

**“EVOLUCIÓN DE LA CRISTALINIDAD DE COPOLIMEROS DE
PLGA (70:30 Y 50:50) MEZCLADOS CON HIDROXIAPATITA AL 5% Y AL
10%, SOMETIDOS A DEGRADACIÓN HIDROLÍTICA EN FLUIDO
FISIOLÓGICO SIMULADO A 37°C”**



**NICOLAS ANDRES ALVAREZ MORENO
JOHN FREDDY MANTILLA CORREDOR**



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

2009

**“EVOLUCIÓN DE LA CRISTALINIDAD DE COPOLIMEROS DE
PLGA (70-30 Y 50-50) MEZCLADOS CON HIDROXIAPATITA AL 5% Y AL
10%, SOMETIDOS A DEGRADACIÓN HIDROLÍTICA EN FLUIDO
FISIOLÓGICO SIMULADO A 37°C”**

**NICOLAS ANDRES ALVAREZ MORENO
JOHN FREDDY MANTILLA CORREDOR**

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

Director

CUSTODIO VASQUEZ QUINTERO

Ingeniero Metalúrgico M. Sc

Codirector

HUGO ARMANDO ESTUPIÑAN DURAN

Ingeniero Metalúrgico M. Sc

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

2009

A mis padres, a los nonos y a mi familia.

Nicolás Andrés

*Para mi bebe Ana María, eres todo para mí y todo es para tí.
A Doña María y Don José a quienes les debo todo.
A mis hermanos Adela, Juan k, José L, Anita y Julio,
por su apoyo, sus consejos y su motivación.
A Luz por darme el mejor regalo de mi vida.
A mi buen amigo Cesar.*

John Mantilla

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus más sinceros agradecimientos a:

Custodio Vásquez Quintero, Ingeniero metalúrgico M. Sc, director de ésta investigación.

Darío Yesid Peña Ballesteros, miembro directivo del Grupo de Investigaciones en el área de Corrosión (GIC-Guatiguará).

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

Alexandra Torres, directora del grupo de investigación en biocalorimetría de la Universidad de Pamplona.

Luisa Fernanda Ardila, Ingeniera Química, por sus valiosos aportes y soporte en momentos críticos y decisivos.

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

A todos nuestros compañeros y amigos del GIC: Aura, Ivonne, Juliana, Lady, Lilibeth, Paolita, Carlos Mejía y a todas las personas que de una u otra manera colaboraron en ésta investigación.

A todos los grandes amigos que tuvimos el placer de conocer y que nos deja esta etapa de la vida, como la chatika, willy, el mono, hencho, y todos los hechiceros.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
1. CONCEPTOS TEORICOS.....	3
1.1 BIOMATERIALES Y BIOCOPATIBILIDAD	3
1.2 BIOMATERIALES POLIMERICOS BIODEGRADABLES	4
1.2.1 Poli (láctico-co-glicólico) o (PLGA)	5
1.2.2 Cristalinidad en un polímero.....	5
1.3 BIOMATERIALES CERAMICOS	6
1.3.1 Hidroxiapatita (HAP).....	7
1.4 DEGRADACION	7
1.4.1 Degradación Hidrolítica	8
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	9
2.1 REACTIVOS	9
2.2 EQUIPOS.....	10
2.3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	11
2.4 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	12
2.4.1 Revisión Bibliográfica	12
2.4.2 Pruebas preliminares	12
2.4.3 Copolimerización de PLGA.	12
2.4.4 Mezclas de PLGA con HA	13
2.4.5 Degradación Hidrolítica.	13
2.4.6 Determinación de la cinética de degradación PLGA/HPA	14
2.4.7 Determinación de la perdida de peso de las muestras.....	15
2.4.8 Caracterización Química	16
2.4.8.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT- IR).....	16
2.4.8.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	16
2.4.8.3 Análisis Termo-gravimétrico (TGA).	16
3. RESULTADOS Y ANALISIS	17
3.1 PERDIDA DE PESO	17
3.2 DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE PLGA/HA	19

3.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA MEZCLA PLGA-HA.....	20
3.3.1 Análisis Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT- IR)	20
3.3.2 Análisis térmico mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	22
3.3.3 Análisis termogravimétrico (TGA).....	26
CONCLUSIONES	28
RECOMENDACIONES	29
BIBLIOGRAFIA	30
ANEXO	33

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura Química del PLGA.....	5
Figura 2. Copolimerización de PLGA.....	12
Figura 3. Reacción de hidrólisis del PLGA.....	14
Figura 4. Porcentaje de pérdida de peso con respecto al tiempo de degradación de los dos copolímeros mezclados con HA.....	17
Figura 5. Porcentaje PBS absorbido con respecto al tiempo de degradación de los dos copolímeros mezclados con HA	18
Figura 6. Porcentaje de PBS absorbido con respecto a la concentración de HA.....	19
Figura 7. Efecto de la degradación en el peso perdido por el PLGA (50:50) y PLGA (70:30) y sus respectivas mezclas.....	19
Figura 8. Espectros FT-IR para mezclas PLGA/HA sometidas a degradación hidrolítica por 8, 16 y 20 días.....	21
Figura 9. Termogramas de DSC en función del tiempo de hidrólisis.....	25
Figura 10. Termogramas de TGA para la muestra de PLGA (50:50)/10% HA..	27

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Reactivos de la solución de PBS.....	10
Tabla 2. Probetas Obtenidas.....	13
Tabla 3. Temperaturas de transición vítrea de las mezclas.....	23
Tabla 4. Variación de la entalpía en función del tiempo de hidrólisis.....	23

TABLA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. SÍNTESIS DE POLÍMEROS Y COPOLIMERO.....	34
ANEXO B. DATOS DE PERDIDA DE PESO DE LAS MUESTRAS.....	37
ANEXO C. CONCEPTOS TÉCNICAS DE CARACTERIZACION QUÍMICAS UTILIZADAS.....	38
ANEXO D. DETERMINACION DE LA CINETICA DE DEGRADACION DE PLGA/HPA.....	40
ANEXO E. TERMOGRAMAS DSC DE LAS MUESTRAS.....	41
ANEXO F. TERMOGRAMAS TGA DE LAS MUESTRAS.....	46

