

**DESARROLLO DE ANDAMIOS DE CARBÓN VÍTREO RETICULADO DE
CELDA POLIÉDRICA A PARTIR DE SACAROSA PARA APLICACIONES EN
INGENIERÍA DE TEJIDO ÓSEO**

NATALIA TERÁN ACUÑA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES
MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE MATERIALES
BUCARAMANGA**

2018

**DESARROLLO DE ANDAMIOS DE CARBÓN VÍTREO RETICULADO DE
CELDA POLIÉDRICA A PARTIR DE SACAROSA PARA APLICACIONES EN
INGENIERÍA DE TEJIDO ÓSEO**

NATALIA TERÁN ACUÑA

Trabajo para optar al título de Magíster en Ingeniería de Materiales

Directoras:

**ELCY MARÍA CÓRDOBA TUTA
PhD. Ciencia y Tecnología de Materiales**

**VIVIANA RAQUEL GÜIZA ARGÜELLO
PhD. Ingeniería Química**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA METALÚRGICA Y CIENCIA DE MATERIALES
MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE MATERIALES
BUCARAMANGA**

2018

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos a:

La Universidad Industrial de Santander por permitirme continuar con mi formación, dentro de su constante esfuerzo en incentivar el desarrollo, la educación y la investigación.

Las Doctoras Elcy Córdoba y Viviana Güiza por su constante apoyo, dedicación y orientación desde el inicio de mis estudios de maestría, no solo desde la perspectiva académica sino también como las valiosas personas que son.

Los laboratorios de Microscopia y Espectroscopia LE del Parque Tecnológico Guatiguará - UIS, por su colaboración durante la ejecución del presente proyecto.

Mi familia, mis amigos y colegas, quienes me brindaron compañía, apoyo y/o asesoría cuando fue necesaria.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. MARCO TEÓRICO	19
2. OBJETIVOS.....	24
2.1 OBJETIVO GENERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
3. DISEÑO METODOLÓGICO.....	25
3.1 ESTUDIOS PRELIMINARES	25
3.1.1 Obtención y caracterización de resinas de sacarosa	25
3.1.2 Obtención y Caracterización química, estructural y térmica de las espumas CVR	26
3.2 FABRICACIÓN DE ESPUMAS CVR: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y MECÁNICAS	26
3.2.1 Efecto de la concentración del catalizador (HNO ₃)	26
3.2.2 Efecto de la concentración de sacarosa	27
3.2.3 Efecto del tratamiento térmico	28
3.2.4 Efecto del tipo de plantilla	29
3.3 ESTUDIOS DE CITOTOXICIDAD.....	29
4. RESULTADOS.....	32
4.1 ESTUDIOS PRELIMINARES	32
4.1.1 Obtención y caracterización de resinas de sacarosa.....	32
4.1.2 Obtención y caracterización química, estructural y térmica de las espumas CVR	35
4.2 FABRICACIÓN DE ESPUMAS CVR: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y MECÁNICAS	41

4.2.1 Efecto de la concentración del catalizador.....	41
4.2.2 Efecto de la concentración de sacarosa	52
4.2.3 Efecto del tratamiento térmico	59
4.2.4 Efecto del tipo de plantilla	72
4.3 ESTUDIOS DE CITOTOCIXIDAD.....	74
5. CONCLUSIONES	80
6. RECOMENDACIONES.....	82
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
BIBLIOGRAFÍA.....	94

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Proceso de fabricación de espumas CVR mediante el método de réplica sobre esponja polimérica.	21
Figura 2. Reacciones de hidrólisis y polimerización de la sacarosa. (a) Hidrólisis de sacarosa. (b) Formación de ácidos carboxílicos. (c) Polimerización.....	22
Figura 3. Micrografía confocal de (a) esponja polimérica de sacrificio y (b) espuma CVR comercial (ERG Aerospace). (c) Espesor de ligamento. (d) Diámetro de celda. (Magnificación: 70X).....	25
Figura 4. Configuración del ensayo de citotoxicidad.....	30
Figura 5. Espectros FT-IR de resinas entre 0 y 6 h de preparación.....	33
Figura 6. Espectros FT-IR de resinas entre 6 y 12 h de preparación.....	34
Figura 7. Viscosidad de resinas con (a) 0 a 6 h y (b) 8 a 12 h de preparación	35
Figura 8. Morfología de las espumas CVR con resinas de (a) 4 h, (b) 6 h, (c) 9 ...	36
Figura 9. DRX típico de las espumas CVR sintetizadas. Temperatura de sinterización: 900°C	37
Figura 10. FT-IR de las espumas CVR sintetizadas. Temperatura de sinterización: 900°C.....	38
Figura 11. Comportamiento termogravimétrico de: sacarosa sólida, resina de sacarosa, esponja de celulosa (plantilla de sacrificio) y espuma CVR sintetizada a 900°C.....	40
Figura 12. Espectros FT-IR de resinas de 4 h de preparación con diferente relación molar ácido: sacarosa.....	42
Figura 13. Espectros FT-IR de resinas de 11 h de preparación con diferente relación molar ácido: sacarosa	42

Figura 14. Efecto de la concentración del ácido sobre la viscosidad de las resinas con tiempos de preparación de (a) 4 h y (b) 11 h	43
Figura 15. Termogramas de las resinas preparadas con diferentes concentraciones de ácido.	44
Figura 16. Espectros FT-IR para resinas de 11 h de preparación con relación molar ácido: sacarosa de: (a) 0:1 y (b) 1:1 y sus productos obtenidos a diferentes temperaturas.....	45
Figura 17. Modelo de reacciones de polimerización de la sacarosa. R corresponde a grupos alquilo, vinil, ciclo alquilo ó arilos. Modelo de la estructura molecular de una humina derivada de la sacarosa de acuerdo a los enlaces determinados por FT-IR.....	47
Figura 18. Efecto de la concentración de ácido sobre la morfología de las espumas CVR con resinas de 4 h y 11 h de preparación. Magnificación: 70X y 140X. Relación molar HNO ₃ :sacarosa 0:1, 1:16 y 1:1 (de izquierda a derecha)	48
Figura 19. Micrografías MEB de espumas CVR a partir de resinas de 11 h de preparación con relación HNO ₃ :sacarosa (a) 0:1, (b) 1:1 con electrones retrodispersados y (c) 1:1 con electrones secundarios.....	49
Figura 20. Efecto de la concentración de ácido sobre las propiedades mecánicas de las espumas CVR	50
Figura 21. Efecto de la concentración de sacarosa sobre la morfología de las espumas CVR con resinas (a) Sin adición de HNO ₃ y (b) Con soluciones de HNO ₃ 2*10 ⁻⁴ N. Magnificación: 140X. Concentración de sacarosa 0,2 g/mL, 0,4 g/mL y 0,8 g/mL de izquierda a derecha.....	53
Figura 22. Efecto de la concentración de sacarosa sobre las propiedades mecánicas de las espumas CVR	54
Figura 23. Efecto de la concentración de sacarosa en la viscosidad de las resinas preparadas con 2x10 ⁻⁴ N de ácido	55
Figura 24. Espectros FT-IR de resinas preparadas a diferentes tiempos y con concentración de catalizador 2x10 ⁻⁴ N	57

Figura 25. Espectros FT-IR de resinas preparadas a diferentes tiempos y concentración de catalizador 2×10^{-3} N	57
Figura 26. Morfología de las espumas CVR obtenidas a partir de resina de 48h y 2×10^{-3} N de HNO_3 diluidas con (a) 2 mL y (b) 3 mL de agua destilada	59
Figura 27. Efecto de la rampa de calentamiento durante la carbonización sobre la morfología de espumas CVR: 1, 3, 5 y 10 °C/min (de izquierda a derecha). Magnificación: (a) 70X y (b) 140X.....	60
Figura 28. Efecto de la rampa de calentamiento sobre las propiedades mecánicas (n=8) de las espumas CVR.....	60
Figura 29. Efecto del tiempo de sostenimiento de carbonización sobre la morfología de las CVR (a) 1 h (b) 3 h y (c) 5 h. Magnificación: 70X	63
Figura 30. Efecto del tiempo de carbonización sobre las propiedades mecánicas (n=8) de las espumas CVR.....	63
Figura 31. Efecto de la temperatura de carbonización sobre la morfología de las espumas CVR. 600, 900, 1200 y 1500 °C (de izquierda a derecha). Magnificación: (a) 70X y (b) 140X.....	65
Figura 32. Efecto de la temperatura de carbonización sobre las propiedades mecánicas (n=8) de las espumas CVR.....	66
Figura 33. Espectros Raman de espumas CVR carbonizadas a diferentes temperaturas.....	68
Figura 34. Cambios en los factores relativos de área, intensidad y anchura media con la temperatura de carbonización	69
Figura 35. Imágenes MEB de espumas CVR: (a) sintetizada, (b y c) de los ligamentos de las espumas CVR sintetizadas y (d) comercial de 20 PPI. Magnificación: (a, d) 100X y (b, c) 800X.....	71
Figura 36. Resistencia a la compresión de CVR comercial y sintetizada	71
Figura 37. Diámetros de celda y espesor de ligamento de las espumas CVR sintetizadas y comerciales de 20 PPI	72

Figura 38. Micrográficas confocal de espumas poliméricas de 50 PPI (a), 30PPI (b) y las respectivas imágenes MEB de las CVR obtenidas. Magnificación: 70X, 100X y 800X (de izquierda a derecha)	73
Figura 39. Imágenes de fluorescencia para identificación de núcleo celular (izquierda) y citoesqueleto (derecha) de osteoblastos humanos, por tinción con pentahydrate (bis-Benzimide) y tetrametilrodamina isocianato respectivamente, tras 24h (a) y 72h (b) de siembra.....	76
Figura 40. Esquema del ensayo de LDH	77
Figura 41. Resultados de citotoxicidad mediante prueba LDH	78
Figura 42. Resultados del ensayo de actividad metabólica celular.....	79

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Condiciones de calcinación.....	28
Tabla 2. Propiedades mecánicas de espumas CVR (n=10) y morfológicas (n=30) obtenidas con diferentes concentraciones de ácido en la resina precursora.....	51
Tabla 3. Propiedades mecánicas (n=10) y morfológicas (n=30) de espumas CVR obtenidas con diferentes concentraciones de sacarosa y bajas concentraciones de ácido	54
Tabla 4. Resultados obtenidos a partir de resinas diluidas (n=7)	58
Tabla 5. Propiedades mecánicas (n=8) y morfológicas (n=30) de espumas CVR obtenidas con diferentes velocidades de calentamiento durante la carbonización	61
Tabla 6. Propiedades mecánicas (n=10) y morfológicas (n=30) de las espumas CVR obtenidas con diferentes tiempos de carbonización	63
Tabla 7. Propiedades mecánicas (n=10) y morfológicas (n=30) de espumas CVR obtenidas con diferentes temperaturas de carbonización.....	65
Tabla 8. Cambios en la composición elemental de las espumas CVR con la temperatura de carbonización.....	67
Tabla 9. Propiedades mecánicas (n=8) y morfológicas (n=30) de espumas CVR obtenidas a partir de diferentes plantillas.....	73

RESUMEN

TÍTULO: DESARROLLO DE ANDAMIOS DE CARBÓN VÍTREO RETICULADO DE CELDA POLIÉDRICA A PARTIR DE SACAROSA PARA APLICACIONES EN INGENIERÍA DE TEJIDO ÓSEO¹

AUTOR: NATALIA TERÁN ACUÑA**

PALABRAS CLAVE: CITOTOXICIDAD, POLIMERIZACIÓN, PROPIEDADES MECÁNICAS, TRATAMIENTO TÉRMICO.

DESCRIPCIÓN: En el presente trabajo se fabricaron espumas de carbón vítreo reticulado (CVR) de celda poliédrica, las cuales eventualmente podrían integrarse a un sistema compuesto para regeneración del tejido óseo debido a su bio-compatibilidad, que fue demostrada a través de ensayos de viabilidad celular, adhesión celular y citotoxicidad. Su elaboración consistió en la preparación de resinas de sacarosa y HNO₃, las cuales, tras ser impregnadas sobre esponjas poliméricas, se sometieron a procesos de curado y carbonización. Se estudió la influencia de la concentración de HNO₃, la concentración de sacarosa, el tratamiento térmico y el tipo de plantilla sobre las propiedades morfológicas y mecánicas de las espumas CVR sintetizadas. Los resultados mostraron que concentraciones de HNO₃ superiores a 2x10⁻³ N generan un efecto de espumado en la resina, que ocasiona deformaciones en la estructura de las CVR y disminuyen su resistencia a la compresión. La concentración de sacarosa, el tiempo y la velocidad de calentamiento durante la carbonización no representaron compromisos estructurales ni mecánicos en las espumas CVR, mientras que el aumento en la temperatura de pirólisis provocó un incremento de alrededor de 40% en sus propiedades mecánicas. El estudio sistemático de las variables mencionadas y la utilización de diferentes tipos de plantillas permitió establecer las condiciones para fabricación de espumas CVR con una relación de características morfológicas y resistencias a la compresión ajustables, las cuales son cercanas a las de espumas CVR comerciales de referencia.

¹ Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de Materiales. Maestría en Ingeniería de Materiales. Directoras: Elcy María Córdoba, PhD. Ciencia y Tecnología de Materiales. Viviana Raquel Güiza Argüello, PhD. Ingeniería Química

ABSTRACT

TITLE: DEVELOPMENT OF SUCROSE-BASED RETICULATED VITREOUS CARBON SCAFFOLDS FOR BONE TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS *

AUTHOR: NATALIA TERÁN ACUÑA**

KEYWORDS: CYTOTOXICITY, POLYMERIZATION, MECHANICAL PROPERTIES, HEAT TREATMENT.

DESCRIPTION: In the present work, reticulated vitreous carbon (RVC) foams were fabricated and their potential for use as scaffolds in bone tissue engineering applications was also evaluated. The foams were prepared via the template route by using a sacrificial polymeric template, which was impregnated with a sucrose-based resin, followed by curing and carbonization under an inert atmosphere. The influence of the nitric acid and sucrose concentrations, as well as the thermal treatment on the properties of the synthesized RVC foams was studied. The results show that HNO_3 levels above 2×10^{-3} N generated a foaming effect in the resin, which caused deformations in the RVC structure and reduced its compression strength. The concentration of sucrose in the resin, the holding time and the heating rate during carbonization did not negatively impact the mechanical strength of the RVC foams, while an increase in the pyrolysis temperature caused a rise of around 40% in the mechanical properties of the foam. The systematic study of the mentioned variables and the use of different types of templates allowed us to establish favorable conditions for the production of RVC foams with desired morphological features and mechanical resistance similar to that of commercially available RVC foams.

* Master Thesis

** Faculty of Physicochemical Engineering. School of Metallurgical Engineering and Materials Science. Master's Degree in Materials Engineering. Directors: Elcy María Córdoba, PhD. Science and technology of materials. Viviana Raquel Güiza Argüello, PhD. Chemical engineering

INTRODUCCIÓN

En el mundo, anualmente se implementan alrededor de 600.000 procedimientos que involucran el empleo de injertos o implantes para reparación de fracturas y defectos óseos [1]. Los injertos naturales constituyen una alternativa médica viable dado que posibilitan la regeneración ósea. Sin embargo, el uso de aloinjertos representa riesgos de rechazo, infección y transmisión de enfermedades del donante al paciente. Por su parte, los autoinjertos anulan dichos riesgos ya que utilizan tejido del mismo paciente, pero están limitados por la cantidad de tejido disponible para trasplante [2] e implican procedimientos altamente invasivos con posible pérdida parcial de funcionalidad en el sitio donante.

Frente a estos hechos, la investigación en ingeniería de tejido óseo ha encaminado esfuerzos hacia el desarrollo de materiales que permitan la regeneración de hueso, lo cual representa uno de los más grandes retos que existen en este campo de la ciencia debido a la dificultad de fabricar un material que además de ser bioactivo, combine la resistencia y la porosidad del hueso natural para que ofrezca no sólo las propiedades mecánicas biológicamente requeridas, sino también una matriz altamente porosa e interconectada (*scaffold* o andamio) que permita el transporte de nutrientes y facilite el crecimiento de tejido óseo nuevo en el lugar afectado [3].

Los biomateriales metálicos se usan en cerca del 40% de las intervenciones dada su biocompatibilidad y uso como soporte de carga [4, 5]. Sin embargo, sus propiedades mecánicas son significativamente mayores a las del hueso natural [6–10], lo que conduce eventualmente a la atrofia ósea debido a la transferencia no homogénea de la tensión entre el implante y el hueso [11]. Contrario a esto, los materiales poliméricos cuentan con propiedades mecánicas muy inferiores a las del hueso, lo cual ha hecho que sus aplicaciones biomédicas se orienten

preferiblemente hacia el tejido cartilaginoso [12–14]. Además, la biodegradación en los polímeros reabsorbibles no es totalmente controlable y puede generar productos que provocan reacciones inflamatorias en el huésped [5, 15–18].

Finalmente, los biomateriales cerámicos cuentan con elevada resistencia al desgaste, a la abrasión y a las agresiones químicas; y aunque en general son frágiles, sus propiedades mecánicas dependen del proceso de fabricación empleado [5, 19, 20]. Debido a su bioactividad y/o bioabsorbibilidad, los cerámicos más usados en regeneración ósea son los fosfatos de calcio, la hidroxiapatita y los biovidrios [19]. Sin embargo, para los primeros, el mecanismo de reabsorción *in vivo* no es totalmente predecible, y por tanto su uso puede ocasionar el colapso del defecto por desaparición temprana del soporte osteoconductor [20]. Por otro lado, a pesar de presentar biodegradabilidad controlada [20], los andamios de biovidrio son obtenidos por sinterización, lo cual ocasiona procesos de cristalización que reducen su bioactividad y pueden generar defectos puntuales que comprometen sus propiedades mecánicas en función del tamaño de partícula utilizado [21].

En el contexto de la ingeniería de tejidos, un andamio (*scaffold*, en inglés) es definido como una matriz porosa de soporte que simula las funciones de la matriz extracelular natural donde las células tienen que llegar y anclarse. Para esto, el andamio debe ser de material y morfología adecuados de manera que las células puedan identificarse, reproducirse y vivir en él. En este orden de ideas, se ha reportado previamente en la literatura la fabricación de espumas de carbón vítreo reticulado (CVR) con una estructura altamente porosa e interconectada, cuyas propiedades mecánicas son comparables a las de los andamios de biovidrio [22, 23]. Además de reportar una morfología similar al hueso esponjoso, estudios recientes también han mostrado que, aunque las espumas CVR no son biodegradables, promueven la adhesión celular, invasión y reparación de hueso

[24–26], lo cual las convierte en una candidato atractivo para la fabricación de andamios permanentes para la regeneración de tejido óseo.

Las espumas CVR disponibles comercialmente son fabricadas por carbonización de resinas fenólicas y/o furfural [27, 28] y se han utilizado tradicionalmente en aplicaciones para almacenamiento de energía, aislamiento de altas temperaturas, filtros, electrodos, disipadores de calor, y fabricación de semiconductores, entre otros [29–35]. Sin embargo, su elevado costo, aunado al uso excesivo de agentes altamente tóxicos como el fenol, el formol y el m-cresol durante su obtención, representan una amenaza para el medio ambiente, para la salud de quienes están directamente involucrados con el proceso de fabricación [36, 37] y limita su utilización en aplicaciones biomédicas, ya que por la naturaleza de los precursores, existe el riesgo de la presencia de residuos tóxicos como derivados aromáticos en la superficie del CVR [38]. Para minimizar este impacto, estudios recientes han planteado la utilización de resinas preparadas a partir de moléculas naturales renovables como taninos y sacarosa [39–41]. Esta última presenta como principales ventajas su bajo costo, disponibilidad y un proceso de fabricación más amigable con el ambiente. Sin embargo, puesto que el principal interés sobre estos materiales se ha concentrado en otras propiedades como el área superficial o la conductividad térmica y eléctrica, las propiedades de las espumas CVR a partir de sacarosa para su uso como potenciales andamios celulares aún requieren un extenso estudio.

De acuerdo a lo anterior, este trabajo busca contribuir con el desarrollo de andamios de CVR para aplicaciones ortopédicas a partir de sacarosa, los cuales puedan ser eventualmente usados como parte de un sistema material para la regeneración de tejido óseo. Para tal fin, se presenta una evaluación sistemática del efecto de diferentes parámetros de síntesis de las espumas CVR, tales como la concentración de sacarosa y del catalizador en la resina precursora, así como el tratamiento térmico sobre las propiedades mecánicas y morfológicas de las

espumas CVR obtenidas, con el fin de determinar las condiciones que permitan la fabricación de espumas CVR con propiedades comparables con las de espumas CVR disponibles comercialmente, bajo la hipótesis de que, a través de la polimerización de la sacarosa y su posterior carbonización sobre plantillas poliméricas, se puede obtener una matriz altamente porosa e interconectada con morfología similar a la del hueso trabecular; así mismo, este material puede contar con propiedades mecánicas que posibilitan su uso como andamio para el tratamiento de defectos óseos.

1. MARCO TEÓRICO

El carbón vítreo fue inicialmente desarrollado en 1957 como componente para combustible nuclear, pero debido a sus propiedades únicas (alta resistencia química y mecánica [42], baja porosidad y permeabilidad, alta dureza y alta conductividad térmica y eléctrica [43]) poco a poco su campo de aplicación se extendió a las áreas química, electrónica [30], y aeroespacial. Por otra parte, en el contexto de aplicaciones biomédicas del carbón vítreo, diversos estudios han explorado su utilización en implantes dentales y óseos, válvulas cardíacas y otros dispositivos cardiovasculares y pulmonares [5, 26]. Entre los resultados más relevantes de dichos estudios se puede mencionar que: i) el carbón vítreo no produce respuestas inmunológicas significativas en el cuerpo, y ii) a pesar de que sus propiedades mecánicas relativamente bajas impiden su uso aislado en implantes dentales y óseos [5, 26, 40, 44], estudios *in vitro* recientes han demostrado que las espumas CVR favorecen el crecimiento y la mineralización de tejido óseo [24, 25].

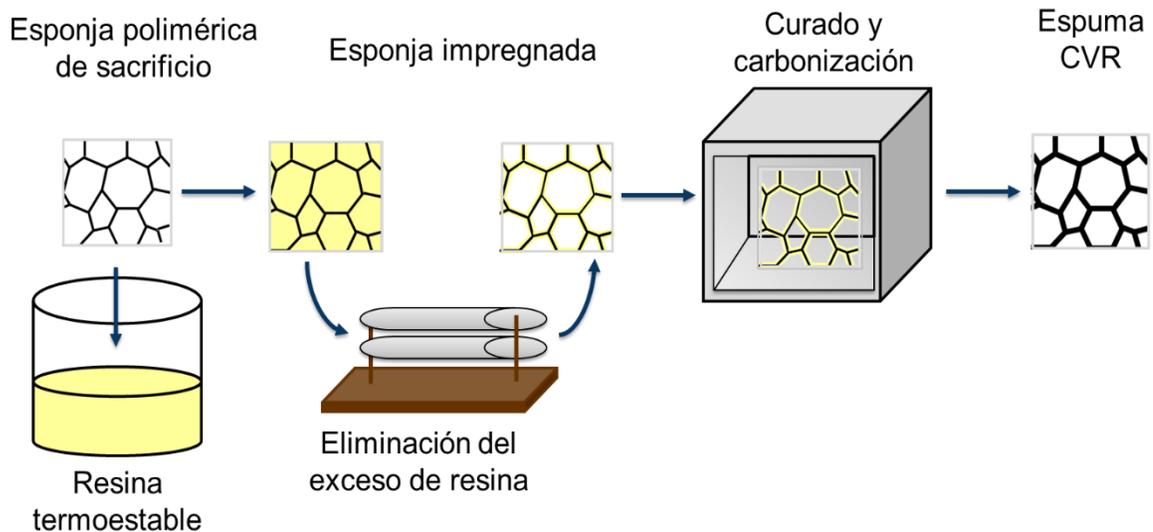
Comúnmente, las espumas CVR se preparan por carbonización en fase sólida de resinas fenólicas o furfural, ya que éstas presentan rendimientos de carbono mayores al 50 % debido al alto grado de reticulación asociado a los grupos hidroxilos de su estructura [45]. Las espumas CVR son de naturaleza frágil, pero sus propiedades pueden variar en función de factores de síntesis como la composición y viscosidad de la resina precursora, el tipo de solvente, los agentes de curado, y las condiciones del tratamiento térmico utilizado, entre otros [30, 46]. Aunque se conoce que los precursores orgánicos que contienen aromáticos resultan en productos carbonosos con mejores propiedades mecánicas [47], su uso en aplicaciones biomédicas puede involucrar reacciones adversas a largo plazo como el cáncer [38]. Por lo tanto, recientemente se ha explorado el uso de lignocelulósicos y biomoléculas [27] para la obtención de espumas de carbón

vítreo con propiedades mecánicas comparables con las de espumas basadas en resinas fenólicas [25, 44, 48, 49].

En cuanto a los procesos de fabricación, las espumas de carbón vítreo se pueden obtener por adición de agentes espumantes, prensado, adición de agentes formadores de poros y réplica sobre esponja polimérica. En la primera técnica, se combina un agente espumante con la resina precursora, lo cual resulta en estructuras de carbono con morfología de poros celular y de tamaño variable [32, 34, 48, 50, 51]. El segundo método consiste en el prensado de partículas de carbón vítreo monolítico aglutinadas por un ligante orgánico, donde los poros son formados en los intersticios de dichas partículas. Este método resulta poco práctico para la preparación de carbón vítreo altamente poroso, ya que conlleva a una reducción sustancial de la resistencia mecánica [43]. En el tercer método, una resina termoendurecible en bruto es combinada con un formador de poros, el cual debe ser eliminado durante el proceso de endurecimiento. Esta técnica es adecuada para preparar carbonos vítreos con poros relativamente grandes, pero no permite un alto control en la distribución de los mismos [52].

