Estructuras Porosas de $\text{TiO}_2\text{-Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8\text{-Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$: Propiedades Superficiales y Evaluación Citotóxica

Diego F. Triviño-Bolaños⁽¹⁾, Rubén J. Camargo-Amado⁽¹⁾, Juan Muñoz-Saldaña⁽²⁾ y Astrid L. Giraldo-Betancur⁽³⁾

(1) Grupo de investigación Fisicoquímica de Bio y Nanomateriales, Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Calle 13 No 100-00, A. A. 25360, Cali-Colombia

(2) Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Querétaro, Libramiento Norponiente No. 2000, Fracc. Real de Juriquilla, 76230 Querétaro, México.

(3) CONACYT-Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Querétaro, Libramiento Norponiente No. 2000, Fracc. Real de Juriquilla, 76230 Querétaro, México.

(e-mail: diego.trivino@correounivalle.edu.co; ruben.camargo@correounivalle.edu.co; jmunoz@cinvestav.mx; agiraldo@cinvestav.mx)

Recibido Mar. 9, 2018; Aceptado May. 23, 2018; Versión final Jul. 3, 2018, Publicado Dic. 2018

Resumen

Se obtuvieron estructuras porosas de $\text{TiO}_2\text{-Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8\text{-Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ mezclando, compactando y sinterizando TiO_2 con bicarbonato de sodio como agente porogénico (15% y 30% en peso de NaHCO_3). Las muestras se compactaron y trataron a 1100 °C durante 4 h y 8 h. Se analizaron los efectos del tiempo de sinterización y el porcentaje en peso de NaHCO_3 sobre las propiedades mecánicas superficiales, porosidad y citotoxicidad. Los patrones de difracción de rayos X se refinaron por el método Rietveld, usando GSAS. Las microestructuras se observaron mediante microscopía electrónica de barrido y el efecto de composición de los materiales sobre la respuesta celular in vitro se evaluó usando ensayo LDH de citotoxicidad. La porosidad varió entre 3.2% y 11.9%, la microdureza superficial entre 251.4 $\text{HV}_{0.2}$ y 851.6 $\text{HV}_{0.2}$. Los resultados de citotoxicidad en la línea celular CHO (ovario de Hámster chino) muestran que las estructuras porosas no son citotóxicas y tienen potencial para su aplicación en ingeniería de tejidos ortopédicos.

Palabras clave: titanatos; sinterizado; estructuras porosas; prueba in-vitro; propiedades superficiales

Porous Structures of $\text{TiO}_2\text{-Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8\text{-Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$: Surface Properties and Cytotoxic Evaluation

Abstract

Porous structures $\text{TiO}_2\text{-Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8\text{-Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ were obtained by mixing, compacting and sintering TiO_2 with sodium bicarbonate as porogenic agent (15 and 30 wt.% of NaHCO_3). The samples were compacted and treated at 1100 °C for 4 h and 8 h. The effects of sintering time and the weight percent of NaHCO_3 on surface mechanical properties, porosity and cytotoxicity were analyzed. The X-ray diffraction patterns were refined by the Rietveld method. Microstructures were observed by scanning electron microscopy and the effect of material composition on the cellular response in vitro was evaluated using a LDH-cytotoxicity assay. The porosity varied between 3.2% and 11.9%, the surface microhardness between 251.4 $\text{HV}_{0.2}$ and 851.6 $\text{HV}_{0.2}$. The cytotoxicity results on the CHO cell line (Chinese Hamster ovary) show that the porous structures are not cytotoxic and has potential for orthopedic tissue engineering applications.

