



**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES
ELECTROACTIVOS PARA SOPORTE DE CRECIMIENTO NEURONAL**

Ana Milena Cruz Rodríguez

Tesis Doctoral

Programa de Doctorado en Ciencia de Materiales

Directora: Prof. Nieves Casañ Pastor

Tutor: Dr. Josep Peral

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
FACULTAD DE CIENCIAS



JULIO DE 2010



Capítulo 4

Capas de IrO_x

En este capítulo se resume los resultados obtenidos en la síntesis y caracterización de capas finas de óxido de iridio y su interacción con células neuronales con el fin de evaluar su idoneidad como sustratos para el crecimiento neuronal, y su comportamiento en medios celulares del sistema neuronal.

Primero se realiza una introducción sobre el IrO₂ donde se mencionan referencias sobre los métodos de obtención comúnmente utilizados, y el desarrollo del método de síntesis utilizado en este trabajo en este aspecto. Además se mencionan las características resultantes de las diferentes síntesis así como también se mencionan aplicaciones en el área neurológica.

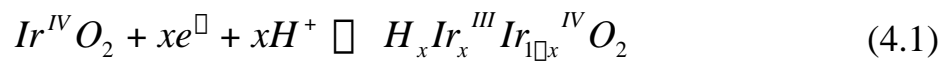
Luego se presenta un estudio de la estructura y superficie de la fase obtenida y las diferencias con las fases reportadas anteriormente en la bibliografía. De acuerdo con los datos obtenidos en la caracterización y las propiedades electroquímicas del material obtenido se realiza un análisis sobre las posibles reacciones presentes en el método de síntesis, y la singularidad de la fase obtenida en el método electroquímico seguido.

Una vez expuestas las propiedades fisicoquímicas del material en estudio se muestran los resultados de compatibilidad de las capas con neuronas mediante cultivos de 4 y 7 días *in vitro* usando diferentes densidades celulares con el fin de cuantificar la supervivencia celular así como la extensión de las neuronas.

Por último se presentan las conclusiones donde se correlacionan los resultados obtenidos en la caracterización de la fase obtenida con los datos provenientes de los cultivos celulares.

4.1 Óxido de Iridio

El óxido de iridio IrO_2 cristaliza en la misma estructura cristalina que una de las formas del TiO_2 , la estructura rutilo (Figura 4.1). Además presenta valencia mixta en prácticamente todas las fases, $\text{Ir}^{(\text{III})}$ - $\text{Ir}^{(\text{IV})}$, y es un buen conductor eléctrico mixto con capacidad de sufrir reacciones de intercalación durante sus procesos redox de acuerdo a la reacción de ejemplo (el catión intercalado puede variar):



Ello le confiere una capacidad de carga en su uso como electrodo, que disminuye su impedancia y los efectos derivados facilitando su uso como electrodo en sistemas biológicos.

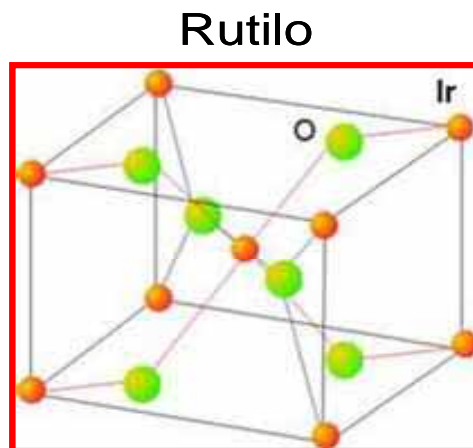


Figura 4.1 Estructura del IrO_2 .

El material que se pretende usar como electrodo en tejidos biológicos ya sea para electroestimulación o en un posible intento de promover el crecimiento neuronal, la adhesión o supervivencia está sujeto a grandes limitaciones. Es necesario que sea altamente biocompatible e inerte y además la aplicación de un campo eléctrico no debe inducir cambios significativos en el medio o en la superficie que puedan producir la muerte o necrosis de las células, tales como incremento de temperatura, cambios en el pH, cambios iónicos o generación de radicales. Se han estudiado diferentes electrodos inertes como el Pt, el Au o aleaciones de estos como el Pt-Ir con un éxito relativo al ser usados en medios biológicos [1,2]. Sin embargo, la inercia química de estos electrodos favorece la

formación de una doble capa en la interfase electrodo/medio cuyo valor de capacidad restringe el rango de uso del material en términos de capacidad de carga disponible (cercana a $200 \text{ } \mu\text{C}/\text{cm}^2$) en los experimentos [3]. A su vez la propia inercia química restringe la ventana de potencial para medios acuosos debido a la formación de radicales de oxígeno, que pueden inducir la muerte celular, que se genera por reducción de O_2 disuelto, o la oxidación del H_2O .

En el caso de los sistemas neuronales de difícil acceso, la implantación de materiales electroactivos podría promover funciones de la célula específicas a través de la aplicación de un campo eléctrico en ciertos lugares del sistema nervioso central, modular el ambiente celular por medio de un control cuidadoso del estado de oxidación y del potencial de la superficie cercana a la célula.

El uso de electrodos de óxido de iridio para neuroestimulación está en aumento debido a que el IrO_x es superior a metales como el Pt o el Au en términos su capacidad de carga (mC/cm^2 en este caso), o el valor máximo de corriente seguro para ser utilizado en estimulación [4-6]. Así, es posible la transferencia de carga al tejido a través de reacciones faradaicas internas del óxido en lugar de reacciones perjudiciales y sin un aumento significativo en la temperatura. Esta propiedad es principalmente debida a la posible transformación entre estados de valencia $\text{Ir}^{(\text{III})}$ y $\text{Ir}^{(\text{IV})}$, en la capa de óxido, lo que produce una baja impedancia.

El IrO_2 también es utilizado en otros campos como catálisis [7], en dispositivos electrocrómicos y memorias ferroeléctricas [8] debido a su estructura electrónica, valencia mixta y propiedades conductoras. Existen muchas discusiones en la bibliografía sobre el estado de valencia mixto real entre +3 y +4 [9,10] o también entre +4, +5 y +6. Esta ambigüedad se debe a que las técnicas de caracterización estructural comúnmente utilizadas, como XPS, no son sensibles a la variación entre los diferentes estados de oxidación del iridio oxidado aunque si diferencian entre el iridio metálico y el resto.

Por otro lado, se han descrito varios procedimientos para la obtención del óxido de valencia mixta, algunos basados en métodos de deposición física como *sputtering* [5], anodización química del metal Ir [11] o deposición electroquímica partiendo de sales de $\text{Ir}^{(\text{III})}$ o $\text{Ir}^{(\text{IV})}$ [12]. Aunque en la bibliografía todos los

materiales obtenidos son considerados iguales en esencia, existen una serie de contradicciones que muestran que hay diferencias estructurales y morfológicas importantes dependiendo del método de preparación utilizado. En particular se sabe que el IrO₂ obtenido electroquímicamente posee mejores propiedades que otros si es aplicado en el campo de la electroestimulación [4-6]. Algunas de las fases descritas en la bibliografía difieren en pureza (comúnmente se encuentran residuos de cloro en algunas rutas químicas) [12] o en contenido de oxígeno en la estructura (dependiendo de la temperatura de preparación y de la cristalinidad final) [13]. El estado redox final y por lo tanto las propiedades electroquímicas son altamente dependientes del método de síntesis y de la estructura final obtenida. Dejando a un lado los métodos a alta temperatura que producen IrO₂ con alto grado de cristalinidad pero en detrimento de las propiedades electroquímicas, existen dos métodos, la hidrólisis química y la electrodeposición, que parecen dar como resultado una fase similar. Por un lado se tiene la hidrólisis del cloruro de Ir(III), IrCl₃, en presencia de iones de litio [14] que pueden ser fácilmente eliminados del producto final. La fase obtenida es cuasi amorfa con patrones de difracción de rayos X anchos cuyos máximos se corresponden con la fase rutilo o con la hollandita. Por otro lado, está la electrodeposición propuesta por Petit et al. partiendo de disoluciones envejecidas de Ir^(III) y oxalato que son oxidadas a corriente constante [15]. En este caso, la fase obtenida tiene una densidad muy baja y una estructura también cuasi amorfa. En este caso autores informan que el número de electrones involucrados en la oxidación electroquímica es 4.2 electrones/Ir, valor que no corresponde con ningún cambio de valencia esperado para el iridio. Las divergencias entre propiedades que dependen del método de preparación del IrO_x hacen necesaria una caracterización profunda de la fase obtenida, teniendo en cuenta el uso al que se pretende destinar.

En este trabajo se obtuvieron capas finas de óxido de iridio por electrodeposición con un procedimiento basado en las disoluciones de Petit et al. [15]. El procedimiento fue optimizado para que permitiera obtener electrodos translucidos y bien adheridos en forma de capas finas para su posterior uso en aplicaciones biológicas y cultivos celulares. Las capas fueron depositadas sobre sustratos de vidrio (soda lime) recubiertos con una capa de adhesión de Ti (5 nm)

y una capa conductora de Pt (12 nm). Posteriormente se realizó una caracterización estructural, microestructural y electroquímica de las muestras por diferentes técnicas. Una vez caracterizadas las muestras, se realizaron cultivos neuronales sobre ellas con el fin de establecer una correlación entre la microestructura, las propiedades y la supervivencia celular en los diferentes materiales, así como el desarrollo celular. La Figura 4.2 muestra un diagrama de flujo de las actividades realizadas:

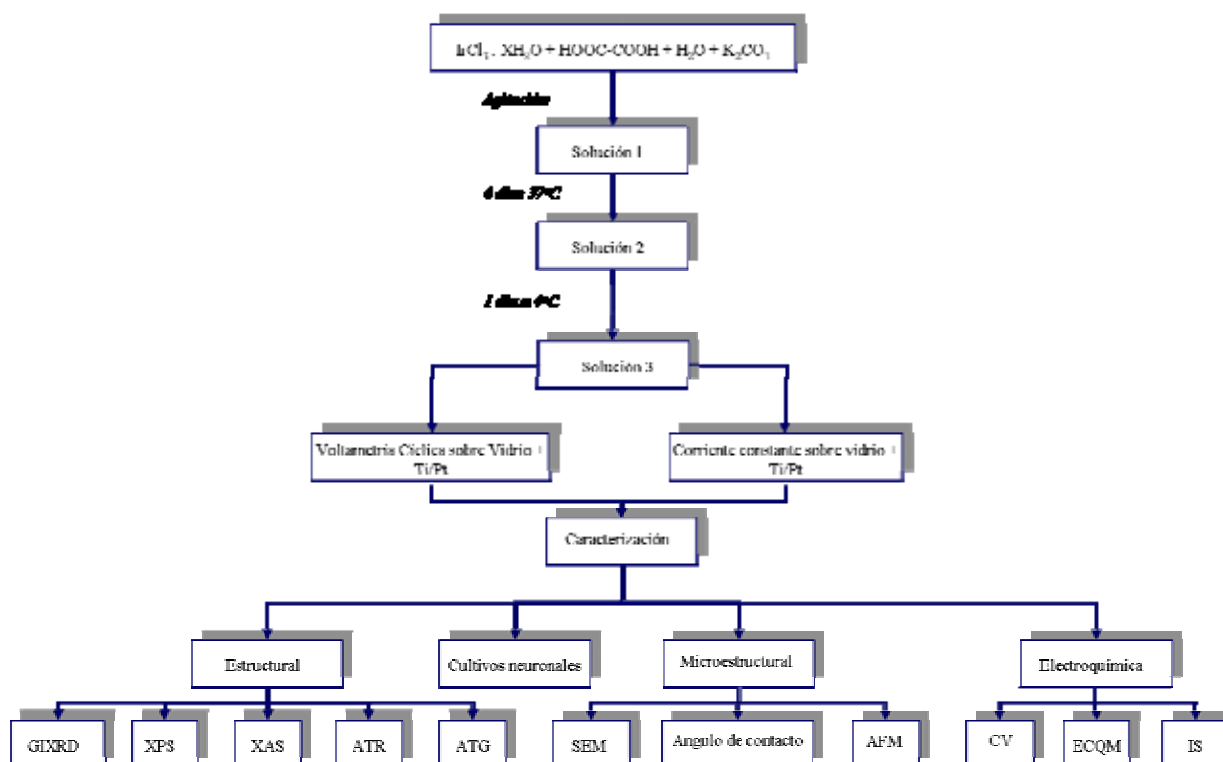


Figura 4.2 Diagrama de flujo para la obtención y caracterización de las capas de IrO_x

4.2 Obtención Electroquímica de Capas Finas de IrO_2

Las capas finas de IrO_x fueron obtenidas por electrodeposición según el método descrito en el apartado 2.1.3 del capítulo 2. El cambio de color de la disolución de partida mostrado en la Figura 4.3 está relacionado, como se verá más adelante, con un cambio de coordinación y posiblemente del estado de oxidación del iridio simultáneamente.

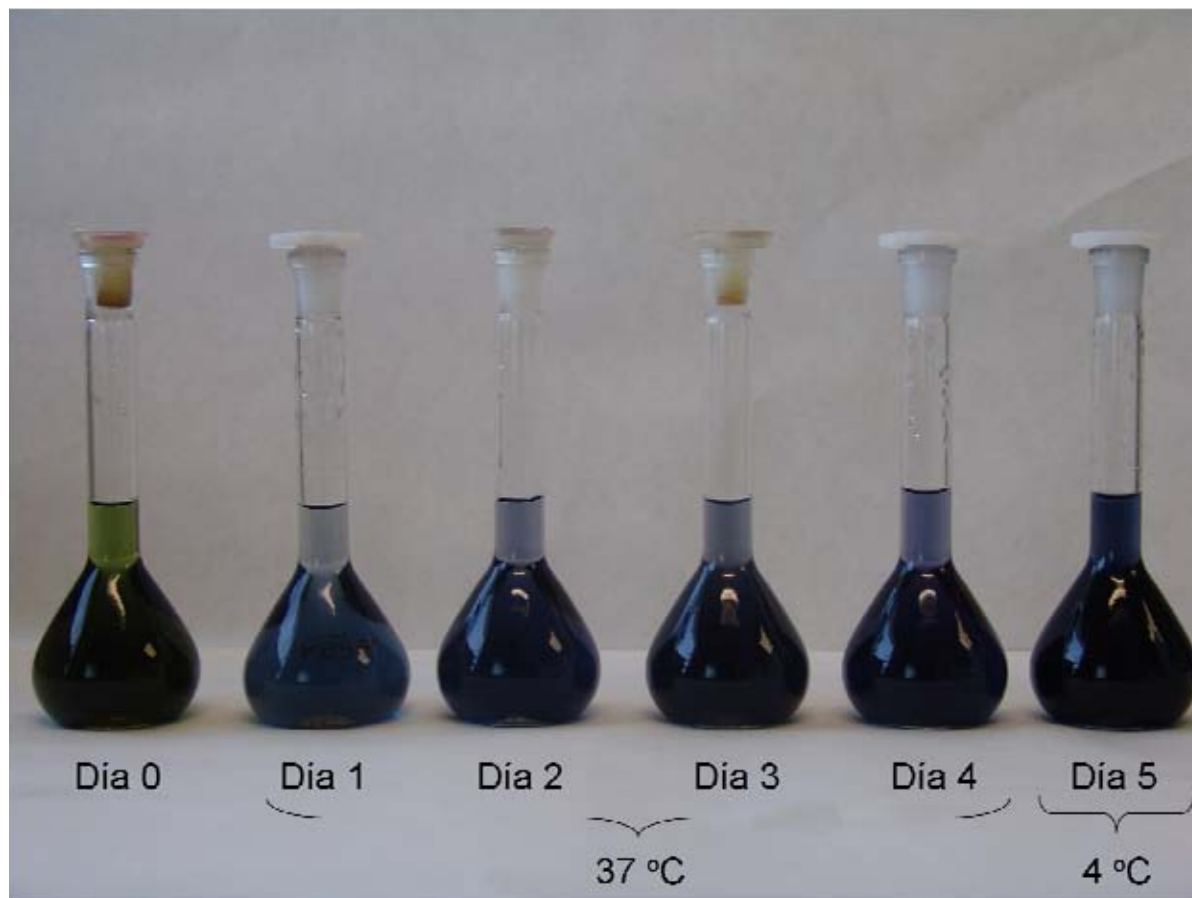


Figura 4.3 Evolución de las disoluciones de iridio utilizadas para la síntesis electroquímica de las capas finas de IrO_x durante la etapa de envejecimiento.

La síntesis realizada a corriente constante reproduciendo el método publicado por Petit et al. [15] da lugar a depósitos negros dendríticos, donde los granos están poco adheridos. Por ello se implementó un método de barrido dinámico de potencial como se explica en el capítulo 2, que permitió aumentar la adhesión y definir espesores más finos.

La Figura 4.4 muestra la primera voltametría cíclica observada en la síntesis, relacionada con procesos de oxidación y la serie de voltametrías cíclicas realizadas para obtener las capas de IrO_x a potencial dinámico. En ella se observa una cierta histéresis (los diversos ciclos no se solapan) y un aumento de la corriente de deposición a medida que aumenta el material depositado. Esto implica un aumento de la capacidad, al crecer el grosor de IrO_x alcanzando valores de $40 \text{ } \mu\text{C}/\text{cm}^2$ en las capas de 50 ciclos y $70 \text{ } \mu\text{C}/\text{cm}^2$ en las de 100 ciclos, valores considerables teniendo en cuenta su mínimo espesor.

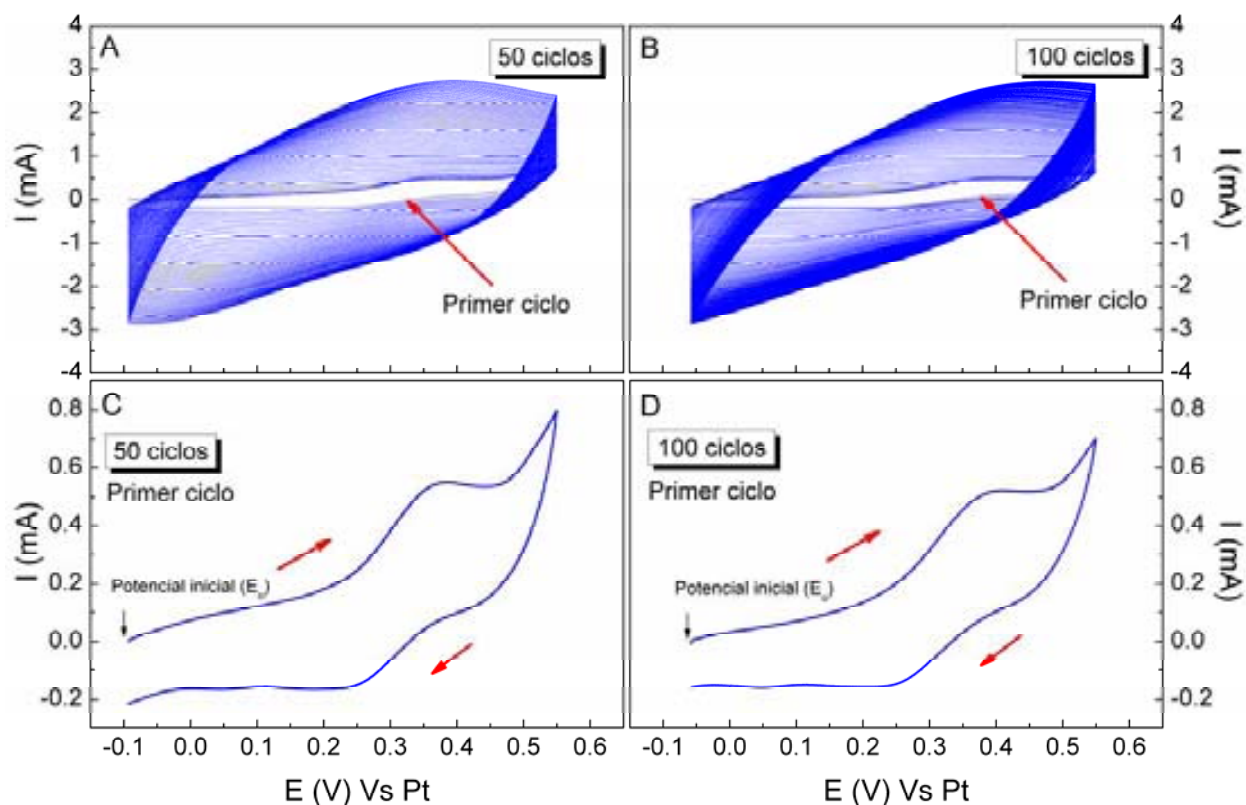


Figura 4.4 Voltametrías cíclicas de la síntesis electroquímica de capas de IrO_x A) y C) 50 ciclos. B) y D) 100 ciclos. (El primer ciclo es el de menor intensidad).

Las capas obtenidas fueron translúcidas, de color negro en el caso de corriente constante y azules con patrones de interferencia en las muestras crecidas a potencial dinámico debido a que tienen poco espesor. Tanto las imágenes de SEM como los resultados de reflectometría muestran valores de espesor de las capas del orden de 125 nm en muestras de 50 ciclos y 330 nm en las de 100 ciclos (Figura 4.5). Las capas óptimas (mejor adherencia y afinidad celular, ver apartado 4.9) fueron obtenidas a 10 mV/s con 50 ciclos.

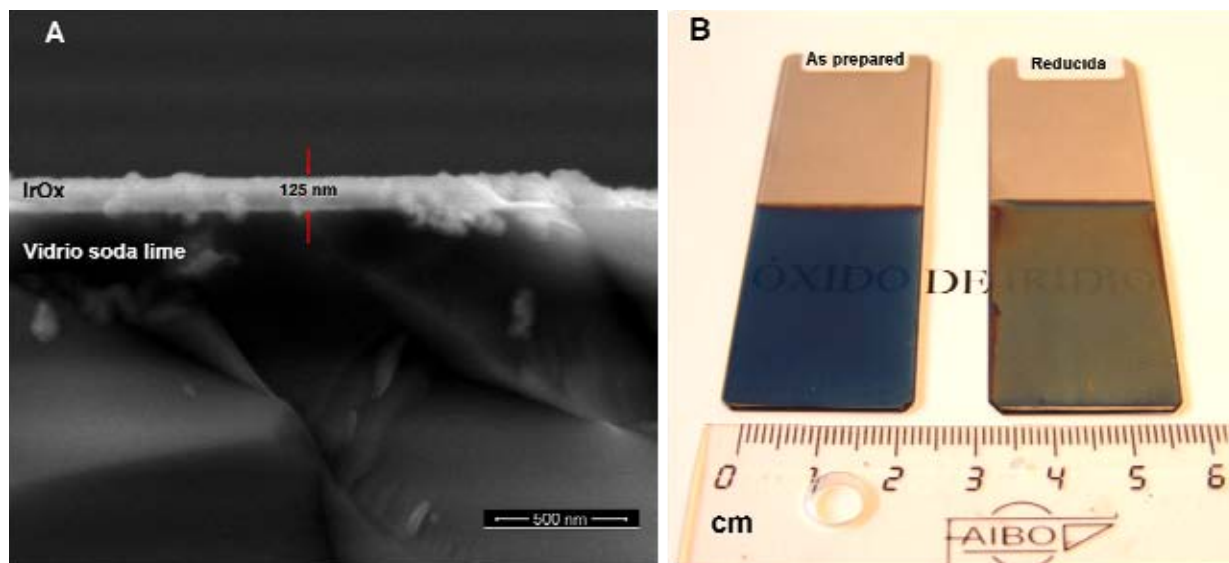


Figura 4.5 A) Imagen de fractura de SEM de una capa de IrO_x obtenida electroquímicamente a potencial dinámico a 0.55V con una velocidad de 10 mV/s 50 ciclos y B) Vista desde arriba de capas de IrO_x obtenida electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V con una velocidad de 10 mV/s 50 ciclos) “as prepared” y reducida a -0.23V en K_2CO_3 18s.