RESUMEN

TÍTULO:

EVOLUCIÓN DE LA CRISTALINIDAD DE COPOLÍMEROS DE PLGA (70-30 Y 50-50) MEZCLADOS CON HIDROXIAPATITA AL 5% Y AL 10%, SOMETIDOS A DEGRADACIÓN HIDROLÍTICA EN FLUIDO FISIOLÓGICO SIMULADO A 37°C.*

AUTOR:

Nicolás Andrés Álvarez Moreno**

John Freddy Mantilla Corredor**

PALABRAS CLAVES:

Hidroxiapatita, Biopolímeros, Degradación Hidrolítica, Biodegradación, PLGA (ácido poli-láctico-co-glicólico)

DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO:

Los compuestos de polímeros biodegradables y biocerámicos pueden superar las limitaciones convencionales de los implantes, como la fragilidad. Las matrices poliméricas sirven como plataformas de apoyo al biocerámico. Proporcionan la resistencia mecánica inicial necesaria para proteger los nuevos tejidos, de esta forma, el ideal de las matrices poliméricas es tener un grado de biodegradabilidad que coincida con la formación de los nuevos tejidos. Teniendo en cuenta esto, se realizó un estudio sobre la evolución de la cristalinidad de mezclas de PLGA-HA sometidas a degradación en una solución buffer de fosfatos (PBS), pH = 7.4, a 37° C para simular la temperatura corporal. Se efectuaron mezclas de PLGA (en relaciones 50:50 y 70:30) con HA al 5% y el 10% y que fueron posteriormente degradadas hidrolíticamente en la solución buffer por intervalos de tiempo de 4, 8, 12, 16 y 20 días. Se utilizaron diferentes técnicas de caracterización química como FT-IR, TGA y DSC. La cristalinidad de los compuestos degradados fue evaluada a través de la pérdida de peso, el PBS absorbido y los cambios en las propiedades térmicas de las mezclas sometidas a hidrólisis, encontrando que la disminución de las temperaturas de transición vítrea, junto con los resultados de cambio de porcentaje de peso perdido por las muestras y el PBS absorbido sugiere que el proceso de escisión de cadenas procede en dos etapas: la primera ocurre en las zonas amorfas y la segunda en las zonas cristalinas.

*Proyecto de grado

**Facultad de Ingeniería Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química

Director: M. Sc Custodio Vásquez Quintero. Codirector: Hugo Armando Estupiñán M. Sc

ABSTRACT

TITTLE:

EVOLUTION OF THE CRYSTALLINITY OF COPOLYMERS OF PLGA (70-30 AND 50-50) MIXED WITH HYDROXYAPATITE AT 5% AND 10%, UNDERWENT HYDROLYTIC DEGRADATION ON SIMULATED BODY FLUID AT 37° C.*

AUTHORS:

Nicolás Andrés Alvarez Moreno**
John Freddy Mantilla Corredor**

KEY WORDS:

Hydroxyapatite (HAP), Biopolymers, Hydrolytic Degradation, Biodegradation, PLGA (poly-lactic-co-glycolic acid)

DESCRIPTION:

The compounds of bioceramics and biodegradable polymers can overcome limitations of conventional implants, such as frailty. The polymer matrices used as platforms to support bioceramics. Provide the initial mechanical strength necessary to protect the new tissue, in this way, the ideal of the polymer matrices is to have a degree of biodegradability to coincide with the formation of new tissue. With this in mind, a study on the evolution of crystallinity of PLGA-HA mixtures subject to degradation in a phosphate buffer solution (PBS), pH = 7.4, 37 ° C to simulate body temperature. Mixtures were made of PLGA (in relations 50:50 and 70:30) with HA at 5% and 10% were subsequently hydrolytically degraded in buffer solution for time intervals of 4, 8, 12, 16 and 20 days. We used different techniques such as chemical characterization of FT-IR, TGA and DSC. The crystallinity of the degraded compounds was evaluated by weight loss, the PBS absorbed and the changes in the thermal properties of the mixtures subjected to hydrolysis, finding that the decrease in glass transition temperatures, together with the results of change in percentage of weight lost by the samples and the absorbed PBS suggests that the process of division chains comes in two stages: the first occurs in the amorphous and crystalline in the second.

*Degree Project

**Physical-Chemical Engineer Faculty, School of Chemical Engineering

Director: M. Sc Custodio Vásquez Quintero. Codirector: Hugo Armando Estupiñán M. Sc

INTRODUCCION

Una de las limitaciones que enfrenta la ciencia médica es la baja tolerancia que tiene el cuerpo humano para aceptar objetos físicos o sustancias químicas que le son ajenas. Por lo cual en los últimos años se han desarrollado materiales que en gran medida, se originan en la propia naturaleza.

Un área realmente importante en la cual el hombre ha venido desarrollando avances es la de los biomateriales, mediante este desarrollo se ha logrado prolongar vidas mediante la síntesis de materiales que son biocompatibles con el ser humano, que permiten interactuar de forma directa para sustituir o reconstruir tejidos y órganos, mejorando la calidad de vida de personas que requieren de implantes, prótesis o dispositivos médicos; con materiales metálicos, poliméricos o cerámicos.

Un implante es un material sintético o natural que es introducido en el cuerpo con la intención de sanar, curar o corregir algún problema de salud, pero el medio fisiológico al cual están expuestos condiciona su funcionalidad.

Los polímeros sintéticos bioabsorbibles con capacidad de degradarse gracias a reacciones de hidrólisis en condiciones fisiológicas dentro del cuerpo, y de eliminarse completamente por vías metabólicas, son los materiales más atractivos para la elaboración de andamios en ingeniería de tejidos, los andamios elaborados a partir de este tipo de polímeros ofrecen la posibilidad de crear tejidos completamente naturales dejando de lado los problemas de infección y formación de tejido fibroso, asociados a los implantes permanentes.

Gracias a su excelente biocompatibilidad y a su semejanza química y cristalina con la fase mineral del hueso, los fosfatos de calcio se han usado en medicina.

La hidroxiapatita (HA) es uno de los fosfatos más eficientes, debido a su estabilidad ante cambios de pH, temperatura y composición del fluido fisiológico.

