

**“EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA BIOMINERALIZACIÓN DEL  
ÁCIDO POLILÁCTICO-BIOVIDRIO Y ÁCIDO POLILÁCTICO-  
HIDROXIAPATITA”**



**AURA YESNEY LEON BENAVIDES  
LILIVETH MARTÍNEZ GALVÁN**



**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2008**

**“EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA BIOMINERALIZACIÓN DEL  
ÁCIDO POLILÁCTICO-BIOVIDRIO Y ÁCIDO POLILÁCTICO-  
HIDROXIAPATITA”**

**AURA YESNEY LEÓN BENAVIDES  
LILIVETH MARTÍNEZ GALVÁN**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de  
Ingeniero Químico**

**Director**

**DARÍO YESID PEÑA BALLESTEROS  
Ingeniero Metalúrgico Ph. D**

**Codirector**

**HUGO ARMANDO ESTUPIÑAN DURAN  
Ingeniero Metalúrgico M. Sc**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2008**

*A Dios... espíritu de vida y guía para todas mis certezas,  
dador de sabiduría y fortaleza.*

*A Alba Benavides Medina, mi madre, reflejo de Dios, mi mayor  
inspiración y enseñanza de lucha para mi vida*

*A Giovanni Benavides Medina, mi tío, por sus enseñanzas,  
constancia y apoyo incondicional.*

*A mi familia, su buena energía siempre estuvo conmigo.*

*A Joan, por estar siempre a mi lado y consentirme.*

*A mis compañeros de laboratorio, Lady, Nicolás, Juliana  
Ivonne y Lily, únicos.*

*A todos los seres humanos que estuvieron presentes en el proceso  
de conseguir el título de Ingeniera.*

**AURA**

*A Dios por regalarme fortaleza, sabiduría y humildad.*

*A Ramón Martínez y Carmen Galván por ser sencillamente:  
“los mejores padres del mundo”.*

*A Juan, nena y Andrés por ser mi inspiración.*

*A mis amigas incomparables Lorena, Lady y Erika.*

*A Miguel, por haber llegado a mi vida en el momento preciso.*

*Al inigualable grupo del laboratorio Lady Paola, Juliana,  
Ivonne, Nicolás y Aura.*

*A todas las personas que colaboraron para que el sueño de ser  
ingeniera se hiciera realidad...*

*LILIVETH*

## **AGRADECIMIENTOS**

Las autoras expresan sus más sinceros agradecimientos a:

Darío Yesid Peña Ballesteros, Ingeniero metalúrgico Ph. D, director de ésta investigación.

Custodio Vásquez, miembro directivo del Grupo de Investigaciones en el área de Corrosión (GIC-Guatiguará).

Hugo Armando Estupiñan Durán, Ingeniero metalúrgico M. Sc codirector de ésta investigación.

Guillermo Acero, Wilson Carreño Soler y Eduardo Carreño Pérez, técnicos del Laboratorio de Ingeniería Química.

Gustavo Neira, profesor de ingeniería metalurgia.

A todos mis compañeros y amigos del GIC: Paolita, Carlos Mejía y a todas las personas que de una u otra manera colaboraron en ésta investigación.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	17
1. FUNDAMENTO TEÓRICO	19
1.1 BIOMATERIALES	19
1.2 BIOMATERIALES CERÁMICOS	19
1.2.1. Biovidrio (Fosfato Tricálcico – Hidroxiapatita).	19
1.2.2 Hidroxiapatita	20
1.2.3 Síntesis de los fosfatos de calcio	21
1.2.3.1 Síntesis Sol- Gel	21
1.2.3.2 Síntesis en Medio Acuoso.	21
1.3 BIOMATERIALES POLIMÉRICOS	22
1.3.1 Acido Poliláctico (PLA)	22
1.3.1.1 Síntesis.	22
1.4 BIOMINERALIZACIÓN	23
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	24
2.1 REACTIVOS Y EQUIPOS	24
2.2 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	25
2.3 TÉCNICAS USADAS EN LA EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS.	26
2.4 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	27
2.4.1 Pruebas preliminares	27
2.4.2 Adsorción iones de calcio.	29
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS	31
3.1 PRUEBAS PRELIMINARES	31
3.1.1 Síntesis de la Hidroxiapatita	31
a. Método Sol-Gel caracterizado por DRX	31
3.1.2 Síntesis de Biovidrio	31
3.1.2.1 Espectroscopia de Infrarrojo	31

3.1.3 Síntesis del Acido Poliláctico	32
3.1.4 Adsorción de iones de calcio	33
3.2 PRUEBAS FINALES	37
3.2.1 ESTUDIO DE BIOMINERALIZACIÓN EN INMERSIÓN DE FLUIDO FISIOLÓGICO SIMULADO.	37
BIBLIOGRAFIA	42

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Fig. 1. Esquema de la metodología experimental	25
Figura 2. Proceso de obtención de la mezcla PLA/HAP	28
Figura 3. Proceso de obtención de PLA/Biovidrio	29
Figura 4. Espectro Infrarrojo del Biovidrio	32
Figura 5. Espectro de Infrarrojo y DSC del Ácido Poliláctico	33
Fig. 6. Espectros de bode a T: 45°C y T: 24°C con diferentes concentraciones de iones de Ca <sup>2+</sup> , para las mezclas trabajadas.	34
Figura 7. Circuito equivalente para el proceso de adsorción	35
Figura 8. Comparación del efecto de biomineralización de PLA/HAP y PLA/Biovidrio.	37
Fig. 9. Espectroscopia de Impedancia Electroquímica para PLA/Biovidrio y PLA/HAP, biomineralización 14 días.	38
Fig. 10. Circuitos equivalente que representan la impedancia del sistema (a) Circuito en serie; (b). Circuito en paralelo	40
Fig. 11. Micrografías de muestras sumergidas en SBF: (a) PLA/Biovidrio 7 días, (b) PLA/Biovidrio 14 días y (c) PLA/HAP 7 días	40

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Porcentajes para la realización de las mezclas de PLA/HAP.	29
Tabla 2. Porcentajes para mezcla PLA/Biovidrio	29
Tabla 3. Variación de la concentración de calcio en SBF	30
Tabla 4. Resultados de la composición de hidroxiapatita	31
Tabla 5. Concentraciones iónicas con las diferentes soluciones SBF preparadas	35
Tabla 6. Datos termodinámicos	36
Tabla 7. Concentración absorbida de calcio	36

## TABLA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
ANEXO A. REPRESENTACIÓN DEL MECANISMO DE LA FORMACIÓN DE APATITA EN UNA SUPERFICIE BIOACTIVA	49
ANEXO B. BIODEGRADACION DEL ACIDO POLILACTICO	50
ANEXO C. TIPOS DE ADSORCION	52
ANEXO D. TECNICAS USADAS PARA LA CARACTERIZACION DE LOS COMPUESTOS	53
ANEXO E. DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE LA HIDROXIAPATITA	56
ANEXO F. PROCESO DEL MÉTODO SOL-GEL Y ESPECTROSCOPIA INFRARROJO DE BIOVIDRIO	57
ANEXO G. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO Y DSC DEL ACIDO POLILÁCTICO	58
ANEXO H. TABLA I1. VALORES DEL CIRCUITO EQUIVALENTE DEL PROCESO DE ADSORCION	60
ANEXO I. SOLUCION SIMULADA DEL FLUIDO CORPORAL (KOKUBO)	61
ANEXO J. DATOS TERMODINAMICOS DE ADSORCION	64
ANEXO K. PROTOCOLO PARA EL ACM Y DIAGRAMAS DE ESPECTROCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUIMICA	66
ANEXO L. MICROGRAFÍAS DE SEM-EDS PARA LAS MEZCLAS PLA/BIOVIDRIO Y PLA/BIOVIDRIO 7 DIAS	69

## RESUMEN

### TÍTULO:

**COMPARACION ENTRE LA BIOMINERALIZACION DEL PLA-BIOVIDRIO Y EL PLA-HIDROXIAPATITA**

### AUTOR:

Aura Yesney León Benavides  
Liliveth Martínez Galván

### PALABRAS CLAVES:

Hidroxiapatita, Biovidrio, Ácido Poli L-láctico (PLA), Biomineralización, Espectroscopia de impedancia electroquímica, SEM-EDS

### DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO:

Estudios de biomateriales como: cerámicos, metales y polímeros, han mostrado propiedades que cumplen con las especificaciones requeridas para su aplicación en implantes médicos, siendo la biocompatibilidad una característica esencial en cada uno de los aspectos ligados con el material. Además se utilizan compuestos los cuales son obtenidos por la combinación de dos o más materiales, en esta investigación se trabajó con la hidroxiapatita (HAP), biovidrio y ácido poliláctico (PLA) los cuales fueron sintetizados por métodos de precipitación acuosa (HAP), sol-gel (Biovidrio) y Policondensación (PLA); evaluados por FTIR, DRX, DSC, mezclándose posteriormente (PLA-BIOVIDRIO Y PLA-HAP) para el análisis del efecto de biomineralización a nivel de laboratorio, con el fin de reconocer cual de estas mezclas de materiales presenta una mejor respuesta a la oseointegración en presencia de fluidos del cuerpo humano. Las mezclas con diferentes porcentajes de polímero y cerámico fueron sumergidas en SBF (solución corporal simulada), por periodos de siete, catorce y veintiún días, Las pruebas de biomineralización han sido hechas en fluido corporal simulado (SBF), por medio de la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIE). Se hizo una comparación entre las resistencias a la polarización de las distintas muestras obtenidas a diferentes días de inmersión en SBF, y se obtuvo una condición favorable a los catorce días de inmersión en SBF para las dos mezclas estudiadas, siendo la mezcla PLA/HAP la de mayor resistencia a la polarización y por tanto la de mejor efecto de Biomineralización. La morfología de las mezclas se logra a partir de análisis de SEM-EDS (Microscopia Electrónica de Barrido-Energía dispersivo por espectroscopia de rayos X).

---

Proyecto de grado

Facultad de Ingeniería Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química

Director: Ph. D Darío Yesid Peña Ballesteros. Codirector: Hugo Armando Estupiñán M.sc

## ABSTRACT

### TITLE:

**COMPARATIVE OF THE BIOMINERALIZATION OF ACID POLYLACTIC-BIOGLASS AND ACID POLYLACTIC-HYDROXYAPATITE EVALUATION**

### AUTHORS:

Aura Yesney Leon Benavidez  
Liliveth Martinez Galván

### KEY WORDS:

Hydroxyapatite (HAP), Bioglass, Poly L- lactic Acid (PLA), Biomineralization, Spectroscopy of electrochemical impedance, SEM-EDS

### DESCRIPTION:

Estudies of biomaterials as: ceramics, metals and polymers was showed properties that fulfill with the required specifications his application on medical implant, remains an essential feature biocompatibility each one of the associate aspect with the material. Besides using compounds obtained for the combination from two or more materials, in this investigation it worked with the hydroxyapatite (HAP), Bioglass and Poly L- Lactic Acid (PLA). This one were synthesized for method of watery precipitation (HAP), sol-gel (Bioglass) and polycondensation (PLA); tested by FTIR, DRX, DSC, for a posterior mixture (PLA –Bioglass and PLA-HAP) for the biomineralization effect analysis of the laboratory level, whit the end of recognize which one of this mixtures of materials present a beffer answer to the osseointegration in presence of Human Body Fluids. The mixtures with different percentages of polymerics and ceramics were submerged en SBF (Solution Body Feign) by periods of seven, fourteen and twenty-one days. The tests of biomineralization has been done in solution SBF by intermediate of the electrochemical spectroscopy technique (EIE).It had a comparison between the resistance to the polarization of the distinct samples, obtained in different days of inmersion in SBF, and obtained one favorable condition to the fourteen days of inmersion in SBF for the two mixtures studied; the PLA/HAP was the most resistance to the polarization and better effect to the biomineralization. The morphology of the mixtures it obtained from the analysis of SEM-EDS (Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-ray spectroscopy).

---

Degree Project

Physical-chemical Engineerings Faculty, chemical Engineering

Director: Ph. D Darío Yesid Peña Ballesteros. Codirector: Hugo Armando Estupiñán M.s

## INTRODUCCIÓN

Actualmente se reconocen los biomateriales como alternativa facilitadora en avances médicos e investigaciones; entre las sustancias más importantes utilizadas como biomateriales para la regeneración ósea se encuentran algunos metales, aleaciones, cerámicas, vidrios biológicos, polímeros naturales y sintéticos y la mezcla de estos materiales.

El gran número de aplicaciones que poseen los biomateriales, se han manifestado de manera significativa en sus propiedades y su gran número de aplicaciones, por las cuales se da facilidad al diseño, manufactura, e investigación entre otros usos de acuerdo a los requerimientos de la medicina; es indispensable hacer énfasis en una condición que está íntimamente relacionada con la buena implementación de cualquier biomaterial, la biocompatibilidad condición que se define como aceptabilidad biológica, pues esta corresponde a la interacción de los biomateriales con los tejidos del cuerpo humano.

Para este estudio se obtuvieron tres biomateriales uno polimérico (ácido poliláctico (PLA)) y dos cerámicos biovidrio e hidroxiapatita (HAP); el material polimérico se obtuvo por medio del método de policondensación con condiciones de presión, temperatura y porcentaje de catalizador adecuadas para lograr un material con características favorables para el proceso requerido; <sup>(3)</sup> la obtención de biovidrio fue realizado por el método sol-gel, el cual permite la elaboración de vidrios bioactivos con propiedades texturales (superficie específica y porosidad) muy superiores a los obtenidos por el método de fusión <sup>(4)</sup> y se utilizó como precursores el sistema bifásico  $\text{CaSiO}_2$  debido a su alta bioactividad <sup>(5)</sup>; la hidroxiapatita se elaboró por medio del método de precipitación acuosa teniendo en cuenta las condiciones de pH, el

orden en que se agregó los reactivos y el tiempo de reposo para la formación de hidroxiapatita pura y cristalina.<sup>(6)</sup>

Las mezclas de estos biomateriales se realizaron con la ayuda de un disolvente y con la temperatura adecuada para obtener condiciones de homogeneidad, y luego realizar una comparación del efecto de biomineralización entre las mezclas (PLA/Biovidrio y PLA/HAP) a nivel de laboratorio estudiando el crecimiento de la apatita diferenciando el comportamiento en los tiempos de biomineralización (0, 7, 14, 21 días), con el fin de reconocer cuál de ellas tiene una mejor respuesta a la oseointegración en presencia de fluidos y tejidos del cuerpo humano, conociendo que la biomineralización estudia la formación, estructura y propiedades de los sólidos inorgánicos (biominales) los cuales interaccionan con diversas biomoléculas en los seres vivos .

Esta investigación tiene por objeto evaluar la biomineralización del PLA-BIOVIDRIO Y EL PLA-HAP mediante SEM-EDS y Espectroscopia de Impedancia Electroquímica, se llevará a cabo este objetivo sintetizando materiales como: Hidroxiapatita, Biovidrio y Ácido Poliláctico, caracterizados por Difracción de Rayos X, Espectroscopia de Infrarrojo (FT-IR), Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), de igual forma se evaluarán los fenómenos superficiales físicos y químicos presentados en un proceso de biomineralización mediante la interpretación de diagramas de impedancia, y micrografías SEM-EDS.