Keywords: titanates; sintering; porous structures; in-vitro test; surface properties

INTRODUCCIÓN

Los materiales porosos usados para encapsular células o tejidos proporcionan una barrera semipermeable que protege los tejidos trasplantados. Materiales como polímeros termoplásticos (Nafea, Marson, Poole-Warren, y Martens, 2011), metales como acero inoxidable (Pileggi et al., 2006) y oro (Randall et al., 2011), se han utilizado para encapsular células. Estos materiales pueden tener limitaciones, incluida la falta de suficiente biocompatibilidad con el huésped, la pérdida indeseada de células encapsuladas debido a una porosidad inadecuada, una estabilidad mecánica deficiente (Rokstad et al., 2013) y, en el caso de algunos metales, estabilidad química insuficiente in vivo debido a la liberación de iones (Taddei et al., 2004). Por otro lado un material cerámico tiene alta estabilidad mecánica y química (Collazos-Castro et al. 2009). Se ha reportado biocompatibilidad y estabilidad química de estructuras cerámicas de TiO_2 (Zhao, Chang, y Zhai, 2005) y hexatitanato de sodio $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ (Shen et al., 2015). El $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ puede sintetizarse por el método sol-gel (Baliteau et al. 2007), por reacción en estado sólido entre TiO_2 con Na_2CO_3 a temperaturas de 800 °C (Bamberger and Begun 1987), y por reacción hidrotérmica entre TiO_2 con NaOH a partir de 500 °C (Zárate et al. 2008). El TiO_2 se puede sintetizar por el método sol-gel (Basante-Romo, Gutierrez, y Camargo-Amado, 2016), o por el método de Pechinni (Ochoa et al., 2009).

En el campo de la ingeniería de tejidos, los andamios porosos para aplicaciones en dispositivos ortopédicos deben ser biocompatibles y mecánicamente estables. Las técnicas de fabricación tradicionales como la espuma en suspensión (Hsu et al., 2013), cristales coloidales (Casis et al. 2010), lixiviación de sal (Bartolo et al., 2012), la separación de fases y la liofilización (Ren et al., 2009) para promover la porosidad o eliminar sustancias indeseables, generalmente implican el uso de disolventes tóxicos (Hutmacher, 2000; Iacovacci et al., 2016) que pueden provocar la muerte celular si no se eliminan por completo durante el proceso.

En esta investigación se integraron técnicas de moldeo, prensado y sinterización en mezclas de materiales en polvo de $\text{TiO}_2\text{-NaHCO}_3$, con el fin de obtener compuestos porosos de $\text{TiO}_2\text{-Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8\text{-Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ con el tamaño y forma requeridos para aplicaciones en dispositivos ortopédicos, con variaciones mínimas y propiedades mecánicas adecuadas. A diferencia de los métodos tradicionales, este método no requiere el uso de disolventes tóxicos para eliminar residuos, ya que la estructura porosa formada se compone de las fases cristalinas $\text{TiO}_2\text{-Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8\text{-Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ reportadas como biocompatibles (Shen et al., 2015; Zhao et al., 2005).

Por lo anterior, el objetivo principal de esta investigación fue examinar los efectos del tiempo de sinterización y el porcentaje en peso de NaHCO_3 , sobre la porosidad, microdureza superficial y composición de estructura de las fases obtenidas $\text{TiO}_2\text{-Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8\text{-Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$. Además, el efecto de la composición del material sobre la respuesta celular se evaluó in vitro mediante ensayo de citotoxicidad en la línea celular CHO. Como se mencionó anteriormente, estos materiales tienen potencial para ser usados en el campo de la ingeniería de tejidos ortopédicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El TiO_2 se sintetizó por sol-gel. En una síntesis típica, 11 ml de n-butóxido de titanio (IV), 99% (TBT-ACROS) se mezcló con 38 ml de etanol absoluto (Aldrich 99,8%) durante 10 minutos bajo agitación magnética continua. Se añadió 1 ml de agua destilada desionizada a 1 ml/min para promover la gelificación de los componentes. La solución se calentó a 100 °C durante 10 días. El TiO_2 se calentó a 3.5 °C min⁻¹ hasta 900 °C y se mantuvo a esta temperatura 3 horas obteniendo TiO_2 rutilo, este se molió 10 minutos en un molino de bolas Spex 8000, y el NaHCO_3 se molió durante 5 minutos en el mismo equipo. Posteriormente los materiales (TiO_2 con 15% en peso de NaHCO_3 y TiO_2 con 30% en peso de NaHCO_3) se obtuvieron mezclando las respectivas cantidades de TiO_2 y NaHCO_3 . Se prensaron a temperatura ambiente en prensa uniaxial a 35 kg/cm² durante 5 minutos en molde cilíndrico de acero inoxidable ($\varnothing = 13$ mm y 3 mm de espesor). Se obtuvieron discos sólidos con un peso de 0.7 g. Los discos compactos en verde se sinterizaron en horno tubular a 1100 °C durante 4 h y 8 h en atmósfera Ar con un flujo de 1 L min⁻¹. Velocidad de calentamiento fue de 3.5 °C min⁻¹.