4.3 Procesos de Oxidación

Debido a observaciones en la caracterización inicial de las superficies se abordó el estudio del mecanismo de reacción que da lugar al depósito. Además de realizar voltametrías cíclicas para ver los procesos involucrados en la síntesis se obtuvo in situ la relación carga masa, Q/m , mediante medidas de la masa depositada y la carga utilizada en la síntesis por EQCM. Las capas fueron depositadas mediante el mismo método de síntesis y las mismas concentraciones (voltametrías cíclicas a 0.55V con una velocidad de 10 mV/s 50 ciclos) sobre un cristal de cuarzo con un electrodo circular de platino de 0.7 mm de diámetro. La figura 4.6 muestra la voltametría cíclica de la síntesis junto con la evolución de la frecuencia registrada in situ.

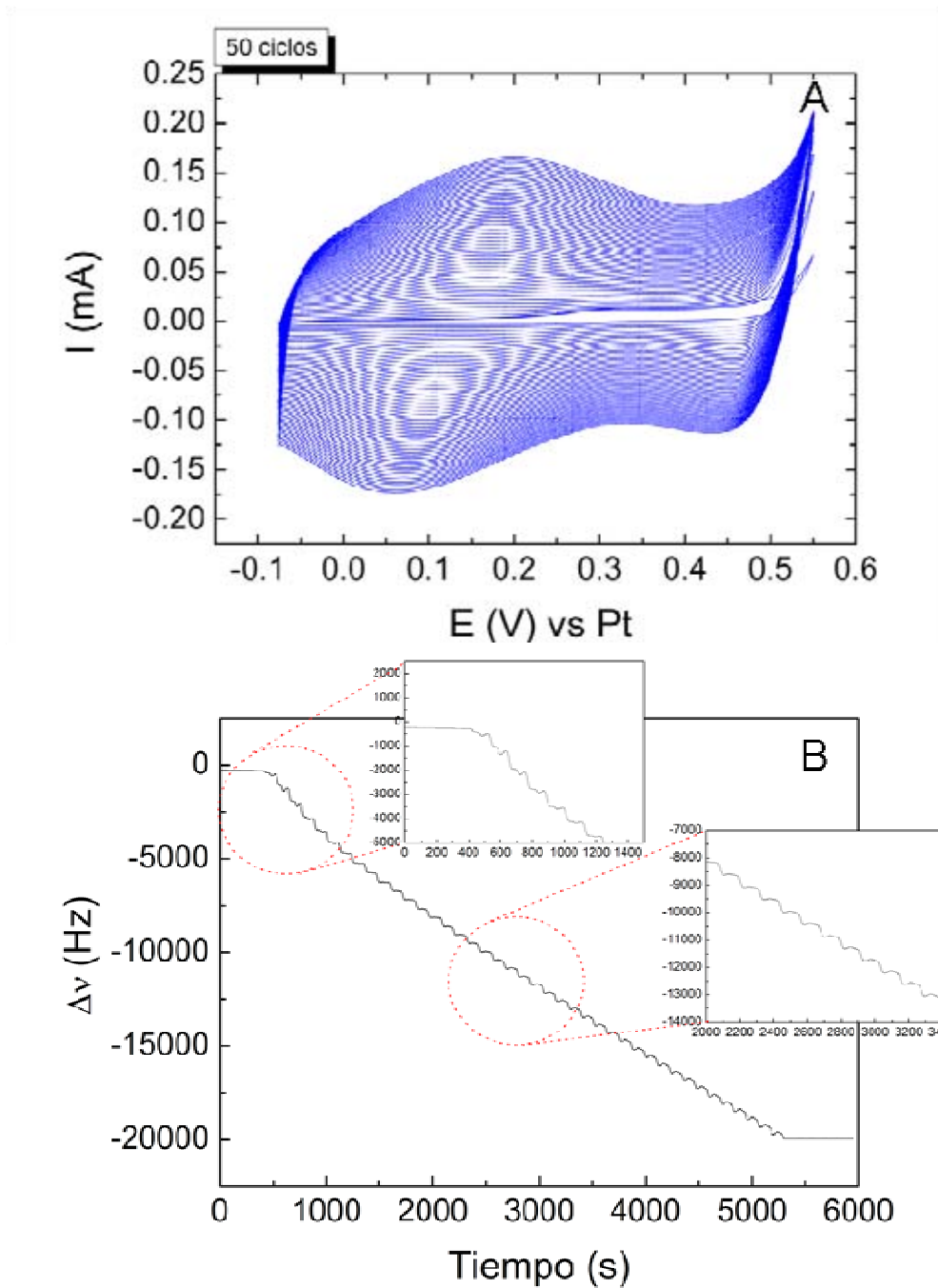


Figura 4.6 Síntesis electroquímica de una capa de IrO_x A) Potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) B) Resultados de EQCM.

El valor final de masa depositada a los 50 ciclos fue del orden de los 13.2 μg según la ecuación:

$$\Delta m = \frac{\Delta Q n F S}{\rho_o} \quad (4.2)$$

donde N es el módulo de cizalladura, r_q es la densidad del cuarzo S es el área de la superficie y ω_0 es la frecuencia inicial (esta ecuación puede utilizarse solo en caso de que los cambios de admitancia sean despreciables, como así se comprueba).

La deposición de la masa Δm se realizó con una carga, Q , de oxidación simultánea de 22 mC, por lo tanto la oxidación electroquímica que forma la capa involucra una relación global carga/masa de 4.2 electrones por iridio evidenciando un mecanismo de formación complejo. La carga total es superior a lo esperado en una oxidación simple del Ir^{+3} al Ir^{+4} lo que significa que existe un proceso de oxidación adicional en la síntesis del IrO_x utilizada.

Si se representa cada ciclo independiente en su variación de masa se puede ver que de hecho no se evidencia un aumento de masa hasta el cuarto ciclo (Figura 4.7). Además, hasta el ciclo 10 parece que antes de la deposición hubiera una disminución de la masa al iniciar cada ciclo.

Teniendo en cuenta que el producto final de la electrodeposición es el óxido de iridio una posible explicación para un Δm negativo podría ser la formación de gas en la superficie del cristal de cuarzo durante la síntesis resultado de una reacción secundaria, por ejemplo la formación de CO_2 en la oxidación del oxalato, de acuerdo con la reacción:



Solamente el oxalato puede oxidarse a este potencial, produciendo cetonas, carbonato o CO_2 . En el caso de oxidarse el oxalato dejaría iones $\text{Ir}^{(\text{III})}$ libres, que se coordinarían con el agua y en esas condiciones de pH se hidrolizaría formando el óxido. El decrecimiento de la masa seguido por un incremento (Figura 4.7) puede considerarse una prueba de que este tipo de mecanismos están presentes en la reacción de síntesis.

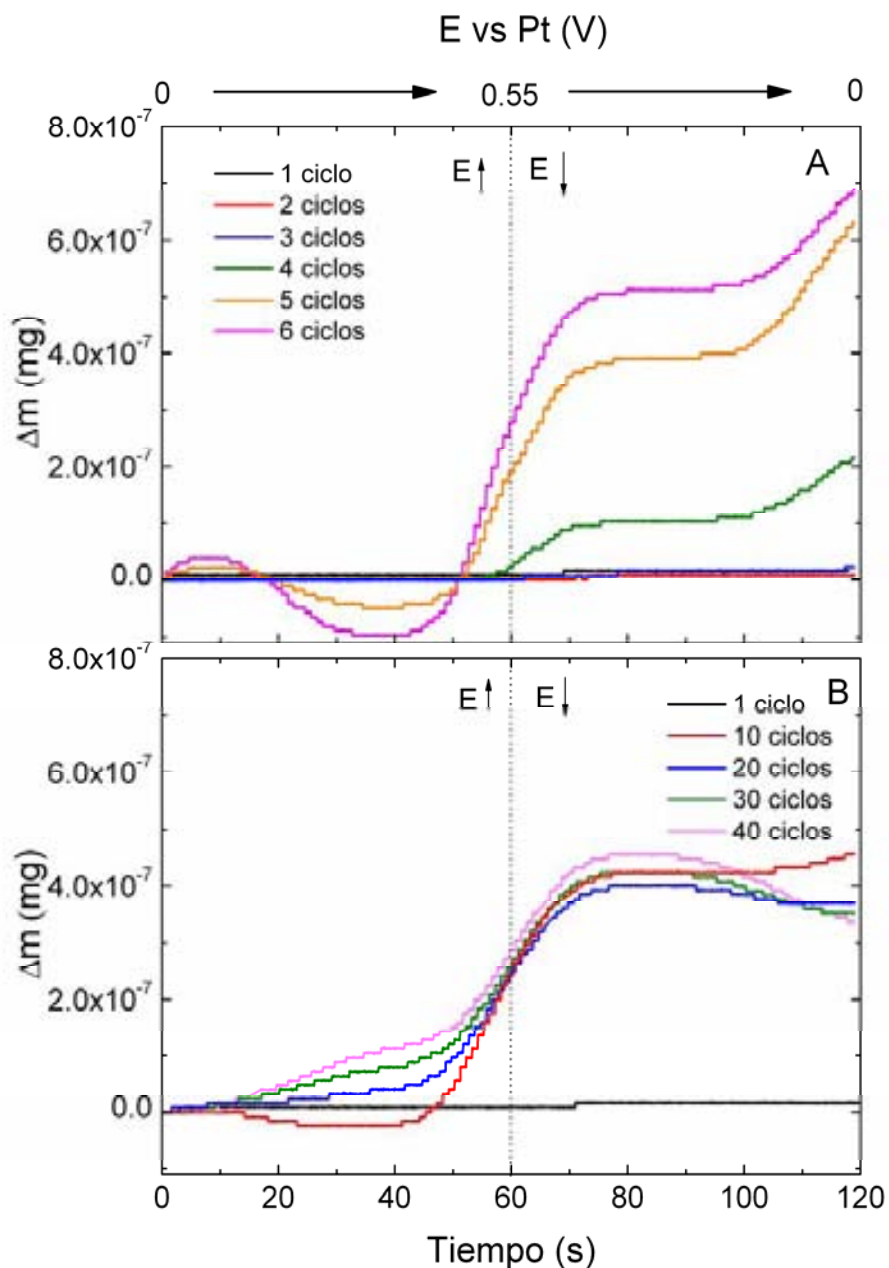


Figura 4.7 Evolución por EQCM de la masa depositada en la síntesis para cada ciclo de una capa de IrO_x (0.55V , 10 mV/s , 50 ciclos) A) En los primeros 6 ciclos y B) En pasos discretos de 10 ciclos.

Además, este mecanismo también es consistente numéricamente, es decir, la oxidación del oxalato involucra 2 electrones por oxalato si se libera CO_2 . Considerando que el $\text{Ir}^{(\text{III})}$ o $\text{Ir}^{(\text{IV})}$ está usualmente hexacoordinado es posible que haya 3 ligandos oxalato bidentados coordinados con el Ir, $\text{Ir}(\text{C}_2\text{O}_4)_3^{2-}$, así si el oxalato se oxida se esperarían 6 electrones por iridio en caso de oxidarse completamente el ligando. Además, es de valencia mixta, hecho que se deduce del

color azul de la disolución, lo que podría añadir carga adicional hasta +7 electrones/Ir.

Después de que el oxalato empieza a ser oxidado en la reacción, los ligandos del iridio pueden cambiar de 3 a 2, 1 o 0 oxalatos y el agua ocuparía las otras posiciones de coordinación, mientras que el número de electrones usado para obtener el óxido de iridio disminuiría. La hidrólisis de estos complejos es conocida, y puede ocurrir una oxidación adicional del iridio una vez que esta libre de ligandos estables. Otros autores han sugerido reacciones secundarias [14] y este estudio de EQCM indica cual es el proceso real de la obtención del óxido.

Si la idea es correcta la voltametría cíclica de una disolución carbonato/oxalato utilizada como blanco, debe presentar picos en la misma región que la disolución de Ir^{3+} utilizada en la síntesis, así como se muestra en la Figura 4.8.

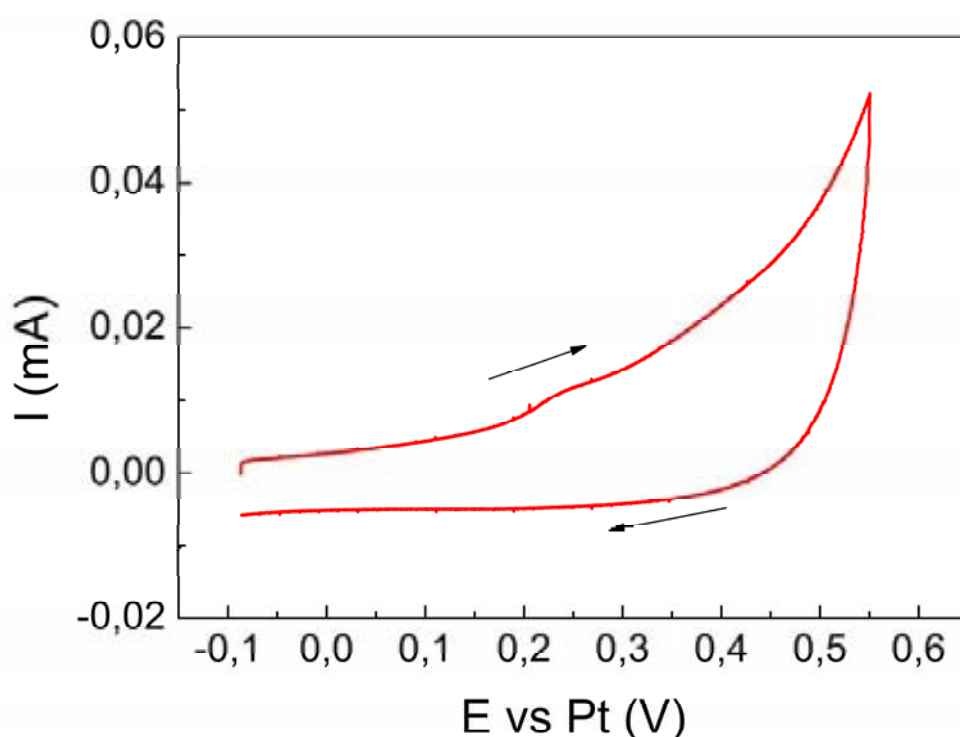


Figura 4.8 Voltametría cíclica de una disolución ácido oxálico (0.2 M) y K_2CO_3 (1 M) (0.55V, 10mV/s, 1 ciclo).

La oxidación del oxalato y el carbonato muestra dos picos alrededor de 0.25V y 0.45V vs. Pt por debajo de la oxidación del agua que puede también puede ocurrir con posibles cambios en el pH.

La poca solubilidad de varias especies posibles de iridio y la liberación de iridio durante la oxidación del oxalato, puede inducir la precipitación de especies mixtas, tales como óxidos o hidróxidos, así como también oxohidroxidos e hidroxio-oxalatos, con contraiones como el K^+ . A ese respecto los resultados de XPS muestran una relación C/Ir mayor a la esperada, aunque el valor observado es muy pequeño, 0.2 vs. 3, comparado con el esperado en el caso de que el oxalato aún estuviese coordinado con el iridio, lo que en sí no descarta la existencia de hidroxio oxalatos en pequeña proporción.

En cualquier caso, la deposición electroquímica del óxido de iridio parece ser en esencia un proceso de hidrólisis. La estructura abierta observada en el análisis estructural puede ser producto de la presencia de especies oxalato en su formación, actuando como una especie de “*template*” sobre el que se forma la fase.

4.4 Análisis Estructural y de Superficie

La Figura 4.9A muestra los difractogramas de GIXRD de una capa de IrO_x obtenida por electrodeposición a potencial dinámico (50 ciclos) a tres ángulos de incidencia diferentes, de 0.3° , 0.35° y 0.5° . En los difractogramas se distinguen 3 picos que corresponden a la estructura del platino metálico utilizado como sustrato y dos picos anchos centrados en 28° y 58° . Dichas posiciones corresponden con dos máximos de difracción del IrO_2 rutilo (110 y 220) y esto indica que el óxido formado es amorfo pero presenta una estructura local similar a la del rutilo. La Figura 4.9B muestra los difractogramas de capas de IrO_x tratadas térmicamente a diferentes temperaturas en aire. A medida que la temperatura de tratamiento aumenta, los picos de la estructura inicial de la muestra “*as prepared*” se van definiendo y aparecen nuevos picos. Esto significa que la capa cristaliza mediante los tratamientos térmicos hasta consolidarse la estructura rutilo.

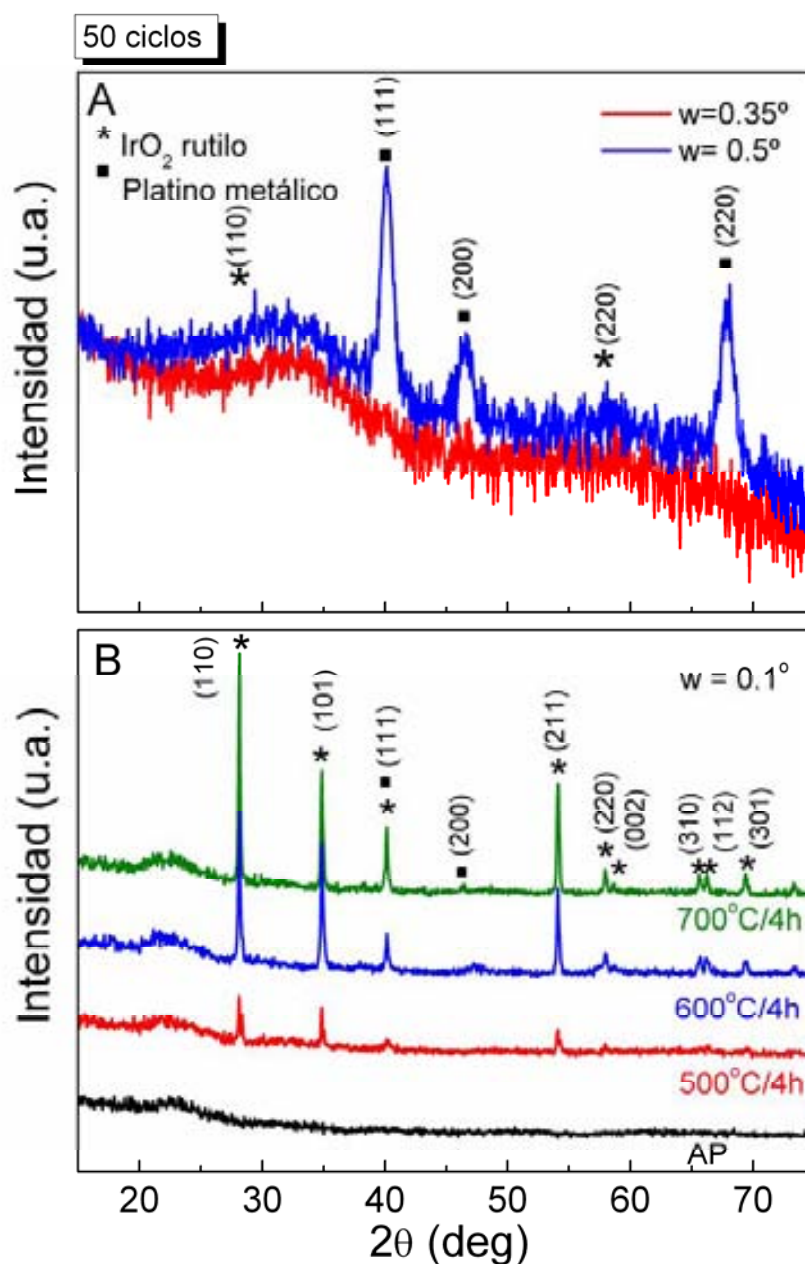


Figura 4.9 Difractogramas de Rayos X de ángulo rasante de capas electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) con diferentes ángulos de incidencia A) Muestra “as prepared” B) “As prepared” (AP) y con diferentes tratamientos térmicos.

El carácter amorfo de la fase y los resultados de XPS mostrados más adelante, indujeron a pensar en un alto contenido de agua en las capas. Por ello se realizaron experimentos de termogravimetría mostrados en la Figura 4.10. Estos gráficos de pérdida de masa muestran que las capas de IrO_x tienen un alto contenido de agua y/o grupos OH⁻ en su estructura. La evaluación independiente de las diversas etapas de pérdida de peso no es posible ya que están solapadas incluso

a velocidades lentas de barrido ($2\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$). La pérdida de peso comienza prácticamente a temperatura ambiente y no finaliza hasta más de $400\text{ }^\circ\text{C}$. Ello evidencia la existencia de H_2O y grupos OH enlazados con distintas energías.

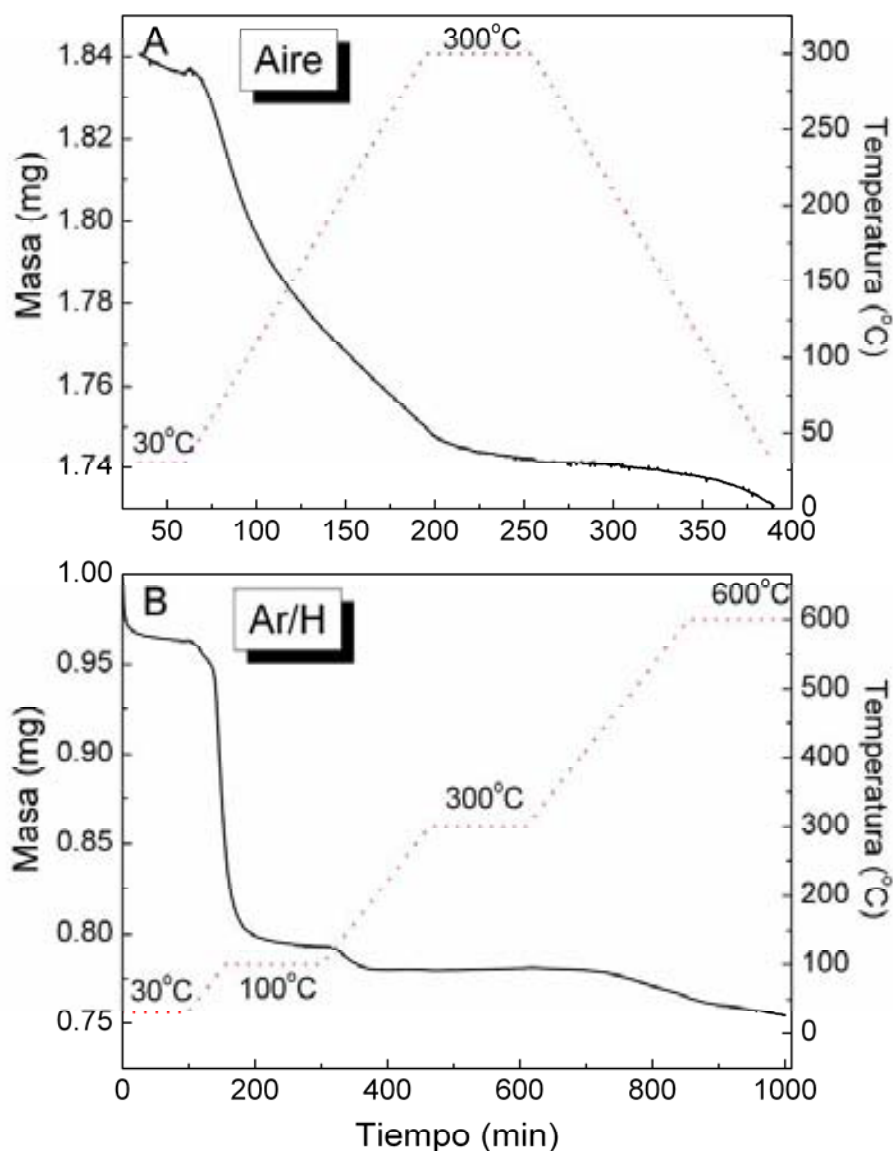


Figura 4.10 Análisis Termogravimétrico de una muestra de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V , 10 mV/s , 50 ciclos) y separada físicamente del sustrato para su análisis A) En aire y B) En atmósfera de Argón/Hidrógeno. La línea roja define las rampas de temperatura realizadas para estabilizar al máximo la masa medida.