Esto se debe a que el tejido óseo de los seres humanos está constituido principalmente por una matriz inorgánica de diversos colágenos, equivalente al 25% en peso, agua en un 10% en peso y un constituyente inorgánico de estructura y composición similar a la del mineral apatito en un 65% [1]; lo que permite que el tiempo de recuperación de los pacientes sea mayor.

Este trabajo de investigación se ha enfocado en la contribución científica y tecnológica para el desarrollo de biomateriales; a través de la experimentación y análisis de mezclas de copolímero biodegradable PLGA (Acido poli láctico-co-glicólico) con un biocerámico HAP (Hidroxiapatita), las cuales fueron sometidos a degradación hidrolítica en un fluido fisiológico simulado PBS (Phosphate Buffered Saline) a una temperatura constante de 37° C durante diferentes intervalos de tiempo.

Posteriormente a estos ensayos, se realizaron pruebas de caracterización de estos materiales; cuyas técnicas de caracterización empleadas fueron, la espectroscopia de infrarrojo por transformadas de Fourier (FTIR), para determinar los grupos funcionales característicos, la calorimetría diferencial de barrido (DSC), para obtener las temperaturas de transición, con el fin de medir la evolución de la cristalinidad de las muestras sometidas a degradación hidrolítica, y el análisis termogravimétrico (TGA), con el fin de evaluar la estabilidad térmica del copolímero y de sus mezclas.

Este trabajo hace parte de la investigación titulada “Desarrollo de Soportes y Películas de PLGA/Biocerámico Sobre Ti6Al4V para Regeneración Ósea como Producto de Innovación Tecnológica de la Empresa Quirúrgicos Especializados S.A” financiada por Colciencias y realizado por: Grupo de Investigación en Corrosión UIS, Grupo de Polímeros UIS, Universidad de Mayagüez P.R.

1. CONCEPTOS TEORICOS

1.1 BIOMATERIALES Y BIOCMPATIBILIDAD.

El termino biomaterial acompaña a todos aquellos materiales usados para aplicaciones médicas principalmente, aunque también se encuentran bajo esta clasificación otros materiales de uso extra corporal. Hoy en día existen diferentes concepciones de lo que realmente es un biomaterial, por una parte, se entiende que un biomaterial es “un material ideado para interaccionar con los sistemas biológicos con el fin de evaluar, tratar, aumentar o substituir cualquier tejido, órgano, o función del cuerpo humano” [2]; también se define a los biomateriales como “aquellos materiales de origen natural o sintético que se utilizan para dirigir, suplementar o reemplazar alguna función de un tejido vivo” [3].

Las interacciones entre el implante o cuerpo extraño y el medio fisiológico determinan el periodo de tiempo necesario para su reconocimiento y la intensidad de la reacción del organismo para rechazar o asimilarle, hasta restablecer el equilibrio interno. Este tipo de interacciones constituyen una importante disciplina que se conoce como biocompatibilidad.

La biocompatibilidad de un material implantado o un dispositivo prostético es un proceso dinámico con dos vertientes, una que comprende los efectos que provoca el organismo receptor en el material implantado, y otra, los efectos producidos por el implante o sus productos de degradación en el organismo receptor. Por ello es necesario valorar exhaustivamente todo tipo de interacciones y riesgos asociados con la introducción de sustancias extrañas en el organismo, de tal forma que el diseño, y aplicación de biomateriales, ya sea metales, cerámicos o polímeros (de origen natural o sintético), requiere de un estudio completo de sus propiedades y características [4].

1.2 BIOMATERIALES POLIMERICOS BIODEGRADABLES.

La introducción de nuevos biomateriales ha sido el reto de la ciencia de los materiales en los últimos 20 años, debido a que los residuos poliméricos sintéticos han aumentado considerablemente su porcentaje. La disponibilidad de estos materiales no habría sido posible sin la unión de varias disciplinas académicas para su estudio (como la física, la química y la biología). Estas ciencias básicas han aportado a los adelantos tecnológicos dirigidos principalmente a solventar problemas en el área de la salud; entre ellos se encuentra la búsqueda de materiales con aplicaciones biomédicas.

Los materiales biodegradables pueden ser de origen natural o sintético. Los polímeros naturales están generalmente más asociados al término de biodegradabilidad, pero en realidad la gama de polímeros sintéticos que cumplen este concepto se ha incrementado notablemente en los últimos años, debido a que permiten una mejor optimización de las propiedades que se desean obtener; entre ellas deben considerarse la compatibilidad con el organismo, la capacidad de cumplir la función asignada y la biodegradabilidad [5].

Se han desarrollado numerosos estudios e investigaciones en el campo de implantes biodegradables que permitan ser una solución definitiva a los problemas que involucran traumas óseos, y evitar segundas operaciones, lo cual es el principal inconveniente de los biomateriales metálicos, además, de la corrosión que se presenta en éstos. Los polímeros o copolímeros de PGA-PLA son los más empleados para esta aplicación, gracias principalmente a su biocompatibilidad. Estos copolímeros, entre ellos el PLGA pierden sus propiedades mecánicas gradualmente en un intervalo de tiempo que oscila entre pocas semanas y varios meses, al estar expuestos a ambientes fisiológicos, por lo que son usados en diversas aplicaciones.

1.2.1 Poli (láctico-co-glicólico) o (PLGA).

Es un copolímero sintético de ácido poli-láctico (PLA) y ácido poli-glicólico (PGA) que se utiliza en una serie de dispositivos terapéuticos, debido a su biocompatibilidad y biodegradabilidad. EL copolímero de PLGA ha tenido éxito como un polímero biodegradable, ya que al ser sometidos a la hidrólisis en el cuerpo pueden producir monómeros originales, de ácido láctico y de ácido glicólico, que son metabolizados y eliminados naturalmente.

Estos copolímeros son más fácilmente degradables que los homopolímeros correspondientes.

El PLGA puede cambiar su tiempo de degradación y las propiedades mecánicas, cambiando la proporción de los monómeros utilizados durante su co-polimerización, lo que significa que puede tener diversas aplicaciones según lo requiera el implante [6]. En la figura 1 se muestra la estructura química del PLGA.