## **1. FUNDAMENTO TEÓRICO**

### **1.1 BIOMATERIALES**

Los biomateriales se definen, según el acuerdo alcanzado en el Consensus of the European Society for Biomaterials celebrado en Chester (Inglaterra) en Marzo 1986, como “cualquier sustancia o combinación de sustancias (a excepción de los fármacos), de origen natural (tejidos bovinos o porcinos, proteínas del tejido conectivo) o sintético (metales, polímeros o cerámicas), que pueden ser usados por algún periodo, como todo o como parte de un sistema que trata, aumenta, o reemplaza algún tejido, órgano o función del cuerpo, estos biomateriales deben su éxito a las enormes posibilidades que presentan, tanto en variedad de compuestos, como en su fabricación, con características bien determinadas, y con facilidad de conformarlos en fibras, tejidos, películas o bloques.<sup>(8)</sup>

### **1.2 BIOMATERIALES CERÁMICOS**

**1.2.1. Biovidrio (Fosfato Tricálcico – Hidroxiapatita).** Las biocerámicas ocupan un lugar muy importante como materiales sustitutos de tejido óseo y según el tipo de respuesta que induce en el tejido circundante pueden ser clasificadas en diferentes grupos; cerámicas inertes, cerámicas reabsorbibles y cerámicas bioactivas. Los biovidrios son cerámicas bioactivas que logran una respuesta específica en la interfase implante- tejido, que conlleva a la formación de tejido óseo sobre la superficie del material.<sup>(9)</sup> Los vidrios bioactivos son buenos para fabricar biomateriales debido a su excelente biocompatibilidad <sup>(10-11)</sup>, bioactividad<sup>(12-13)</sup>, elevada porosidad en función del método de síntesis utilizado<sup>(14-15)</sup>, y su capacidad de reabsorción parcial degradándose en productos también biocompatibles, <sup>(16)</sup> siendo tanto

osteoconductivos (propiedad pasiva de un material o tejido de recibir y guiar el crecimiento óseo) como osteoinductivos (capacidad de un material para promover la diferenciación celular hacia la síntesis de la matriz ósea mineralizada) <sup>(17, 13, 18)</sup>. Tienen aplicaciones en tejido duro, regeneración y restauración de huesos y dientes. Atribuido principalmente a su capacidad de formar una capa de hidroxicarbonato de apatita (HCAA – hidroxycarbonate apatite), que es equivalente a la fase mineral de los tejidos duros humanos. (Fuente: Newswire Today and Nanowerk) .ANEXO A: Bioactividad del Biovidrio.

**1.2.2 Hidroxiapatita.** Es un biocerámico a base de fosfato de calcio usado como sustituto en injertos óseos, debido a su bioactividad, biocompatibilidad, osteoconductividad, unión directa al hueso y su estructura es cristalográficamente similar a la de los minerales óseos con el nivel adecuado de carbonos sustituidos. Estas características son directamente proporcionales con el tamaño de la porosidad, cantidad y las interconexiones entre poros, pero inversamente proporcionales con las propiedades mecánicas. <sup>(20, 21)</sup>. La HAP estequiométrica tiene una composición química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  con una relación Ca/P de 1.67; puede ser obtenida de fuentes naturales o sintéticas por precipitación acuosa, vía húmeda, hidrólisis, método sol-gel, método sonoquímico entre otros. Su porosidad y estructura cristalina puede ser cambiada por la manipulación de la relación Ca/P, la mayor cantidad de grupos carbonato y de flúor <sup>(22)</sup>. La solubilidad, tendencia a la reabsorción y propiedades mecánicas de estas cerámicas dependen de la relación Ca/P y de su microestructura, es decir, de la porosidad del material. Las variaciones en la porosidad tienen mayor influencia en la resistencia a la tracción que a la compresión, por lo que las cerámicas de fosfatos cálcicos son bastantes frágiles. <sup>(13)</sup>

**1.2.3 Síntesis de los fosfatos de calcio.** Considerando las aplicaciones de los compuestos de fosfato de calcio en la biomedicina, se han desarrollado varias técnicas de síntesis. Dependiendo de la técnica de obtención, se pueden obtener materiales con diferentes y variadas morfologías, estequiometría y nivel de cristalinidad. La existencia de HAP no estequiométrica (relación molar Ca/P diferente a 1.67,  $\text{Ca}_{10-x} ((\text{PO}_4)_{6-x} (\text{HPO}_4)_x \text{OH}_2)$ ), se debe a la capacidad de la estructura apatítica de admitir sustituciones que dejan sin cambio la estructura cristalográfica, y que empobrecen la cristalinidad del fosfato, generando también un aumento en la solubilidad <sup>(24)</sup>. Técnicas de síntesis: reacciones en estado sólido, síntesis sol-gel y síntesis en medio acuoso. La reacción en estado acuoso puede ser dividida en tres grupos: precipitación, tratamiento hidrotérmico e hidrólisis de otros fosfatos de calcio. Las rutas de síntesis utilizadas en esta investigación son: la síntesis sol-gel para el Biovidrio y la síntesis en medio acuoso en la obtención de Hidroxiapatita.

**1.2.3.1 Síntesis Sol- Gel.** Este procedimiento permite a los precursores pre-reaccionar, gracias a la reactividad del fósforo en el alcohol llevando a la formación de geles que producen materiales como: películas densas y transparentes, polvos ultra finos. Los iones nitrato garantizan la casi total descomposición de residuos orgánicos. Teóricamente, la síntesis sol-gel presenta ventajas respecto a otras rutas de síntesis, tales como, alta pureza en el producto, composición homogénea y temperatura de síntesis baja <sup>(23)</sup>.

**1.2.3.2 Síntesis en Medio Acuoso.** La precipitación Química es uno de los métodos más utilizados, por su simplicidad y alto rendimiento <sup>(27, 28)</sup>. Esta reacción toma lugar entre iones de fosforo y calcio, bajo condiciones controladas de pH (básico) y secado de la solución. Es necesario controlar la relación molar Ca/P en los precursores para evitar su variación en el

producto final, y la formación de un producto no estequiométrico. Los tratamientos térmicos realizados por encima de 700°C, mejoran la cristalinidad y ayudan a descomponer las fases de HAP no estequiométrica en una mezcla de TCP-HAP <sup>(29)</sup>.

### **1.3 BIOMATERIALES POLIMÉRICOS**

**1.3.1 Acido Poliláctico (PLA)** <sup>(30)</sup>. Es un biopolímero termoplástico cuya molécula precursora es el ácido láctico. Debido a su biodegradabilidad y biocompatibilidad, se han encontrado diversas aplicaciones debido a un rango inusual de propiedades, desde el estado amorfo al cristalino. Tiene la capacidad de formación controlada de tejidos biológicos durante su biodegradación. El PLA es un polímero semicristalino con punto de fusión de aproximadamente 174-184°C. En los implantes ortopédicos se usa el ácido poli (L-láctico) PLLA, donde el polímero solo consiste en el isómero L, el cual le otorga propiedades como la estereoregularidad, alta resistencia a la tensión y baja elongación, y por tanto tiene un módulo de Young elevado, lo que hace al polímero adecuado para aplicaciones que tienen que soportar carga, como son las suturas y fijaciones ortopédicas.

**1.3.1.1 Síntesis.** La síntesis del ácido poliláctico fue estudiada por Carothers en 1932 <sup>(31)</sup>. Aunque el ácido láctico puede ser sintetizado directamente en ácido poliláctico, se puede alcanzar un mayor peso molecular si primero se transforma el ácido en un diéster cíclico conocido como “polilactide”. Generalmente se lleva a cabo la polimerización por apertura de anillo del diéster cíclico, degradación hidrolítica del ácido láctico y por policondensación. ANEXO B: Biodegradabilidad y policondensación del ácido poliláctico.

## 1.4 BIOMINERALIZACIÓN

Estos biominerales se encuentran depositados en los sistemas biológicos constituyendo parte del endo y exoesqueletos, dientes, sensores ópticos, sistemas de protección, o bien son la causa de diversas patologías en seres humanos, como cálculos renales, biliares y calcificación en la pared arterial <sup>(36)</sup>. En el ser humano las concentraciones de iones calcio y fosfato en el líquido extracelular son considerablemente mayores que las necesarias para causar la precipitación de la Hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  <sup>(37)</sup>. Si bien la mayoría de los organismos no forman depósitos minerales, se ha encontrado que algunas proteínas, polímeros: hidroxiapatita, ácido poliláctico, biovidrio y otros orgánicos podrían ser responsables del proceso de nucleación y crecimiento de los cristales. El grado de biomineralización es el factor más importante para determinar las capacidades mecánicas del hueso.

Los minerales están ligados a través de las proteínas no colágenas y estas conforman entre 3 % y 5 % de la composición del hueso, las cuales proveen emplazamientos activos para la biomineralización y unión celular <sup>(38)</sup>.

Un proceso adyacente a la biomineralización es la adsorción, en el cual se extrae materia de una fase y se concentra sobre la superficie de otra fase (generalmente sólida). La sustancia que se concentra en la superficie o se adsorbe, "adsorbato" y la fase adsorbente, "adsorbente". La adsorción desde una disolución a un sólido es por consecuencia del carácter liofóbico (no afinidad) del soluto respecto al disolvente particular, o debido a una afinidad elevada del soluto por el sólido o por una acción combinada de estas dos fuerzas. El grado de solubilidad de una sustancia disuelta es el factor más importante para determinar la intensidad de la primera de las fuerzas impulsoras. Cuanta mayor atracción tiene una sustancia por el disolvente menos posibilidad tiene de trasladarse a la interfase para ser adsorbida. <sup>(39)</sup>

ANEXO C: Tipos de Adsorción

## 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Para el desarrollo experimental de esta investigación se llevaron a cabo las siguientes etapas:

- Síntesis y obtención de materiales como: ácido poliláctico, hidroxiapatita y Biovidrio, para la respectiva formación de las mezclas usadas en el trabajo de investigación.
- Investigación sobre las variables influyentes en el proceso de adsorción y biomineralización.
- Estudio y evaluación del proceso de adsorción y biomineralización.

### 2.1 REACTIVOS Y EQUIPOS

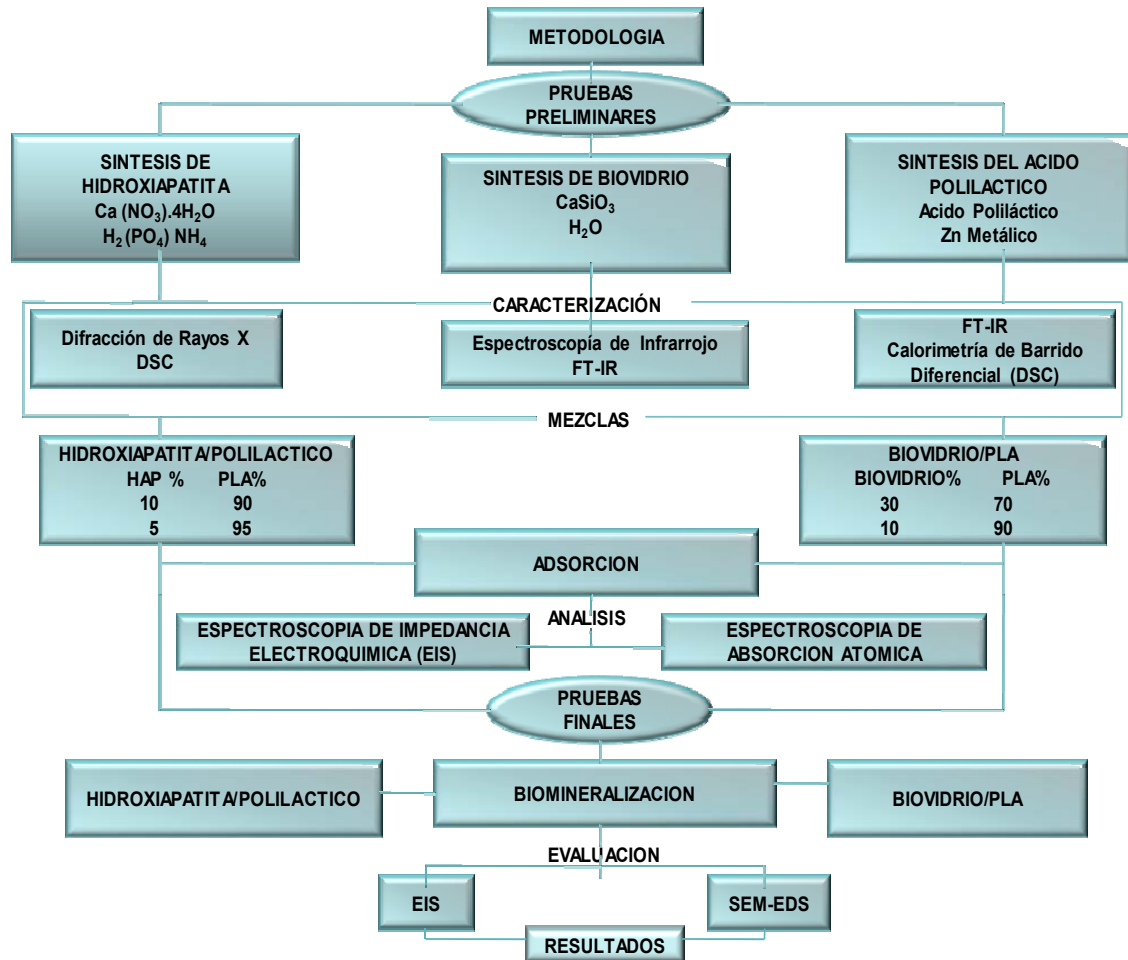
#### Reactivos

- ❖ Ácido láctico, Silicato de calcio, Nitrato de calcio y ácido ortofosfórico.
- ❖ Solución fisiológica simulada (SBF),
  1. NaCl al 99,5%, merck
  2. NaHCO<sub>3</sub> seco al 99 %, merck
  3. KCl al 99.5%, merck
  4. K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3H<sub>2</sub>O al 99%, merck
  5. MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O al 98%, merck
  6. HCl 37%, merck
  7. CaCl<sub>2</sub> al 95%, merck
  8. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 99%, merck
  9. (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub> CNH<sub>2</sub> al 99.9%, merck

#### Equipos

- \*Rotoevaporador marca Buchi.
- \*Manta de calentamiento marca
- \*ACM (Potenciostato Gill AC)
- \*Celda plana de vidrio
- \*Balanza marca Mettler AE 240.
- \*Electrodo auxiliar de grafito
- \*Termómetro marca Brand.
- \*Electrodo de cloruro de plata
- \*Plancha de calentamiento con agitación magnética. Marca SCHOTT

## 2.2 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL



**Fig. 1. Esquema de la metodología experimental**

La figura 1 muestra la metodología seguida en el transcurso de la investigación, por medio de la cual se sintetizaron materiales como: Hidroxiapatita, Biovidrio y Ácido Poliláctico, caracterizándolos por DRX, FT-IR Y DSC, siendo estos los precursores utilizados en las mezclas de PLA/HAP y PLA/Biovidrio con diferentes porcentajes de polímero-cerámico <sup>(44)</sup>, se tuvo en cuenta la referencia citada, sin embargo no se utilizaron los mismos porcentajes debido a resultados no favorables en la fabricación de las

probetas, por esta razón se usaron los porcentajes mostrados en la figura 1 los cuales tienen valores cercanos a la referencia, logrando mejor compactación en las probetas que serian sumergidas en SBF, para estudios de adsorción y biomineralización.

