

# Capítulo 5

## Elaboración y caracterización de un material compuesto PLA/vidrio de fosfato

### 5.1. INTRODUCCIÓN

Como ya se ha dicho en el primer capítulo, en las aplicaciones ortopédicas se utiliza una amplia gama de materiales para la elaboración de dispositivos para la substitución y reparación o fijación de los componentes del sistema músculo-esquelético. En el desarrollo de materiales para aplicaciones ortopédicas y traumatológicas existen diferentes tendencias que abarcan tanto la utilización de materiales porosos como no-porosos. Algunas de las aplicaciones orientadas al desarrollo de materiales no-porosos para fijación ósea, relleno de cavidades óseas y liberación de fármacos entre otras aplicaciones. Otras están dirigidas al desarrollo de materiales porosos para regeneración del tejido óseo, o más específicamente para ingeniería de tejidos. La presente tesis abarca las diferentes tendencias existentes mediante el desarrollo y caracterización de materiales tanto porosos como no-porosos. Este capítulo está dirigido al desarrollo de materiales no-porosos, y el capítulo 9 está dirigido al desarrollo de andamios tridimensionales porosos para ingeniería de tejidos.

En el caso de los materiales para el soporte y fijación de fracturas, algunos de los principales requisitos que deben cumplirse son la resistencia a la fatiga y rigidez entre otros, además de una buena biocompatibilidad.

En el tratamiento de la fractura, los materiales metálicos son actualmente los más utilizados gracias a sus elevadas propiedades mecánicas y a su gran estabilidad mecánica in vivo. Sin embargo, los dispositivos metálicos presentan también graves inconvenientes debido a sus altas prestaciones mecánicas principalmente. Dado que los materiales metálicos son mucho más rígidos que el hueso ( $E_{\text{metal}} = 100\text{-}200 \text{ GPa}$ ;  $E_{\text{hueso cortical}} = 10\text{-}20 \text{ GPa}$ ) (1), a menudo conllevan al fenómeno conocido como apantallamiento de tensiones “stress-shielding”, que es causado por la gran diferencia de módulo entre el material y el tejido óseo (2-4). Esto trae como consecuencia la pérdida de masa ósea y la atrofia del hueso u osteopenia (2;5;6), lo cual debilita enormemente al hueso e incrementa el riesgo de fractura de éste e incluso del implante. Por lo que se hace necesaria la remoción del implante.

Otro de los problemas presentados por los metales es la migración de pequeñas partículas metálicas e iones hacia las zonas circundantes al implante y en algunos casos en órganos como los pulmones o el hígado (7;8), lo cual afecta al metabolismo celular (9;10).

Por último, la radiopacidad de los implantes metálicos impide la correcta visualización de los tejidos que lo rodean, por lo tanto interfiere en la realización de una evaluación radiológica adecuada.

Ya en los años 40 y 50 se puso de manifiesto la necesidad de desarrollar materiales poliméricos semi-rígidos para la fijación ósea con el fin de mejorar los inconvenientes ya mencionados. Los primeros intentos por conseguir un dispositivo semi-rígido, involucraron el uso de fibras de carbono y resinas epóxicas (11;12). Estos compuestos llegaron a ser ensayados en seres humanos (13;14). Inicialmente los resultados concernientes a los procesos de manufactura y ensayos mecánicos fueron positivos. Sin embargo, las experiencias clínicas con pacientes humanos no tuvieron éxito.

Con el fin de superar este tipo de limitaciones, en los últimos años se han desarrollado nuevos materiales biodegradables, representados principalmente por un grupo de polímeros, los cuales conllevarían un mejor tratamiento de las fracturas. De esta forma, el proceso de curación de fractura se convierte en un proceso dinámico en el cual hay una transferencia progresiva de la carga al hueso regenerado (15), evitando así, el apantallamiento de tensiones. Además, un implante constituido por un material biodegradable, se degrada en un cierto tiempo después de ser implantado hasta desaparecer, lo cual evita las segundas intervenciones debidas a la extracción del dispositivo metálico.

El desarrollo de los polímeros biodegradables a principio de los años 60 ha sido de gran interés en el ámbito ortopédico. Se han desarrollado exitosamente barras, agujas y clavos basados en PLA y PGA para la fijación de fracturas maxilofaciales, zigomáticas o maleolares de tobillo (1;16-18).

A pesar de las grandes ventajas que los polímeros biodegradables representan, éstos carecen de propiedades mecánicas suficientes para aplicaciones en las cuales se precise soportar altas cargas como lo son la mayoría de las aplicaciones ortopédicas.

Por todo esto, desde hace unas décadas, se han desarrollado los llamados materiales compuestos, los cuales tienen como finalidad combinar las ventajas de ambas fases (polimérica y cerámica o vítrea) para así obtener un material con propiedades superiores a las de cada material por separado. De esta forma se busca obtener materiales que sean mecánicamente similares al hueso y al mismo tiempo degradables. Además, dependiendo del refuerzo utilizado, también se pueden obtener compuestos bioactivos.

En general, existen dos grandes tendencias para el refuerzo de estos polímeros, la primera tendencia consiste en reforzar la matriz polimérica con una fase orgánica, normalmente fibras del mismo polímero que la matriz, este tipo de materiales compuestos es conocido como materiales auto-reforzados (*self-reinforced*). La segunda tendencia consiste en reforzar la matriz polimérica con una fase inorgánica (biocerámica o biovidrio).

Los materiales auto-reforzados han sido desarrollados principalmente por Törmälä *et al.* de la universidad de Tampere en Finlandia. Este tipo de materiales ha sido utilizado de forma exitosa en diversas aplicaciones ortopédicas como la elaboración de clavos, tornillos y placas (19-21). Sin embargo, a pesar de haber obtenido resultados positivos, aún presentan algunas limitaciones para su aplicación en el tratamiento de fracturas de huesos largos sometidos a cargas elevadas como el fémur o el húmero. Generalmente los polímeros utilizados para este tipo de materiales son el ácido poliláctico (PLA) y el ácido poliglicólico (PGA). La última generación de estos materiales auto-reforzados incluye la incorporación de agentes químicos como factores de crecimiento (22), antibióticos (23-25), hormonas, vacunas y otros fármacos (26).

Otra de las aplicaciones propuestas para el material compuesto es como relleno de defectos óseos. Actualmente se utilizan diferentes materiales, principalmente fosfatos de calcio, en forma de polvo para rellenar cavidades o defectos óseos. El uso de materiales en polvo para rellenar cavidades óseas tiene la ventaja de que puede adaptarse fácilmente a la forma del defecto. Sin embargo, una de sus principales desventajas es la posible migración de las partículas a los tejidos adyacentes. Una de las maneras de solventar este problema es combinar las partículas con una matriz orgánica, preferiblemente con un polímero biodegradable (27-29).

Los materiales compuestos biodegradables también pueden ser utilizados como sistemas para liberación de fármacos. En este caso, es de gran importancia el control de la difusión del fármaco con la degradación del material (30).

Actualmente existen un gran número de estudios dirigidos al desarrollo de materiales compuestos para aplicaciones ortopédicas. La diversidad de los materiales utilizados y de los procesos de manufactura, permiten la obtención de implantes con un amplio espectro de propiedades físicas y mecánicas. De hecho, las propiedades mecánicas de un material compuesto dependen no sólo de las características iniciales de la matriz polimérica, sino que también dependen en gran parte del material utilizado como fase de refuerzo, de su morfología, dimensiones, orientación del refuerzo de la matriz, del porcentaje de refuerzo incorporado y del grado de unión entre el polímero y la fase de refuerzo.

A continuación se presentan en la Tabla 5.1 algunos de los diferentes compuestos biodegradables que han sido desarrollados en los últimos 20 años. Cada uno de estos compuestos posee características diferentes en cuanto a sus propiedades mecánicas y comportamiento durante la degradación.

**Tabla 5.1**

**Materiales compuestos biodegradables desarrollados en los últimos años.**

<b>Año</b>	<b>Matriz</b>	<b>Refuerzo</b>	<b>Referencia</b>
1984	DL-PLA	Fibras de metafosfato de calcio	(31)
1984	L-PLA	Fibras de PGA	(1)
1984	PGA	PGA	(32)
1986	DL-PLA	HA	(33)
1987	L-PLA	Fibras de metafosfato de Ca	(34)
1990	90PCL/10L-PLA	Fibras de vidrio Na <sub>2</sub> O-CaO-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	(35)
1991	L-PLA	Fibras de fosfato de calcio	(36)
1992	L-PLA	HA	(37)
1992	PHB/PHV	HA	(38)
1992	PHB/PHV	HA/vidrio P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> - CaO-Na <sub>2</sub> O	(39)
1993	10PCL/90L-PLA	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	(15)
1993	L-PLA	HA	(40)
1996	PHB	HA	(41)

1993	POE	Fibras cristalinas P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -CaO-Na <sub>2</sub> O	(42)
1993	PHB/PHV	Vidrio P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -CaO- Na <sub>2</sub> O	(43)
1994	PGA	Fibras de vidrio, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -CaO-Na <sub>2</sub> O- ZnO-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	(44)
1994	PCL	Partículas de vidrio, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -CaO-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	(45)
1995	PCL	Partículas de vidrio, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -CaO-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	(46)
1995	P(DTE-Carbonato)	Fibras de vidrio, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -CaO-NaPO <sub>3</sub> - ZnO-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	(47)
1997	L-PLA	Fibras de vidrio, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -CaO-Na <sub>2</sub> O- ZnO-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	(48)
1997	Polisulfona	Fibras de vidrio bioactivo	(49)
1997	PCL	Fibras de fosfato de Ca	(50)
1997	PLA	HA	(51)
1999	PLA	β-TCP	(52)
1999	PCL/DL-PLA	β-TCP	(53)
1999	L-PLA	HA	(54)
2000	L-PLA	HA	(55)
2000	PHB/PHV	HA/β-TCP	(56)
2000	60DL-PLA/40PCL	HA	(57)
2000	DL-PLA	L-PLA	(58)
2000	P(DTE-Carbonato)	Fibras de vidrio, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -CaO-Na <sub>2</sub> O- ZnO-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	(59)
2001	L-PLA	Fibras HA	(60)
2001	Poli(70L/30DL)láctico	Fibras Bioglass	(61)
2002	PLA	HA no sinterizada	(62)
2003	L-PLA	Vaterita (Carbonato cálcico)	(63)
2003	L/DL-PLA/PCL	α-TCP	(64)
2004	PCL/PLA	Bioglass	(65)

PLA: Ácido poliláctico; PGA: Ácido poliglicólico; PCL: Policaprolactona; PHB: Polihidroxibutirato; POE: Poliortoester; PDTE: Polidesaminotirosil-tirosil-etil; PHV: Polihidroxivalerato ; HA: Hidroxiapatita, TCP: Fosfato tricálcico.

En la Tabla 5.1 se observa, que los polímeros utilizados para la elaboración de este tipo de materiales pertenecen principalmente a la familia de los poliésteres alifáticos. En especial el ácido poliláctico (PLA) y el ácido poliglicólico (PGA) son muy utilizados ya que dentro del grupo de los polímeros biodegradables, poseen las mejores propiedades mecánicas, además de haber sido aprobados por la FDA (*Food and Drug Administration*). El copolímero utilizado, así como el grado de cristalinidad de cada polímero, son factores de gran importancia, ya que afectan altamente tanto el comportamiento mecánico como la velocidad de degradación. Así tenemos por ejemplo que el L-PLA presenta un módulo elástico alrededor de los 3 GPa (66) y es un polímero rígido, mientras que al combinar el DL-PLA con policaprolactona (PCL) en una proporción 60PLA/40PCL, se obtiene un material moldeable manualmente (57).

La naturaleza de la matriz polimérica también tiene una gran influencia en el comportamiento del material durante su degradación. Tanto el PLA como el PGA experimentan degradación en bloque (*bulk degradation*) (67). Sin embargo, otros polímeros como el polihidroxibutirato (PHB) o el POE (poliortoéster) poseen un mecanismo de degradación superficial. En estudios realizados en materiales compuestos por PHB y fibras de vidrio de fosfato (43), se ha visto que este tipo de compuesto tiene una velocidad de degradación más controlada que los compuestos elaborados con PLA ó PGA.

Asimismo, es un hecho bien conocido que la cantidad de fase de refuerzo así como su geometría son factores de gran importancia en cuanto al comportamiento mecánico de un material compuesto. Algunos estudios llevados a cabo con diferentes proporciones de fase de refuerzo muestran un aumento progresivo del módulo elástico con la incorporación de fase inorgánica en la matriz polimérica. Por ejemplo, Pirhonen *et al* (61) elaboraron compuestos de PLA con fracciones de vidrio entre 10 y 40 % en volumen de fibras de vidrio y obtuvieron valores del módulo de Young entre 2.87 y 14.3 GPa. Dunn *et al* (68) elaboraron compuestos de PLA con fracciones entre un 30 y un 70 % de fibras de vidrio y reportaron valores para el módulo elástico entre 19 y 25 GPa.

La geometría de la fase de refuerzo, y concretamente, la utilización del refuerzo en forma de partículas o en forma de fibras, también juega un papel de importancia en las propiedades del material. Las fibras pueden ser orientadas, lo cual le confiere al material mayores propiedades que las partículas (34;36). Otro factor de gran relevancia en el desarrollo de un material compuesto biodegradable, es la composición química y estructura del material usado como fase inorgánica. Muchos de los trabajos dirigidos a este fin, han utilizado hidroxapatita como refuerzo, como puede constatarse en la Tabla 5.1. tanto los compuestos reforzados con HA como aquellos reforzados con otras cerámicas de fosfato de calcio, deben considerarse como materiales semi-degradables. Si bien este tipo de cerámicas de fosfato de calcio tienen un efecto bioactivo sobre el material, hay que tener en cuenta su alta estabilidad química, la cual impide la total

reabsorción del material. Los sistemas vítreos por su parte ofrecen tanto la opción bioactiva como la biodegradable según su composición como hemos visto en capítulos anteriores. A su vez dentro de cada una de estas divisiones existen numerosas formulaciones químicas.

