la composición de la solución de Hank, es muy difícil reconocer las composiciones de los productos de corrosión; sin embargo, los elementos detectados en los productos de corrosión por EDS mostraron la formación de MgO y MgCl₂.

3.7. Pruebas de inmersión.

Cuando las muestras de Mg, Mg65%Zn30%Ca5%, y Mg70%Zn25%Ca5% se sumergen en fluido corporal, se produce la disolución anódica de magnesio y se forma la capa de hidróxido de magnesio sobre la superficie de la muestra. El ataque de Cl₂ ocurre en los puntos débiles de la capa de hidróxido de magnesio y

transforma el hidróxido de magnesio en cloruro de magnesio soluble. Los ensayos de inmersión se llevaron a cabo en solución Hank. Las muestras se retiraron después de 30 días de inmersión, se aclararon lavaron con agua destilada y se limpiaron. Se observa un incremento en el pH para las tres muestras, el Mg obtuvo un cambio de pH de 7.2 a 8.3, para Mg65%Zn30%Ca5% el pH varió de 7.2 a 8.6 y para Mg70%Zn25%Ca5% el pH varió de 7.2 a 8.8 como se observa en la Figura 3.23. Las velocidades de degradación (en unidades de mm / año) se obtuvieron según ASTM G31 – 72 [104] (Ecuación 3.4), los resultados para las diferentes muestras se muestran en la Tabla 3.4.

$$\text{Velocidad de corrosión} = (K \times W) / (A \times T \times D) \quad (\text{Ecuación 3.4})$$

Donde:

K = Constante

W= Masa perdida en gr.

A= Área en cm²

T= Tiempo de inmersión.

D= densidad en gr/cm³

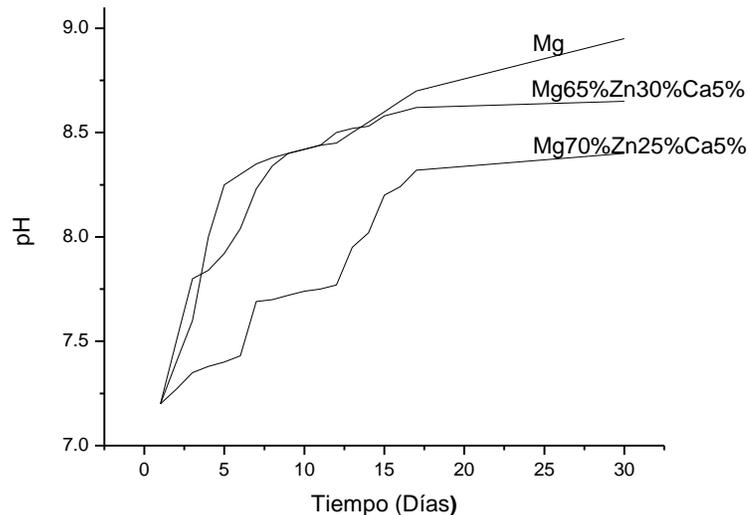


Figura 3.23. Prueba de inmersión medida de pH.

Tabla 3.4. Velocidad de degradación

Mg	3.11	Milímetros x año
Mg65%Zn30%Ca5%	1.31	Milímetros x año
Mg70%Zn24%Ca5%	1.14	Milímetros x año

Las aleaciones revelaron un comportamiento de degradación al aumentar el tiempo de inmersión. Sin embargo, las aleaciones de Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70Zn25%Ca5% exhibe menor grado de degradación en comparación con la de Mg. La disminución de la degradación es debido a la formación de una película protectora [105-107] producida durante el proceso de inmersión.

3.8. Prueba indirecta de citotoxicidad

La prueba de citotoxicidad se realizó por contacto indirecto. Se utilizó la línea celular fibroblastos humanos primarios (**ATCC PCS-201-010**). Para la preparación de los extractos se coloraron las muestras previamente esterilizadas en tubos con medio de cultivo de fibroblastos durante un tiempo de 24 horas en una atmósfera con 5% de CO₂ a 37 ° C. El extracto se centrifugo a 400 G durante 5 minutos para eliminar el material degradado y el sobrante se aspiró y se almacenó en un refrigerador a 4 ° C antes del ensayo de citotoxicidad. La concentración del extracto se diluyó al 100%, 75%, 50% y 25%, luego se colocaron cuatro muestras para cada extracto por separado en placas de cultivo celular de 96 pocillos y se le agregaron 1×10^4 células por cada pozo en 200 μ l de medio (Figura 3.24).



Figura 3.24. Placa multipozos.

Posteriormente, observó la morfología del crecimiento de las células por microscopía óptica y se probó la viabilidad de las células de fibroblastos por el método sulfhorodamina (SRB), calculando la tasa de crecimiento relativo (RGR). Las células se incubaron durante 96 h para permitir la unión, las pruebas se realizaron por cuadruplicado. Una vez transcurrido las 96 h de cultivo celular se vertió ácido tricloroacético 10% a 4°C en una charola de plástico de uso exclusivo para ácido tricloroacético, posteriormente se tomó 100 µl de ácido tricloroacético 10% a 4°C y se adiciona a cada pozo utilizando una pipeta multicanal de 12 de 20 a 200 µl a todos los pozos empleados. Se dejó la placa multipozos incubar por 1 h a 4°C en el refrigerador. Transcurrido el tiempo de incubar en el refrigerador la placa de 96 pozos se procede a realizar 5 lavados de cada pozo con 200 µl de agua destilada a 4°C. Al finalizar los lavados, se deja secando la placa de 96 pozos a temperatura ambiente durante toda la noche. Al término del tiempo de secado de la placa de 96 pozos, se sacó la sulfhorodamina del refrigerador y se colocó una aproximación de un volumen de 50 µl por pozo más un 30% y se vertió en una charola para uso exclusivo de SRB. Utilizando la pipeta multicanal de 20 a 200 µl se adiciona a todos los pozos experimentales y controles, lentamente por la pared de cada pozo mediante capilaridad 50 µl de SRB, y se deja reposando por 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente se procedió a realizar 5 lavados de cada pozo con 200 µl de ácido acético al 1%, al término de los lavados se coloca la placa de 96 pozos boca abajo contra una sanita para retirar el exceso restante de líquido, al reincorporar la placa se deja secar bajo la campana de extracción (alrededor de 1 hora y media). Justo antes de leer la densidad óptica se le agrega 50 µl de Tris-Base por cada pozo para solubilizar el colorante con la micropipeta multicanal (no dejar transcurrir más de 2 minutos en lo que se adiciona el Tris-Base y lo que se le ingresa de la placa al lector, afectará la lectura). A continuación, se mide la densidad óptica a 570 nm utilizando el lector de placas. Para el análisis estadístico se determinan los % de citotoxicidad mediante la siguiente fórmula:

$RGR = (\text{Grupo experimental Media} / \text{Grupo de control negativo Media}) \times 100\%$. (Ecuación 3.5)

Donde RGR es la tasa de crecimiento relativo de las células.

Este ensayo mide la cantidad de SRB fijada a las proteínas celulares en placas de cultivo previamente fijadas con ácido tricloroacético (TCA). Dado que la unión de la SRB con las proteínas es estequiométrica, la densidad óptica observada es proporcional a la masa celular [108].