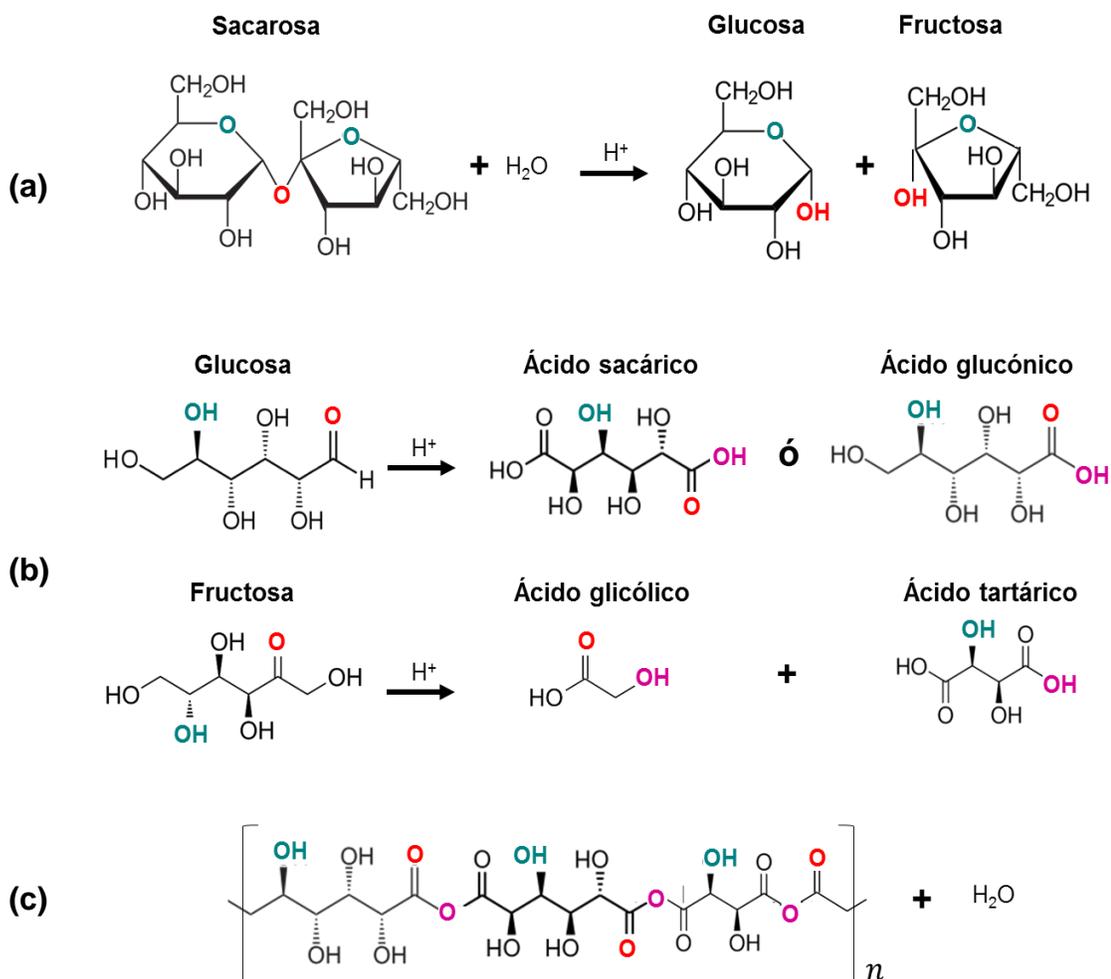
Finalmente, en el proceso de réplica sobre esponja polimérica, se utiliza una espuma polimérica de sacrificio, la cual es impregnada con una resina termoestable y luego carbonizada, como se muestra en la Figura 1. Esta técnica ha sido ampliamente utilizada para la fabricación de cuerpos porosos a partir de diferentes materiales ya que permite replicar con alto grado de exactitud la morfología de la plantilla de sacrificio, lo que implica obtener espumas con tamaños de poro controlables, y no requiere el uso de tratamientos posteriores para la eliminación de la plantilla puesto que ésta se degrada durante la carbonización [40, 53–57].

Figura 1. Proceso de fabricación de espumas CVR mediante el método de réplica sobre esponja polimérica.



Por otra parte, diferentes trabajos han reportado el uso de sacarosa como precursor para la obtención de carbones con rendimientos entre 20 y 35 % [34, 39, 40, 49, 58], cuyas características dependieron no sólo del método de síntesis utilizado, sino también de variables como la concentración de sacarosa (0,0075 - 2 g/mL) y las temperaturas de secado y carbonización. Adicionalmente, en presencia de ácidos fuertes, la sacarosa se hidroliza en una mezcla equimolar de glucosa y fructosa, las cuales a su vez se oxidan fácilmente formando ácidos carboxílicos. Tanto los grupos carbonilos de los ácidos formados, como los hidroxilos posibilitan la polimerización y reticulación de los sacáridos (ver Figura 2), lo que conlleva a la formación de resinas poliméricas que pueden ser posteriormente carbonizadas para la fabricación de carbón vítreo. De acuerdo con la literatura, los ácidos sulfúrico y nítrico funcionan como catalizadores de la hidrólisis de la sacarosa, aunque el H_2SO_4 puede actuar como agente de unión del agua, dificultando la carbonización [52].

Figura 2. Reacciones de hidrólisis y polimerización de la sacarosa. (a) Hidrólisis de sacarosa. (b) Formación de ácidos carboxílicos. (c) Polimerización



En general, pocos de los trabajos encontrados en la literatura se han enfocado en el estudio de las propiedades mecánicas y morfológicas de las espumas CVR, puesto que el mayor interés sobre estos materiales ha residido principalmente en otras propiedades como el área superficial o las conductividades térmica y eléctrica. Con base en la extensiva búsqueda bibliográfica realizada para el desarrollo de la presente investigación, se puede afirmar que no se ha reportado aún una evaluación sistemática del efecto de los diferentes parámetros de síntesis

en las propiedades morfológicas y mecánicas de espumas de carbón vítreo. Es por eso que el presente trabajo consistió en el desarrollo de un método relativamente sencillo y de bajo costo para la fabricación de espumas CVR con propiedades mecánicas y morfológicas similares a las de las espumas CVR comerciales, a partir de un estudio sistemático de las diferentes variables de síntesis involucradas en el método de fabricación de espumas CVR por réplica sobre esponja polimérica, utilizando una resina de sacarosa como precursor de carbón. De esta manera, el presente trabajo de investigación pretender contribuir al mejoramiento y desarrollo de materiales para la fabricación de andamios para regeneración de tejido óseo.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un proceso de fabricación de espumas de carbón vítreo reticulado de celda poliédrica a partir de sacarosa polimerizada para aplicaciones en ingeniería de tejido óseo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Establecer el efecto de la concentración de sacarosa y concentración del catalizador sobre la morfología y las propiedades mecánicas de la espuma de carbón vítreo resultante.

Evaluar el efecto de los tratamientos térmicos asociados a la carbonización de la resina precursora sobre la morfología y las propiedades mecánicas de las espumas resultantes.

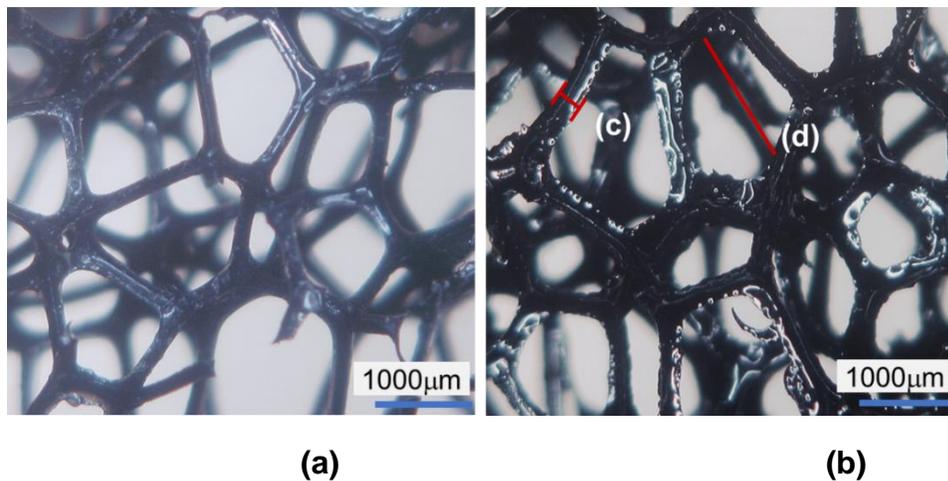
Estudiar la citotoxicidad *in vitro* de las espumas fabricadas para su posible aplicación en ingeniería de tejido óseo.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 ESTUDIOS PRELIMINARES

3.1.1 Obtención y caracterización de resinas de sacarosa. Se realizaron estudios preliminares con el fin de establecer un valor inicial de viscosidad de la resina precursora para la impregnación de la plantilla de sacrificio (ver Figura 3 (a)). Con base en la literatura [40], se prepararon soluciones de sacarosa de 0,4 g/mL con una relación molar HNO_3 :sacarosa igual a 1:1, las cuales fueron calentadas a 90°C por tiempos entre 1 y 12 h, con el fin de preparar la resina precursora de carbón. La composición de dichas soluciones fue caracterizada por medio de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) empleando un espectrómetro Shimadzu IRTracer-100, mientras que su viscosidad fue medida con un reómetro Brookfield DV-III.

Figura 3. Micrografía confocal de (a) esponja polimérica de sacrificio y (b) espuma CVR comercial (ERG Aerospace). (c) Espesor de ligamento. (d) Diámetro de celda. (Magnificación: 70X)



3.1.2 Obtención y Caracterización química, estructural y térmica de las espumas CVR. Una vez obtenidas las resinas, esponjas de celulosa (esponjas de sacrificio) cortadas en forma cúbica con dimensiones aproximadas de 1,5 cm x 1,5 cm x 2 cm, fueron impregnadas con las resinas preparadas, y se retiró el exceso de resina por medio de extrusión de las esponjas impregnadas en una cilindadora. Después de esto, las esponjas fueron curadas a 250 °C con una rampa de 1 °C/min y 1 h de sostenimiento, seguido por carbonización a 900 °C (3 °C/min) durante 1 h en atmosfera inerte de N₂. Las espumas obtenidas fueron evaluadas en función de su morfología utilizando un microscopio óptico confocal Hirox KH-7700.

Las espumas CVR preparadas se caracterizaron por medio de los siguientes ensayos: difracción de rayos X (DRX), FT-IR y TGA. Los análisis de DRX se llevaron a cabo por medio de un difractómetro de polvo marca BRUKER modelo D8 ADVANCE con geometría DaVinci. El rango de medición fue de 3,5 - 70,0 ° 2 θ , con radiación CuK α 1 y un barrido a pasos con un tiempo de muestreo de 0,8 segundos. El análisis TGA se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno hasta 900°C y velocidad de calentamiento de 10 °C/min, utilizando un equipo Setsys Evolution TGA-DTA/DSC marca SETARAM.

3.2 FABRICACIÓN DE ESPUMAS CVR: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y MECÁNICAS

3.2.1 Efecto de la concentración del catalizador (HNO₃). Teniendo en cuenta los resultados de los ensayos preliminares, para el estudio de la variable concentración de catalizador, se fabricaron espumas CVR a partir de una resina de sacarosa de 0,4 g/mL, utilizando un total de 10 repeticiones por ensayo (n=10), según el procedimiento descrito en el apartado 4.1. Con el fin de establecer el

efecto del catalizador sobre las propiedades de las espumas, se trabajaron resinas con diferentes relaciones de HNO₃:sacarosa, así: 0:1, 1:16 y 1:1. Las resinas fueron analizadas mediante FT-IR. Posteriormente, las espumas CVR obtenidas se caracterizaron según su diámetro de celda, espesor de ligamento (ver Figura 3 (b)), porosidades lineal y volumétrica, la cual se calculó con base en la norma ASTM C20-00.

La resistencia a la compresión de las espumas CVR fabricadas se determinó con una máquina universal de ensayos Tinius Olsen, usando una velocidad de compresión de 0,5 mm/min, con base en la norma ASTM C1424-15. Se realizaron análisis estadísticos mediante el método de distribución de Weibull y el test de Kruskal-Wallis. Adicionalmente, se estudió el comportamiento térmico de las resinas mediante análisis termogravimétricos (TGA) en atmósfera de nitrógeno hasta 900°C y velocidad de calentamiento de 10 °C/min.

3.2.2 Efecto de la concentración de sacarosa. Según los resultados obtenidos en el apartado 4.2.1, además del estudio de la concentración de sacarosa, se requirió evaluar el efecto de bajas concentraciones de ácido en la resina. Para ello, en esta etapa experimental se obtuvieron espumas CVR a partir de resinas preparadas con soluciones de sacarosa de 0,2, 0,4 y 0,8 g/mL, sin adición de HNO₃ y con concentraciones de ácido bajas, por el orden de 2×10^{-4} y 2×10^{-3} N. Se realizó una caracterización morfológica de las espumas CVR resultantes (n=10) como se describió anteriormente, y así mismo se determinó su resistencia. Análisis estadísticos fueron realizados mediante el método de distribución de Weibull y el test de Kruskal-Wallis.

3.2.3 Efecto del tratamiento térmico. Para evaluar el efecto de las condiciones de carbonización se fabricaron espumas CVR (n=8) a partir de soluciones de 0,4 g/mL de sacarosa y 2×10^{-3} N de HNO₃. La calcinación se realizó bajo atmósfera de nitrógeno de acuerdo con las condiciones mostradas en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de calcinación

Variable evaluada	Velocidad de calentamiento (°C/min)	Tiempo de sostenimiento (h)	Temperatura de carbonización (°C)
Efecto de la velocidad de calentamiento	1, 3, 5, y 10	1	900
Efecto del tiempo de sostenimiento	3	1, 3 y 5	900
Efecto de la temperatura de carbonización	3	1	600, 900, 1200 y 1500

Las espumas obtenidas fueron caracterizadas según su diámetro de celda y porosidad lineal (microscopía confocal) y su resistencia a la compresión. Con el fin de comprobar cambios estructurales y de composición en las espumas CVR fabricadas con diferentes temperaturas de carbonización, se realizaron análisis de espectrometría Raman y de contenido de carbono, hidrógeno y nitrógeno. Los espectros Raman se obtuvieron con un espectrómetro LabRam HR Evolution HORIBA, usando un objetivo de 100X, un láser con una longitud de onda de 532 nm, un filtro en 1% de su poder nominal y un tiempo de integración de 100 segundos. El contenido de C, H y N se determinó mediante un analizador elemental SDCHN 435 SUNDY.

3.2.4 Efecto del tipo de plantilla. Con el fin de evaluar los cambios en las propiedades mecánicas de las espumas CVR en función del diámetro y el espesor de ligamento, se fabricaron espumas CVR usando plantillas de sacrificio con diferentes porosidades y diámetro de poro, a partir de una resina de sacarosa elaborada con las condiciones seleccionadas según las etapas previas.

3.3 ESTUDIOS DE CITOTOXICIDAD

Adhesión celular

Espumas CVR sintetizadas con geometría cúbica (n=4) fueron esterilizadas usando óxido de etileno en un sistema Anprolene (AN 74i, Andersen Sterilizer Inc). Posteriormente, las espumas fueron sumergidas en medio de cultivo celular durante 2 h, tiempo tras el cual fueron transferidas a placas de cultivo celular sin medio con el fin de realizar la siembra celular. Se sembraron osteoblastos humanos normales (Lonza) en la cara superior de cada espuma (30 µL de suspensión conteniendo 130.000 células). Tras un periodo de incubación de 45 min a 5% CO₂ y 37 °C, se repitió el proceso de siembra e incubación en ausencia de medio. Finalmente, se añadió medio de cultivo (Lonza) a las placas, donde las espumas fueron cultivadas por 24 y 72 h a 37°C y 5% CO₂ para permitir la adhesión celular.

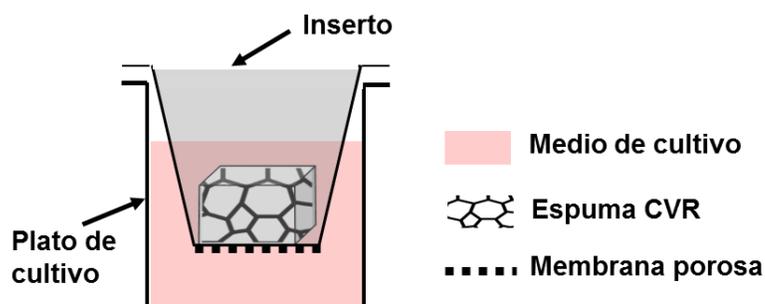
Después de cada periodo de incubación, las muestras fueron lavadas con solución salina tamponada con fosfatos de Dulbecco (DPBS) por 10 min, fijadas usando formalina al 10% y luego nuevamente lavadas dos veces con DPBS, para posteriormente ser sometidas a tinción fluorescente con una solución de *Rhodamine Phalloidin* (ThermoFisher, 1:100 PBS) y Hoechst 33258 (ThermoFisher, Cat # H3569) para detectar los filamentos actin celulares y el núcleo celular, respectivamente. Después de 1 h de incubación a temperatura

ambiente, las muestras fueron lavadas tres veces con DPBS. La adhesión celular a las espumas CVR fue evaluada por medio de microscopia confocal.

Citotoxicidad

Con el objetivo de evaluar la potencial citotoxicidad de las espumas CVR fabricadas, se realizaron mediciones indirectas de niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) liberados por osteoblastos humanos expuestos a estos materiales después de 72 h y una semana de cultivo. Las células fueron sembradas a una densidad superficial de 5000 células/cm² en platos de 12 pozos usando medio osteogénico (Lonza). Después de 6 h en cultivo a 37°C y 5% CO₂, las espumas fabricadas fueron puestas en insertos para cultivo celular, permitiendo así el contacto indirecto con las células sembradas en el plato, tal como lo ilustra la Figura 4. Los niveles de LDH liberados en el medio de cultivo fueron detectados usando un lector de platos (Biotek). Los resultados se contrastaron con respecto a superficies de poliestireno para cultivo celular y espumas de carbón vítreo comerciales (ERG Aerospace).

Figura 4. Configuración del ensayo de citotoxicidad



Actividad metabólica celular

La evaluación de la actividad metabólica celular se llevó a cabo por medio del ensayo de reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-

difeniltetrazol (Ensayo MTT), utilizando la misma configuración ilustrada en la Figura 4. Para este ensayo, se añadió medio de cultivo fresco suplementado con C12-resazurin y después de 3 h de incubación, una porción del medio de cada muestra fue recolectada y su fluorescencia medida con respecto a una curva estándar de control positivo.

4. RESULTADOS

4.1 ESTUDIOS PRELIMINARES

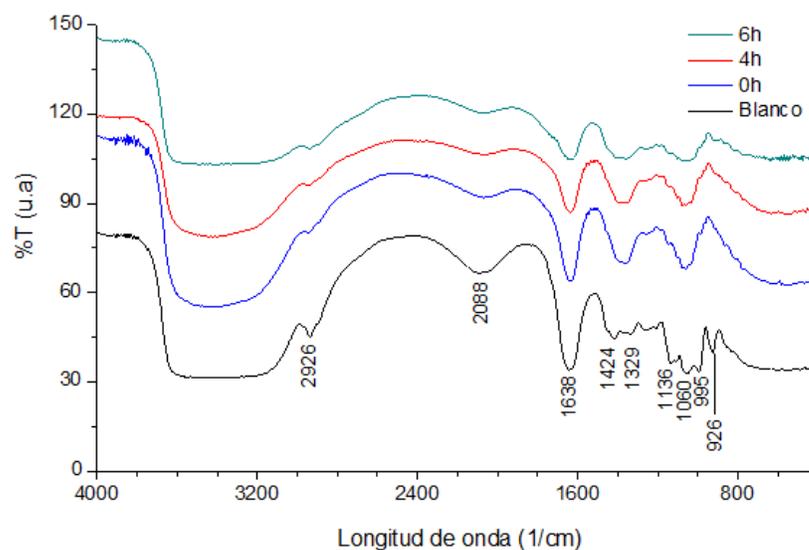
4.1.1 Obtención y caracterización de resinas de sacarosa. Se realizaron estudios preliminares con el fin de establecer un valor inicial de viscosidad y estudiar el comportamiento de la resina precursora para la impregnación de la plantilla de sacrificio. Con base en la literatura [40], se prepararon soluciones de sacarosa de 0,4 g/mL con una relación molar HNO₃:sacarosa igual a 1:1, las cuales fueron calentadas a 90°C por tiempos entre 1 y 12 h, con el fin de preparar la resina precursora de carbón.

Con respecto a los cambios en las especies químicas de las resinas precursoras, en la Figura 5 se presentan los espectros FT-IR para resinas preparadas a 90 °C por periodos entre 0 y 6 h, además del espectro de una solución de referencia (blanco) preparada con sacarosa sin adición de ácido ni calentamiento a 90 °C. En todos los espectros se observan dos bandas localizadas desde 3700 a 3000 cm⁻¹ y en 2088 cm⁻¹, además de un pico alrededor de 1638 cm⁻¹, correspondientes a la presencia de agua y grupos OH [59], estas señales van disminuyendo en intensidad a medida que aumenta el tiempo de calentamiento. Asimismo, alrededor de 2926 cm⁻¹ se halla un pico en común, correspondiente a las vibraciones de estiramiento – C – H de los grupos CH₃ y/o CH₂ encontrados típicamente en los compuestos orgánicos [59].

Las principales diferencias en los espectros FT-IR se observan en la región de huella dactilar, donde el espectro de la solución referencia presenta picos máximos específicos de la sacarosa localizados en 995, 1060 y 1136 cm⁻¹ que corresponden a enlaces C-O-H y C-O exocíclicos y endocíclicos, respectivamente

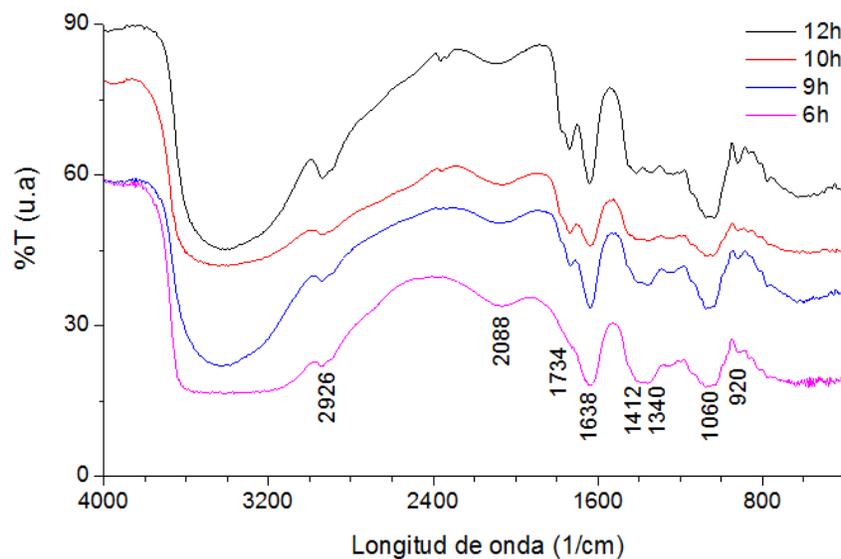
[60]. En las soluciones con adición de ácido se observó que las señales entre 990 a 1150 cm^{-1} se solapan dando lugar a una sola banda centrada alrededor de 1060 cm^{-1} , comportamiento que indica procesos de hidrólisis de la sacarosa en medio ácido, a partir de los cuales se genera glucosa y fructosa. Este solapamiento que da lugar a la formación de la banda a 1060 cm^{-1} , se produce debido a que la glucosa y la fructosa presentan señales características en la misma región que la sacarosa (991, 1033, 1078, 1107 y 1149 cm^{-1} , con adsorción máxima en 1033 cm^{-1} y 966, 979, 1063, 1082 cm^{-1} , con máxima adsorción en 1063 cm^{-1} , respectivamente) [61, 62]. Así mismo, entre 1329 y 1424 cm^{-1} , se observan picos correspondientes a los modos de deformación C-C-H y C-O-H de la sacarosa en la muestra referencia, los cuales se convierten en una sola banda en las soluciones que contienen HNO_3 , producto de la interacción de las tres especies: glucosa, fructosa y sacarosa. Estas soluciones también presentan señales características de deformación O-C-H, C-C-H y C-O-H en 1382 y 1340 cm^{-1} para la glucosa y alrededor de 1402 y 1340 cm^{-1} para la fructosa [61, 62].

Figura 5. Espectros FT-IR de resinas entre 0 y 6 h de preparación



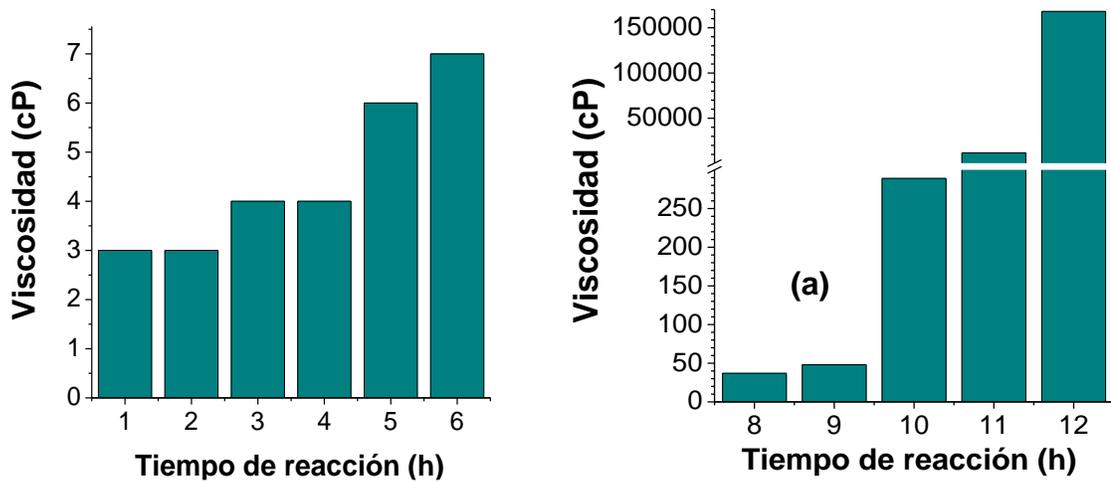
Posteriormente, a partir de la sexta hora de calentamiento (Figura 6), se observa la reducción paulatina del pico formado entre 1424 y 1329 cm^{-1} , hasta su desaparición a las 12 horas, lo que sugiere una oxidación completa de la glucosa y la fructosa [63]. Aunado a esto, la aparición de un pico alrededor 1734 cm^{-1} corresponde a los enlaces C=O [61] generados a partir de la obtención de productos de oxidación (ácidos, aldehídos y cetonas) de la sacarosa y la fructosa, lo que confirma la obtención de especies polimerizantes [64, 65].

Figura 6. Espectros FT-IR de resinas entre 6 y 12 h de preparación



Con el fin de establecer el proceso de impregnación de las esponjas de sacrificio, se realizaron medidas de la viscosidad de las resinas preparadas (Figura 7), y se encontró que durante las primeras 6 h de calentamiento a 90 °C, se presentaron ligeros cambios en la viscosidad de la resina, principalmente por la evaporación del disolvente (agua). Para tiempos de calentamiento superiores (10 y 12 h), la viscosidad de la resina aumentó significativamente (de 289 a 168000 cP), lo cual evidenció además de la evaporación del disolvente, reacciones de polimerización.