### **2.3 TÉCNICAS USADAS EN LA EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS.**

- **Difracción de Rayos X (DRX):** Suministra información sobre la estructura química y cristalina de un material.
- **Microscopia Electrónica de Barrido-Energía dispersivo por espectroscopia de rayos X (SEM-EDS):** Evaluación morfológica.
- **Espectroscopia de Infrarrojo (FT-IR):** Determinación de variables modificadas durante la polimerización con respecto a un cambio significativo en la estructura, basado a un espectro teórico, a través de las longitudes de ondas de los picos representativos del material.
- **Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIE):** Evaluación electroquímica de materiales usados en implantes, la cual proporciona información para entender con precisión fenómenos físicos y químicos de los biomateriales.
- **Espectroscopia de Absorción Atómica:** Determinación de las concentraciones de calcio en las soluciones de SBF, antes y después de la inmersión de las probetas.

## 2.4 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 2.4.1 Pruebas preliminares

**2.4.1.1 Síntesis de la Hidroxiapatita.** La síntesis de Hidroxiapatita se realizó por medio del método de precipitación acuosa, ya que al realizar la síntesis por el método sol-gel no se obtuvieron resultados satisfactorios en el DRX (figura 4b). Las soluciones iniciales se prepararon utilizando Nitrato de Calcio tetrahidratado ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) y Fosfato amónico ( $\text{H}_2(\text{PO}_4)\text{NH}_4$ ) en concentraciones 1M y 0.48M respectivamente, adicionados en relación molar de 1,67. <sup>(50)</sup> Las soluciones se basificaron una vez preparadas antes de mezclarse, utilizando hidróxido de amonio y agitación continua durante 3 horas para obtener un pH de 9.8 a 10. Dejándose la solución en envejecimiento por 24 horas a 25°C; y luego sometiéndose a secado a 60°C por 24 horas. Luego mas calcinación por una hora a 1050°C <sup>(6)</sup>. Se analizó el producto por la técnica de caracterización DRX.

**Difracción de rayos X (DRX):** Esta técnica, permitió la evaluación de la estructura química y cristalina de los fosfatos de calcio, logrando identificar los patrones de difracción de las diferentes fases que se formaron durante la síntesis, determinando la pureza de la fase HAP <sup>(16)</sup>. DRX de HAP (tabla 4) y anexo E.

**2.4.1.2 Síntesis del Biovidrio.** La síntesis de este material se obtuvo por el método Sol-Gel; según la literatura el biovidrio sintetizado por este método presenta características bioactivas <sup>(4)</sup>. Se utilizaron el silicato de calcio y agua como precursores. Se tapó la solución evitando la entrada de aire dejándola 3 días a 25°C, luego se sometió a secado por 6 días a 70°C y 150°C realizando perforaciones en la tapa del recipiente que contenía la muestra.

Se realizó un proceso de molienda y secado a 70°C. La identificación del producto se hizo por FT-IR (figura 4). ANEXO F: Espectro del Biovidrio según la literatura y Proceso Sol-Gel

**2.4.1.3 Síntesis del Acido Poliláctico.** <sup>(3)</sup>El ácido poliláctico se sintetizó por Policondensación del ácido láctico, catalizador Zn, este proceso se efectuó con las siguientes etapas: deshidratación, temperatura (T) 100°C de 2-3 horas y presión atmosférica; esterificación a T=180°C de 6-7 horas y presión de 100mmHg; oligomeración, a T=180°C, 20-30 horas con una presión de 25mmHg; por último se realizó la policondensación a temperatura de 180°C por un periodo de 5 horas y presión de 10mmHg, variando condiciones en la etapa de oligomeración y % de catalizador; obteniendo el ácido poliláctico como producto final en los cuatro polímeros.

#### 2.4.1.4 Obtención de PLA/HAP



**Figura 2. Proceso de obtención de la mezcla PLA/HAP**

La figura 2 muestra la elaboración de la mezcla de PLA/HAP, donde se adicionó HAP al ácido poliláctico mientras se calentaba a 150°C aproximadamente, menor a la temperatura de fusión del ácido poliláctico. Con los porcentajes mencionados en la tabla 1, se obtuvieron las mezclas homogéneas y se vertió en el probetero para obtener las probetas de trabajo.

Tabla 1. Porcentajes para la realización de las mezclas de PLA/HAP

ACIDO POLILACTICO%	HIDROXIAPATITA%
95	5
90	10

#### 2.4.1.5 Obtención de PLA/BIOVIDRIO

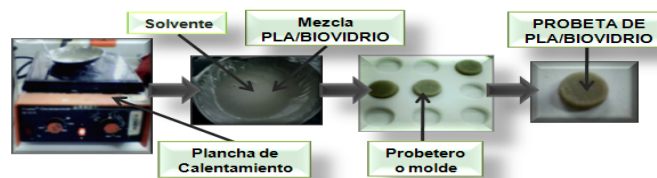


Figura 3. Proceso de obtención de PLA/Biovidrio

La figura 3 muestra la obtención de la mezcla de PLA/BIOVIDRIO, adicionando Biovidrio al ácido poliláctico lentamente manteniendo una temperatura de 150°C en la plancha de calentamiento, esto se realizó para cada porcentaje mostrado en la tabla 2, fue necesario utilizar un solvente para lograr homogenización de la mezcla, luego se pasó a moldes para obtener las probetas de trabajo.

Tabla 2. Porcentajes para mezcla PLA/Biovidrio

ACIDO POLILÁCTICO%	BIOVIDRIO%
90	10
70	30

**2.4.2 Adsorción iones de calcio.** En esta etapa de la investigación se utilizaron las probetas obtenidas con las mezclas mostradas en las tablas (1 y 2) y se preparó la solución simulada del fluido corporal (SBF) (numeral 2.1, anexo I) variándole su concentración de calcio, para sumergir las probetas por un periodo de 8 horas cambiando las temperaturas en el baño

termostatado. Se usaron las siguientes combinaciones de concentración de calcio <sup>(51)</sup> y temperatura respectiva.

**Tabla 3. Variación de la concentración de calcio en SBF**

<b>CONCENTRACION DE CALCIO (mmol/L) EN SBF</b>	<b>TEMPERATURA (°C)</b>
4,63	45
3,08	24
4,63	45
3,08	24

La tabla 3 muestra diferentes concentraciones de iones de calcio, con el fin de evaluar la adsorción de estos iones en SBF a partir de la inmersión de las muestras de PLA/HAP y PLA/Biovidrio durante 8 horas con variación en la temperatura.

### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1 PRUEBAS PRELIMINARES

##### 3.1.1 Síntesis de la Hidroxiapatita

**3.1.1.1 Difracción de Rayos X (DRX).** Se realizó el análisis cualitativo comparando el perfil observado con las difracciones reportados en la base de datos PDF-2 del *Internacional Center for Diffraction Data*. ANEXO E

**Tabla 4 a y b. Resultados de la composición de hidroxiapatita,**

	FASE	No. TARJETA PDF-2	NOMBRE
Cristalinos	$\text{Ca}_2 (\text{P}_2 \text{O}_7)$	010-81-2257	Fosfato de Calcio
	$\text{Ca P}_2 \text{O}_6$	000-11-0039	Beta-Fosfato de Calcio
	$\text{Ca}_4 \text{P}_6 \text{O}_{19}$	000-15-0177	Fosfato de Calcio

##### a. Método Sol-Gel caracterizado por DRX

	FASE	No. TARJETA PDF-2	NOMBRE
Cristalinos	$\text{Ca}_3 (\text{PO}_4)_2$	000-55-0898	Whitlockita
	$\text{Ca}_{10} (\text{PO}_4)_6 (\text{OH})_2$	010-89-6439	Hidroxi apatita

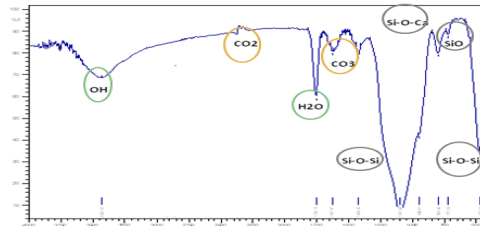
##### b. Método Precipitación Acuosa caracterizado por DRX

La tabla 4(a y b) muestra los resultados de la HAP obtenida por los dos métodos, la tabla 4a evidencia la presencia de fosfatos sin la formación de HAP; en la tabla 4b confirma que se obtuvo HAP sintética y whitlockita siendo esta ultima un precursor en la formación de HAP.

##### 3.1.2 Síntesis de Biovidrio

**3.1.2.1 Espectroscopia de Infrarrojo.** Los infrarrojos obtenidos se muestran en la figura 4 donde se indican los picos de absorción característicos de los grupos funcionales. Al hacer la comparación del espectro obtenido en el análisis con respecto al espectro de la literatura, se observo que el biovidrio

obtenido por el método sol-gel presenta los mismos picos. ANEXO F: Obtención del Biovidrio por método sol-gel e Infrarrojo según la literatura.

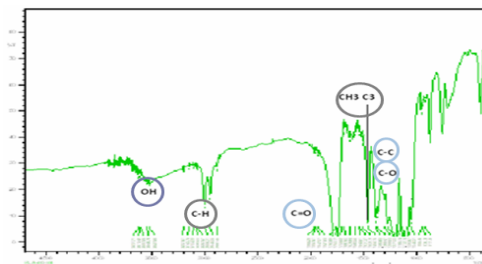


**Figura 4. Espectro Infrarrojo del Biovidrio**

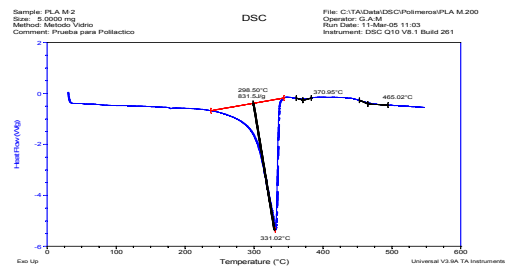
### 3.1.3 Síntesis del Acido Poliláctico

**3.1.3.1 Espectroscopia de Infrarrojo.** Se tomó como referencia los espectros de este compuesto mostrados en la literatura para compararlos con la figura 5a y concluir si las características y condiciones se asemejan al polímero elaborado en el laboratorio, para luego usar el polímero de mejor comportamiento espectroscópico,

**3.1.3.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).** Se realizó para identificar las transiciones térmicas del polímero, considerando que el cambio no ocurre repentinamente, sino a través de un rango de temperaturas; los cuatro polímeros (anexo G) obtenidos tienen un Tg de 55°C, cercana al intervalo reportado por la literatura (50-80°C) <sup>(52)</sup>, para algunos de estos polímeros existen picos de fusión más anchos lo que indica mayor heterogeneidad y presencia de diferentes regiones y grados de cristalinidad; se escogió el polímero número 2 por presentar menor cristalinidad con respecto a los otros (figura 5b).



a. Espectro Infrarrojo



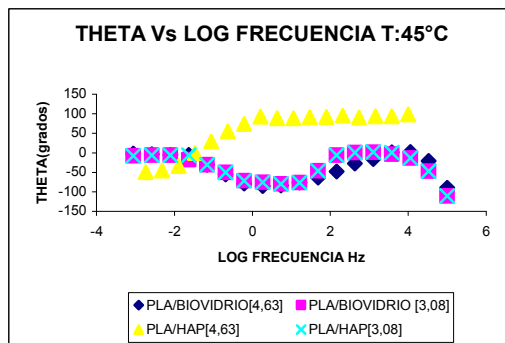
b. DSC

**Figura 5. Espectro de Infrarrojo y DSC del Ácido Poliláctico**

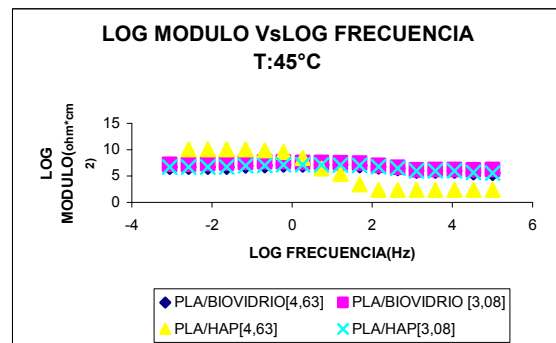
La figura 5a presenta los grupos funcionales característicos del PLA registrados en la literatura; la figura 5b muestra las transiciones térmicas de este polímero, las cuales coinciden con las referenciadas en la literatura. <sup>(52)</sup>

### 3.1.4 Adsorción de iones de calcio

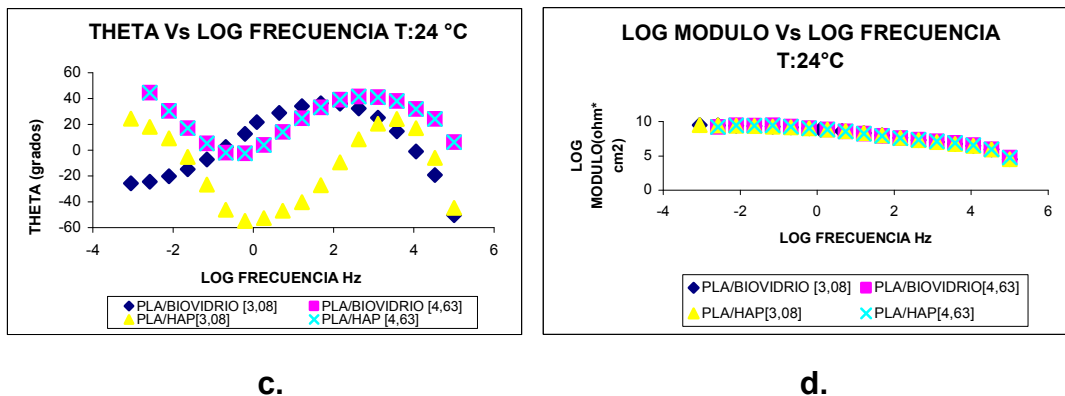
**3.1.4.1 Espectroscopia de Impedancia Electroquímica:** A través de datos electroquímicos se identificó y caracterizó el proceso de adsorción. Las figuras 6 (a, b, c, d) constituyen la respuesta del comportamiento electroquímico en diagramas de Bode y Nyquist de las mezclas, las cuales fueron sumergidas en SBF (numeral 2.1, anexo I) a diferentes concentraciones de calcio y T°C.



a.



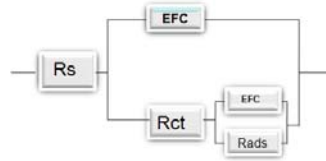
b.