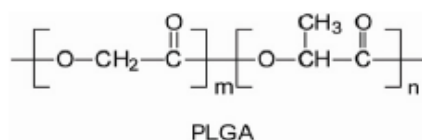


Figura 1. Estructura Química del PLGA.

Fuente. PANDEY A., PANDEY G., ASWATH P. [7].

1.2.2 Cristalinidad en un polímero.

En el caso de que un polímero provenga de un único tipo de monómero, se denomina homopolímero y si proviene de varios monómeros se llama copolímero o heteropolímero.

La disposición espacial de los átomos en una cadena polimérica ejerce una influencia significativa en las propiedades de la masa polimérica. Las cadenas poliméricas deben adaptarse en un imaginario tubo cilíndrico en donde están alineadas de una manera ordenada (se llaman cristalitas).

Los polímeros considerados cristalinos también presentan zonas amorfas. Debido a que las cadenas poliméricas están más juntas y condensadas en las zonas cristalinas que en las amorfas, los cristalitas tienen una mayor densidad.

La cristalinidad es una propiedad que hace a los biopolímeros un poco menos solubles en solventes orgánicos y también hace que se reduzca su capacidad para captar agua, y en consecuencia, su velocidad de degradación. Las diferencias en las velocidades de absorción de agua se deben a la diferente microestructura de los polímeros, en estos es altamente cristalina mientras que en los copolímeros la cristalinidad disminuye, incrementándose así las velocidades de hidratación e hidrólisis.

1.3 BIOMATERIALES CERÁMICOS.

La familia de apatitas minerales es un ejemplo típico de los llamados materiales isomorfos, materiales cristalinos que poseen parámetros cristalográficos similares y a simple vista son muy parecidos. Esta familia está compuesta por un grupo de minerales hexagonales a los cuales pertenece la HAP, miembro más importante por ser un componente inorgánico de los tejidos duros de los huesos [8].

Las cerámicas de hidroxiapatita han sido utilizadas aprovechando sus excelentes propiedades de biocompatibilidad, osteoconductividad y bioactividad, pero su uso es restringido por su baja resistencia a la tensión. Por ese motivo se prefiere usar la hidroxiapatita en forma de refuerzo de matrices poliméricas en materiales compuestos, lo que le confiere al conjunto excelentes propiedades mecánicas y se conservan a su vez, las propiedades de biocompatibilidad de la hidroxiapatita. La hidroxiapatita presenta gran importancia como material de implante ya que los tejidos duros del cuerpo humano están compuestos por los huesos y dientes (dentina y esmalte) y estos están constituidos por una matriz orgánica de colágeno y una fase inorgánica de estructura y composición similar a la HAP.

1.3.1 Hidroxiapatita (HAP).

La hidroxiapatita $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_x(\text{HPO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ con $0 < x < 1$ es el principal componente inorgánico del hueso de los vertebrados, también la encontramos

en la dentina y el esmalte dental [9]. Este fosfato de calcio, que se puede obtener de forma sintética, presenta características de biocompatibilidad, no toxicidad, estabilidad química, osteoconducción y bioactividad; tales propiedades hacen al material muy práctico para usos médicos. La hidroxiapatita (HA) se puede usar como reemplazo de partes pequeñas de hueso, relleno de cavidades en odontología, recubrimiento de superficies de material para implantes, refuerzo en materiales compuestos y como liberador de medicamentos, entre otros. Para una aplicación determinada se requieren diferentes características de la HA, como pueden ser su capacidad de reabsorción y bioactividad [10].

La hidroxiapatita (HA) es uno de los fosfatos más eficientes, debido a su estabilidad ante cambios de pH, temperatura y composición del fluido fisiológico [11].

1.4 DEGRADACIÓN.

En los últimos años se han realizado varios intentos para definir de forma consensuada los términos de degradación y biodegradación. Sin embargo, dada su dificultad, la comunidad científica no ha llegado a un acuerdo para una definición precisa desde el punto de vista químico, en este trabajo se ha entendido, por degradación de un polímero, aquel cambio en su estructura química que conlleve a una modificación apreciable de sus propiedades, lo que se pretende conseguir, es que se mantenga las propiedades durante el periodo utilización del polímero y un posterior cambio de su estructura química para descomponerse en unidades compatibles con el medio fisiológico.

Los fenómenos de degradación en un material polimérico, dan lugar a una serie de cambios físicos (decoloración, formación de grietas, erosión superficial, pérdida de propiedades como resistencia a la tracción o a la deformación, etc.) y químicos (hidrólisis u oxidación de grupos funcionales, rotura de enlaces primarios en la cadena principal, formación de nuevos grupos funcionales, etc.).

La degradación química, se refiere exclusivamente a procesos en los que la degradación es inducida por el contacto del polímero con productos químicos

reactivos. En estos casos puede observarse una gran conversión, aunque solo a elevadas temperaturas, debido a la energía de activación de dichas reacciones.

1.4.1 Degradación Hidrolítica.

Uno de los tipos de degradación química más frecuentes es la degradación hidrolítica. Al entrar en contacto el material con un medio acuoso; la penetración del agua dentro de la matriz polimérica provoca el hinchamiento, rotura de los puentes de hidrogeno intermoleculares, hidratación de las moléculas y finalmente la hidrólisis de los enlaces estables.

La ruptura por hidrólisis de los grupos funcionales puede ocurrir tanto en los grupos de la cadena principal como en los sustituyentes laterales. Sin embargo, el concepto de degradación de polímeros se asocia a una disminución del peso molecular, por lo que es necesario que la cadena principal se rompa uniformemente.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

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

- Síntesis y obtención de materiales como: ácido poli-láctico, ácido poli-glicólico, y co-polimerización de los mismos.
- Preparación de las mezclas de PLGA con HA.
- Investigación sobre las variables influyentes en el proceso de absorción y degradación hidrolítica.
- Prueba de caracterización de las mezclas después de ser sometidas a degradación hidrolítica.
- Determinación de las cinéticas de degradación de las mezclas.