Figura 7. Viscosidad de resinas con (a) 0 a 6 h y (b) 8 a 12 h de preparación

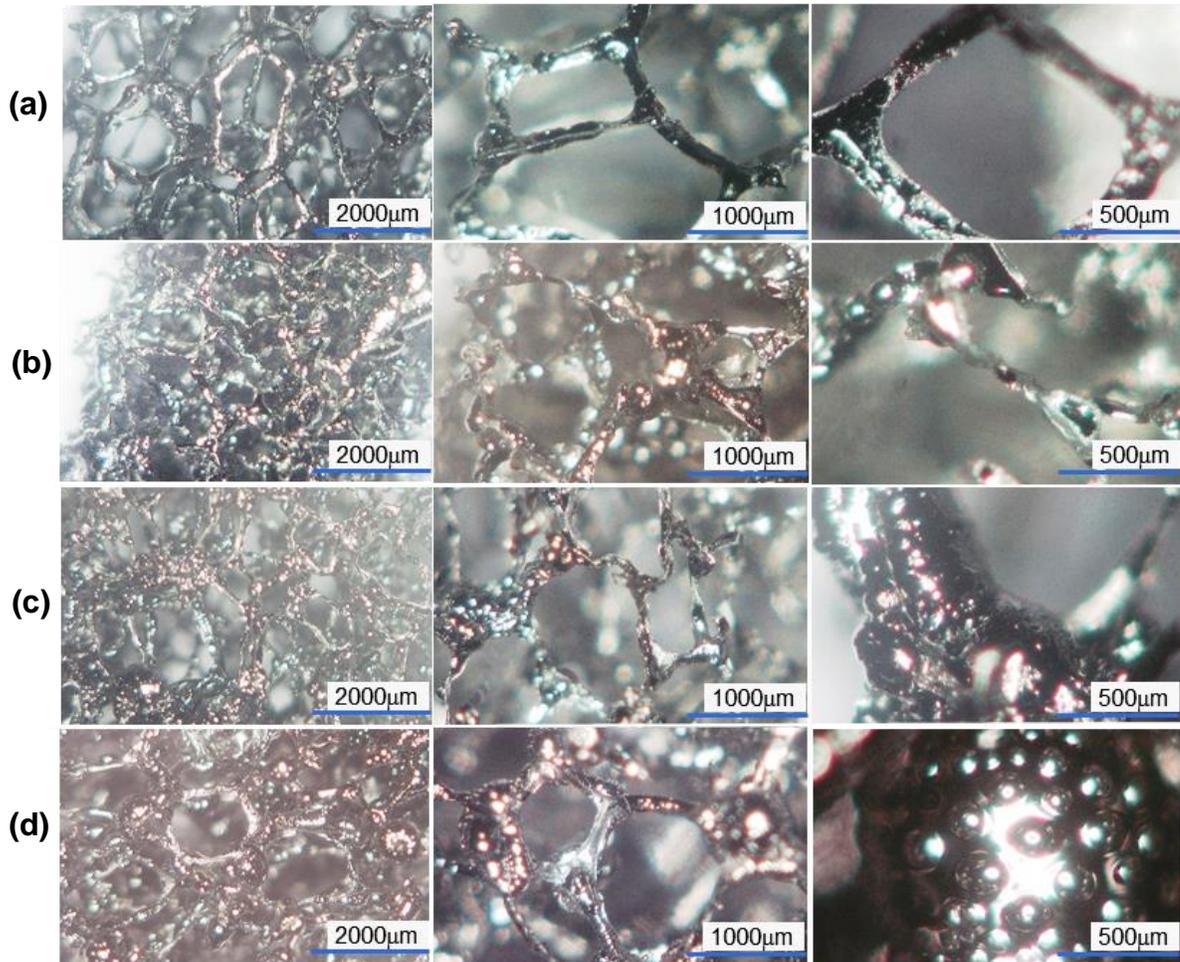


4.1.2 Obtención y caracterización química, estructural y térmica de las espumas CVR. A partir de las resinas preparadas se obtuvieron espumas CVR a través de un proceso de curado a 250 °C (1 °C/min por 1h) y posterior carbonización a 900 °C (3 °C/min por 1h). Los resultados de la caracterización de las espumas CVR obtenidas se presentan a continuación.

Análisis morfológico

En la Figura 8 se presentan las micrografías de espumas CVR fabricadas a partir de resinas con diferentes tiempos de preparación. Se observa que las espumas CVR producidas a partir de resinas preparadas a 90 °C por tiempos mayores a 4 h (Figura 8 (c y d)) presentaron protuberancias principalmente en los nodos, producto de la acción espumante del ácido nítrico, el cual durante la etapa final de las reacciones de oxidación de los azúcares (ver Figura 2) genera grandes cantidades de vapores, principalmente NO₂ producto de la descomposición del ácido nítrico debido a las altas temperaturas ocasionadas por el carácter exotérmico de la reacción [49, 66]. El tamaño y cantidad de dichas protuberancias aumentó a medida que aumentaron los tiempos de preparación.

Figura 8. Morfología de las espumas CVR con resinas de (a) 4 h, (b) 6 h, (c) 9 h y (d) 12 h. Magnificaciones de 50X, 100X y 200X de izquierda a derecha

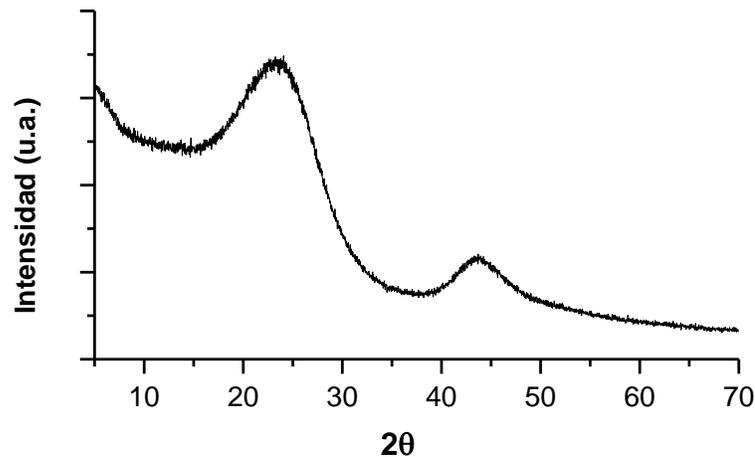


Difracción de rayos X

Los espectros DRX de las espumas CVR sintetizadas (Figura 9) presentan dos señales alrededor de 23° y 44° , que corresponden a las reflexiones de los planos (002) y (101) del grafito, las cuales están relacionadas con la estructura de apilamiento gráfico y su ordenamiento en el plano [49, 67]. El ancho y la intensidad de dichas señales está asociada con el espaciamiento interlaminar en la estructura de carbono y el desorden en su apilamiento, por lo que picos de

difracción débiles confirman la presencia de una estructura de carbono amorfa típica de los carbones vítreos [68, 69].

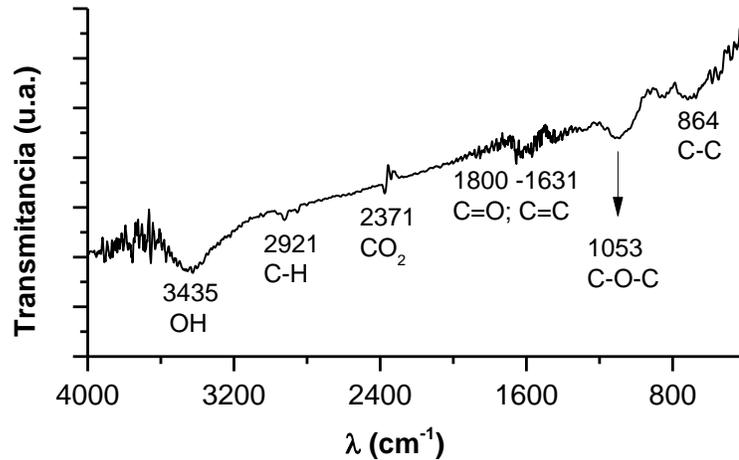
Figura 9. DRX típico de las espumas CVR sintetizadas. Temperatura de sinterización: 900°C



Espectroscopia infrarroja

El análisis del espectro infrarrojo de las espumas CVR (Figura 10) muestra señales correspondientes a vibraciones de estiramiento de los grupos C–H, C–O–C, C–C, C=C y C=O [39], que son típicas de la estructura del carbón vítreo, la cual está constituida por fragmentos de láminas de carbono curvadas tridimensionalmente, en las que se encuentran grupos pentenos y heptenos distribuidos aleatoriamente en la estructura hexagonal de dichas laminas gráficas, lo que le otorgan su carácter amorfo [68]. En comparación con las resinas precursoras de carbono, las señales de las espumas CVR sintetizadas presentan baja intensidad y alto ruido debido a la disminución de los enlaces C–H y C–O debido a su rompimiento a altas temperaturas producto de los procesos de deshidratación que ocurren durante la carbonización [39].

Figura 10. FT-IR de las espumas CVR sintetizadas. Temperatura de sinterización: 900°C



Análisis termogravimétrico

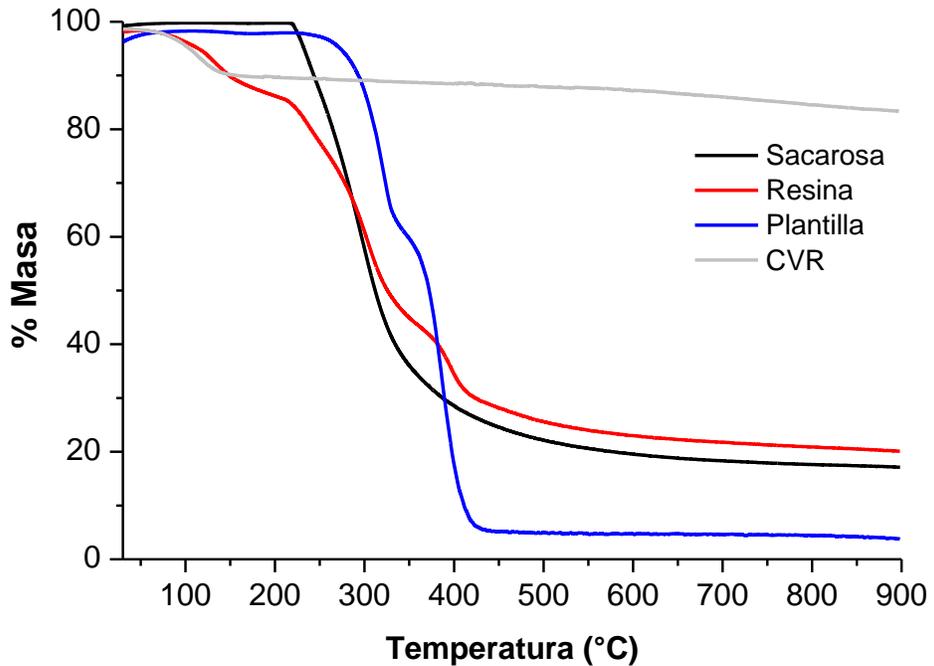
Los estudios de termogravimetría que se muestran en la Figura 11 se realizaron para la resina, la plantilla (o esponja polimérica) de sacrificio, la sacarosa sólida y la espuma CVR carbonizada a 900°C.

Con respecto a la resina, se observan tres zonas de pérdida de peso: la primera, entre 100 y 170 °C, cuyos cambios de masa reflejan pérdidas por evaporación del disolvente (agua); mientras que la segunda (entre 170 y 350 °C), y tercera zona (entre 350 y 420 °C) corresponden a la generación de productos de reacción gaseosos tales como H₂O, CO, NO, O₂, CO₂ y NO₂ durante la polimerización y condensación de la resina [69], la cual alcanza un rendimiento del 20,3%, que corresponde a un 47,6% del rendimiento teórico de carbono en la sacarosa [69, 70]. Este rendimiento se encuentra dentro de los valores normales reportados para carbones a partir de sacarosa [39], sin embargo diferentes estudios muestran que la adición de agentes como ácido bórico [39], polvo de carbón [71] o compuestos de poliacrilamida [70] mejoran el rendimiento de la sacarosa como precursor de carbono, alcanzando valores incluso por encima del 90% del rendimiento teórico.

El termograma de la plantilla de celulosa de sacrificio permitió establecer que su aporte de carbono es mínimo (alrededor del 3%). Dado que la celulosa sufre procesos de polimerización similares a los que ocurren con la sacarosa por ser de la misma naturaleza, se puede apreciar que sus zonas de pérdida corresponden a las mismas zonas de degradación de la resina basada en sacarosa. Esta similitud es importante ya que permite que el CVR residual de la esponja de sacrificio se integre perfectamente con el generado a partir de la resina precursora, evitando así la formación de defectos estructurales como vacíos o grietas en el material, los cuales se han reportado previamente en procesos de fabricación de espumas cerámicas por el método de réplica sobre esponja polimérica [54, 72].

Por otra parte, el análisis térmico de la sacarosa sólida muestra una única zona de pérdida de peso, comprendida entre 215 y 420 °C, que corresponde de igual manera a procesos de polimerización y condensación [73]. No obstante, los resultados muestran que, a pesar de no tener adición de solvente (agua), el rendimiento de la sacarosa es aproximadamente 3% menor que el rendimiento de la resina, lo que confirma la importancia de los procesos de polimerización y entrecruzamiento (reticulación) que se llevan a cabo durante la preparación de la resina. Por su parte, el comportamiento térmico de la espuma CVR en atmósfera inerte es el típico de los materiales carbonosos a partir de los 150°C [74–76], el cual se caracteriza por una pérdida de masa paulatina debido principalmente a la eliminación de H, N y O. Sin embargo, entre 70 y 150°C se observó el mayor cambio de masa, que puede deberse a la humedad adquirida por la muestra. En general, la curva TGA característica del carbón vítreo muestra una pérdida de peso de alrededor de 17%, la cual se encuentra dentro de los rangos reportados en la literatura (5 a 30%) [74–76]. Esto confirma que las espumas fabricadas son térmicamente estables en una atmósfera inerte como el nitrógeno.

Figura 11. Comportamiento termogravimétrico de: sacarosa sólida, resina de sacarosa, esponja de celulosa (plantilla de sacrificio) y espuma CVR sintetizada a 900°C



Con base en los resultados de los estudios preliminares, se seleccionaron dos resinas para trabajar en etapas posteriores: i) la resina de 4 h debido a la morfología definida (sin protuberancias) de las espumas CVR producidas a partir de ésta (Figura 8), y ii) la resina de 11 h, dado que su viscosidad ofrecía una consistencia apropiada para impregnación, y de acuerdo a la Figura 7, se podría esperar que al igual que las resinas de 10 y 12 h, la resina de 11 h también presentara reacciones de polimerización.

4.2 FABRICACIÓN DE ESPUMAS CVR: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y MECÁNICAS

4.2.1 Efecto de la concentración del catalizador. Con el fin de establecer el efecto del HNO_3 , catalizador de la hidrólisis de la sacarosa, sobre las propiedades de las espumas CVR resultantes, se fabricaron espumas a partir de resinas de 0,4 g/mL de sacarosa con diferentes relaciones molares de HNO_3 : sacarosa, así: 0:1, 1:16 y 1:1. Estos valores se seleccionaron teniendo en cuenta las concentraciones de ácido reportadas en la literatura [40, 77] y considerando que durante los estudios preliminares la concentración utilizada de ácido (1:1) generó deformaciones en las espumas obtenidas (protuberancias). Estas soluciones fueron calentadas a 90 °C por 4 y 11 h para producir las resinas precursoras de las espumas CVR.

Al comparar los espectros FT-IR obtenidos para las resinas de 4 h (Figura 12), se observa que para la resina sin adición de HNO_3 , el espectro muestra los picos característicos de las soluciones de sacarosa pura en 995, 1060 y 1136 cm^{-1} . Estos corresponden a enlaces C-O-H y C-O exocíclicos y endocíclicos [60], y a su vez indican que, en ausencia de ácido, el proceso de calentamiento no altera la identidad química de la sacarosa. En contraste con este resultado, las resinas preparadas con HNO_3 revelaron procesos de hidrólisis de la sacarosa, lo cual es evidenciado por el solapamiento de los picos entre 1136 y 995 cm^{-1} , los cuales dan lugar a una sola banda centrada alrededor de 1060 cm^{-1} , producto de la combinación de especies (sacarosa, fructosa y glucosa) en la resina [62].

Por otra parte, la Figura 13 muestra los espectros FT-IR para las resinas de 11 h. Como se puede notar, los picos a 1638 y 2088 cm^{-1} correspondientes a la humedad de la muestra [62], disminuyen sustancialmente en las resinas preparadas con ácido, para las cuales aparece una señal adicional a 1737 cm^{-1}

característica de los estiramientos C=O de grupos funcionales ésteres, aldehídos y cetonas [78], lo que demuestra la obtención de productos de oxidación de la glucosa y la fructosa. Este resultado indica que altas concentraciones de HNO₃ cataliza los procesos de reticulación de la resina [64].

Figura 12. Espectros FT-IR de resinas de 4 h de preparación con diferente relación molar ácido: sacarosa

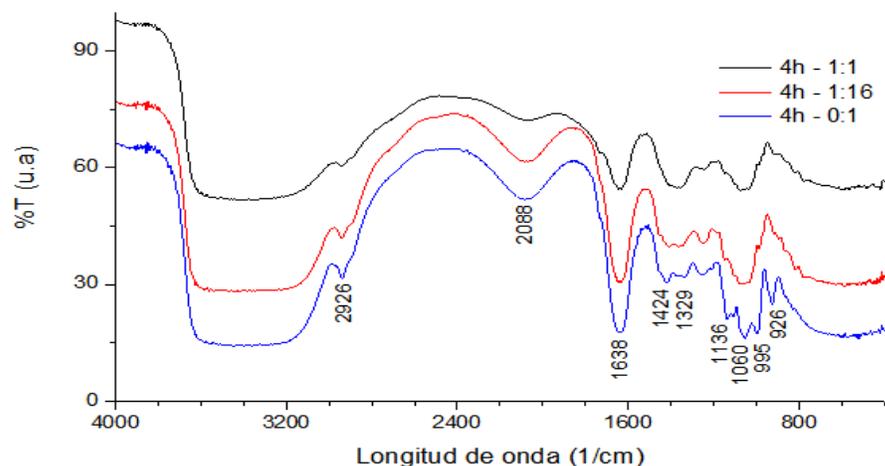
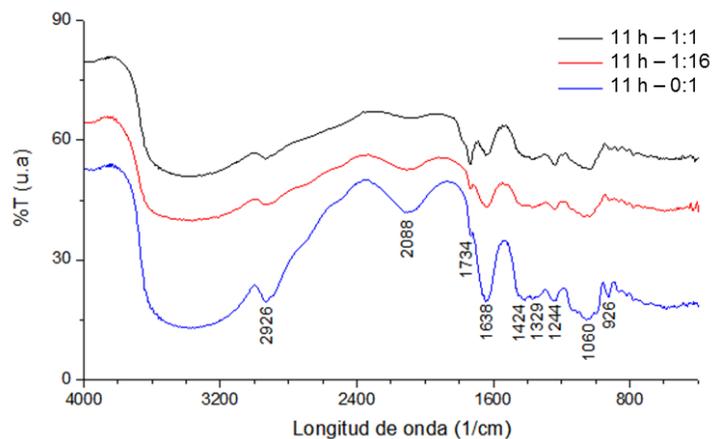
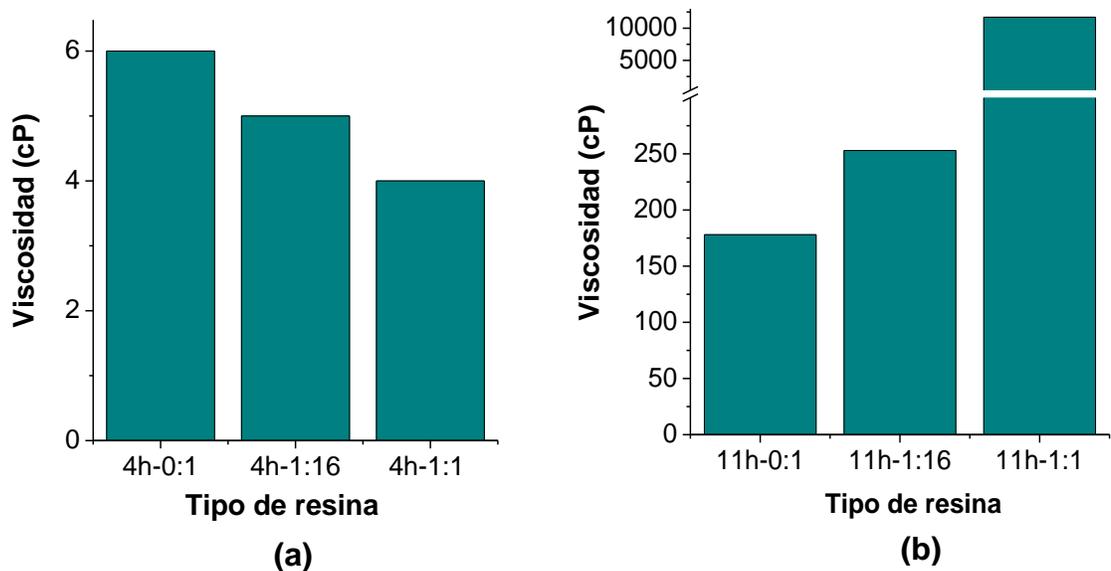


Figura 13. Espectros FT-IR de resinas de 11 h de preparación con diferente relación molar ácido: sacarosa



Los resultados obtenidos por FT-IR, están en concordancia con las medidas de viscosidad de las resinas preparadas. La Figura 14 muestra que, para las resinas de 4 h, la ausencia de formación de especies polimerizantes (ausencia del pico a 1737 cm^{-1}) se traduce en una ausencia de diferencias significativas en la viscosidad de las resinas. En contraste, para las resinas de 11 h es evidente que el aumento de viscosidad con la concentración de ácido se debe al efecto de éste que cataliza la hidrólisis de la glucosa, acelerando los procesos de polimerización de la resina, haciéndola por ende más viscosa.

Figura 14. Efecto de la concentración del ácido sobre la viscosidad de las resinas con tiempos de preparación de (a) 4 h y (b) 11 h

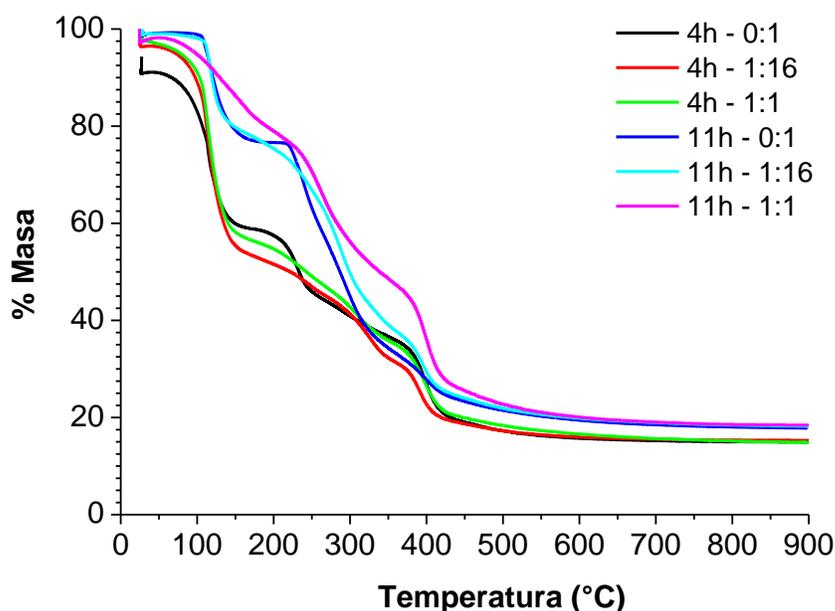


Con el objetivo de obtener información respecto a los procesos ocurridos durante el tratamiento térmico de las diferentes resinas precursoras de carbón, se realizaron análisis TGA utilizando las mismas condiciones térmicas para la fabricación de espumas CVR a partir de esponjas de sacrificio impregnadas con las resinas precursoras, es decir, atmósfera inerte de N_2 , curado a 250 °C por 1 h

seguido de carbonización a 900 °C por 1 h. De acuerdo con los termogramas presentados en la Figura 15, los rendimientos en términos máxicos de las resinas de 4h y 11h fueron del 15 % y 18 %, respectivamente, independientemente de la presencia del ácido.

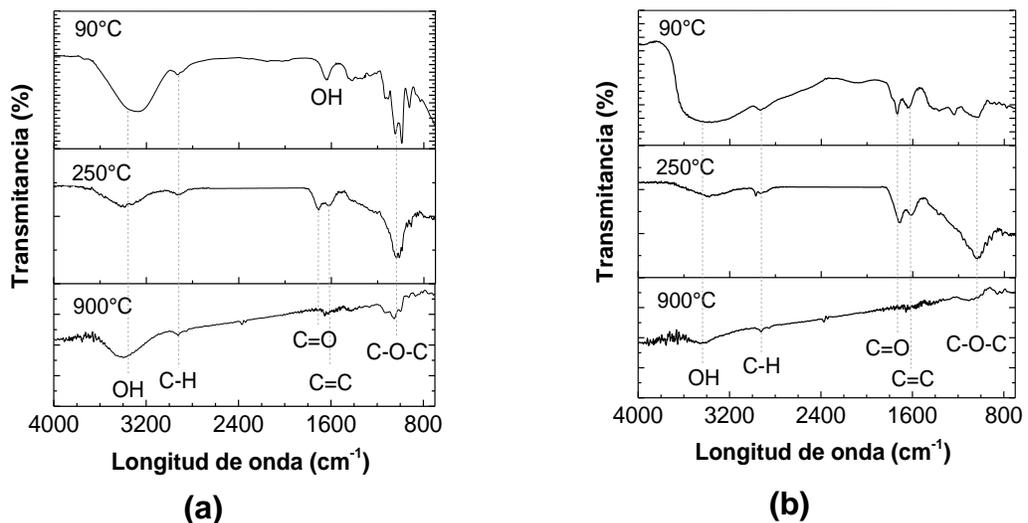
El comportamiento observado en los termogramas es similar al expuesto en el numeral 0 donde se identifican tres zonas de pérdida de peso entre 100 - 170°C, 170 - 350°C y 350 - 420°C correspondientes a la evaporación del solvente, a la generación de productos de polimerización y a los procesos de condensación de las huminas formadas (reticulación de la resina) [69]. De acuerdo con los estudios reportados por Janna *et al* [69], quienes analizaron resinas de sacarosa + HNO₃ por medio de TGA y espectroscopía de masas, los productos de reacción generados en la segunda y tercera zona del termograma corresponden a H₂O, CO, NO, O₂, CO₂ y NO₂ [69].

Figura 15. Termogramas de las resinas preparadas con diferentes concentraciones de ácido.



Los análisis FT-IR previamente mostrados en las Figuras 12 y 13 (resinas preparadas a 90 °C), mostraron que la adición de ácido resultó en la catálisis de procesos de hidrólisis y oxidación de la sacarosa, fenómeno que no fue observado en las resinas preparadas en la ausencia de HNO₃. Sin embargo, la comparación de los espectros FT-IR de las resinas preparadas a 90 °C y sometidas a procesos de curado (250 °C) y carbonización (900 °C) que se presentan en la Figura 16 evidencian que, a pesar de la ausencia de ácido, el curado de la resina favorece igualmente la hidrólisis de la sacarosa debido a la presencia de iones H⁺ y OH⁻ que se generan con el aumento de temperatura (de 90 a 250 °C) [73, 78]. Además, La disminución en el pico correspondiente a las vibraciones C-O (1019 cm⁻¹), y la aparición de señales alrededor de 1656 y 1711 cm⁻¹, las cuales se atribuyen a la formación de enlaces C=C y C=O, típicos de anillos aromáticos y grupos carbonilos y/o carboxilos, respectivamente, permite establecer que en ausencia de ácido de igual manera se pueden producir procesos de polimerización durante el curado [79].