Por otro lado, el éxito de un biomaterial depende en parte, del tipo de unión entre las células y la superficie del mismo, lo cual es un proceso controlado principalmente por proteínas. La mojabilidad de la superficie de un material tiene una gran influencia en la interacción célula-substrato. De hecho, las características superficiales influyen en la adsorción de proteínas y las diferencias en el grado de adsorción de proteínas conlleva a variaciones en las interacciones con las integrinas. Las integrinas son unas proteínas que se encuentran en la membrana celular, y que controlan el proceso de adhesión celular sobre los diferentes sustratos. Las interacciones con las integrinas desencadenan la expresión de diferentes señales, que a su vez influyen tanto en la viabilidad celular, como en las etapas de proliferación y diferenciación (69;70). Por lo tanto, las propiedades superficiales del material en cuestión son de gran importancia y tienen un gran efecto en la respuesta célula-material. Dentro de este contexto, tanto la topografía como el grado de hidrofiliidad de la superficie del material, juegan un papel muy importante entre otros factores. Es razonable pensar que la adición de partículas inorgánicas en una matriz polimérica, no sólo puede inducir un aumento en las propiedades mecánicas y cambios en el proceso de degradación del polímero, sino que también puede modificar las propiedades superficiales del mismo y por lo tanto su biocompatibilidad. Debido a esto, es de gran interés caracterizar la superficie del material compuesto.

Resumiendo un poco todo lo expuesto anteriormente, se puede decir que en el desarrollo de este tipo de materiales existe un gran número de variables que afectan tanto sus propiedades iniciales como a su comportamiento biológico y degradativo *in vitro* e *in vivo*. Esto hace que actualmente existan una gran diversidad de materiales compuestos con propiedades mecánicas, fisico-químicas y biológicas muy dispares.

## **Objetivo**

El objetivo final del trabajo expuesto en este capítulo es el desarrollo y la caracterización fisico-química, mecánica y superficial de un nuevo material compuesto totalmente biodegradable para fijación y regeneración ósea, en aplicaciones ortopédicas y dentales.

Este estudio presenta el método utilizado para la elaboración de un material compuesto por PLA y el vidrio de fosfato G5, que ya ha sido estudiado en detalle en los capítulos 2, 3 y 4. Asimismo, se presenta la caracterización del material compuesto en función de sus propiedades mecánicas, fisico-químicas y superficiales.

## 5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.2.1. Materiales

#### 5.2.1.1. Matriz Polimérica

El polímero utilizado como matriz para la preparación del material compuesto en el presente trabajo fue el ácido poli 95L/5DL láctico, de alto peso molecular, de la casa PURAC Biochem (Gorinchem, Holanda). Dicho material es un copolímero del L-PLA y DL-PLA, formado por un 95% de cadenas tipo L y un 5% de cadenas tipo DL. Las características del material según el fabricante son las siguientes:

- Viscosidad intrínseca 6.6 dl/g
- Rango de fusión (DSC, 10°/min) 163.4-172.4°C
- Calor de fusión (DSC, 10°C/min) 36.3 J/g
- Cantidad de solvente residual < 0.1%
- Cantidad de monómero residual (GC) < 3%

Debido a que el PLA es un polímero biodegradable, se trató de evitar el contacto con el aire. Para ello el polímero se conservó a -15°C y dentro de envoltorios herméticamente sellados. Al menos una hora antes de la utilización, se retiró el PLA del congelador para que alcanzara el equilibrio con la temperatura ambiente y así prevenir el fenómeno de condensación de la humedad sobre el polímero al abrir el envoltorio del PLA.

#### 5.2.1.2. Fase de refuerzo

Para reforzar la matriz polimérica se utilizaron partículas del vidrio G5, estudiado en los capítulos anteriores, y cuya composición y algunas de sus propiedades se muestran a continuación en la Tabla 5.2

---

**Tabla 5.2**

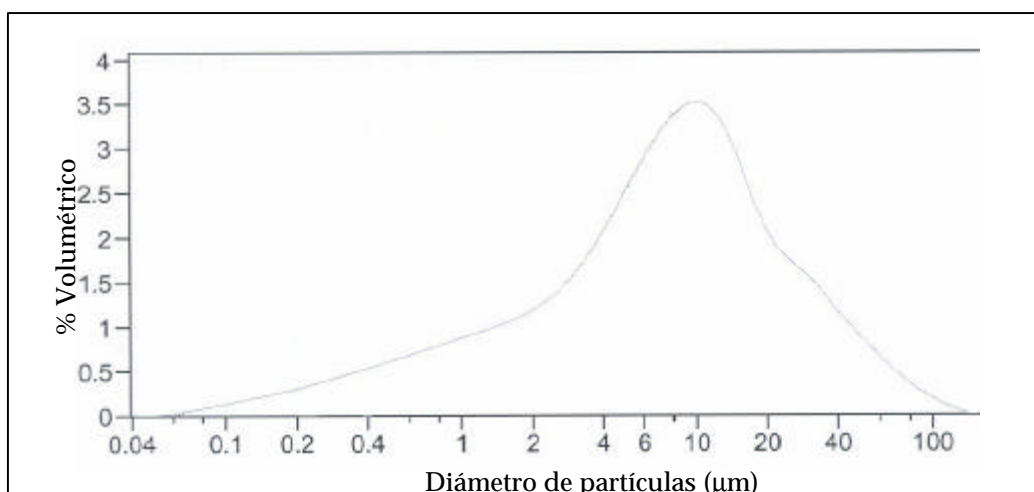
**Algunas propiedades del vidrio G5**

---

Composición (% molares)	44.5P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -44.5CaO-6Na <sub>2</sub> O-5TiO <sub>2</sub>
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	2.903
Temperatura de transición vítrea (°C)	532.9
Velocidad de disolución (g/cm <sup>2</sup> /h)	3.2.10 <sup>-7</sup>
Dureza Vickers (Kg/mm <sup>2</sup> )	431.1
Módulo elástico, E (GPa)	71.1

---





**Figura 5. 1.** Distribución del tamaño de partícula del G5 medida por medio de citometría de flujo, una vez molido y tamizado.

La preparación del vidrio ya ha sido explicada en detalle en el apartado 2.2.1.1.4. En este caso se utilizaron partículas de vidrio para el refuerzo. Las placas de vidrio fueron molidas en un molino planetario de ágata de la marca Fritsh, hasta obtener partículas menores de 80  $\mu\text{m}$ . Posteriormente se usaron varios tamices para determinar correctamente el tamaño de las partículas.

## 5.2.2. Métodos

### 5.2.2.1. Preparación del material compuesto

Se elaboraron 4 tipos de materiales compuestos según el porcentaje de partículas de vidrio incorporadas a la matriz.

**Tabla 5.3**

**Porcentajes máxicos de fase vítrea presente en los diferentes compuestos**

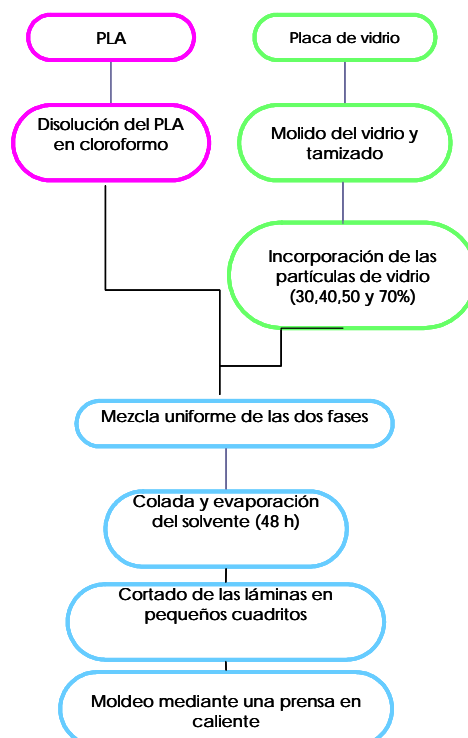
Material compuesto	Porcentaje máxico de vidrio (%)
PLA30	30
PLA40	40
PLA50	50
PLA70	70

En la Figura 5.2 se indican los pasos seguidos en la preparación de los materiales compuestos. Para la elaboración de estos materiales se utilizó la técnica conocida como disolución y colada (*solvent casting*), la cual se basa en la disolución del polímero en un solvente orgánico, y una vez disuelto, se vierte en un molde (colada) y se espera a la evaporación del solvente. Se utilizó esta técnica por varias razones: en primer lugar, es una técnica sencilla que puede ser llevada a cabo en el laboratorio sin necesidad de poseer una extrusora. En segundo lugar, es un método menos agresivo que la extrusión por lo que se espera obtener una menor pérdida del peso molecular del polímero y

además permite la incorporación de un mayor porcentaje de refuerzo. En tercer lugar, esta técnica requiere una cantidad de polímero mucho menor que la extrusión para la elaboración de los materiales finales, permitiendo así la preparación de distintos materiales a partir de una pequeña cantidad de polímero, lo cual es de gran interés ya que el PLA es un polímero bastante costoso.

En nuestro caso particular, el polímero fue colocado en un vaso de precipitados de vidrio, con cloroformo como solvente, hasta obtener una solución al 5% peso/volumen. La solución de PLA con cloroformo fue colocada sobre un agitador orbital a una velocidad de 100 rpm durante 48 horas aproximadamente o hasta completar la disolución del polímero. Una vez disuelto el PLA en el solvente, se procedió a la incorporación de la fase de refuerzo, es decir, las partículas de vidrio, las cuales se dispersan manualmente en la solución hasta obtener una mezcla completamente homogénea.

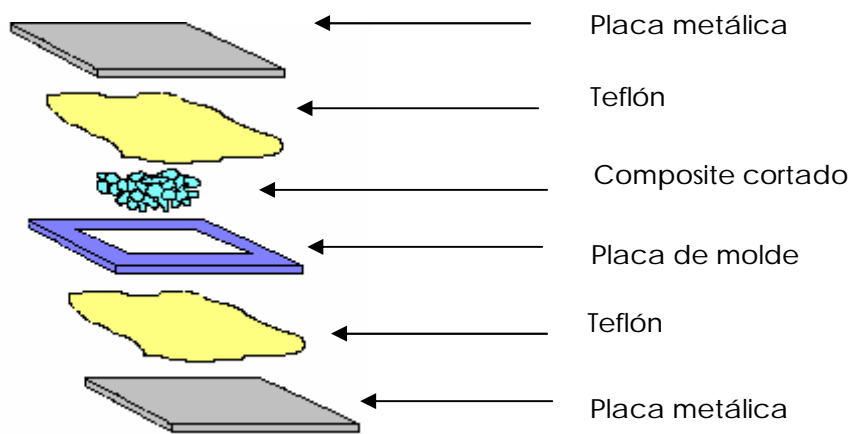
La mezcla de compuesto se coló en moldes con fondo de Teflón para evitar que el PLA se adheriera. Posteriormente, se colocó el compuesto en una campana de extracción y se dejó evaporar el cloroformo durante 48 horas aproximadamente. Finalmente, se obtuvieron láminas de compuesto de aproximadamente 0.1 mm de espesor. Estas son cortadas con tijeras en pequeños cuadritos (5 mm de lado) para luego facilitar el proceso de prensado en caliente.



**Figura 5. 2.** Esquema del procedimiento seguido para la elaboración del material compuesto.

### 5.2.2.2. Prensado y moldeo del material compuesto

Los pequeños trozos de material compuesto fueron moldeados en forma de placas de 20x20x0.15cm mediante una prensa caliente de la marca Collin modelo P300P, la cual está equipada con 2 platos calefactores y un sistema de refrigeración por agua. Se utilizaron moldes metálicos. El proceso se realizó a una temperatura de 160°C, aplicando presión de forma progresiva con la finalidad de evitar la formación de burbujas y permitir la salida del aire atrapado entre los trozos de material. Se aplicó presión hasta alcanzar los 100 bares. Después de unos minutos, se disminuyó la presión y se enfrió la placa hasta alcanzar unos 40°C. Finalmente se extrajo la placa de material prensado.



**Figura 5. 3.** Esquema de la preparación del material para el prensado en caliente.

### 5.2.2.3. Caracterización del material compuesto

#### 5.2.2.3.1 Determinación de la fracción en peso de las partículas de vidrio

La determinación de la fracción en peso de la fase inorgánica fue realizada mediante el ensayo normalizado de determinación del contenido en cenizas de materiales plásticos, según la norma UNE 53-090 (71).

Esta técnica es denominada calcinación y se utiliza también para determinar el porcentaje de fase mineral del hueso. La técnica consiste en colocar la muestra a calcinar en un pequeño crisol de porcelana, y colocarlo sobre la llama de un mechero tipo Bunsen hasta la desaparición del humo proveniente de la licuefacción del polímero. El crisol con el material se coloca en un horno a una temperatura de 600°C por 3 horas hasta que los restos del material se tornen de color blanco. A 600°C, el PLA

se transforma en su totalidad en sustancias volátiles, mientras que el G5 no sufre pérdidas de peso apreciables. Por lo tanto, determinando el peso de las cenizas y el peso inicial del material compuesto, es posible valorar la fracción en peso real de partículas de vidrio en el compuesto mediante la fórmula [5.1]. Se analizaron tres especímenes por cada tipo de compuesto.

$$\%W_p = \frac{w_1}{w_2} \quad [5.1]$$

donde  $\%W_{G5}$  es el porcentaje de partículas presente en el compuesto,  $w_1$  es el peso de cenizas y  $w_2$  es el peso inicial de la muestra.

#### **5.2.2.3.2. Determinación de la densidad y de la fracción en volumen de refuerzo**

La densidad teórica del material compuesto ( $\rho_c$ ) se determinó con los valores de la densidad del PLA ( $\rho_{PLA}$ ), del G5 ( $\rho_{G5}=2.903 \text{ g/cm}^3$ ) y con el porcentaje en peso de partículas obtenido experimentalmente ( $W_{G5}$ ). La fórmula aplicada en este caso fue:

$$\frac{1}{r_c} = \frac{W_{G5}}{r_{G5}} + \frac{(1-W_{G5})}{r_{PLA}} \quad [5.2]$$

La determinación de la densidad del PLA ( $\rho_{PLA}$ ), se llevó a cabo mediante la técnica de picnometría, la cual se basa en el principio de Arquímedes. Se utilizaron tres probetas. A partir de los valores correspondientes a la masa del picnómetro vacío ( $M_1$ ), del picnómetro con un líquido de densidad conocida ( etanol,  $\rho_{etanol}=0.79 \text{ g/cm}^3$ ,  $M_2$ ), el peso de la muestra ( $M_3$ ) y el peso del picnómetro con la muestra inmersa en el fluido ( $M_4$ ), puede calcularse la densidad del material de la siguiente forma:

$$r = \frac{M_3 r_{etanol}}{(M_4 - M_2) - M_3} \quad [5.4]$$

El mismo procedimiento se llevó a cabo para la determinación de la densidad experimental del compuesto. La fracción en volumen ( $V_{G5}$ ) que ocupan las partículas de G5 en el material compuesto se pueden calcular a partir de los valores experimentales de la fracción en peso ( $W_{G5}$ ), densidad del material compuesto ( $\rho_c$ ) y la densidad de G5 ( $\rho_{G5}$ ), mediante la siguiente ecuación:

$$V_{G5} = \frac{r_c \times W_{G5}}{r_{G5}} \quad [5.5]$$

#### **5.2.2.3.3. Evaluación del peso molecular mediante GPC**

La cromatografía de permeación de gel (GPC, *Gel Permeation Chromatography*), es una de las técnicas analíticas más versátiles y poderosas para la comprensión y predicción del comportamiento de un polímero determinado. Además es la única técnica capaz de determinar con precisión la distribución del peso molecular de un material polimérico.