3.8.1 Evaluación de la citotoxicidad.

Los resultados de las pruebas de citotoxicidad mostraron una buena proliferación (Figura 3.26) de las células de fibroblastos en las diferentes concentraciones de extractos durante 96 horas de cultivo. Las gráficas de los resultados de RGR se encuentran en la Figura 3.25. Los resultados de RGR de las muestras de Mg puro, Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% se muestran en la Tabla 3.5.

Las aleaciones de Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% con los resultados mostrados de RGR podrían ser seguras para aplicaciones biomédicas. Se informó que Mg₂ + apropiado podría mejorar la unión y proliferación celular [109].

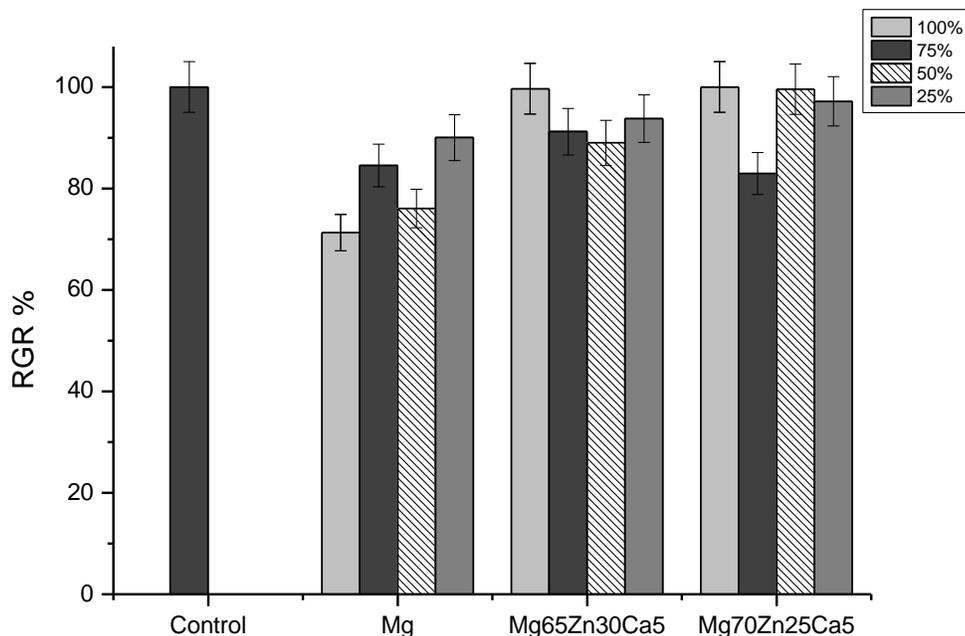


Figura 3.25. Pruebas de citotoxicidad.

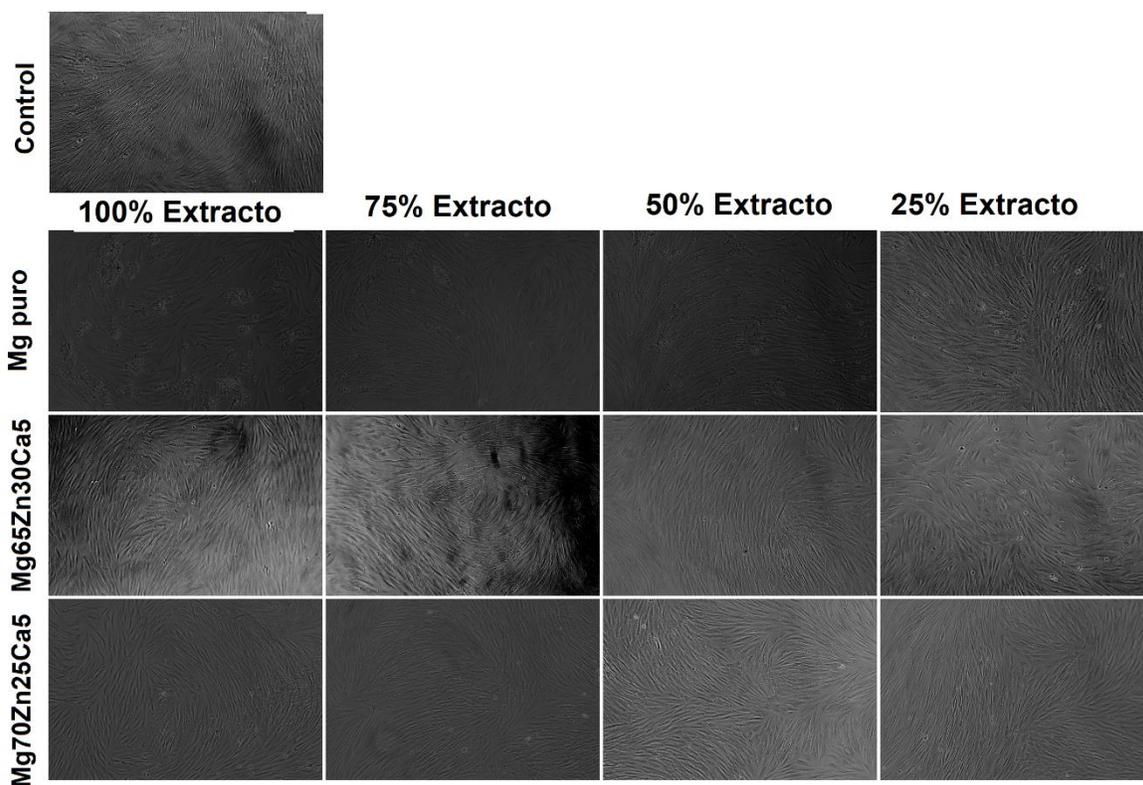


Figura 3.26. Proliferación celular de las muestras en diferentes concentraciones de extractos durante un tiempo de 96 h de cultivo.

Tabla 3.5. Resultados (RGR)

Muestra	100% extracto RGR (%)	75% de extracto RGR (%)	50% de extracto RGR (%)	25% de extracto RGR (%)
Mg	74.5	88	80	90
Mg65%Zn30%Ca5%	81	86	97	96
Mg70%Zn25%Ca5%	86	94	92	98

Conclusiones.

Las aleaciones a base de Mg con la composición de Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% (% en peso) se sintetizaron con éxito utilizando la técnica de molienda mecánica a partir de polvos elementales de Mg, Zn y Ca con una variación de tiempos de molienda de 2,5,10,15 y 20 horas. Los patrones DRX mostraron la formación de la fase intermetálica MgZn durante el proceso de molienda mecánica.

Los resultados obtenidos del análisis DRX y MEB indican que es posible sintetizar aleaciones de Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% mediante MM utilizando un régimen de 20 horas de molienda y una velocidad de 400 rpm.

El tamaño de cristalito muestra una disminución en las dos aleaciones a medida que transcurre el tiempo de molienda debido al refinamiento en el tamaño de partícula que sufrieron las muestras Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% durante el proceso de molienda.

Las curvas de polarización potenciodinámica señalan que el magnesio puro tiene una menor resistencia a la corrosión en comparación con las aleaciones Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5%, lo que demuestra que el mayor contenido de zinc podría ayudar a formar una película protectora en la superficie de las muestras y aumentar la resistencia a la corrosión.

Los resultados indicaron que las aleaciones Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% poseen una mayor resistencia a la corrosión comparadas con el Mg lo cual hace que las aleaciones sean candidatos prometedores para implantes biodegradables.