Figura 16. Espectros FT-IR para resinas de 11 h de preparación con relación molar ácido: sacarosa de: (a) 0:1 y (b) 1:1 y sus productos obtenidos a diferentes temperaturas



Con base en estos resultados y la literatura disponible [63, 78, 79], se pudo establecer que el mecanismo de reacción de la sacarosa ocurre inicialmente a través de su descomposición en sus correspondientes monosacáridos (glucosa y fructosa), en los cuales posteriormente ocurren procesos de fragmentación y/o deshidratación generando diversos compuestos como hidroximetilfurfural, ácidos carboxílicos y aldehídos. Durante el tratamiento térmico, los nuevos compuestos generan reacciones de polimerización, vía deshidratación intermolecular o condensación aldólica, y dan lugar a compuestos carbonados de alto peso molecular conocidos como huminas (ver Figura 17), las cuales durante el proceso de carbonización (de 250 a 900 °C) siguen presentando reacciones de deshidratación hasta convertirse en carbón vítreo [78], cuyo espectro se caracteriza por señales de baja intensidad en las bandas correspondientes a los grupos hidroxilo o carboxilo ($3000-3700$ y $1000-1450$ cm^{-1}), y la aparición de señales entre 1800 y 1631 cm^{-1} , que corresponden a grupos C=O, C=C que conforman la estructura carbonácea [78].

Una vez caracterizadas las resinas precursoras, se procedió a impregnar las esponjas de sacrificio, seguido por curado a 250 °C por 1 h y posterior carbonización a 900 °C en atmósfera inerte (ver Figura 1). En la Figura 18 se puede observar que las espumas CVR fabricadas a partir de resinas de 4 h presentaron una estructura homogénea, al igual que las espumas obtenidas con la resina de 11 h sin ácido. Sin embargo, las espumas CVR producidas con las resinas de 11 h en presencia de ácido presentaron deformaciones (protuberancias, poros) que parecieron aumentar en frecuencia con la concentración de HNO_3 utilizado en la resina.

Figura 17. Modelo de reacciones de polimerización de la sacarosa. R corresponde a grupos alquilo, vinil, ciclo alquilo ó arilos. Modelo de la estructura molecular de una humina derivada de la sacarosa de acuerdo a los enlaces determinados por FT-IR

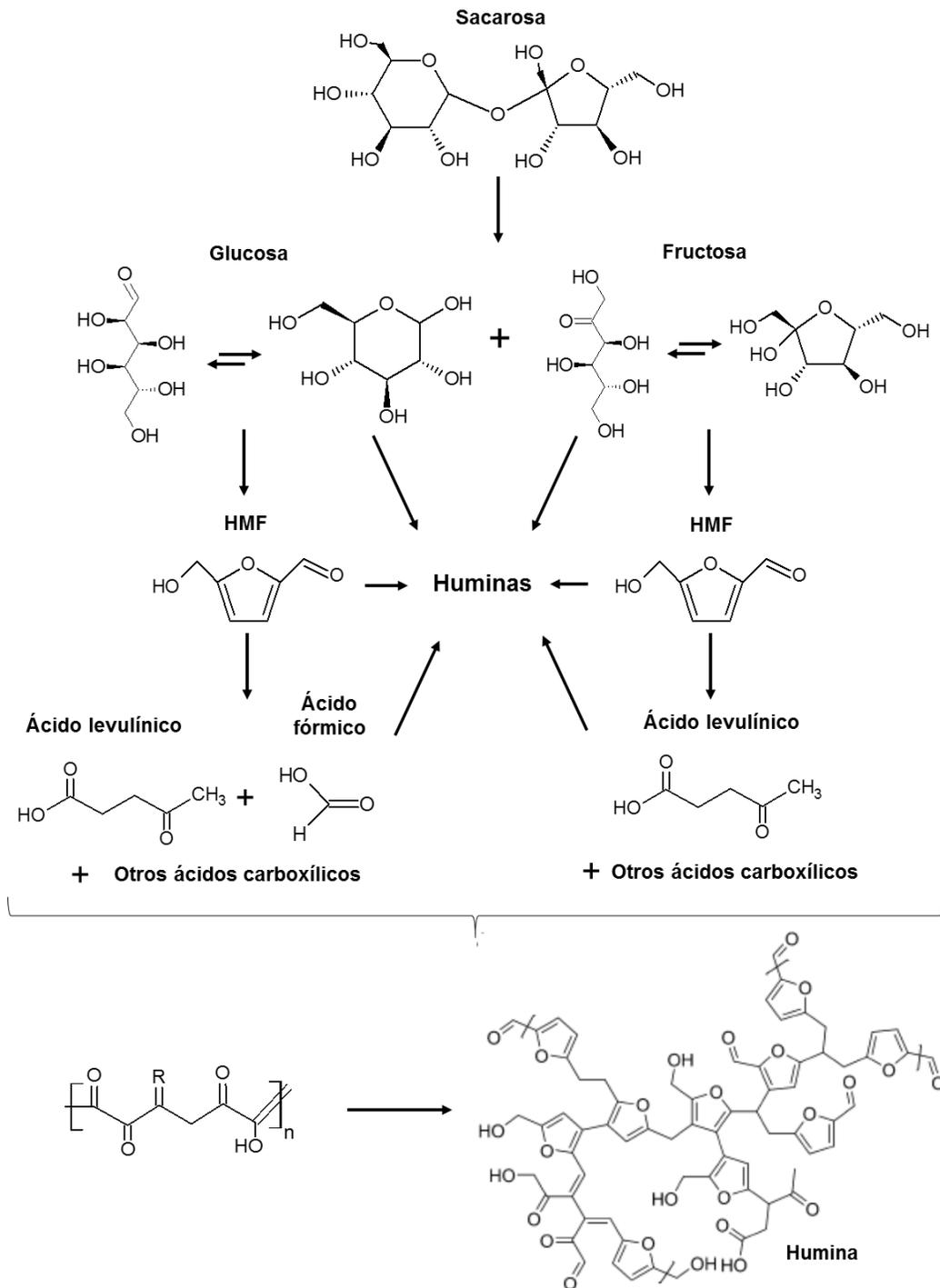
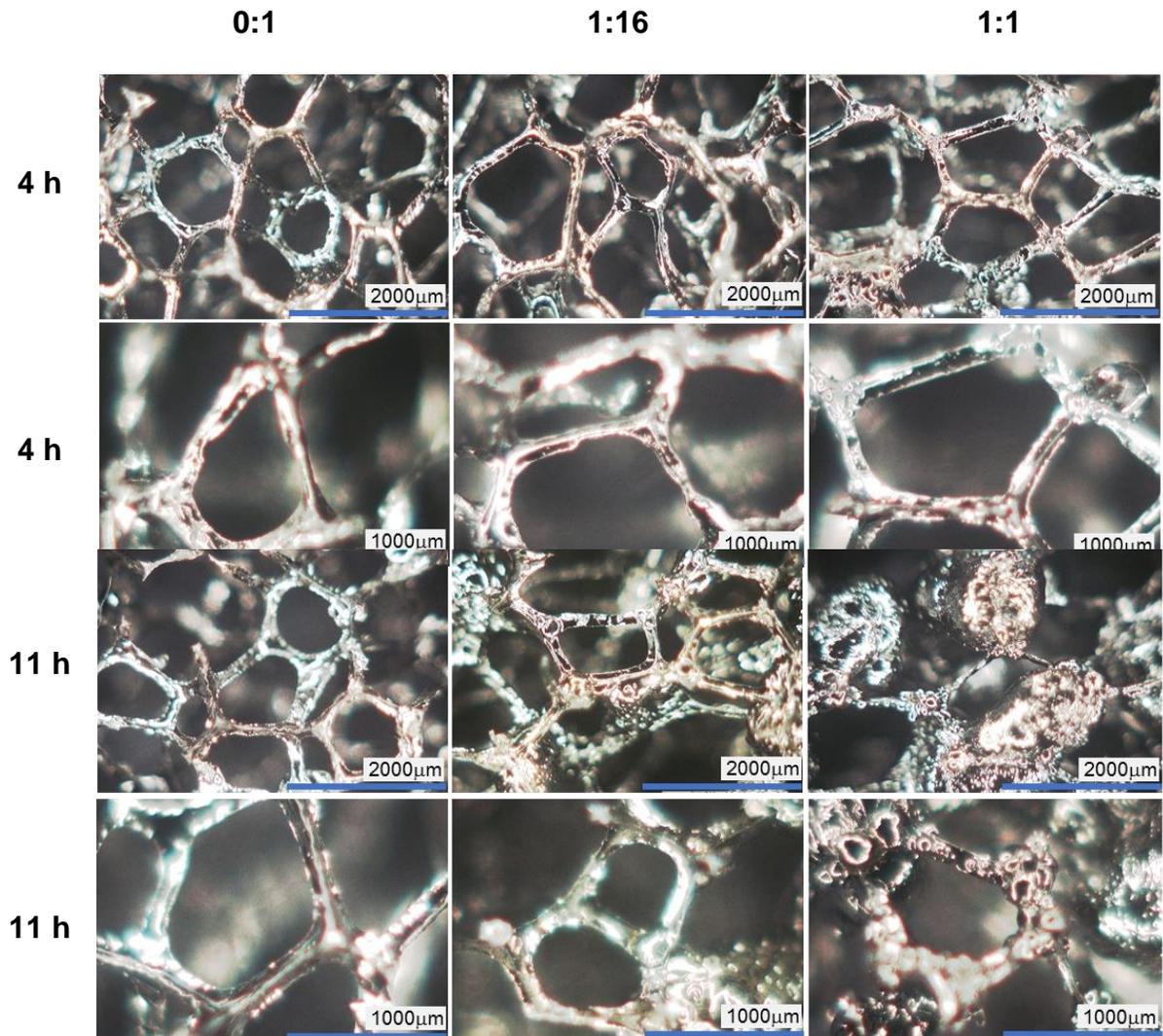


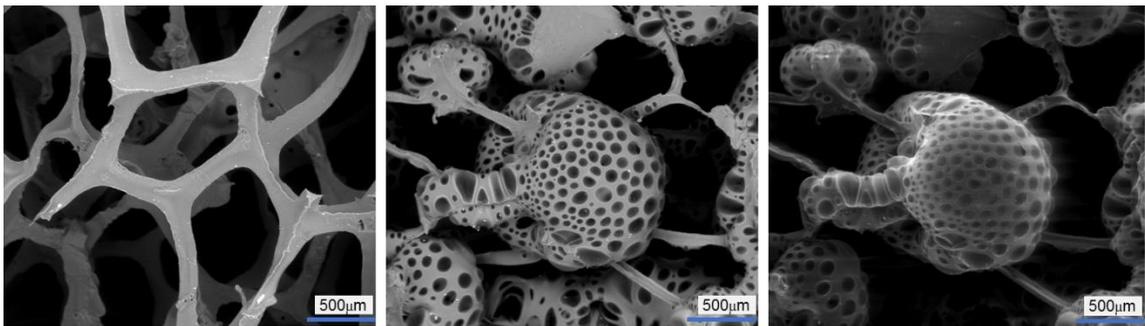
Figura 18. Efecto de la concentración de ácido sobre la morfología de las espumas CVR con resinas de 4 h y 11 h de preparación. Magnificación: 70X y 140X. Relación molar HNO₃:sacarosa 0:1, 1:16 y 1:1 (de izquierda a derecha)



En la Figura 19 se presentan las imágenes MEB de espumas CVR elaboradas a partir de resinas de 11 h de preparación, con relación HNO₃:sacarosa 0:1 y 1:1, en estas se muestra claramente que los defectos mencionados correspondieron a poros cerrados que alcanzaron diámetros de hasta 300 µm, lo cual compromete no sólo la morfología de la espuma CVR, sino también sus propiedades

mecánicas. Cabe resaltar que no se halló evidencia de grietas en las espumas, lo cual reflejó que, aunque hubo formación de poros debido a la volatilización de material durante la carbonización, el tratamiento térmico aplicado (curado a 250 °C seguido por carbonización a 900 °C) evitó la formación de grietas durante la carbonización [71].

Figura 19. Micrografías MEB de espumas CVR a partir de resinas de 11 h de preparación con relación HNO₃:sacarosa (a) 0:1, (b) 1:1 con electrones retrodispersados y (c) 1:1 con electrones secundarios

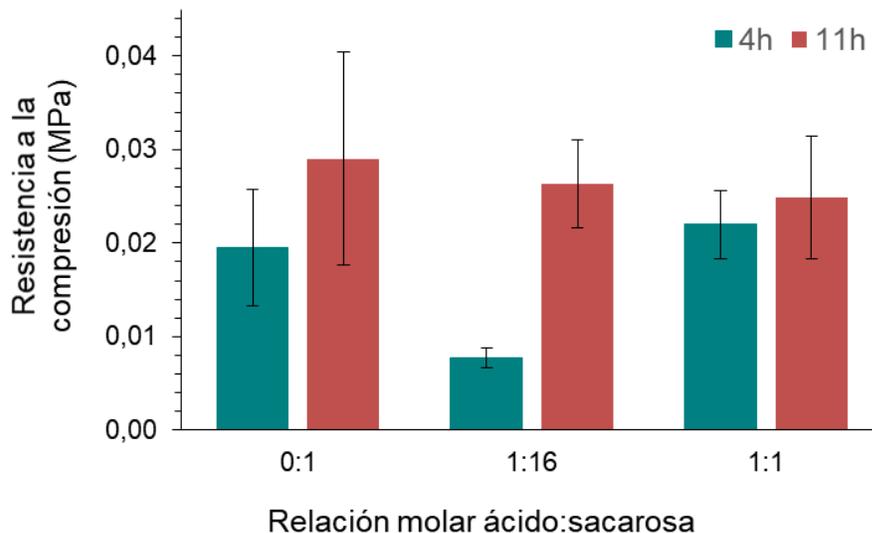


En cuanto a las propiedades mecánicas de las espumas CVR sintetizadas, los resultados se presentan en la Figura 20 y Tabla 2, se observó de manera general que, a mayor tiempo de calentamiento de la resina precursora (11 h versus 4 h), mayor fue la resistencia a la compresión de las espumas resultantes. Esto puede explicarse por el hecho de que en las resinas de 11 h ya han avanzado las reacciones de **(a)** polimerización (Figura 13), **(b)** lo cual conllevó a un mayor **(c)** rendimiento de carbono (Figura 15), por ende, resultaron en espumas CVR más densas y de ligamentos de celda más anchos (Tabla 2). Por otra parte, dado que el diámetro de celda es aproximadamente homogéneo (alrededor de 1 mm, Tabla 2) para todas las espumas, no se puede concluir nada respecto al efecto de este parámetro en la resistencia mecánica de las espumas. Sin embargo, estudios

previos realizados en espumas CVR comerciales [44] y sintetizadas a partir de diferentes precursores [40, 80, 81], reportan una fuerte dependencia de la resistencia mecánica con el tamaño de la celda y el espesor del ligamento.

Otros trabajos han reportado que las propiedades mecánicas de las espumas CVR se ven afectadas también por la orientación de los poros y la anisotropía del material [20]. Esto debido al hecho de que, para los materiales frágiles, la fractura se inicia por falta de homogeneidad y defectos, y por lo tanto los ligamentos largos tienen más probabilidades de romperse que los más cortos cuando se comprimen bajo las mismas condiciones [82], de modo que un mayor diámetro de celda y/o un menor espesor de ligamento tienden a ocasionar una reducción en la resistencia a la compresión de las espumas CVR.

Figura 20. Efecto de la concentración de ácido sobre las propiedades mecánicas de las espumas CVR



Finalmente, en la Tabla 2 se puede observar que la porosidad de todas las espumas CVR sintetizadas se mantuvo por encima del 90 %, con una ligera tendencia decreciente a medida que se aumentó la concentración de HNO₃ en la resina, efecto tal vez causado por las obstrucciones (protuberancias) previamente observadas en resinas con contenido de ácido.

De acuerdo con el test estadístico de Weibull, el módulo de Weibull (m_w) de un material proporciona una medida estadística del rango de esfuerzos que este soporta. Un mayor valor del módulo representa un menor intervalo de esfuerzos para los cuales existe una probabilidad de fractura [83], lo que indica mayor confiabilidad del material. Como se observa en la Tabla 2, los módulos de Weibull hallados se encuentran dentro de los valores comúnmente reportados en la literatura (entre 3 y 6) para espumas CVR [82]. Por otra parte, el análisis de Kruskal-Wallis realizado indicó la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en términos de resistencia a la compresión de las diferentes espumas CVR sintetizadas. Sin embargo, con base en las tendencias observadas, se decidió trabajar en etapas posteriores con resinas preparadas en ausencia de catalizador (HNO₃), o con una concentración muy baja del mismo, para evitar las distorsiones morfológicas en la espuma, también se consideró extender el tiempo de calentamiento (a 90 °C) de la resina precursora a 16 h para la siguiente etapa de la investigación con el fin de aumentar el contenido de carbono en la resina.

Tabla 2. Propiedades mecánicas de espumas CVR (n=10) y morfológicas (n=30) obtenidas con diferentes concentraciones de ácido en la resina precursora

Tipo de resina	Relación HNO ₃ : sacarosa	Resistencia a la compresión (MPa)	m_w	Espesor del ligamento (μm)	Diámetro de celda (μm)	% Porosidad
4 h	0:1	0,0193 \pm 0,006	3,5	131 \pm 23	1027 \pm 597	97,1 \pm 0,8

Tipo de resina	Relación HNO ₃ : sacarosa	Resistencia a la compresión (MPa)	m _w	Espesor del ligamento (μm)	Diámetro de celda (μm)	% Porosidad
	1:16	0,0078 ± 0,001	8,8	125 ± 35	992 ± 394	95,9 ± 1,8
	1:1	0,0224 ± 0,004	7,1	138 ± 28	1162 ± 497	95,9 ± 0,3
11 h	0:1	0,0289 ± 0,011	2,8	143 ± 24	1056 ± 450	94,1 ± 1,0
	1:16	0,0264 ± 0,005	6,5	140 ± 24	1177 ± 683	92,7 ± 1,9
	1:1	0,0249 ± 0,007	4,3	110 ± 22	1082 ± 401	91,0 ± 2,6

4.2.2 Efecto de la concentración de sacarosa. Para el estudio de esta variable, se prepararon soluciones de sacarosa de 0,2, 0,4 y 0,8 g/mL con concentraciones de ácido 0 y 2×10^{-4} N, las cuales fueron sometidas a calentamiento a 90° por 16 h para producir las resinas a estudiar.

En primer lugar, se debe mencionar que la solución de 0,2 g/mL de sacarosa en ausencia de ácido exhibió una rápida evaporación del solvente, lo cual resultó en la precipitación de la sacarosa después de 16 h, por ende, no fue posible obtener una resina a partir de dicha solución. Con las restantes soluciones se obtuvieron resinas aptas para la fabricación de espumas CVR, las cuales se caracterizaron física y mecánicamente.

En la Figura 21 se presentan las imágenes de las espumas CVR obtenidas con los dos niveles de ácido (0 y 2×10^{-4} N) y los tres de concentración de sacarosa (0,2, 0,4 y 0,8 g/mL). Se observa que todas las espumas CVR presentaron una morfología homogénea sin signos de espumado, lo cual sí fue claramente evidenciado en las espumas CVR obtenidas a partir de resinas con alto contenido de ácido (ver Figura 19 (b y c)).

Por su parte, las características físicas y mecánicas presentadas en la Tabla 3 y Figura 22 indican que el aumento de la concentración de sacarosa (en el rango estudiado) tiende a disminuir la resistencia mecánica de la espuma CVR. Esto podría relacionarse con las propiedades coligativas de las soluciones, en el sentido de que el aumento en la concentración de sacarosa hace que disminuya la presión de vapor de la solución, lo cual hace que el agua se evapore lentamente, por lo que, tras el periodo de calentamiento aplicado, las resinas con menor concentración inicial, alcanzan una mayor concentración del precursor [84].

Figura 21. Efecto de la concentración de sacarosa sobre la morfología de las espumas CVR con resinas (a) Sin adición de HNO_3 y (b) Con soluciones de HNO_3 $2 \cdot 10^{-4}$ N. Magnificación: 140X. Concentración de sacarosa 0,2 g/mL, 0,4 g/mL y 0,8 g/mL de izquierda a derecha

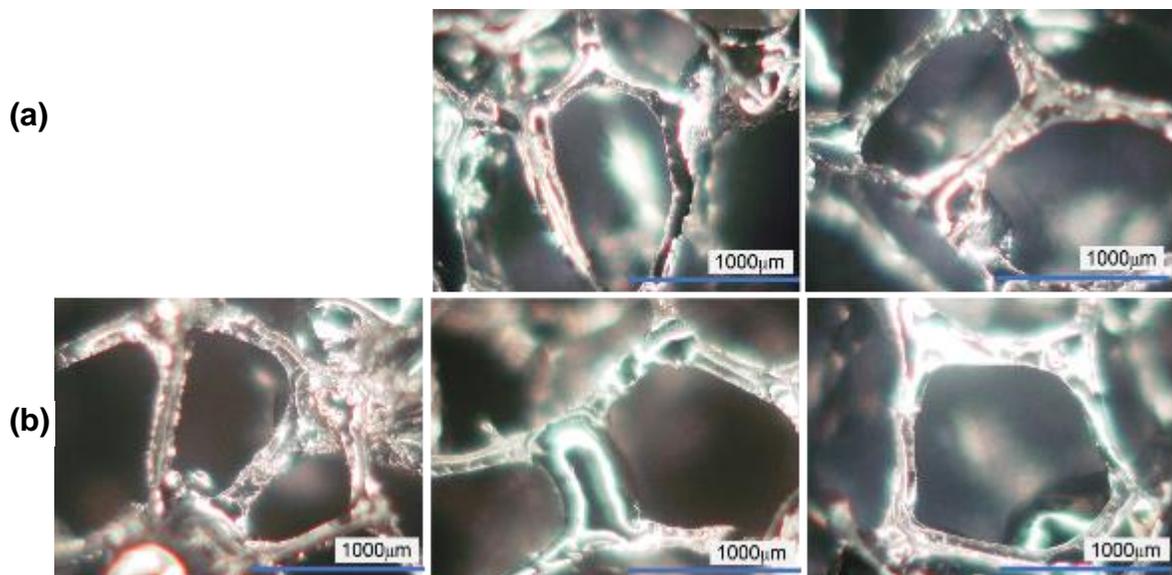
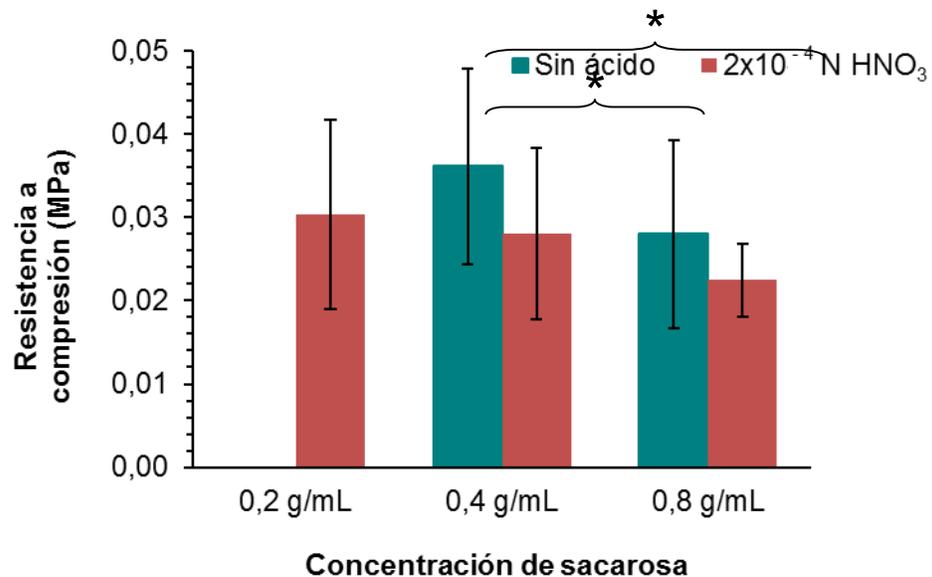


Tabla 3. Propiedades mecánicas (n=10) y morfológicas (n=30) de espumas CVR obtenidas con diferentes concentraciones de sacarosa y bajas concentraciones de ácido

Concentración de sacarosa (g/mL)	Concentración de HNO ₃	Resistencia a la compresión (MPa)	m _w	Espesor de ligamento (μm)	Diámetro de celda (μm)
0,4	0 N	0,0359 ± 0,012	3,6	134 ± 38	1190 ± 460
0,8		0,0279 ± 0,011	3,0	141 ± 38	1084 ± 440
0,2	2x10 ⁻⁴ N	0,0292 ± 0,011	3,2	148 ± 32	1055 ± 476
0,4		0,0278 ± 0,010	3,3	139 ± 20	1135 ± 289
0,8		0,0225 ± 0,004	5,8	158 ± 52	1176 ± 419

Figura 22. Efecto de la concentración de sacarosa sobre las propiedades mecánicas de las espumas CVR

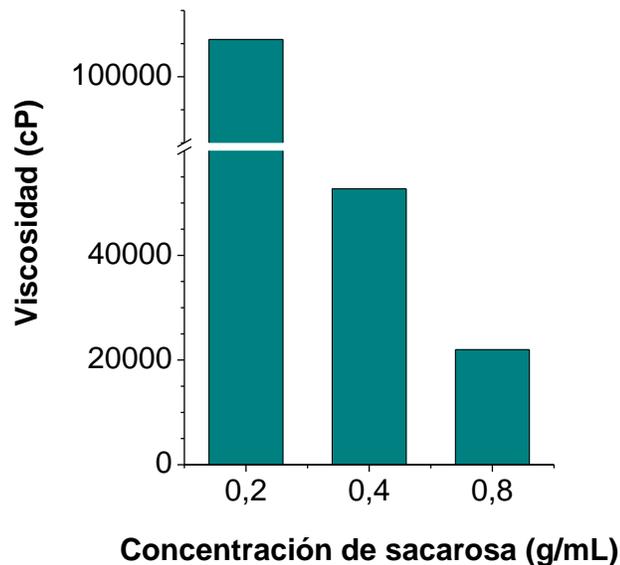


* Diferencias significativas (Kruskal-Wallis).

En coherencia con lo anterior, las medidas de viscosidad de las soluciones preparadas con concentración de ácido de 2×10^{-4} N, las cuales se muestran en la Figura 23, muestran que la viscosidad de las resinas disminuye proporcionalmente con el aumento en la concentración de sacarosa, lo que confirma la ocurrencia de procesos de evaporación del disolvente mayores en las resinas con menor concentración de sacarosa.

Estos resultados reafirmaron la conclusión previa con respecto a los niveles adecuados de sacarosa en la solución inicial, y se definió entonces que 0,4 g/mL era apropiado. Por otra parte, la Tabla 3 muestra que el diámetro promedio de celda y el espesor de ligamento fueron similares para todas las espumas CVR sintetizadas, lo que indica que estas características físicas de las espumas dependen principalmente de las esponjas de sacrificio.

Figura 23. Efecto de la concentración de sacarosa en la viscosidad de las resinas preparadas con 2×10^{-4} N de ácido



Hasta este punto de la investigación, y teniendo en cuenta las diferencias significativas encontradas en cuanto a la resistencia mecánica de las espumas sintetizadas, se concluye que las espumas con mayor resistencia ($0,0359 \pm 0,012$ MPa) y adecuada morfología se obtienen con una solución de sacarosa con concentración de 0,4 g/mL y sin adición de ácido. No obstante, la resistencia a la compresión alcanzada es muy inferior a la de las espumas comerciales ($0,106 \pm 0,017$ MPa).