La GPC es una técnica que se basa en la separación por tamaños de las moléculas que componen el material a analizar. La muestra es disuelta en un solvente orgánico e inyectada al equipo. Dentro del cromatógrafo, la muestra entra en contacto con la fase móvil, la cual debe ser un disolvente del polímero a examinar, y que llevará a la muestra a través de una serie de columnas formadas por partículas rígidas altamente porosas y con diversos tamaños. Dependiendo del tamaño de las moléculas del polímero analizado, éstas serán separadas en diferentes grupos. Una vez separadas serán detectadas por un refractómetro diferencial. La respuesta de este detector es directamente proporcional a la distribución del peso molecular.

Los ensayos se realizaron en un sistema modular Viscotek (Holanda). Las muestras fueron disueltas inicialmente en cloroformo para obtener una concentración de 2 mg/ml. En el caso de los compuestos con vidrio, las muestras fueron centrifugadas a 1000 rpm durante 6 minutos para separar las partículas de vidrio. Todas las muestras fueron filtradas a través de filtros de 0.22  $\mu\text{m}$  antes de ser inyectadas en el equipo. La fase móvil o diluyente fue tetrahidrofurano (THF) estabilizado, con un flujo de 1 ml/min, y el ensayo se llevó a cabo a 40° para facilitar la disolución del PLA en THF y evitar la formación de cualquier tipo de precipitados dentro del aparato. Se utilizaron patrones de poliestireno para la calibración del equipo. Se analizaron dos probetas de cada serie (PLArecibido, PLAfilm, PLApreñado, PLA con 50% de vidrio G5 y PLAextruido). Se analizaron muestras de PLA extruidas, para cuantificar y comparar el efecto del procesado sobre el material.

#### **5.2.2.3.4. Caracterización térmica mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC)**

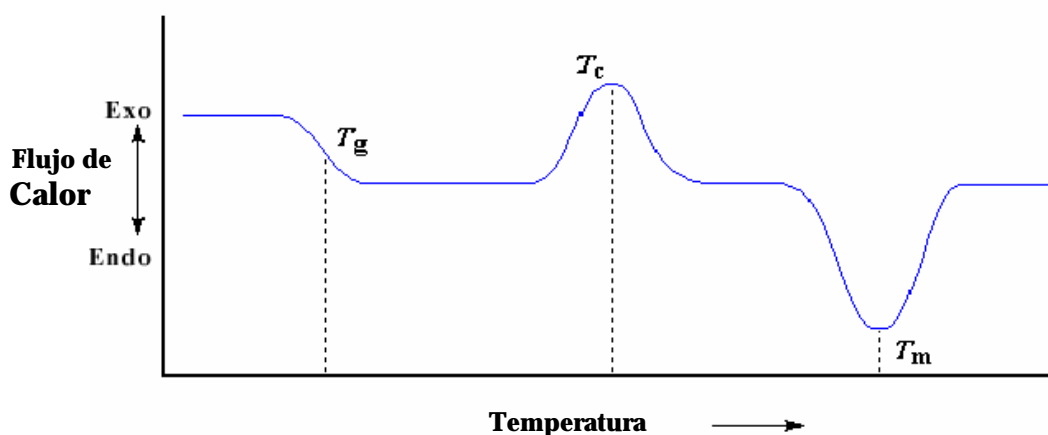
La calorimetría diferencial de barrido (DSC, *Differential Scanning Calorimetry*), es una técnica de análisis térmico ampliamente utilizada en el campo de los materiales poliméricos, ya que permite obtener de forma rápida y precisa, información sobre las transiciones térmicas del material relacionadas con su estructura molecular y morfología.

En el presente estudio, se ha utilizado un equipo para DSC de la marca TA Instruments, modelo 2029, calibrado con una muestra patrón de Indio. Se llevaron a cabo ensayos dinámicos, empleando una velocidad de calentamiento/enfriamiento de 10°C/min, la cual es una velocidad bastante utilizada para este tipo de análisis. Se analizaron 3 muestras de cada serie. El peso de las muestras se evaluó con exactitud ( $\pm$

0.0001) con una balanza (Sartorius) para cada ensayo, siendo este entre 10 y 15 mg. A continuación se describen los ciclos de calentamiento/enfriamiento utilizados:

- Un primer calentamiento a  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  entre 10 y  $200^{\circ}\text{C}$ , para determinar las temperaturas de cristalización y fusión y la cristalinidad del material. En este primer calentamiento se evalúa el efecto del procesado sobre las propiedades del material. Posteriormente se mantiene la temperatura de  $200^{\circ}\text{C}$  durante 5 minutos, con la finalidad de eliminar la historia térmica del polímero.
- Enfriamiento a una velocidad de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta  $10^{\circ}\text{C}$ .
- Por último un segundo calentamiento a  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta  $200^{\circ}\text{C}$  con el fin de comparar el estado de los polímeros independientemente de su historia térmica. Las curvas obtenidas en el segundo calentamiento nos permitieron comparar los valores de la  $T_g$ . La temperatura de transición vítrea es un valor indicativo de la posible degradación o rotura de cadenas del material.

Con los termogramas obtenidos se determinaron las temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ), de fusión ( $T_m$ ) y de cristalización ( $T_c$ ), tal como se esquematiza en la Figura 5.4, así como las entalpías de fusión ( $\Delta H_m$ ) y de cristalización ( $\Delta H_c$ ) del PLA en sus diferentes etapas de procesado incluyendo el PLA extruído, así como de los materiales compuestos desarrollados.



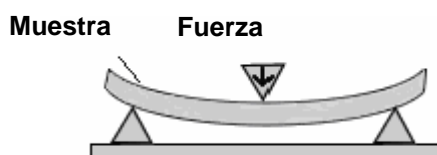
**Figura 5. 4.** Esquema general de las transiciones de temperatura detectadas a partir del DSC.

La **temperatura de transición vítrea** se caracteriza por la aparición en el termograma de un abrupto incremento de la capacidad calorífica  $c_p$  en la región de transición. En este trabajo será definida por el punto de inflexión en el segundo ciclo de calentamiento. La **temperatura de cristalización** es una transición de fase exotérmica y se observa en el termograma como un pico positivo. Para la determinación de la  $T_c$ , se toma el punto máximo de la curva. La **temperatura de fusión** es una transición de fase endotérmica y se representa en el termograma como un pico negativo. Para la determinación de este

valor se toma el punto mínimo de la curva. Por último, las **entalpías de fusión y de cristalización** están relacionadas con las áreas de los picos de fusión y cristalización respectivamente. Con los valores de la entalpía de fusión  $\Delta H_m$  y de la entalpía de cristalización  $\Delta H_c$  se pudo estimar un porcentaje de cristalinidad ( $\%X_c$ ) asociado al polímero estudiado como el cociente entre  $(\Delta H_m - \Delta H_c)$  y el valor teórico de la entalpía para un L-PLA supuesto 100% cristalino y monodisperso ( $\Delta H_m^0 = 93.1 \text{ J/g}$ ). Este valor fue reportado por Fischer (72). En el caso de los materiales compuestos, los valores de las entalpías fueron corregidos ( $\Delta H_{m\text{corr}}$  y  $\Delta H_{c\text{corr}}$ ) según el porcentaje de vidrio presente. La fracción de vidrio se obtuvo a partir del ensayo de cenizas y el valor de la entalpía corregido se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:  $\Delta H_{\text{corr}} = \Delta H / (1 - W_p)$ . Donde  $W_p$  es la fracción de fase inorgánica.

### 5.2.2.3.5. Determinación de las propiedades mecánicas

Tanto el PLA como los diferentes compuestos fueron ensayados mecánicamente mediante ensayos de flexión en tres puntos (15;40).



**Figura 5. 5.** Esquema del ensayo de flexión en 3 puntos.

Los ensayos se realizaron siguiendo la norma ASTM D790-02 para materiales plásticos con refuerzo (73) que indica el procedimiento para la determinación del módulo de elasticidad y de la resistencia a flexión. El ensayo consiste en colocar una probeta con las dimensiones propuestas en la norma (50.8x12.7x1.5 mm), sobre dos apoyos separados por una distancia conocida (L). Sobre la probeta se aplica una fuerza (F) de forma perpendicular como se indica en la figura, hasta romper el material. Durante el ensayo, todos los datos son registrados mediante un software específico. En nuestro caso particular se utilizó una máquina de ensayo universal *Instron 4204*. La distancia entre apoyos fue de 25.5 mm y se usó una célula de carga de 1 KN aplicando una velocidad de ensayo de 10 mm/min. Se ensayaron 5 probetas por cada serie.

Las ecuaciones utilizadas para el calculo del módulo (E) y la resistencia a flexión ( $\sigma$ ) fueron las siguientes:

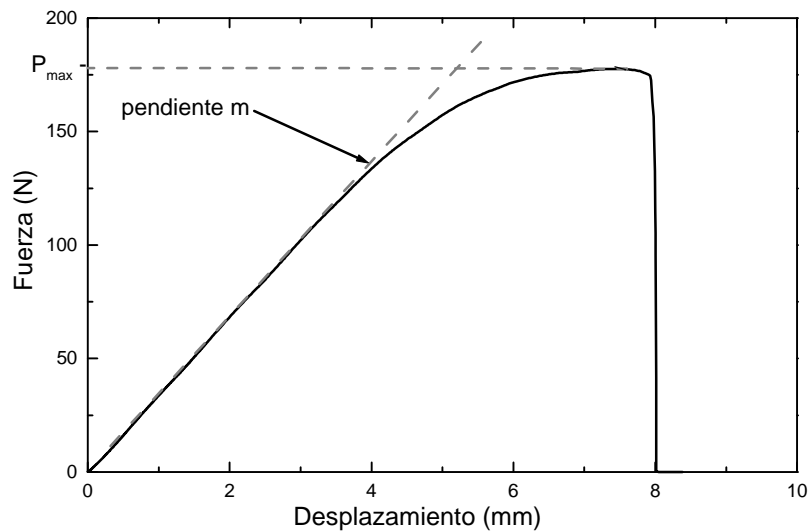
$$E = \frac{L^3 m}{4bd^3} \text{ (MPa)} \quad [5.6]$$

donde  $L$  = distancia entre los 2 apoyos inferiores (mm)  
 $m$  = pendiente de la parte lineal de la curva fuerza/deformación (N/mm)  
 $b$  = ancho de la muestra (mm)  
 $d$  = espesor de la muestra (mm)

y

$$s_f = \frac{3P_{max}L}{2bd^2} \text{ (MPa)} \quad [5.7]$$

donde  $P_{max}$  = carga máxima (N)  
 $L$  = distancia entre los 2 apoyos inferiores (mm)  
 $b$  = ancho de la muestra (mm)  
 $d$  = espesor de la muestra (mm)



**Figura 5. 6** Curva fuerza/desplazamiento característica de los ensayos de flexión por tres puntos de los materiales estudiados.

#### 5.2.2.3.6. *Determinación de la rugosidad de la superficie de los materiales*

Con el fin de evaluar la topografía de la superficie de los materiales estudiados se utilizó la técnica de interferometría óptica. Esta es una técnica no destructiva, con la que se pueden realizar mediciones en 3 dimensiones de la topografía de una superficie sin estar en contacto con la misma. La técnica posee un alto nivel de resolución vertical y lateral.

Los materiales estudiados fueron el PLA, PLA50 y el vidrio G5. Se utilizaron muestras de 2x2x01cm aproximadamente, previamente pulidas hasta 0.5µm con alúmina. El análisis se realizó con un interferómetro modelo WYCO NT1100 (Veeco). Para esto se usó un objetivo de 50 aumentos y se analizaron áreas de 124 x 96 µm en 5 zonas



diferentes de cada una de las muestras. El uso de filtros no fue necesario ya que las muestras no presentaron una rugosidad muy elevada.

Los parámetros estudiados fueron la rugosidad promedio ( $S_a$ ), altura de los diez puntos más altos de la superficie ( $S_z$ ) y *skewness* ( $S_{sk}$ ) y el índice de área superficial (SAIndex). Tanto el  $S_a$  como el  $S_z$  y el  $S_{sk}$  son conocidos como parámetros de amplitud o de descripción vertical. El SAIndex por su parte es un parámetro híbrido.

La  $S_a$  es uno de los parámetros más ampliamente utilizados y es el área comprendida entre el perfil de rugosidad, formado por los diferentes picos y desniveles, y la línea media entre estos. Se calcula de la siguiente manera:

$$S_a = \frac{1}{MN} \sum_{i=1}^M \sum_{i=1}^N Z_i \quad [5.8]$$

donde M y N son el número de puntos en las direcciones X y Y respectivamente, y Z es la altura de los picos y valles relativa a la línea de referencia.

El  $S_z$  es un parámetro definido como el valor medio de la altura absoluta de los 5 picos más altos y la profundidad de los 5 valles más profundos dentro de un área. Se calcula a través de la siguiente fórmula:

$$S_z = \frac{\sum_{i=1}^5 Z_{pi} + \sum_{i=1}^5 Z_{vi}}{5} \quad [5.9]$$

donde  $Z_p$  es la altura de los picos y  $Z_v$  es la profundidad de los valles.

El  $S_{sk}$  mide la asimetría de las desviaciones de la superficie a partir de un plano medio. Se utiliza para tener una idea de la distribución de alturas dentro de la superficie. Los valores de  $S_{sk}$  serán negativos si las alturas se deben mayoritariamente a valles, mientras que los valores de  $S_{sk}$  serán positivos si la mayoría de las alturas corresponden a picos. La fórmula es la siguiente:

$$S_{sk} = \frac{1}{MNS^3} \sum_{j=1}^N \sum_{i=1}^M Z^3(x_i y_j) \quad [5.10]$$

donde M y N son el número de puntos en las direcciones X y Y respectivamente, Z es la altura de los picos y valles relativa a la línea de referencia, y  $S_q$  es la desviación media de la raíz cuadrada cuya fórmula es la siguiente:

$$S_q = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^N \sum_{i=1}^M Z^2(x_i, y_j)}{MN}} \quad [5.11]$$

El SAIndex por su parte es un parámetro que incluye el área real y el área nominal de una muestra y nos da una idea del grado de llanura de la superficie. Si el índice obtenido es muy cercano a la unidad, indica que la superficie es muy plana. Se calcula dividiendo el área real entre el área nominal.