2.1 REACTIVOS.

Probetas PLGA. Para la obtención de las probetas de PLGA, se realizó una co-polimerización de ácido poli-láctico y de ácido poli-glicólico, (cada uno de los cuales fueron sinterizados previamente, utilizando como catalizador 1% de Zn con 40 horas de poli-condensación y 0.2 % de cloruro de estaño con 20 horas de poli-condensación, respectivamente [12].

Los copolímeros formados tuvieron composiciones de 50:50 (PLA-PGA) Y 70:30 (PLA-PGA).

Hidroxiapatita (HAP). La hidroxiapatita fue suministrada por Sigma-Aldrich, Hydroxyapatite, Type I.

Suspension in 0.001 M phosphate buffer, pH 6,8. 250 g wet weight, 26% total solids.

Solución PBS (Phosphate Bufferet Saline). La solución salina buffer de fosfatos [13], con un pH entre 7,4-7,5. Para la preparación de 1000 ml de

solución, sea agregó agua desionizada en un balón aforado de 1000 ml y los reactivos utilizados en orden se muestran en la tabla 1.

REACTIVOS	CANTIDAD (gr.)
NaCl	8
KCl	0,2
KH ₂ PO ₄	0,14
Na ₂ HPO ₄ .10H ₂ O	0,91

Tabla 1. Reactivos de la solución de PBS.

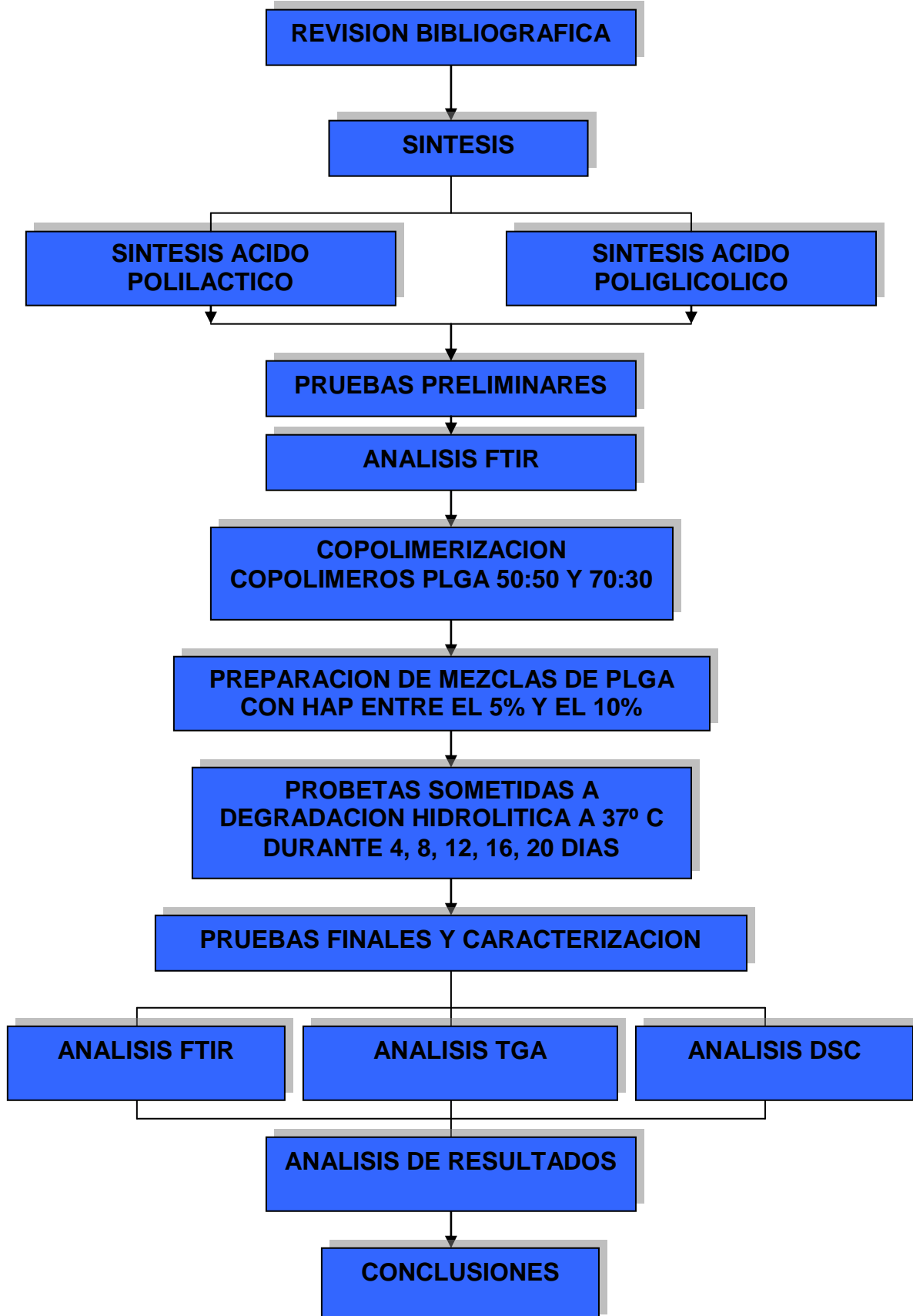
Fuente. Los autores

2.2 EQUIPOS.

- Roto evaporador.
- Baño termostático con recirculación y control de temperatura HUBER polystat cc1.
- Infrarrojo FTIR – 8400s Fourier Transform Shimadzu.
- TA Instruments Model SDT Q600 V7.0 Build 84
- Plancha de calentamiento con agitación magnética. Marca SCHOTT.
- Balanza marca Mettler AE 240.
- Medidor de pH Hach Sension 3.
- Manta de calentamiento.
- Termómetro marca Brand.
- Espectrofotómetro Jeway 6305
- Termómetro

2.3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL.

El desarrollo de este trabajo se llevó a cabo en las siguientes etapas:



2.4 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

2.4.1 Revisión Bibliográfica. La revisión bibliográfica de textos, artículos y tesis relacionadas con los temas: materiales compuestos, degradación, caracterización, etc. se realizó en forma continua durante todo el desarrollo del proyecto.