Teniendo en cuenta lo anterior, surgió la inquietud de prolongar el tiempo de preparación de la resina de 0,4 g/mL de sacarosa obtenida con adición de catalizador en baja concentración, es decir, 2×10^{-4} N HNO_3 más allá de 16 h, con el fin de favorecer el avance de la polimerización de la resina y, por tanto, mejorar su rendimiento. Se probaron entonces tiempos de preparación de 24 y 48 h, pero tal como se puede observar en los espectros FT-IR de la Figura 24, no se notaron indicios de dicha polimerización, es decir, no se identifica el pico ubicado a 1716 cm^{-1} , indicador de la generación de procesos de reticulación en las resinas [64]. Tales resultados dejan en evidencia la necesidad de aumentar la concentración del ácido catalizador para acelerar las reacciones de polimerización. En este orden de ideas, se incrementó en un orden de magnitud la concentración del ácido, de 2×10^{-4} a 2×10^{-3} N, y se evaluó nuevamente el efecto del aumento del tiempo de preparación de la resina a 90°C . Los análisis de infrarrojo de las resinas así obtenidas se muestran en la Figura 25. Tal como se puede apreciar, la resina de 48 h exhibió un pico alrededor de 1716 cm^{-1} , el cual se relaciona con el inicio de la reticulación de la resina de sacarosa [61]. A pesar de tal resultado, la resina preparada durante 48 h, presenta la limitación de ser muy viscosa, lo cual imposibilitaba su uso en la impregnación de la esponja de sacrificio.

Figura 24. Espectros FT-IR de resinas preparadas a diferentes tiempos y con concentración de catalizador 2×10^{-4} N

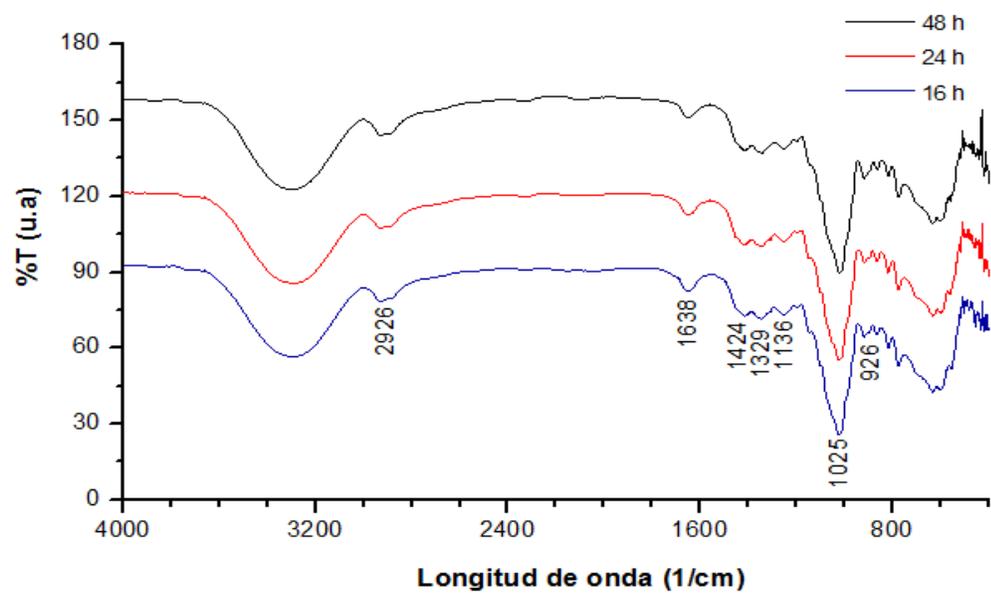
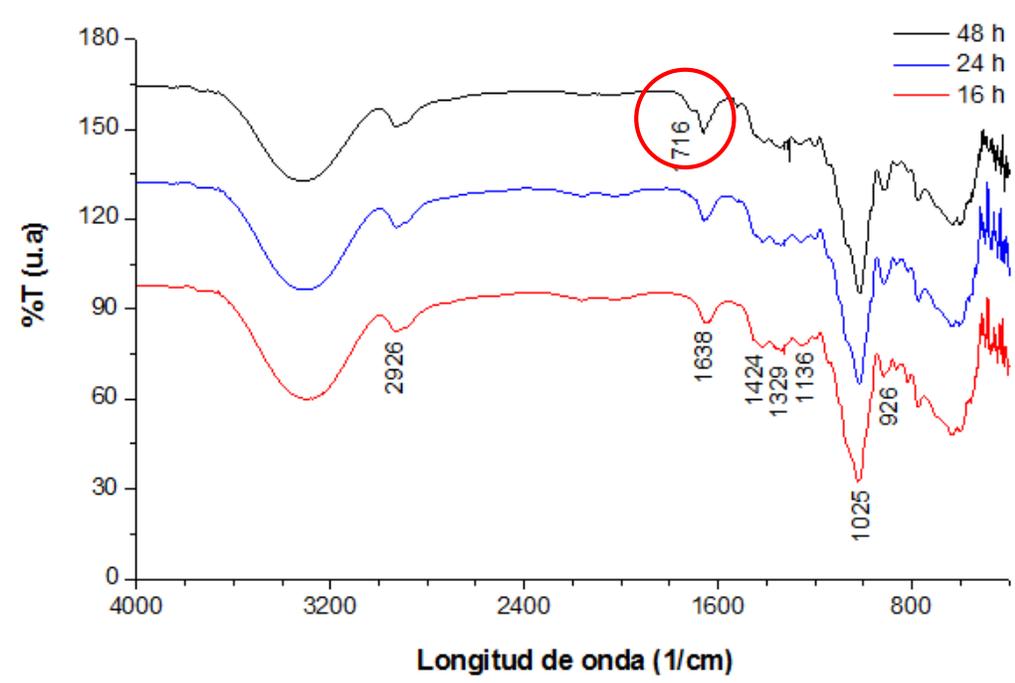


Figura 25. Espectros FT-IR de resinas preparadas a diferentes tiempos y concentración de catalizador 2×10^{-3} N

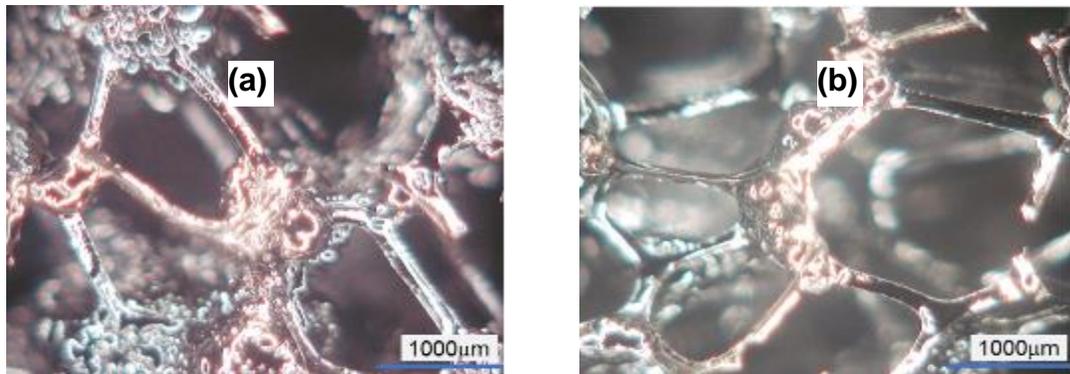


Para solucionar este problema, se propuso entonces diluir ligeramente la resina con agua destilada, inmediatamente antes de proceder con la impregnación. Se realizaron ensayos con adición de 1, 2 y 3 mL de agua destilada por cada 15 mL de resina. Se observó que la dilución de 15 mL de resina con 1 mL de agua no fue suficiente para alcanzar una resina con textura adecuada para impregnación, mientras que la adición de 2 y 3 mL de agua sí resultó en viscosidades de resina con las que fue posible trabajar y sintetizar espumas CVR. De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 4, estas resinas de 48 h diluidas permitieron la impregnación de esponjas de sacrificio y posterior obtención de espumas CVR con resistencias a la compresión similares a las reportadas para las espumas CVR comerciales ($0,106 \pm 0,017$ MPa para ERG Aerospace Inc.), siendo la resina precursora diluida con 3 mL de agua la que produjo espumas CVR con morfología más uniforme (ver Figura 26). De esta manera, fue posible alcanzar en esta etapa del presente proyecto una contribución importante al estado del arte en la investigación en andamios para regeneración ósea: desarrollar un proceso sencillo, de bajo costo y más amigable ambientalmente para la producción de espumas CVR, con propiedades morfológicas y mecánicas comparables con las de las espumas CVR comerciales. Finalmente, se concluye que la resina precursora con propiedades más favorables para la fabricación de espumas CVR es aquella preparada a partir de una solución de 0,4 g/mL de sacarosa en 2×10^{-3} N HNO_3 calentada a 90 °C por 48 h y posteriormente diluida con 3 mL de agua destilada.

Tabla 4. Resultados obtenidos a partir de resinas diluidas (n=7)

Dilución	Viscosidad de la resina (cP)	Resistencia a la compresión (MPa)	m_w	% Porosidad
2 mL	64316	$0,1107 \pm 0,0408$	3,0	$85,7 \pm 3,6$
3 mL	13695	$0,0588 \pm 0,0153$	4,3	$91,6 \pm 1,2$

Figura 26. Morfología de las espumas CVR obtenidas a partir de resina de 48h y 2×10^{-3} N de HNO_3 diluidas con (a) 2 mL y (b) 3 mL de agua destilada



4.2.3 Efecto del tratamiento térmico. Con el fin de evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre las características morfológicas y mecánicas de la espuma CVR resultante, se analizaron de manera independiente los siguientes aspectos de la etapa de sinterización: rampa de calentamiento, tiempo de sostenimiento, y temperatura máxima de calcinación. En todos los casos se utilizaron resinas precursoras preparadas a partir de soluciones de 0,4 g/mL de sacarosa en 2×10^{-3} N HNO_3 , las cuales fueron calentadas a 90 °C por 48 h y diluidas con 3 mL de agua destilada.

Efecto de la rampa de calentamiento

Una vez impregnadas las esponjas poliméricas de sacrificio con la resina, éstas se curaron durante 1 h a 250°C con una velocidad de calentamiento de 1 °C/min. Las esponjas curadas fueron entonces calcinadas a 900 °C durante 1 h con rampas de 1, 3, 5 y 10 °C/min. La caracterización físico-mecánica de las espumas obtenidas, las cuales se presentan en las Figuras 27 y 28 y la Tabla 5, indican que ni la morfología ni la resistencia a la compresión (analizada a través del test de Kruskal-Wallis) de las espumas fue afectada de manera significativa por los cambios en la velocidad de calentamiento durante la calcinación. Así mismo, los módulos de

Weibull (m_w) hallados describen un comportamiento similar al de los valores reportados en la literatura (entre 3 y 6) para espumas CVR [82].

Figura 27. Efecto de la rampa de calentamiento durante la carbonización sobre la morfología de espumas CVR: 1, 3, 5 y 10 °C/min (de izquierda a derecha). Magnificación: (a) 70X y (b) 140X

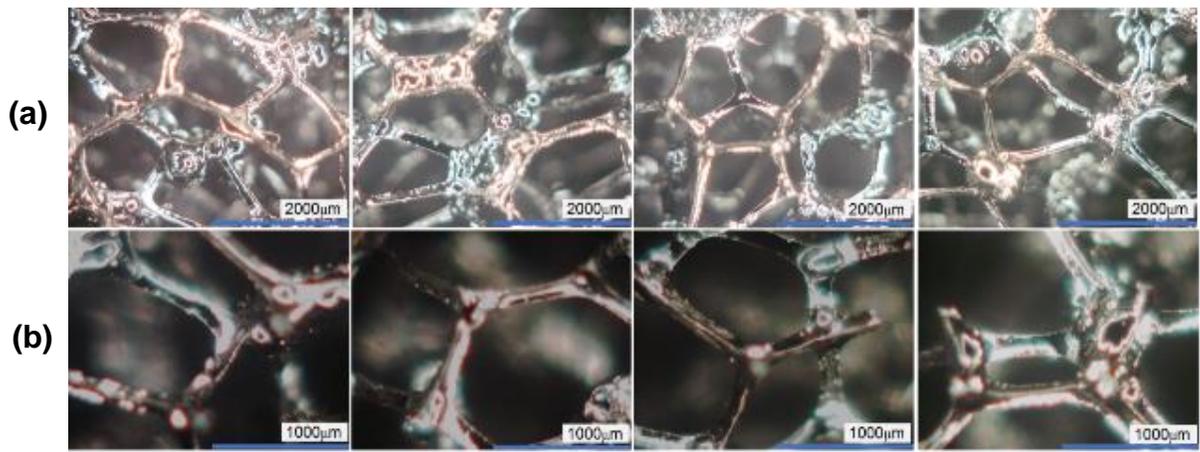


Figura 28. Efecto de la rampa de calentamiento sobre las propiedades mecánicas (n=8) de las espumas CVR

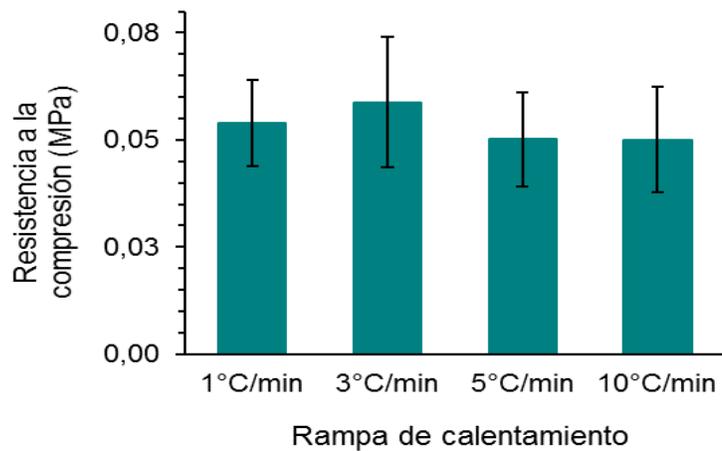


Tabla 5. Propiedades mecánicas (n=8) y morfológicas (n=30) de espumas CVR obtenidas con diferentes velocidades de calentamiento durante la carbonización

Rampa (°C/min)	Resistencia a la compresión (MPa)	m_w	Espesor de ligamento (μm)	Diámetro de celda (μm)
1	$0,0539 \pm 0,0101$	6,2	182 ± 53	1208 ± 440
3	$0,0588 \pm 0,0153$	4,3	183 ± 92	1155 ± 471
5	$0,0501 \pm 0,0110$	5,3	180 ± 70	1047 ± 434
10	$0,0501 \pm 0,0123$	4,6	185 ± 91	1116 ± 463

La fractura de las espumas CVR está fuertemente asociada con los defectos en su estructura, tales como microporos o grietas que surgen durante el tratamiento térmico por la volatilización de materia y la contracción del material calcinado. En general, una velocidad de calentamiento alta resulta en una mayor cantidad y tamaño de las grietas y poros en la superficie de la espuma CVR calcinada, lo cual a su vez implica un detrimento en las propiedades mecánicas del producto final [85], [86]. Sin embargo, los resultados obtenidos en la presente investigación mostraron que la velocidad de calentamiento no influenció las propiedades mecánicas de las espumas CVR sintetizadas. Esto puede explicarse por la existencia de un paso previo a la calcinación: un tratamiento de curado a una tasa constante de 1 °C/min hasta 250°C, el cual permite que los procesos de pérdida de masa más significativos (evaporación del solvente y productos de las reacciones de polimerización, Figura 15) ocurran de manera lenta y controlada a la vez que minimiza la formación de defectos durante la carbonización.

Los defectos superficiales provocados por la difusión de los gases generados durante la carbonización también están asociados al espesor del material. Estudios realizados por Maleki y colaboradores [87] determinaron que el espesor mínimo de láminas de carbón vítreo que puede ser obtenido sin generación de

defectos para rampas de calentamiento entre 2,8 y 0,04 °C/min oscila entre 820 y 3839 μm , respectivamente [87]. De acuerdo con lo anterior, la alta porosidad y el bajo espesor de ligamento de las espumas CVR sintetizadas (~183 μm) favorecen procesos de difusión de los volátiles, lo cual evita la generación de daños en su estructura.

Efecto del tiempo de sostenimiento

Las espumas previamente curadas a 250 °C fueron llevadas a 900 °C usando una rampa de calentamiento de 3 °C/min. Una vez alcanzada esta temperatura de calcinación, se sostuvo durante 1, 3 y 5 h. Similar a los resultados obtenidos en la sección anterior, el tiempo de sostenimiento a 900 °C no pareció influenciar significativamente la morfología y las propiedades mecánicas de las espumas CVR sintetizadas (ver Tabla 6 y figuras 29 y 30).

De acuerdo a la literatura, los tiempos de sostenimiento utilizados previamente en la fabricación de carbones vítreos porosos varían entre 1 y 3 h [35, 71, 74, 88, 89], los cuales parecen estar asociados al tamaño de las muestras a calcinar y al tipo de precursor. Considerando la alta porosidad (~90%) y el pequeño tamaño de las muestras usadas en el presente trabajo (1,5 cm x 1,5 cm x 2,0 cm) se podría esperar entonces que un tiempo corto de sostenimiento sea suficiente para completar los procesos de conversión y difusión que se llevan a cabo a una temperatura dada. Por esta razón, mayores tiempos de sostenimiento en la calcinación no deberían tener influencia en las propiedades de la espuma CVR resultante.

Tabla 6. Propiedades mecánicas (n=10) y morfológicas (n=30) de las espumas CVR obtenidas con diferentes tiempos de carbonización

Tiempo de sostenimiento	Resistencia a la compresión (MPa)	m_w	Espesor de ligamento (μm)	Diámetro de celda (μm)
1 h	$0,0588 \pm 0,0153$	4,3	183 ± 92	1155 ± 471
3 h	$0,0463 \pm 0,0087$	6,2	182 ± 62	1142 ± 489
5 h	$0,0567 \pm 0,0171$	3,7	179 ± 58	1115 ± 386

Figura 29. Efecto del tiempo de sostenimiento de carbonización sobre la morfología de las CVR (a) 1 h (b) 3 h y (c) 5 h. Magnificación: 70X

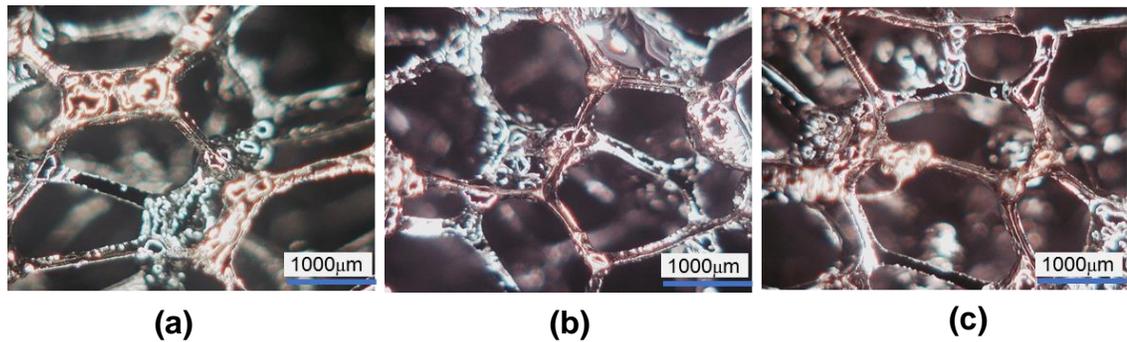
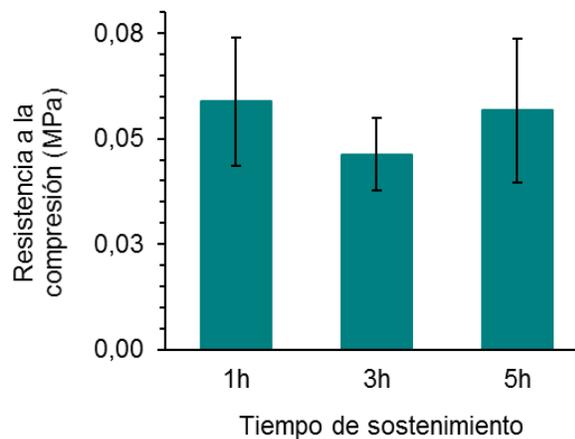


Figura 30. Efecto del tiempo de carbonización sobre las propiedades mecánicas (n=8) de las espumas CVR



Efecto de la temperatura de carbonización

El efecto de la temperatura de carbonización se evaluó calcinando espumas previamente curadas a 600, 900, 1200 y 1500 °C, utilizando 1 h de sostenimiento y una rampa de calentamiento de 3 °C/min. Como se observa en la Figura 31, la caracterización morfológica de las espumas CVR resultantes muestran la ausencia de alteraciones aunque se evidencia una tendencia a la disminución en el diámetro de celda y espesor de los ligamentos al aumentar la temperatura de 900 a 1200 °C (Tabla 7), debido a que las espumas sufren procesos de contracción que aumentan gradualmente con el aumento de la temperatura. Este comportamiento ha sido previamente reportado en estudios sobre preparación de espumas CVR a partir de taninos [90] y resinas fenólicas [91], y se encuentra asociado a la pérdida de masa ocasionada por el aumento de la temperatura. Algunos investigadores han encontrado que la contracción de las espumas es proporcional a la pérdida de masa durante la carbonización [34], es decir, que la pérdida de masa que sufre el material con el aumento de la temperatura se compensa con la reducción del tamaño de las espumas resultantes. Sin embargo, también es sabido que la tasa de contracción puede variar además en función de factores como el tratamiento térmico y el tipo de precursor [39, 48, 90, 91].

Figura 31. Efecto de la temperatura de carbonización sobre la morfología de las espumas CVR. 600, 900, 1200 y 1500 °C (de izquierda a derecha). Magnificación: (a) 70X y (b) 140X

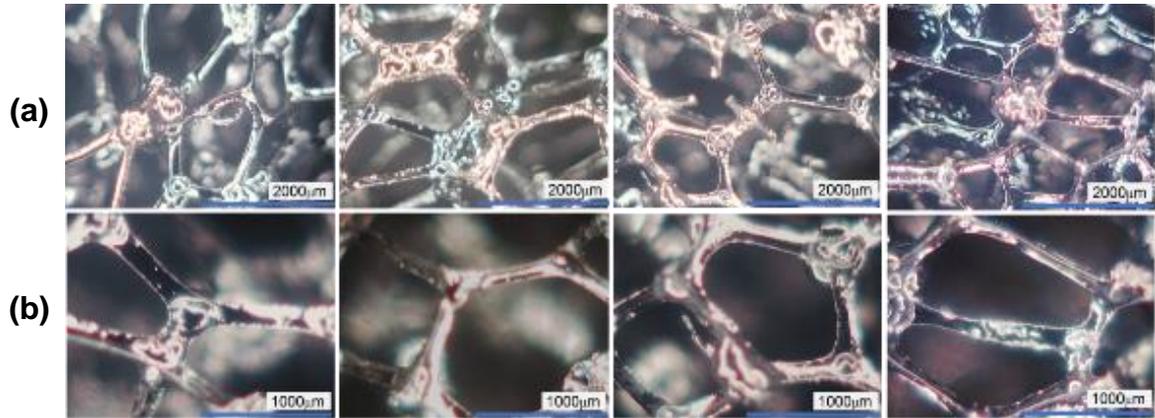
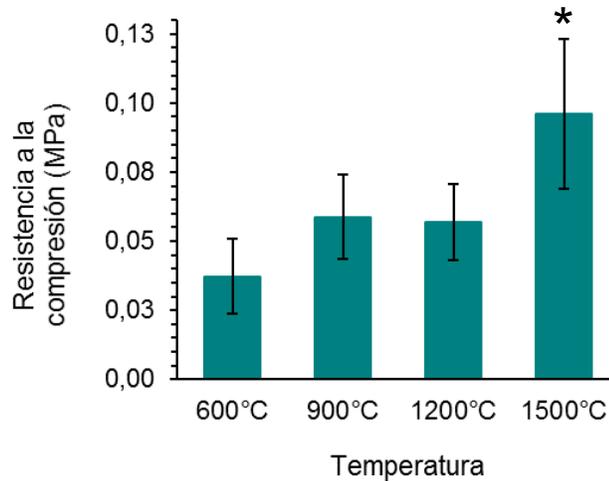


Tabla 7. Propiedades mecánicas (n=10) y morfológicas (n=30) de espumas CVR obtenidas con diferentes temperaturas de carbonización

Temperatura	Resistencia a la compresión (MPa)	m_w	Espesor de ligamento (μm)	Diámetro de celda (μm)	% Volumen contraído
600 °C	$0,0372 \pm 0,0135$	3,0	186 ± 54	1149 ± 424	$42,7 \pm 0,5$
900 °C	$0,0588 \pm 0,0153$	4,3	183 ± 92	1155 ± 471	$48,0 \pm 2,1$
1200 °C	$0,0570 \pm 0,0137$	4,7	171 ± 68	963 ± 408	$51,6 \pm 0,8$
1500 °C	$0,0960 \pm 0,0272$	4,0	171 ± 60	1004 ± 400	$47,2 \pm 3,0$

Por otra parte, el análisis Kruskal-Wallis de las medidas de resistencia a la compresión indicaron que las propiedades mecánicas fueron estadísticamente mayores para las espumas CVR producidas por calcinación a 1500 °C, respecto a los demás tratamientos (Figura 32). Sin embargo, los módulos de Weibull (m_w) siguen siendo similares a los valores reportados en la literatura [82] y a los hallados en etapas previas del presente trabajo.

Figura 32. Efecto de la temperatura de carbonización sobre las propiedades mecánicas (n=8) de las espumas CVR



* Diferencias estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis)

En el contexto de la literatura, pocos estudios se han reportado sobre la evaluación del efecto de la temperatura de carbonización en las propiedades mecánicas de espumas de carbón [90, 94, 95]. Dichos trabajos han evidenciado incrementos hasta de 40% en la resistencia a la compresión de espumas CVR fabricadas a partir de resinas fenólicas, asociando dicho fenómeno a la formación de cierto orden cristalográfico en la estructura del carbón. Por lo tanto, con el fin de validar dicha hipótesis, se realizaron análisis de C, H y N y espectroscopia Raman a espumas CVR fabricadas bajo las diferentes temperaturas de carbonización (600-1500 °C). Como se muestra en la Tabla 8, un aumento en la temperatura de carbonización resultó en un incremento en el contenido de carbono y una reducción en el porcentaje de heteroátomos (O, H, N, por ejemplo) en las espumas sintetizadas, siendo los cambios más drásticos observados para las muestras tratadas a 1500 °C. Estos resultados denotan que existe una relación directa entre el aumento del porcentaje de carbono y las propiedades mecánicas de las espumas CVR.