A cada muestra se le hizo difracción de rayos X (DRX) en el rango 2θ de 20-80° y paso de 0.02° en difractómetro Rigaku DMAX 2100 con fuente de $\text{CuK}\alpha$ (1.54056 Å y 1.54439 Å). Las microestructuras de los materiales se analizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM) en un equipo Phillips ESEM XL30 a 20 kV. Las imágenes se obtuvieron con aumentos de 65X y 5000X. La porosidad superficial de los discos cerámicos se cuantificó mediante análisis de imagen digital ImageJ®. Las medidas de microdureza sobre la superficie pulida de los discos cerámicos se realizaron usando un microdurómetro Vickers THV-1D con una carga de 200 g durante 10 s.

Se realizaron pruebas de citotoxicidad in vitro durante 24 h y 48 h utilizando kit LDH de citotoxicidad (lactato deshidrogenasa). Los procedimientos biológicos se llevaron a cabo en una campana de flujo laminar pre-

esterilizada. La línea celular CHO se cultivó en DMEM F12 (medio Eagle modificado de Dulbecco), con 5 ml de suero fetal bovino (SBF), 0.5 ml de L-glutamina (Gibco Invitrogen), 0.5 ml de aminoácidos no esenciales (MEM NEAA Gibco), 0.5 ml de penicilina/estreptomina (Lonza) y 1 ml de bicarbonato sódico al 2%. Para el conteo celular se usó una cámara de Neubauer (Boeco); el número de células vivas fue de 1.200.000 células/ml. En la superficie de los materiales y por 24 h y 48 h se incubaron células CHO (37°C, 5% de CO_2 , 90% de humedad), comenzando con 50.000 células/pozo en placas de cultivo de tejidos de 24 pozos, y promoviendo adhesión celular firme sobre las muestras. Las soluciones de trabajo y los controles del kit LDH se prepararon y aplicaron de acuerdo al protocolo (Cytotoxicity Kit LDH, 2012). La citotoxicidad se midió a las 24 h y 48 h en lector de Elisa (iMark Bio-Rad), longitud de trabajo de 492 nm y longitud de referencia de 655 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan y discuten en cinco subsecciones: Orientación cristalográfica de las fases cristalinas, efecto del tiempo de sinterización y porcentaje de NaHCO_3 en la formación de fases cristalinas, porosidad y dureza superficial y citotoxicidad en células CHO.

Orientación cristalográfica de las fases cristalinas

Las condiciones de trabajo fueron T1: TiO_2 con 15 % (en peso) de NaHCO_3 a 1100 °C durante 4 h; T2: TiO_2 con 15 % de NaHCO_3 a 1100 °C durante 8 h, T3: TiO_2 con 30 % de NaHCO_3 a 1100 °C durante 4 h; y T4: TiO_2 con 30 % de NaHCO_3 a 1100 °C durante 8 h; se obtuvieron tres fases cristalinas como se observa en los patrones XRD de la Figura 1. A continuación se discuten algunos picos de difracción de cada fase cristalina.

Fig. 1: Patrones de XRD refinados por el método de Rietveld de las muestras preparadas a las condiciones T1, T2, T3 y T4.