#### **5.2.2.3.7. Determinación de la mojabilidad de la superficie de los materiales**

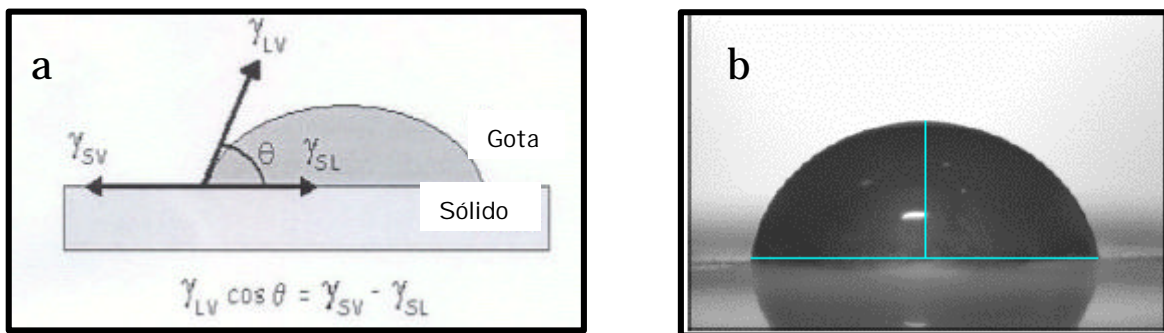
Para determinar el grado de mojabilidad de las superficies se utilizó la técnica conocida como ángulo de contacto. El ángulo de contacto ( $\theta$ ), es el ángulo formado por un líquido en la frontera donde las fases líquida, gaseosa y sólida se intersectan. La forma de la gota es controlada por las tres fuerzas de las tensiones interfaciales como se muestra en la Figura 5.7a. El valor de  $\theta$ , es una medida cuantitativa de la mojabilidad de un sólido por un líquido determinado. En nuestro caso, las medidas del ángulo de contacto fueron realizadas sobre las superficies del PLA, PLA50 y del vidrio G5 con dimensiones iguales a las descritas en el ensayo de rugosidad y pulidas hasta  $0.5\mu\text{m}$ . Se analizaron las superficies del PLA y del vidrio G5 para tener una idea del efecto de cada uno de estos materiales en el material compuesto, y sólo se analizó la mojabilidad del PLA50 ya que este fue el material que presentó un mayor módulo elástico como veremos más adelante.

Los fluidos utilizados en el estudio fueron agua destilada y desionizada y medio de cultivo completo, es decir, DMEM (*Dubelcco's Modified Eagle Medium*, Gibco) suplementado con 10% de suero fetal (Gibco). Este último se utilizó en lugar de una sola proteína específica, ya que *in vivo*, los fluidos fisiológicos son una combinación de varias proteínas y además el proceso de adhesión célula-substrato está mediado por un conjunto de varias proteínas, por lo que el medio de cultivo completo podría reproducir mejor esta situación.

La determinación de los ángulos de contacto sobre las diferentes superficies fue llevada a cabo usando la técnica de la gota sesil mediante un equipo para la medición de ángulos de contacto (*Optical Contact Angle*, OCA15), complementado con un dispositivo electrónico para dispensar las gotas (Dataphysics, Alemania), y conectado a una video cámara.

Los materiales fueron colocados dentro de una cámara cerrada temperada a  $25^\circ\text{C}$ , cuya atmósfera fue saturada con el líquido a utilizar para las mediciones. Las gotas ( $4\mu\text{l}$ ) fueron depositadas en la superficie pulida de las muestras de los diferentes materiales con la jeringa ( ver Figura 5.7b).

medidas en cada muestra de cada material y a su vez se utilizaron 3 muestras de cada tipo de material. Una vez depositada la gota sobre la superficie del material, se captaron imágenes de la misma cada 30 segundos durante 600 segundos para el caso del agua destilada y desionizada. En el caso del medio completo las mediciones fueron llevadas a cabo durante 1800 segundos con el fin de obtener un ajuste matemático correcto ya que las proteínas tienen tendencia a mostrar algunas variaciones con el tiempo. Estas variaciones son debidas a los cambios conformacionales y a los procesos de adsorción y de desorción que experimentan las proteínas al entrar en contacto con la superficie del material, lo cual modifica la superficie en estudio y consecuentemente la forma de la gota. Esto a su vez afecta al ángulo de contacto medido. El contorno de cada gota fue ajustado mediante el método de Young-Laplace. Se realizaron 5



**Figura 5. 7.** Imágenes ilustrativas del método de la gota sesil, (a) esquema de la técnica, (b) gota depositada sobre la superficie del material.

Además de la mojabilidad de la superficie, se determinó el trabajo de adhesión ( $W_a$ ) ejercido por el medio de cultivo suplementado con 10%FCS sobre la superficie de los diferentes materiales. El trabajo de adhesión indica el trabajo requerido para separar la gota de fluido de la superficie sólida, es decir, el trabajo resultante de las interacciones de las fuerzas interfaciales entre las fases sólida, líquida y gaseosa. Las mediciones se realizaron únicamente con el fluido proteico, ya que éste es más representativo de las interacciones proteína-material que afectan directamente el comportamiento celular.

Se utilizó la técnica de la gota pendiente (ver Figura 5.8) para determinar la tensión interfacial ( $\gamma_{LV}$ ) del medio de cultivo suplementado y con este valor, el trabajo de adhesión ( $W_a$ ). Los cálculos se hicieron siguiendo la siguiente ecuación:

$$W_a = \gamma_{lv} (1 + \cos\theta) \quad [5.12]$$

La cual es la combinación de la ecuación de Young:

$$\gamma_{lv} \cos\theta = \gamma_{sv} - \gamma_{sl} \quad [5.13]$$

y de la ecuación de Young-Dupre:

$$Wa = \gamma_{lv} + \gamma_{sv} - \gamma_{sl} \quad [5.14]$$

La tensión interfacial ( $\gamma_{LV}$ ) se calcula a partir de los parámetros  $d_e$  y  $d_s$  indicados en la Figura 5.8, los cuales dependen de la geometría de la gota. A partir de estos parámetros, el valor de  $\gamma_{LV}$  puede ser calculado según el modelo descrito por Worthington (74):

Sea  $s = d_s/d_e$

Para  $0.68 < s < 0.9$

$$1/H = (0.31345/s^{2.64267}) - 0.09155s^2 + 0.14701s - 0.05877 \quad [5.15]$$

Para  $0.9 < s < 1.0$

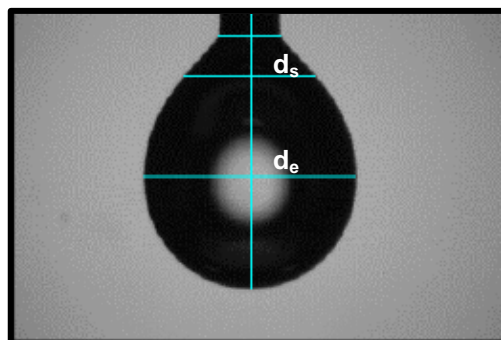
$$1/H = (0.30715/s^{2.84636}) - 0.69116s^3 + 1.08315s^2 - 0.18341s - 0.20970 \quad [5.16]$$

Siendo la tensión interfacial ( $\gamma$ ):

$$\gamma = \Delta\rho g d_e^2 / H \quad [5.17]$$

donde  $\Delta\rho$  es la diferencia de densidades entre los dos medios que interactúan, y  $g$  es la gravedad.

La gota pendiente se formó en la punta de la jeringa a 25°C dentro de la cámara. Nuevamente se captaron imágenes cada 30 segundos durante 1800 s y el contorno de la gota fue ajustado mediante el método de Young-Laplace. Se realizaron 15 mediciones.



**Figura 5. 8.** Imagen ilustrativa del método de la gota pendiente indicando los parámetros  $d_s$  y  $d_e$ .

Para el cálculo de la  $\gamma_{LV}$  del medio suplementado se hizo la corrección de los cálculos introduciendo el valor de la densidad del líquido en el sistema. La determinación de la

densidad del fluido se hizo a través de picnometría. La densidad resultante para el fluido proteico fue 1.0065 g/ml.

#### 5.2.2.4. Análisis estadístico de los resultados

La significación estadística de las diferencias de los valores medios de los diferentes materiales ensayados fueron calculados mediante el método *one-way-ANOVA* con el software Origin 6.1. Se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas cuando  $p < 0.05$ .

### 5.4. RESULTADOS

#### 5.4.1. Determinación del porcentaje en peso de la fase de refuerzo

La Tabla 5.4 muestra los valores obtenidos para los distintos porcentajes en peso de la fase inorgánica presente en los diferentes compuestos. Cada valor es el promedio de los resultados obtenidos a partir de 3 muestras de cada tipo de compuesto.

---

**Tabla 5.4**

**Porcentajes en peso de la fase de refuerzo para los diferentes materiales compuestos (Media  $\pm$  Desviación Estándar, n=3).**

---

Material	Porcentaje teórico de refuerzo (%)	Porcentaje en peso de refuerzo (%)
PLA30	30	28.66 $\pm$ 1.35
PLA40	40	39.9 $\pm$ 1.5
PLA50	50	48.66 $\pm$ 1.14
PLA70	70	68.95 $\pm$ 1.71

---

Los resultados indican que el porcentaje experimental o real es cercano al teórico y que además con la técnica utilizada, es posible lograr la incorporación de un porcentaje de fase orgánica elevado, como en el caso del PLA70.

Por otra parte, tomando en cuenta que las muestras analizadas corresponden a trozos del material provenientes de diferentes zonas de la placa del compuesto ya prensado y moldeado, la baja desviación estándar sugiere una distribución bastante uniforme en la matriz polimérica.

#### 5.4.2. Determinación de la densidad de los diferentes compuestos

Los resultados de la densidad experimental, obtenidos en los ensayos de picnometría realizados para cada uno de los compuestos se muestran en la Tabla 5.5. Nuevamente se utilizaron tres muestras por cada tipo de compuesto para la obtención de un valor promedio.

Los valores de densidad teórica fueron calculados a partir de la ecuación [5.2], utilizando los valores experimentales para las densidades del vidrio y del polímero, y para los porcentajes de fase de refuerzo. Se observa que los valores de densidad se incrementan con el aumento en el porcentaje másico de vidrio, lo cual era de esperarse.

**Tabla 5.5**  
**Densidades experimentales y teóricas de los compuestos con 30, 40 50 y 70% de fase de refuerzo (Media  $\pm$  Desviación Estándar, n=3).**

<b>Material</b>	<b><math>r_{\text{experimental}} \text{ (g/cm}^3\text{)}</math></b>	<b><math>r_{\text{teórica}} \text{ (g/cm}^3\text{)}</math></b>
PLA	1.231 $\pm$ 0.002	
PLA30	1.473 $\pm$ 0.05	1.475 $\pm$ 2.886
PLA40	1.587 $\pm$ 0.101	1.599 $\pm$ 2.370
PLA50	1.705 $\pm$ 0.003	1.710 $\pm$ 1.501
PLA70	2.039 $\pm$ 0.021	2.042 $\pm$ 1.820

Se puede ver que los valores experimentales son muy parecidos a los teóricos, aunque en todos los casos están ligeramente por debajo. Esto indica que los compuestos desarrollados tienen cierta porosidad aunque bastante baja.

#### **5.4.3. Evaluación del porcentaje en volumen de refuerzo**

Los porcentajes volumétricos de las partículas de vidrio en los compuestos fueron calculados a partir de los valores de los porcentajes en peso de la fase inorgánica y de los valores de densidad obtenidos experimentalmente. En la Tabla 5.6 se encuentran tabulados los valores correspondientes a los porcentajes volumétricos de la fase de refuerzo en los distintos materiales compuestos.

**Tabla 5.6**  
**Porcentajes en volumen de la fase de refuerzo incorporada en los compuestos (Media  $\pm$  Desviación Estándar).**

<b>Material</b>	<b>Porcentaje en volumen (%)</b>
PLA30	14.54 $\pm$ 0.64
PLA40	21.86 $\pm$ 0.82
PLA50	28.58 $\pm$ 0.67
PLA70	48.43 $\pm$ 1.20

#### **5.4.4. Determinación del peso molecular**

Los valores de peso molecular ( $M_w$ ) del PLA después de las diferentes etapas de procesamiento, obtenidos mediante la técnica del GPC se encuentran en la Tabla 5.7. Los valores tabulados son el promedio del análisis de 2 muestras. Además se han analizado muestras de PLA extruído en una extrusora de un husillo con un perfil térmico 190/190/200°C, es decir, 190°C en los tramos inicial y medio del recorrido de extrusión y 200°C en el tramo final. El material extruído se utilizó para comparar el efecto del método de elaboración del compuesto en la estructura molecular de la matriz polimérica.

**Tabla 5.7**  
**Peso Molecular ( $M_w$ ) del PLA después de las diferentes etapas del proceso de elaboración del material compuesto. (Media  $\pm$  Desviación Estándar, n=2).**

<b>Material</b>	<b><math>M_w</math> (<math>10^5</math>)</b>
PLA <sub>recibido</sub>	3.33 $\pm$ 0.03
PLA <sub>film</sub>	3.39 $\pm$ 0.02
PLA <sub>prensado</sub>	2.09 $\pm$ 0.05
PLA50	2.04 $\pm$ 0.03
PLA <sub>extruído</sub>	0.70 $\pm$ 0.03

**PLA<sub>recibido</sub>**: PLA recibido del proveedor; **PLA<sub>film</sub>**: PLA después de la disolución en cloroformo y colada; **PLA<sub>prensado</sub>**: PLA después de la disolución, colada y prensado en caliente; **PLA50**: Material compuesto con 50% de vidrio G5, después del prensado en caliente; **PLA<sub>extruído</sub>**: PLA después del proceso de extrusión.