2.4.2 Pruebas preliminares. Las pruebas preliminares constaron de una co-polimerización de PLA-PGA (PLGA) y determinación del mejor homopolímero de ácido poli-láctico, debido a que se tenían varias muestras. Además se realizó la mezcla con hidroxiapatita y fueron sometidas a degradación hidrolítica para comprobar su comportamiento.

2.4.3 Copolimerización de PLGA. La síntesis del copolímero de PLGA se realizó mediante el método de evaporación/extracción de solvente, utilizando como solvente cloroformo.

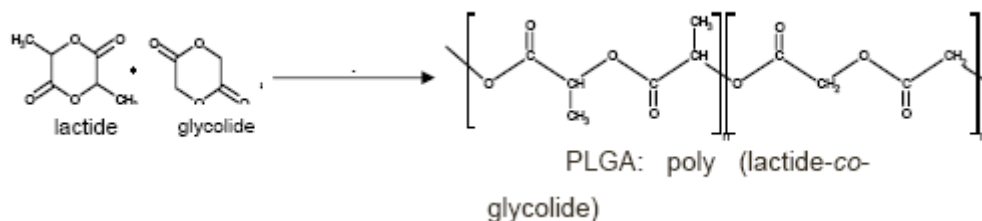


Figura 2. Copolimerización de PLGA.

Fuente. MIDDLETON, J., Tipton, A.J. [14].

Los homopolímeros de PLA y PGA fueron disueltos individualmente en cloroformo en una relación de 10% w / v por espacio de 1 hora, posteriormente cada solución se introducida en una marmita, que fue colocada sobre la plancha de calentamiento con el fin de eliminar el solvente en exceso con ayuda de agitación. Cuando no se observó la presencia de solvente en la solución esta fue llevada a moldeo, donde permaneció en curado por un tiempo de 1 día. Ver ANEXO A.

Las proporciones utilizadas para la copolimerización fueron de 70% de ácido láctico y 30% de ácido glicólico, es decir PLGA 70:30 y PLGA 50:50.

2.4.4 Mezclas de PLGA con HA. Los copolímeros obtenidos fueron mezclados con hidroxiapatita en proporción de 0%, 5% y 10%; utilizando como solvente cloroformo. Las probetas obtenidas permanecieron en un desecador por 1 día.

Probetas por día
PLGA(50:50) / 0% HA
PLGA(50:50) / 5% HA
PLGA(50:50) / 10% HA
PLGA(70:30) / 0% HA
PLGA(70:30) / 5% HA
PLGA(70:30) / 10% HA

Tabla 2. Probetas Obtenidas.

Fuente. Los autores.

La elaboración de las mezclas de PLGA/HA, donde se adicionó HA al copolímero PLGA se realizó a una $T=150\text{ }^{\circ}\text{C}$ aproximadamente, menor a su temperatura de fusión.

2.4.5 Degradación Hidrolítica. Las probetas obtenidas fueron pesadas y sometidas al proceso de degradación en el cual se usó como medio de hidrólisis, una solución salina de fosfatos PBS con $\text{pH} = 7.4$ que simuló las condiciones fisiológicas. A continuación las probetas fueron introducidas en recipientes que contenían la solución de PBS, los cuales fueron previamente rotulados de acuerdo al día en que las probetas debían ser retiradas, secadas, pesadas y evaluadas.

En total 30 recipientes fueron utilizados (correspondientes a 4, 8, 12, 16 y 20 días de degradación).

Todos los recipientes con sus correspondientes probetas, fueron colocados durante el tiempo determinado para cada uno, en un baño termostático HUBER polystat cc1, a una temperatura de 37°C con la finalidad de simular la temperatura corporal. Posteriormente las probetas fueron retiradas regularmente del medio de hidrólisis (en los días 4, 8, 12, 16 y 20 del proceso)

y pesadas inmediatamente, en seguida eran colocadas en un desecador por 72 horas, una vez secas, fueron nuevamente pesadas y evaluadas.

La degradación de PLGA ocurre por hidrólisis no enzimática y genera como productos finales, ácido láctico y ácido glicólico, los cuales son posteriormente eliminados del cuerpo [17].

Como se muestra a continuación en la figura 3, durante el proceso de degradación de los polímeros los enlaces soportan la hidrolisis originando cadenas menores con terminaciones ácidas.

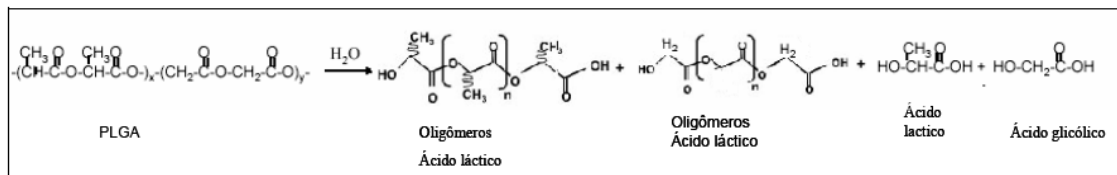
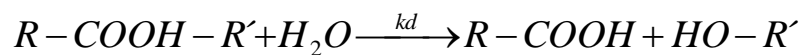


Figura 3. Reacción de hidrólisis del PLGA.

Fuente. MOTTA, A.C., DUEK, E.A.R [18].

2.4.6 Determinación de la cinética de degradación PLGA/HPA.

Generalmente la degradación de poliésteres biodegradables como lo es el PLGA, sucede a través de la reacción de hidrólisis química y genera como productos finales, ácido láctico y ácido glicólico, los cuales son posteriormente eliminados del cuerpo por medio del ciclo Krebs [15].



La cinética de la degradación fue determinada a través de las variaciones del peso de la muestra en función del tiempo que se sometieron a la degradación hidrolítica en PBS. Asumiendo una cinética de hidrólisis de primer orden [16], la ecuación que la expresa es la siguiente:

$$-Ln \frac{Ca}{Ca_0} = kt$$

Pero como en esta investigación no se determinó la variación de la concentración ni la del peso molecular con el tiempo, entonces se empleó conversión, como una variable que relacionó la concentración con el número de moles así:

$$Ca = Ca_o(1 - Xa) \quad Xa = \frac{Na_o - Na}{Na_o} = \frac{Wa_o - Wa}{Wa_o}$$

La igualdad que relaciona el número de moles y el peso es una analogía que permite usar los datos de peso medidos. Por tanto la ecuación que expresa la cinética de la degradación en términos del peso de la muestra es la siguiente:

$$-Ln(1 - (Wa_o - Wa)/Wa_o) = kt$$

Usando esta ecuación fue posible determinar el valor de k el cual permite determina la velocidad de degradación de cada muestra analizada.