En la Figura 1 se observó a T1 los picos de difracción del TiO_2 rutilo con orientación preferencial de los planos (101), (111), (211) y (301) a $2\theta = 36.02^\circ$, 41.2° , 54.2° y 68.9° , respectivamente. Estos resultados son consistentes con los encontrados por otros autores (Preda et al., 2013). Mientras que a T2 las orientaciones preferenciales de la misma familia de planos fueron más intensas; indicativo del aumento en la fracción en peso de la fase de TiO_2 rutilo con el aumento del tiempo de sinterización a 8 h. Se observó a T1 los picos de difracción del $\text{Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8$ con orientación preferencial de los planos (110), (11-1), (002), (310) y (020) a $2\theta = 24.5^\circ$, 27.3° , 28.7° , 32.8° y 47.5° , respectivamente. Mientras que a T2, la intensidad de la mayoría de estos picos disminuyó, a excepción del pico (11-1) a $2\theta = 27.3^\circ$ cuya intensidad aumentó significativamente. A T1 uno de los picos de difracción de la fase cristalina $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ con orientación preferencial (421) a $2\theta = 56.6^\circ$, fue menos intenso que a la condición T2.

A T3, uno de los picos de difracción de la fase $\text{Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8$ con orientación preferencial del plano (110) a $2\theta = 24.4^\circ$ fue menos intenso que a T4, aunque se conservó la misma familia de planos. Así mismo, en la condición T3, la intensidad de dos picos de la fase $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ con orientación preferencial (402) y (602) a $2\theta = 33.3^\circ$ y

44.1° respectivamente fueron más intensos que en la condición T4. La intensidad de los picos de difracción se relaciona con la composición de cada fase cristalina como se discutirá a continuación.

Efecto del tiempo de sinterización y porcentaje de NaHCO₃ en la composición de fases cristalinas

Para T1 la fase principal obtenida fue titanato de sodio o bronce de titanio Na_{0.8}Ti₄O₈ (83.27 % en peso). Según la literatura (Andersson y Wadsley, 1962) esta fase se promueve a partir de la reducción del Na₂Ti₃O₇ en atmósfera de hidrógeno a 950 ° C. Por otro lado, la formación de Na₂Ti₆O₁₃, otra de las fases encontradas en los análisis de los DRX, requiere también de la reacción del Na₂Ti₃O₇ a temperaturas desde 400, 600 y hasta 1100 ° C (Becker, Hofmann, y Müller, 2007). Sin embargo, la fase Na₂Ti₃O₇ no se observó en ninguna de las muestras analizadas, lo que sugiere que esta es una fase intermedia que se transforma en Na_{0.8}Ti₄O₈ o en Na₂Ti₃O₇. La formación de la fase Na₂Ti₃O₇ a bajas temperaturas durante el calentamiento puede ocurrir (Becker, Hofmann, y Müller, 2007). El refinamiento Rietveld de los patrones XRD de la Tabla 1 mostraron un ajuste adecuado del factor de estructura R_i² entre 6 % y 10 % y χ^2 entre 2.2 y 2.3.

Tabla 1: Valores del refinamiento Rietveld de los patrones XRD para cada uno de los tratamientos experimentales de los materiales cerámicos porosos

Muestra	Fracción de fase (% peso)			Parámetros de red (Å)			Volumen de celda (Å ³)			χ^2
	Na ₂ Ti ₆ O ₁₃	Na _{0.8} Ti ₄ O ₈	Rutilo	Na ₂ Ti ₆ O ₁₃	Na _{0.8} Ti ₄ O ₈	Rutilo	Na ₂ Ti ₆ O ₁₃	Na _{0.8} Ti ₄ O ₈	Rutilo	
Archivo PDF	PDF#98-000-8073	PDF#98-000-8075	PDF#98-001-7802	a=15.13	a=12.14	a=b=4.6	512.18	289.61	62.91	-
				b=3.74	b=3.82	c=2.96				
				c=9.15	c=6.45					
T1:1100° C-4h- 15%	3.55	83.27	13.16	a=15.26	a=12.24	a=b=4.6	509.31	289.98	62.75	2.2
				b=3.74	b=3.81	c=2.96				
				c=9.04	c=6.49					
T2:1100° C-8h- 15%	19.57	36.97	43.45	a=15.11	a=12.23	a=b=4.59	512.84	290.11	62.47	2.22
				b=3.74	b=3.82	c=2.96				
				c=9.17	c=6.49					
T3:1100° C-4h- 30%	86.63	13.36	-	a=15.10	a=12.25	-	513.02	293.46	-	2.22
				b=3.74	b=3.85					
				c=9.17	c=6.50					
T4:1100° C-8h- 30%	67.15	32.84	-	a=15.10	a=12.24	-	512.86	289.83	-	2.29
				b=3.74	b=3.82					
				c=9.17	c=6.50					