**Fig. 6. Espectros de bode a T: 45°C y T: 24°C con diferentes concentraciones de iones de Ca<sup>2+</sup>, para las mezclas trabajadas.**

Para el análisis del diagrama de bode se dividieron los espectros en dos regiones de frecuencias: altas [ $10^5$ -  $10^3$ ], y bajas [ $10^0$ - $10^2$ ], en donde se identificaron dos constantes de tiempo, por los cambios de pendiente en la figura 6. La constante de tiempo a bajas frecuencias [ $10^0$ - $10^2$ ] Hz muestra los procesos de adsorción donde el ángulo de fase se encuentra entre  $40^\circ$  y  $50^\circ$ , lo que es típico de comportamientos resistivos, a excepción de la mezcla PLA/HAP que se manifiesta a una concentración de 4.63mmol/L de iones de Ca<sup>2+</sup> y 45°C, con un ángulo de fase de  $95^\circ$ , lo que represento un comportamiento capacitivo que se atribuye a la interfase electrodo-electrolito (SBF). A frecuencias altas [ $10^5$ -  $10^3$ ] Hz, las constantes de tiempo corresponde a procesos de transferencia de carga, y los ángulos de fase a estas frecuencias muestran un comportamiento capacitivo. Un modelo de circuito equivalente en paralelo se muestra en la figura 7 cuyos elementos resistivos y capacitivos constituyen el comportamiento electroquímico de las mezclas, identifica cada constante de tiempo. El elemento de fase constante se observa por medio de una capacitancia ideal y n, permitiendo ver la desviación de la idealidad del capacitor. Ver anexo H, tabla H1.

**Figura 7. Circuito equivalente para el proceso de adsorción**



Utilizando los valores de los elementos resistivos del análisis electroquímico, se obtuvieron los datos termodinámicos que describen el proceso de adsorción; para estudiar la influencia en la variación de la temperatura y la relación Ca/P, de las mezclas se prepararon soluciones SBF con diferentes relaciones de Ca/P <sup>(52)</sup>

**Tabla 5. Concentraciones iónicas con las diferentes soluciones SBF preparadas**

Solución	Concentraciones (mmol/L)							
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5
Ca/P(4)	142.0	5.0	1.5	3.08	147.8	4.2	1.0	0.5
Ca/P(6)	142.0	5.0	1.5	4.63	147.8	4.2	1.0	0.5

Los valores de Rct y C de las mezclas se ajustaron a la isoterma de Langmuir, la que es válida para la adsorción de capa simple.

$$\frac{c}{\Gamma} = \frac{1}{B_{ads}\Gamma_{max}} + \frac{c}{\Gamma_{max}}$$

Conociendo la proporcionalidad que existe entre  $\Gamma$  y  $1/Rct$  <sup>(46)</sup> se grafica, la concentración de iones de Ca<sup>2+</sup> (C) Vs Rct \*C, donde los valores de  $\Gamma$  pueden ser calculados a través de la pendiente, y el valor de B<sub>ads</sub> es mostrado en el intercepto con el eje Y. Al realizar la grafica C Vs Rct\*C, para las mezclas a varias temperaturas dieron los siguientes valores termodinámicos. Ver graficas ANEXO J.

**Tabla 6. Datos termodinámicos**

Mezcla	T °C	$\Gamma_{\text{máx}}$	Bads(L/mol)	$\Delta G(\text{KJ/mol})$	$\Delta S(\text{KJ/mol}^\circ\text{k})$	$\Delta H(\text{KJ/mol}^\circ\text{k})$
PLA /Biovidrio	24	0,000174	455,6	-25,01	0,0386	-13,54
	45	0.029	172.32	-24.20		-11.92
PLA/HAP	24	0.00019	372.07	-24.55	-0.0781	-51.02
	45	0.000037	365.39	- 26.19		-47.19

Se obtuvo un  $\Delta G$  y  $\Delta H$  negativo indicando una adsorción espontánea sobre la superficie de los compuestos y una reacción exotérmica con respecto al fenómeno de adsorción, el aumento de la temperatura desfavorece la adsorción para la mezcla PLA/Biovidrio y en el caso de PLA/HAP ocurre lo contrario, atribuyéndose a los cambios estructurales de la molécula de HAP (46, 47, 48, 49).

**3.1.4.2 Espectroscopia de Absorción Atómica:** Se uso para definir la concentración de Ca absorbida por las probetas con porcentajes de PLA/HAP (95/5) y PLA/Biovidrio (90/10). La tabla 7 muestra que la mezcla de PLA/Biovidrio posee mayor absorción con respecto a la de PLA/HAP, esto indica que al sumergir la probeta en SBF variando la concentración de iones  $\text{Ca}^{+2}$ , la probeta de PLA/Biovidrio con porcentaje 90/10, contiene en su superficie mayor concentración de iones que su estado inicial.

**Tabla 7. Concentración absorbida de calcio, volumen 40ml T: 37 °C.**

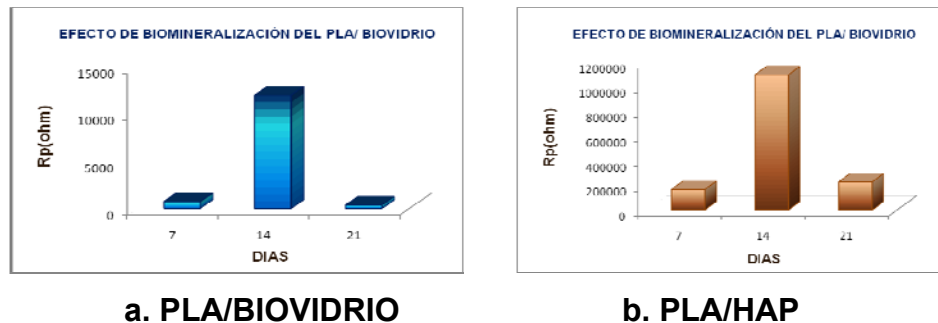
Concentración de $\text{Ca}^{+2}$ en SBF	Antes de la Inmersión en SBF (ppm)	Inmersión en SBF de HAP/PLA (ppm)	Inmersión en SBF de BIOVIDRIO/PLA (ppm)
3,08mmol/L	2,829	2,238	2,631
% ERROR	2,7	1,96	1,28
4,63mmol/L	2,9629	2,200	2,945
% ERROR	0,53	0,6	1,49

## 3.2 PRUEBAS FINALES

### 3.2.1 ESTUDIO DE BIOMINERALIZACIÓN EN INMERSIÓN DE FLUIDO FISIOLÓGICO SIMULADO.

Para evaluar la incidencia de un proceso de biomineralización, o la capacidad de las mezclas obtenidas de formar una capa de fosfato de calcio sobre su superficie o incrementar la cantidad de los ya presentes, sobre la morfología y algunas propiedades electroquímicas, se realizaron análisis por SEM y EIE a las muestras sumergidas en SBF a 0, 7, 14 y 21 días de inmersión. La biomineralización se realizó a una temperatura de 37 °C utilizando el SBF descrito por Kokubo (anexo I).

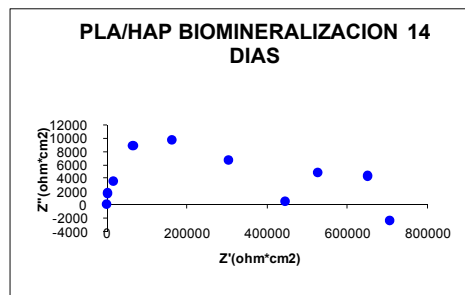
**3.2.1.1 Espectroscopia de impedancia electroquímica.** Para determinar el efecto en el tiempo de biomineralización para algunos parámetros electroquímicos, se realizaron ensayos de EIE a las mezclas. Los valores de  $R_p$  obtenidos son reportados en la figura 8. De igual manera, los diagramas de Bode y Nyquist obtenidos a cada condición son mostrados en la Figura 9.



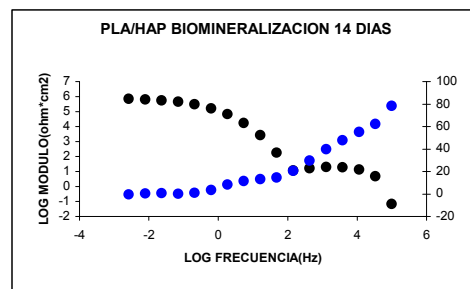
**Figura 8. Comparación del efecto de biomineralización de PLA/HAP y PLA/ Biovidrio.**

La Figura 8, muestra la variación de la  $R_p$  con el tiempo de inmersión en fluido fisiológico simulado en el proceso de biomineralización. Se observa

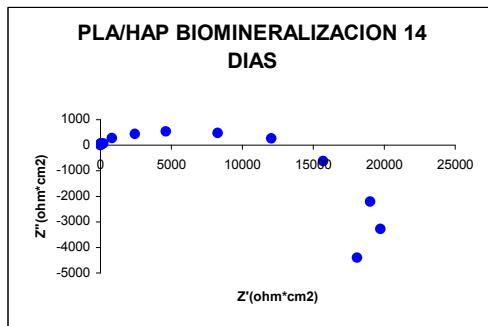
que la  $R_p$  es mínima a los 7 días de inmersión en las mezclas de PLA/HAP y PLA/Biovidrio, lo cual indica que hay una disolución de iones de calcio en la mezcla PLA/Biovidrio y de iones de Fosfato de calcio en la mezcla PLA/HAP durante este tiempo, por el contrario a los 14 días se observa un máximo en el valor de la  $R_p$  para las dos mezclas. Esto es posible por que se da adsorción de los iones de calcio y fósforo presentes en el fluido simulado que permiten formar una capa de fosfato de calcio lo cual disminuye la velocidad de degradación de compuesto; a los 21 días decrece la resistencia a la polarización al degradarse la capa formada debido a las propiedades del PLA (53)



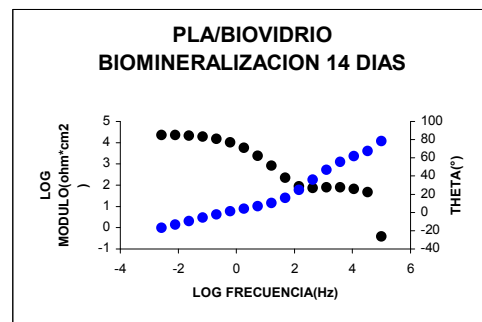
a. Diagrama de Nyquist PLA/HAP



b. Diagrama de Bode PLA/HAP



c. Diagrama de Nyquist  
PLA/Biovidrio



d. Diagrama de Bode PLA/Biovidrio

Fig. 9. Espectroscopia de Impedancia Electroquímica para PLA/Biovidrio y PLA/HAP, biomineralización 14 días.

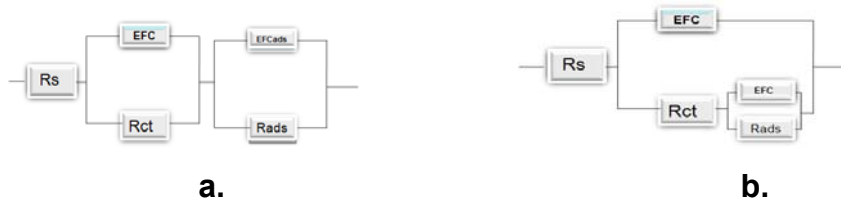
Se muestran los diagramas de EIE a los catorce días de inmersión de las mezclas de PLA/HAP Y PLA/Biovidrio, debido a que estos tienen mejor respuesta con respecto a la biomineralización (anexo K), se observan dos domos, en con dos constantes de tiempo: una a altas y otra a bajas frecuencias

A los 14 días se presentan dos constantes de tiempo, con variaciones en el ángulo de fase, mayor hacia la derecha del bode, siendo esto una respuesta de la resistencia con respecto a la caída óhmica mayor a  $100^\circ$ , atribuyéndose este comportamiento a la formación de compuestos propios del material donde podría estar el grupo silanol en el caso de la mezcla PLA/Biovidrio y fosfatos solubles en la mezcla PLA/HAP.

Los diagramas con valores negativos es decir por debajo del eje x, son manifestaciones inductivas las cuales se generan por la formación de un producto que por su naturaleza morfológica, estructural o química, permite la conducción electrónica o de carga disminuyendo la resistencia a la transferencia de carga. Con respecto a los grupos silanol (PLA/Biovidrio) que son iónicos y de alta energía y por lo tanto disminuyen el potencial y la resistencia, razón por la cual se vuelve un compuesto activo, lo que indica una señal de bioactividad. Por el contrario cuando toma valores por encima, se tiene menos actividad y menos capacidad iónica, señalando que es un compuesto estequiométricamente más estable. En el caso de PLA/HAP, los grupos que podrían apreciarse son fosfatos de calcio iónicos que atraen cationes de calcio para dar lugar a la Hidroxiapatita o a algún fosfato estequiométrico.

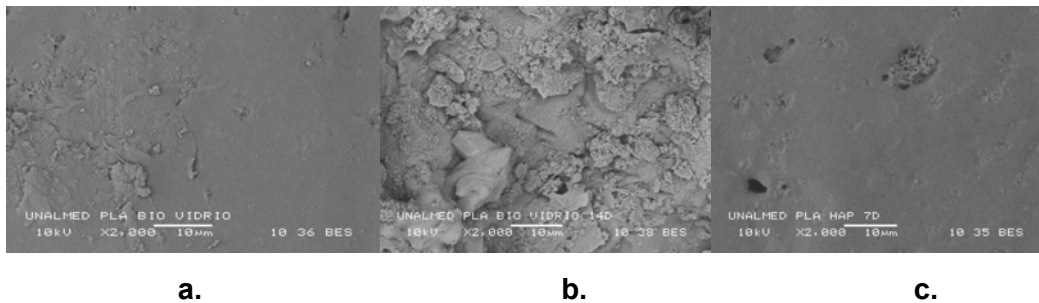
Analizando los domos se puede observar que en algunos casos, a bajas frecuencias, se presentan por encima del eje de la x, esto quiere decir que es una adsorción contributiva, fenomenológicamente esto se debe a la formación de una monocapa o producto adsorbido que involucraría reacción

química, aumentando la resistencia a la polarización. Para simular lo que ocurre en el caso de dos domos traslapados (ver figura 9.c y 10.a), el circuito adecuado es Rc en paralelo, y con respecto a la formación de dos domos en el diagrama de Nyquist (ver figura 9.a y 10.b), el circuito ajustado es RC en serie. Protocolo para el uso del ACM y Diagramas de EIE, anexo K.



**Fig. 10. Circuitos equivalente que representan la impedancia del sistema (a) Circuito en serie; (b). Circuito en paralelo**

### 3.2.2 SEM-EDS



**Fig. 11. Micrografías de muestras sumergidas en SBF: (a) PLA/Biovidrio 7 días, (b) PLA/Biovidrio 14 días y (c) PLA/HAP 7 días.**

En la figura 11, se muestra la morfología de algunas muestras sumergidas en SBF. En la figura 9(a) se observa la formación de fosfato de calcio por la técnica de EDS y se aprecia una superficie poco porosa, la cual carece de sitios activos, a diferencia de los catorce días de inmersión, figura 9(b), donde la superficie de la mezcla PLA/Biovidrio cambió de manera significativa, es decir, es más porosa en presencia de fosfato de calcio, en la superficie de la mezcla, a mayores tiempos de inmersión. Con respecto a la figura 9(c), muestra de PLA/HAP, los resultados obtenidos por la micrografía se evidencia el crecimiento de fosfato de calcio a pesar del poco tiempo de inmersión en SBF. Los análisis EDS se muestran en el anexo L.