Con el fin de estudiar más a fondo la estructura de las capas se realizaron medidas de XPS de la superficie de las capas. Las señales obtenidas de los espectros de XPS mostrados en la Figura 4.11 muestran la existencia de picos

correspondientes al Ir y O como es de esperar, así como C, K y Si. El Si observado forma parte del vidrio soda lime utilizado como sustrato.

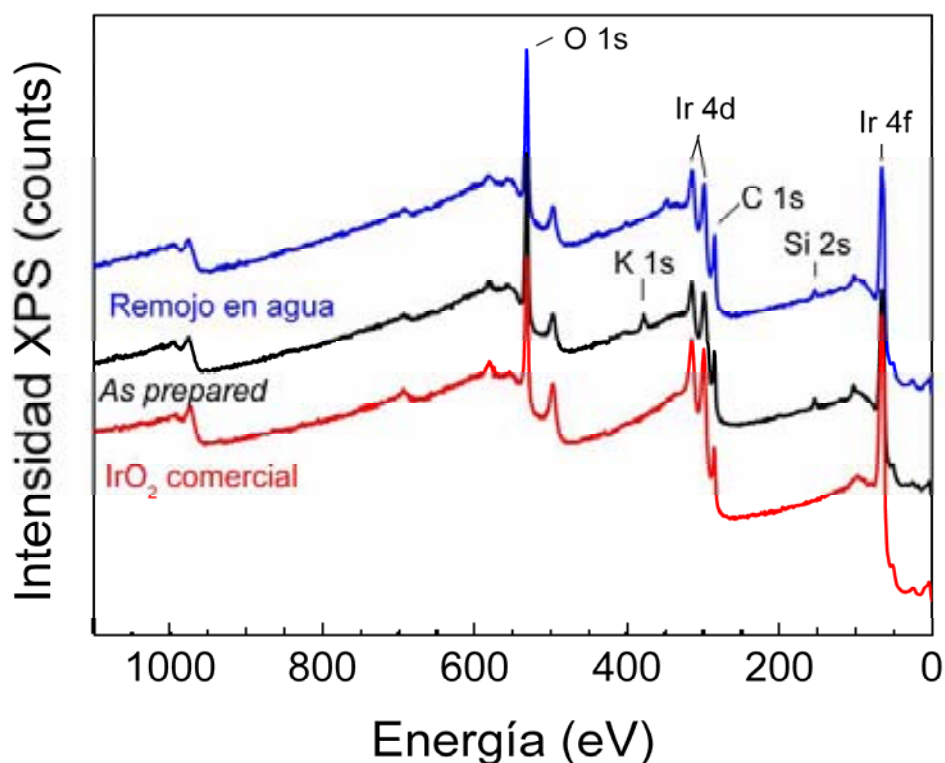


Figura 4.11 Espectro XPS general de IrO_2 comercial de la marca Sigma-Aldrich y capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared” y remojada 7 días en agua.

En la Tabla 4.1 se resumen los valores de la cuantificación de los espectros XPS de capas de IrO_x con distintos tratamientos.

Tabla 4.1 Cuantificación molar de los picos del espectro general de XPS del IrO_2 comercial marca Sigma – Aldrich y para capas de IrO_x depositadas electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) sometidas a diferentes tratamientos.

Muestra	C 1s	O 1s	Ir 4f	K 2s	Si 2s	Na 1s	C/Ir	O/Ir
Sigma-Aldrich	31.3	51.09	17.61	---	---	---	1.8	2.9
As prepared	25.94	40.14	9.82	16.66	7.44	---	3.6	4.1
Sumergida en agua 7 días	38.1	44.56	11.89	---	5.44	---	3.2	3.7
□ 120°C/1h	33.92	41.97	9.39	14.74	---	---	3.6	4.5
□ 500°C/4h	38.9	41.36	7.98	---	---	11.76	4.9	5.2

Para estudiar la naturaleza del K⁺ observado e inesperado en los espectros de XPS se realizaron análisis químicos de las muestras sumergidas en H₂O (según el procedimiento descrito en la sección 2.2.5 del capítulo 2).

En la Tabla 4.2 se muestran los resultados de análisis químico de una muestra de IrO_x sumergida durante 7 días en agua Milli-Q y el correspondiente análisis del líquido del remojo.

Tabla 4.2 Resultados del análisis químico de una capa de IrO_x obtenida electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos) sumergida en agua Milli-Q durante 7 días y el correspondiente análisis químico del líquido de remojo.

Muestra	Ir (µg/l)	K ⁺ (µg/l)
Capa de IrO _x sumergida en agua 7 días	397 ± 10	< 500
Líquido de la inmersión en agua durante 7 días de la capa de IrO _x	14.0 ± 0.1	1844 ± 40
Líquido de la inmersión en agua durante 4 días de la capa de IrO _x	7.8 ± 0.2	1390 ± 90

Los datos del análisis elemental de la Tabla 4.2 así como los resultados de XPS muestran que si el recubrimiento se sumerge en agua durante varios días, el K⁺ pasa a la disolución posiblemente gracias al intercambio iónico K⁺/H⁺, y el análisis químico no muestra K⁺ para dicha capa de IrO_x. De modo correspondiente, el XPS deja de mostrar la señal K 2s cuando la muestra sufre este tratamiento.

Así mismo en la Figura 4.12 se puede observar que existen varias contribuciones en el pico del C que cambian en función del tratamiento realizado a las capas.

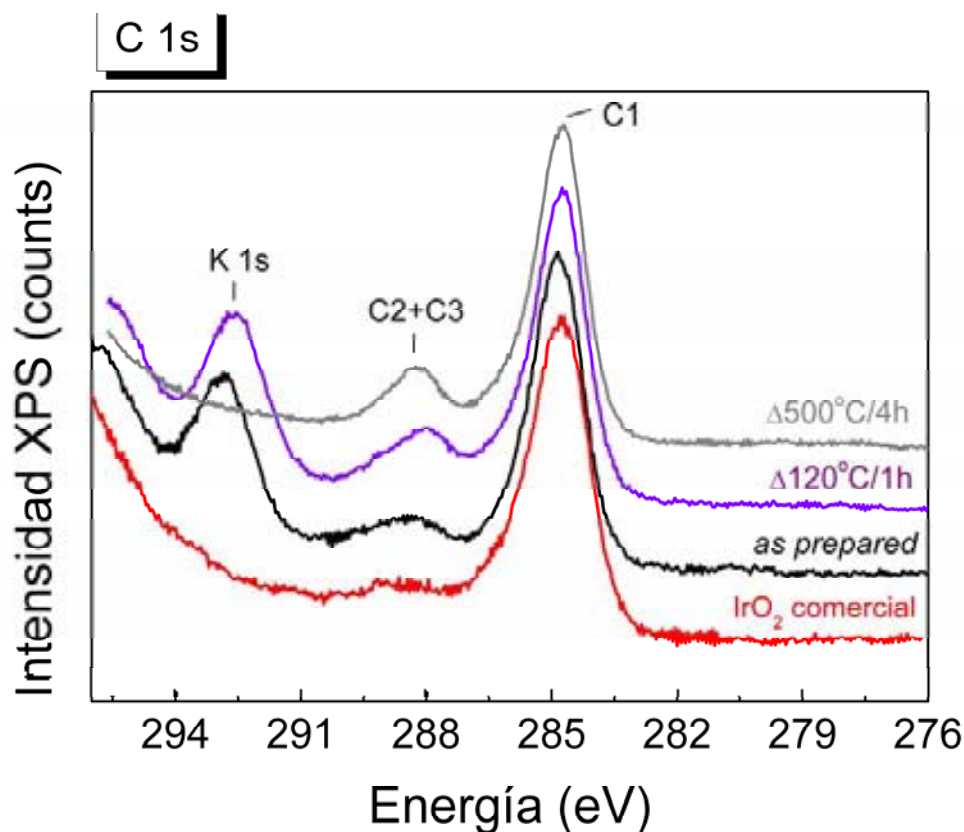


Figura 4.12 Detalle del espectro XPS del pico de C 1s de una muestra de IrO_2 comercial marca Sigma – Aldrich y capas de IrO_x electrodepositada sobre platino a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared”, calentada a 120°C 1 hora y calentada a 500°C 4 horas.

Los máximos observados para el C 1s a 284.8 eV, 288 eV y 289 eV, corresponden con la bibliografía a C alifático, y C enlazado a O y carbonato, CO_3^{2-} (u oxalato, $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$). Una deconvolución realizada mediante el uso de Gaussianas-Lorentzianas permite ajustar la señal del C a 3 o 4 componentes dependiendo de el tratamiento o la naturaleza de cada muestra. Los resultados de las deconvoluciones se muestran en la figura 4.13 y la Tabla 4.3. En todos los casos, el primer máximo a bajas energías, o C1 en la Figura 4.12, puede ajustarse a dos contribuciones, la primera a 284.8 eV y la segunda a 285.9 eV, ambas correspondientes a carbono alifático con o sin oxígeno. En el caso del IrO_2 comercial (Figura 4.13A) se aprecia un tercer pico a \square 289 eV que corresponde a la presencia de carbonato, señal que al igual que en el caso del TiO_2 podría estar presente como señal endémica debido a que las muestras mantenidas en aire pueden reaccionar con el CO_2 atmosférico.

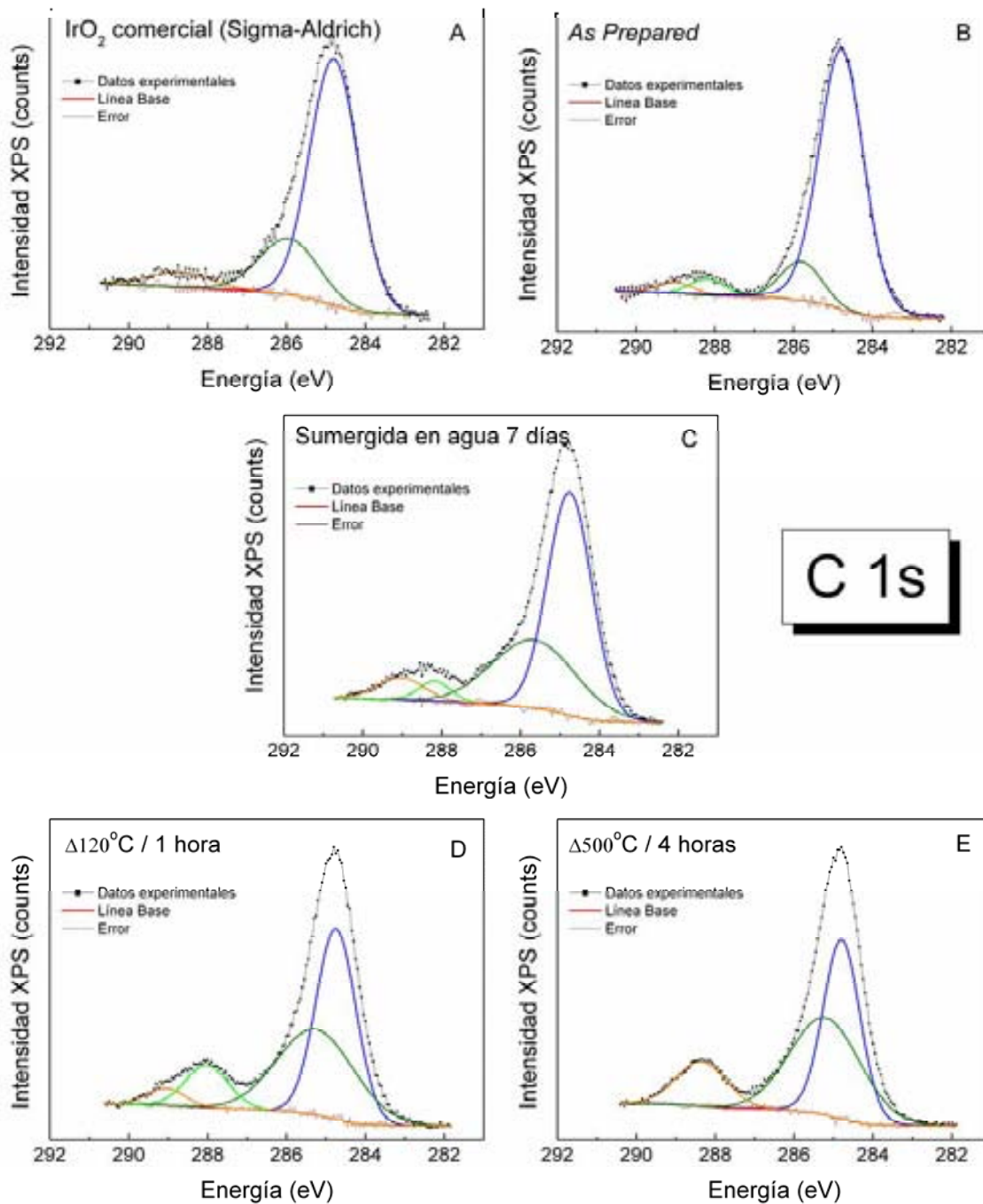


Figura 4.13 Deconvoluciones del pico de C 1s de A) IrO_2 comercial marca Sigma-Aldrich, B) Capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) C) Capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) sumergida en agua 7 días D) Capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) calentada a 120°C 1h y E) Capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) calentada a 500°C 4 horas.

En la muestra de IrO_x “*as prepared*”, además de observarse las señales del carbono alifático a 284.8 eV y 285.9 eV y la componente del carbonato a 289 eV aparece un pico a energías cercanas a las correspondientes al oxalato (Figura 4.13B). Existen referencias bibliográficas donde se afirma que el iridio puede absorber CO_2 y NO_3 [16]. Sin embargo, en este caso el método de síntesis utilizado puede potenciar la retención de oxalato y/o carbonato en la estructura final del óxido obtenido y por tanto la existencia de $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ debe ser tenida en cuenta. Al calentar la muestra a temperaturas mayores de 450°C el pico del oxalato (288.1 eV) desaparece lo que concuerda con la descomposición del oxalato a carbonato.

Tabla 4.3 Resultado de la deconvolución y asignación de picos de la señal del C 1s para una muestra de IrO_2 comercial marca Sigma-Aldrich y capas de IrO_x electrodepositadas sobre platino a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “*as prepared*”, sumergida en agua 7 días, calentada a 120°C 1 hora y calentada a 500°C 4 horas.

Pico	C1 _A		C1 _B		C3		C4	
Asignación	Carbono alifático		Carbono Alifático con O		$\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$		CO_3^{2-}	
	Posición (eV)	Área %	Posición (eV)	Área %	Posición (eV)	Área %	Posición (eV)	Área %
Sigma-Aldrich	284.80	83.82	285.96	7.88	---	---	289.04	4.18
<i>As Prepared</i>	284.80	77.82	285.90	19.30	288.15	4.10	288.60	3.90
Sumergida en agua 7 días	284.80	73.65	286.03	15.45	288.12	8.19	289.22	2.70
□120/1h	284.80	64.47	285.60	23.94	288.14	11.03	289.18	2.56
□500/4h	284.80	72.80	285.91	14.03	---	---	288.34	13.15

Como se ha visto en el estudio de la formación de las capas del óxido mediante EQCM, los resultados sugieren la existencia del complejo oxalato y la oxidación de éste como el principal mecanismo del proceso de síntesis, y por tanto la posible existencia de restos de oxalato y carbonato derivado de la oxidación en la estructura que posiblemente se forma en torno a este “*template*”. Por otro lado la existencia de dos tipos de C alifático, que solo puede provenir de factores ambientales, no se define aquí como esencial.

Según los valores de cuantificación de los espectros generales presentados en la Tabla 4.1 la relación C/Ir en las capas de IrO_x es de aproximadamente 2.6 ± 0.5 pero de esta relación el 92% proviene de la posible adsorción de C ambiental alifático y solo 8% sería de la presencia de carbonato y oxalato de la síntesis, lo que significa que la relación real C(oxalato-carbonato)/Ir de la estructura obtenida en las capas es aproximadamente de 0.2. Dicho valor constituye un 3% de la existente en un complejo $\text{Ir}(\text{C}_2\text{O}_4)_3^{3-}$ original. Tanto la existencia de K^+ como la de C parecen implicar la formación de la estructura a partir de un “*template*” del complejo original de iridio (posiblemente $\text{Ir}(\text{C}_2\text{O}_4)_3^{3-}$) en forma de canales abiertos donde el K^+ cabría y sería móvil.

Por otro lado la señal del O 1s también presenta diferentes contribuciones como se observa en la figura Figura 4.14. La deconvolución, los datos de las posiciones de los picos y las áreas correspondientes están resumidos en la Figura 4.15 y la Tabla 4.4.

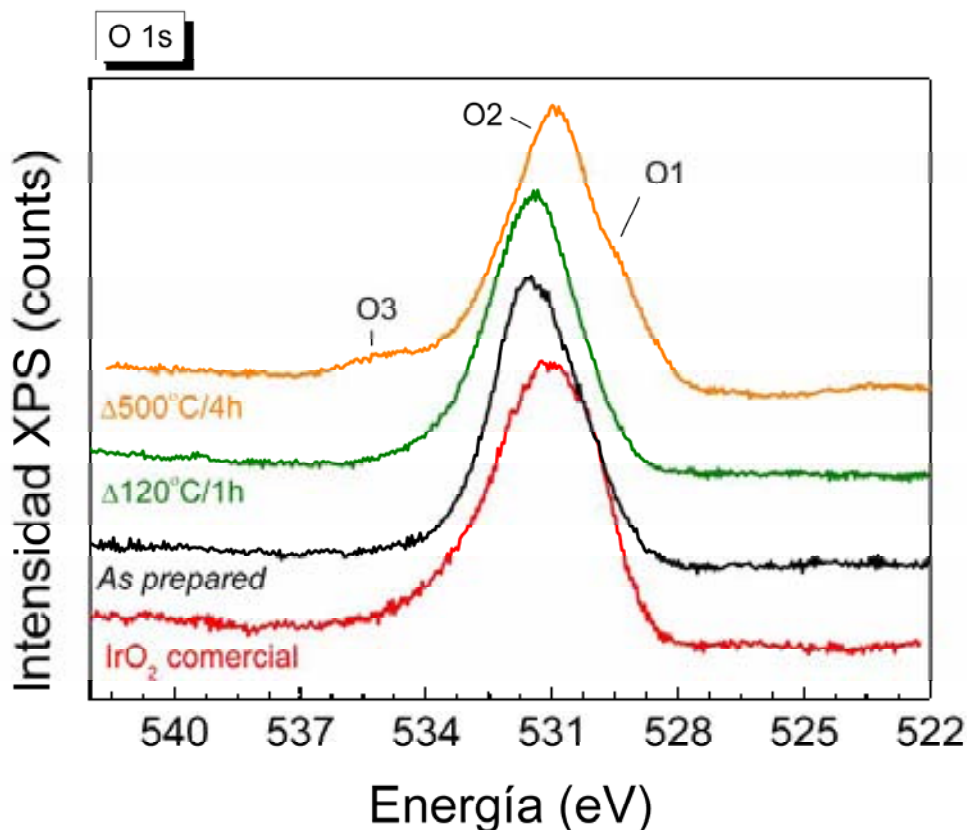


Figura 4.14 Detalle del espectro XPS del pico O1s de una muestra de IrO_2 comercial marca Sigma – Aldrich y capas de IrO_x electrodepositadas sobre platino a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared”, calentada a 120°C 1 hora y calentada a 500°C 4 horas.

En la Figura 4.15 A) se observa que en la muestra de IrO_2 comercial la señal O 1s puede ajustarse a dos picos, uno de ellos a 530.6 eV que corresponde al oxígeno de red y otro a 532.2 eV que evidencia la existencia de H_2O en la muestra. En la capa de IrO_x “as prepared” (Figura 4.15 B) además de una señal a 530.2 eV y el pequeño hombro a 533.9 eV correspondiente al H_2O aparece otro pico a 531.6 eV que corresponde a la energía esperada para grupos OH^- y que en este caso es la más intensa.

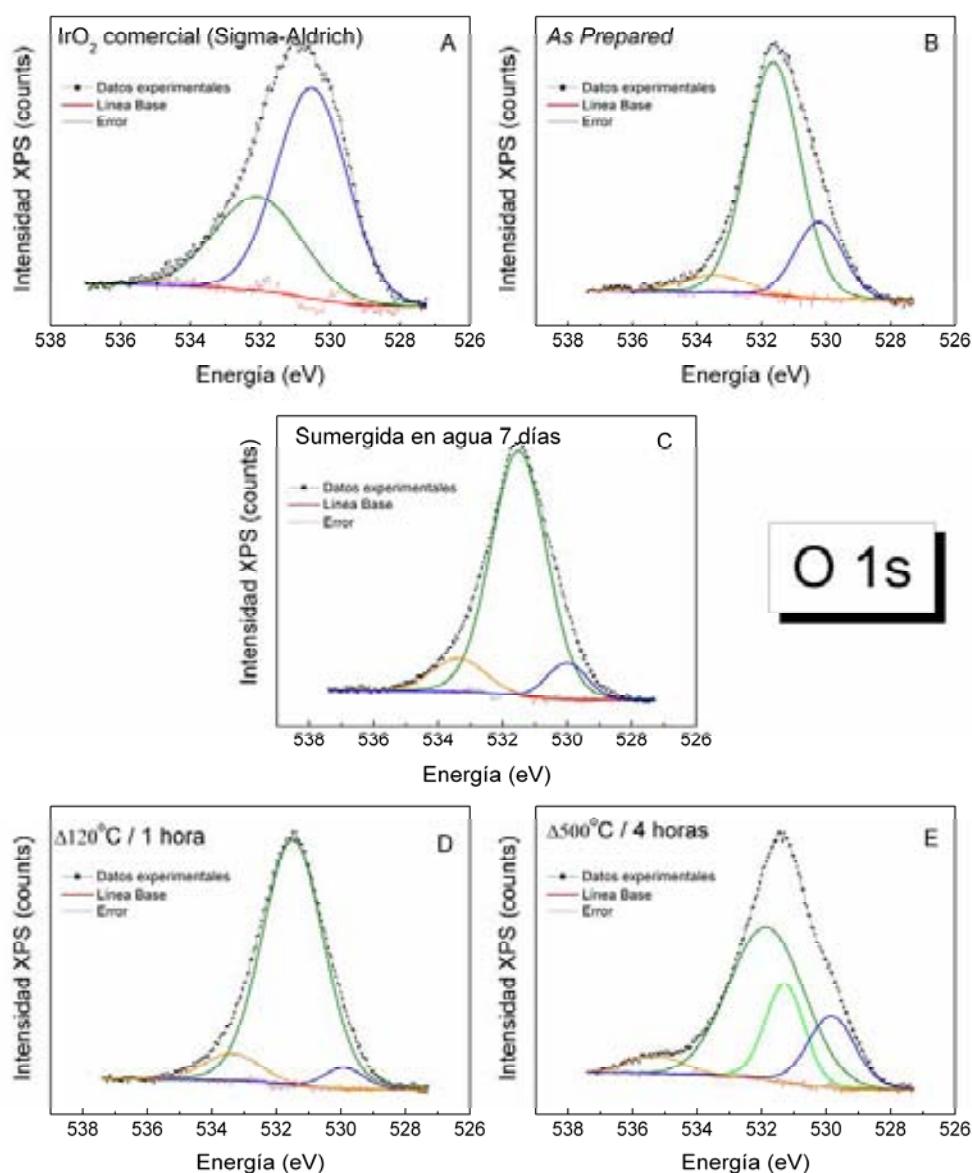


Figura 4.15 Deconvoluciones del pico de O 1s de A) IrO_2 comercial marca Sigma-Aldrich, B) Capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) C) Capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) sumergida en agua 7 días D) Capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) calentada a 120°C 1h y E) Capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) calentada a 500°C 4 horas.