Los resultados obtenidos indican que inicialmente el paso correspondiente a la disolución con cloroformo (PLA<sub>film</sub>) no afectó significativamente la estructura del polímero ya que el peso molecular se mantuvo casi igual al del polímero recibido. Sin embargo, el prensado del material a 160°C con presión progresiva hasta 100 bares si tuvo un efecto más marcado en la estructura del PLA (PLA<sub>prensado</sub>). El moldeo por prensado en caliente degradó al material ya que su peso molecular disminuyó en un 37%. Tanto el PLA prensado como el PLA50, es decir, el compuesto con 50% de partículas de vidrio, presentaron valores de  $M_w$  sin diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Por último, el valor del peso molecular obtenido para el polímero extruído (PLA<sub>extruído</sub>) indicó una gran disminución del mismo en comparación con el polímero inicial (PLA<sub>recibido</sub>) y por lo tanto, un elevado grado de degradación del material. Después de la extrusión, el material perdió un 79% del  $M_w$  inicial.

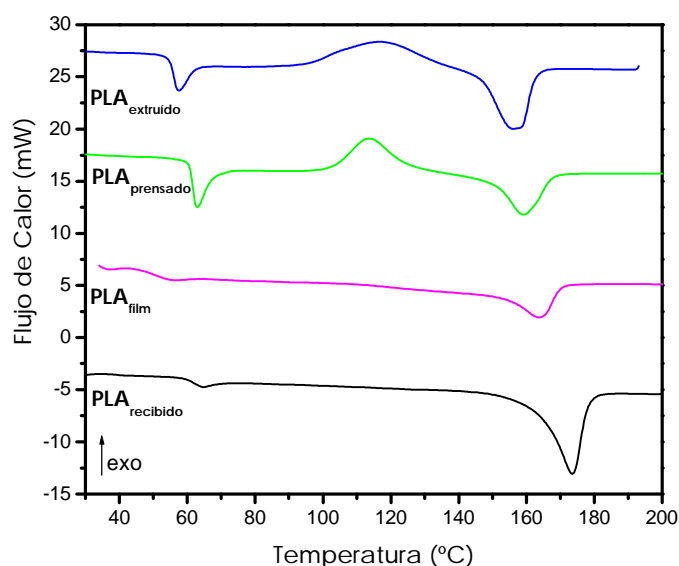
#### **5.4.5. Evaluación de las transiciones térmicas y cristalinidad de los materiales compuestos**

Se determinaron las transiciones térmicas y la cristalinidad de la matriz polimérica después de las diferentes etapas de procesado, así como la de los diferentes compuestos. En este caso también se incluyeron resultados obtenidos a partir del PLA extruído para comparar los procesos de elaboración (extrusión y disolución y colada). Los valores mostrados en la Tabla 5.8 son el promedio del análisis de tres especímenes de cada tipo de muestra y muestran los resultados obtenidos a partir del primer calentamiento ( $T_c$ ,  $T_m$ ,  $\Delta H_c$ ,  $\Delta H_m$ , y  $X_c$ ) y del segundo calentamiento ( $T_g$ ), de las temperaturas características y cristalinidad del PLA durante el procesado del material.

**Tabla 5.8**  
**Temperaturas características y cristalinidad del PLA después de las diferentes etapas de elaboración. (Media  $\pm$  Desviación Estándar, n=3).**

Material	$T_g$ (°C)	$T_c$ (°C)	$T_m$ (°C)	$\Delta H_c$ (J/g)	$\Delta H_m$ (J/g)	$X_c$ (%)
PLA <sub>recibido</sub>	59.15 $\pm$ 0.15		173.5 $\pm$ 0.52		-37.87 $\pm$ 0.32	40.68 $\pm$ 0.81
PLA <sub>film</sub>	58.45 $\pm$ 0.19		163.98 $\pm$ 0.74		-30.36 $\pm$ 0.56	32.61 $\pm$ 0.93
PLA <sub>prensado</sub>	56.65 $\pm$ 0.58	114.04 $\pm$ 0.44	154.26 $\pm$ 1.25	26.32 $\pm$ 1.12	-30.22 $\pm$ 1.04	2.41 $\pm$ 1.63
PLA <sub>extruído</sub>	56.14 $\pm$ 1.21	115.9 $\pm$ 0.18	158.90 $\pm$ 1.02	27.14 $\pm$ 0.98	-30.31 $\pm$ 1.1	3.40 $\pm$ 1.15

La Figura 5.9 muestra los termogramas del primer ciclo de calentamiento para algunas muestras representativas, obtenidos después de las diferentes etapas de procesamiento del PLA.



**Figura 5.9.** Termogramas DSC del PLA después de las diferentes etapas de procesado.

En la Figura 5.9 se observa que el PLA<sub>recibido</sub> solo presentó un estrecho pico de fusión, mientras que el PLA<sub>film</sub> presentó un pico de fusión mucho más ancho indicando una



mayor heterogeneidad dentro del material y la presencia de regiones con diferentes grados de cristalinidad.

La curva del PLA<sub>prensado</sub> al igual que la del PLA<sub>extruido</sub> presentó además del pico de fusión, un pico exotérmico debido a la cristalización del material, indicando que el procesado ha impedido la cristalización del material.

De acuerdo con estos resultados, el PLA experimenta una pérdida importante en su porcentaje de cristalinidad después del proceso de prensado (PLA<sub>prensado</sub>). Esta pérdida es similar en el caso del procesado por extrusión (aún sin moldear). La temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) disminuyó con el proceso prensado y de extrusión principalmente. La temperatura de fusión sufrió una disminución significativa con respecto al PLA<sub>recibido</sub>. Estos resultados reflejan la gran sensibilidad a la degradación térmica del PLA.

La Tabla 5.9 muestra los resultados obtenidos a partir de los termogramas resultantes del análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los materiales compuestos.

**Tabla 5.9**

**Temperaturas características y cristalinidad de los diferentes materiales compuestos (Media  $\pm$  Desviación Estándar, n=3).**

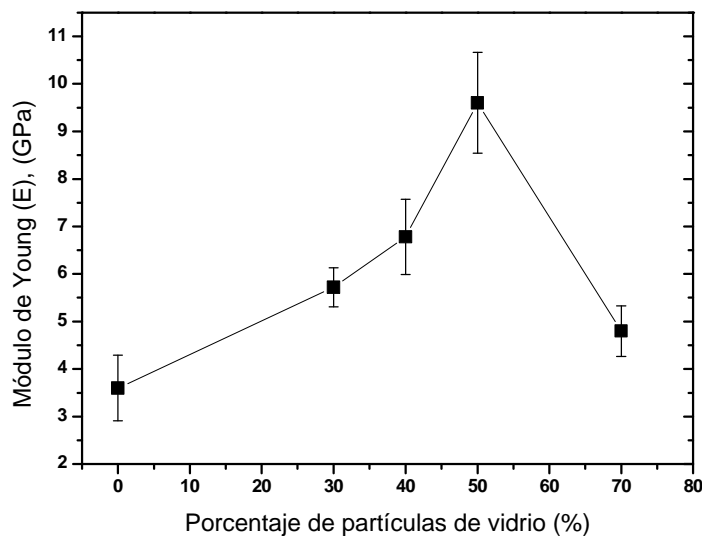
	<b>PLA</b>	<b>PLA30</b>	<b>PLA40</b>	<b>PLA50</b>	<b>PLA70</b>
<b><math>T_g</math> (°C)</b>	56.65 $\pm$ 0.58	57.23 $\pm$ 0.81	58.3 $\pm$ 0.42	57.95 $\pm$ 0.09	59.97 $\pm$ 1.12
<b><math>T_c</math> (°C)</b>	114.04 $\pm$ 0.44	114.89 $\pm$ 0.99	115.2 $\pm$ 1.02	114.33 $\pm$ 1.82	114.93 $\pm$ 0.87
<b><math>T_m</math> (°C)</b>	154.26 $\pm$ 1.25	154.97 $\pm$ 1.02	155.15 $\pm$ 0.89	157.04 $\pm$ 1.39	157.42 $\pm$ 0.87
<b>DH<sub>c</sub> (J/g)</b>	26.32 $\pm$ 1.12	20.92 $\pm$ 1.03	16.88 $\pm$ 0.56	14.40 $\pm$ 0.95	7.25 $\pm$ 0.98
<b>DH<sub>corr</sub> (J/g)</b>	---	29.32 $\pm$ 1.86	28.10 $\pm$ 1.52	27.68 $\pm$ 1.73	23.35 $\pm$ 0.99
<b>DH<sub>m</sub> (J/g)</b>	-30.22 $\pm$ 1.04	-22.86 $\pm$ 0.98	-19.28 $\pm$ 1.06	-16.19 $\pm$ 0.89	-7.92 $\pm$ 0.58
<b>DH<sub>mcorr</sub> (J/g)</b>	---	-32.05 $\pm$ 2.03	-32.08 $\pm$ 1.86	-31.13 $\pm$ 1.52	-25.47 $\pm$ 1.08
<b><math>X_c</math> (%)</b>	2.41 $\pm$ 1.63	2.98 $\pm$ 0.95	2.56 $\pm$ 0.57	3.71 $\pm$ 1.32	2.67 $\pm$ 0.63

La incorporación de los diferentes porcentajes de vidrio G5 no modificó significativamente las transiciones térmicas de la matriz polimérica. De hecho tanto la  $T_g$  como la  $T_c$  y la  $T_m$  resultaron ser similares entre los diferentes compuestos y el

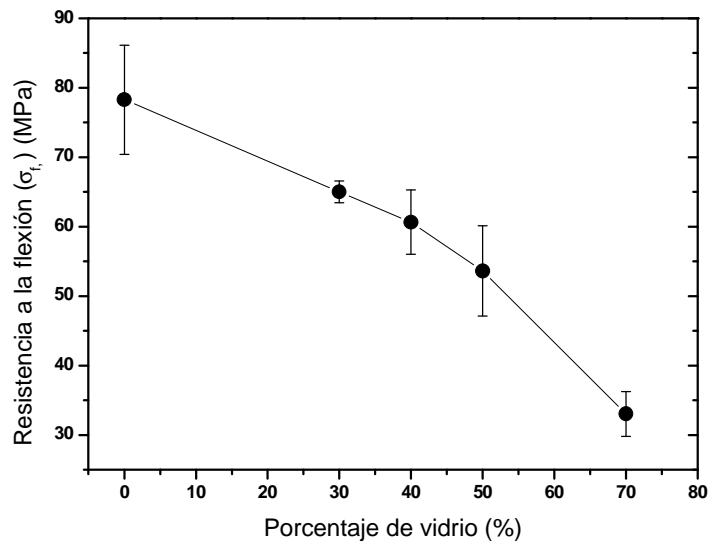
PLA<sub>presado</sub>. Los porcentajes de cristalización fueron calculados a partir de los valores corregidos de las entalpías de fusión ( $\Delta H_{mcorr}$ ) y de cristalización ( $\Delta H_{ccorr}$ ) siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 5.2.2.3.4, y resultaron ser similares entre los compuestos y el PLA solo. De hecho, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre ellos.

#### 5.4.6. Determinación de las propiedades mecánicas de los compuestos

En la Figura 5.10 se muestra la evolución del módulo elástico obtenido a partir del ensayo de flexión a 3 puntos, con el aumento en el contenido de vidrio. Se observa una tendencia creciente en el módulo con la incorporación de partículas de vidrio. Sin embargo, se ve que el módulo llega a un valor máximo cuando el material tiene una carga del 50% y luego la tendencia es a disminuir (PLA70). En cuanto a los valores de resistencia a flexión, se puede ver en la Figura 5.11 que éstos siguieron un comportamiento decreciente al aumentar el porcentaje de vidrio. Tanto los valores correspondientes al módulo de Young ( $E$ ) como los de resistencia a flexión ( $\sigma$ ) se encuentran en la Tabla 5.10.



**Figura 5. 10.** Evolución del módulo elástico en función del porcentaje de vidrio incorporado.



**Figura 5. 11.** Evolución de la resistencia a flexión en función del porcentaje de vidrio incorporado.

**Tabla 5.10**

**Módulo de Young (E) y resistencia a la flexión (s) de los diferentes materiales compuestos (Media ± Desviación Estándar, n=5).**

Material	E(GPa)	s (MPa)
PLA	3.6 ± 0.69	78.27 ± 7.84
PLA30	5.82 ± 0.41	65.02 ± 1.57
PLA40	6.78 ± 0.79	60.65 ± 4.63
PLA50	9.6 ± 1.06	53.62 ± 6.47
PLA70	4.8 ± 0.53	33.01 ± 3.21

#### 5.4.8. Caracterización superficial

##### 5.4.8.1. Rugosidad

La Tabla 5.11 muestra los valores obtenidos a partir del análisis por interferometría óptica.

**Tabla 5.11**

**Valores de los parámetros de rugosidad calculados para los materiales estudiados (Media ± Desviación Estándar, n=5)**

Material	S <sub>a</sub> (mm)	S <sub>z</sub> (mm)	S <sub>sk</sub>	SAIndex
PLA	0.054 ± 0.015	0.790 ± 0.138	-0.99 ± 0.67	1.011 ± 0.004 *
PLA50	0.238 ± 0.038	5.456 ± 1.443	-5.25 ± 2.63	1.086 ± 0.020
G5	0.025 ± 0.005	0.308 ± 0.077	-0.26 ± 0.13	1.006 ± 0.004 *

Los valores con asterisco (\*) no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

A pesar de que los materiales fueron pulidos siguiendo la misma metodología, los resultados de los diferentes parámetros de rugosidad mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los materiales estudiados.

El material compuesto presentó los mayores valores para todos los parámetros, mientras que el vidrio G5 mostró los valores más bajos.

#### 5.4.8.2. Mojabilidad

La Tabla 5.12 muestra los valores obtenidos a partir de las mediciones de ángulo de contacto para los diferentes materiales (PLA, PLA50 y G5), y los diferentes fluidos (agua destilada y desionizada y medio de cultivo completo). Se observa que para los dos fluidos, el PLA presentó los valores más altos, indicando así que el polímero es el material más hidrofóbico, mientras que el vidrio G5 presentó los valores correspondientes al ángulo de contacto más bajos, por lo que resultó ser el material más hidrofílico. El material compuesto presentó un comportamiento intermedio.

**Tabla 5.12**  
**Valores de los ángulos de contacto ( $\theta$ ) a  $t=0$  para los diferentes fluidos. (Media  $\pm$  Desviación Estándar,  $n=15$ ).**

Material	Agua destilada ( $^\circ$ )	Medio de Cultivo ( $^\circ$ )
PLA	$73.59 \pm 0.98$	$78.3 \pm 0.84$
PLA50	$67.56 \pm 1.71$ *	$68.82 \pm 2.02$ *
G5	$29.8 \pm 0.97$	$42.05 \pm 1.76$

Los valores con asterisco (\*) no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

El valor obtenido para la tensión superficial ( $\gamma_{LV}$ ) del medio de cultivo completo fue  $54.5 \text{ (mJ/m}^2\text{)}$ . Este valor se obtuvo a partir de la extrapolación a  $t=0$  de la curva  $\gamma_{LV}$  en función del tiempo.