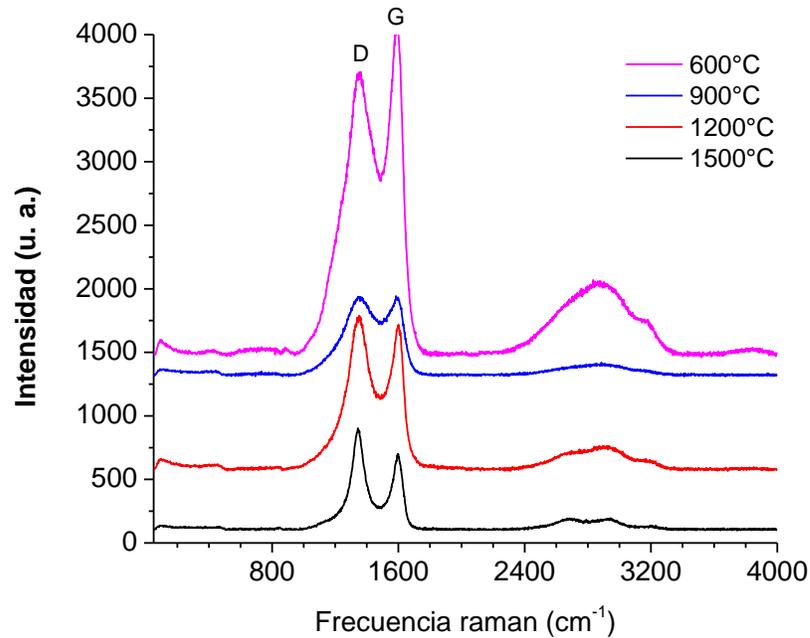
Tabla 8. Cambios en la composición elemental de las espumas CVR con la temperatura de carbonización

Temperatura	%C	%H	%N	%O *
600 °C	84,75	2,55	2,04	10,66
900 °C	84,41	0,82	2,005	12,775
1200 °C	86,64	0,88	0,64	11,84
1500 °C	97,56	0,00	0,18	2,26

* Calculado por diferencia entre los porcentajes de los demás elementos

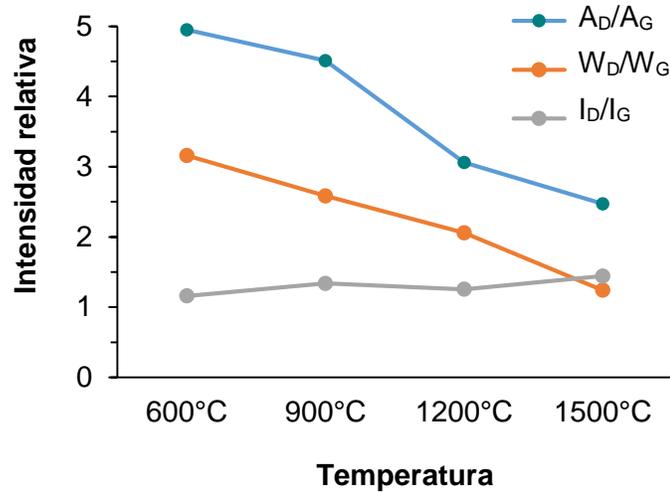
Adicionalmente, varios autores han establecido que la temperatura de carbonización está directamente relacionada con el grado de ordenamiento estructural que alcanza un material [92, 96–98]. Dichos trabajos han relacionado propiedades específicas del espectro Raman con parámetros para análisis de fases cristalinas, tales como el tamaño de cristal (L_a) y el comienzo del ordenamiento tridimensional. En la Figura 33 se muestran los espectros Raman de las espumas CVR calcinadas a diferentes temperaturas. Es posible identificar claramente dos bandas principales alrededor de 1580 y 1360 cm^{-1} : i) la banda G (1580 cm^{-1}), denominada banda de grafito, que corresponde a la vibración de estiramiento de enlaces de carbono tipo sp^2 y está relacionada con la extensión en la que se repite una determinada estructura dentro de un cristal; y ii) la banda D (1360 cm^{-1}), la cual está asociada a la ruptura en la repetitividad de la estructura carbonosa. Esta última señal típicamente disminuye con el ordenamiento de los planos aromáticos durante el proceso de grafitización [92], y en consecuencia, una mayor presencia de defectos estructurales como heteroátomos podría incrementar la intensidad de la banda D. Por lo tanto, con base en esta información, podría esperarse que las espumas CVR producidas por calcinación a 1500 °C tuvieran probablemente una estructura más organizada dado su bajo contenido de impurezas (ver Tabla 8), y por ende, una mayor resistencia a la compresión.

Figura 33. Espectros Raman de espumas CVR carbonizadas a diferentes temperaturas



Como se observa en la Figura 33, las bandas D y G disminuyen su intensidad y se estrechan con el aumento de la temperatura. Diferentes autores han asociado directamente la evolución de estas bandas con el grado de ordenamiento de materiales de carbono, a través del cálculo de sus relaciones de área (A_D/A_G), intensidad (I_D/I_G) y anchura media (W_D/W_G) relativas [92, 98]. Así, una disminución de estos factores sugiere un mayor grado de ordenamiento del material. En la Figura 34 se muestran los resultados de A_D/A_G , I_D/I_G y W_D/W_G para las espumas CVR preparadas, parámetros que fueron calculados a partir de la deconvolución de las respectivas bandas D y G por medio de una función Gaussian-Lorentz.

Figura 34. Cambios en los factores relativos de área, intensidad y anchura media con la temperatura de carbonización



Con el aumento de la temperatura, los índices de área y anchura media muestran una tendencia a disminuir, mientras que el índice I_D/I_G presenta un ligero aumento que sugiere un incremento en la amorficidad del material [92]. Aunque estos resultados pueden parecer ambiguos, acuden al hecho de que a temperaturas de carbonización mayores la disminución en el contenido de heteroátomos ocasiona un mayor grado de apilamiento de los planos laminares, lo cual a su vez genera un ordenamiento del material; sin embargo, es posible que las temperaturas usadas en la presente investigación no hayan sido suficientes para generar procesos de grafitización de los carbones generados a partir de sacarosa. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Baldan [98] y Tzeng [93], quienes comprobaron que tratamiento térmicos hasta de 2600 °C no eran suficientes para grafitizar espumas CVR fabricadas usando furfural y resinas fenólicas.

Morfología y propiedades mecánicas de las espumas sintetizadas, comparación con las espumas comerciales

En la Figura (a, b y c) se muestran imágenes MEB de las espumas CVR sintetizadas, las cuales evidencian una morfología de celda poliédrica similar a la de las espumas CVR comerciales (Figura (d)). Por otra parte, aunque no se presentaron grietas en los ligamentos (Figura 35), se observó la formación de poros, defectos posiblemente generados por la volatilización de materia durante el tratamiento térmico. Estos defectos estuvieron preferencialmente localizados en las regiones de unión de los ligamentos de cada celda, donde tiende a quedar un exceso de resina debido a la morfología de la plantilla de sacrificio, la cual presenta concavidades en los ligamentos que pueden favorecer una distribución no homogénea de la resina en la plantilla.

Las propiedades mecánicas de las esponjas obtenidas fueron menores en comparación con las comerciales de 20 PPI (Figura 36), sin embargo presentan una resistencia a la compresión similar a sus análogas de 10 PPI [25], las cuales, aunque cuentan con un diámetro promedio mayor que las sintetizadas, tienen un espesor de ligamento semejante. Contrario a ello, las CVR de 20 PPI son similares en cuanto a diámetro, pero cuentan con espesores de ligamento significativamente mayores. La comparación entre estas dimensiones que se presenta en la Figura 37 sugiere que espesores amplios mejoran la estabilidad mecánica de la espuma independientemente de la porosidad del material, por lo que se infiere que a partir de la resina de sacarosa desarrollada se podrían modificar de manera controlada las características morfológicas de las espumas, con el fin de lograr una relación de porosidad y resistencia mecánica apropiada para su aplicación.

Figura 35. Imágenes MEB de espumas CVR: (a) sintetizada, (b y c) de los ligamentos de las espumas CVR sintetizadas y (d) comercial de 20 PPI. Magnificación: (a, d) 100X y (b, c) 800X

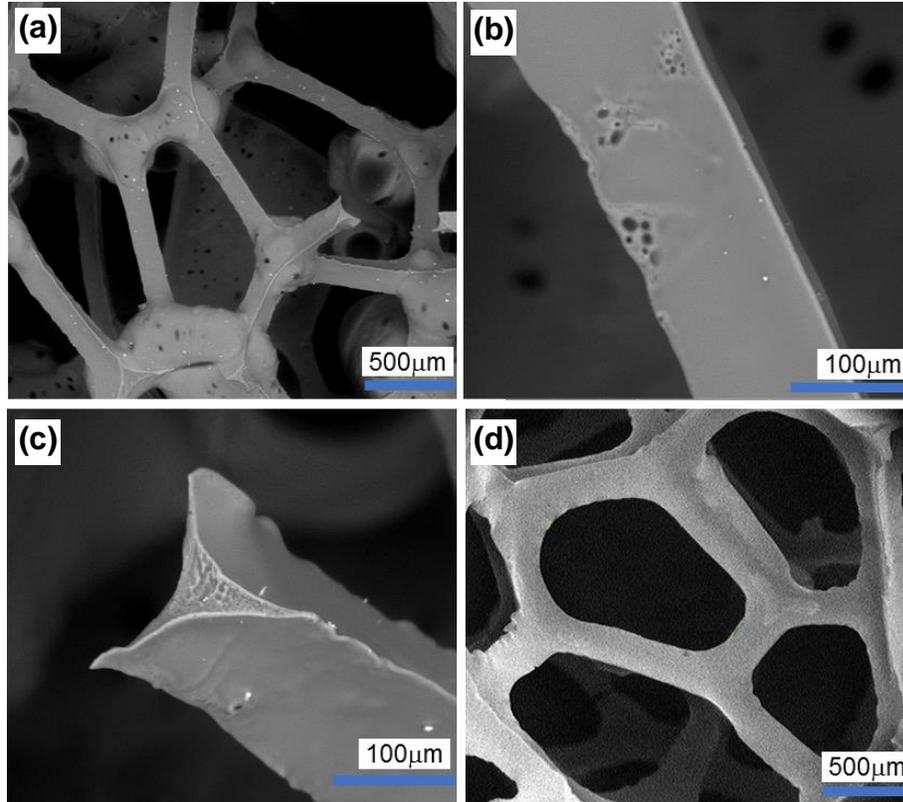
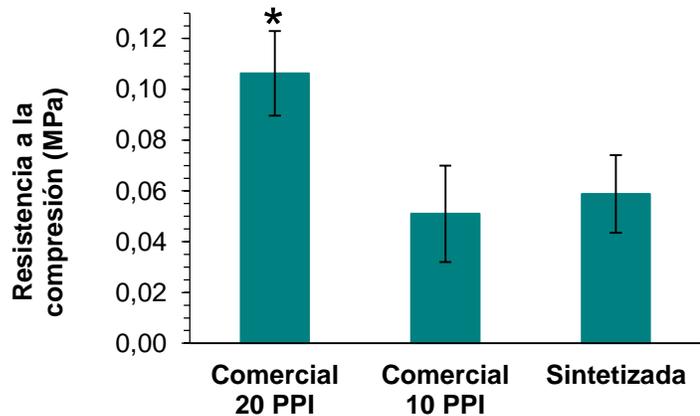
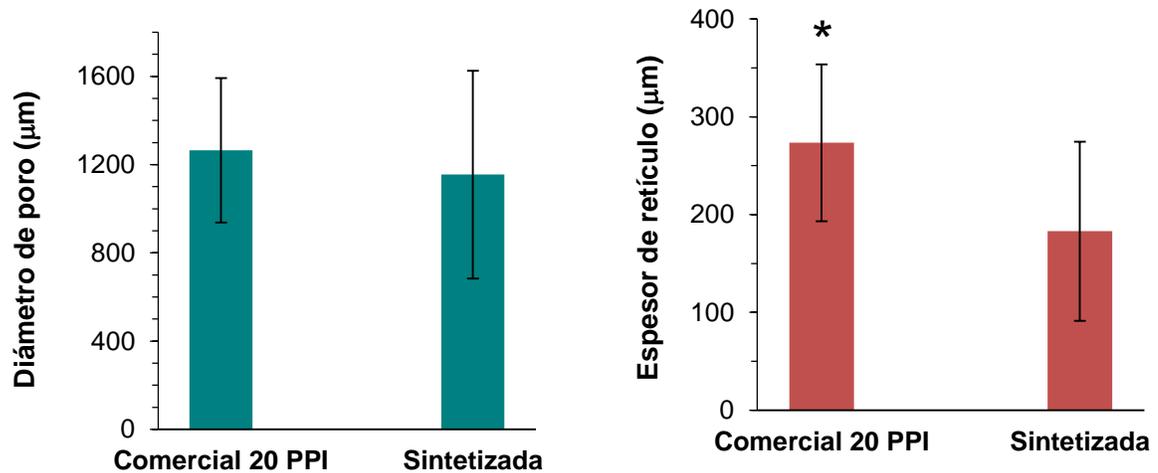


Figura 36. Resistencia a la compresión de CVR comercial y sintetizada



* Diferencias estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis)

Figura 37. Diámetros de celda y espesor de ligamento de las espumas CVR sintetizadas y comerciales de 20 PPI



* Diferencias estadísticamente significativas (Anova)

4.2.4 Efecto del tipo de plantilla. Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se fabricaron espumas CVR sobre esponjas poliméricas de poliuretano de 50 PPI y celulosa de 30 PPI, para ello se elaboró una resina con soluciones de sacarosa (0,4 g/mL) y ácido nítrico (2×10^{-3} N), calentadas durante 48 h y diluidas con 3 ml de agua destilada. Una vez impregnadas, las esponjas se curaron a 250°C durante 1h y se carbonización a 900 °C durante 1 h, con una velocidad de calentamiento de 3 °C/min. Los resultados obtenidos, que se muestran en la Tabla 9 y Figura 38, confirman la fuerte dependencia de las propiedades morfológicas y mecánicas de las CVR con la plantilla de origen. Se observa por ejemplo la disminución en la porosidad de las CVR obtenidas por la plantilla de 50 PPI debido a obstrucciones de la misma las cuales son igualmente replicadas. Éste, aunado a la disminución en el diámetro de celda, constituyó un significativo aumento en la resistencia a la compresión. Así mismo, el aumento en el módulo de Weibull (m_w) en las espumas CVR fabricadas a partir de plantillas de 30 y 50 PPI indica que un menor diámetro de celda ocasiona una menor variabilidad en la respuesta

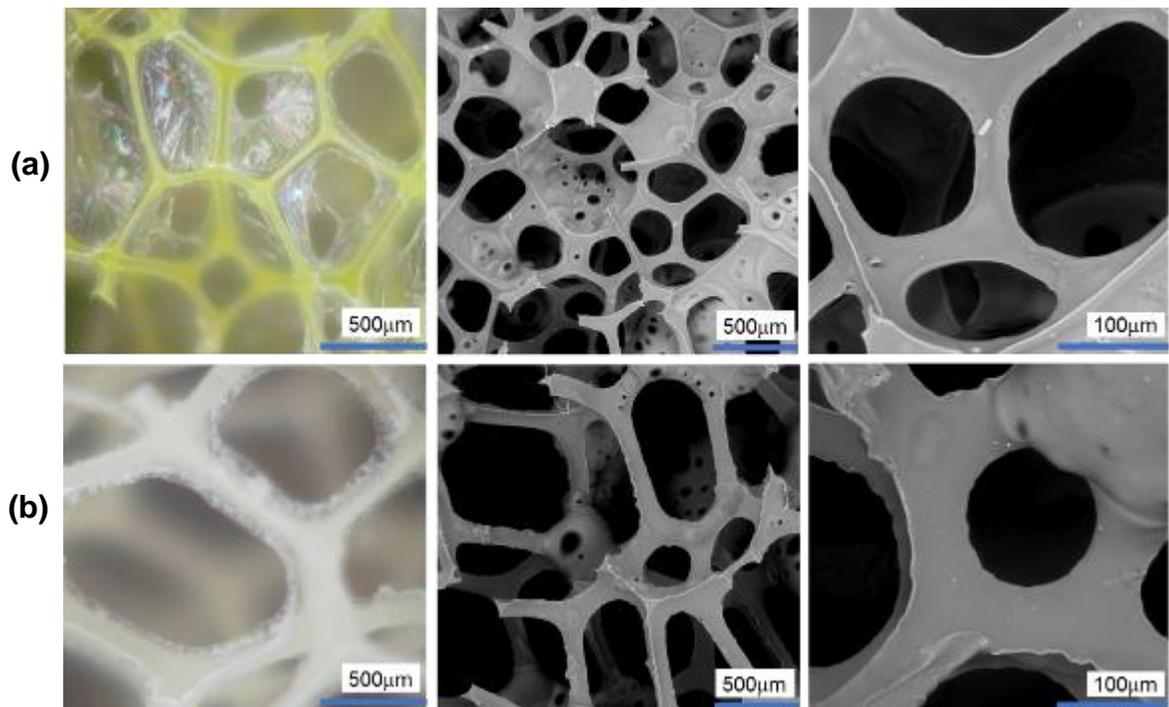
mecánica del material, lo que se traduce a una mejora en la confiabilidad del material [83].

Tabla 9. Propiedades mecánicas (n=8) y morfológicas (n=30) de espumas CVR obtenidas a partir de diferentes plantillas

Plantilla	Resistencia a la compresión (MPa)	m_w	% Porosidad	Espesor de ligamento (μm)	Diámetro de celda (μm)
50 PPI	$0,2336 \pm 0,0280$	10,0	$87,2\% \pm 1,1\%$	95 ± 42	382 ± 125
30 PPI	$0,1402 \pm 0,0120$	14,3	$91,4\% \pm 1,5\%$	158 ± 39	589 ± 199
18 PPI *	$0,0588 \pm 0,0153$	4,3	$91,6\% \pm 1,2\%$	183 ± 92	1155 ± 471

* Plantilla original

Figura 38. Micrografías confocal de espumas poliméricas de 50 PPI (a), 30PPI (b) y las respectivas imágenes MEB de las CVR obtenidas. Magnificación: 70X, 100X y 800X (de izquierda a derecha)



Al comparar las características morfológicas y mecánicas de espumas CVR de estructura poliédrica reportadas en la literatura [40, 74, 81] con las de las espumas CVR obtenidas en el presente trabajo (Tabla 9), se observó que la resistencia a la compresión de las espumas sintetizadas presenta mejores resultados (considerando la relación diámetro de celda y porosidad) tanto para resinas de sacarosa, como para resinas preparadas a partir de precursores que presentan un mayor rendimiento de carbono como las resinas de fenol y formaldehído. En los trabajos mencionados, se encontraron factores en común que pueden afectar las propiedades mecánicas de las CVR, estos son: i) la ausencia de un periodo de curado que garantizara la reducción de defectos en los ligamentos de la espuma, ii) espesores de ligamentos inferiores y iii) que el exceso de resina (para el caso de Nam [74]), es retirado por convección forzada de aire, lo que ocasiona una morfología poco definida con ligamentos que tienden a deformarse, contrario a lo que ocurre con escurrido por compresión con rodillos, mediante el cual se generan ligamentos uniformes, que dan estabilidad a la estructura reticulada.

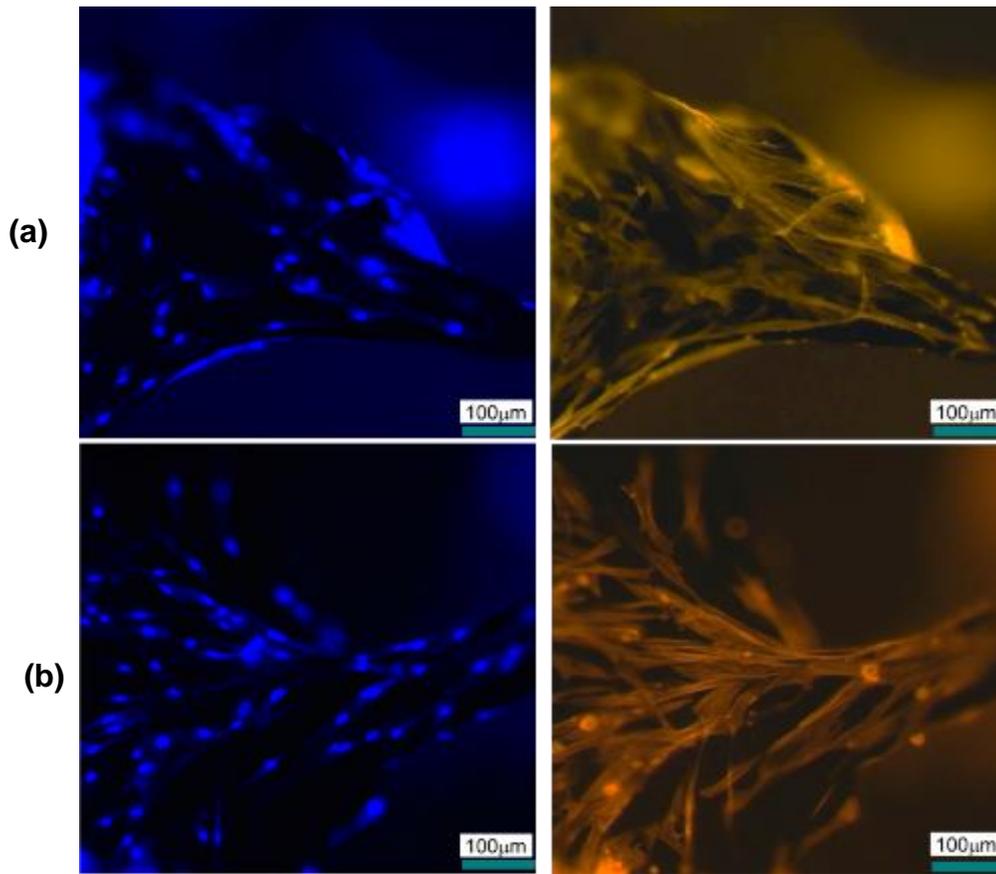
4.3 ESTUDIOS DE CITOTOCIXIDAD

Adhesión celular

Los procesos de proliferación y diferenciación celular necesarios para regeneración de tejidos dependen en gran medida de la extensión y fuerza de adhesión de las células sobre el biomaterial utilizado. La ausencia del anclaje apropiado, el cual está determinado por las propiedades físicas y químicas de la superficie del material [99, 100], genera apoptosis o muerte celular. Propiedades típicas de las espumas CVR como alta área superficial y porosidad, estructura rígida y regular, baja resistencia al flujo de fluidos e hidrofobicidad, resultan favorables para los procesos de adhesión celular [24, 25].

Los ensayos de tinción fluorescente realizados en las espumas CVR sintetizadas, las cuales fueron sembradas con osteoblastos humanos y posteriormente cultivadas por 24 y 72 h, permitieron comprobar adhesión y morfología celular adecuadas sobre la superficie de las espumas, tal como se muestra en la Figura 39. Se observan los núcleos de las células (azul) y la actina del citoesqueleto (naranja), imágenes que revelaron una fuerte adhesión de los osteoblastos sobre la espuma CVR, fenómeno caracterizado por una morfología celular extendida y simétrica en los ligamentos de las espumas, lo cual indicó una interacción favorable con el andamio [20, 101]. Tras 72 h en cultivo, se observó además mayor densidad celular, lo cual demostró la habilidad de las espumas CVR para promover proliferación celular.

Figura 39. Imágenes de fluorescencia para identificación de núcleo celular (izquierda) y citoesqueleto (derecha) de osteoblastos humanos, por tinción con pentahydrate (bis-Benzimide) y tetrametilrodamina isocianato respectivamente, tras 24h (a) y 72h (b) de siembra

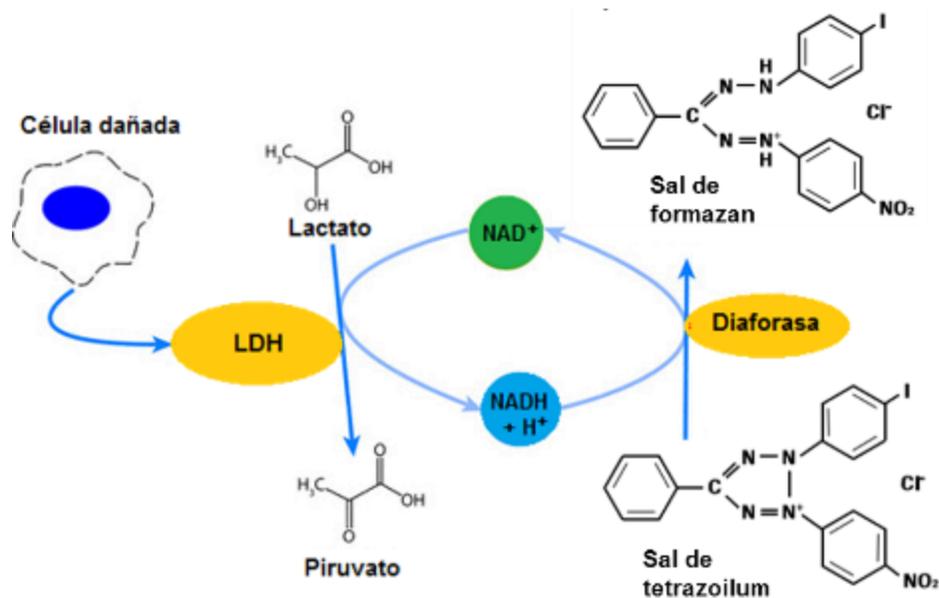


Citotoxicidad

La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima que interviene en reacciones metabólicas relacionadas con la obtención de energía en las células. Cuando se presenta algún daño que implique muerte celular, la LDH es liberada al medio de cultivo, por lo que su determinación está directamente asociada con fenómenos de citotoxicidad. Los niveles de LDH se detectan usando una reacción enzimática acoplada que consiste inicialmente en la reducción de NAD^+ a NADH y H^+ mediante la LDH, por oxidación del lactato a piruvato. En la segunda reacción, dos

hidrógenos de NADH/H⁺ son transferidos a la sal de tetrazolium (INT), la cual es reducida a formazan; esta sustancia es altamente coloreada por lo que su concentración puede determinarse por medio de espectroscopia UV-visible a una longitud de onda de 490/520 nm (Figura 40).