Las pruebas mecánicas revelaron un mayor aumento de la dureza en las aleaciones de Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% en comparación con el magnesio puro esto es debido a la buena unión y propiedades que mostraron los elementos aleantes durante la síntesis y la sinterización.

Las pruebas de viabilidad celular obtenidas mediante el ensayo indirecto de SRB mostraron que los extractos utilizados de las aleaciones sintetizadas

Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% no inducen citotoxicidad hacia las células **ATCC PCS-201-010** y pueden ser adecuadas para aplicaciones biomédicas.

Esta generación de aleaciones biodegradables Mg65%Zn30%Ca5% y Mg70%Zn25%Ca5% puede reducir el costo de la cirugía y otras complicaciones durante la operación postoperatoria.

Los resultados obtenidos de las pruebas de citotoxicidad, corrosión y propiedades mecánicas sugieren la necesidad de realizar más pruebas complementarias como las pruebas *in-vivo* ya que servirían para determinar el efecto que tendrían estas aleaciones en un organismo, lo que permitiría considerarlas como candidatos para su uso como implantes temporales además de los ahorros para aplicaciones clínicas.

Artículos:

Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures Vol. 16, No. 4, October-December 2021, p. 1537-1545

Production of biodegradable Mg-based alloys by mechanical alloying

S. R. Gonzaga, A. Sedano, J. M. Colín, A. Torres-Islas, A. Molina-Ocampo.

DOI: 10.3844/ajassp.2021.61.70

Production of Al based Composites Reinforced with FeAl

Intermetallic Particles by Mechanical Alloying

Sergio Rubén Gonzaga Segura, Arturo Molina Ocampo, René Guardián Tapia and Alejandro Sedano Aguilar.

Congreso.

Sergio Rubén Gonzaga Segura, Arturo Molina Ocampo, Alejandro Sedano Aguilar, Heriberto Villanueva Pliego, René Guardián Tapia, Adalberto Castro Hernández presented the contribution: **SYNTHESIS OF MAGNESIUM MATRIX COMPOSITE MATERIALS REINFORCED WITH CALCIUM AND ZINC PARTICLES VIA MECHANICAL ALLOYING (AM)** as Poster modality, in the Structural Lightweight Metallic Alloys: Synergies Between Processing and Alloy Development Symposium at the XXVII International Materials Research Congress held in Cancun, Mexico from August 19th to 24th, 2018.

Anexo.

Imágenes de fibroblastos 24 y 96 horas después del subcultivo celular (diferentes concentraciones de extractos preparados para los ensayos de citotoxicidad indirecta).

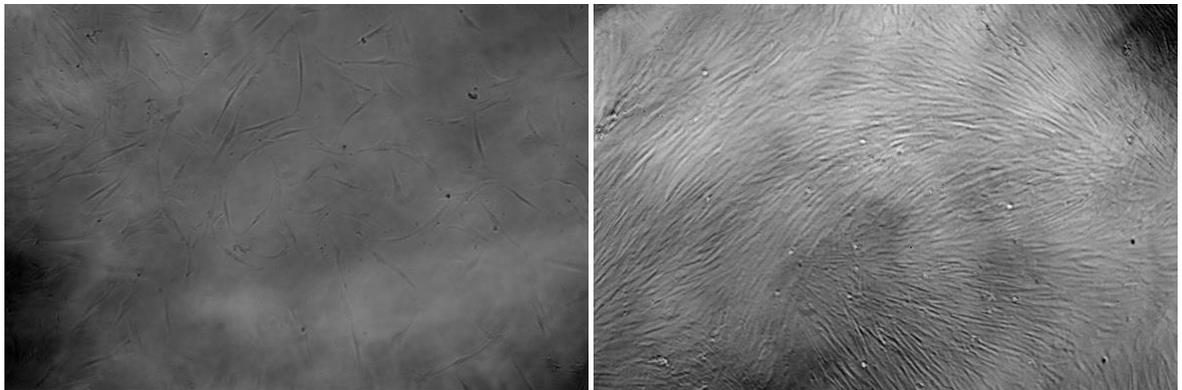


Figura 1. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo de control)

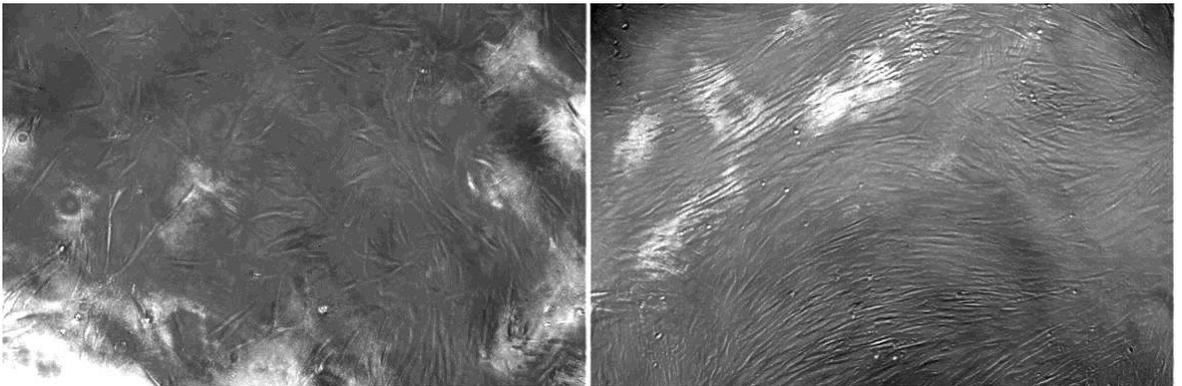


Figura 2. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 100% de extracto de Mg)

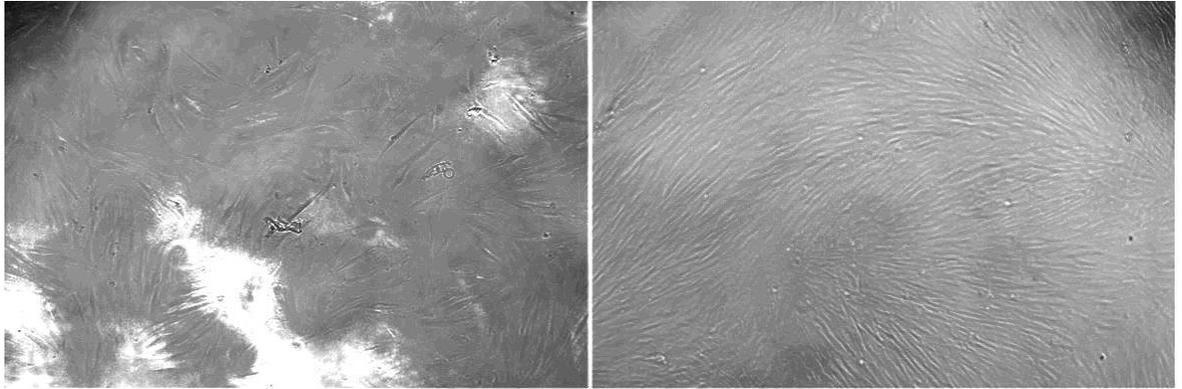


Figura 3. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 75% de extracto de Mg)