La Tabla 5.13 muestra los valores calculados para el trabajo de adhesión ( $W_a$ ) de los diferentes materiales con el medio de cultivo. Como era de esperar debido al modelo utilizado para el cálculo de  $W_a$ , los valores resultantes siguieron la tendencia inversa a los resultados de ángulos de contacto. El PLA, que es el material más hidrofóbico según los valores de ángulo de contacto, presentó los valores más bajos de  $W_a$ , mientras que el vidrio presentó los más altos y nuevamente, el material compuesto presentó resultados entre los del vidrio G5 y los del PLA.

**Tabla 5.13****Valores de trabajo de adhesión ( $W_a$ ) para los diferentes materiales. (Media  $\pm$  Desviación Estándar)**

<b>Material</b>	<b><math>W_a</math> (mJ/m<sup>2</sup>)</b>
<b>PLA</b>	$65.86 \pm 0.74$
<b>PLA/G5</b>	$74.12 \pm 1.77$
<b>G5</b>	$95.25 \pm 1.11$

## 5.5. DISCUSIÓN

En la sección 5.1 de este capítulo, se han mencionado las dos principales tendencias utilizadas para reforzar los polímeros biodegradables (materiales auto-reforzados y utilización de refuerzos inorgánicos). Este trabajo se ha enfocado en el refuerzo del PLA con partículas vítreas y se han desarrollado 4 tipos de compuesto con diferentes proporciones de vidrio de fosfato de calcio (30, 40, 50 y 70% en peso). Dichos materiales han sido caracterizados en cuanto a sus transiciones térmicas y sus propiedades mecánicas y superficiales principalmente. Además se ha evaluado el efecto del proceso de elaboración de los materiales sobre su estructura molecular.

En primer lugar, los resultados obtenidos a partir de los ensayos de cenizas además de corroborar un alto grado de homogeneidad en las muestras, indican que los porcentajes teóricos son muy parecidos a los porcentajes reales, por lo que la técnica utilizada es bastante fiable en cuanto al porcentaje final de fase de refuerzo en el material compuesto. Sin embargo, se observa que en todos los casos los valores obtenidos experimentalmente son menores que los porcentajes teóricos. Esto podría atribuirse a un error sistemático, debido a la pérdida de vidrio en la adición de las partículas a la solución polimérica, o en la fase de mezclado. Además, este método de fabricación permite incorporar fácilmente hasta un 70% en masa de partículas de vidrio, lo cual representa una ventaja frente al método de extrusión, ya que se ha observado que porcentajes de vidrio cercanos a 50% en peso dificultan el proceso.

Los cálculos de las densidades tanto teóricas como experimentales, arrojaron resultados bastante cercanos tal como era de esperar, la densidad experimental es en todos los casos ligeramente inferior a la teórica, lo cual indica que los materiales contienen un cierto grado de porosidad, aunque muy pequeño. Esto a su vez, indica que el proceso de prensado utilizado para la preparación del material fue el adecuado ya que no se formaron burbujas de aire (poros) dentro del sólido. En el caso particular de este estudio es importante evitar la formación de poros ya que éstos permiten la penetración del fluido acuoso dentro del material y por lo tanto se acelera el proceso de degradación del material. Asimismo, la presencia de poros en el interior del material afecta negativamente en las propiedades mecánicas de los compuestos.

El efecto de las diferentes etapas del proceso de elaboración del material se ve claramente a partir de los resultados de peso molecular obtenidos mediante GPC. La primera etapa del proceso correspondiente a la disolución del polímero en cloroformo no afectó de forma significativa en el tamaño de las cadenas del PLA ya que tanto el peso molecular como la viscosidad intrínseca no experimentaron cambios significativos.

La segunda etapa del proceso de elaboración representada por el prensado en caliente a 160°C y aplicando presión progresivamente hasta 100 bares, tuvo una mayor influencia sobre el polímero como se puede observar en la Tabla 5.7. Se utilizó una temperatura de 160°C ya que según los resultados del DSC (ver Tabla 5.8), esta temperatura es cercana a la  $T_m$  del polímero recibido pero no la sobrepasa para evitar cualquier tipo de degradación del material. Sin embargo, a pesar de que se intentó aplicar las condiciones mínimas de temperatura para permitir un buen moldeo del material, la combinación de temperatura-presión, provocó la escisión de las cadenas.

Los resultados del material extruído se han utilizado tan solo como un valor comparativo. En este caso se observó de una forma aún más marcada, la influencia del proceso de elaboración en la estructura molecular del PLA, el cual perdió un 79% del  $M_w$  inicial. La extrusión es un método de elaboración bastante agresivo para el material ya que la presión utilizada y los esfuerzos de cizalla que tienen lugar durante el proceso, conllevan a la escisión de las cadenas poliméricas. Este porcentaje de pérdida del peso molecular se explica por la gran sensibilidad a la degradación térmica del PLA, y se encuentra dentro del rango obtenido por algunos autores quienes han observado pérdidas de  $M_w$  entre 50 y 88% según la técnica y el polímero utilizados (75). Pérdidas de peso molecular similares han sido reportadas por Mainil-Varlet *et al* (76) con el método de moldeo por inyección, reportando un descenso de  $M_w$  de 237.000 a 58.000.

Los resultados de DSC también reflejaron los cambios introducidos por el método de elaboración. En primer lugar se observó una pequeña disminución de la cristalinidad del material después del proceso de disolución con cloroformo. Durante la disolución en cloroformo, las cadenas poliméricas fluyen a través del solvente perdiendo su organización inicial. La disminución del porcentaje de cristalinidad indica que durante el proceso de evaporación del cloroformo no son capaces de reorganizarse para llegar a un grado de cristalinidad como la del polímero de partida.

La etapa de moldeo por prensado introdujo algunos cambios importantes en las transiciones térmicas del material. En el caso del material prensado, aparecen 3 transiciones de temperatura durante el primer calentamiento (ver Figura 5.9), correspondientes a la temperatura de transición vítrea, la temperatura de cristalización y la de fusión. En esta etapa se observó una disminución drástica del porcentaje de cristalinidad del material. Esta disminución es atribuida a la falta de reorganización de

las cadenas poliméricas durante el proceso de prensado. Durante el prensado, se aplicó una temperatura de 160°C, que como hemos ya dicho, está muy cerca de la  $T_m$  y facilita el movimiento de las cadenas, después se aplicó presión y finalmente el material prensado fue enfriado entre dos superficies metálicas. Al parecer, la velocidad de enfriamiento no permitió el rearrreglo de las cadenas poliméricas. Hay que mencionar que el sistema utilizado no permitía un control adecuado de la velocidad de enfriamiento. Por lo que el material prensado se enfrió rápidamente y como consecuencia el porcentaje de fase cristalina del polímero disminuyó.

Tanto en la etapa de moldeo por compresión como en el proceso de extrusión, se observó una disminución en los valores de la temperatura de transición vítrea. La disminución del valor de  $T_g$  está relacionada con la disminución del tamaño de las cadenas del material. Por otro lado, se observó una disminución de la temperatura de fusión tanto en las etapas de disolución y de moldeo por compresión como en el proceso de extrusión. La variación de la  $T_m$  indica una reducción en el tamaño de los cristales o en la perfección de la red cristalina después del procesado.

En cuanto a las temperaturas características de los diferentes compuestos (Tabla 5.9) se observó en todos los casos la presencia de las tres temperaturas de transición ( $T_g$ ,  $T_m$  y  $T_c$ ). Al igual que el caso del PLA<sub>prensado</sub>, hubo una disminución notable en el grado de cristalinidad inicial del polímero. Los valores correspondientes a las temperaturas de transición vítrea, de cristalización y de fusión no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Esto corrobora la hipótesis de que la incorporación de diferentes porcentajes de vidrio no modifica significativamente las transiciones térmicas y la cristalinidad de la matriz polimérica. Nuevamente se observó una disminución de la  $T_m$  con respecto al PLA<sub>recibido</sub> debido a la disminución del tamaño de los cristales e imperfecciones en la red cristalina.

Con respecto al efecto de la fase de refuerzo en el comportamiento mecánico del material, se observó un claro ascenso del módulo elástico con la incorporación de vidrio, lo cual era de esperarse. Sin embargo, el PLA70 mostró un brusco descenso del módulo de Young en comparación con el compuesto PLA50. Esto indica que existe un porcentaje de saturación en cuanto a la fase de refuerzo en el cual se pierde la continuidad de la matriz polimérica debido a las numerosas partículas presentes. Ya que estas partículas no están unidas químicamente al polímero, se crean una serie de discontinuidades y esto se refleja en el módulo elástico.

En un estudio previo, Clément (77) reportó un módulo elástico de 5,18 GPa al ensayar un material compuesto formado por PLA reforzado con 40% en peso de partículas de vidrio G0 (ver capítulo 2). El PLA40 elaborado en esta Tesis Doctoral, presentó un módulo de 6.78 GPa, lo cual sugiere que el vidrio G5 ( $E=71.1$  GPa), tuvo un mayor efecto reforzante que el G0 ( $E=59.56$  GPa).

Según el trabajo realizado por Clément (77), los modelos que mejor se ajustan para la predicción de las propiedades elásticas de un material compuesto equivalente a los desarrollados en el presente trabajo, son los modelos de Paul (78) y de Ishai y Cohen (79). El primero proporciona una solución aproximada para el cálculo del módulo de Young del compuesto, reforzado con partículas anisotrópicas distribuidas aleatoriamente, sobre las cuales se aplica una tensión uniforme:

$$E_c = E_m \frac{1 + (m-1)V_p^{2/3}}{1 + (m-1)(V_p^{2/3} - V_p)} \quad [5.18]$$

Donde  $m$  representa el cociente  $E_p/E_m$ , siendo  $E_p$  y  $E_m$  los valores del módulo elástico de las partículas de vidrio y de la matriz polimérica respectivamente y  $V_p$  el porcentaje volumétrico de partículas.

El modelo de Ishai y Cohen es similar. La diferencia radica en la sustitución de la condición de tensión uniforme por la de desplazamiento uniforme:

$$E_c = E_m \left( 1 + \frac{V_p}{\frac{m}{m-1} - V_p^{1/3}} \right) \quad [5.19]$$

Aplicando este modelo a los diferentes materiales compuestos descritos en este capítulo se obtienen los valores mostrados en la Tabla 5.11.

**Tabla 5.14**

**Comparación del valor experimental del módulo de Young de los diferentes materiales compuestos con el modelo de Paul (78) y de Ishai y Cohen (79).**

<b>Material</b>	<b>E (GPa), experimental</b>	<b>E (GPa), según modelo de Paul</b>	<b>E (GPa), según modelo de Ishai y Cohen</b>
PLA30	5.82 ± 0.41	7.02	4.62
PLA40	6.78 ± 0.79	8.4	5.52
PLA50	9.6 ± 1.06	9.66	6.28
PLA70	4.8 ± 0.53	14.57	10.31

Se puede observar en la Tabla 5.14 que los valores obtenidos a partir de ambos modelos se ajustan bastante bien a los valores obtenidos experimentalmente, siendo el modelo de Paul el límite superior y el de Ishai y Cohen el límite inferior. Tanto el PLA 30 como el PLA40 y PLA50 se encuentran dentro de los rangos propuestos por estos modelos, los compuestos con 30 y 40% de vidrio se ajustan mejor al modelo de Ishai mientras que el PLA50 se ajusta sorprendentemente bien al modelo de Paul. Debido a que estos modelos consideran una unión perfecta entre las fases, el valor del módulo



elástico calculado usando ambos modelos para el PLA70, está bastante lejos del experimental.

Por otro lado, el valor obtenido para el compuesto con 50% de partículas de vidrio es comparable con el del hueso cortical ( $E_{\text{hueso cortical}}=10\text{-}20$  GPa). Este es un buen resultado ya que uno de los principales problemas presentados por los metales utilizados para fijación ósea, es la gran diferencia existente entre el módulo del metal ( $E_{\text{metal}}=100\text{-}200$  GPa) y el del hueso. Sin embargo, el valor obtenido experimentalmente de la resistencia a flexión del PLA50 ( $53.62 \pm 6.47$  MPa), no se ajusta a los requerimientos del hueso cortical (150 MPa) (80).

La incorporación de las partículas de vidrio disminuyó la resistencia a flexión de la matriz polimérica en un 16.6% para el caso del PLA30 y en un 57.69% en el caso del PLA70. Esta relevante disminución de la resistencia a flexión constituye la principal limitación mecánica en la aplicación de estos materiales para la elaboración de dispositivos para la fijación ósea, y se debe principalmente a la falta de adhesión entre la fase orgánica y la inorgánica.

Es un hecho conocido que el proceso de recocido de la matriz polimérica aumenta su cristalinidad y por lo tanto sus propiedades mecánicas iniciales y su estabilidad ante medios acuosos. Sin embargo, estudios de degradación llevados a cabo por Duek *et al* (81), Li *et al* (82) y Nakamura *et al* (83) concluyeron que el PLA recocido, es decir, con un mayor  $\%X_c$  presenta un descenso de las propiedades mecánicas mucho más rápido que en el caso del PLA amorfo, a pesar de que el proceso de degradación es más lento y la pérdida de masa es menor. Por ejemplo, Duek *et al* (81) reportaron resultados referentes al ensayo mecánico (flexión en 3 puntos) de muestras de PLA cristalino y PLA amorfo durante la degradación y concluyeron que el material cristalino fallaba mecánicamente a las 4 semanas mientras que el amorfo fallaba a las 8 semanas.

Debido a lo explicado en el párrafo anterior, en el presente trabajo no se realizó un tratamiento térmico posterior a las muestras con el fin de aumentar su cristalinidad, y se eligió el PLA50 como material de estudio ya que éste presentó el mayor módulo elástico.

En cuanto a la caracterización superficial, se analizaron la topografía y la mojabilidad del PLA<sub>prensado</sub>, del PLA50 y del vidrio G5. El PLA y el G5 fueron utilizados como referencias ya que el compuesto PLA50 es una combinación de los mismos.

A pesar de que tanto el PLA como el PLA50 y el G5 fueron pulidos de forma similar, los resultados obtenidos para los diferentes parámetros de rugosidad indicaron la existencia de diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las superficies estudiadas.