2.4.7 Determinación de la pérdida de peso de las muestras. Las probetas fueron pesadas antes y después del ensayo degradación en una balanza analítica marca METTLER modelo AE-240.

Una vez que las muestras fueron retiradas del medio de hidrólisis y secadas superficialmente, se procedió a registrar el peso húmedo alcanzado por cada una de ellas, por último las probetas fueron pesadas en seco. Finalmente, con el peso inicial y el peso húmedo se calculó la cantidad de PBS absorbido y con el peso inicial y el peso en seco, se calculó la pérdida de peso de las muestras para los días de hidrólisis señalados.

Para realizar el análisis de los resultados obtenidos, es primordial tener en cuenta y analizar la influencia de los factores estructurales, las variables ambientales y las condiciones del ensayo comprometidas en el proceso.

De manera tal que deben están presentes variables como las propiedades químicas de la mezcla PLGA-HA, la cristalinidad de la matriz de PLGA y características del medio donde se llevo a cabo la degradación; como la temperatura, el pH de la solución de PBS y adicionalmente el tiempo de duración del proceso de degradación.

La biodegradación se ha estudiado mediante la medición de la pérdida de peso presentada por las mezclas, y el PBS absorbido por las mismas.

La pérdida de peso fue una de las variables utilizadas para analizar el comportamiento de la mezcla durante el periodo de degradación hidrolítica y adicionalmente para realizar el estudio de la cinética de degradación del material. Los resultados obtenidos se muestran en la ANEXO B. En esta tabla,

encontramos el peso inicial de cada una de las muestras, así como su peso húmedo y su peso en seco. También podemos apreciar el porcentaje de peso perdido, así como el porcentaje de PBS absorbido.

Estos porcentajes fueron calculados según las formulas presentadas por Eeva Orava [19].

$$\text{Water Absortion}(\%) = 100x(m_1 - m_2) / m_2$$

$$\text{Weight Loss}(\%) = 100x(m_0 - m_2) / m_0$$

2.4.8 Caracterización Química.

2.4.8.1 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT- IR).

Es una de las técnicas más ampliamente utilizadas. Esta técnica espectroscópica de absorción analiza la interacción de los niveles de energía vibracionales de los enlaces covalentes con la radiación infrarroja.

Este análisis fue llevado a cabo en un equipo para espectroscopia de infrarrojo FTIR- 8400S Fourier Transform Shimanzu. Ver ANEXO C.

2.4.8.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Es un método analítico térmico diferencial en el cual el tiempo/ temperatura del ensayo es directamente proporcional al flujo de calor diferencial entre una muestra y un material de referencia.

Las probetas extraídas del baño termostatado (en los días 4, 8, 12, 16 y 20 del proceso), y completamente secas, fueron evaluadas en un equipo de Calorimetría Diferencial de Barrido marca TA Instruments Model SDT Q600 V7.0 Build 84, los termogramas de DSC se obtuvieron a partir del primer ciclo de calentamiento, utilizando una rampa de calentamiento de 10 grado/min. en un intervalo de 0 a 200°C empleando un flujo de nitrógeno de 100 ml/min.

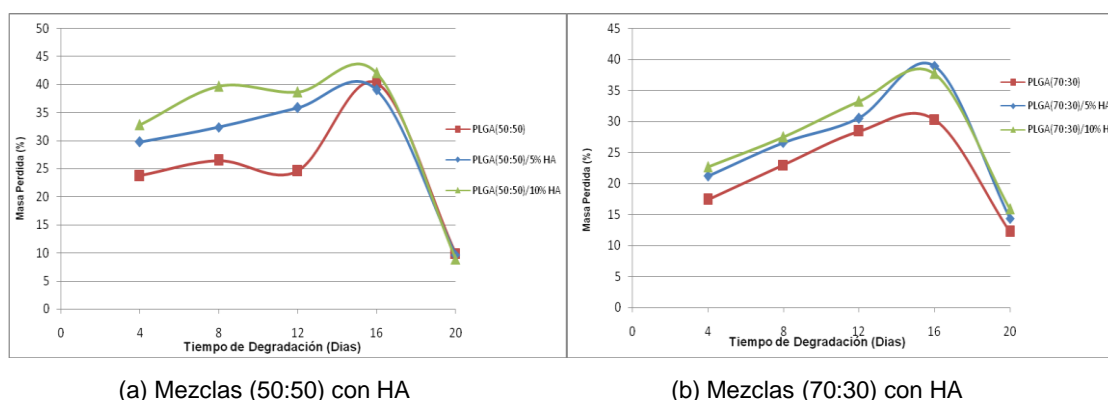
2.4.8.3 Análisis Termo-gravimétrico (TGA). El análisis de TGA se realizó en un equipo TA Instruments Model SDT Q600 V7.0 Build 84.

Las muestras se calienta desde la temperatura ambiente hasta 200 ° C, a una rampa de calentamiento de 20 ° C / min. bajo atmósfera de nitrógeno.

3. RESULTADOS Y ANALISIS

3.1 PERDIDA DE PESO.

En la Figura 4, es posible observar que el porcentaje de peso perdido aumenta constantemente con el tiempo de degradación hasta el día 16 del proceso, tanto en las mezclas de PLGA (50:50)/HA como en las mezclas de PLGA(70:30)/HA, debido a que se encuentra en la etapa de hidratación de la muestra; pero presenta un notable descenso hacia el día 20, lo cual es atribuible a la aparición de una nueva fase de degradación, posterior a la hidratación, en otras palabras a la pérdida de resistencia mecánica y posterior pérdida de masa.



(a) Mezclas (50:50) con HA

(b) Mezclas (70:30) con HA

Figura 4. Porcentaje de pérdida de peso con respecto al tiempo de degradación de los dos copolímeros mezclados con HA.