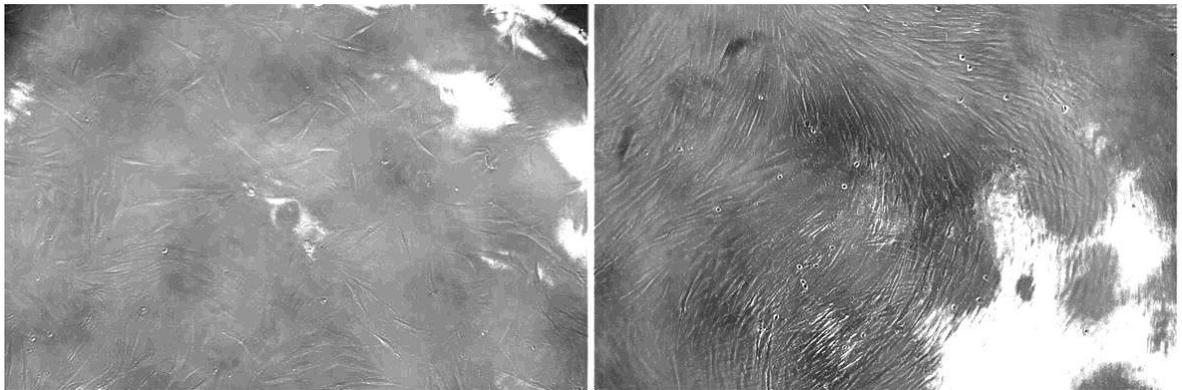


Figura 4. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 50% de extracto de Mg)

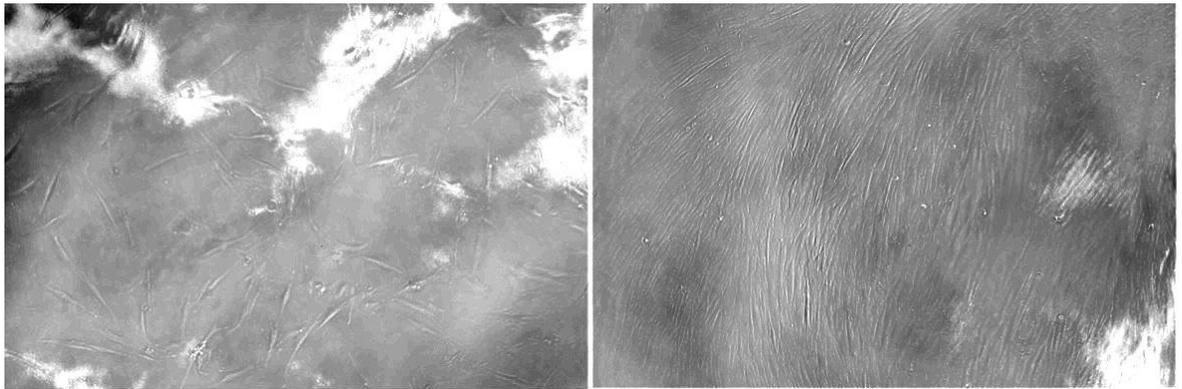


Figura 5. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 25% de extracto de Mg)

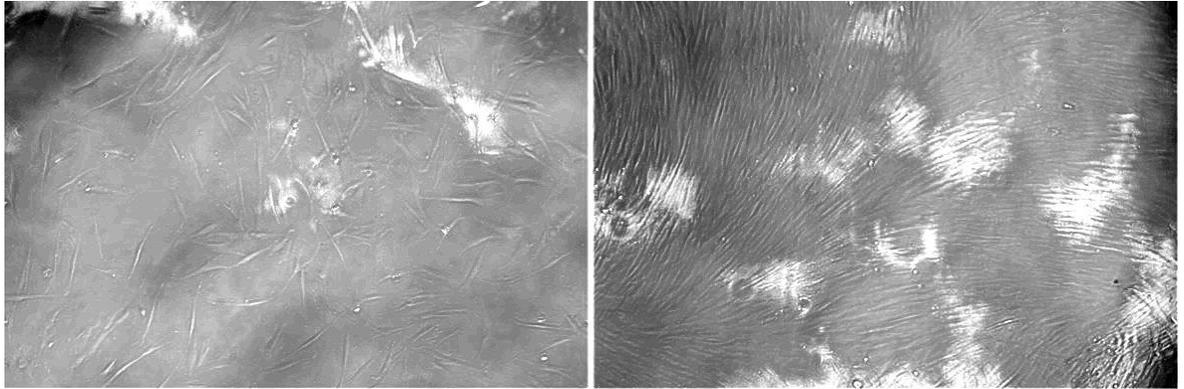


Figura 6. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 100% de extracto de Mg65%Zn30%Ca5%)

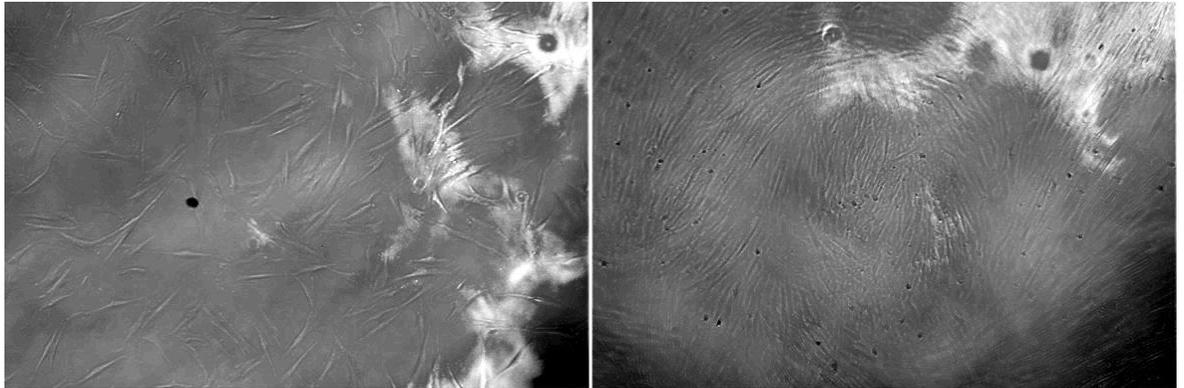


Figura 7. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 75% de extracto de Mg65%Zn30%Ca5%)

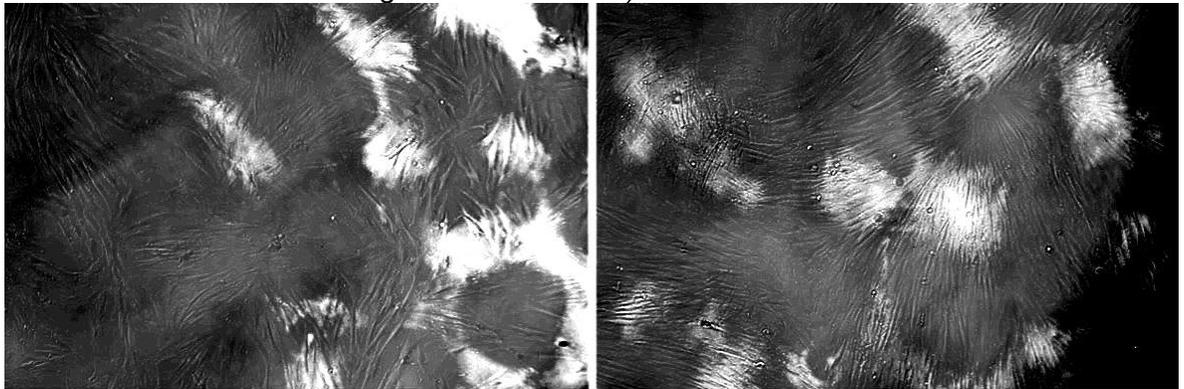


Figura 8. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 50% de extracto de Mg65%Zn30%Ca5%)