Si la muestra es sumergida en agua (Figura 4.15C) el pico global se vuelve más simétrico y el oxígeno a 531eV (óxido) disminuye.

Cuando las capas son calentadas aparece un cuarto pico en energías intermedias entre las del oxígeno de red y los iones OH⁻. Como se pudo observar en los difractogramas de rayos X presentados en la Figura 4.9, cuando se realiza un tratamiento térmico a las capas la estructura amorfa obtenida inicialmente se va reorganizando hasta alcanzar la estructura tipo rutilo, así la aparición del cuarto pico puede estar relacionada con esta reestructuración dando lugar a diferentes tipos de enlace entre el iridio y el oxígeno de red o con los iones OH⁻ presentes. Se trata pues de una evolución de la estructura con distintos tipos de O²⁻ y de OH⁻.

Tabla 4.4 Resultado de la deconvolución y asignación de picos de la señal O 1s de una muestra de IrO₂ comercial marca Sigma-Aldrich y capas de IrO_x electrodepositadas sobre platino a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared” (AP), sumergida en agua 7 días, calentada a 120°C 1 hora y calentada a 500°C 4 horas.

Pico	O1		O2		O3		O4	
Asignación	Oxígeno de red		Oxígeno de red / OH		OH		H ₂ O	
	Posición (eV)	Área %	Posición (eV)	Área %	Posición (eV)	Área %	Posición (eV)	Área %
Sigma - Aldrich	530.58	63.90	---	---	532.21	36.10	---	---
As Prepared	530.28	27.00	---	---	531.62	64.65	533.09	8.45
Sumergida en agua 7 días	529.99	8.95	---	---	531.46	80.10	533.31	10.95
□120/1h	529.92	18.27	530.95	18.86	531.58	58.24	533.65	4.64
□500/4h	529.95	23.25	531.26	15.38	531.87	54.58	535.11	6.88

La cuantificación de los espectros permite encontrar en las muestras *as prepared* una relación molar O/Ir de 4.1±0.4 (Tabla 4.1), lo que sugeriría una fórmula tipo Ir(OH)₄ o IrO₂·2H₂O. Muy posiblemente los protones tienen una alta movilidad dentro de la estructura, ya que la basicidad del óxido evaluada mediante el cambio de pH tras una inmersión corresponde solo a un 10% de los OH⁻ básicos, □pH=1.

El ajuste de la señal del O 1s de las capas “*as prepared*” con 3 Gaussianas-Lorentzianas (en diferentes proporciones) revela una cuantificación de 1.1, 2.7 y 0.4 oxígenos de tipo O²⁻, OH⁻ y H₂O respectivamente por iridio y una fórmula de IrO_{1.1}(OH)_{2.7}·0.4H₂O. Dicha estequiométrica parecería corresponder a un estado de oxidación de Ir^{4.9+}. Por otro lado si se tiene en cuenta la presencia de K⁺ y CO₃²⁻ esta proporción podría cambiar a K_{1.7}(CO₃)_{0.2}IrO_{1.1}(OH)_{2.7}·0.4H₂O con oxidación Ir^{3.6+} para el Ir, o en su caso de **entre 3.2 y 3.6** puesto que el C-O puede estar como CO₃²⁻, HCO₃ o C₂O₄²⁻. Los análisis adicionales una vez se sumerge la muestra en agua o los resultados de XAS, apoyan el estado de oxidación en el rango de +3.5

Si la muestra se sumerge en agua 7 días y se pierde todo el K⁺ la estequiometría cambia y según los datos de las Tablas 4.1, 4.2 y 4.3 la formula sería IrO_{0.3}(OH)₃·0.4H₂O con un estado de oxidación de +3.6 para el Ir, ya que el K⁺ se ha eliminado. Es importante hacer notar que es esta fase la que realmente actúa en los cultivos ya que el proceso al que se somete la muestra involucra un remojo similar.

La señal Ir 4f no es sensible a cambios en el estado de oxidación entre Ir³⁺ e Ir⁴⁺, aunque si lo es con la diferencia entre Ir metálico y catiónico. En la Figura 4.16 pueden observarse los picos correspondientes al Ir 4f_{7/2} Ir e 4f_{5/2} a 62.8 eV y 65.8 eV que concuerdan con valores de la bibliografía para el IrO₂ [17].

De acuerdo con los resultados descritos anteriormente la fase húmeda obtenida puede definirse como un oxohidróxido con algunos oxalatos/carbonatos en la estructura y K⁺ intercalado. La hidrólisis directa del tricloruro también parece dar como resultado un oxohidróxido con diferente estequiometría [18], pero aparentemente el óxido de iridio preparado por métodos físicos como PLD o *sputtering* [17] o por anodización del metal [11] no presenta esta misma composición OH⁻/O²⁻.

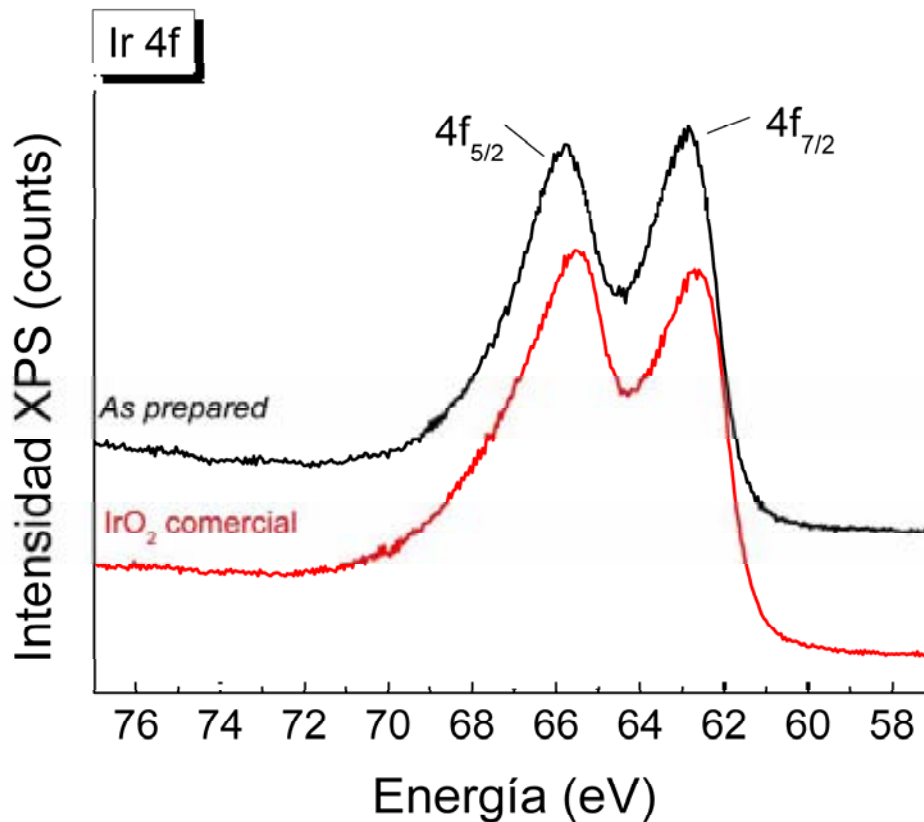


Figura 4.16 Detalle del espectro XPS de los picos $\text{Ir } 4f_{7/2}$ e $\text{Ir } 4f_{5/2}$ de una muestra de IrO_2 comercial marca Sigma-Aldrich y una capa de IrO_x electrodepositada sobre platino a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared” y remojada 7 días en agua.

Las referencias bibliográficas existentes no presentan una caracterización completa de las fases obtenidas. Es posible que la hidratación de las capas ocurra en fases no cristalizadas completamente que dan origen a oxohidróxidos con estequiometría variable. La variabilidad en la relación estequiométrica O/OH⁻ debe estar relacionada con el estado de oxidación del iridio y el método de preparación, y es esencial para entender las propiedades electrónicas de este material y su flexibilidad estructural. Los resultados obtenidos en este trabajo parecen implicar que la fase obtenida (el oxohidróxido) puede aceptar un contenido variable de iones H⁺ y presentar reacciones de intercalación/desintercalación, así como cambios estructurales y estequiométricos dependientes del tratamiento térmico posterior, que a su vez cambiaría sus propiedades de conducción e intercalación y por tanto, su actividad como electrodo.

Las observaciones de XPS de la superficie pueden ser complementadas con un análisis de absorción de rayos X (XAS) que permita ver la estructura local. La Figura 4.17 muestra la comparación de los espectros XANES normalizados al borde Ir L₃ de una capa de IrO_x “*as prepared*”, IrO₂ comercial marca Sigma-Aldrich y capas reducidas electroquímicamente en diferentes medios.

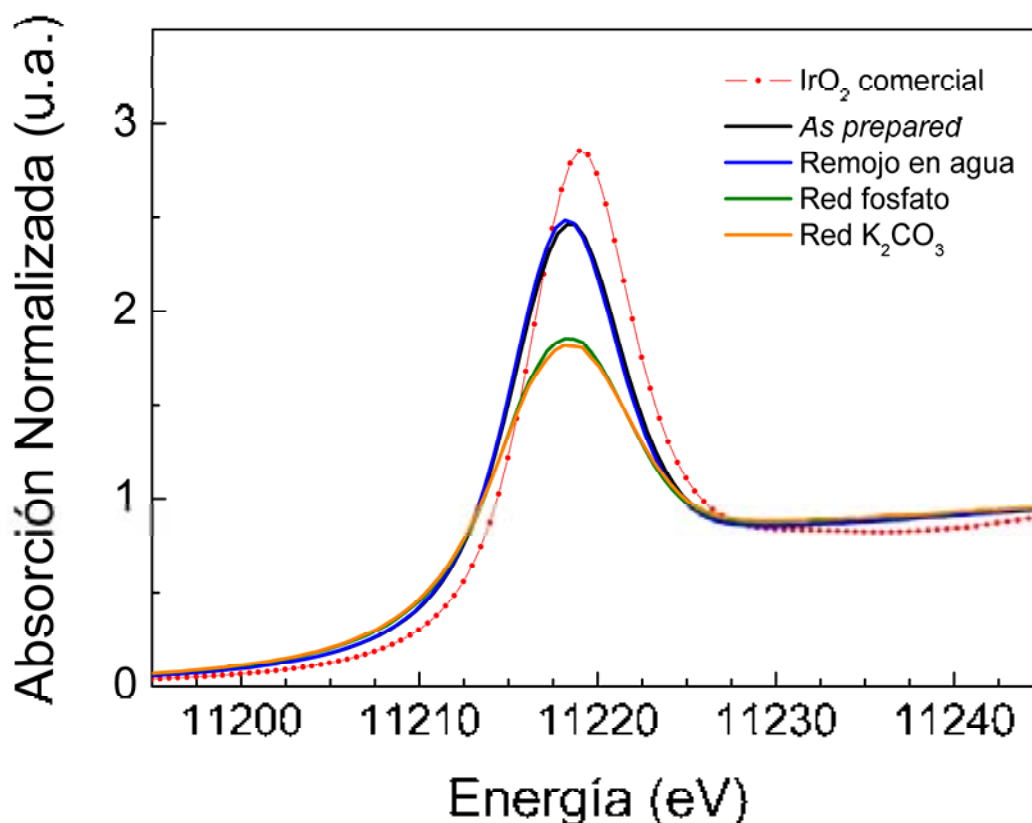


Figura 4.17 Espectros XANES de IrO₂ comercial marca Sigma-Aldrich, capas de IrO_x depositadas electroquímicamente a potencial dinámico sobre platino-soda lime (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “*as prepared*” y reducidas en diferentes medios.

En la figura 4.17 se observa un desplazamiento del pico de absorción de las capas de IrO_x con respecto al IrO₂ comercial. Dicho desplazamiento está acompañado por un decrecimiento en intensidad. Este resultado indica que el estado de oxidación del iridio en la capa de IrO_x se reduce con respecto al del compuesto de referencia. No existen diferencias entre el espectro de las capas “*as prepared*” y las sumergidas en agua lo que implica que la eliminación de iones K⁺ observado mediante los espectros de XPS no implica un cambio en el estado de oxidación, y por tanto la hipótesis de un intercambio K⁺/H⁺ cobra peso.

Por otro lado, la intensidad del pico de absorción decrece sustancialmente cuando las capas de IrO_x son reducidas pero no se observa ningún desplazamiento con respecto a las capa “*as prepared*”. Estos hechos indican que en las capas reducidas el Ir tiene un estado de oxidación muy similar al de las capas “*as prepared*”, sin embargo deben existir algunas diferencias en las estructuras de corto alcance. La falta de una buena referencia para el Ir^{3+} o el Ir^{4+} , impide determinar el estado de oxidación del iridio, pero debido a las diferencias con el óxido comercial es posible concluir que es inferior a 4+.

Debido a la correspondencia casi lineal entre la distancia interatómica Ir-O en la primera capa y la valencia del iridio, se han analizado los espectros EXAFS con el fin de determinar cambios en las distancias de enlace que puedan estar relacionados con cambios en el estado de oxidación. La Figura 4.18 muestra las señales EXAFS $\chi(k)$ y la correspondiente transformada de Fourier sin corrección de fase para el IrO_2 comercial y para capas de IrO_x “*as prepared*” y reducida en fosfato 0.1M pH11. Los círculos representan los datos experimentales y la línea roja continua representa el mejor ajuste de los datos obtenido de un análisis estadístico de los espectros EXAFS basado en la estructura rutilo del IrO_2 con la primera capa de oxígenos y las dos primeras de Ir.

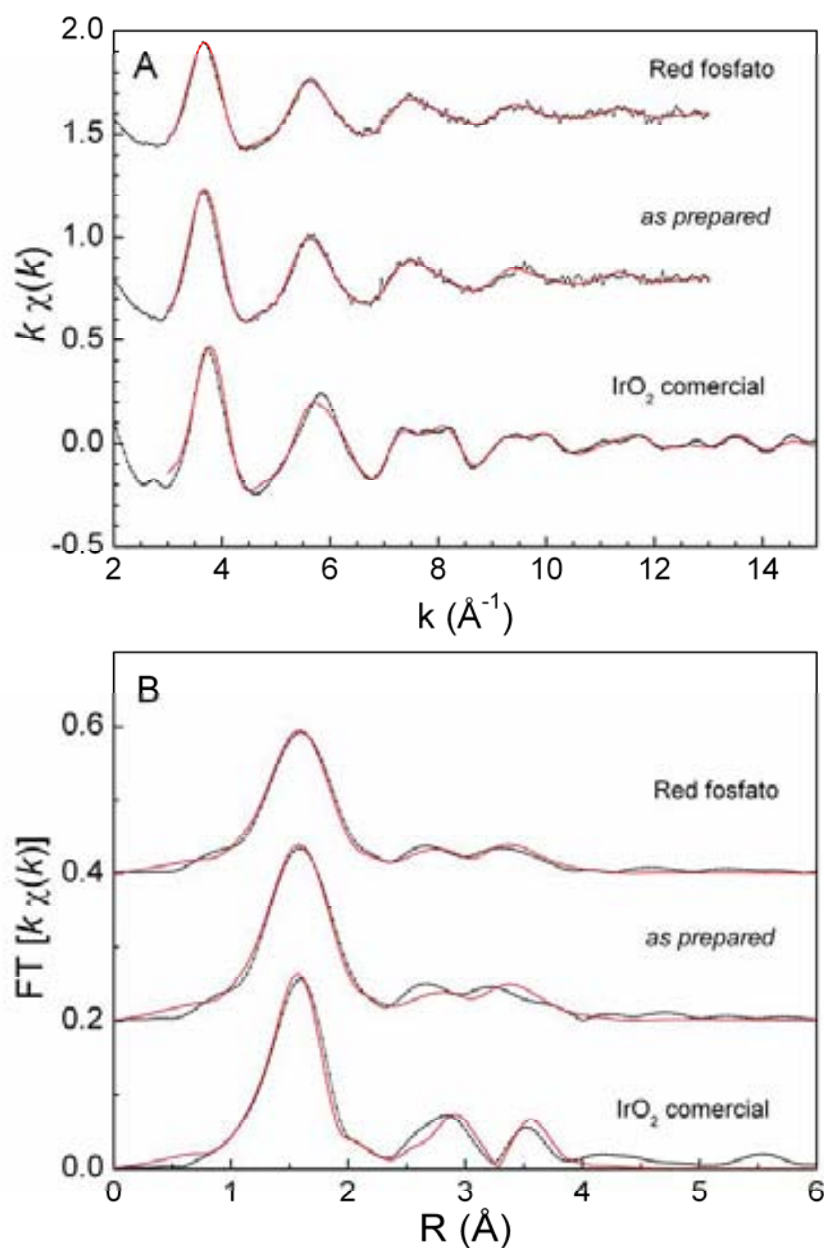


Figura 4.18 A) Gráficos de $k\chi(k)$ vs. k y B) Correspondientes transformadas de Fourier para **IrO₂** comercial marca sigma-aldrich y capas de **IrO_x** depositadas electroquímicamente a potencial dinámico sobre platino-soda lime (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared” y reducidas en fosfato 0.1M pH7 a -0.23 V.

Tanto el IrO₂ comercial como las capas de IrO_x presentan un oxígeno cercano en un entorno octaédrico, pero la amplitud de los picos correspondientes al enlace Ir-Ir más allá de 2Å está fuertemente amortiguada en el caso de las capas de IrO_x tanto “as prepared” como la reducida en fosfato. Esto indica que los grupos oxo o hidroxilo presentes en la estructura están altamente desordenados en estos casos [18]. Por otro lado se destacan dos capas de Ir exteriores por encima de los

4Å en los espectros EXAFS del IrO₂ comercial. Este hecho es una indicación de que el polvo de la muestra comercial está un poco más cristalizado que las capas de IrO_x como se puede ver también en el difractograma de rayos X de la Figura 4.19 [19].

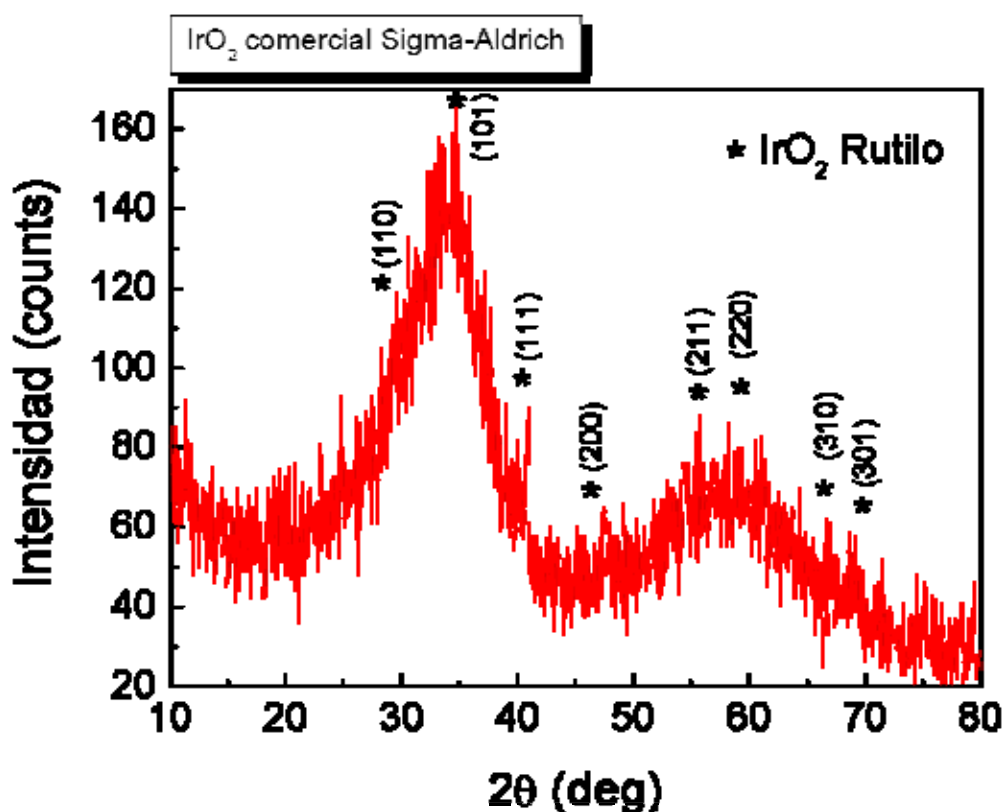


Figura 4.19 Difractograma de Rayos X del IrO₂ comercial marca Sigma-Aldrich

Los valores numéricos de los parámetros de ajuste para la capa Ir-O están resumidos en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5 Parámetros estructurales derivados del análisis de los EXAFS de la primera capa Ir-O usando la estructura tipo rutilo. El factor de escala S_0^2 se fijó a 0.72. N es el número de coordinación, σ^2 es el factor de Debye Waller y E la energía del haz. Red = Reducida.

Muestra	$\sigma^2 E$ (eV)	$R(\text{Å})$ Ir-O	N	$\sigma^2 (\text{Å}^2)$
IrO ₂ comercial	9.7±1	1.970±0.007	6	0.002±0.001
IrO _x As prepared	10.2±0.8	1.998±0.007	6	0.003±0.001
IrO _x red en K ₂ CO ₃	10.3±0.9	1.995±0.007	4.7	0.003±0.001
IrO _x red en fosfato	10.3±0.8	1.999±0.006	4.7	0.003±0.001

Los análisis EXAFS del IrO₂ comercial dan una distancia Ir-O de 1.97±0.007 Å, la cual corresponde con la distancia Ir-O en la estructura rutilo presentada en trabajos previos de XAS [18]. Estén reducidas o no todas las capas de IrO_x (incluyendo la “*as prepared*”) presentan un aumento en la distancia de 1.97Å a 2Å con respecto al IrO₂ comercial lo cual concuerda con una disminución del estado de oxidación 4+. Partiendo de una estructura trivalente de oxalato de iridio, Hüppauff y Lengeler [20] calcularon que la distancia Ir-O de un Ir³⁺ es cercana a 2.02Å. Asumiendo una regresión lineal de la variación de las distancias de enlace Ir-O versus el estado de oxidación del Ir, se determinó que los Ir en las capas tienen un estado de oxidación 3.4+. En este caso la distancia es más cercana a 2.00 y por tanto el estado de oxidación sería superior a +3.4, que concuerda con el análisis basado en XPS (pag. 90-99).