La condición T1 mostró tener 3.55 % Na₂Ti₆O₁₃, 83.27 % de Na_{0.8}Ti₄O₈ y 13.16 % de TiO₂ rutilo. Comparando, T2 mostró tener mayor concentración tanto de Na₂Ti₆O₁₃ como de TiO₂ rutilo, mientras que el porcentaje de Na_{0.8}Ti₄O₈ fue menor. La principal diferencia entre T1 y T2 es el aumento del tiempo de sinterización de 4 h a 8 h. La presencia de TiO₂ rutilo y Na₂Ti₆O₁₃ a las condiciones T1 y T2 corresponde con el diagrama de fases Na₂O-TiO₂ (Bouaziz, R. y Mayer, 1971). Otros autores (Sauvet et al., 2004) han demostrado que a temperaturas desde 800 °C y a tiempos de 4 horas de sinterización ocurre la transformación parcial de Na₂Ti₆O₁₃ a TiO₂. A medida que aumenta el tiempo de sinterización, es posible que más Na₂Ti₆O₁₃ se convierta a TiO₂ rutilo como ocurre a la condición T2.

A T3, la proporción de fases en peso obtenidas fue 86.63% de Na₂Ti₆O₁₃ y 13.36% de Na_{0.8}Ti₄O₈. No se observaron picos correspondientes a TiO₂ rutilo. Al comparar este resultado con el obtenido a la condición T4, se encontró que la proporción en peso de Na₂Ti₆O₁₃ fue menor mientras que la proporción en peso de la fase Na_{0.8}Ti₄O₈ fue mayor, por lo cual es posible que un tiempo de sinterización de 8 h promueva mayor formación de la fase Na_{0.8}Ti₄O₈. La principal diferencia entre T1-T2 y T3-T4 es el aumento en el porcentaje de NaHCO₃.

Efecto del tiempo de sinterización y porcentaje de NaHCO₃ (% en peso) en la porosidad superficial

Durante la sinterización, la liberación de gases por la descomposición térmica del NaHCO₃ (Hartman et al., 2013) puede generar espacios vacíos en la estructura. Dependiendo del tiempo de sinterización y porcentaje de NaHCO₃, estos espacios pueden aumentar o disminuir (Figura 2). En la Figura 3 se observa que la porosidad aumenta a medida que aumenta la cantidad de NaHCO₃. En otras palabras, cuanto mayor sea el porcentaje de NaHCO₃, mayor será la porosidad.

Fig. 2: Imágenes SEM de estructuras porosas cerámicas a 5000X (izquierda) y 65X (derecha) a las condiciones (a) T1, (b) T2, (c) T3 y (d) T4.

Fig. 3: Niveles de porosidad (%) según el tratamiento experimental de los materiales. Las barras de error representan las desviaciones estándar de cada medición ($n=20$).

En macrodispositivos, estructuras con tamaño de poro de 450 μm pueden sostener islotes pancreáticos (Pileggi et al., 2006) permitiendo rápida entrada de oxígeno por difusión (Hsu et al., 2013) y manteniendo la supervivencia celular al facilitar el intercambio de nutrientes y liberación de proteínas terapéuticas (por ejemplo insulina) y productos de desecho (por ejemplo CO_2) (Teramura e Iwata, 2010). El tamaño de poro superficial obtenido en el presente trabajo estuvo entre 140.4 μm y 271.49 μm , siendo un tamaño de poro adecuado comparado con el reporte de Pileggi (2009).