## CONCLUSIONES

- El proceso de biomineralización, presentó un máximo de Rp de inmersión en SBF para la mezcla PLA/HAP; atribuyéndose a la formación de una monocapa de fosfato de calcio, con mayor estabilidad comparada con la mezcla PLA/Biovidrio; ya que refleja menores velocidades de degradación al tener valores de Rp mayor. Por esta razón se considera que la mezcla de PLA/HAP posee mayor efecto de biomineralización.
- La utilización del método Sol-Gel para la síntesis del Biovidrio, Precipitación Acuosa en la obtención de la HAP y Policondensación para la elaboración del PLA, mostraron resultados satisfactorio con respecto a los materiales esperados para la fabricación de las mezclas PLA/HAP y PLA/Biovidrio.
- Las mezclas estudiadas presentaron parámetros electroquímicos muy similares, donde los valores a la misma temperatura y concentración prácticamente se superponen, para cada una de las mezclas; exceptuando la condición de mayor temperatura y concentración de iones de calcio para la mezcla PLA/HAP de igual forma se presenta adsorción espontánea para las dos mezclas.
- Las pruebas de SEM-EDS permitieron determinar que hubo formación de fosfatos de calcio en la mezcla de PLA/BIOVIDRIO a los 14 días de inmersión en SBF, lo anterior coincide con los resultados electroquímicos mostrados.

## BIBLIOGRAFIA

1. W. Suchanek, M. Yoshimura, "Processing and Properties of Hydroxyapatite based Biomaterials for use as Hard Tissue Replacement Implants", J. Mater. Res. Vol. 13, 1 pp. 94-117 (1998).
2. P. N. De Aza, A. H. De Aza, S. De Aza, "Crystalline Bioceramic Materials", Bol. Soc. Esp. Ceram. V. 44, 3, pp. 135-145, (2005).
3. D. C. Parada Quinaya, P. González Trabajo de Grado "obtención, Electrodeposición y Caracterización de un polímero bioabsorbible a partir de ácido l – láctico para aplicaciones biomédicas"(2007)
4. M Valleg Regi. Monografía xix "Liberación de fármacos en matrices biocerámicas: avances y perspectivas "pp.85-89(2001)
5. P. Saravanapavan, J.R. Jones, R S. Pryce, L L Hench "Biactivity of gel-glass powders in the cao-sio<sub>2</sub> system: a comparison with ternary(cao-p<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-sio<sub>2</sub>) and quaternary glasses(sio<sub>2</sub> -cao-p<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-na<sub>2</sub>O)"(2002)
6. C. Garcia, C. Paucar. "Study of some parameters that determine the synthesis of hydroxyapatite by the precipitation route" (2006)
7. D. F Williams, ed., "Definitions in Biomaterials; Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials", Progress in Biomedical Engineering, Vol. 4. El Sevier, Amsterdam
8. T. R. Cuadrado y G. A. Abraham. "Propiedades Mecánicas de Biomateriales" Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA) Mar del Plata, Argentina.2002
9. A.Helebrant, L. Jonasova L. and L. Sanda. "The influence of simulated body fluid composition on carbonate hydroxyapatite formation", Ceramics Silikaty, vol. 1, pp.9-14, 2003.
10. M. Vallet-Regí, A.I. Martín, A.J. Salinas, N. Olmo, J. Turnay and M.A. Lizarbe: "In vitro behaviour of bioactive sol-gel glasses." p.p. 93, 328-329. (2001)

11. J. Gil-Albarova, A. Salinas, A. L. Bueno-Lozano, J. Román, N. Aldinico, A. García-Barea, G. Giavaresi, M. Fini, R. GIARDINI and M. Vallet-Regí: "The in vivo behaviour of a sol-gel glass and a glass-ceramic during critical diaphyseal bone defects healing. *Biomaterials*," pp.26. (2005)
12. M. Vallet-Regí, A.M. Romero, V. Ragel, R.Z. Legeros: "XRD, SEMEDS and FTIR studies of in vitro growth of an apatite-like layer on sol-gel glasses." *J. Biomed. Mater. Res.* 44,p.p 416-421. (1999)
13. M. Vallet-Regí, C.V. Ragel, A.J. Salinas: "Glasses with medical applications. Microreview." *Eur. J. Inor. Chem.* 6,p.p 1029-1042. (2003)
14. F. Balas, D. Arcos, J. Pérez-Pariente, M. Vallet-Regí: "Textural properties of SiO<sub>2</sub>·CaO·P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glasses prepared by the sol-gel method". *J. Mater. Res.*16 (5), p.p1345-1348. (2001)
- 15 X. Yan, C. Yu, X. Zhou, J. Tang and D. Zhao: "Highly ordered mesoporous bioactive glasses with superior in vitro bone-forming bioactivities." *Angew. Chem. Int. Ed.* 43, p.p5980-5984. (2004)
16. V.J. Shurtleff, L.L. Hench: "Bioactive materials for tissue engineering, regeneration and repair". *J. Mater. Sci.* 38, 4697. (2003)
17. M. Vallet-Regí: "Ceramics for medical applications. Perspective Article". *J. Chem.* p.p 97-108. (2001)
18. L.L. Hench: *Curr Opin.* "Sol-gel materials for bioceramic applications". *Solid State Mater Sci*, 60, 4. (1997)
19. L. B. Leonor, R. A. Sousa, and R. L. Reis. "Novel starch thermoplastic/bioglass composites: Mechanical properties, degradation behavior and in vitro bioactivity" *Journal of Materials science: Materials in Medicine*, vol. 13, pp.939-945, (2002).
20. V Karageorgio, D Kaplan." Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis." *Biomaterials.*; 26: 5474–5491 (2005)
21. SSh Homaeigohar, MA Shokrgozar, A Yari Sadi, A Khavandi, J Javadpour, M Mosseinalipour. "*In vitro* evaluation of biocompatibility of

- beta-tricalcium phosphatereinforced high-density polyethylene; an orthopedic composite." *J Biomed Mater Res A.*; 75(1): 14-22. (2005)
22. BK Tay, VV Patel, DS Bradford. "Calcium sulfate- and calcium phosphate-based bone substitutes. Mimicry of the mineral phase of bone. *Orthopedic Clinics of North America.*; 30(4): 615-622. (1999)
- 23 Sastre, R. De Aza, S. San Roman, " Biomateriales". Faenza Editrice Iberica. Italia (2004).
24. Landi, E. Tampieri, A. Celotti, G. Vichi, L. "Influence of synthesis and sintering parameters on the characteristics of carbonate apatite". *Biomaterials* 25 1763-1770. (2004)
25. Liu, M. Troczynsky, T. Tseng, W." Water based sol-gel of Hydroxyapatite: process development". *Biomaterials* 22: 1721-1730 (2001)
26. S.C. Xianzhu, Y. Zhangyin, X. "Síntesis and sintering of nanocrystalline hydroxiapatite powders by gelatin-based method. *Ceramics International*" (2007).
27. J. Mo-sung, Y. Chul Lee, J. Yang. "Crystallization and sintering characteristics of chemically precipitated hydroxyapatite nanopowder" (2004)
28. Mobasepour, I. Soulati heshajin, M. Kazemzadeh, A. Zakeri, M. "Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method. *Journal of Alloys and compounds*"(2007).
29. Mostaffa, N. "Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes. *Materials chemistry and physics.*" (2005).
30. Zwiers RJM, Gogolewski S, Pennings AJ. "General Crystallization Behavior of Poly(LLactic Acid) Plla .2. Eutectic Crystallization of Plla. *Polymer*" (1983).

31. Carothers WH, Dorough GL, Van Natta FJ. "Studies of Polymerization and Ring Formation. The Reversible Polymerization of Six-Membered Cyclic Esters. Journal of the American Chemical Society" (1932).
32. G.Xin, chen. Hun-Sik, K. Eung-Soo, K. Jin-San, Yoon. "Synthesis of high-molecular-weight poly (L-lactic acid) through the direct condensation polymerization of L-lactic acid in bulk state. European Polymer journal" (2006).
33. H, S. Jamshidi, K. Ikada, Y. "Synthesis of polylactides with different molecular weights. Biomaterials" (1997).
34. M, S. Lee, .Taniguchi, I. Miyamoto, M. Kimura, Y. "Melt/solid polycondensation of L-lactic acid: an alternative route to poly (L-lactic acid) with high molecular weight. Polymer" (2001).
35. Schwach, G. Coudane, J. Engel, R. Vert, M. "Something new in the field of PLA/GA bioresorbable polymers?. Journal of controlled release" (1998).
36. G. H. Nancollas\*, W. Wu "Biomineralization mechanisms: a kinetics and interfacial energy approach"; Department of Chemistry, Natural Sciences Complex, State University of New York at Buwalo, Suny, Buwalo, NY 14260-3000, USA
37. Mann, S. (2001). "Biomineralization, principles and concepts in Bioinorganic Materials Chemistry, Oxford University Press".
38. H. Dong a, B. Meng b, N. Zhu b, F. Cui b, "Biomineralization of five polymers in human bile a Department of Materials Science and Engineering", Tsinghua University, Beijing 100084, China b Institute of Biomedical Engineering, Dalian University, Dalian 116010, China.
39. Adsorción, documento lección 17 "procesos de adsorción"
40. Mendoza, J. Duran, R. Genescá. "Notas Espectroscopia de Impedancia Electroquímica en corrosión". Instituto mexicano del petróleo.
41. A. J. Bard, L. R. Faulkner, "Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications". Wiley, New York, 2nd Edition.

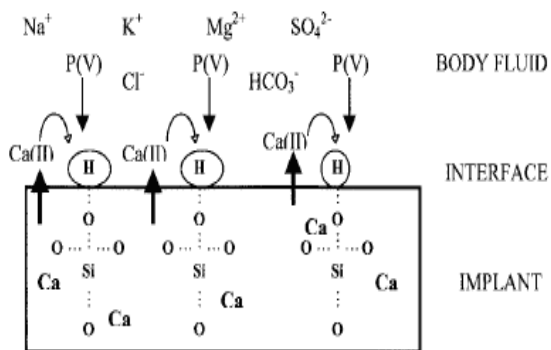
42. Mendoza, J. Duran, R. Genescá. "Notas Espectroscopia de Impedancia Electroquímica en corrosión". Instituto mexicano del petróleo.
43. Kelly, R. Scully, J. "Electrochemical techniques in corrosion science and engineering. Editorial Marcel Dekker. Nueva York 2002. Policondensación plilctico".
44. M. E. Navarro. "Desarrollo y Caracterización de Materiales Biodegradables para Regeneración Ósea". Memoria de tesis presentada para optar al grado de Doctor en Ciencias. Especialidad Ingeniería Química por la Universitat Politècnica de Catalunya. 2005.
45. M Bastidas. "Técnicas electroquímicas de corriente alterna. Centro nacional de investigaciones metalúrgicas". 2003.
46. S. Omanovic and S. G. Roscoe. "Interfacial Behavior of  $\gamma$ -Lactoglobulin at a Stainless Steel Surface: An Electrochemical Impedance Spectroscopy Study". Department of Chemistry, Acadia University, Wolfville, Nova Scotia, B0P 1X0, Canada.
47. S. G. Roscoe, K. L. Fuller, and G. J Robitaille. "Influence of electrostatic interaction on fibrinogen adsorption on gold studied by imaging ellipsometry combined with electrochemical methods, Colloid Interface Sci". 160, 243 (1993).
48. J. Visser, and T. J. M. Jeurnink. "The effect of citrate on calcium phosphate deposition from simulated milk ultrafiltrate (SMUF) solution, Experimental Thermal Fluid Sci". 14, 407 (1997).
49. C. A. Haynes, and W. Norde, "Globular proteins at solid/liquid interfaces Colloids Sur. B: Biointerfaces". 2, 517 (1994).
50. M. E. Londoño, A Echavarría, F. de la calle, "Características cristaloquímicas de la Hidroxiapatita sintética tratada a Diferentes temperaturas", Revista EIA, Número 5 p. 109-118. 2006.

51. L.-T. Lim, R. Auras, M. Rubino "Processing technologies for poly(lactic acid)" G Model JPPS-541; (2008)
52. E. M. Camargo González, C. A. González Santos, Trabajo de Grado "Evaluación electroquímica de substratos de  $\text{Ti6Al4V}$  con recubrimiento anódico y de fosfato de calcio en suero fisiológico", 2005.
53. J. M. Fuentes Torres, Trabajo de Grado, "Efecto del tratamiento alcalino sobre el comportamiento electroquímico de un recubrimiento de biovidrio basado en  $\text{SiO}_2$ - $\text{P}_2\text{O}_5$ - $\text{CaO}$ - $\text{Na}_2\text{O}$  obtenido por anodizado por plasma químico sobre  $\text{Ti6Al4V}$ " 2008.
54. S. Douglas, F. J. Holler and T. Nieman. A "*Principles of Instrumental Analysis.*" Fifth Edition. pp. 905–908, 1998.
55. J. Ojeda Sahagún, "Métodos de microscopía electrónica de barrido en biología. 1998

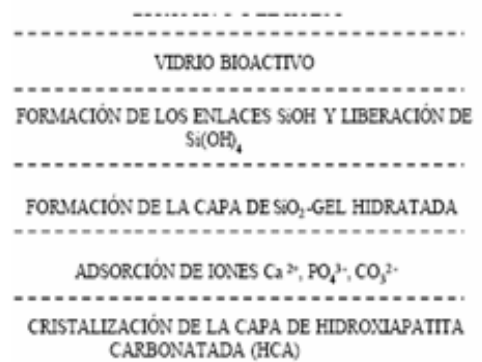
## **ANEXOS**

## ANEXO A. REPRESENTACIÓN DEL MECANISMO DE LA FORMACIÓN DE APATITA EN UNA SUPERFICIE BIOACTIVA

### MECANISMO



### ETAPAS DE LA REACCIÓN SUPERFICIAL

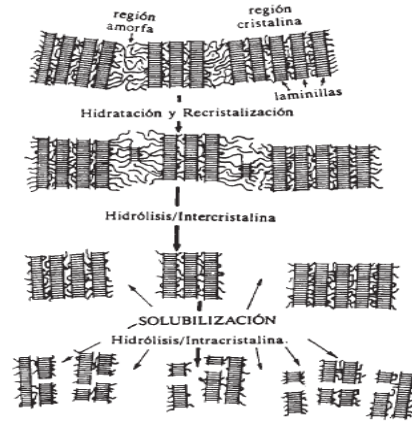


**Fig. A1** Mecanismo de la formación de Apatita en una Superficie Bioactiva.

Fuente: Kokubo T. *A/W glass ceramics: processing and properties*. In: Hench LL, Wilson J, editors. *Introduction to bioceramics*. Singapore: World Scientific; 1993. P. 75

## ANEXO B. BIODEGRADACIÓN Y POLICONDENSACIÓN DEL ÁCIDO POLILÁCTICO

El proceso de biodegradación del PLLA supone la hidrólisis de las cadenas de polímero para dar lugar a ácido láctico, el cual es metabolizado directamente a través del ciclo del ácido tricarboxílico y, finalmente, eliminado del organismo como dióxido de carbono por vía pulmonar.



**Fig. B1.** Fases de degradación del PLLA

Fuente: Mecanismo tomado de la Monografía: Matrices biocerámica-polímero. Daniel Arcos Navarrete

Las fibras de PLLA adsorben agua en pocos minutos a 37° C, con isothermas de adsorción típicas de polímeros hidrofílicos. Inicialmente se produce una difusión del fluido fisiológico hacia el interior del implante, alcanzando sectores amorfos en los que comienza a producirse la hidrólisis de los enlaces éster, como se aprecia en la figura 1.

**Policondensación.** Los polímeros de condensación se forman por reacciones sucesivas de condensación de monómeros bifuncionales, es

decir que tienen un grupo reactivo en cada extremo. Estas reacciones generalmente van acompañadas de la eliminación de una molécula pequeña como  $H_2O$ ,  $HCl$ ,  $CH_3OH$ , etc.