Figura 40. Esquema del ensayo de LDH

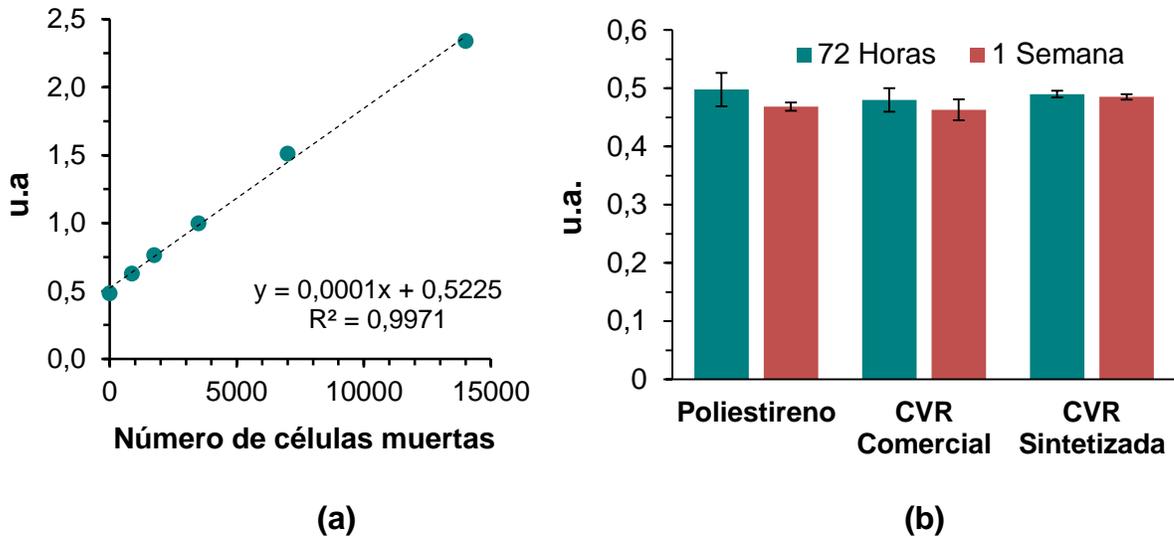


Fuente: Bioscience 2008

Para relacionar los niveles de LDH con el número de células afectadas, fue necesario establecer una curva estándar, la cual se muestra en la Figura 41 (a), mediante la cual se pudo relacionar la citotoxicidad de las espumas CVR sintetizadas. La Figura 41 (b) muestra los resultados del ensayo LDH para osteoblastos humanos después de 72 h y 1 semana de contacto indirecto con las espumas CVR fabricadas. Superficies de poliestireno estándares para cultivo celular y espumas de carbón vítreo comerciales (ERG Aerospace) fueron usadas como controles. Los resultados indicaron que las espumas CVR sintetizadas, al igual que las comerciales, no son citotóxicas, ya que presentaron una respuesta

similar a la del control positivo (poliestireno) y por lo tanto podrían potencialmente usarse como andamio para regeneración de tejido óseo.

Figura 41. Resultados de citotoxicidad mediante prueba LDH



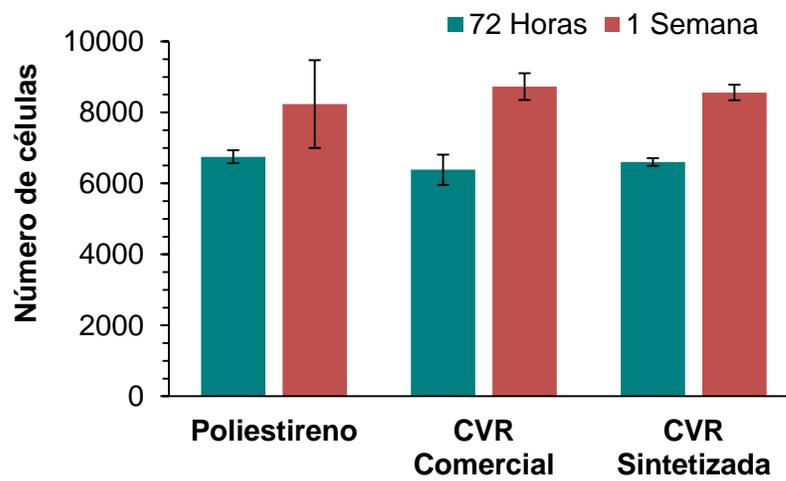
Actividad metabólica celular

La viabilidad celular es una característica fundamental para el desarrollo de biomateriales, ya que tras el proceso de adhesión celular se pueden desencadenar dos eventos: proliferación celular o apoptosis [25]. La proliferación favorece la formación de una estructura multicapa, mediante la cual se pueden generar procesos de organización del tejido y mineralización. Por lo tanto, niveles adecuados de actividad metabólica celular constituye uno de los requisitos necesarios para garantizar la funcionalidad de un andamio [102].

La Figura 42 muestra la actividad metabólica de osteoblastos humanos expuestos indirectamente por 72 h y 1 semana a espumas CVR sintetizadas. Dado que la actividad metabólica de las células en las espumas fue similar a la observada en

superficies de cultivo estándar (poliestireno), se pudo concluir, en conjunto con los resultados de los ensayos de LDH, que las espumas CVR sintetizadas cuentan con características que favorecen los mecanismos de regeneración de tejido, considerando que una citotoxicidad en el rango de 20-30% es aceptable para aplicaciones biomédicas [102].

Figura 42. Resultados del ensayo de actividad metabólica celular



5. CONCLUSIONES

Se estableció una metodología para la fabricación de espumas de carbón vítreo reticulado a partir de sacarosa, precursor no contaminante y biorenovable. Las CVR obtenidas cuentan con una estructura poliédrica, con una alta porosidad abierta e interconectada y un tamaño de celda ajustable según la plantilla de sacrificio utilizada.

Las propiedades mecánicas de las espumas fabricadas dependen principalmente de los factores como diámetro de celda, porosidad y espesor del ligamento, estas características pueden ajustarse a partir del método utilizado en el presente trabajo, para lograr una combinación que satisfaga los requerimientos de forma y carga, con el fin de ser usado en un sistema compuesto para regeneración de tejido óseo. Adicionalmente los resultados *in vitro* muestran que las CVR fabricadas no son citotóxicas y favorecen los procesos de adhesión y proliferación celular, por lo cual demuestran ser adecuadas para dicha aplicación.

Aunque el ácido nítrico cataliza las reacciones de polimerización de la sacarosa, su uso, en altas concentraciones, no resulta conveniente para incrementar el grado de polimerización de la resina u ocasiona un mayor rendimiento de la misma. El uso de concentraciones de HNO_3 superiores a 2×10^{-3} N genera procesos de espumado en la resina precursora, los cuales favorecen la formación carbonos con estructura celular, pero ocasionan deformaciones que comprometen la morfología y propiedades mecánicas de las CVR según las especificaciones deseadas para su uso como andamio.

Las espumas de carbón vítreo elaboradas en este proyecto cuentan con propiedades mecánicas cercanas a las de las espumas comerciales de diámetro y porosidad similar, e incluso muestran mejores valores de resistencia a la

compresión en comparación con CVR de la misma morfología reportadas en la literatura, las cuales han sido sintetizadas a partir de diferentes precursores que cuentan con rendimientos de carbono mayores al de la sacarosa.

6. RECOMENDACIONES

Con el objetivo de complementar los resultados obtenidos en el presente trabajo y dar continuidad a las investigaciones en torno al tema tratado, se formulan como recomendación las siguientes actividades:

- Replicar los estudios *in vitro* en espumas sintetizadas a 1500°C, con el fin de comprobar si el tratamiento térmico aplicado mejora la adhesión y viabilidad celular en las CVR. Esto se sugiere con base en los resultados obtenidos por Czaenecki (2014), en los cuales se observaban mejoras en el comportamiento de osteoblastos humanos sobre espumas sometidas a temperaturas de 1800°C.
- En el presente estudio se trabajó con esponjas poliméricas disponibles comercialmente, sin embargo, dada su influencia sobre las propiedades de las espumas resultantes, se sugiere diseñar una plantilla que permita una impregnación más homogénea y con una mayor retención de resina, de manera que permita incrementar el espesor del ligamento en las espumas resultantes y así mismo sus propiedades mecánicas.
- Reemplazar el uso de ácido nítrico por otro tipo de agentes polimerizantes como el ácido bórico [39] y poliacrilamida [70], los cuales favorezcan procesos de entrecruzamiento en la resina precursora, con el fin de mejorar su rendimiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] T. Andric, B. L. Taylor, A. R. Whittington, and J. W. Freeman, "Fabrication and Characterization of Three-Dimensional Electrospun Scaffolds for Bone Tissue Engineering," pp. 32–41, 2015.
- [2] Resnick, Donald; *Kransdorf, Mark J. Bone and joint imaging*, 3rd ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders, 2005.
- [3] G. H. Billström *et al.*, "Application of scaffolds for bone regeneration strategies: Current trends and future directions," *Injury*, vol. 44, no. SUPPL.1, pp. S28-33, Jan. 2013.
- [4] C. García M and D. Ortega T, "Elementos De Osteosíntesis De Uso Habitual En Fracturas Del Esqueleto Apendicular: Evaluación Radiológica," *Rev. Chil. Radiol.*, vol. 11, no. 2, pp. 58–70, 2005.
- [5] E. Marchetti, O. May, J. Girard, H.-F. Hildebrand, H. Migaud, and G. Pasquier, "Biomateriales en cirugía ortopédica," *EMC - Técnicas Quirúrgicas - Ortop. y Traumatol.*, vol. 2, no. 3, pp. 1–24, 2010.
- [6] X. Wang *et al.*, "Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants: A review," *Biomaterials*, vol. 83, pp. 127–141, 2016.
- [7] G. E. Ryan, A. S. Pandit, and D. P. Apatsidis, "Porous titanium scaffolds fabricated using a rapid prototyping and powder metallurgy technique," *Biomaterials*, vol. 29, no. 27, pp. 3625–3635, Sep. 2008.
- [8] L. D. Zardiackas, D. E. Parsell, L. D. Dillon, D. W. Mitchell, L. A. Nunnery, and R. Poggie, "Structure, metallurgy, and mechanical properties of a porous tantalum foam," *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 58, no. 2, pp. 180–187, 2001.
- [9] P. Sevilla, C. Aparicio, J. A. Planell, and F. J. Gil, "Comparison of the mechanical properties between tantalum and nickel-titanium foams implant materials for bone ingrowth applications," *J. Alloys Compd.*, vol. 439, no. 1–2, pp. 67–73, 2007.

- [10] N. Taniguchi *et al.*, “Effect of pore size on bone ingrowth into porous titanium implants fabricated by additive manufacturing: An in vivo experiment,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 59, pp. 690–701, 2016.
- [11] M. Niinomi, M. Nakai, and J. Hieda, “Development of new metallic alloys for biomedical applications,” *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 11, pp. 3888–3903, 2012.
- [12] S. J. Hollister, “Porous scaffold design for tissue engineering.,” *Nat. Mater.*, vol. 4, no. July, pp. 518–24, 2005.
- [13] H. Janik and M. Marzec, “A review: Fabrication of porous polyurethane scaffolds,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 48, pp. 586–591, 2015.
- [14] L. Polo-Corrales, M. Latorre-Esteves, and J. E. Ramirez-Vick, “Scaffold design for bone regeneration.,” *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 14, no. 1, pp. 15–56, 2014.
- [15] S. M. Giannitelli *et al.*, “Graded porous polyurethane foam: A potential scaffold for oro-maxillary bone regeneration,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 51, pp. 329–335, 2015.
- [16] D. Tang, R. S. Tare, L. Y. Yang, D. F. Williams, K. L. Ou, and R. O. C. Oreffo, “Biofabrication of bone tissue: Approaches, challenges and translation for bone regeneration,” *Biomaterials*, vol. 83, pp. 363–382, 2016.
- [17] D. Puppi *et al.*, “Additive manufacturing of wet-spun polymeric scaffolds for bone tissue engineering,” *Biomed. Microdevices*, vol. 14, no. 6, pp. 1115–1127, 2012.
- [18] K. J. Burg, S. Porter, and J. F. Kellam, “Biomaterial developments for bone tissue engineering.,” *Biomaterials*, vol. 21, no. 23, pp. 2347–2359, 2000.
- [19] N. Venkataraman, S. Bansal, P. Bansal, and S. Narayan, “Dynamics of bone graft healing around implants,” 2015.
- [20] S. Wu, X. Liu, K. W. K. Yeung, C. Liu, and X. Yang, “Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering,” *Mater. Sci. Eng. R*, vol. 80, pp. 1–36, 2014.
- [21] JONES, Julián R. “Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to

- hybrids,” *Acta Biomater.*, vol. 23, no. S, pp. S53–S82, 2015.
- [22] Q. Chen, D. Mohn, and W. J. Stark, “Optimization of Bioglass® scaffold fabrication process,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 94, no. 12, pp. 4184–4190, 2011.
- [23] Fu, Qiang; Saiz, Eduardo; Rahaman, Mohamed N.; Tomsia, Antoni P. “Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: State of the art and future perspectives,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 31, no. 7, pp. 1245–1256, 2011.
- [24] M. K. Pec *et al.*, “Reticulated vitreous carbon: a useful material for cell adhesion and tissue invasion,” *Eur. Cell. Mater.*, vol. 20, pp. 282-293-294, 2010.
- [25] J. S. Czarnecki, M. Blackmore, S. Jolivet, K. Lafdi, and P. A. Tsonis, “Bone growth on Reticulated Vitreous Carbon foam scaffolds and implementation of Cellular Automata modeling as a predictive tool,” *Carbon N. Y.*, vol. 79, no. 1, pp. 135–148, 2014.
- [26] G. M. Jenkins, “Biomedical applications of carbons and graphites,” *Clin. Phys. Physiol. Meas.*, vol. 1, no. 3, pp. 171–194, Aug. 1980.
- [27] P. E. Ferrari and M. C. Rezende, “Carbono polimérico: procesamiento e aplicação,” *Polímeros*, vol. 8, no. 4, pp. 22–30, Dec. 1998.
- [28] A. S. Mistry and A. G. Mikos, “Tissue Engineering Strategies for Bone Regeneration,” in *Regenerative Medicine II*, vol. 94, I. V. Yannas, Ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005, pp. 1–22.
- [29] Gustavo Cotella, Nelson; Barbero, Cesar A. “FABRICACIÓN DE CARBONES POLIMÉRICOS PARA APLICACIÓN EN SUPERCAPACITORES ELECTROQUÍMICOS Ing. Nelson Gustavo Cotella Director Dr. Cesar A. Barbero,” pp. 25–30, 2006.
- [30] F. C. Walsh, L. F. Arenas, C. P. de León, G. W. Reade, I. Whyte, and B. G. Mellor, “The continued development of reticulated vitreous carbon as a versatile electrode material: Structure, properties and applications,” *Electrochim. Acta*, vol. 215, pp. 566–591, 2016.
- [31] M. Inagaki, “Carbon foam : Preparation and application,” *Carbon N. Y.*, vol.

- 87, pp. 128–152, 2015.
- [32] X. Li, M. C. Basso, F. L. Braghiroli, V. Fierro, A. Pizzi, and A. Celzard, “Tailoring the structure of cellular vitreous carbon foams,” *Carbon N. Y.*, vol. 50, no. 5, pp. 2026–2036, 2012.
- [33] B. Nagel, S. Pusz, and B. Trzebicka, “Review: Tailoring the properties of macroporous carbon foams,” *J. Mater. Sci.*, vol. 49, no. 1, pp. 1–17, 2014.
- [34] P. Jana, V. Fierro, and A. Celzard, “Sucrose-based carbon foams with enhanced thermal conductivity,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 89, pp. 498–506, 2016.
- [35] S. Qiu, B. Jiang, X. Zheng, J. Zheng, C. Zhu, and M. Wu, “Hydrophobic and fire-resistant carbon monolith from melamine sponge: A recyclable sorbent for oil-water separation,” *Carbon N. Y.*, vol. 84, no. 1, pp. 551–559, 2015.
- [36] L. D. Claxton, “The history, genotoxicity, and carcinogenicity of carbon-based fuels and their emissions: Part 5. Summary, comparisons, and conclusions,” *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.*, vol. 763, pp. 103–147, 2015.
- [37] P. Boffetta, N. Jourenkova, and P. Gustavsson, “Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons,” *Cancer Causes Control*, vol. 8, no. 3, pp. 444–72, 1997.
- [38] N. A. N. A. Costa *et al.*, “The role of sucrose in amino polymers synthesized by the strongly acid process,” *J. Adhes. Sci. Technol.*, vol. 27, no. 7, pp. 763–774, Apr. 2013.
- [39] R. Narasimman and K. Prabhakaran, “Preparation of carbon foams with enhanced oxidation resistance by foaming molten sucrose using a boric acid blowing agent,” *Carbon N. Y.*, vol. 55, pp. 305–312, 2013.
- [40] P. Jana, V. Fierro, and A. Celzard, “Ultralow cost reticulated carbon foams from household cleaning pad wastes,” *Carbon N. Y.*, vol. 62, pp. 517–520, 2013.
- [41] J. M. Friedrich, C. Ponce-de-León, G. W. Reade, and F. C. Walsh, “Reticulated vitreous carbon as an electrode material,” *J. Electroanal. Chem.*, vol. 561, no. SUPPL. 1, pp. 203–217, 2004.

- [42] A. Ravaglioli and A. Krajewski, *Bioceramics: Materials · Properties · Applications*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [43] J. Zarzycki and R. W. Cahn, Eds., *Materials science and technology:: a comprehensive treatment. 9: Glasses and amorphous materials*. Weinheim: VCH, 1991.
- [44] R. Brezny and D. J. J. Green, “The effect of cell size on the mechanical behavior of cellular materials,” *Acta Metall. Mater.*, vol. 38, no. 12, pp. 2517–2526, 1990.
- [45] “Preparation of polymeric resins and carbon materials.”
- [46] Chen, Chong; Kennel, Elliot B.; Stiller, Alfred H.; Stansberry, Peter G.; Zondlo, John W. “Carbon foam derived from various precursors,” *Carbon N. Y.*, vol. 44, no. 8, pp. 1535–1543, 2006.
- [47] B. F. Chmelka, G. L. Athens, and A. H. Lu, *Carbon materials with interconnected pores*. Google Patents, 2009.
- [48] G. Tondi, V. Fierro, A. Pizzi, and A. Celzard, “Tannin-based carbon foams,” *Carbon N. Y.*, vol. 47, no. 6, pp. 1480–1492, 2009.
- [49] S. C. Sharma, K. Prabhakaran, P. K. Singh, N. M. Gokhale, and S. C. Sharma, “Processing of sucrose to low density carbon foams,” *J. Mater. Sci.*, vol. 42, no. 11, pp. 3894–3900, 2007.
- [50] J. M. Balach *et al.*, “Estudio Y Caracterización Del Carbón Vítreo Poroso Nanoestructurado,” *Rev. Iberoam. Ing. Mecánica*, vol. 17, no. 1, pp. 17–25, 2013.
- [51] L. Salvo, G. Martin, M. Suard, A. Marmottant, R. Dendievel, and J. J. Blandin, “Processing and structures of solids foams,” *Comptes Rendus Phys.*, vol. 15, no. 8–9, pp. 662–673, 2014.
- [52] K. Böhme, W. D. Einicke, and O. Klepel, “Templated synthesis of mesoporous carbon from sucrose-the way from the silica pore filling to the carbon material,” *Carbon N. Y.*, vol. 43, no. 9, pp. 1918–1925, 2005.
- [53] Chen, Ya; Chen, Bai-Zhen; Shi, Xi-Chang; Xu, Hui; Hu, Yong-Jun; Yuan, Yan; Shen, Neng-Bin. “Preparation of pitch-based carbon foam using

- polyurethane foam template,” *Carbon N. Y.*, vol. 45, no. 10, pp. 2132–2134, Sep. 2007.
- [54] F. Krauss Juillerat *et al.*, “Synthesis of bone-like structured foams,” *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 33, no. 9, pp. 1497–1505, 2013.
- [55] M. A. A. Muhamad Nor, L. C. Hong, Z. Arifin Ahmad, and H. Md Akil, “Preparation and characterization of ceramic foam produced via polymeric foam replication method,” *J. Mater. Process. Technol.*, vol. 207, no. 1–3, pp. 235–239, 2008.
- [56] W. Wattanutchariya, “Relationship between polymeric foam characteristics and properties of porous bone substitute fabricated by polymeric foam replication,” *IEEE Int. Conf. Ind. Eng. Eng. Manag.*, pp. 1072–1076, 2014.
- [57] “METHOD FOR THE PREPARATION OF CARBONSTRUCTURES,” 3927186, 1975.
- [58] Y. Yao, F. Chen, X. Chen, Q. Shen, and L. Zhang, “Data in Brief Data of microstructure and mechanical properties of carbon foams derived from sucrose / polyacrylamide hydrogel,” *Data Br.*, vol. 7, pp. 117–122, 2016.
- [59] J. J. Max and C. Chapados, “Sucrose hydrates in aqueous solution by IR spectroscopy,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 105, no. 47, pp. 10681–10688, 2001.
- [60] ADINA, Chiş; FLORINELA, Fetea; ABDELMOUMEN, Taoutaou; SOCACIU Carmen. “Application Of FTIR Spectroscopy For A Rapid Determination Of Some Hydrolytic Enzymes Activity On Sea Buckthorn Substrate,” vol. 15, no. 6, 2010.
- [61] M. E. Mendoza, “FTIR aplicada durante la deshidratación osmótica de mango Ataulfo (*Magnífera indica L .*),” vol. 25, no. 1, pp. 8–13, 2012.
- [62] MAX, Jean-Joseph and CHAPADOS, Camille. “IR Spectroscopy of Glucose And Fructose Hydrates in Aqueous Solutions,” pp. 2679–2689, 2001.
- [63] S. K. R. Patil, J. Heltzel, and C. R. F. Lund, “Comparison of structural features of humins formed catalytically from glucose, fructose, and 5-hydroxymethylfurfuraldehyde,” *Energy and Fuels*, vol. 26, no. 8, pp. 5281–5293, 2012.

- [64] I. Van Zandvoort *et al.*, "Formation, molecular structure, and morphology of humins in biomass conversion: Influence of feedstock and processing conditions," *ChemSusChem*, vol. 6, no. 9, pp. 1745–1758, 2013.
- [65] I. V. Summerskii, S. M. Krutov, and M. Y. Zarubin, "Humin-like substances formed under the conditions of industrial hydrolysis of wood," *Russ. J. Appl. Chem.*, vol. 83, no. 2, pp. 320–327, 2010.
- [66] T. N. Smith, K. Hash, C. L. Davey, H. Mills, H. Williams, and D. E. Kiely, "Modifications in the nitric acid oxidation of d-glucose," *Carbohydr. Res.*, vol. 350, pp. 6–13, 2012.
- [67] S. S. Oishi, E. C. Botelho, M. C. Rezende, and N. G. Ferreira, "Structural and surface functionality changes in reticulated vitreous carbon produced from poly(furfuryl alcohol) with sodium hydroxide additions," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 394, pp. 87–97, 2017.
- [68] K. Jurkiewicz, S. Duber, H. E. Fischer, and A. Burian, "Modelling of glass-like carbon structure and its experimental verification by neutron and X-ray diffraction research papers," pp. 36–48, 2017.
- [69] P. Jana and V. Ganesan, "Synthesis, characterization and radionuclide (^{137}Cs) trapping properties of a carbon foam," *Carbon N. Y.*, vol. 47, no. 13, pp. 3001–3009, 2009.
- [70] Y. Yao, F. Chen, X. Chen, Q. Shen, and L. Zhang, "Diamond & Related Materials Fabrication of carbon foams with high mechanical properties derived from sucrose / polyacrylamide hydrogel," *Diam. Relat. Mater.*, vol. 64, pp. 153–162, 2016.
- [71] R. Narasimman and K. Prabhakaran, "Preparation of carbon foams by thermo-foaming of activated carbon powder dispersions in an aqueous sucrose resin," *Carbon N. Y.*, vol. 50, no. 15, pp. 5583–5593, 2012.
- [72] a. R. Chen, Q.; Roether, J.A.; Boccaccini, "Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials," *Top. Tissue Eng.*, vol. 4, no. 6, pp. 1–27, 2008.
- [73] LEE, Joo Won; THOMAS, Leonard C.; JERRELL, John; FENG, Hao;

- CADWALLADER, Keith R.; SCHMIDT, Shelly J.. "Investigation of thermal decomposition as the kinetic process that causes the loss of crystalline structure in sucrose using a chemical analysis approach (Part II)," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, no. 2, pp. 702–712, 2011.
- [74] G. Nam, S. Choi, H. Byun, Y. M. Rhym, and S. E. Shim, "Preparation of macroporous carbon foams using a polyurethane foam template replica method without curing step," *Macromol. Res.*, vol. 21, no. 9, pp. 958–964, 2013.
- [75] S. Farhan, R. M. Wang, H. Jiang, and N. Ul-Haq, "Preparation and characterization of carbon foam derived from pitch and phenolic resin using a soft templating method," *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 110, no. 1, pp. 229–234, 2014.
- [76] Y. Lim, H. Kim, and M. Kim, "Chemical and Micro-Structural Changes in Glass-Like Carbon during High Temperature Heat Treatment," vol. 11, no. 2, pp. 122–127, 2003.
- [77] R. Narasimman, S. Vijayan, and K. Prabhakaran, "Carbon particle induced foaming of molten sucrose for the preparation of carbon foams," *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 189, pp. 82–89, 2014.
- [78] M. Sevilla and A. B. Fuertes, "Chemical and structural properties of carbonaceous products obtained by hydrothermal carbonization of saccharides," *Chem. - A Eur. J.*, vol. 15, no. 16, pp. 4195–4203, 2009.
- [79] I. van Zandvoort, E. J. Koers, M. Weingarth, P. C. A. Bruijninx, M. Baldus, and B. M. Weckhuysen, "Structural characterization of ¹³C-enriched humins and alkali-treated ¹³C humins by 2D solid-state NMR," *Green Chem.*, vol. 17, no. 8, pp. 4383–4392, 2015.
- [80] O. Smorygo, A. Marukovich, V. Mikutski, and A. Pramono, "Macrocellular vitreous carbon with the improved mechanical strength," *Front. Mater. Sci.*, vol. 9, no. 4, pp. 413–417, 2015.
- [81] S. M. Manocha, K. Patel, and L. M. Manocha, "Development of carbon foam from phenolic resin via template route," *Indian J. Eng. Mater. Sci.*, vol. 17,

- no. 5, pp. 338–342, 2010.
- [82] M. Letellier, C. Delgado-sanchez, M. Khelifa, V. Fierro, and A. Celzard, “Mechanical properties of model vitreous carbon foams,” *Carbon N. Y.*, vol. 116, pp. 562–571, 2017.
- [83] B. J. McEntire, B. S. Bal, M. N. Rahaman, J. Chevalier, and G. Pezzotti, “Ceramics and ceramic coatings in orthopaedics,” *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 35, no. 16, pp. 4327–4369, 2015.
- [84] V. Rinaudo, M. Chitin, *Properties and applications*, vol. 31. 2006.
- [85] LEE, Kuo Jung; WU, Chun-Hung; CHENG, Huy-Zu; KUO, Chia-Chen; TSENG, Han-Cheng; LIAO, Wen-Kai; WEI, Shih-Fong; HUANG, Sheng-Feng. “Carbonization Rate and Impregnating Methods on the Tribological Behavior of Carbon/Carbon Composites,” *Procedia Eng.*, vol. 36, pp. 341–348, 2012.
- [86] H. Ji *et al.*, “Preparation, microstructure, and compressive strength of carbon foams derived from sucrose and kaolinite,” *J. Mater. Res.*, vol. 29, no. 8, pp. 1018–1025, 2014.
- [87] H. Maleki, L. R. Holland, G. M. Jenkins, and R. L. Zimmerman, “Determining the shortest production time for glassy carbon ware,” *Carbon*, vol. 35, no. 2, pp. 227–234, 1997.
- [88] A. Celzard, W. Zhao, A. Pizzi, and V. Fierro, “Materials Science and Engineering A Mechanical properties of tannin-based rigid foams undergoing compression,” vol. 527, pp. 4438–4446, 2010.
- [89] M. Karthik, A. Faik, S. Doppiu, V. Roddatis, and B. D. Aguanno, “A simple approach for fabrication of interconnected graphitized macroporous carbon foam with uniform mesopore walls by using hydrothermal method,” *Carbon N. Y.*, vol. 87, pp. 434–443, 2015.
- [90] G. Amaral-Labat, M. Sahimi, A. Pizzi, V. Fierro, and A. Celzard, “Mechanical properties of heat-treated organic foams,” *Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys.*, vol. 87, no. 3, 2013.
- [91] C. Xue and B. Tu, “Facile Fabrication of Hierarchically Porous Carbonaceous

- Monoliths with Ordered Mesostructure via an Organic Organic Self-Assembly,” pp. 242–253, 2009.
- [92] M. Supova, J. Svitilova, Z. Chlup, M. Cerny, and Z. Weishauptova, “Relation between mechanical properties and pyrolysis temperatura of phenol formaldehyde resin for gas separation membranes,” vol. 56, no. 1, pp. 40–49, 2012.
- [93] S. Tzeng and Y.-G. Chr, “Evolution of microstructure and properties of phenolic resin-based carbon/carbon composites during pyrolysis,” *Mater. Chem. Phys.*, vol. 73, no. 2–3, pp. 162–169, 2002.
- [94] O. Smorygo, A. Marukovich, V. Mikutski, V. Stathopoulos, S. Hryhoryeu, and V. Sadykov, “Tailoring properties of reticulated vitreous carbon foams with tunable density,” *Front. Mater. Sci.*, vol. 10, no. 2, pp. 157–167, 2016.
- [95] G. Tzvetkov, B. Tsyntsarski, K. Balashev, and T. Spassov, “Microstructural investigations of carbon foams derived from modified coal-tar pitch,” *Micron*, vol. 89, pp. 34–42, 2016.
- [96] E. S. Goncalves, M. C. Rezende, and N. G. Ferreira, “Dynamics of Defects and Surface Structure Formation in Reticulated Vitreous Carbon,” *Brazilian J. Phys.*, vol. 36, no. 2A, pp. 264–266, 2006.
- [97] Sarmiento Gonçalves, Emerson e Cerqueira Rezende, Mirabel, Ribeiro Baldan, Maurício e Gomes Ferreira, Neidenêi. “Efeito do tratamento térmico na microestrutura, turbostraticidade e superfície de carbono vítreo reticulado analisado por xps, espalhamento Raman e voltametria cíclica,” *Quim. Nova*, vol. 32, no. 1, pp. 158–164, 2009.
- [98] M. R. Baldan, E. C. Almeida, A. F. Azevedo, E. S. Gonçalves, M. C. Rezende, and N. G. Ferreira, “Raman validity for crystallite size La determination on reticulated vitreous carbon with different graphitization index,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 254, no. 2, pp. 600–603, 2007.
- [99] L. Bacakova, E. Filova, M. Parizek, T. Ruml, and V. Svorcik, “Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 29, no. 6, pp. 739–767, 2011.