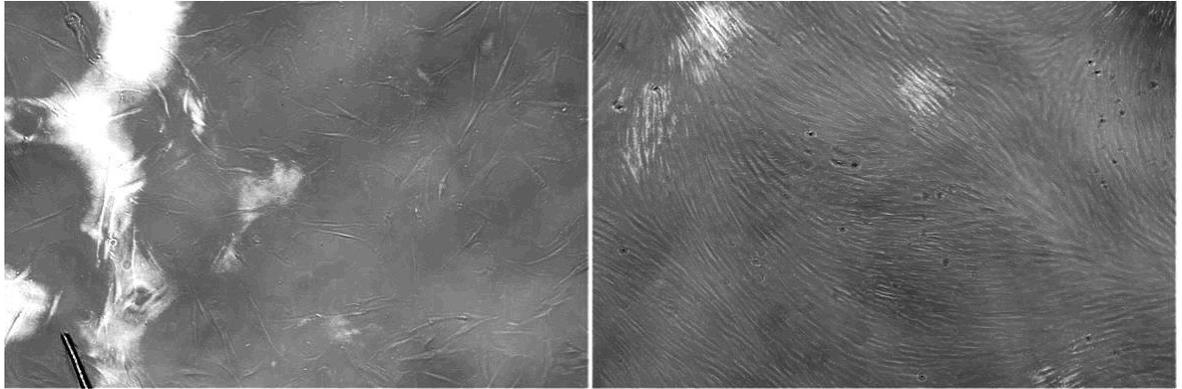


Figura 9. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 25% de extracto de Mg65%Zn30%Ca5%)

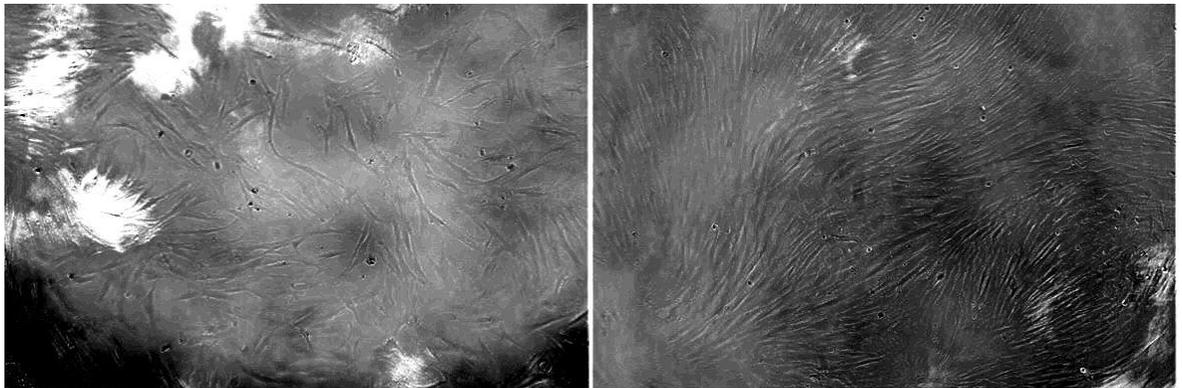


Figura 10. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 100% de extracto de Mg70%Zn25%Ca5%)

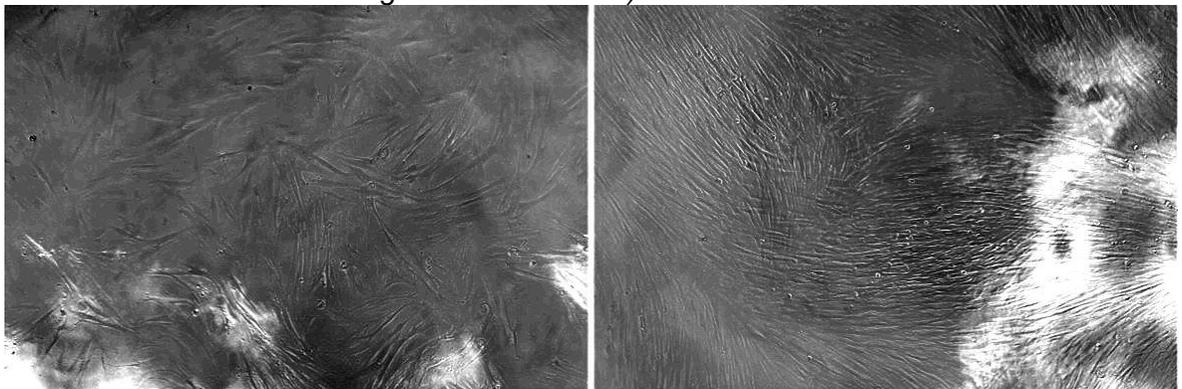


Figura 11. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 75% de extracto de Mg70%Zn25%Ca5%)

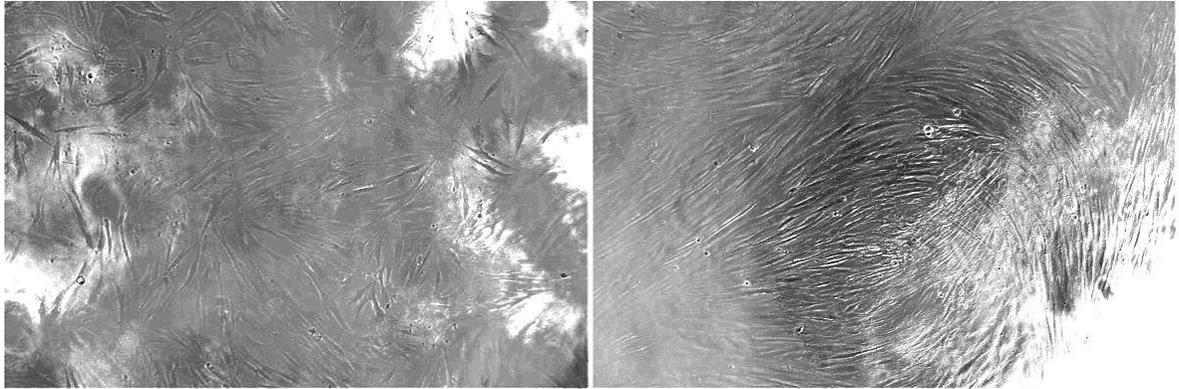


Figura 12. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 50% de extracto de Mg70%Zn25%Ca5%)

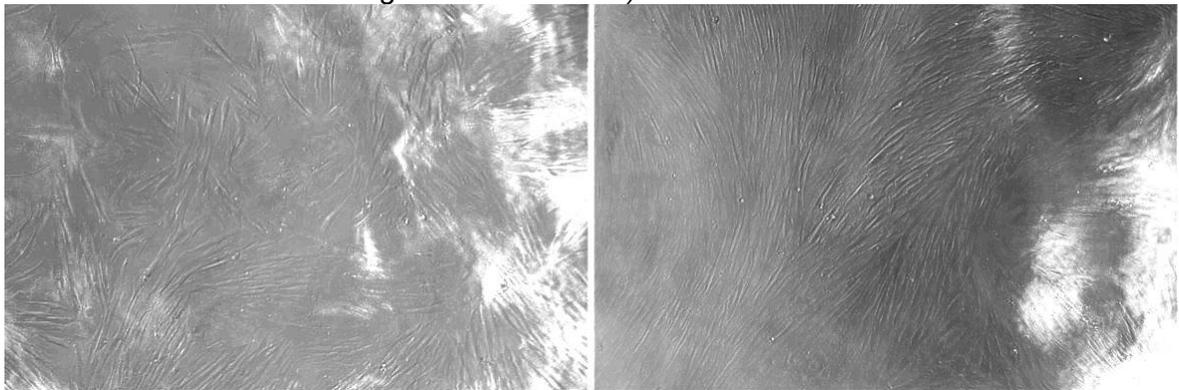


Figura 13. Fibroblastos 24 y 96 h de cultivo (Pozo 25% de extracto de Mg70%Zn25%Ca5%)

Referencias.