El orden de corto alcance (IrO₆) encontrado para las capas de IrO_x “*as prepared*” corresponde a una estructura tipo rutilo, hecho que concuerda con los difractogramas de rayos X mostrados en la Figura 4.9. Los EXAFS confirman la cristalización de la fase tipo rutilo calentando las capas de IrO_x a 450°C (no mostrado) ya que las oscilaciones en este caso se asemejan claramente a las del IrO₂ comercial mostradas en la Figura 4.18. Sin embargo, las capas reducidas muestran un aumento en el desorden estructural reflejado en la reducción del número de coordinación. Esto implica que la reducción en los octaedros IrO₆ es más desordenada que en la estructura rutilo.

En conclusión, puede decirse que los datos de XAS evidencian una valencia mixta alrededor de Ir^{3.5+} en las capas de IrO_x en concordancia con los valores obtenidos mediante los espectros XPS de la superficie y la relación O/Ir con distintos tipos de O. La estructura local puede ser descrita como una estructura desordenada tipo rutilo, donde los octaedros IrO₆ son similares a los encontrados en la estructura cristalina, mientras que la ausencia de las capas intensas en la transformada de Fourier de los EXAFS más allá de los primeros oxígenos vecinos indican que las capas no poseen un orden tridimensional de largo alcance. Es como si la presencia de agua estructural, u OH⁻, destruyera la tridimensionalidad, dando lugar a caminos de transporte tanto de protones como de electrones. Esta interacción entre el transporte iónico y electrónico, que a su vez, está controlada

por el grado de hidratación y el orden local ya ha sido observada para materiales del tipo RuO_x(OH) [21,22] y para capas de óxido de iridio depositadas sobre sustratos de Au [23], donde existen cadenas lineales desordenadas. En este caso, el desorden, y la facilidad de absorción/intercalación, así como la presencia de K⁺ y C, evidencian una estructura abierta formada por un “*template*”, que le confiere de hecho sus notables propiedades.

4.5 Microestructura de la Superficie

Además de caracterizar la estructura electrónica de las capas se realizó un estudio morfológico de la superficie con el fin de determinar su influencia en los cultivos celulares. La Figura 4.20 muestra imágenes de AFM de capas de IrO_x obtenidas electroquímicamente mediante diferentes condiciones de síntesis. Es posible observar que la superficie de los recubrimientos de IrO_x cambia substancialmente dependiendo de las condiciones de síntesis electroquímica utilizadas.

La electrodeposición a corriente constante (Petit et al. 0.035 mA/cm²) produce capas con una rugosidad del orden de los μm y un crecimiento dendrítico. En este caso la adhesión de la capa al sustrato no es buena lo que impide el desarrollo de los pasos de preparación de las muestras previos a los cultivos celulares. Además se observó adhesión de la punta del AFM a la capa durante las mediciones (deformación de granos observada en la Figura 4.20A).

Sin embargo la oxidación realizada mediante barridos de potencial dinámicos con velocidades entre 2 y 10 mV/s (0V - 0.55V vs. Pt) produjo muestras con una morfología tipo “coliflor”, homogénea y reproducible, con valores de rugosidad y tamaño de partícula mucho menores. Así mismo, se observa una mejora visible en la adhesión de las capas.

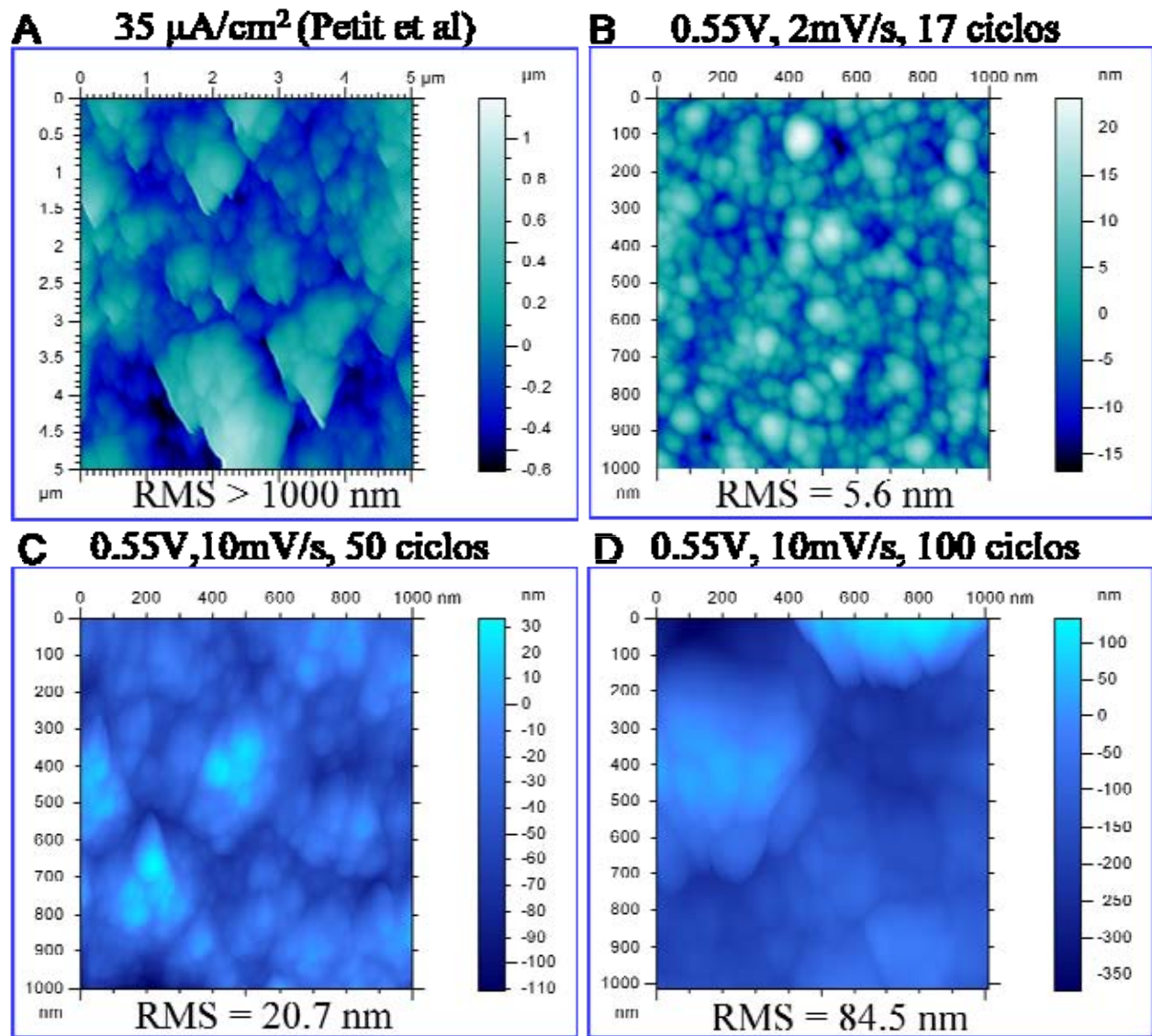


Figura 4.20 Imágenes de AFM de capas de IrO_x electrodepositadas A) En modo galvanostático ($35 \mu\text{A}/\text{cm}^2$), B) Modo dinámico 0.55V , $2\text{mV}/\text{s}$, 17 ciclos, C) Modo dinámico 0.55V , $10\text{mV}/\text{s}$, 50 ciclos y C) Modo dinámico 0.55V , $10\text{mV}/\text{s}$, 100 ciclos. El error estimado de los valores de rugosidad es de $\sim 10\%$.

Debido a que las capas estarán en contacto con fluidos, si se piensa en su posible aplicación como sustratos de crecimiento neuronal, es importante evaluar el grado de hidrofiliidad de la superficie, así como el posible desprendimiento de elementos en la disolución. La Figura 4.21 muestra las medidas de ángulo de contacto de las capas de IrO_x . Puede observarse que la superficie de la muestra de 50 ciclos es menos hidrofílica que la de 100 ciclos y el valor de ángulo de contacto es similar al de las muestras de TiO_2 tratadas a 350°C presentadas en el capítulo III y en ambos casos menos hidrofílicas que el vidrio borosilicato usado como

referencia. La adhesión de la polilisina al IrO_x parece cambiar la hidrofiliicidad en direcciones opuestas. Al igual que en las capas de TiO_2 de nuevo la polilisina parece hacer más similares a las muestras.

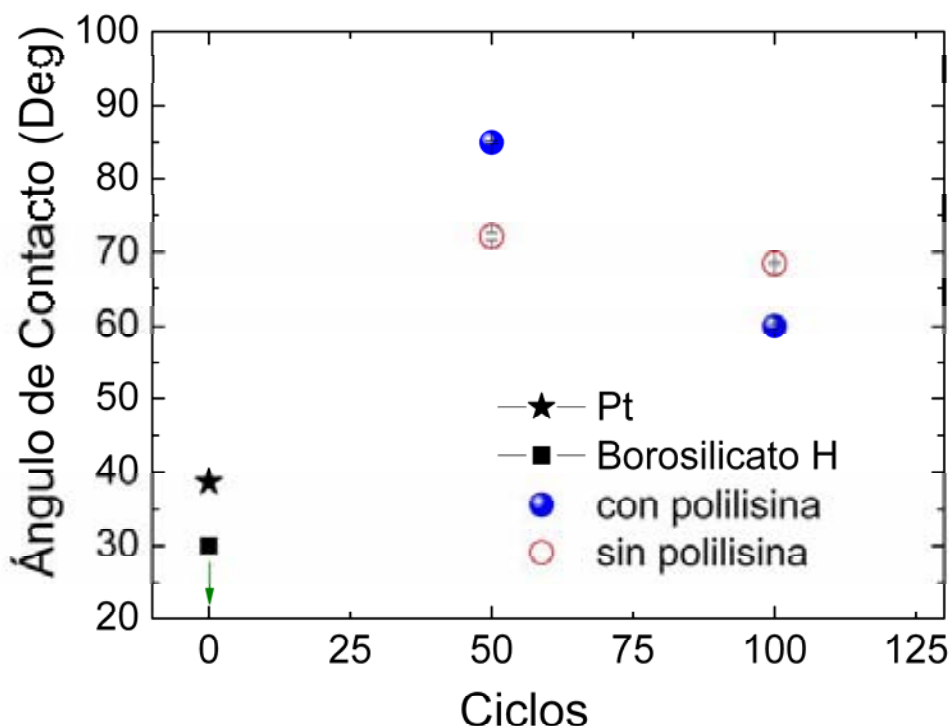


Figura 4.21 Valores de ángulo de contacto en agua para capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared” y cubiertas con polilisina.

4.6 Comportamiento Electroquímico

Una vez caracterizada la estructura de las capas obtenidas se procedió a evaluar su comportamiento electroquímico en presencia de diferentes medios. En la Figura 4.22 se presentan voltametrías cíclicas de una muestra “as prepared”. En esta figura pueden observarse dos ondas de reducción, una a -0.23 V y otra a -0.52 V vs. Pt tanto en tampón fosfato (pH 7, 0.1 M) como en el medio de cultivo celular. Ambos involucrarían reducción del Ir y la intercalación simultánea de H^+ de acuerdo con la bibliografía (ver apartado 4.1). También se observa una onda adicional a potenciales más negativos y con poca intensidad. Asimismo se distinguen ondas de oxidación pero no han sido correlacionadas con ningún proceso de intercalación/desintercalación.

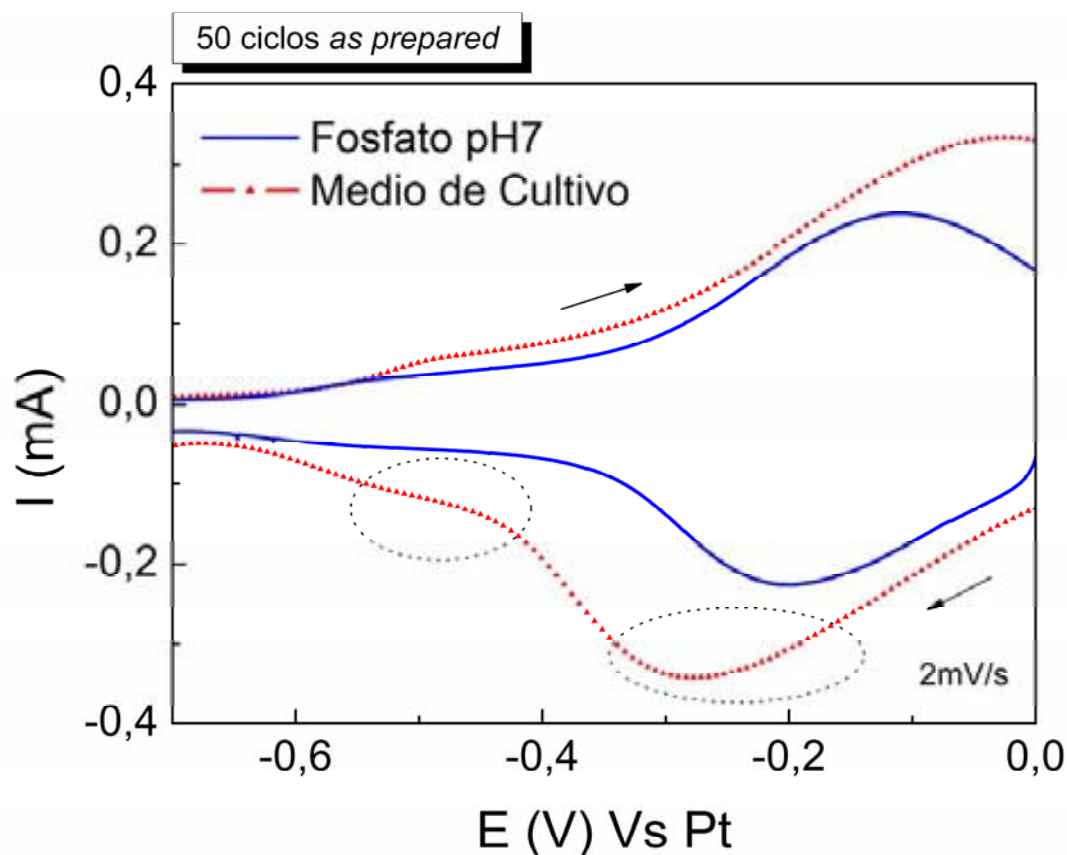


Figura 4.22 Voltametrías cíclicas (2mV/s) de capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0,55V, 10 mV/s, 50 ciclos) en fosfato pH 7 y medio de cultivo.

La ventana de potencial donde no ocurre ninguna reacción del H_2O o del electrolito y que permitiría la utilización segura del IrO_x sintetizado sería de -1 V a 0,7V vs. Pt en varios medios utilizados. En el medio de cultivo dicha ventana se estrecha al rango de -0,8V a 0,6 V vs. Pt.

Con el fin de estudiar la carga total disponible en los procesos faradaicos que ocurrían en los cultivos celulares, algunas de las capas fueron reducidas en K_2CO_3 0,01M pH 11, Na_2CO_3 0,01M pH11 y fosfato 0,1M pH7, a -0,23V y -0,52 V vs. Pt en condiciones potencioestáticas (Figura 4.23). También se realizó una caracterización estructural, morfológica y electroquímica de la superficie de las muestras reducidas, para evaluar como se modificarían éstas in situ.

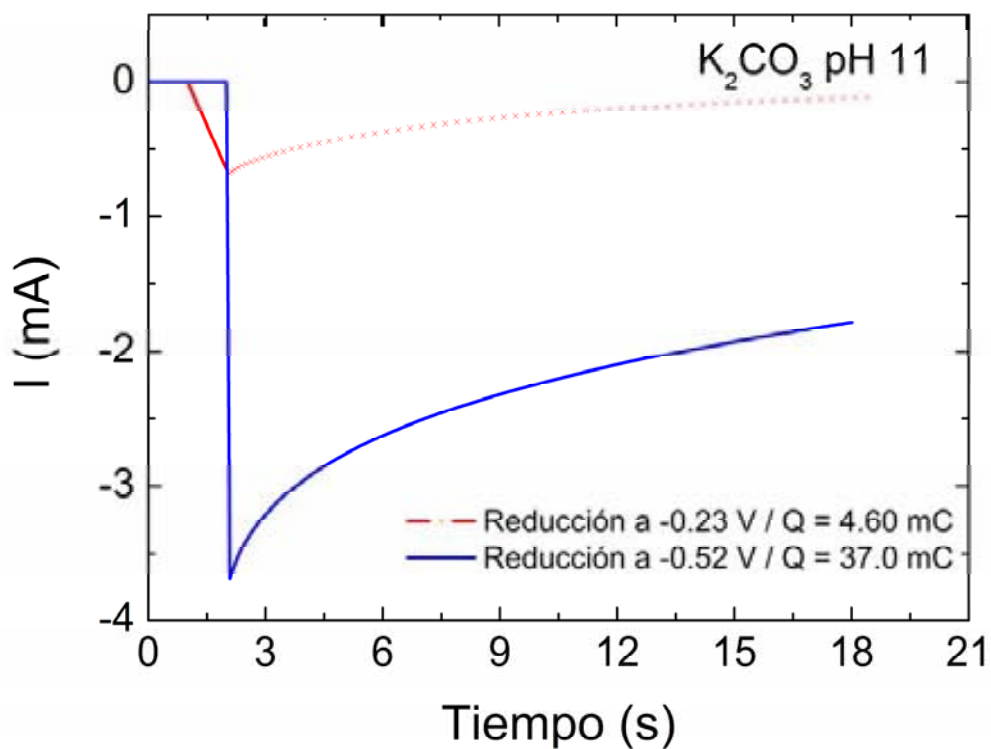


Figura 4.23 Respuesta en corriente bajo un potencial dc en capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55 V , 10 mV/s , 50 ciclos) a -0.23 V y -0.52 V en K_2CO_3 0.01 M .

La morfología de las muestras reducidas a -0.23 V y -0.52 V en tampón fosfato (0.1 M pH 7) se muestra en la Figura 4.24.

Puede observarse que la rugosidad de la superficie disminuye con la reducción y además se incrementa la adhesión de la punta de AFM a la capa.

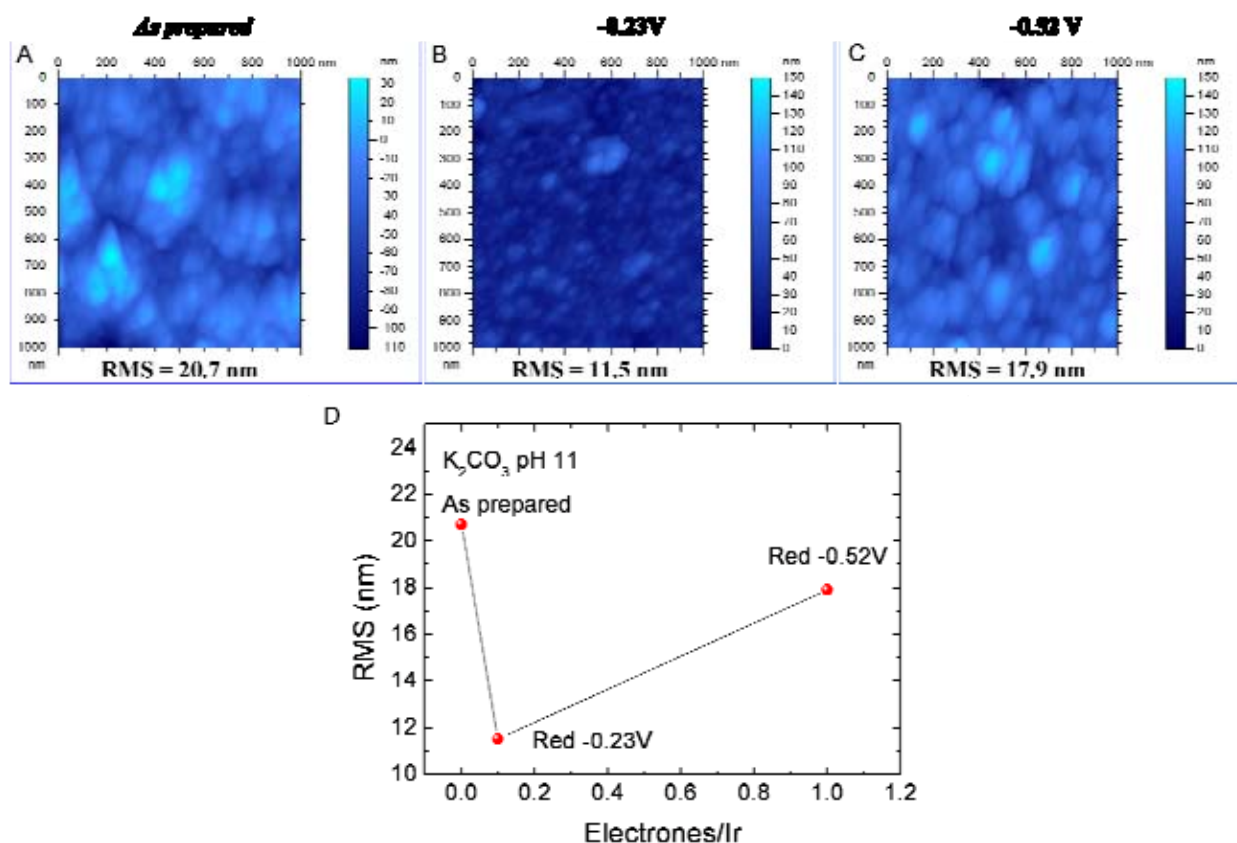


Figura 4.24 Imágenes de AFM y valores de rugosidad de capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V , 10mV/s , 50 ciclos) “as prepared” y reducidas en K_2CO_3 pH 11 durante 18 s.

La Figura 4.25 muestra las medidas de ángulo de contacto de capas reducidas en tampón fosfato 0.1M pH7. Puede observarse una disminución en la hidrofiliicidad de la superficie con la reducción cuando las medidas se realizan con medio de cultivo. Sin embargo en agua el efecto es despreciable.

En todos los casos la adhesión de polilisina incrementa la hidrofiliicidad sustancialmente incluso en las medidas con agua. En medio de cultivo el efecto es más notorio para las muestras reducidas.

Al comparar la Figura 4.25 A y B se observa una gran afinidad de las capas por el medio de cultivo en comparación con la afinidad por el agua (valores de ángulo de contacto entre 20 y 30 para medidas con medio de cultivo vs. 60 para medidas con agua).