Aunque los tres materiales presentaron diferencias significativas para los valores de  $S_a$ , el vidrio G5 y el PLA mostraron valores dentro del mismo orden de magnitud. Sin embargo, el PLA50 presentó un valor con un orden de magnitud superior. La rugosidad del PLA y del vidrio G5 fue causada principalmente por el proceso de pulido, y las diferencias entre los dos materiales se deben básicamente a las características de dureza de cada material. El vidrio G5 tiene una dureza mucho más elevada que el polímero por lo que las rayas de pulido se marcaron más en el PLA que en el vidrio. Los valores de  $S_z$  reflejan esta situación, ya que fueron mayores para el PLA que para el G5, y como hemos dicho anteriormente, el  $S_z$  se calcula a partir de los 5 picos más altos y los 5 valles más profundos de una superficie dada. Por lo tanto, el hecho de que el  $S_z$  haya sido mayor en el PLA que en el G5 implica que las rayas fueron más profundas en el PLA que en el G5. Además los valores correspondientes a la *skewness* son negativos, por lo que la rugosidad de ambos materiales es debida principalmente a la presencia de valles y no de picos.

En el caso del PLA50, la rugosidad no sólo es debida a los defectos de pulido, sino también a la heterogeneidad y a las discontinuidades de la superficie debidas a la presencia de las partículas de vidrio. En especial, las desuniones entre el vidrio y el polímero generan valles de una profundidad elevada. Los valores de  $S_z$  calculados para el material compuesto señalaron una mayor profundidad de los valles en comparación con los otros dos materiales. Además, nuevamente los valores de  $S_{sk}$  fueron negativos y mucho más alejados del "0" que los valores del PLA o del vidrio G5, lo que indica una mayor asimetría con respecto al plano de referencia, y a su vez que la rugosidad se debe principalmente a valles.

El índice de área superficial (SAIndex) es una medida que aporta información con respecto al grado de llanura de una superficie. Un índice cercano a 1 describe una superficie muy plana. Los resultados obtenidos tras analizar las superficies del G5, PLA y del PLA50 muestran valores muy cercanos a la unidad, por lo que en general son materiales con una superficie bastante plana. De hecho los valores de  $S_a$  son muy bajos en los tres casos.

De acuerdo a las medidas de ángulo de contacto, el PLA resultó ser el material más hidrofóbico. Los valores obtenidos con agua destilada y desionizada para este polímero concuerdan con los valores reportados en la literatura (84-86). El ángulo obtenido para el vidrio G5 con agua destilada (29.8°), indicó una elevada mojabilidad por parte de este material. Además, el vidrio de fosfato de calcio resultó ser más hidrofílico que la hidroxiapatita cerámica, la cual presentó un ángulo de contacto cercano a 48° al ser medido bajo condiciones similares (87). El material compuesto PLA50 presentó un ángulo de contacto intermedio debido a que éste es una combinación de PLA con el vidrio G5.

La comparación entre los valores de los ángulos de contacto se dificulta ya que los valores de rugosidad ( $S_a$ ) obtenidos para los tres materiales (PLA, G5 y PLA50) presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre ellos. Es un hecho conocido que la mojabilidad de un material se ve afectada por la topografía superficial del mismo. Dado que el vidrio G5 y el PLA mostraron valores de rugosidad muy bajos y que los valores del índice de área superficial (SAIndex) no mostraron diferencias estadísticamente significativas, es posible hacer una comparación entre estos dos materiales.

En el caso del PLA50 las diferencias de rugosidad fueron mayores en comparación con los otros dos materiales (PLA y G5). No obstante, el valor del ángulo de contacto obtenido para el PLA50, que resultó ser un valor intermedio entre los ángulos del PLA y del vidrio G5, se debe a la combinación de los dos materiales.

Existen diferentes teorías para definir el grado de hidrofiliidad de una superficie. De acuerdo con Shibuichi *et al* (88), el comportamiento en especímenes idealmente no rugosos es el siguiente: para superficies hidrofílicas ( $\theta < 90^\circ$ ), la hidrofiliidad aumenta al aumentar la rugosidad del material, mientras que para superficies hidrofóbicas ( $\theta > 90^\circ$ ), el grado de hidrofobicidad aumenta con la rugosidad. Según Vogler (89), el carácter hidrofóbico o hidrofílico de la superficie de un material puede ser definida a partir de los valores de ángulo de contacto, tomando como referencia el “límite de Berg” ( $\theta = 65^\circ$ ). Por lo tanto, las superficies con ángulos de contacto mayores a  $65^\circ$  pueden definirse como hidrofóbicas, mientras que las superficies que presentan ángulos de contacto menores a  $65^\circ$  pueden definirse como hidrofílicas. Este criterio también se aplica a superficies lisas.

Por lo tanto, la diversidad de criterios dificulta la clasificación acertada de la mojabilidad de las superficies. En nuestro caso particular, los valores obtenidos de ángulo de contacto para el PLA y el PLA50 son bastante cercanos al límite de Berg ( $\theta = 65^\circ$ ). El hecho de que los valores resultantes se encuentren tan cerca del límite implica que pequeños cambios en la rugosidad de las superficies podrían modificar significativamente el carácter hidrofílico o hidrofóbico de las mismas, por lo que no es posible establecer una clasificación correcta de los materiales estudiados.

A pesar de que el medio de cultivo utilizado para medir la mojabilidad, es un medio acuoso suplementado con una gran variedad de proteínas, vitaminas, sales inorgánicas y aminoácidos entre otros componentes, éste puede ser simplificado como una solución acuosa con proteínas, por lo que la diferencia principal entre los dos fluidos utilizados para las medidas de ángulo de contacto, es la presencia de proteínas. Existen algunas discrepancias con respecto a la afinidad de las proteínas hacia superficies hidrofílicas o hidrofóbicas. Algunos autores apoyan la teoría de la afinidad hacia superficies hidrofílicas (90), mientras que otros apoyan la teoría de la afinidad hacia superficies hidrofóbicas (89). Se observó que los valores de ángulo de contacto medidos

con agua y con el medio de cultivo no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en la superficie de las muestras de PLA50. Mientras que los valores obtenidos tanto para el vidrio G5 como para el PLA con la mezcla de proteínas dispersa en el medio de cultivo, fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que el ángulo obtenido con el agua destilada.

El presente estudio es un primer acercamiento a la caracterización superficial de estos materiales. Por lo tanto, los resultados encontrados para los diferentes materiales con los dos diferentes fluidos (Tabla 5.11 y 5.12), sólo sugieren que la compleja mezcla de proteínas presente en el suero bovino fetal, experimenta diferentes mecanismos de adsorción sobre los materiales estudiados. En el caso del material compuesto las proteínas adsorbidas cambiaron poco el grado de hidrofiliidad de la superficie del material. En el caso del PLA y del vidrio G5, la superficie se volvió más hidrofóbica, presumiblemente debido a la adsorción de proteínas.

Algunos autores utilizan el trabajo de adhesión ( $W_a$ ) en lugar del ángulo de contacto para describir la mojabilidad de una superficie por un fluido específico ya que el  $W_a$  indica la fuerza necesaria para separar la gota de fluido de la superficie sólida, y el modelo obtenido a partir de la ecuación de Young-Dupre establece una relación directa entre el  $W_a$  y el ángulo de contacto. Según el modelo utilizado en este estudio para el cálculo del  $W_a$ , los valores calculados para los diferentes materiales con el medio de cultivo completo, siguieron la tendencia inversa a los resultados de los ángulos de contacto. Como era de esperar, el PLA presentó los menores valores de  $W_a$ , mientras que el G5, el material más hidrofílico presentó el valor más alto de  $W_a$ .

El objetivo principal de este capítulo era el desarrollo de un material compuesto totalmente biodegradable para aplicaciones quirúrgicas. Las posibles aplicaciones de este material compuesto son: dispositivos de fijación ósea, relleno para la regeneración ósea y sistemas de liberación de fármacos. Los estudios de caracterización presentados en este capítulo sugieren que el material desarrollado podría ser utilizado para la fijación de huesos en zonas donde no se requiera soportar cargas elevadas dadas las propiedades mecánicas mostradas. En el caso del relleno de cavidades o de los sistemas de liberación de fármacos es necesario realizar estudios complementarios para determinar su validez, ya que los mismos dependen directamente del comportamiento degradativo del material.

Como ya se ha dicho, los estudios de caracterización superficial realizados han sido un primer acercamiento, por lo que sería interesante analizar con mayor profundidad la interacción entre las proteínas y las diferentes superficies ya que es un hecho conocido que éste es un punto determinante en la citocompatibilidad de un material. No obstante, en todos los casos es necesario realizar estudios complementarios de degradación simulando las condiciones fisiológicas. El siguiente capítulo abarcará este tipo de estudio.

## 5.6. REFERENCIAS

- (1) Vert M, Christel P, Chabot F. Bioresorbable plastic materials for bone surgery. In: Hastings GW, Ducheyne P, editors. *Macromolecular Biomaterials*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1984: 119-142.
- (2) Paavolainen P, Karaharju E, Slati P, Ahonen J, Holmstrom T. Effect of Rigid Plate Fixation on Structure and Mineral-Content of Cortical Bone. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1978;(136):287-293.
- (3) Pilliar RM, Cameron HU, Binnington AG, Szivek J, Macnab I. Bone Ingrowth and Stress Shielding with A Porous Surface Coated Fracture Fixation Plate. *Journal of Biomedical Materials Research* 1979; 13(5):799-810.
- (4) Woo SLY, Akeson WH, Coutts RD, Rutherford L, Doty D, Jemmott GF et al. Comparison of Cortical Bone Atrophy Secondary to Fixation with Plates with Large Differences in Bending Stiffness. *Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume* 1976; 58(2):190-195.
- (5) Uthoff HK, Dubuc FL. Bone Structure Changes in Dog Under Rigid Internal Fixation. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1971;(81):165-&.
- (6) Slati P, Karaharju E, Holmstrom T, Ahonen J, Paavolainen P. Structural-Changes in Intact Tubular Bone After Application of Rigid Plates with and Without Compression. *Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume* 1978; 60(4):516-522.
- (7) Lugowski SJ, Smith DC, Mchugh AD, Vanloon JC. Release of Metal-Ions from Dental Implant Materials In vivo - Determination of Al, Co, Cr, Mo, Ni, V, and Ti in Organ Tissue. *Journal of Biomedical Materials Research* 1991; 25(12):1443-1458.
- (8) Schliephake H, Reiss G, Urban R, Newkam F, Guckel S. Metal Release From Titanium Fixtures During Placement in the Mandible: An Experimental Study. *International Journal of Oral Maxillofacial Implants* 1993; 8:502-511.
- (9) Thompson GJ, Puleo DA. Effects of Sublethal Metal-Ion Concentrations on Osteogenic Cells Derived from Bone-Marrow Stromal Cells. *Journal of Applied Biomaterials* 1995; 6(4):249-258.
- (10) Puleo DA, Huh WW. Acute Toxicity of Metal-Ions in Cultures of Osteogenic Cells Derived from Bone-Marrow Stromal Cells. *Journal of Applied Biomaterials* 1995; 6(2):109-116.
- (11) Bradley JS, Hastings GW, Johnsonnurse C. Carbon-Fiber Reinforced Epoxy As A High-Strength, Low Modulus Material for Internal-Fixation Plates. *Biomaterials* 1980; 1(1):38-40.
- (12) Calnan J. The use of inert plastics material in reconstructive surgery. *British Journal of Plastic Surgery* 1963; 16:1-22.
- (13) Ali MS, French TA, Hastings GW, Rae T, Rushton N, Ross ERS et al. Carbon-Fiber Composite Bone Plates - Development, Evaluation and Early Clinical-Experience. *Journal of Bone and Joint Surgery-British Volume* 1990; 72(4):586-591.
- (14) Tayton K, Johnsonnurse C, Mckibbin B, Bradley J, Hastings G. The Use of Semirigid Carbon-Fiber-Reinforced Plastic Plates for Fixation of Human Fractures - Results of

- Preliminary Trials. *Journal of Bone and Joint Surgery-British* Volume 1982; 64(1):105-111.
- (15) Adriano KP, Daniels AU. Biocompatibility and Mechanical Properties of a Totally Absorbable Composite Material for Orthopaedic Fixation Devices. *Journal of Applied Biomaterials* 1992; 3:197-206.
  - (16) Gilding DK. Biodegradable polymers for use in surgery-poglycolic/poly(lactic acid) homo-and copolymers: I. *Polymer* 1979; 20:1459-1464.
  - (17) Leenslag JW, Pennings AJ. Synthesis of High-Molecular-Weight Poly(L-Lactide) Initiated with Tin 2-Ethylhexanoate. *Makromolekulare Chemie-Macromolecular Chemistry and Physics* 1987; 188(8):1809-1814.
  - (18) Rokkanen P, Bostman O, Vainionpää S, Vihtonen K, Tormala P, Laiho J et al. Biodegradable Implants in Fracture Fixation - Early Results of Treatment of Fractures of the Ankle. *Lancet* 1985; 1(8443):1422-1424.
  - (19) Waris T, Pohjonen T, Tormala P. Self-Reinforced Absorbable Polylactide (Sr-Plla) Plates in Craniofacial Surgery - A Preliminary-Report on 14 Patients. *European Journal of Plastic Surgery* 1994; 17(5):236-238.
  - (20) Suuronen R, Laine P, Sarkiala E, Pohjonen T, Lindqvist C. Sagittal Split Osteotomy Fixed with Biodegradable, Self-Reinforced Poly-L-Lactide Screws - A Pilot-Study in Sheep. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1992; 21(5):303-308.
  - (21) Suuronen R. Comparison of Absorbable Self-Reinforced Poly-L-Lactide Screws and Metallic Screws in the Fixation of Mandibular Condyle Osteotomies - An Experimental-Study in Sheep. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1991; 49(9):989-995.
  - (22) Tielinen L, Puolakkainen P, Pohjonen T, Rautavuori J, Törmälä P, Rokkanen P. The effect of transforming growth factor- $\beta$ 1, released from a bioabsorbable self-reinforced polylactide pin, on a bone defect. *Biomaterials* 2002; 23:3817-3823.
  - (23) Leinonen S, Suokas E, Veiranto M, Tormala P, Waris T, Ashammakhi N. Holding power of bioabsorbable ciprofloxacin-containing self-reinforced poly-L/DL-lactide 70/30 bioactive glass 13 miniscrews in human cadaver bone. *Journal of Craniofacial Surgery* 2002; 13(2):212-218.
  - (24) Overbeck JP, Winckler ST, Meffert R, Tormala P, Spiegel HU, Brug E. Evaluation of Models, Methodologies, Devices, and New Surgical Concepts - Penetration of Ciprofloxacin Into Bone - A New Bioabsorbable Implant. *Journal of Investigative Surgery* 1995; 8(3):155-162.
  - (25) Tiainen J, Veiranto M, Suokas E, Tormala P, Waris T, Ninkovic M et al. Bioabsorbable ciprofloxacin-containing and plain self-reinforced polylactide-polyglycolide 80/20 screws: Pullout strength properties in human cadaver parietal bones. *Journal of Craniofacial Surgery* 2002; 13(3):427-433.
  - (26) Ashammakhi N, Suuronen R, Tiainen J, Tormala P, Waris T. Spotlight on naturally absorbable osteofixation devices. *Journal of Craniofacial Surgery* 2003; 14(2):247-259.
  - (27) Ignatius A, Unterricker K, Wenger K, Richter M, Claes L, Lohse P et al. A new composite made of polyurethane and glass ceramic in a loaded implant model: a biomechanical and histological analysis. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 1997; 8(12):753-756.