1. Gu, X., Zheng, Y., Cheng, Y., Zhong, S., & Xi, T. (2009). In vitro corrosion and biocompatibility of binary magnesium alloys. *Biomaterials*, 30(4), 484-498.
2. Witte, F., Kaese, V., Haferkamp, H., Switzer, E., Meyer-Lindenberg, A., Wirth, C., & Windhagen, H. (2005). In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials*, 26(17), 3557-3563.
3. Song, G. (2007). Control of biodegradation of biocompatible magnesium alloys. *Corrosion Science*, 49(4), 1696-1701.

4. Staiger, M., Pietak, A., Huadmai, J., & Dias, G. (2006). Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. *Biomaterials*, 27(9), 1728-1734.
5. Saris N E L. Magnesium: an update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clinica Chimica Acta*, 2000, 294(1–2), 1–26.
6. Sun, Y., Zhang, B., Wang, Y., Geng, L., & Jiao, X. (2012). Preparation and characterization of a new biomedical Mg–Zn–Ca alloy. *Materials & Design*, 34, 58-64.
7. Shadanbaz, S., & Dias, G. (2012). Calcium phosphate coatings on magnesium alloys for biomedical applications: A review. *Acta Biomaterialia*, 8(1), 20-30.
8. El-Rahman, S. (2003). Neuropathology of aluminum toxicity in rats (glutamate and GABA impairment). *Pharmacological Research*, 47(3), 189-194.
9. Hirano, S., & Suzuki, K. (1996). Exposure, Metabolism, and Toxicity of Rare Earths and Related Compounds. *Environmental Health Perspectives*, 104, 85.
10. Abbasi, M., Sajjadi, S., & Azadbeh, M. (2010). An investigation on the variations occurring during Ni3Al powder formation by mechanical alloying technique. *Journal Of Alloys And Compounds*, 497(1-2), 171-175.
11. Neves, F., Fernandes, F., Martins, I., & Correia, J. (2011). Parametric optimization of Ti–Ni powder mixtures produced by mechanical alloying. *Journal Of Alloys And Compounds*, 509, S271-S274.
12. Witte, F., Hort, N., Vogt, C., Cohen, S., Kainer, K., Willumeit, R., & Feyerabend, F. (2008). Degradable biomaterials based on magnesium corrosion. *Current Opinion In Solid State And Materials Science*, 12(5-6), 63-72.
13. <http://www.magnesium-elektron.com>
14. Xu, L., Yu, G., Zhang, E., Pan, F., & Yang, K. (2007). In vivo corrosion behavior of Mg–Mn–Zn alloy for bone implant application. *Journal Of Biomedical Materials Research Part A*, 83A(3), 703-711.
15. Li, Z., Gu, X., Lou, S., & Zheng, Y. (2008). The development of binary Mg–Ca alloys for use as biodegradable materials within bone. *Biomaterials*, 29(10), 1329-1344.
16. Wang, H., Estrin, Y., & Zúberová, Z. (2008). Bio-corrosion of a magnesium alloy with different processing histories. *Materials Letters*, 62(16), 2476-2479.
17. Goodship, A. (2001). AO principles of fracture management (book and CD-ROM). *The Journal Of Bone And Joint Surgery. British Volume*, 83-B(6), 934-934.

18. Witte, F., Fischer, J., Nellesen, J., Crostack, H., Kaese, V., & Pisch, A. et al. (2006). In vitro and in vivo corrosion measurements of magnesium alloys. *Biomaterials*, 27(7), 1013-1018.
19. Witte, F., Kaese, V., Haferkamp, H., Switzer, E., Meyer-Lindenberg, A., Wirth, C., & Windhagen, H. (2005). In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials*, 26(17), 3557-3563.
20. Zeng R-C, Chen J, Dietzel W, et al. (2007). Electrochemical behavior of magnesium alloys in simulated body fluids. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 17, s166–s170.
21. Yao, Z., Li, L., & Jiang, Z. (2009). Adjustment of the ratio of Ca/P in the ceramic coating on Mg alloy by plasma electrolytic oxidation. *Applied Surface Science*, 255(13-14), 6724-6728.
22. Kannan, M., & Raman, R. (2008). In vitro degradation and mechanical integrity of calcium-containing magnesium alloys in modified-simulated body fluid. *Biomaterials*, 29(15), 2306-2314.
23. Song, G. (2007). Control of biodegradation of biocompatible magnesium alloys. *Corrosion Science*, 49(4), 1696-1701.
24. Xu, L., Zhang, E., Yin, D., Zeng, S., & Yang, K. (2007). In vitro corrosion behaviour of Mg alloys in a buffered solution for bone implant application. *Journal Of Materials Science: Materials In Medicine*, 19(3), 1017-1025. Phosphate.
25. Zhang, E., Yin, D., Xu, L., Yang, L., & Yang, K. (2009). Microstructure, mechanical and corrosion properties and biocompatibility of Mg–Zn–Mn alloys for biomedical application. *Materials Science And Engineering: C*, 29(3), 987-993.
26. Zhang, E., He, W., Du, H., & Yang, K. (2008). Microstructure, mechanical properties and corrosion properties of Mg–Zn–Y alloys with low Zn content. *Materials Science And Engineering: A*, 488(1-2), 102-111.
27. Sigel H. (1986). *Metal Ions in Biological System*. New York: Marcel Dekker Inc.
28. Seiler H G, Sigel H. (1988). *Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds*. New York: Marcel Dekker Inc.
29. Emley E F. (1966). *Principles of Magnesium Technology*. Oxford: Pergamon Press.