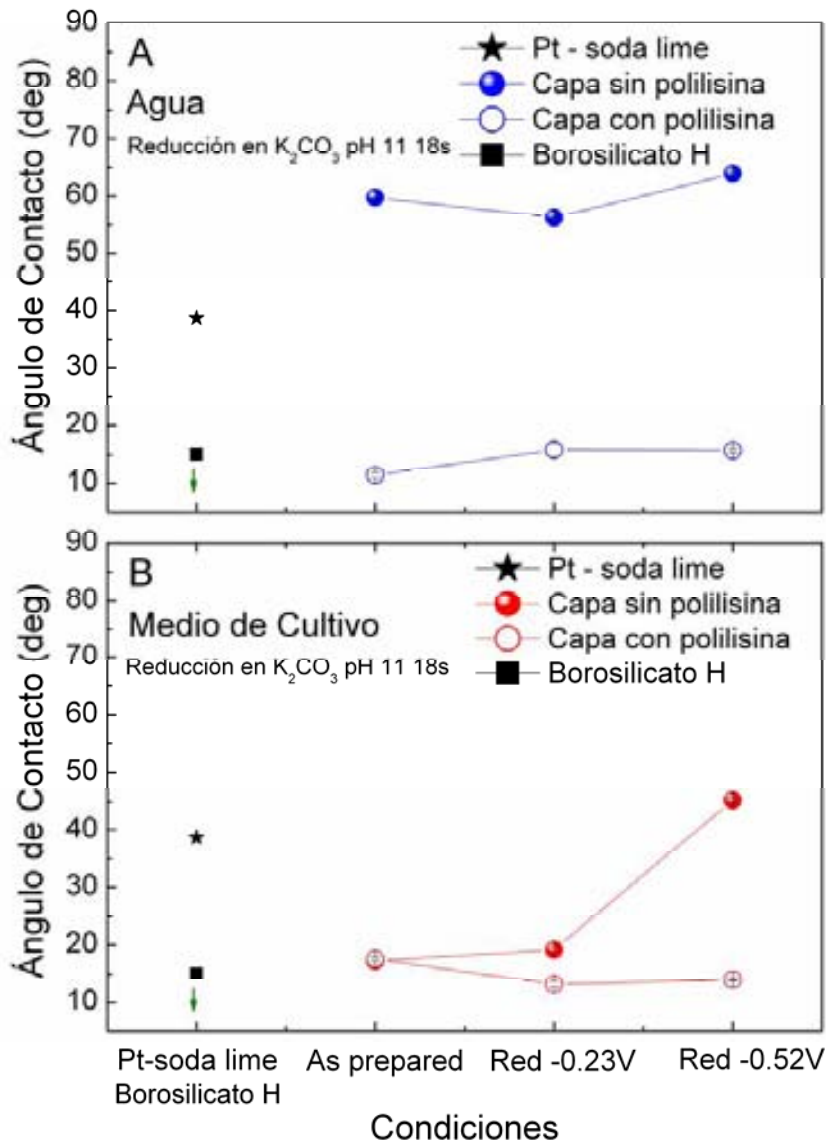


Figura 4.25 Medidas de ángulo de contacto para capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared” y reducidas en K_2CO_3 pH 11 durante 18 s A) En agua y B) En medio de cultivo.

La misma técnica de medición de Δm con EQCM permite estudiar el comportamiento de la fase en los procesos de reducción/oxidación. La reducción a potenciales de -0.23V y -0.52V vs. Pt en un tampón fosfato de la muestra obtenida, muestra un incremento positivo de masa, (Tabla 4.6), indicando una intercalación simultánea y por tanto, evidenciando un proceso de intercalación de especies positivas. La relación carga/masa durante el proceso, $\Delta m/Q$, es de de 1.33 mg/C y por tanto, el peso molecular de la especie insertada es de 13 g/mol por carga positiva intercalada, cuando la reducción se realiza a -0.23V vs. Pt. Este peso

molecular no corresponde al Na^+ ni al H^+ pero podría corresponder a una molécula de agua doblemente protonada, $[\text{H}_2(\text{H}_2\text{O})]^{+2}$ o $[\text{H}_3(\text{H}_2\text{O})_2]^{+3}$, especie también mostrada en la bibliografía o a una competición de especies intercaladas y desintercaladas. En cualquier caso, el experimento muestra que la reducción del iridio transcurre al menos con la inserción de protones hidratados, o con mezclas de iones. Otra posibilidad sería una intercalación de iones positivos simultánea a una desintercalación de iones OH^- .

Tabla 4.6 Valores del incremento de masa registrado mediante una EQCM acoplada a un potencióstato durante el proceso de reducción de capas de IrO_x (50 ciclos) a diferentes potenciales.

	Reducción a -0.23 V	Reducción a -0.52V
Δm (μg)	0.17	0.25

No se han observado características distintas en el caso de la reducción a un potencial de -0.52V vs. Pt.

4.7 Adhesión de Polilisina

La adhesión de polilisina también puede ser seguida en principio mediante EQCM. Dicho seguimiento se realizó sumergiendo las capas de IrO_x en una solución acuosa que contenía polilisina, polipéptido utilizado en los cultivos celulares como capa de interacción material-célula, (0.1 ml por cm^2 de superficie de muestra) y se registró el cambio de masa durante 1 hora, mediante EQCM.

La Figura 4.26 muestra la evolución en masa y frecuencia de una capa de IrO_x de 50 ciclos sumergida en una disolución de polilisina 0.01M. Puede verse que inmediatamente después de la inmersión hay una adhesión de polilisina (2.26×10^{-6} moles de monómero de lisina), pero luego se observó una disminución de masa (de 57% con respecto a la cantidad adherida) posiblemente debida al desprendimiento o reorganización de la polilisina, a la migración de alguna especie proveniente de la capa, a una desnaturalización, o a una reacción con el sustrato. Este estudio pasó a formar parte de otra tesis doctoral.

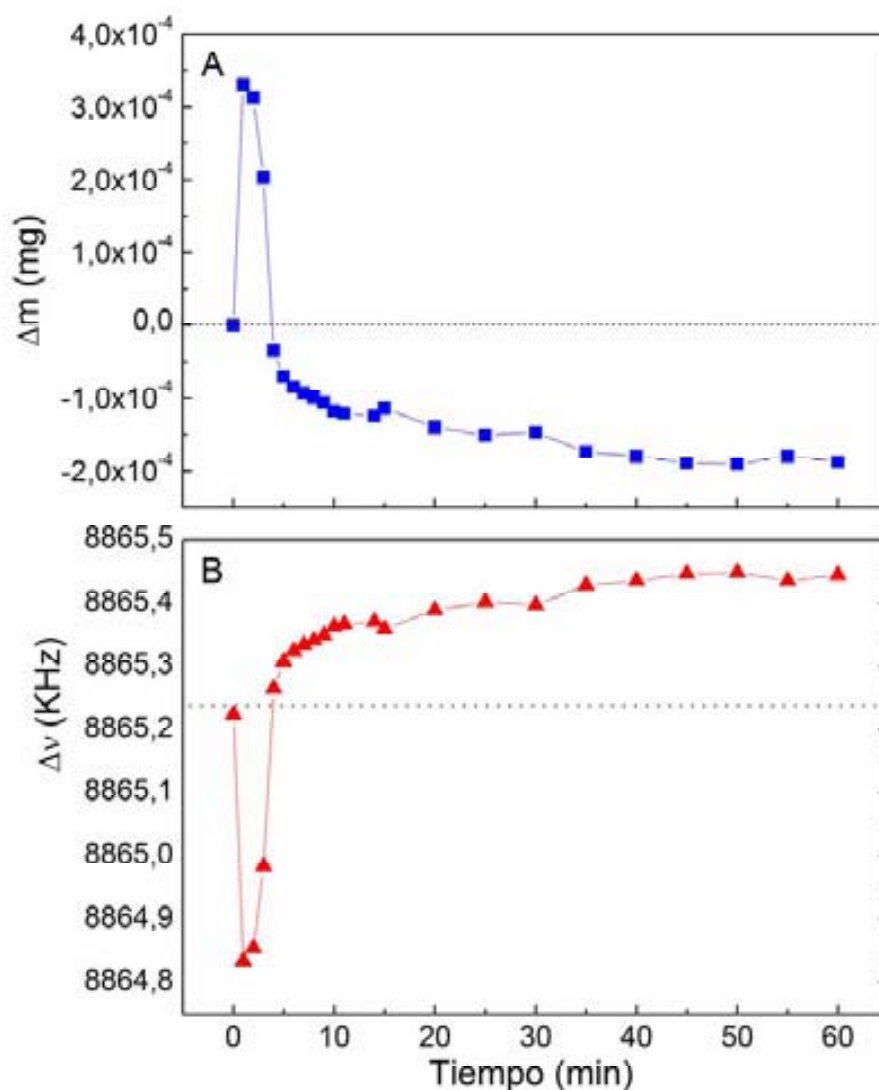


Figura 4.26 Medidas de EQCM para una capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) sumergida en una solución de polilisina.

4.8 Propiedades de Transporte

Las propiedades de transporte a nivel nanométrico de la superficie de las capas de IrO_x fueron medidas por AFM en modo *current sensing* en un intento de evidenciar la homogeneidad de los procesos electroquímicos que se producen una vez actúa como electrodo. Se utilizó una punta de AFM de silicio recubierta con una capa conductora de diamante dopada con boro. Esta técnica es muy usada para medidas a través de la superficie pero es importante mencionar que este método es altamente dependiente del área efectiva de contacto, la geometría de la punta, la

fuerza aplicada y la rugosidad de la superficie. Por esta razón los resultados obtenidos son solo una estimación relativa de zonas en el material en estudio.

La Figura 4.27 muestra dos imágenes de AFM de la superficie del IrO_x y sus correspondientes curvas de potencial en diferentes puntos de la imagen.

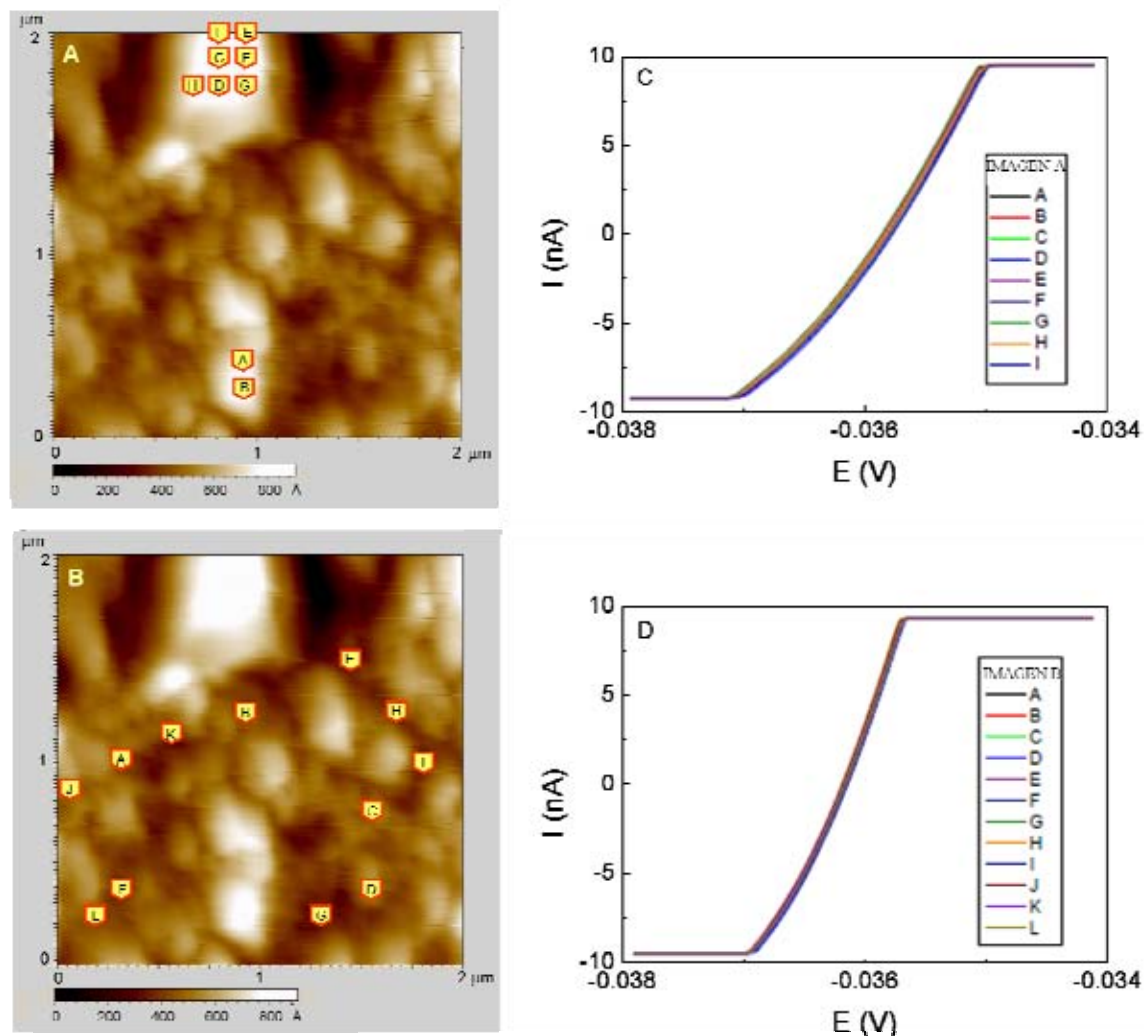


Figura 4.27 Imágenes de AFM en modo current sensing y sus respectivas curvas I-V al aplicar un potencial bias de 0.05V a una capa de IrO_x depositada electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos).

Es posible estimar la resistencia media en un régimen de bajo potencial mediante el valor de la pendiente de la parte lineal de estas curvas I-V. Es importante resaltar que no existen diferencias significativas en el valor de resistencia (o de pendiente en las curvas I-V) tanto en la parte alta de los granos como en las regiones planas o en distintas zonas de la muestra. La resistencia media local de las capas de IrO_x “as prepared” es de $58.5 \pm 1.4 \ \Omega$ independiente del

valor y signo del potencial aplicado. Estos resultados indican que el material es homogéneo y conductor pese al poco espesor de las capas.

Debido a que se pretenden utilizar estos materiales en aplicaciones biológicas donde estarán en contacto con medios biológicos la conductividad macroscópica de las capas fue evaluada mediante medidas de EIS usando NaCl 0.1M como electrolito y con la misma configuración usada en la síntesis (ver sección 2.1.3 del capítulo 2), es decir teniendo en cuenta el aporte de la interacción de la interfase con el electrolito, en su modo real de aplicación.

La Figura 4.28 muestra la medida de EIS para el electrolito. Para ello la medida fue realizada utilizando una placa de platino igual a la del contraelectrodo en lugar del electrodo de trabajo para utilizar la respuesta obtenida como blanco en las medidas con las capas de IrO_x .

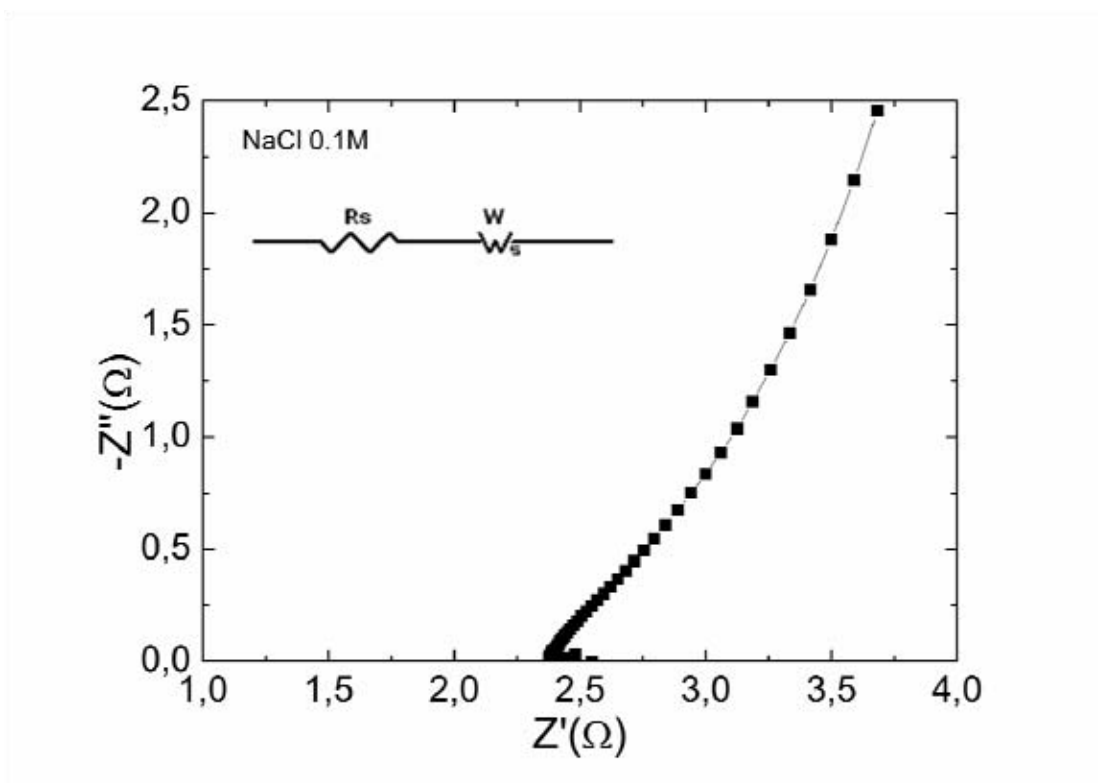


Figura 4.28 Diagrama de Nyquist de una solución de NaCl 0.1M.

La intersección con el eje real proporciona el valor de la resistencia del electrolito que en este caso está alrededor de 2.5Ω . Además de proporcionar los valores de resistencia o capacidad del sistema electroquímico mediante esta técnica, es posible diferenciar los diferentes fenómenos eléctricos o electrónicos

que se producen en el sistema, ya que cada uno de ellos posee una frecuencia de relajación diferente. En este caso, es posible diferenciar un solo tipo de respuesta representada por una línea de pendiente aproximada de 45° . Esta respuesta es debida a la difusión iónica a través del electrolito y puede ser representada en términos de circuitos equivalentes como una resistencia en serie con una impedancia tipo Warburg.

En la Figura 4.29 es posible comparar la respuesta del electrolito con una muestra de IrO_x “as prepared” y algunas muestras con diferentes grados de reducción (previa a la medida).

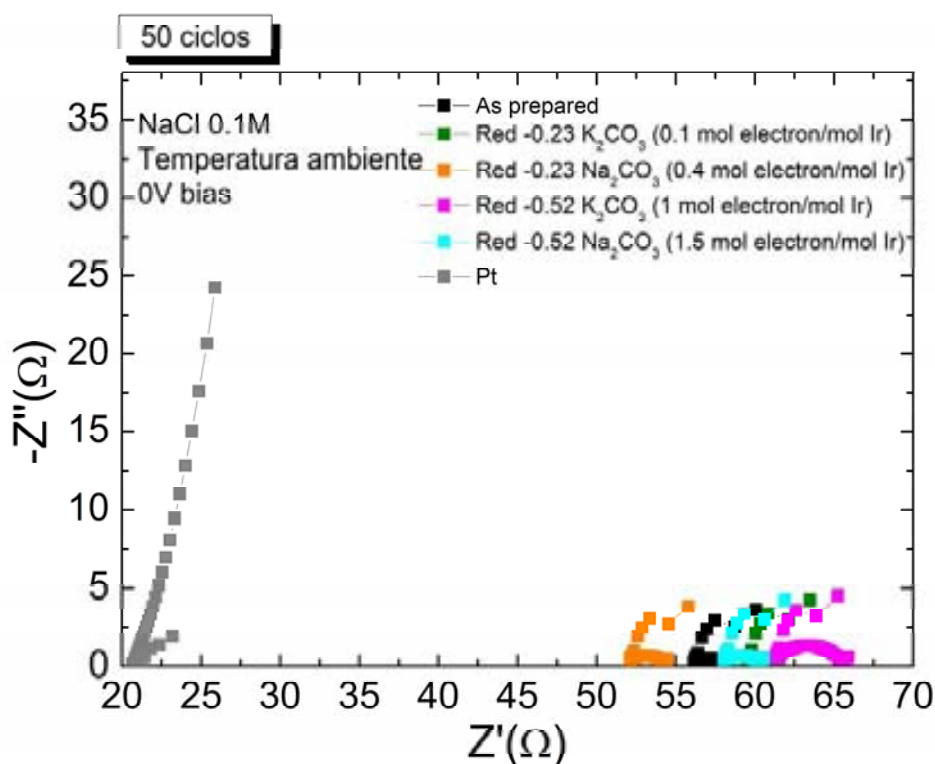


Figura 4.29 Diagrama de Nyquist de capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) “as prepared” y con diferentes grados de reducción, además de un substrato de platino utilizado para hallar la resistencia del electrolito utilizado en la medida (NaCl 0.1M).

Si se expande la figura anterior se pueden diferenciar 3 tipos de comportamientos tanto en la muestra “as prepared” como en las reducidas (Figura 4.30); el primero a altas frecuencias, el segundo a frecuencias medias y el último a bajas frecuencias. En las muestras reducidas puede verse más claramente la

presencia de un semicírculo en el rango de frecuencias medias pero es evidente que en las muestras “*as prepared*” también existe un fenómeno distinto en este rango.

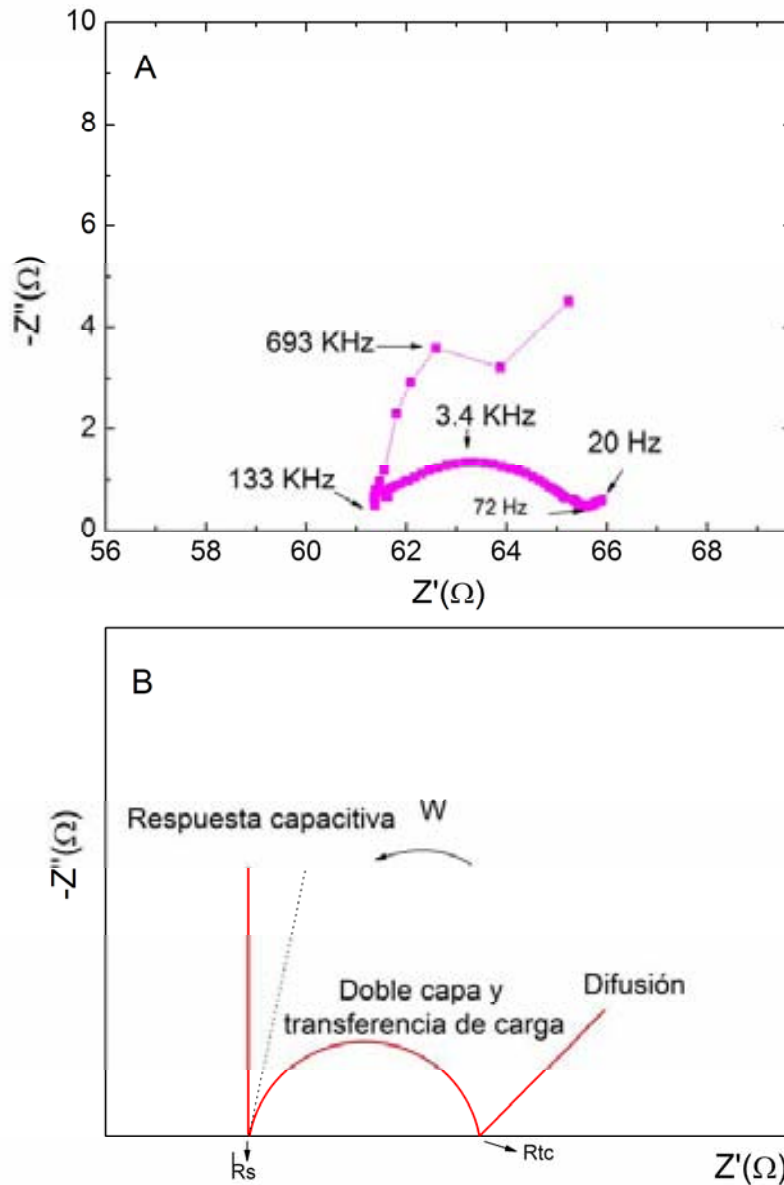


Figura 4.30 Diagrama de Nyquist de una capa de IrO_x electrodepositada a potencial dinámico (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos) y reducida a -0.52V en K_2CO_3 pH 11 durante 18s.