El ácido poliláctico se puede sintetizar por policondensación directa del ácido láctico. Sin embargo, en comparación con el método establecido para la polimerización catalítica de apertura del anillo del L-lactide, la policondensación directa del ácido láctico ha recibido mucho menos atención ya que mediante este procedimiento, se obtienen polímeros con peso molecular del orden de solamente 104 g/mol, debido a la constante de equilibrio desfavorable de la reacción <sup>(32, 33, 34, 35)</sup>.

## **ANEXO C. TIPOS DE ADSORCION**

Cabe distinguir tres tipos de adsorción según que la atracción entre el soluto y el adsorbente sea de tipo eléctrico, de Van der Waals o de naturaleza química.

La adsorción del primer tipo cae de lleno dentro del intercambio iónico y a menudo se le llama adsorción por intercambio, que es un proceso mediante el cual los iones de una sustancia se concentran en una superficie como resultado de la atracción electrostática en los lugares cargados de la superficie. Para dos adsorbatos iónicos posibles, a igualdad de otros factores, la carga del ión es el factor determinante en la adsorción de intercambio. Para iones de igual carga, el tamaño molecular (radio de solvatación) determina el orden de preferencia para la adsorción.

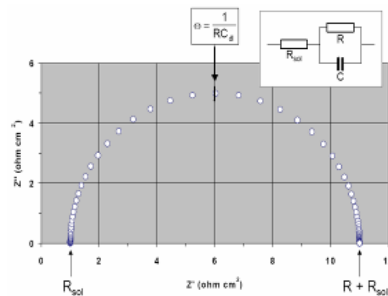
La adsorción que tiene lugar debido a las fuerzas de Van der Waals se llama generalmente adsorción física. En estos casos, la molécula adsorbida no está fija en un lugar específico de la superficie, sino más bien está libre de trasladarse dentro de la interfase. Esta adsorción, en general, predomina a temperaturas bajas. La adsorción de la mayoría de las sustancias orgánicas en el agua con carbón activado se considera de naturaleza física.

Si el adsorbato sufre una interacción química con el adsorbente, el fenómeno se llama adsorción química, adsorción activa o quimisorción. Las energías de adsorción son elevadas, del orden de las de un enlace químico, debido a que el adsorbato forma unos enlaces fuertes localizados en los centros activos del adsorbente. Esta adsorción suele estar favorecida a una temperatura elevada

## ANEXO D. TECNICAS USADAS PARA LA CARACTERIZACION DE LOS COMPUESTOS

### Espectroscopia de Impedancia Electroquímica

Estudia el comportamiento en medios corrosivos de materiales usados en la industria con diferentes aplicaciones, como la construcción de prótesis, que usan como materia prima los biomateriales. En el procedimiento, se aplica una señal de potencial  $E$  a un electrodo y se mide su respuesta en corriente ( $I$ ) a diferentes frecuencias, esta técnica procesa las mediciones de potencial, tiempo y corriente, <sup>(39, 40, 41)</sup>. Los datos obtenidos en los ensayos de EIS, son reportados en los diagramas de Nyquist y Bode. El primero de ellos, también conocido como gráfico en plano complejo, corresponde a graficar  $-Z''$  vs.  $Z'$ . El diagrama de Bode es la representación de impedancia vs frecuencia y existe en 2 formas: Log en base 10 de  $|Z|$  contra Log base 10 de la frecuencia; y ángulo de fase contra Log base 10 de frecuencia (figura D1).



**Fig. D1.** Diagrama de Nyquist. Componentes real e imaginario de la impedancia total <sup>(39)</sup>.

Los espectros de impedancia obtenidos se analizan mediante circuitos eléctricos equivalentes. Un circuito equivalente es una combinación de elementos (resistencias, capacitancias, inductores, etc.). Los valores de estos parámetros eléctricos son utilizados para obtener información, tanto de velocidades de corrosión como de mecanismos de corrosión <sup>(41, 42, 43, 44)</sup>.

### **Difracción de Rayos X (DRX)**

Usada para el análisis cualitativo y cuantitativo de fases sólidas cristalinas, tanto orgánicas como inorgánicas, en muestras de polvo, capas finas o cristales de una amplia gama de materiales (minerales, rocas, sedimentos, suelos, partículas atmosféricas, residuos, metales, aleaciones, plásticos, materiales de construcción, productos químicos, productos farmacéuticos, cerámicas, pigmentos, etc.) <sup>(23)</sup>.

### **Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)**

FTIR y Raman involucran el uso de esta radiación para caracterizar los enlaces químicos, por lo que estas técnicas se consideran siempre en conjunto, aunque cada una de ellas tiene comportamientos significativamente diferentes. La vibración de una estructura determinada se analiza en términos de los grados de libertad que dicha estructura posee. Mientras que en un experimento de FTIR se emplea una lámpara de tungsteno u otra fuente de amplio espectro <sup>(54)</sup>.

### **Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)**

Es una técnica termoanalítica en la que la diferencia de calor entre una muestra y una referencia es medida como una función de la temperatura. La muestra y la referencia son mantenidas aproximadamente a la misma temperatura. La muestra de referencia debe tener una capacidad calorífica bien definida en el intervalo de temperaturas en que vaya a tener lugar el barrido. El principio básico de esta técnica es que, cuando la muestra experimenta transformación física tal como una transición de fase, se necesitará que fluya más (o menos) calor a la muestra que a la referencia para mantener ambas a la misma temperatura <sup>(54)</sup>.

### **SEM-EDS**

El (SEM) es una técnica donde un haz electrónico explora a través de la superficie de la muestra. Cuando los electrones pulsan la muestra, una variedad de señales se genera, y se detectan produciendo una imagen o una composición elemental de una muestra. Las tres señales que proporcionan una mayor cantidad de información en SEM son los electrones secundarios, la retrodispersión electrones, y rayos-X. Los electrones secundarios se emiten de los átomos ubicados en la parte superior y producen una imagen fácilmente interpretable de la superficie. La detección y medición de la energía permite análisis elemental (Energía dispersivo por espectroscopia de rayos X o EDS) capaz de proporcionar con rapidez cualitativa, o con normas adecuadas, el análisis cuantitativo de la composición elemental de muestreo con una profundidad de 1-2 micras <sup>(55)</sup>.

### **Espectroscopia de Absorción Atómica**

Este método consiste en la medición de las especies atómicas por su absorción a una longitud de onda particular. La especie atómica se logra por atomización de la muestra, siendo los distintos procedimientos utilizados para llegar al estado fundamental del átomo lo que diferencia las técnicas y accesorios utilizados. La técnica de atomización más usada es la de A.A con llama, que nebuliza la muestra y luego la disemina en forma de aerosol dentro de una llama de aire acetileno u óxido nitroso-acetileno, obteniéndose la concentración en ppm de la solución analizada <sup>(54)</sup>.

## ANEXO E. DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE LA HIDROXIAPATITA

### METODOLOGÍA

#### 1. Preparación y Montaje de las muestras

El espécimen seleccionado de la muestra fue montado en un portamuestra de aluminio mediante la *técnica de llenado frontal*.

#### 2. Toma de datos de difracción

Se realizó en un difractómetro de polvo marca RIGAKU modelo D/MAX IIIB bajo las siguientes condiciones:

Voltaje		40(kV)
Corriente		20(mA)
Rendijas (Slits)	DS	1.0°
	RS	0.3mm
	SS	1.0°
Muestreo		0.02° 2theta
Rango de Medición		10-80° 2theta
Radiación		CuK $\alpha$ 1
Monocromador		Grafito

#### Identificación de fases

Tipo de barrido	Continuo
Velocidad de Barrido	1.2°/minuto

#### 3. Análisis por Difracción de Rayos-X

##### Identificación de fases

El análisis cualitativo de las fases presentes en la muestra se realizó mediante comparación del perfil observado con los perfiles de difracción reportados en la base de datos PDF-2 del *International Centre for Diffraction Data* (ICDD).

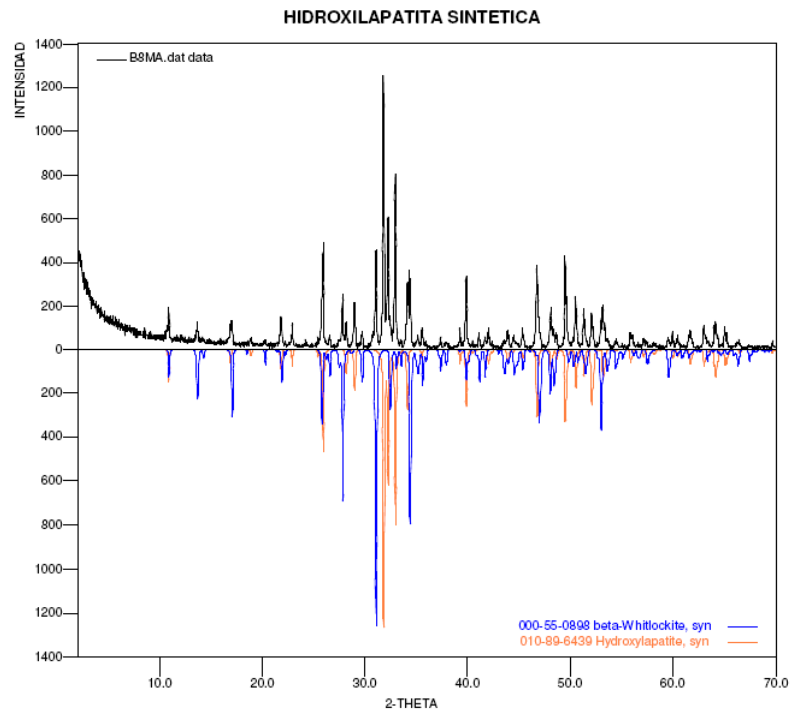
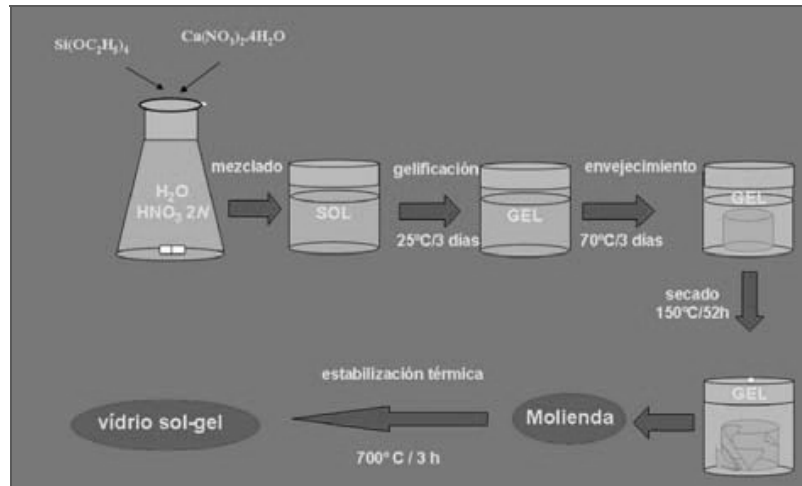


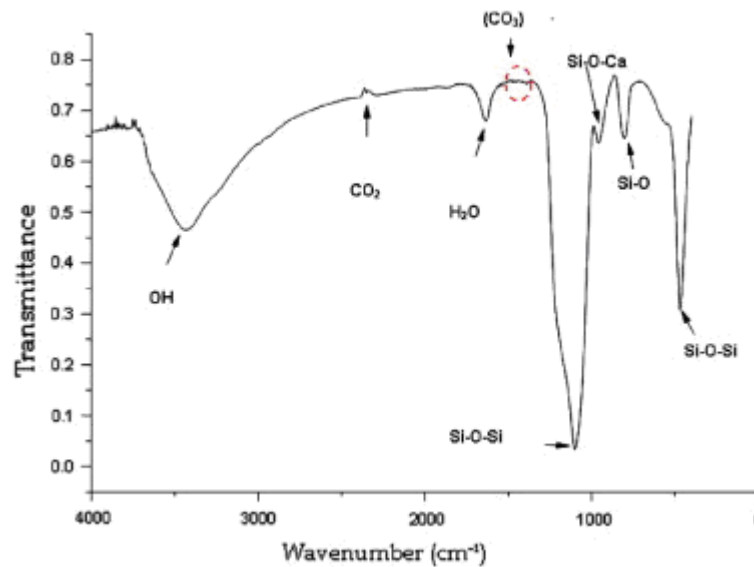
Fig. E1. DRX de la Hidroxiapatita.

## ANEXO F. PROCESO DEL MÉTODO SOL-GEL Y ESPECTROSCOPIA INFRARROJO DE BIOVIDRIO



**Fig. F1** Proceso de obtención por el método Sol-Gel del Biovidrio.

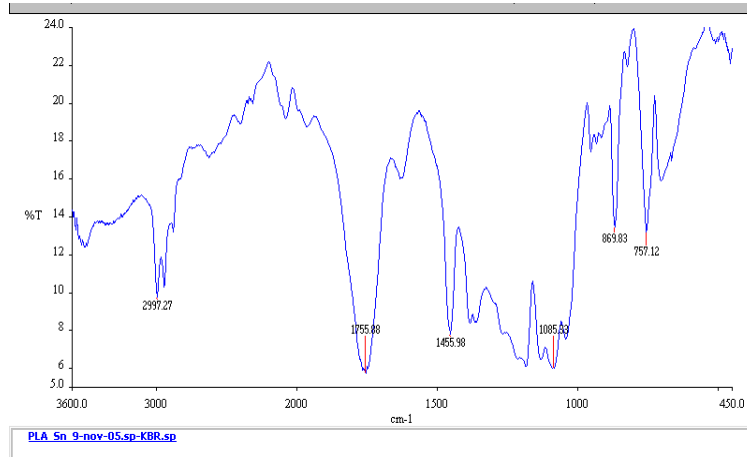
**Fuente:** Tomado de la monografía Liberación de fármacos en matrices biocerámicas: Avances y perspectivas



**Fig. F2** Infrarrojo del Biovidrio reportado en la literatura

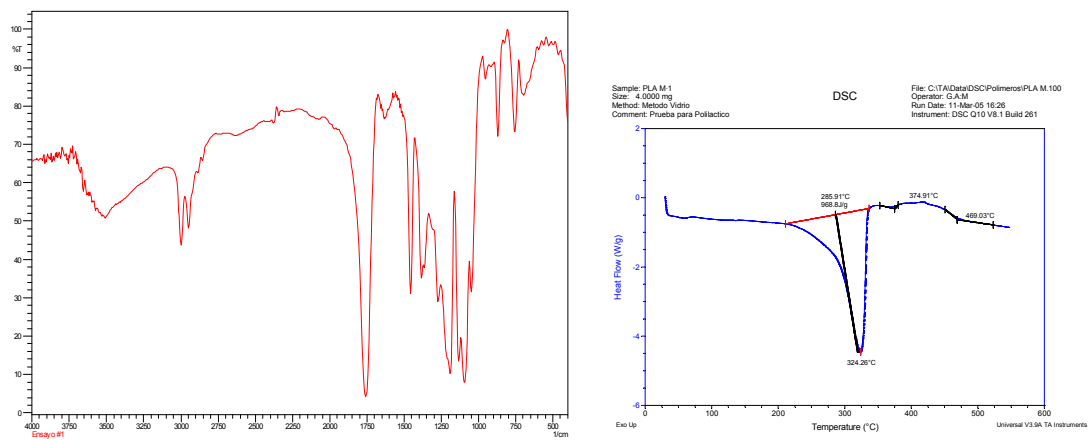
Fuente: G.S. Pappas, P. Liatsi, I.A. Kartsonakis, I. Danilidis and G. Kordas

## ANEXO G. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO Y DSC DEL ACIDO POLILÁCTICO

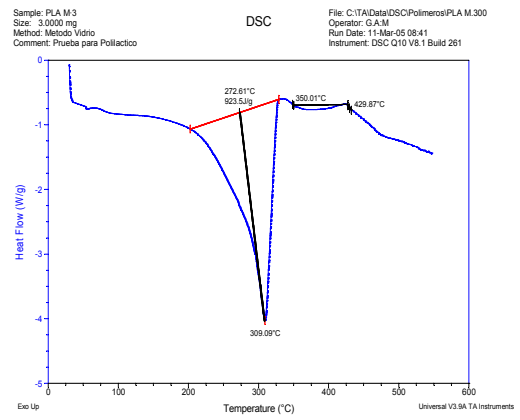
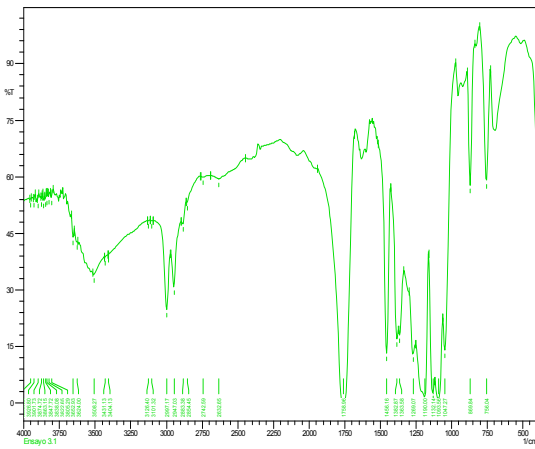


**Fig G1.** Espectro Infrarrojo del Acido Poliláctico tomado de la literatura.  
Fuente: D. Del Angel López , A. Flores Vela, J.S. Zubiaga Cano, A. García Murillo<sup>a</sup>, A. López Marure, F. Carrillo Romo.