30. Li, L., Gao, J., & Wang, Y. (2004). Evaluation of cyto-toxicity and corrosion behavior of alkali-heat-treated magnesium in simulated body fluid. *Surface And Coatings Technology*, 185(1), 92-98.
31. Gu, X., Zheng, W., Cheng, Y., & Zheng, Y. (2009). A study on alkaline heat treated Mg–Ca alloy for the control of the biocorrosion rate. *Acta Biomaterialia*, 5(7), 2790-2799.
32. Zhang, X., Zhao, Z., Wu, F., Wang, Y., & Wu, J. (2007). Corrosion and wear resistance of AZ91D magnesium alloy with and without microarc oxidation coating in Hank's solution. *Journal Of Materials Science*, 42(20), 8523-8528.
33. Xu, L., Pan, F., Yu, G., Yang, L., Zhang, E., & Yang, K. (2009). In vitro and in vivo evaluation of the surface bioactivity of a calcium phosphate coated magnesium alloy. *Biomaterials*, 30(8), 1512-1523.
34. Wang H X, Guan S K, Wang X, et al. (2009). In vitro degradation and mechanical integrity of Mg-Zn-Ca alloy coated with Ca-deficient hydroxyapatite by the pulse electrodeposition process. *Acta Biomaterialia*.
35. Gu, X., Zheng, Y., Lan, Q., Cheng, Y., Zhang, Z., Xi, T., & Zhang, D. (2009). Surface modification of an Mg-1Ca alloy to slow down its biocorrosion by chitosan. *Biomedical Materials*, 4(4), 044109.
36. Gilman, P., & Benjamin, J. (1983). Mechanical Alloying. *Annual Review Of Materials Science*, 13(1), 279-300.
37. Soni, P. (2001). Mechanical alloying gaining ground in high-tech material development. *Metal Powder Report*, 56(6), 8.
38. Benjamin, J., & Bomford, M. (1977). Dispersion strengthened aluminum made by mechanical alloying. *Metallurgical Transactions A*, 8(8), 1301-1305.
39. Suryanarayana, C. (2005). Nanoparticle synthesis. *Materials Today*, 8(11), 62.
40. Domalavage, P., Grant, N., & Gefen, Y. (1983). Structure and properties of rapidly solidified 7075 P/M aluminum alloy modified with nickel and zirconium. *Metallurgical Transactions A*, 14(8), 1599-1606.
41. Domalavage, P., Ashdown, C., O'Handley, R., & Grant, N. (1983). Amorphous and microcrystalline Cu_{0.6}Zr_{0.4} powders made by ultrasonic gas atomization. *Materials Science And Engineering*, 57(1), L1-L2.

42. H.E. Friedrich, B.L. Mordike. (2006). *Magnesium Technology: Metallurgy, Design Data, Applications*, First Edition, Springer, Alemania.
43. M.M. Avedesian, H. Baker. (1999). *Magnesium and Magnesium Alloys*, *ASM Specialty Handbook*, Materials Park, Ohio (EE. UU.), 12-25.
44. ZF Lemförder Metallwaren AG. (2004). Componente de un automóvil. *Oficina Española de patentes y marcas*, Madrid (España).
45. J.M. Tartaglia, J.C. Grebetz. (2000). Observations of Intermetallic Particle and Inclusion Distributions in Magnesium Alloys, *The Minerals Metals & Materials Society*.
46. B.L. Mordike, T. Ebert. (2001). *Journal of Materials Processing Technology*, 117, 37–45.
47. D.E. Askeland. (1998). *Ciencia e Ingeniería de los Materiales*, Tercera Edición, México.
48. B. Byron. (1997). Global Overview of Automotive Magnesium Requirements and Supply & Demand, *Automotive Seminar der International Magnesium Association (IMA)*, Aalen.
49. Norsk Hydro Datenbank, NHMg.db (ext.). (1996). *Norsk Hydro Research Centre Porsgrunn*.
50. A.A. Nayeb-Hashemi, J.B. Clark. (1988). Phase Diagrams of Binary Magnesium Alloys, *ASM International*, Materials Park, Ohio (EE. UU.).
51. M. Carboneras Chamorro. (2011). “Materiales metálicos biodegradables en el campo biomédico”, *Acta Científica y Tecnológica*, CSIC.
52. Berrio-Betancur, L., Echeverry-Rendón, M., Correa-Bedoya, E., Zuleta-Gil, A., Robledo-Restrepo, S., Castaño-Gonzalez, J., & Echeverría-Echeverría, F. (2017). Desarrollo de la industria de aleaciones de magnesio en Colombia - Una oportunidad. *DYNA*, 84(203), 55-64.
53. F. Witte. 2008. “Degradable biomaterials based on magnesium corrosion”, *Current Opinion in Solid State and Materials Science*.
54. S. González, “Biodegradation and mechanical integrity of magnesium and magnesium alloys suitable for implants”, INTECH, 2013. Fig. 3 *Comparación entre estructuras obtenidas por metalurgia de polvos y por fusión y colada. Se observa la presencia de poros y óxidos en la estructura obtenida por pulvimetalurgia y un tamaño de grano considerablemente grande en la estructura de colada.*

55. Gérrad Eddy Jai Poinern. (2012). "Biomedical magnesium alloys: a review of material properties, surface modification and potential as biodegradable orthopedic implant", *American Journal of Biomedical Engineering*.
56. M. Carboneras Chamorro, "El magnesio en el campo de los biomateriales degradables y reabsorbibles", <https://www.youtube.com/watch?v=xpUAlh8zly4>
57. Home - Latiza. (2021). Retrieved 18 March 2021, from <https://latiza.zinc.org/>
58. Robert M. (1997). Dégation de la qualité des sols: risques pour la santé et l'environnement. *Bull Acad Natle Med*, 81, 21-42.
59. Gonzalez-Reimers, E., Martinez-Riera, A., Santolaria-Fernandez, F., Mas-Pascual, A., Rodriguez-Moreno, F., & Galindo-Martin, L. et al. (1998). Relative and Combined Effects of Ethanol and Protein Deficiency on Zinc, Iron, Copper, and Manganese Contents in Different Organs and Urinary and Fecal Excretion. *Alcohol*, 16(1), 7-12.
60. Barceloux DG. (1999). Zinc. *J Toxicol Clin Toxicol*. 37(2):279- 292.
61. Merck. (1980). Manual de diagnóstico y terapéutica. Ed. Merck Sharp & Dohme. Research Labor.
62. Rubio Armedáriz C, González Weller D, Alonso S, Revert Girones C, Hardisson de la Torre A. (2004). Zn, Mn, Cu, Se, Cr: Nutrición y suplementación. *Alimentaria*, 353, 37-44.
63. Linder MC. (1988). Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos. EUNSA. Pamplona, 505.
64. Fleming CR. (1989). Trace element metabolism in adult patients requiring total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr*, 49, 573-579.
65. Cousins RJ, Hempe JM. Cinc. En: Brown ML, Filer LJ, Guthrie HA. (1991). Conocimientos actuales sobre nutrición. OPS. Washington, 289-300.
66. Prasad AS. (1991). Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *Am J Clin Nuter*, 53, 403-412.
67. Ito Y, Fujita J. (1996). Trace elements and blood pressure regulation. *Nippon Rinsho*, 54(1), 106-110.
68. Kodama H. (1996). Essential trace elements and immunity. *Nippon Rinsho*, 54(1), 46-51.
69. Macready N. (1998). Zinc supplements improve children's health. *Brit Med J*, 317, 369.