Efecto del tiempo de sinterización y % de NaHCO_3

La mayor dureza se obtuvo a las condiciones T1 y T2 como se observa en la Figura 4. Mayor contenido de NaHCO_3 (30%) y tiempo de sinterización de 4 h promueven menor dureza superficial, así como la mayor cantidad de poros en la estructura, dando como resultado menor resistencia a la penetración del indentador. Por otro lado, un tiempo de sinterización de 8 h aumentó el grado de dureza como se observa en la Figura 4 para las condiciones T2 y T4.

En este contexto, otros autores (Daguano et al., 2012) encontraron que la dureza del biovidrio compuesto de 3CaO , P_2O_5 , SiO_2 y MgO aumenta al aumentar la cristalinidad de las muestras en tratamientos a temperaturas más alta (700, 750, 800 y 900 °C durante 4 h), donde se obtuvieron niveles de dureza de 438.5 $\text{HV}_{0.2}$ a 700 °C, mientras que a 900 °C la dureza fue 713.8 $\text{HV}_{0.2}$ a un tiempo de sinterización de 4 h. En el presente trabajo, a la condición T2 las muestras analizadas alcanzaron un nivel de dureza mayor a 800 $\text{HV}_{0.2}$, siendo más de tres veces la dureza del Ti microcristalino (250 $\text{HV}_{0.2}$) (Niespodziana et al., 2010) y más del doble de la dureza indicada en aleaciones de titanio forjado en caliente (Taddei et al., 2004) (350 $\text{HV}_{0.2}$), usadas en implantes ortopédicos.

Los materiales menos citotóxicos fueron los preparados con mayor contenido de NaHCO_3 (30% en peso) y constituidos en su totalidad por las fases $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ y $\text{Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8$. Los valores de citotoxicidad estuvieron por debajo del 7% a las 24 h y a las 48 h de incubación. Por otro lado, los materiales con un menor contenido de NaHCO_3 (15%) constituidos por las fases TiO_2 rutilo, $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ y $\text{Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8$ presentaron citotoxicidad promedio entre 7.13% y 12% a 48 h de incubación. Se puede inferir que la presencia de la fase de TiO_2 rutilo en las muestras aumentó los niveles de citotoxicidad en los materiales desarrollados en la presente investigación. Para todas las condiciones de tratamiento trabajadas en la presente investigación se demuestra que el efecto citotóxico es bajo, en ningún caso se logra una dosis letal 50 sobre la línea celular CHO y la máxima citotoxicidad fue cercana al 13%.

Fig. 4: Valores de microdureza superficial en función del tratamiento experimental. Las barras de error representan las desviaciones estándar de cada medición ($n=30$).

Citotoxicidad en células CHO

En general los resultados de citotoxicidad a las 24 y 48 h en la línea celular CHO mostrados en la Figura 5. son bajos comparada con el control alto (1% de Triton-X 100) (Grobelski et al., 2014).

Fig. 5: Resultados de la prueba de LDH después de 24 h y 48 h de incubación. Las barras de error representan las desviaciones estándar de cada medición ($n=3$).

CONCLUSIONES

Las estructuras porosas compuestas de las fases cristalinas TiO_2 rutilo, $\text{Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8$ y $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ se obtuvieron mezclando TiO_2 con NaHCO_3 y aplicando las técnicas de prensado y sinterizado, variando el tiempo de sinterización en atmósfera Ar. Para la condición T2 la estructura cerámica porosa presenta altos niveles de microdureza superficial (mayor a 800 $\text{HV}_{0.2}$). De acuerdo con los resultados de la prueba de citotoxicidad usando línea celular CHO, las estructuras porosas tuvieron efecto citotóxico bajo, independientemente de las condiciones de tratamiento y la fracción de fase TiO_2 rutilo, $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$ o $\text{Na}_{0.8}\text{Ti}_4\text{O}_8$ (% en peso). No se llega a tener una dosis letal 50 sobre células CHO. En base a los resultados anteriores, los materiales cerámicos porosos evaluados podrían usarse como dispositivos para aplicaciones ortopédicas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se llevó a cabo con el apoyo financiero de la Universidad del Valle (proyecto interno # 2838), la beca doctoral Colciencias (# 528) y con el apoyo del grupo de investigación de Cerámica Multifuncional de la unidad de Cinvestav-Querétaro y el Laboratorio Nacional de Proyección Térmica (CENAPROT).