La primera parte a altas frecuencias puede ser atribuida a un efecto de electrodo bloqueante debido a una polarización inicial tanto en el contra electrodo como en la muestra. Este fenómeno puede ser representado por una resistencia en serie con un condensador, donde el valor de resistencia equivale a la resistencia del electrolito (Figura 4.31). Cuando los iones Na^+ del electrolito comienzan a migrar hacia el electrodo de trabajo aparece una doble capa en la superficie de la muestra que actúa como un condensador acumulador de carga. Además pueden ocurrir

reacciones como la oxidación o la reducción que involucran transferencia de carga entre el material y el electrolito.

La presencia de la doble capa y la transferencia de carga pueden estar relacionadas con el semicírculo en el diagrama de Nyquist y pueden ser representadas mediante un condensador en paralelo con una resistencia, en este caso la resistencia a la transferencia de carga del electrolito al material y viceversa. Es posible observar que el semicírculo no está centrado en el eje real lo que significa que el comportamiento no es lineal y en este caso la capacidad de la doble capa formada en la interfase debe ser substituida por un elemento de constante de fase CPE. Finalmente a bajas frecuencias se observa la misma línea inclinada 45° que se observa al evaluar las propiedades del electrolito representando la difusión iónica y de nuevo puede ser representado por una impedancia tipo Warburg.

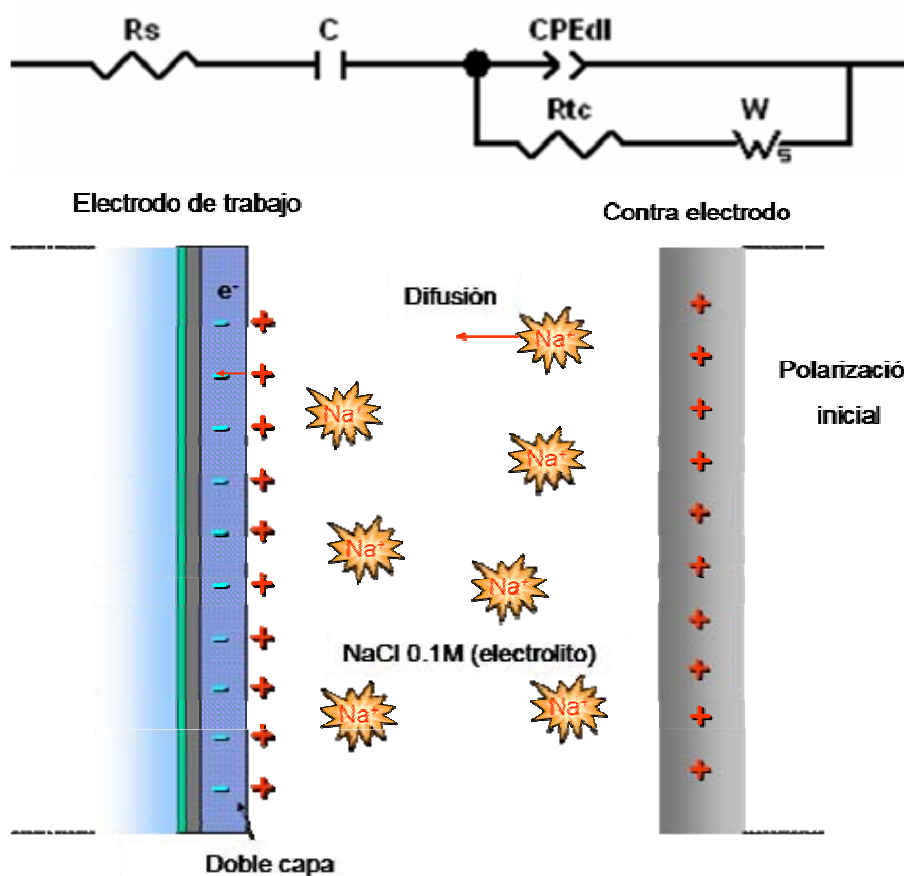


Figura 4.31 Circuito equivalente y esquema del comportamiento electroquímico de capas de IrO_x durante una medida de EIS.

Como conclusión, las medidas de impedancia están de acuerdo con una fase conductora que permite reacciones de intercalación.

4.9 Cultivos Neuronales

La realización de cultivos neuronales constituye una primera aproximación al uso del material como promotor de crecimiento y se han realizado como se describe en la sección 2.5 del capítulo 2.

4.9.1 Supervivencia Celular

La Figura 4.32 muestra los cultivos neuronales (Neuronas corticales E14) de alta densidad, 25000 cel/cm^2 , durante 4 días *in vitro* de capas de IrO_x de 50 y 100 ciclos, según el método descrito en el apartado 2.5 del capítulo 2.

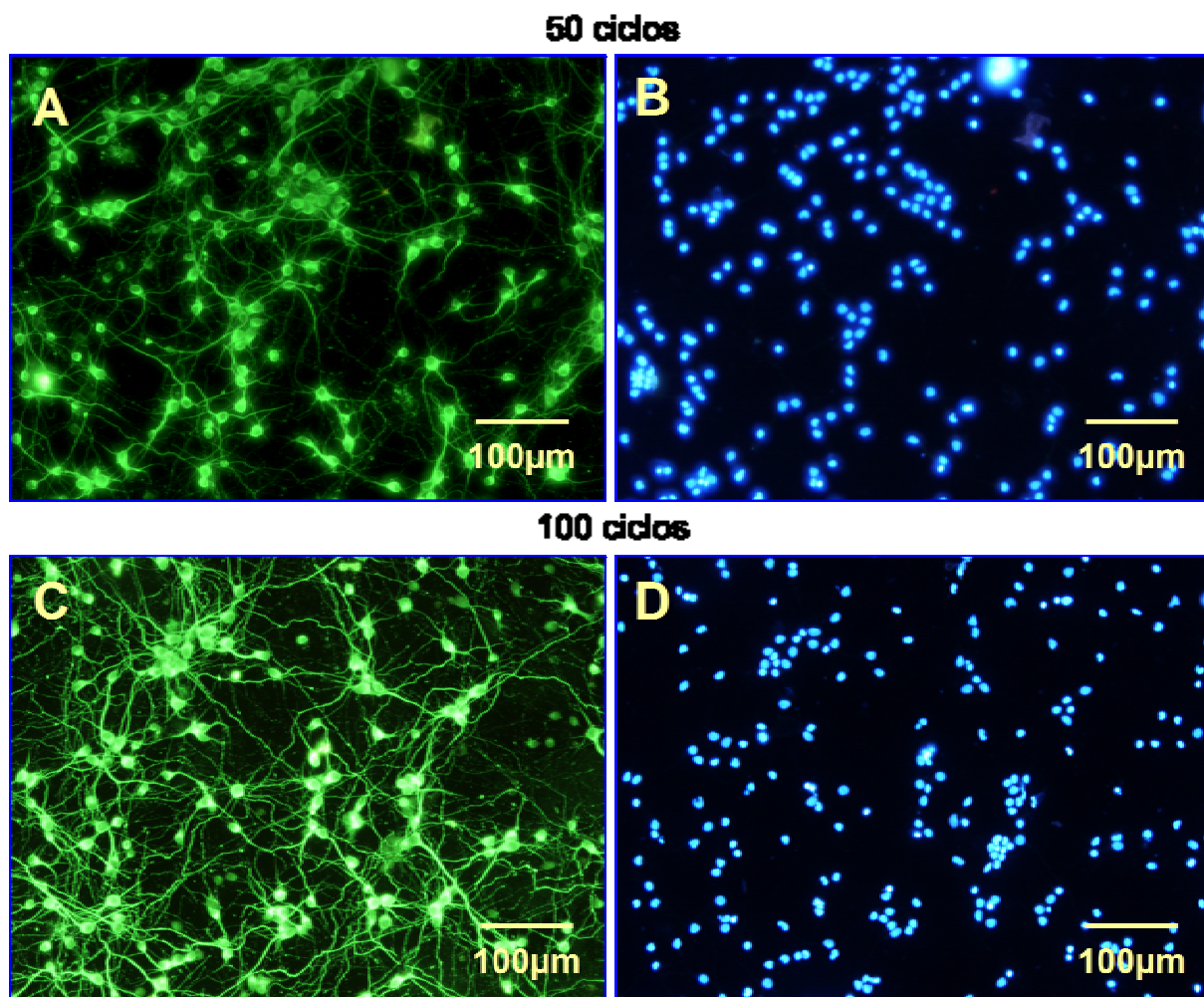


Figura 4.32 Imágenes de microscopía de fluorescencia de neuronas del córtex cerebral de rata sembradas a 25.000 cel/cm^2 y cultivadas 4 días en capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V , 10 mV/s) A) y C) Tinción inmunocitoquímica Tau. B) y D) Tinción Hoescht de los núcleos correspondientes a las células en A) y C)

Las imágenes de microscopía de fluorescencia revelan una buena adhesión y supervivencia de las células sobre la superficie del material. Los datos estadísticos de la supervivencia de las neuronas corticales sembradas a 4 días en la superficie de capas de IrO_x se presentan en la Figura 4.33 y se observa que para las capas de IrO_x obtenidas por deposición a potencial dinámico, con cualquier rugosidad final, la supervivencia es estadísticamente igual o superior a la del blanco de referencia, borosilicato. Además la supervivencia parece ser superior a los valores sobre TiO_2 presentados en la Figura 3.21 del capítulo 3. Ello representa de nuevo, que los cambios microestructurales observados no afectan a la supervivencia celular, y que es la química lo que está determinando dicha influencia.

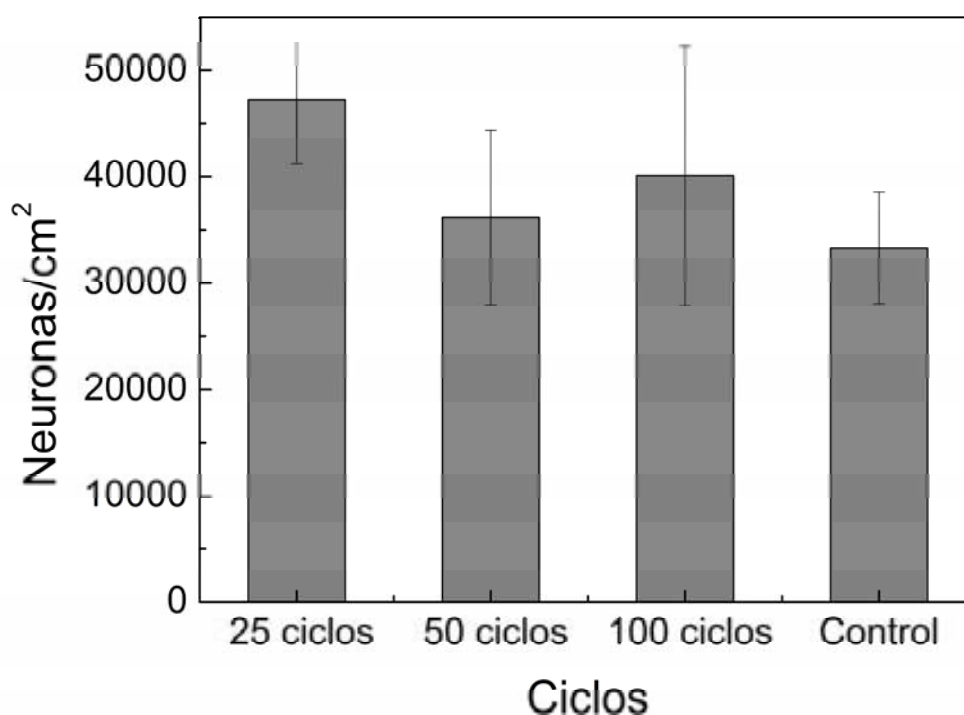


Figura 4.33 Supervivencia neuronal en cultivos de alta densidad (25000 cel/cm²) después de 4 días *in vitro* (DIV) en capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s) a 25, 50 y 100 ciclos.

Al igual que con las capas de TiO_2 también fueron realizados cultivos de baja densidad con el fin de estudiar la evolución de dendritas y axones en las diferentes etapas de crecimiento de la neurona descritas en la sección 2.5 del capítulo 2. La Figura 4.34 muestra la supervivencia neuronal en cultivos de baja densidad, 500 cel/cm², a 4 días *in vitro* sobre capas de IrO_x con 50 ciclos.

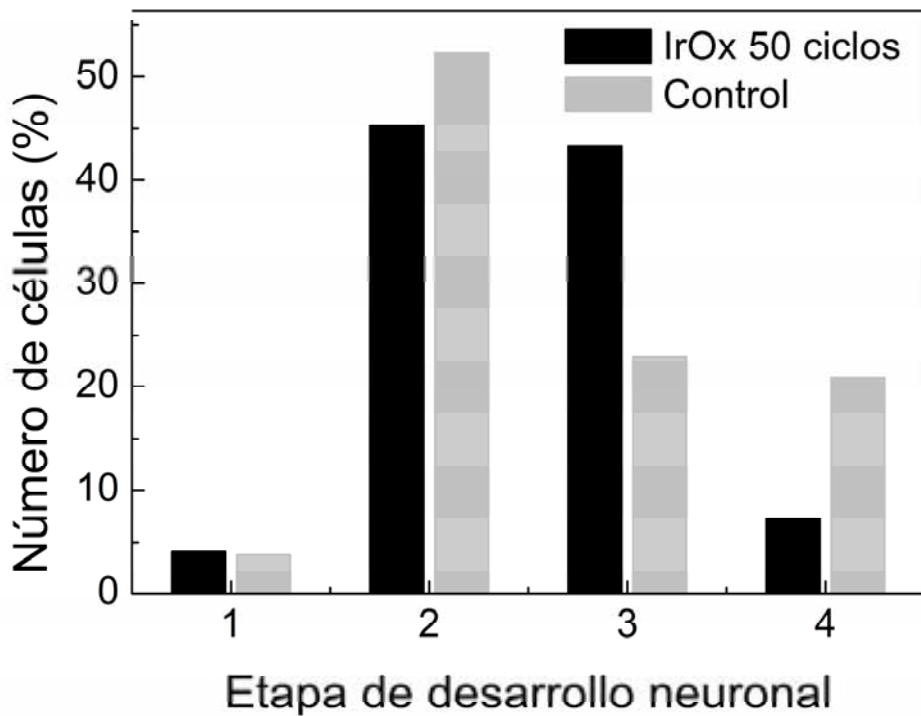


Figura 4.34 Supervivencia neuronal en cultivos de baja densidad (500 cel/cm^2) después de 4 días *in vitro* (DIV) en capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V , 10 mV/s , 50 ciclos) en función de la etapa de desarrollo neuronal.

Puede observarse que al cuarto día de cultivo el 50% de las neuronas sembradas tanto en las capas de IrO_x como en el control estaban en las etapas 1-2 de crecimiento y el otro 50% en las etapas 3-4 al igual que en el caso de las capas de TiO_2 (sección 3.6 del capítulo 3).

A 4 DIV, el número de neuronas en estado 3 es mayor para el IrO_x que para el control, mientras que en la etapa 4 es mayor en el control. Se puede pensar pues que el material favorece el crecimiento en el estadio 3 en el cual comienza el crecimiento axonal (ver Tabla 2.1 del capítulo 2), al diferencia que en el caso de las muestras TiO_2 , donde el óxido inhibe etapas de desarrollo anteriores.

La Figura 4.34 muestra los resultados estadísticos de las mediciones de las dendritas y el axón de las neuronas en las diferentes etapas.

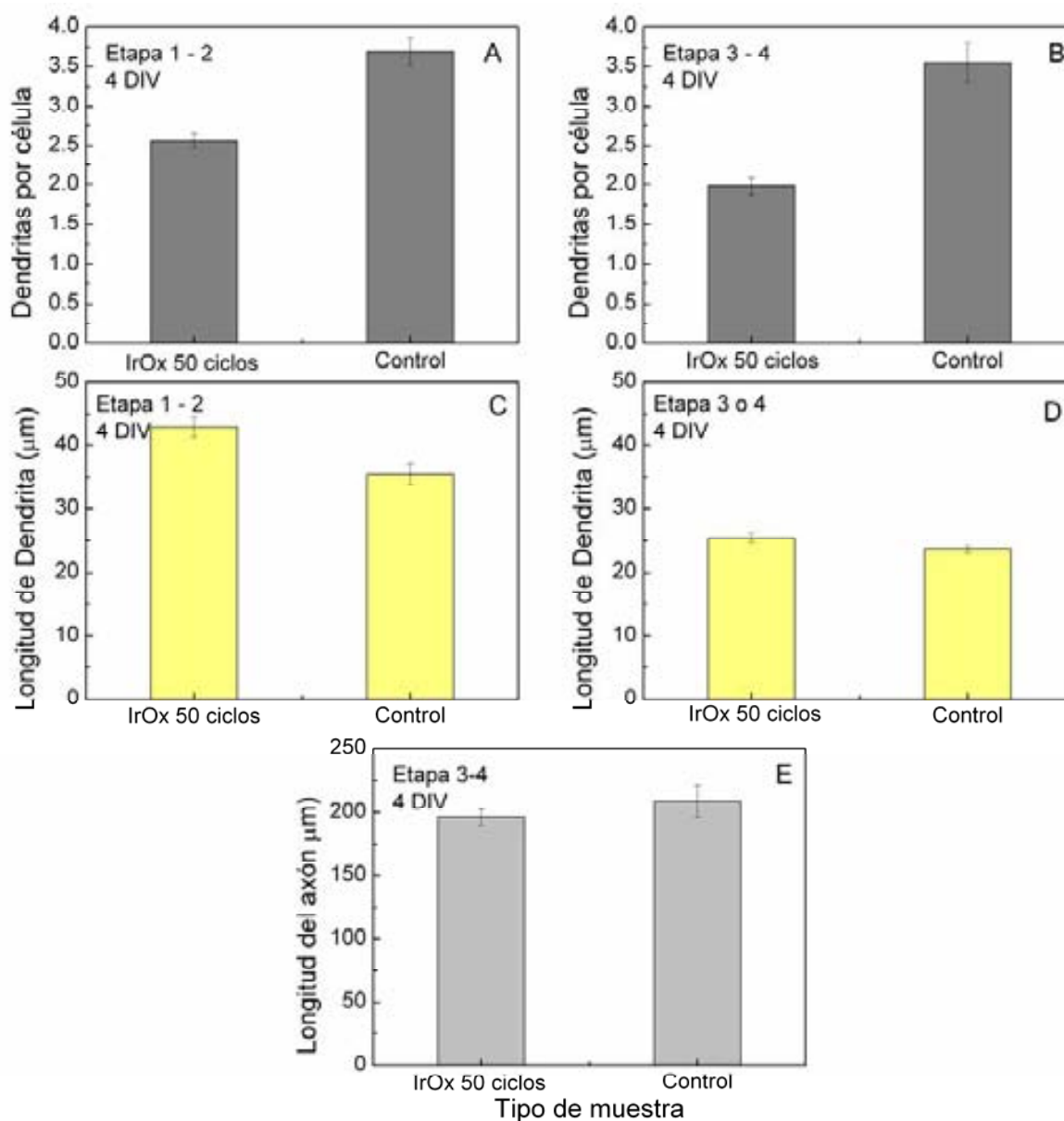


Figura 4.35 Procesos de crecimiento neuronal en cultivos de baja densidad (500 cel/cm^2) en capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V , 10 mV/s , 50 ciclos) y superficies de control. Los datos representan la diferencia media \pm desviación estándar del error significativa a $p < 0.05$ de: A) y B) Número de dendritas primarias por célula, C) y D) Longitud de las dendritas primarias y E) Longitud del axón primario

La Figura 4.35 muestra que el número de dendritas es aproximadamente un 30% mayor en los controles que en las capas de IrO_x tanto para las neuronas en las etapas 1-2 como en las de las etapas 3-4. Sin embargo en el caso de las neuronas de las etapas 1-2 la longitud de las dendritas sembradas en las capas de IrO_x es

superior a la de las dendritas sembradas en los controles. Las dendritas y los axones de las neuronas en las etapas 3-4 parecen crecer igualmente en el control y en las capas de IrO_x, pero la evolución en cuanto a la longitud es distinta.

Estos resultados revelan que a pesar de que la supervivencia celular en las capas de IrO_x es cercana a la de los controles, las neuronas se desarrollan mejor sobre el material en estudio en un primer estadio (las dendritas están más extendidas), a diferencia de las capas de TiO₂ en donde el desarrollo de las dendritas y la maduración del axón parecían estar inhibidos. Sin embargo, hacia el final del periodo se inhibe el desarrollo también en IrO_x.

4.9.2 Influencia de Campos Eléctricos

4.9.2.1 Efecto de la Reducción del Material ex Situ

Como fue mencionado en la sección 4.5, las capas de IrO_x fueron reducidas en diferentes medios y potenciales con el objetivo de estudiar los efectos faradaicos en las características estructurales y morfológicas de las capas. Además de estas caracterizaciones dichas muestras fueron evaluadas en términos de supervivencia celular ya que en su posible utilización el material se verá reducido persé. Así, sobre las capas de IrO_x reducidas se realizaron cultivos neuronales corticales.

La Figura 4.36 muestra los datos estadísticos de la supervivencia celular de neuronas corticales de alta densidad, 25000 cel/cm², a 4 días *in vitro* sembradas sobre capas de IrO_x reducidas en K₂CO₃ 1 M pH 11, fosfato 0.1M pH7 y una disolución de polilisina 0.27 mM. Además se probaron dos tiempos y dos potenciales de reducción diferentes.