- [100] Discher, Dennis E.; Janmey, P. and Wang, Y. L. "Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate," *Science (80-.)*, vol. 310, no. 5751, pp. 1139–1143, 2005.
- [101] A. K. M. R. H. Chowdhury, A. Tavangar, B. Tan, and K. Venkatakrisnan, "Biofunctionalized 3-D carbon nano-network platform for enhanced fibroblast cell adhesion," *Sci. Rep.*, vol. 7, pp. 1–14, 2017.
- [102] F. Zhang, A. Weidmann, J. B. Nebe, and E. Burkel, "Osteoblast cell response to surface-modified carbon nanotubes," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 32, no. 5, pp. 1057–1061, 2012

BIBLIOGRAFÍA

ADINA, C. H. I. Ş.; FLORINELA, F.; ABDELMOUMEN, T. and CARMEN, S. "Application Of FTIR Spectroscopy For A Rapid Determination Of Some Hydrolytic Enzymes Activity On Sea Buckthorn Substrate," vol. 15, no. 6, 2010.

AMARAL-LABAT, G.; SAHIMI, M. PIZZI, A.: FIERRO, V. and CELZARD, A. "Mechanical properties of heat-treated organic foams," *Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys.*, vol. 87, no. 3, 2013.

ANDRIC, Tea; TAYLOR, Brittany L.; WHITTINGTON, Abby R.; FREEMAN, Joseph W. "Fabrication and Characterization of Three-Dimensional Electrospun Scaffolds for Bone Tissue Engineering," pp. 32–41, 2015.

BACAKOVA, Lucie; FILOVA, Elena; PARIZEK, Martin; RUMML, Tomas; SVORCIK, Vaclav. "Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants," *Biotechnol. Adv.*, vol. 29, no. 6, pp. 739–767, 2011.

BALACH, J. M. *et al.*, "Estudio Y Caracterización Del Carbón Vítreo Poroso Nanoestructurado," *Rev. Iberoam. Ing. Mecánica*, vol. 17, no. 1, pp. 17–25, 2013.

BALDAN, M. R.; ALMEIDA, E. C.; AZEVEDO, A. F.; GONÇALVES, E. S.; REZENDE, M. C. and FERREIRA, N. G. "Raman validity for crystallite size La determination on reticulated vitreous carbon with different graphitization index," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 254, no. 2, pp. 600–603, 2007.

BILLSTRÖM, Gry; HULSART; Blomb, ASHLEY W.; Larsson, Sune; Beswickb, Andrew. "Application of scaffolds for bone regeneration strategies: Current trends and future directions," *Injury*, vol. 44, no. SUPPL.1, pp. S28-33, Jan. 2013.

BOHME, Kerstin; EINICKE, Wolf-Dietrich, KLEPEL, Olaf. "Templated synthesis of mesoporous carbon from sucrose-the way from the silica pore filling to the carbon material," *Carbon N. Y.*, vol. 43, no. 9, pp. 1918–1925, 2005.

BOFFETTA, Paolo; JOURENKOVA, Nadia and GUSTAVSSON, Per. "Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons.," *Cancer Causes Control*, vol. 8, no. 3, pp. 444–72, 1997.

BREZNY, R. and GREEN, D. J. J. "The effect of cell size on the mechanical behavior of cellular materials," *Acta Metall. Mater.*, vol. 38, no. 12, pp. 2517–2526, 1990.

BURG, K. J.; PORTER, S. and KELLAM, J. F. "Biomaterial developments for bone tissue engineering.," *Biomaterials*, vol. 21, no. 23, pp. 2347–2359, 2000.

CELZARD, A.; ZHAO, W.; PIZZI, A. and FIERRO, V. "Materials Science and Engineering A Mechanical properties of tannin-based rigid foams undergoing compression," vol. 527, pp. 4438–4446, 2010.

CHEN, a. R.; ROETHER, Q.; Boccaccini, J.A "Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials," *Top. Tissue Eng.*, vol. 4, no. 6, pp. 1–27, 2008.

CHEN, C.; KENNEL, E. B.; STILLER, A. H.; STANSBERRY, P. G. and ZONDLO, J. W. "Carbon foam derived from various precursors," *Carbon N. Y.*, vol. 44, no. 8, pp. 1535–1543, 2006.

CHEN, Qizhi; MOHN, Dirk and STARK, Wendelin J. "Optimization of Bioglass® scaffold fabrication process," *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 94, no. 12, pp. 4184–4190, 2011.

CHEN, Y. *et al.*, "Preparation of pitch-based carbon foam using polyurethane foam template," *Carbon N. Y.*, vol. 45, no. 10, pp. 2132–2134, Sep. 2007.

CHMELKA, B. F.; ATHENS, G. L. and LU, A. H. *Carbon materials with interconnected pores*. Google Patents, 2009.

CHOWDHURY, A. K. M. R. H.; TAVANGAR, A.; TAN, B. and VENKATAKRISHNAN, K. "Biofunctionalized 3-D carbon nano-network platform for enhanced fibroblast cell adhesion," *Sci. Rep.*, vol. 7, pp. 1–14, 2017.

CLAXTON, Larry D. "The history, genotoxicity, and carcinogenicity of carbon-based fuels and their emissions: Part 5. Summary, comparisons, and conclusions," *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.*, vol. 763, pp. 103–147, 2015.

COSTA, Nuno A.; PEREIRA, João; FERRA, João; CRUZ, Paulo; MOREIRA', J. Agostinho; MARTINS, Jorge; MAGALHAES, Femào D.; MENDES, Adélio and CARVALHO, Luisa H. "The role of sucrose in amino polymers synthesized by the strongly acid process," *J. Adhes. Sci. Technol.*, vol. 27, no. 7, pp. 763–774, Apr. 2013.

CZARNECKI, J. S.; BLACKMORE, M.; JOLIVET, S.; LAFDI, K. and TSONIS, P. A. "Bone growth on Reticulated Vitreous Carbon foam scaffolds and implementation of Cellular Automata modeling as a predictive tool," *Carbon N. Y.*, vol. 79, no. 1, pp. 135–148, 2014.

DISCHER, D. E.; JANMEY, P. and WANG, Y. L. "Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate," *Science (80-.)*, vol. 310, no. 5751, pp. 1139–1143, 2005.

FARHAN, S.; WANG, R. M.; JIANG, H. and UL-HAQ, N. "Preparation and characterization of carbon foam derived from pitch and phenolic resin using a soft templating method," *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 110, no. 1, pp. 229–234, 2014.

FERRARI, Paulo Eduardo e REZENDE, Mirabel C.. "Carbono polimérico: processamento e aplicação," *Polímeros*, vol. 8, no. 4, pp. 22–30, Dec. 1998.

FRIEDRICH, J. M.; PONCE-DE-LEÓN, C.; READE, G. W. and WALSH, F. C. "Reticulated vitreous carbon as an electrode material," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 561, no. SUPPL. 1, pp. 203–217, 2004.

FU, Q.; SAIZ, E.; RAHAMAN, M. N. and TOMSIA, A. P. "Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: State of the art and future perspectives," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 31, no. 7, pp. 1245–1256, 2011.

GARCÍA M., C. and ORTEGA T., D. "Elementos De Osteosíntesis De Uso Habitual En Fracturas Del Esqueleto Apendicular: Evaluación Radiológica," *Rev. Chil. Radiol.*, vol. 11, no. 2, pp. 58–70, 2005.

GIANNITELLI, S. M. *et al.*, "Graded porous polyurethane foam: A potential scaffold for oro-maxillary bone regeneration," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 51, pp. 329–335, 2015.

GONCALVES, E. S.; REZENDE, M. C. and FERREIRA, N. G. "Dynamics of Defects and Surface Structure Formation in Reticulated Vitreous Carbon," *Brazilian J. Phys.*, vol. 36, no. 2A, pp. 264–266, 2006.

_____. "Efeito do tratamento térmico na microestrutura, turbostraticidade e superfície de carbono vítreo reticulado analisado por xps, espalhamento Raman e voltametria cíclica," *Quim. Nova*, vol. 32, no. 1, pp. 158–164, 2009.

HOLLISTER, Scott J. Porous scaffold design for tissue engineering.,” *Nat. Mater.*, vol. 4, no. July, pp. 518–24, 2005.

INAGAKI, M. “Carbon foam : Preparation and application,” *Carbon N. Y.*, vol. 87, pp. 128–152, 2015.

JANA, P. FIERRO, V. and CELZARD, A. “Sucrose-based carbon foams with enhanced thermal conductivity,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 89, pp. 498–506, 2016.

_____. “Ultralow cost reticulated carbon foams from household cleaning pad wastes,” *Carbon N. Y.*, vol. 62, pp. 517–520, 2013.

JANIK, H. and MARZEC, M. “A review: Fabrication of porous polyurethane scaffolds,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 48, pp. 586–591, 2015.

JENKINS, G. M. “Biomedical applications of carbons and graphites,” *Clin. Phys. Physiol. Meas.*, vol. 1, no. 3, pp. 171–194, Aug. 1980.

JI, Haipeng; HUANG, Zhaohui; WU, Xiaowen; HUANG, Juntong; CHEN, Kai; FANG, Minghao and LIU, Yan’gai. “Preparation, microstructure, and compressive strength of carbon foams derived from sucrose and kaolinite,” *J. Mater. Res.*, vol. 29, no. 8, pp. 1018–1025, 2014.

JONES, J. R. “Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids,” *Acta Biomater.*, vol. 23, no. S, pp. S53–S82, 2015.

JURKIEWICZ, Karolina; DUBER, Stanisław; FISCHER, H. E. and BURIAN, Andrzej. “Modelling of glass-like carbon structure and its experimental verification by neutron and X-ray diffraction research papers,” pp. 36–48, 2017.

KARTHIK, M.; FAIK, A.; DOPPIU, S.; Roddatis, V. and AGUANNO, B. D. "A simple approach for fabrication of interconnected graphitized macroporous carbon foam with uniform mesopore walls by using hydrothermal method," *Carbon N. Y.*, vol. 87, pp. 434–443, 2015.

KRAUSS JUILLERAT, Franziska; Engeli, Roman; JERJEN, Iwan; STURZENEGGER, Philip N.; BORCARD, Françoise; JUILLERAT-JEANERET, Lucienne; Gerber-Lemaire, Sandrine. Synthesis of bone-like structured foams. *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 33, no. 9, pp. 1497–1505, 2013.

LEE, Joo Won; *et al.*, "Carbonization Rate and Impregnating Methods on the Tribological Behavior of Carbon/Carbon Composites," *Procedia Eng.*, vol. 36, pp. 341–348, 2012.

LETELLIER, M.; DELGADO-SANCHEZ, C.; KHELIFA, M.; FIERRO, V. and Celzard, A. "Mechanical properties of model vitreous carbon foams," *Carbon N. Y.*, vol. 116, pp. 562–571, 2017.

LI, X.; BASSO, M. C.; BRAGHIROLI, F. L.; FIERRO, V.; PIZZI, A. and CELZARD, A. "Tailoring the structure of cellular vitreous carbon foams," *Carbon N. Y.*, vol. 50, no. 5, pp. 2026–2036, 2012.

MALEKI, H.; HOLLAND, L. R.; JENKINS, G. M. and ZIMMERMAN, R. L. "Determining the shortest production time for glassy carbon ware," *Carbon*, vol. 35, no. 2, pp. 227–234, 1997.

MANOCHA, S. M.; PATEL, K. and MANOCHA, L. M. "Development of carbon foam from phenolic resin via template route," *Indian J. Eng. Mater. Sci.*, vol. 17, no. 5, pp. 338–342, 2010.

MARCHETTI, E.; MAY, O.; GIRARD, J.; HILDEBRAND, H.-F.; MIGAUD, H. and PASQUIER, G. "Biomateriales en cirugía ortopédica," *EMC - Técnicas Quirúrgicas - Ortop. y Traumatol.*, vol. 2, no. 3, pp. 1–24, 2010.

MAX, Jean-Joseph and CHAPADOS, Camille. "Sucrose hydrates in aqueous solution by IR spectroscopy," *J. Phys. Chem. A*, vol. 105, no. 47, pp. 10681–10688, 2001.

_____. "IR Spectroscopy of Glucose And Fructose Hydrates in Aqueous Solutions," pp. 2679–2689, 2001.

MCENTIRE, B. J.; BAL, B. S.; RAHAMAN, M. N.; CHEVALIER, J.; and PEZZOTTI, G. "Ceramics and ceramic coatings in orthopaedics," *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 35, no. 16, pp. 4327–4369, 2015.

MENDOZA, M. E. "FTIR aplicada durante la deshidratación osmótica de mango Ataulfo (*Magnífera indica* L .)," vol. 25, no. 1, pp. 8–13, 2012.

MISTRY, A. S. and MIKOS, A. G. "Tissue Engineering Strategies for Bone Regeneration," in *Regenerative Medicine II*, vol. 94, I. V. Yannas, Ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005, pp. 1–22.

MUHAMAD, M. A. A. NOR, L. C. HONG, Z. ARIFIN Ahmad, and AKIL, H. Md "Preparation and characterization of ceramic foam produced via polymeric foam replication method," *J. Mater. Process. Technol.*, vol. 207, no. 1–3, pp. 235–239, 2008.

NAGEL, Bogumiła; PUSZ, Sławomira; TRZEBICKA, Barbara. "Review: Tailoring the properties of macroporous carbon foams," *J. Mater. Sci.*, vol. 49, no. 1, pp. 1–17, 2014.

NAM, Gimin; CHOI, Seongcheol; BYUN, Haebong; RHYM, Young-Mok and SHIM, Sang Eun. "Preparation of macroporous carbon foams using a polyurethane foam template replica method without curing step," *Macromol. Res.*, vol. 21, no. 9, pp. 958–964, 2013.

NARASIMMAN, R. and PRABHAKARAN, K. "Preparation of carbon foams by thermo-foaming of activated carbon powder dispersions in an aqueous sucrose resin," *Carbon N. Y.*, vol. 50, no. 15, pp. 5583–5593, 2012.

NARASIMMAN, R.; VIJAYAN, S. and PRABHAKARAN, K. "Carbon particle induced foaming of molten sucrose for the preparation of carbon foams," *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 189, pp. 82–89, 2014.

NELSON, I.; COTELLA, G. and BARBERO, C. A. "Fabricación de carbones poliméricos para aplicación en supercapacitores electroquímicos Ing. Nelson Gustavo Cotella Director Dr. Cesar A. Barbero," pp. 25–30, 2006.

NIINOMI, M.; NAKAI, M. and HIEDA, J. "Development of new metallic alloys for biomedical applications," *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 11, pp. 3888–3903, 2012.

OISHI, Silvia Sizuka; BOTELHO, Edson Cocchieri; CERQUEIRA REZENDE, Mirabel and GOMES FERREIRA, Neidenêi. "Structural and surface functionality changes in reticulated vitreous carbon produced from poly(furfuryl alcohol) with sodium hydroxide additions," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 394, pp. 87–97, 2017.

PATIL, S. K. R.; HELTZEL, J. and LUND, C. R. F. "Comparison of structural features of humins formed catalytically from glucose, fructose, and 5-hydroxymethylfurfuraldehyde," *Energy and Fuels*, vol. 26, no. 8, pp. 5281–5293, 2012.

PEC, Martina K.; REYES, Ricardo; SÁNCHEZ, Esther; CARBALLAR, David; DELGADO, Araceli; SANTAMARÍA, Jesús; ARRUEBO, Manuel and EVORA, Carmen. "Reticulated vitreous carbon: a useful material for cell adhesion and tissue invasion," *Eur. Cell. Mater.*, vol. 20, pp. 282-293-294, 2010.

POLO-CORRALES, Liliana; LATORRE-ESTEVEZ, Magda and RAMIREZ-VICK, Jaime E. "Scaffold design for bone regeneration.," *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 14, no. 1, pp. 15–56, 2014.

PRASANTA JANA, V. Ganesan. "Synthesis, characterization and radionuclide (¹³⁷Cs) trapping properties of a carbon foam," *Carbon N. Y.*, vol. 47, no. 13, pp. 3001–3009, 2009.

PUPPI, Dario; MOTA, Carlos; GAZZARRI, Matteo; DINUCCI, Dinuccio; GLORIA, Antonio; MYRZABEKOVA, Mairam; AMBROSIO, Luigi; CHIELLINI, Federica. "Additive manufacturing of wet-spun polymeric scaffolds for bone tissue engineering," *Biomed. Microdevices*, vol. 14, no. 6, pp. 1115–1127, 2012.

QIU, Shi; JIANG, Bo; ZHENG, Xing; ZHENG, Jingtian; ZHU, Chaosheng; WU, Mingbo. "Hydrophobic and fire-resistant carbon monolith from melamine sponge: A recyclable sorbent for oil-water separation," *Carbon N. Y.*, vol. 84, no. 1, pp. 551–559, 2015.

RAVAGLIOLI, A. and KRAJEWSKI, A. *Bioceramics: Materials · Properties · Applications*. Springer Science & Business Media, 2012.

RESNICK, D. and KRANSDORF, M. J. *Bone and joint imaging*, 3rd ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders, 2005.

RINAUDO, V.; CHITIN, M. *Properties and applications*, vol. 31. 2006.

RYAN, G. E.; PANDIT, A. S. and APATSIDIS, D. P. "Porous titanium scaffolds fabricated using a rapid prototyping and powder metallurgy technique," *Biomaterials*, vol. 29, no. 27, pp. 3625–3635, Sep. 2008.

SALVO, Luc; MARTIN, Guilhem; SUARD, Mathieu; MARMOTTANT, Ariane; DENDIEVEL, Rémy; BLANDIN, Jean-Jacques. "Processing and structures of solids foams," *Comptes Rendus Phys.*, vol. 15, no. 8–9, pp. 662–673, 2014.

SEVILLA, Martha and FUERTES, Antonio B. "Chemical and structural properties of carbonaceous products obtained by hydrothermal carbonization of saccharides," *Chem. - A Eur. J.*, vol. 15, no. 16, pp. 4195–4203, 2009.

SEVILLA, P.; APARICIO, C.; PLANELL, J. A. and GIL, F. J. "Comparison of the mechanical properties between tantalum and nickel-titanium foams implant materials for bone ingrowth applications," *J. Alloys Compd.*, vol. 439, no. 1–2, pp. 67–73, 2007.

SHARMA, S. C.; PRABHAKARAN, K.; SINGH, P. K.; GOKHALE, N. M. and SHARMA, S. C. "Processing of sucrose to low density carbon foams," *J. Mater. Sci.*, vol. 42, no. 11, pp. 3894–3900, 2007.

SMITH, T. N.; HASH, K.; DAVEY, C. L.; MILLS, H.; WILLIAMS, H. and KIELY, D. E. "Modifications in the nitric acid oxidation of d-glucose," *Carbohydr. Res.*, vol. 350, pp. 6–13, 2012.

SMORYGO, Oleg; MARUKOVICH, Alexander; MIKUTSKI, Vitali and Pramono, Andika. "Macrocellular vitreous carbon with the improved mechanical strength," *Front. Mater. Sci.*, vol. 9, no. 4, pp. 413–417, 2015.

SMORYGO, Oleg; MARUKOVICH, Alexander; MIKUTSKI, Vitali; STATHOPOULOS, Vassilis; HRYHORYEU, Siarhei and SADYKOV, Vladislav. "Tailoring properties of reticulated vitreous carbon foams with tunable density," *Front. Mater. Sci.*, vol. 10, no. 2, pp. 157–167, 2016.

SUMERSKII, I. V.; KRUTOV, S. M. and ZARUBIN, M. Y. "Humin-like substances formed under the conditions of industrial hydrolysis of wood," *Russ. J. Appl. Chem.*, vol. 83, no. 2, pp. 320–327, 2010.

SUPOVA, M.; SVITILOVA, J.; CHLUP, Z.; CERNY, M. and WEISHAUPTOVA, Z. "Relation between mechanical properties and pyrolysis temperature of phenol formaldehyde resin for gas separation membranes," vol. 56, no. 1, pp. 40–49, 2012.

TANG, D.; TARE, R. S.; YANG, L. Y.; WILLIAMS, D. F.; OU, K. L. and OREFFO, R. O. C. "Biofabrication of bone tissue: Approaches, challenges and translation for bone regeneration," *Biomaterials*, vol. 83, pp. 363–382, 2016.

TANIGUCHI, N. *et al.*, "Effect of pore size on bone ingrowth into porous titanium implants fabricated by additive manufacturing: An in vivo experiment," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 59, pp. 690–701, 2016.

Tondi, G.; FIERRO, V.; PIZZI, A. and CELZARD, A. "Tannin-based carbon foams," *Carbon N. Y.*, vol. 47, no. 6, pp. 1480–1492, 2009.

TZENG, Shinn-Shyong; and CHR, Ya-Ga. "Evolution of microstructure and properties of phenolic resin-based carbon/carbon composites during pyrolysis," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 73, no. 2–3, pp. 162–169, 2002.

TZVETKOV, G.; TSYNTSARSKI, B.; BALASHEV, K. and SPASSOV, T. "Microstructural investigations of carbon foams derived from modified coal-tar pitch," *Micron*, vol. 89, pp. 34–42, 2016.

VAN ZANDVOORT, I. *et al.*, "Formation, molecular structure, and morphology of humins in biomass conversion: Influence of feedstock and processing conditions," *ChemSusChem*, vol. 6, no. 9, pp. 1745–1758, 2013.

VENKATARAMAN, Narayan; BANSAL, Sumidha; BANSAL, Pankaj and NARAYAN, Sarita. "Dynamics of bone graft healing around implants," 2015.

WALSH, F. C.; ARENAS, L. F.; DE LEÓN, C. P.; READE, G. W. ; WHYTE, I. and MELLOR, B. G. "The continued development of reticulated vitreous carbon as a versatile electrode material: Structure, properties and applications," *Electrochim. Acta*, vol. 215, pp. 566–591, 2016.

WANG, Xiaojian; XU, Shanqing; ZHOU, Shiwei; XU, Wei; LEARY, Martin; CHOONG, Peter QIAN, M.; BRANDT, Milan; XIE, Yi Min. "Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants: A review," *Biomaterials*, vol. 83, pp. 127–141, 2016.

WATTANUTCHARIYA, W. "Relationship between polymeric foam characteristics and properties of porous bone substitute fabricated by polymeric foam replication," *IEEE Int. Conf. Ind. Eng. Eng. Manag.*, pp. 1072–1076, 2014.

WU, Shuilin; LIU, Xiangmei; YEUNG, Kelvin W. K.; LIU, Changsheng and Yang, Xianjin. "Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering," *Mater. Sci. Eng. R*, vol. 80, pp. 1–36, 2014.

XUE, Chunfeng and TU, Bo; ZHAO, Dongyuan. "Facile Fabrication of Hierarchically Porous Carbonaceous Monoliths with Ordered Mesostucture via an Organic Organic Self-Assembly," pp. 242–253, 2009.

YAO, Yao; CHEN, Fei; CHEN, Xi; SHEN, Qiang and Zhang, Lianmeng. "Data in Brief Data of microstructure and mechanical properties of carbon foams derived from sucrose / polyacrylamide hydrogel," *Data Br.*, vol. 7, pp. 117–122, 2016.

_____. "Diamond & Related Materials Fabrication of carbon foams with high mechanical properties derived from sucrose / polyacrylamide hydrogel," *Diam. Relat. Mater.*, vol. 64, pp. 153–162, 2016.

YUN-SOO, Lim; HEE-SEOK, Kim; MYUNG-SOO, Kim; NAM-HEE, Cho; SAHN, Nahm. "Chemical and Micro-Structural Changes in Glass-Like Carbon during High Temperature Heat Treatment," vol. 11, no. 2, pp. 122–127, 2003.

ZANDVOORT, Ilona Van; KOERS, Eline J.; PIETER, Markus Weingarth; BRUIJNINCX, C. A.; BALDUS, Marc and WECKHUYSEN, Bert M. "Structural characterization of ¹³ C-enriched humins and alkali-treated ¹³ C humins by 2D solid-state NMR," *Green Chem.*, vol. 17, no. 8, pp. 4383–4392, 2015.

ZARDIACKAS, L. D.; PARSELL, D. E.; DILLON, L. D.; MITCHELL, D. W.; Nunnery, L. A. and POGGIE, R. "Structure, metallurgy, and mechanical properties of a porous tantalum foam," *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 58, no. 2, pp. 180–187, 2001.

ZARZYCKI, J. and CAHN, R. W.; Eds., *Materials science and technology:: a comprehensive treatment. 9: Glasses and amorphous materials*. Weinheim: VCH, 1991.

ZHANG, Faming; WEIDMANN, Arne; NEBE, J. Barbara and BURKEL, Eberhard
"Osteoblast cell response to surface-modified carbon nanotubes," *Mater. Sci. Eng.*
C, vol. 32, no. 5, pp. 1057–1061, 2012