REFERENCIAS

- Andersson, S. y A. Wadsley, $\text{Na}_x\text{Ti}_4\text{O}_8$ an Alkali Metal Titanium Dioxide Bronze, *Acta Crystallogr.*, 15(3), 201-206 (1962)
- Baliteau, S., A. Sauvet, C. Lopez y P. Fabry, Controlled Synthesis and Characterization of Sodium Titanate Composites $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7/\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$, *Solid State Ionics*, 178(2007), 1517–1522 (2007)
- Bamberger, C.E. y G.M. Begun, Sodium Titanates: Stoichiometry and Raman Spectra, *J. Am. Ceram. Soc.*, 70(3), C-48-C-51 (1987)
- Bartolo, P., J. P. Kruth y otros siete autores, Biomedical Production of Implants by Additive Electro-Chemical and Physical Processes, *CIRP Ann Manuf. Technol.*, 61(2) 635-655 (2012)
- Basante-Romo, M., O. Gutierrez y R.J. Camargo-Amado, Evaluación de la Citotoxicidad Inducida Por TiO_2 Modificado Funcionalizado Con Folato Y Oro Sobre Líneas Celulares de HeLa Y CHO, *Inf. Tecnol.*, 27(5), 63-68 (2016)
- Becker, I., I. Hofmann y F.A. Müller, Preparation of Bioactive Sodium Titanate Ceramics, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 27(16), 4547–4553 (2007)
- Bouaziz, R. y M. Mayer, The Binary Sodium Oxide-Titanium Dioxide, *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 272, 1874-1877 (1971)
- Casis, N., M. M. Fidalgo, S. Ravaine y D. A. Estenoz, Elaboración de Membranas Poliméricas Porosas a partir de Cristales Coloidales, *Inf. Tecnol.*, 21(1), 3-8 (2010)
- Collazos-Castro J.E., A.M. Cruz y otros nueve autores, Neural Cell Growth on TiO_2 Anatase Nanostructured Surfaces, *Thin Solid Films*, 518(1), 160-70 (2009)
- Cytotoxicity Detection Kit (LDH), (11), 1–20 (2012)
- Daguano, J., P. A. Suzuki y otros tres autores, Evaluation of the Micro-Hardness and Fracture Toughness of Amorphous and Partially Crystallized $3\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ Bioglasses, *Mater. Sci. Eng.*, A, 533, 26-32 (2012)
- Grobelski, B., W. A. Radoslaw y otros siete autores, Biocompatibility of Modified Bionanocellulose and Porous Poly(ϵ -Caprolactone) Biomaterials, *Int. J. Polymer. Mater. and Polymer. Biomater.*, 63(10), 518-526 (2014)
- Hartman, M., K. Svoboda, M. Pohořelý y M. Šyc, Thermal Decomposition of Sodium Hydrogen Carbonate and Textural Features of Its Calcines, *Ind. Eng. Chem. Res.* 52(31), 10619-10626 (2013)
- Hsu, H.C., S. K. Hsu y otros tres autores, Design and Characterization of Highly Porous Titanium Foams with Bioactive Surface Sintering in Air, *J. Alloys Compd.*, 575, 326–32 (2013)
- Hutmacher, D. W., Scaffolds in Tissue Engineering Bone and Cartilage, *Biomaterials*, 21(24) 2529-2543 (2000)
- Iacovacci, V., L. Ricotti, A. Menciasci y P. Dario, The Bioartificial Pancreas (BAP): Biological, Chemical and Engineering Challenges, *Biochem. Pharmacol.*, 100(2016) 12-27 (2016)
- Kriz, M.D., V. Greg y otros cuatro autores, A Novel Technique for the Transplantation of Pancreatic Islets within a Vascularized Device into the Greater Omentum to Achieve Insulin Independence, *Am. J. Surg.*, 203(6), 793-797 (2012)
- Minjing, Z., L. Gang y otros tres autores, Preparation of Porous TiO_2/Ti Composite Membrane for Immunoisolation, *Appl. Surf. Sci.* 255(5), 2256-2258 (2008)
- Nafea, E.H., A. Marson, L. Poole-Warren y P. J. Martens, Immunoisolating Semi-Permeable Membranes for Cell Encapsulation: Focus on Hydrogels, *J. Controlled Release*, 154(2), 110-122 (2011)
- Niespodziana, K., K. Jurczyk, J. Jakubowicz y M. Jurczyk, Fabrication and Properties of Titanium–Hydroxyapatite Nanocomposites, *Mater. Chem. Phys.*, 123(1), 160-165 (2010)