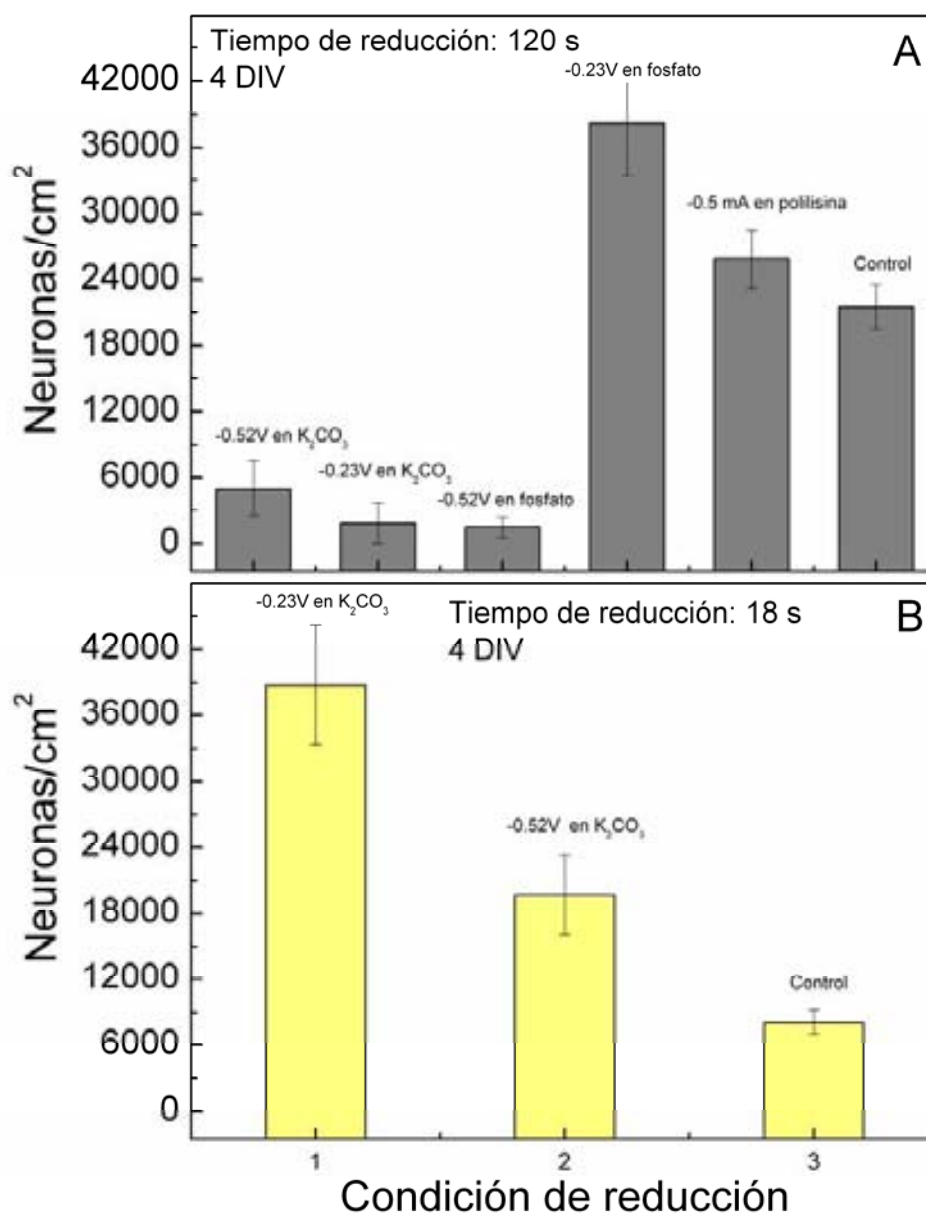


Figura 4.36 Supervivencia neuronal en cultivos de alta densidad (25000 cel/cm²) después de 4 días *in vitro* (DIV) en capas de IrO_x electrodepositadas a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) y reducidas en diferentes medios y potenciales A) Durante 2 min y B) Durante 18s.

Los histogramas revelan que el potencial aplicado afecta en cierta medida el número de neuronas que sobreviven en el cultivo. Parece ser que el medio de reducción es un factor clave, más significativo que el potencial, en términos de supervivencia, llegando a conseguirse valores estadísticamente iguales a los obtenidos con las capas “*as prepared*”. Los valores de la carga utilizada en la reducción están resumidos en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7 Valores de la carga utilizada en la reducción de las muestras presentadas en los histogramas de supervivencia celular de la Figura 4.36. El % de supervivencia se ha calculado con respecto a la supervivencia de la muestra “as prepared” (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos)

Reducción 120 s		
Condiciones	Carga (electrones/Ir)	% Supervivencia
-0.52V en K ₂ CO ₃	3.0	14
-0.23V en K ₂ CO ₃	0.6	5
-0.52 en Fosfato 0.1M pH7	3.0	4
-0.23 en Fosfato 0.1M pH7	0.8	106
-0.5mA en Polilisina	1.3	72
Reducción 18 s		
Condiciones	Carga (electrones/Ir)	% Supervivencia
-0.52V en K ₂ CO ₃	0.1	107
-0.23V en K ₂ CO ₃	0.8	54

De entre todos los casos la mayor supervivencia se produce a -0.23 V en tampón fosfato a tiempos de reducción largos (120 s) o en K₂CO₃ a tiempos cortos. La mejor supervivencia se observa con cargas inferiores y potenciales menores sin CO₃²⁻ presente.

4.9.2.2 Experimentos Preliminares de Electroestimulación in Situ

Como fue mencionado en el capítulo 2, las capas de IrO_x fueron evaluadas en una primera aproximación en un posible uso como electrodos con 3 experimentos preliminares de electroestimulación.

El primero consistió en la estimulación con pulsos de -0.2V vs. Pt con 1s y 5s de descanso (0V vs. Pt) de células glia sembradas a 3 días *in vitro* sobre el electrodo de trabajo que consistía en una capa de IrO_x obtenida a corriente constante (y sobre el contra electrodo de platino/soda lime, ver figura 2.11 capítulo 2). La Figura 4.37 muestra las imágenes de microscopía óptica en modo contraste de fase de la evolución de los cultivos de glia antes y después de ser estimulados eléctricamente.

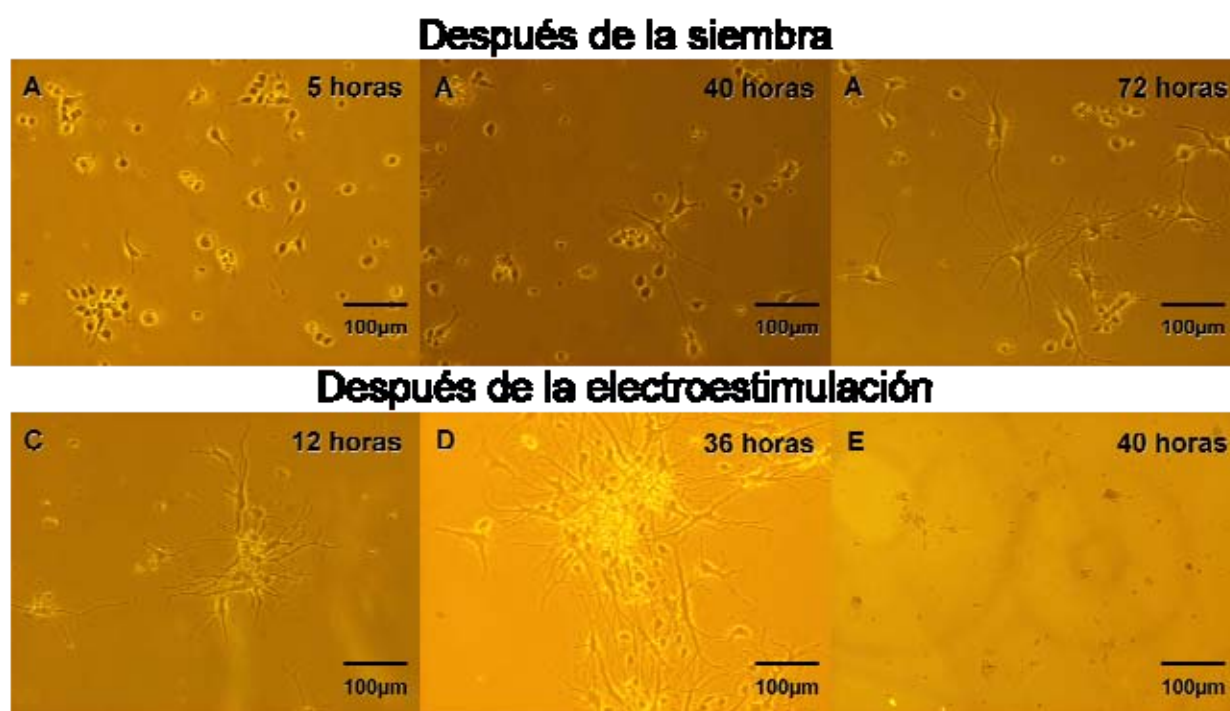


Figura 4.37 Fotos de microscopía óptica en modo contraste de fase de neuronas corticales cultivadas a 4 DIV sobre capas de IrO_x depositadas electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) después de ser electroestimuladas a un potencial de -0.2V 10min.

Durante la electroestimulación la corriente subió hasta 2mA con una carga de $-2.3 \times 10^{-3} \text{C}$ y el proceso de reducción del IrO_x ocurrió más rápidamente en cada pulso. Durante el proceso no se observó cambio alguno en la apariencia celular o la superficie del material en las imágenes de contraste. En las siguientes 36 horas no se observó muerte celular adicional a la de un cultivo de control exterior sobre IrO_x pero entre las 36 h y las 48 h parece haberse producido la muerte total de las células. Además el contra electrodo presentó un depósito blanco al final del experimento, indicando la presencia de una reacción secundaria a identificar.

El segundo experimento consistió en la estimulación con pulsos de -0.2V vs. Pt durante 10 min. Esta vez el campo eléctrico fue aplicado sobre neuronas corticales sembradas a 3 días *in vitro* sobre el electrodo de trabajo que consistía en una capa de IrO_x obtenida a corriente constante y sobre el contra electrodo de platino sobre soda lime (ver figura 2.12 capítulo 2). La Figura 4.38 muestra las imágenes de microscopía óptica en modo contraste de fase de la evolución de los cultivos de neuronas corticales después de su electroestimulación.

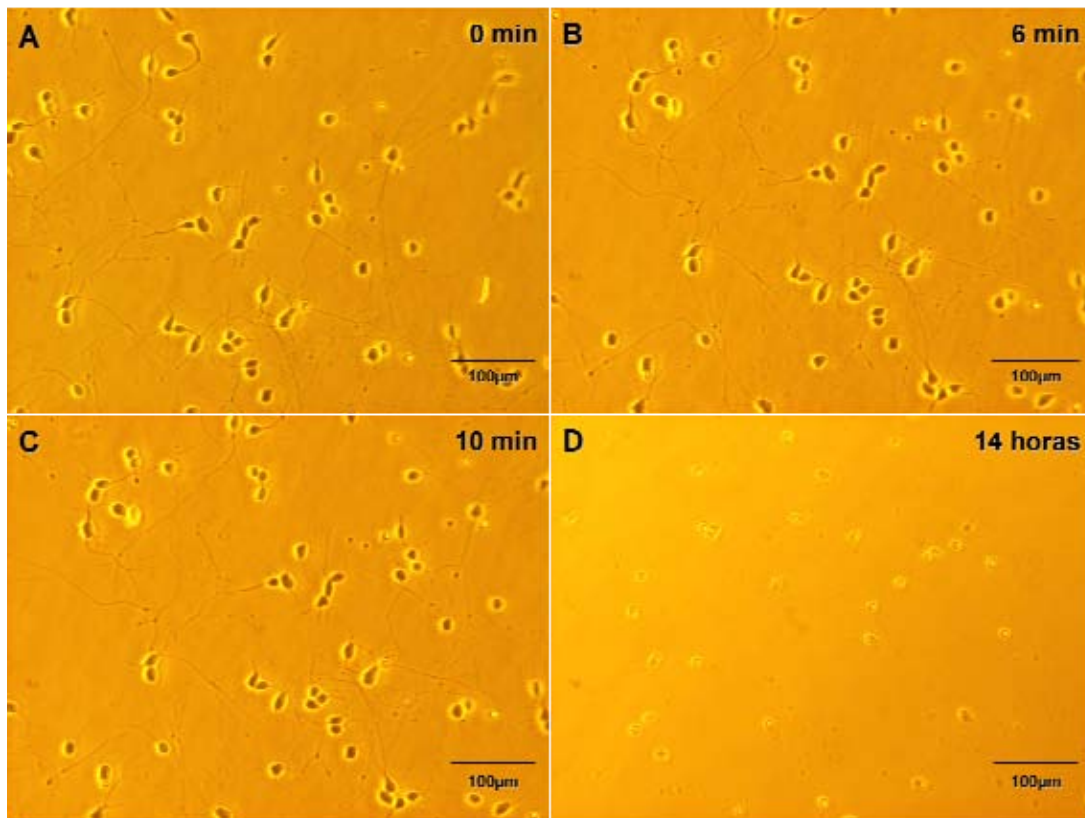


Figura 4.38 Fotos de microscopía óptica en modo contraste de fase de neuronas corticales cultivadas a 4 DIV sobre capas de IrO_x depositadas electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) después de ser electroestimuladas a un potencial de -0.2V 10min.

Tanto el primer experimento como el segundo fueron realizados en la zona de potencial donde el IrO_x sufre un proceso de reducción (cátodo) e intercalación de protones y/o iones Na^+ . En este caso la corriente producida fue del orden de los microamperios y la carga suministrada fue de -8.35×10^{-4} C con lo que se alcanzó aproximadamente el 15% de reducción. No se observaron efectos sobre el cultivo celular o la superficie del material en los primeros 10 min. Al cabo de 12 horas se observó muerte celular total. Al encontrarse el electrodo de trabajo y el contra electrodo en la misma celda los productos de la oxidación pudieron afectar tanto el cultivo de la glia como el de las neuronas corticales. Nuevamente se observó un depósito blanco en el contra - electrodo al final del experimento.

En el tercer experimento tanto el electrodo de trabajo como el contraelectrodo fueron capas de IrO_x obtenidas a potencial dinámico (0.55V, 10mV/s, 50 ciclos) y se colocó una placa de vidrio soda lime entre los dos electrodos como medio de separación (Ver figura 2.13 capítulo 2). Las

electroestimulación se realizó con neuronas corticales sembradas tanto en los 2 electrodos de IrO_x (de trabajo y contra electrodo) como en el vidrio utilizado como separación. Se aplicaron 5 pulsos de -1V durante 5 s con descansos de 60 s a 0V vs. Pt entre cada pulso. Las células fueron observadas mediante un microscopio de contraste cada 20 min en dos puntos de cada sección de la celda (electrodo de trabajo, vidrio soda lime y contra). La Figura 4.39 muestra las imágenes de monitorización después de la electroestimulación de las neuronas corticales.

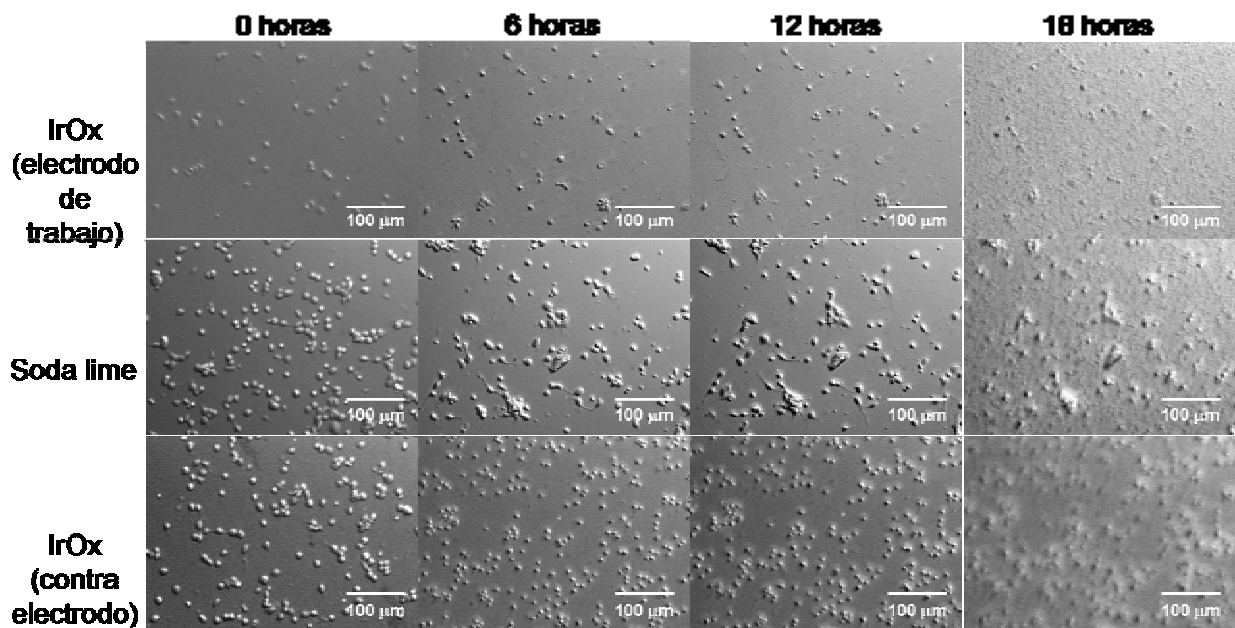


Figura 4.39 Imágenes de Video Time Lapse de neuronas corticales cultivadas sobre capas de IrO_x depositadas electroquímicamente a potencial dinámico (0.55V, 10 mV/s, 50 ciclos) y vidrio soda lime después de ser electroestimuladas mediante 5 pulsos a -1V con intervalos de 60s a 0V entre cada pulso.

La corriente producida fue del orden de los μA con una carga de $1.7 \times 10^{-2} \text{C}$ en cada pulso. Tanto en el electrodo de trabajo como en el contra electrodo la muerte celular comenzó en las primeras horas alcanzando la mortalidad total al cabo de las 15 horas. Las células cultivadas en el vidrio de separación no parecieron sufrir ninguna modificación a causa de la electroestimulación. Debido a problemas en el control de la atmósfera de la cámara donde se realizó el cultivo a las 18 horas se produjo la evaporación total del medio de cultivo y por lo tanto, la muerte celular de las neuronas que sobrevivían aún en el vidrio de separación.

Aún siendo un experimento preliminar, la realización de dichos cultivos ha mostrado parámetros que será necesario controlar en el futuro. Dicho trabajo queda abierto en este sentido.

4.10 Conclusiones

- Las capas de IrO_x óptimas (mejor adherencia y afinidad celular) fueron las obtenidas a potencial dinámico a 10 mV/s con 50 ciclos, alcanzando valores de 40 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$.
- El material obtenido por electrodeposición debe ser formulado idóneamente como un oxo-hidróxido hidratado, conductor protónico y eléctrico y ligeramente básico, amorfo o cuasi-amorfo con una estructura local tipo rutilo que permite la inserción de H⁺ o K⁺ y con grados de homogeneidad variable. Sería posible definirlo como una “esponja” de agua/H⁺/K⁺. Sus propiedades eléctricas y electroquímicas muestran un conductor electro-iónico (mixto) con capacidad de sufrir cambios en el estado de oxidación del Ir, e intercalación simultánea de protones en forma hidratada.
- El método de síntesis utilizado parece potenciar la retención de oxalato y/o carbonato en la estructura final del óxido obtenido. La caracterización estructural evidencia una valencia mixta alrededor de Ir^{3.5+} en las capas de IrO_x. La estructura local puede ser descrita como una estructura desordenada tipo rutilo, donde los octaedros IrO₆ son similares a los encontrados en la estructura cristalina, sin embargo, las capas no poseen un orden tridimensional de largo alcance. El desorden, y la facilidad de absorción/intercalación, así como la presencia de K y C, evidencian una estructura abierta formada por un “*template*”.
- La ventana de potencial donde no ocurre ninguna reacción del H₂O o del electrolito y que permitiría la utilización segura del IrO_x sintetizado sería de -1 V a 0.7V vs Pt en varios medios utilizados. En el medio de cultivo, dicha ventana se estrecha al rango de -0.8V a 0.6 V vs Pt.

- El proceso de su formación electroquímica consume 4.2 e⁻/Ir globalmente y evoluciona con el tiempo, y por tanto involucra un proceso adicional a la oxidación del Ir^(III) precursor. Una posibilidad es la oxidación del propio oxalato quelante del metal que liberaría el metal cerca del electrodo. La formación de un óxido en el cátodo (contraelectrodo) podría ser debida a la formación local de OH⁻ que acompañaría a la reducción del H₂O a H₂.
- El material real en contacto con las células fue un oxohidroxido con iones intercalados.
- Los cultivos celulares sobre IrO_x lo muestran como el mejor sustrato probado con diferencias significativas con respecto al TiO₂. La inhibición en el crecimiento de dendritas sigue un patrón distinto en número y longitud y la supervivencia neural es muy alta.
- A pesar de que la supervivencia celular en las capas de IrO_x es cercana a la observada en los controles, las neuronas parecen desarrollarse mejor sobre el material en estudio en un primer estadio, a diferencia de las capas de TiO₂ en donde el desarrollo de las dendritas y la maduración del axón parecían estar inhibidos. Sin embargo, hacia el final del periodo se inhibe el desarrollo.

4.11 Referencias Bibliográficas

1. THANAWALA, S. et al. *J. of Mater. Sci: Mater Med.* v. 18, p. 1745-1752, 2007.
2. RATNER, B. et al. *Biomaterials Science.* Elsevier, 2004.
3. COGAN, S.F. Stability of Electroactive Materials and Coatings Charge-Injection Electrodes, *Proceed. Second Joint EMBS/BMES Conf. 2002*, p. 2062-2063, 2002.
4. WEILAND J.D; ANDERSON D.J. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* v. 47, n. 7, p. 911-918, 2000.
5. MEYER R.D. et al. *IEEE Trans. Neur. Systems Rehab. Eng.* v. 9, p. 2-11, 2001.

6. SLAVCHEVA E. et al. *J. Electrochem. Soc.* v. 151, n. 7, p. E226-E237, 2004.
7. YAGI, M., TOMITA, E; KUWABARA, T.. *J. Electroanal. Chem.* v. 579, p. 83-88, 2005.
8. PATIL, P.S. et al. *Mater. Chem. Phys.* v. 99, p. 309-313, 2006
9. MAILLEY, S.C. et al. *Mater. Sci. Eng. C* v. 21, p. 167-175, 2002.
10. LEE, I., WHANG, C., CHOI, K., CHOO, M. and LEE, Y. *Biomater.* v. 23, p. 2375-2380, 2002.
11. JUODKAZYTE, J. et al. *Electroanalysis.* v. 17, n. 11 p. 947, 2005.
12. NISHIO, K; WATANABE, Y; TSUCHIYA, T. *Thin Solid Films.* v. 350, n. 1-2, p. 96-100, 1999.
13. HUPPAUFF, M., LENGELER, B. *J. Electrochem. Soc.* v. 140, p. 598-602, 1993.
14. KRISTOF, J. et al. *J. Electroan. Chem.* v. 434, p. 88-104, 1997.
15. PETIT, M.A; PLICHON, V. *J. Electroanal. Chem.* v. 444, p. 247-252, 1998.
16. LERVIK, I. A. et al. *J. Electroanal. Chem.* v. 645, n. 2, p. 135-142, 2010.
17. THANAWALA, S. *Thin Solid Films* v. 515, p. 7059-7065, 2007.
18. BESTAOUI, N; PROUZET, E. *Chem. Mater.*, v. 9, p. 1036-1041, 1997.
19. PROUZET, E. *J. Phys. Condens. Matter.* v. 7, p. 8027, 1995.
20. ZAWODZINSKI, T.A et al.. *J. Electrochem. Soc.* v. 140, p. 598, 1993.
21. MCKEOWN D. A. et al *J. Phys. Chem B.* v. 103, p. 4825, 1999.
22. MO, Y; ANTONIO, M.R; SCHERSON, D.A. *J. Phys. Chem. B* v. 104, p. 9777, 2000.
23. COGAN, S.F. et al *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* v. 89B, n.2, p. 353-61, 2009.