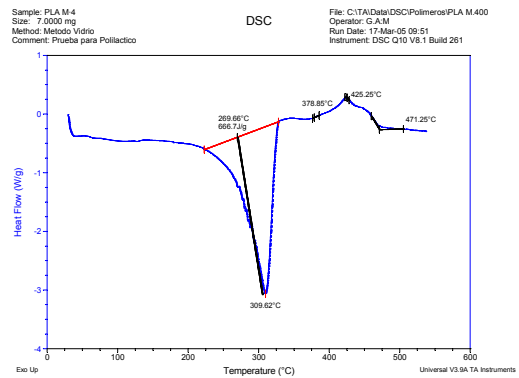
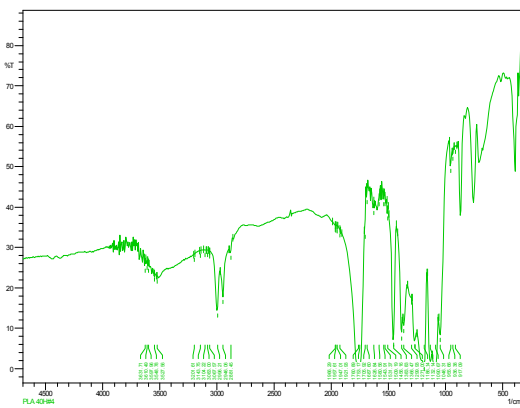
### Espectros de Infrarrojo y DSC de los polímeros obtenidos en el laboratorio.



**Fig. G2** Espectro de Infrarrojo y DSC, 1% de Zn y 20 horas de oligomeración.



**Fig. G3** Espectro de Infrarrojo y DSC, 3% de Zn y 20 horas de oligomeración



**Fig. G4** Espectro de Infrarrojo y DSC, 3% de Zn y 40 horas de oligomeración

**ANEXO H. TABLA I1. VALORES DEL CIRCUITO EQUIVALENTE DEL PROCESO DE ADSORCION**

T °C	[Ca <sup>+2</sup> ]	Mezcla	Rsln(ohm)	Rads(ohm)	Cads(F)	n	EFC	Rtc(ohm)	Cdl(F)	n	EFC	
24	3,08	PLA/Biovidrio	21258	2,24E+09	3,03exp-3	0,66	1,99exp-3	95499258,6	3,48exp-11	0,34	1,18exp-11	
	4,63		57,599	2,88E+09	6,94exp-9	0,72	4,99exp-9	20892961,3	1,78exp-11	0,85	1,51exp-11	
	2,5		11794	30902954	1,91exp-6	0,54	1,06exp-6	676082,97	7,19exp-12	0,62	4,45exp-12	
45	3,08		1036000	27922078	2,43exp-7	0,92	2,29exp-7	40738027,8	2,67exp-11	0,69	1,84exp-11	
	4,63		1236,4	9332543	2,44exp-7	0,89	2,17exp-7	933254,3	7,10exp-9	0,84	5,964exp-9	
	2,5		67894	48977882	4,09exp-7	0,69	2,82exp-7	1659586,91	9,37exp-11	0,85	7,964exp-11	
24	3,08		PLA/HAP	42523	2,75E+08	4,91exp-8	0,63	3,09exp-8	16595869,1	7,61exp-12	0,89	6,77exp-12
	4,63			12959	2,03E+09	9,58exp-9	0,89	8,76exp-9	158489319	7,10exp-12	0,52	3,69exp-12
	2,5			246490	23697362	1,56 exp -10	0,68	1,60exp-10	839459,98	5,647exp-12	0,84	4,74exp-12
45	3,08	1036000		18197009	1,23exp-7	0,37	4,55exp-8	4265795,19	8,74exp-11	0,69	4,73exp-12	
	4,63	231,47		1,06exp10	1,12exp-9	0,67	7,50exp-10	229,082	3,40exp-6	0,74	2,51exp-6	
	2,5	206020		57543994	3,10exp-8	0,76	2,35exp-8	16218101	6,94exp-12	0,89	6,17exp-12	

## ANEXO I. SOLUCION SIMULADA DEL FLUIDO CORPORAL (KOKUBO)

**Tabla I1:** Comparación de las concentraciones iónicas del fluido corporal simulado y del plasma de sangre humana.

Ion	Concentración (mmol/dm <sup>3</sup> )	
	Fluido corporal simulado (SBF)	Plasma de sangre humana
Na <sup>+</sup>	142.0	142.0
K <sup>+</sup>	5.0	5.0
Mg <sup>2+</sup>	1.5	1.5
Ca <sup>2+</sup>	2.5	2.5
Cl <sup>-</sup>	147.8	103.0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4.2	27.0
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.0	1.0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.5	0.5

El pH del SBF se ajusta a 7.25 y 36.5 °C usando 6,057g de tris (hidroximetila aminometano) y aproximadamente 40 cm<sup>3</sup> de HCl.

### Preparación del SBF

El SBF es una solución meta estable que contiene iones de calcio y fósforo saturados con respecto a la apatita, esta es preparada de la siguiente manera:

### Limpieza

- Limpiar todas las botellas, beakers, etc. Con HCl diluido, agente esterilizante y agua destilada.
- Sumergir los recipientes anteriores en HCl diluido por varias horas, retirarlas de la solución y enjuagar con agua.
- Sumergir los recipientes en un agente esterilizante toda la noche. Retirarlos del mismo y lavar con agua destilada.

- Lavar los recipientes con agua ionizada varias veces y taparlos con una película. Las botellas no necesitan secarse, si se considera necesario secar a 50°C.

### **Disolución de los reactivos**

- Colocar 750 ml de agua destilada en un beaker de 1000 ml (preferiblemente de polietileno). Mantener agitación con un agitador magnético, así como mantener la temperatura a 36.5 °C. El beaker es preferible colocarlo en un lugar limpia para evitar que se ensucie con polvo.
- Adicionar cada reactivo de acuerdo a la tabla I2 al agua hasta el reactivo Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> uno por uno hasta que cada reactivo se disuelva completamente.
- La adición del (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub> se adiciona en cantidades menores a 1 g para evitar un incremento localizado del pH.

### **Ajuste del pH**

- Calibrar el pH-metro con una solución Buffer Standard.
- Después de adicionar el (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub> ajustar la temperatura a 36.5 °C en este punto el pH debe estar alrededor de 7.5. Con una solución 1 M de HCL ajustar el pH a 7.25 o 7.4.
- después de ajustar el pH transferir la solución a un balón aforado de 1000 ml, lavando el beaker con agua destilada varias veces y adicionar la solución al frasco.
- Adicionar agua ultra pura a la solución ajustando el volumen a 1000 ml y agitar muy bien. Mantener la solución en el frasco a temperatura ambiente hasta que la temperatura baje a 20 °C y agitar muy bien.

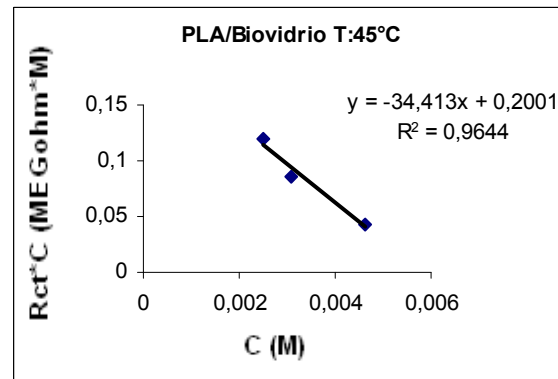
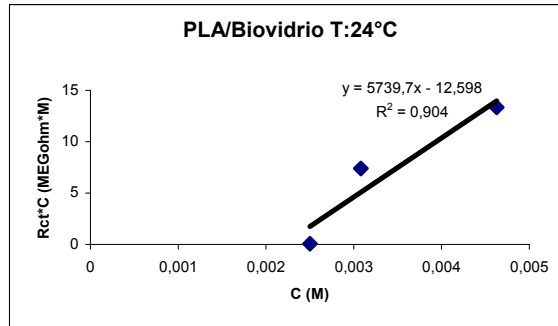
### **Almacenamiento**

- Lavar la botella de polietileno con un poco de solución al menos tres veces. Transferir la solución a esta botella.
- Almacenar la botella en un refrigerador a temperaturas de 5 a 10° C.

**Tabla I2:** Reactivo para la preparación de SBF (pH 7.25, 1 L).

<b>Orden</b>	<b>Reactivo</b>	<b>Cantidad</b>
1	NaCl	7.996 g
2	NaHCO <sub>3</sub>	0.350 g
3	KCl	0.224 g
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	0.228 g
5	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.305 g
6	1 kmol/m <sup>3</sup> HCl	40 cm <sup>3</sup>
7	CaCl <sub>2</sub>	0.278 g
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.071 g
9	(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>	6.057 g
10	1 kmol/m <sup>3</sup> HCl	cantidad apropiada para ajustar el Ph

## ANEXO J. DATOS TERMODINAMICOS DE ADSORCION



## DEPENDENCIA DE LA ENERGIA LIBRE DE GIBBS DE LA TEMPERATURA

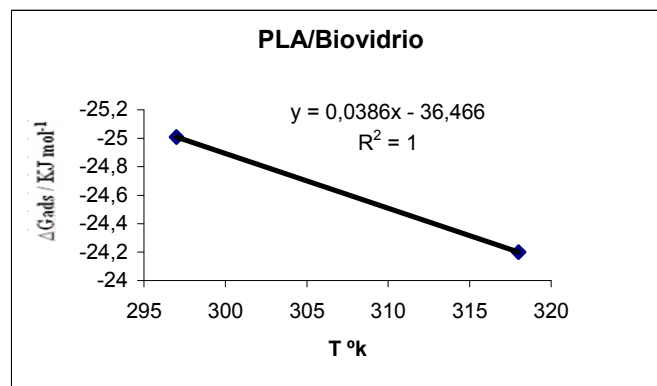
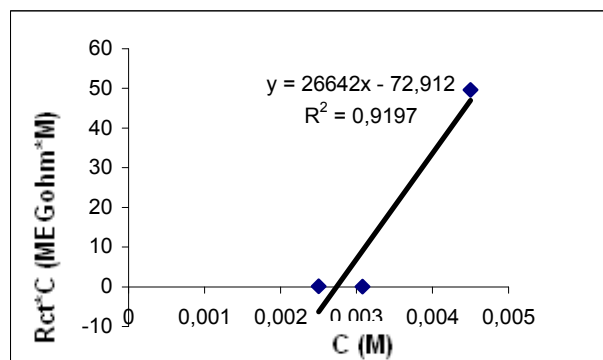
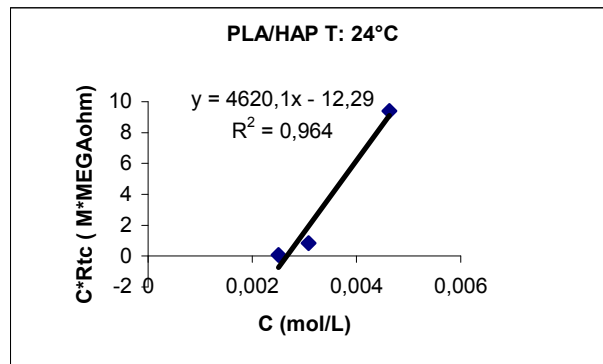
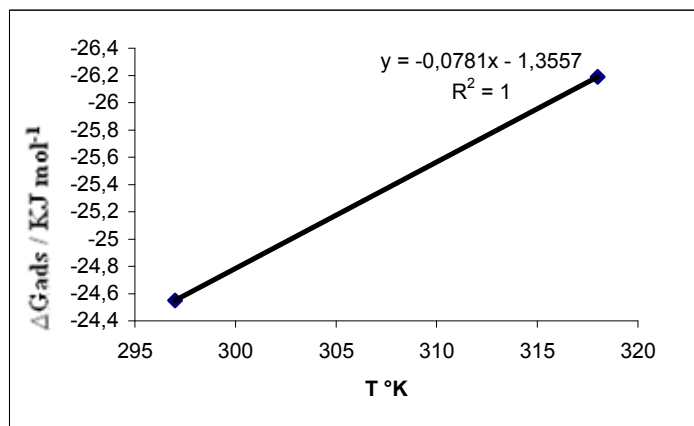


Fig. J1. Gráficas de datos termodinámicos para la mezcla PLA/Biovidrio.



**DEPENDENCIA DE LA ENERGIA LIBRE DE GIBBS DE LA TEMPERATURA**



**Fig. J2.** Gráficas de datos termodinámicos para la mezcla PLA/HAP

## ANEXO K. PROTOCOLO PARA EL ACM Y DIAGRAMAS DE ESPECTROCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUIMICA

### PROTOCOLO PARA EL EQUIPO ACM.

Antes de realizar cualquier ensayo electroquímico en el ACM, es necesario colocarlo en condiciones de uso; por esta razón se enciende por lo menos 30 minutos antes de su uso.