- (28) Marcolongo M, Ducheyne P, Garino J, Schepers E. Bioactive glass fiber/polymeric composites bond to bone tissue. *Journal of Biomedical Materials Research* 1998; 39(1):161-170.
- (29) Kobayashi M, Kikutani T, Kokubo T, Nakamura T. Direct bone formation on alumina bead composite. *Journal of Biomedical Materials Research* 1997; 37(4):554-565.
- (30) Ragel CV, Vallet-Regi M. In vitro bioactivity and gentamicin release from glass-polymer-antibiotic composites. *Journal of Biomedical Materials Research* 2000; 51(3):424-429.
- (31) Totally biodegradable fracture-fixation plates for use in maxillofacial surgery, Second World Congress on Biomaterials. Washinton D.C.: 1984.
- (32) Bostman O, Hirvensalo E, Vainionpaa S, Makela A, Vihtonen K, Tormala P et al. Ankle Fractures Treated Using Biodegradable Internal-Fixation. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1989;(238):195-203.
- (33) Higashi S, Yamamuro T, Nakamura T, Ikada Y, Hyon SH, Jamshidi K. Polymer Hydroxyapatite Composites for Biodegradable Bone Fillers. *Biomaterials* 1986; 7(3):183-187.
- (34) Kelley BS, Dunn RL, Casper RA. Totally resorbable high-strength composite materials. In: Gebelein GC, editor. *Advances in Biomedical Polymers*. New York: Plenum Press, 1987: 75.
- (35) Daniels AU, Chang MKO, Andriano KP, Heller J. Mechanical-Properties of Biodegradable Polymers and Composites Proposed for Internal-Fixation of Bone. *Journal of Applied Biomaterials* 1990; 1(1):57-78.
- (36) Zimmerman MC, Alexander H, Parsons JR, Bajpai PK. The design and analysis of laminated degradable composite bone plates for fracture fixation. In: Vigo T, editor. *High-tech Fibrous Materials*. Washington D.C.: 1991: 132.
- (37) Verheyen CCPM, Dewijn JR, Vanblitterswijk CA, Degroot K. Evaluation of Hydroxylapatite Poly(L-Lactide) Composites - Mechanical-Behavior. *Journal of Biomedical Materials Research* 1992; 26(10):1277-1296.
- (38) Doyle C, Tanner ET, Bonfield W. Invitro and Invivo Evaluation of Polyhydroxybutyrate and of Polyhydroxybutyrate Reinforced with Hydroxyapatite. *Biomaterials* 1991; 12(9):841-847.
- (39) Knowles JC, Hastings GW, Ohta H, Niwa S, Boeree N. Development of A Degradable Composite for Orthopedic Use - Invivo Biomechanical and Histological-Evaluation of 2 Bioactive Degradable Composites Based on the Polyhydroxybutyrate Polymer. *Biomaterials* 1992; 13(8):491-496.
- (40) Verheyen CCPM, Dewijn JR, Vanblitterswijk CA, Degroot K, Rozing PM. Hydroxylapatite Poly(L-Lactide) Composites - An Animal Study on Push-Out Strengths and Interface Histology. *Journal of Biomedical Materials Research* 1993; 27(4):433-444.
- (41) Boeree NR, Dove J, Cooper JJ, Knowles J, Hastings GW. Development of A Degradable Composite for Orthopedic Use - Mechanical Evaluation of An Hydroxyapatite Polyhydroxybutyrate Composite-Material. *Biomaterials* 1993; 14(10):793-796.

- (42) Adriano KP, Daniels AU, Smutz WP, Wyatt RWB, Heller J. Preliminary Biocompatibility Screening of Several Biodegradable Phosphate Fiber Reinforced Polymers. *Journal of Applied Biomaterials* 1993; 4:1-12.
- (43) Knowles JC, Hastings GW. In vitro and in vivo investigation of a range of phosphate glass-reinforced polyhydroxybutyrate-base degradable composites. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 1993; 4:102-106.
- (44) Ibnabddjalil M, Loh IH, Chu CC, Blumenthal N, Alexander H, Turner D. Effect of Surface Plasma Treatment on the Chemical, Physical, Morphological, and Mechanical-Properties of Totally Absorbable Bone Internal-Fixation Devices. *Journal of Biomedical Materials Research* 1994; 28(3):289-301.
- (45) Bioabsorbable glass fiber/polymer composite: Part I, preparation and mechanical properties, 20th Annual Meeting of the Society for Biomaterials. Boston, MA, USA: 1994.
- (46) Bioabsorbable Glass Fiber/Polymer Composite for Internal Bone Fracture Fixation, 17th International Congress of Glass.: 1995.
- (47) Choueka A, Charvet JL, Alexander H, Oh YH, Joseph G, Blumenthal NC et al. Effect of Annealing Temperature on the Degradation of Reinforcing Fibers Or Absorbable Implants. *Journal of Biomedical Materials Research* 1995; 29(11):1309-1315.
- (48) Slivka MA, Chu CC, Adisaputro IA. Fiber-matrix interface studies on bioabsorbable composite materials for internal fixation of bone fractures .1. Raw material evaluation and measurement of fiber-matrix interfacial adhesion. *Journal of Biomedical Materials Research* 1997; 36(4):469-477.
- (49) Marcolongo M, Ducheyne P, Lacourse WC. Surface reaction layer formation in vitro on a bioactive glass fiber polymeric composite. *Journal of Biomedical Materials Research* 1997; 37(3):440-448.
- (50) Lowry KJ, Hamson KR, Bear L, Peng YB, Calaluce R, Evans ML et al. Polycaprolactone/glass bioabsorbable implant in a rabbit humerus fracture model. *Journal of Biomedical Materials Research* 1997; 36(4):536-541.
- (51) Kikuchi M, Suetsugu Y, Tanaka J, Akao M. Preparation and mechanical properties of calcium phosphate copoly-L-lactide composites. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 1997; 8(6):361-364.
- (52) Kikuchi M, Tanaka J, Koyama Y, Takakuda K. Cell culture test of TCP/CPLA composite. *Journal of Biomedical Materials Research* 1999; 48(2):108-110.
- (53) Ekholm M, Hietanen J, Lindqvist C, Rautavuori J, Santavirta S, Salo A et al. Mixture of epsilon-caprolactone-lactide copolymer and tricalcium phosphate: a histological and immunohistochemical study of tissue reactions. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 1999; 10(2):69-74.
- (54) Ignjatovic N, Tomic S, Dakic M, Miljkovic M, Plavsic M, Uskokovic D. Synthesis and properties of hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterials. *Biomaterials* 1999; 20(9):809-816.
- (55) Furukawa T, Matsusue Y, Yasunaga T, Nakagawa Y, Okada Y, Shikinami Y et al. Histomorphometric study on high-strength hydroxyapatite/poly(L-lactide) composite



- rods for internal fixation of bone fractures. *Journal of Biomedical Materials Research* 2000; 50(3):410-419.
- (56) Wang,M; Wang,C.X.; Weng,J.; Ni,J.Developping biodegradable composites using polyhydroxybutyrate and its copolymers, 6th World Biomaterials Congress.: 2000,81
- (57) Ural E, Kesenci K, Fambri L, Migliaresi C, Piskin E. Poly(D,L-lactide/*ε*-caprolactone)/hydroxyapatite composites. *Biomaterials* 2000; 21:2147-2154.
- (58) Rokkanen P. Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology. *Biomaterials* 2000; 21:2607-2613.
- (59) Charvet JL, Cordes JA, Alexander H. Mechanical and fracture behavior of a fiber-reinforced bioabsorbable material for orthopaedic applications. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 1999; 11(2):101-109.
- (60) Kasuga T, Ota Y, Nogami M, Abe Y. Preparation and mechanical properties of polilactic acid composites containing hydroxyapatite fibers. *Biomaterials* 2001; 22(1):19-23.
- (61) Bioactive Glass Fiber/Poly lactide Composite. Int.Symp on Ceramics in Medicine; Switzerland: Trans Tech Publications, 2001.
- (62) Matsumoto M, Chosa E, Nabeshima K, Shikinami Y, Tajima N. Influence of bioresorbable, unsintered hydroxyapatite/poly-L-lactide composite films on spinal cord, nerve roots, and epidural space. *Journal of Biomedical Materials Research* 2002; 60(1):101-109.
- (63) Kasuga T, Maeda H, Kato K, Nogami M, Hata K-I, Ueda M. Preparation of poly(lactic acid) composites containing calcium carbonate(vaterite). *Biomaterials* 2003; 24:3247-3253.
- (64) Kunze C, Freier T, Helwig E, Sandner B, Reif D, Wutzler A et al. Surface modification of tricalcium phosphate for improvement of the interfacial compatibility with biodegradable polymers. *Biomaterials* 2003; 24:967-974.
- (65) Jaakkola T, Rich J, Tirri T, Narhi T, Jokinen M, Seppala J et al. In vitro Ca-P precipitation on biodegradable thermoplastic composite of poly([*ε*-caprolactone-co--lactide) and bioactive glass (S53P4). *Biomaterials* 2004; 25(4):575-581.
- (66) Middleton JC, Tipton AJ. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials* 2000; 21(23):2335-2346.
- (67) Li SM. Hydrolytic degradation characteristics of aliphatic polyesters derived from lactic and glycolic acids. *Journal of Biomedical Materials Research* 1999; 48(3):342-353.
- (68) Biodegradable Composites. San Diego, California: 1985.
- (69) Keselowsky BG, Collard DM, Garcia AJ. Surface chemistry modulates fibronectin conformation and directs integrin binding and specificity to control cell adhesion. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2003; 66A(2):247-259.
- (70) Stephansson SN, Byers BA, Garcia AJ. Enhanced expression of the osteoblastic phenotype on substrates that modulate fibronectin conformation and integrin receptor binding. *Biomaterials* 2002; 23(12):2527-2534.

- (71) UNE 53-090, Determinación del contenido en cenizas de materiales plásticos. Norma Española 1976.
- (72) Fischer EW, Sterzel HJ, Wegner G. Investigation of the structure of solution grown crystals of lactide copolymers by means of chemical reactions. *Kolloid-Zeitschrift and Zeitschrift fur Polymere* 1973; 251:978-990.
- (73) ASTM D790-02, Standard Test Method for Flexural Properties of Unreinforced and Reinforced Plastics and Electrical Insulating Materials. *Annual Book of ASTM Standards* 2002.
- (74) Worthington AM. *Proc R Soc* 1885; 32(263).
- (75) Gogolewski S, Jovanovic M, Perren SM, Dillon JG, Hughes MK. The Effect of Melt-Processing on the Degradation of Selected Polyhydroxyacids - Polylactides, Polyhydroxybutyrate, and Polyhydroxybutyrate-Co-Valerates. *Polymer Degradation and Stability* 1993; 40(3):313-322.
- (76) MainilVarlet P, Curtis R, Gogolewski S. Effect of in vivo and in vitro degradation on molecular and mechanical properties of various low-molecular-weight polylactides. *Journal of Biomedical Materials Research* 1997; 36(3):360-380.
- (77) Clement J. Desarrollo y Caracterización de un Material Compuesto Totalmente Biodegradable para Aplicaciones Quirúrgicas. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, España, 2001.
- (78) Paul B. Prediction of Elastic Constants of Multiphase Materials. *Transactions of the American Institute of Mining and Metallurgical Engineers* 1960; 218(1):36-41.
- (79) Cohen LJ, Ishai O. *Journal of Composite Materials* 1967; 1:390.
- (80) Cowin SC. The mechanical properties of cortical bone tissue. In: Cowin SC, editor. *Bone Mechanics*. Philadelphia: CRC Press, 1991: 181.
- (81) Duek EAR, Zavaglia CAC, Belangero WD. In vitro study of poly(lactic acid) pin degradation. *Polymer* 1999; 40(23):6465-6473.
- (82) Li SM, Garrett S, Vert M. Structure-property relationships in the case of the degradation of massive poly(alpha-hydroxy acids) in aqueous media: Part 3: Influence of the morphology of poly(L-lactic acid). *Journal of Materials Science-Materials in Medicine* 1990; 1:198-206.
- (83) Nakamura T, Hitomi S, Watanabe S, Shimizu Y, Jamshidi K, Hyon SH et al. Bioabsorption of Polylactides with Different Molecular-Properties. *Journal of Biomedical Materials Research* 1989; 23(10):1115-1130.
- (84) Ishaug-Riley SL, Okun LE, Prado G, Applegate MA, Ratcliffe A. Human articular chondrocyte adhesion and proliferation on synthetic biodegradable polymer films. *Biomaterials* 1999; 20(23-24):2245-2256.
- (85) Park A, Griffith L. In vitro cell response to differences in poly-L-lactide crystallinity. *Biomaterials* 1996; 31:117-130.
- (86) Cai KY, Yao KD, Lin SB, Yang ZM, Li XQ, Xie HQ et al. Poly(D,L-lactic acid) surfaces modified by silk fibroin: effects on the culture of osteoblast in vitro. *Biomaterials* 2002; 23(4):1153-1160.

- (87) Lopes MA, Monteiro FJ, Santos JD, Serro AP, Saramago B. Hydrophobicity, surface tension, and zeta potential measurements of glass-reinforced hydroxyapatite composites. *Journal of Biomedical Materials Research* 1999; 45(4):370-375.
- (88) Shibuichi S, Onda T, Satoh N, Tsujii K. Super water-repellent surfaces resulting from fractal structure. *Journal of Physical Chemistry* 1996; 100(50):19512-19517.
- (89) Vogler EA. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science* 1998; 74:69-117.
- (90) Keselowsky BG, Collard DM, Garcia AJ. Surface chemistry modulates focal adhesion composition and signaling through changes in integrin binding. *Biomaterials* 2004; 25(28):5947-5954.