- Ochoa, Y., Y. Ortégón, M. Vargas y J. E. Páez, Síntesis de TiO_2 , Fase Anatasa, por el Método Pechini, *Rev. Latinoam. de Metalug. y Mater.*, 1(3), 931-937 (2009)
- Ohtsu, N., S. Semboshi, C. Abe y S. Tokuda, Fabrication of Composite Coating Comprising Bioactive Calcium and Sodium Titanates on Titanium Using Calcium Hydroxide Slurry Containing Sodium Ions, *Surf. Coat. Technol.*, 205(13–14), 3785-3790 (2011)
- Pileggi, A., R.D. Molano y otros cinco autores, Reversal of Diabetes by Pancreatic Islet Transplantation into a Subcutaneous, Neovascularized Device, *Transplantation*, 81(9), 1318–24 (2006)
- Preda, S., V. S. Teodorescu y otros tres autores, Influence of the TiO_2 Precursors on the Thermal and Structural Stability of Titanate-Based Nanotubes, *J. Mater. Res.*, 28(3), 294-303 (2013)
- Randall, C.L., Y. V. Kalinin y otros tres autores, Self-Folding Immunoprotective Cell Encapsulation Devices, *Nanomedicine: N.B.M.*, 7(6), 686–89 (2011)
- Ren, J., Y. P. Zeng y D. Jiang, Preparation of Porous TiO_2 by a Novel Freeze Casting, *Ceram. Int.*, 35(2) 1267-1270 (2009)
- Rokstad, A.M., I. Lacík, P. de Vos y B. L. Strand, Advances in Biocompatibility and Physico-Chemical Characterization of Microspheres for Cell Encapsulation, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 67(68) 111-130 (2014)
- Sauvet, A.L., S. Baliteau, C. Lopez y P. Fabry, Synthesis and Characterization of Sodium Titanates $\text{Na}_2\text{Ti}_3\text{O}_7$ and $\text{Na}_2\text{Ti}_6\text{O}_{13}$, *J. Solid State Chem.*, 177(12), 4508-4515 (2004)
- Shen, Y., Z. Hua, L. Zhang y X. Hao, Bioglass-Assisted Preparation of Network Sodium Titanate Bioceramics, *RSC. Adv.*, 5(24), 18788-18795 (2015)
- Taddei, E.B., V. A. Henriques, C. R. Silva y C. A. Cairo, Production of New Titanium Alloy for Orthopedic Implants, *Mater. Sci. Eng., C* 24(5), 683-687 (2004)
- Teramura, Y. y H. Iwata, Bioartificial Pancreas Microencapsulation and Conformal Coating of Islet of Langerhans, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 62(7–8), 827-840 (2010)
- Zárate, R.A., S. Fuentes, A.L. Cabrera y V. M. Fuenzalida, Structural Characterization of Single Crystals of Sodium Titanate Nanowires Prepared by Hydrothermal Process, *J. Cryst. Growth*, 310(15), 3630-3637 (2008)
- Zhao, L., J. Chang y W. Zhai, Effect of Crystallographic Phases of TiO_2 on Hepatocyte Attachment, Proliferation and Morphology, *J. Biomater. Appl.*, 19(3), 237-52 (2005)