70. Villa Elízaga I, Navarro Blasco I, Martín Pérez A. (1999). Elementos traza. En: Hernández M y Sastre A. (eds). Tratado de Nutrición. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Madrid, 229-247.
71. Grahn BH, Paterson PG, Gottschall-Pass KT, Zhang Z. (2001). Zinc and the eye. *J Am Coll Nutr.*, 20(2 Supl.), 106-118.
72. Lukaski HC. (2001) Magnesium, zinc and chromium nutrition and athletic performance. *Can J Appl Physiol*, 26 Supl., S13- S22.
73. Peretz A, Papadopoulos T, Willems D, Hotimsky A, Michiels N, Siderova V, Bergmann P, Neve J. (2001). Zinc supplementation increases bone alkaline phosphatase in healthy men. *Trace Elem Med Biol.*, 15(2-3), 175-178.
74. Dardenne M. (2002). Zinc and immune function. *Eur J Clin Nutr.*, 56 Supl., 3, 20-23.
75. Su JC y Birmingham CL. (2002). Zinc supplementation in the treatment of anorexia nervosa. *Eat Weight Disord.* 7(1), 20-22.
76. Kilic M, Baltaci AK, Gunay M. (2004) Effect of zinc supplementation on hematological parameters in athletes. *Biol Trace Elem Res.*, 100(1), 31-38.
77. Favier M, Hininger-Favier I. (2005). Zinc and pregnancy. *Gynecol Obstet Fertil.* 33(4), 253-258.
78. Levenson CW. (2005). Zinc supplementation: neuroprotective or neurotoxic. *Nutr. Rev.*, 63(4), 122-125.
79. Mocchegiani E, Bertoni-Freddari C, Marcellini F, Malavolta M. (2005). Brain, aging and neurodegeneration: role of zinc ion availability. *Prog Neurobiol.* 75(6), 367-390.
80. Zalewski PD, Truong-Tran AQ, Grosser D, Jayaram L, Murgia C, Ruffin RE. (2005). Zinc metabolism in airway epithelium and airway inflammation: basic mechanisms and clinical targets. A review. *Pharmacol Ther.*, 105(2), 127-149.
81. Rodríguez-Rodríguez E, Navia Lombán B, LópezSobaler AM, Ortega Anta RM. (2010). Review and future perspectives on recommended calcium intake. *Nutr Hosp*, (25), 366-374.
82. Gallagher ML. (2009). Los nutrientes y su metabolismo. En: Mahan LK, Escott-Stump S. *Dietoterapia de Krause*. 12 a. ed. Barcelona. Elsevier Masson, 39-143.
83. Mataix J, Llopis J. (2006). Minerales. En: *Nutrición y alimentación humana*. Mataix J. ed. Barcelona. Oceano/Ergon, 214-20.

84. FAO/WHO.(2001). Human vitamin and mineral requirements. Rome, 151-172.
85. Meacham S, Grayscott D, Chen JJ, Bergman C. (2008). Review of the dietary reference intake for calcium: where do we go from Here?. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 48, 378-84.
86. Gueguen L, Pointillart A. (2000). The bioavailability of dietary calcium. *J Am Coll Nutr.*, 19, 119S-36S. 14.
87. Kapinos, D., Augustyn, B., & Szymanek, M. (2014). METHODS OF INTRODUCING ALLOYING ELEMENTS INTO LIQUID MAGNESIUM. *Metallurgy And Foundry Engineering*, 40(3), 141.
88. Cao, J., Weber, T., Schäublin, R., & Löffler, J. (2016). Equilibrium ternary intermetallic phase in the Mg–Zn–Ca system. *Journal Of Materials Research*, 31(14), 2147-2155.
89. Domalavage, P., Grant, N., & Gefen, Y. (1983). Structure and properties of rapidly solidified 7075 P/M aluminum alloy modified with nickel and zirconium. *Metallurgical Transactions A*, 14(8), 1599-1606.
90. San Martin, D., Rivera Diaz del Castillo, P., Peekstok, E., & van der Zwaag, S. (2007). A new etching route for revealing the austenite grain boundaries in an 11.4% Cr precipitation hardening semi-austenitic stainless steel. *Materials Characterization*, 58(5), 455-460.
91. Donald R. Askeland. (1998). *Ciencia e Ingeniería de los Materiales*, Editorial Internacional Thomson Editores.
92. Juan GI. (2002). *Técnicas Electroquímicas para el Control y Estudio de la Corrosión*, Editado por. Facultad de Química UNAM. Ciudad Universitaria, México D.F. México.
93. Song, G., & Song, S. (2007). A Possible Biodegradable Magnesium Implant Material. *Advanced Engineering Materials*, 9(4), 298-302.
94. Abdoli, H., Farnoush, H., Salahi, E., & Pourazrang, K. (2008). Study of the densification of a nanostructured composite powder. *Materials Science And Engineering: A*, 486(1-2), 580-584.
95. Suryanarayana, C., Ivanov, E., & Boldyrev, V. (2001). The science and technology of mechanical alloying. *Materials Science And Engineering: A*, 304-306, 151-158.

96. Khakbiz, M., & Akhlaghi, F. (2009). Synthesis and structural characterization of Al-B4C nano-composite powders by mechanical alloying. *Journal Of Alloys And Compounds*, 479(1-2), 334-341.
97. Oesterreicher, H., & Parker, F. (1982). Occurrence of magnetic order in a pseudobinary system of non-magnetic binaries: YMn₂-2cCo₂c. *Journal Of Physics F: Metal Physics*, 12(5), 1027-1038.
98. Karthikeyan, R., Vijayakumar, K., & Arumugam, R. (2011). Soft Magnetic Composite Switched Reluctance Generator - Fabrication and Analysis. *Advanced Materials Research*, 383-390, 5516-5521.
99. Suryanarayana, C., Korth, G., Chen, G., Frefer, A., & Froes, F. (1993). Thermal stability of nanostructured titanium aluminides. *Nanostructured Materials*, 2(5), 527-535.
100. LANGFORD, G. (1978). BOOK REVIEWS. *Mind*, LXXXVII(3), 464-466.
101. Wang, H., Estrin, Y., & Zúberová, Z. (2008). Bio-corrosion of a magnesium alloy with different processing histories. *Materials Letters*, 62(16), 2476-2479.
102. J. Cao. (2013). Processing and Properties of Biocompatible Metallic Glasses, PhD thesis.
103. Erbel, R., Di Mario, C., Bartunek, J., Bonnier, J., de Bruyne, B., & Eberli, F. et al. (2007). Temporary scaffolding of coronary arteries with bioabsorbable magnesium stents: a prospective, non-randomised multicentre trial. *The Lancet*, 369(9576), 1869-1875.
104. American Society for Testing and Materials. (2004). Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
105. Xin, Y., Huo, K., Hu, T., Tang, G., & Chu, P. (2009). Corrosion products on biomedical magnesium alloy soaked in simulated body fluids. *Journal Of Materials Research*, 24(8), 2711-2719.
106. Xin, Y., Huo, K., Tao, H., Tang, G., & Chu, P. (2008). Influence of aggressive ions on the degradation behavior of biomedical magnesium alloy in physiological environment. *Acta Biomaterialia*, 4(6), 2008-2015.
107. Xin, Y., Hu, T., & Chu, P. (2010). Influence of Test Solutions on In Vitro Studies of Biomedical Magnesium Alloys. *Journal Of The Electrochemical Society*, 157(7), C238.
108. Houghton, P., Fang, R., Techatanawat, I., Steventon, G., Hylands, P., & Lee, C. (2007). The sulphorhodamine (SRB) assay and other approaches to testing plant extracts

and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. *Methods*, 42(4), 377-387.

109. Staiger, M., Pietak, A., Huadmai, J., & Dias, G. (2006). Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. *Biomaterials*, 27(9), 1728-1734.