Las conexiones entre el equipo y la celda electrolítica deben ir ajustadas de la siguiente manera:

Conexión amarillo-negro contraelectrodo

Conexión roja Electrodo de referencia

Conexión negra Electrodo de trabajo-relacionado con la probeta (PLA/HAP y PLA/Biovidrio)

Conexión roja Contraelectrodo Grafito

Se ingresó al software del potenciostato GILL AC. Este software permite determinar velocidades de corrosión mediante técnicas de corriente alterna (CA) y corriente directa (CD). La temperatura de trabajo de los ensayos fue de (24,5, 37 y 45) °C.

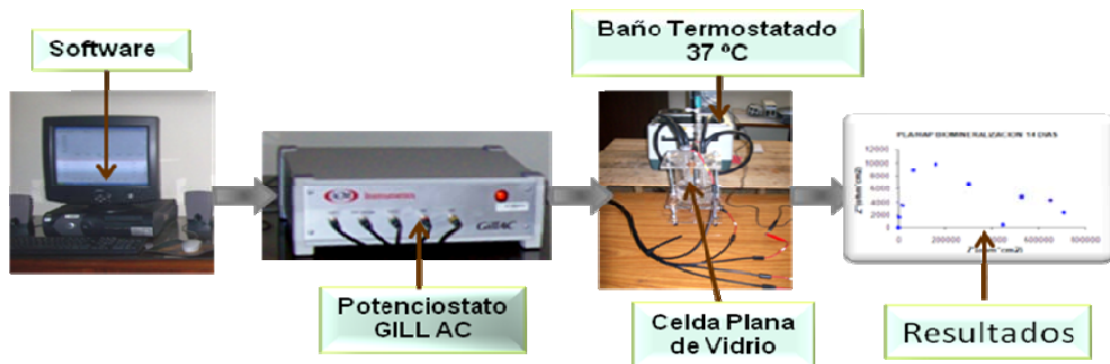
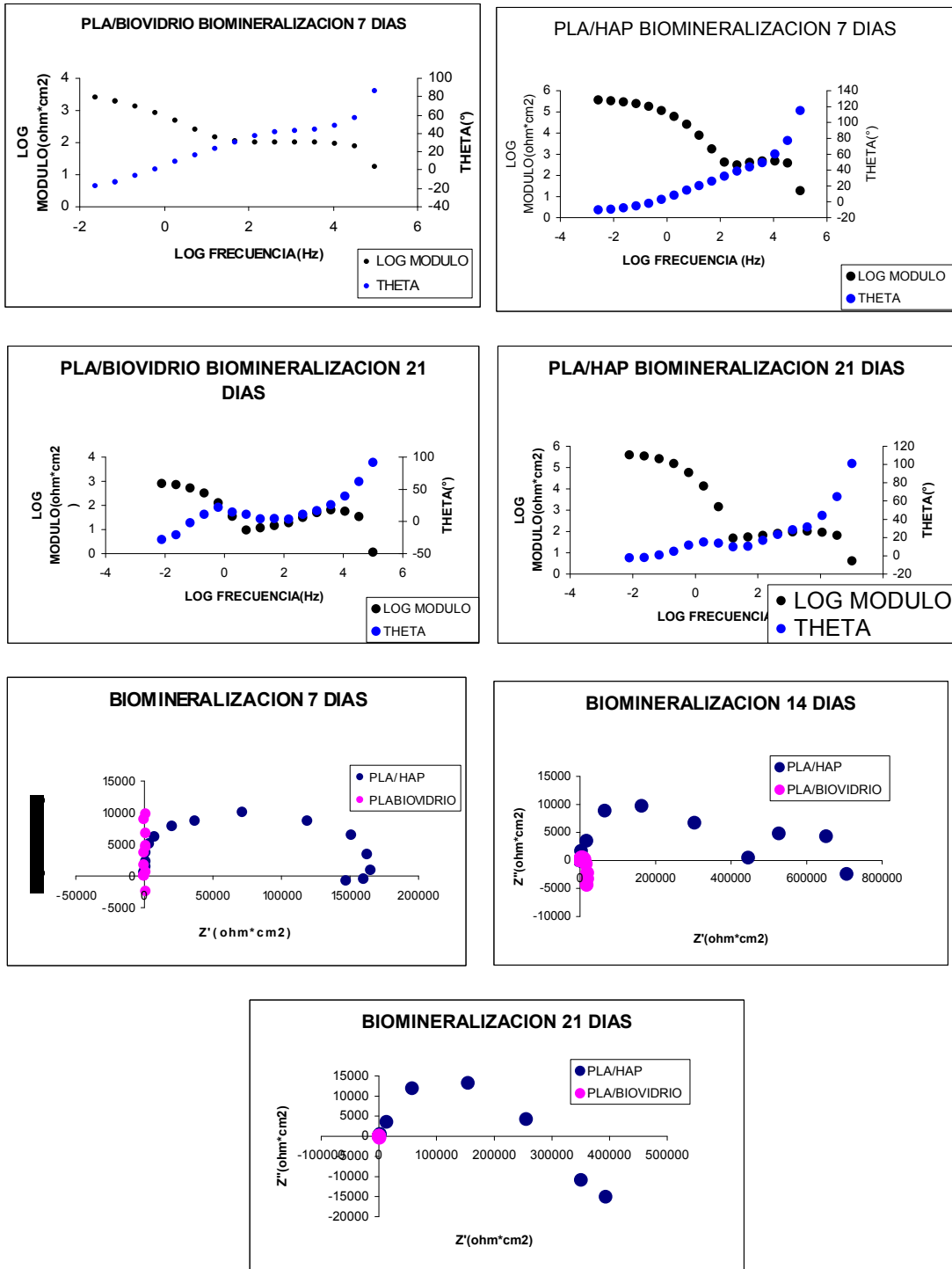


Fig. K1 Obtención de los diagramas de impedancia electroquímica

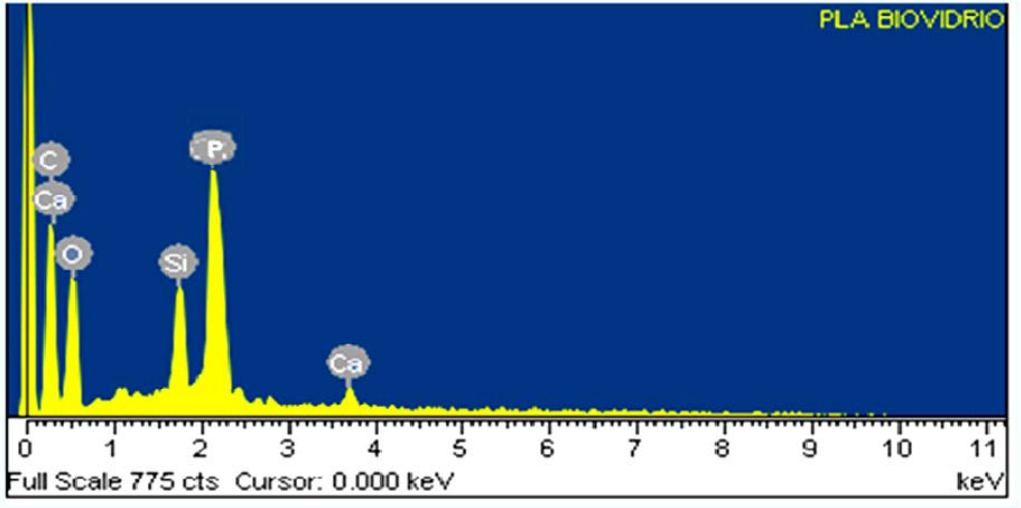
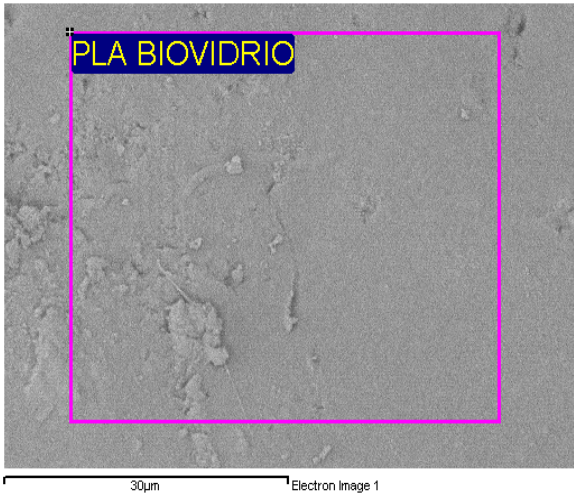


**Fig. K2.** Diagramas de espectroscopia de impedancia para la biomineralización

**Tabla K1.** Datos para circuitos equivalentes del proceso biomineralización

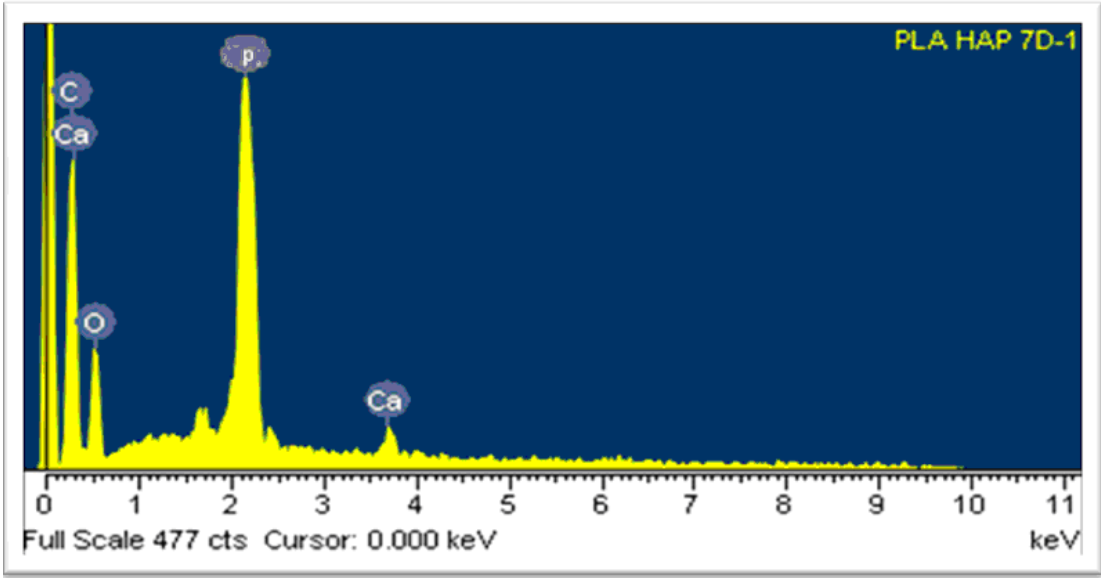
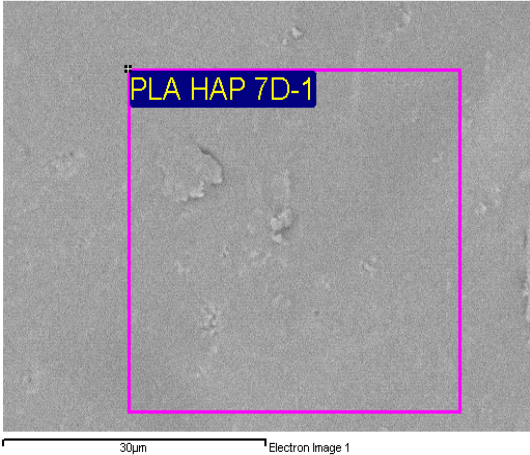
<b>HIDROXIAPATITA/PLA</b>						
<b>T (días)</b>	<b>Rs (ohm)</b>	<b>Rp(ohm)</b>	<b>EFC (F)</b>		<b>N</b>	
			bajas frecuencias	altas frecuencias	bajas frecuencias	altas frecuencias
7	83,12	154916,87	2,51E-05	2,66E-09	0,63	0,42
14	0,013	1097550,97	4,61E-09	1,73E-07	0,29	0,1
21	28,19	226961	4,80E-10	7,41E-08	0,038	0,37
<b>BIOVIDRIO/PLA</b>						
7	11	746,13	1,16E-06	6,02E-08	0,29	0,37
14	0,078	12049,92	1,00E-04	4,82E-07	0,36	0,76
21	16,23	377,77	1,65E-03	5,05E-08	0,21	0,16

**ANEXO L. MICROGRAFÍAS DE SEM-EDS PARA LAS MEZCLAS  
PLA/BIOVIDRIO Y PLA/BIOVIDRIO 7 DIAS**



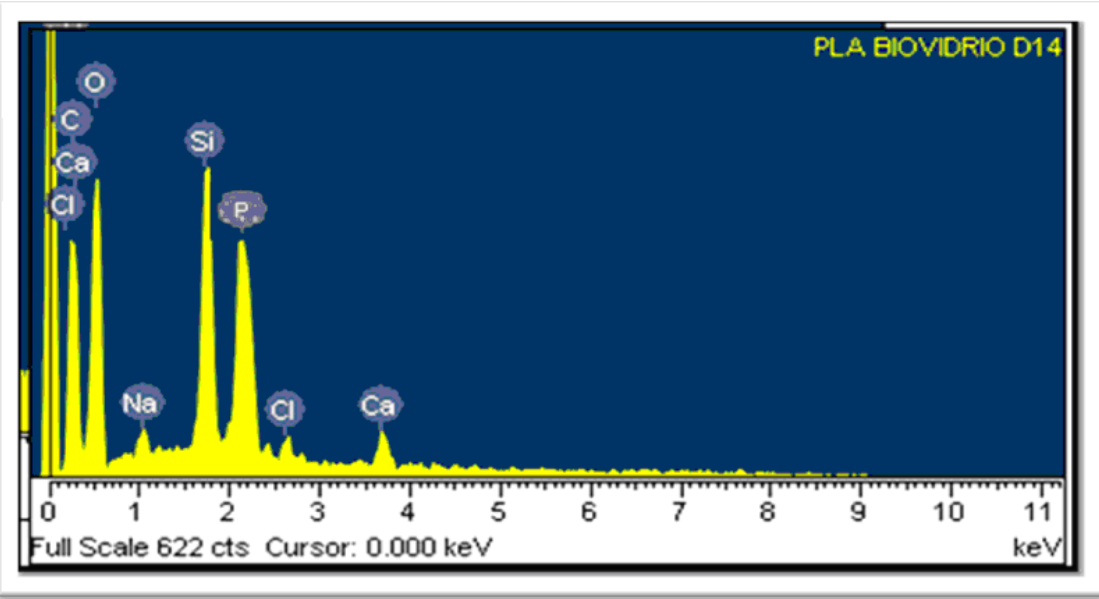
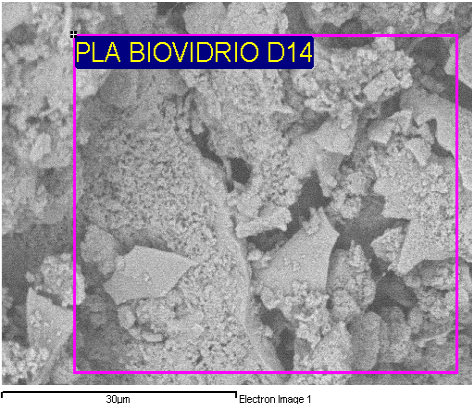
**Fig. L1** PLA/BIOVIDRIO 7 días de biom mineralización.

**PLA/HAP 7 DIAS**



**Fig. L2 PLA/HAP, biomineralización 7 días**

**PLA/BIOVIDRIO 14 DIAS**



**Fig. L3 PLA/BIOVIDRIO, biomineralización cotidiana.**