Fuente. Los autores

El PBS absorbido y la medición de la pérdida de peso están interrelacionados, ya que ambos procesos están ocurriendo simultáneamente. El porcentaje de PBS absorbido, aumenta a una mayor concentración de HA en las muestras de PLGA (50:50) como se puede observar en la figura 5a, mientras que en las muestras de PLGA (70:30) el porcentaje de absorción más alto lo presentó el copolímero sin mezcla, figura 5b. El máximo de PBS absorbido se observó en el día 8 del proceso para los dos copolímeros estudiados.

El porcentaje de absorción máximo se observó en el día 8 para el PLGA(50:50) sin HA, de igual manera el día 8 de degradación hidrolítica, presenta los

máximos niveles de porcentaje absorción para las mezclas de PLGA(50:50) con 5% y 10% de HA.

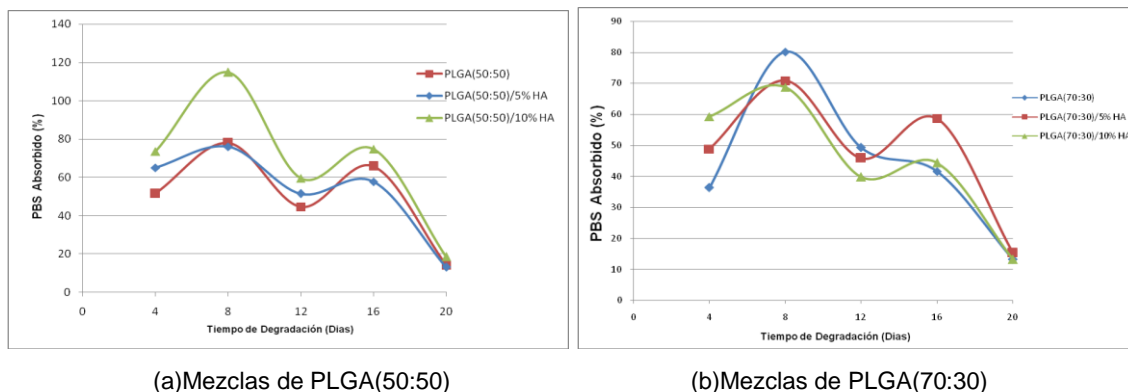


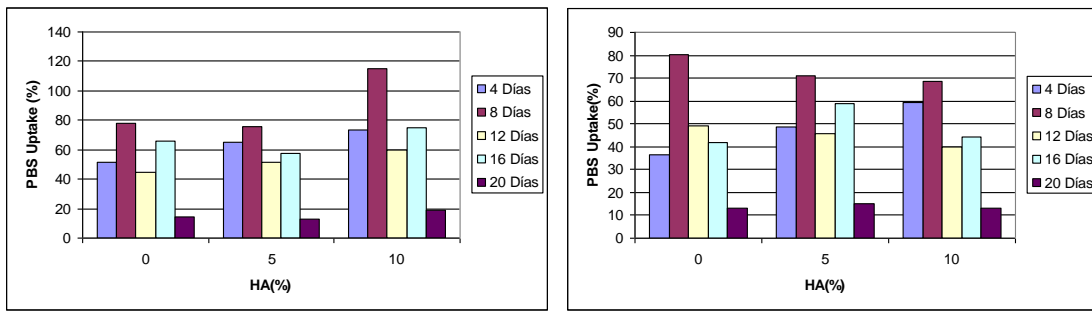
Figura 5. Porcentaje PBS absorbido con respecto al tiempo de degradación de los dos copolímeros mezclados con HA.

Fuente. Los autores.

En la figura 6a se puede apreciar que el porcentaje de PBS absorbido por las muestras, aumenta con la concentración de HA en cada uno de los días. Con respecto a la figura 6b en el PLGA (70:30) también se encontró una tendencia similar, ya que los valores máximos de absorción de PBS para todas las concentraciones de HA, se presentan en el día 8 de hidrólisis.

El porcentaje de pérdida de peso fue relativamente estable para el PLGA(50:50) sin HA, con una gran pérdida en el día 16 de hidrólisis, mientras que las mezclas de PLGA(50:50) con 5% y 10% de HA presentaron ligeros aumentos en el porcentaje de pérdida de peso con respecto al tiempo de hidrólisis, pero ambos presentan en el día 20, un porcentaje bajo de pérdida de peso (Figura 7). Tanto el copolímero de PLGA(50:50), como el PLGA(70:30) y cada una de sus respectivas mezclas con 5% y 10% de HA presentan un aumento paulatino del porcentaje de peso perdido hasta llegar al día 20 de hidrólisis donde todas sufren un descenso drástico, como se puede observar en las figuras 7(a) y 7(b).

De la figura 7(b) se puede resaltar que la pérdida de peso del PLGA(70:30) es relativamente estable en el tiempo con relación al porcentaje de HA de las mezclas.

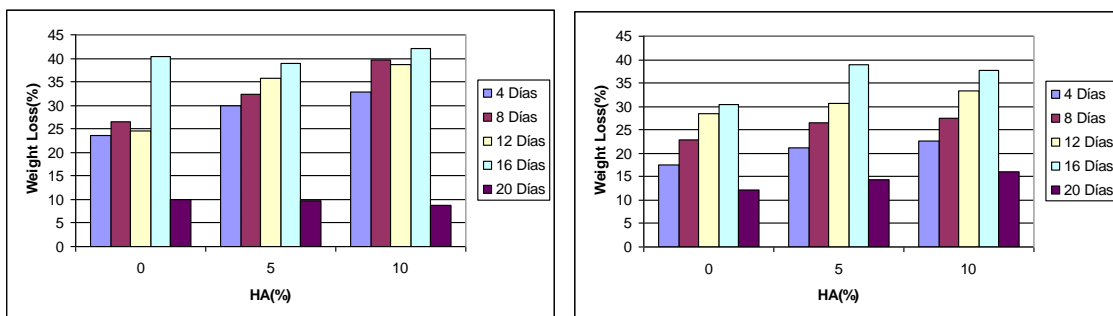


(a) PLGA (50:50)

(b) PLGA (70:30)

Figura 6. Porcentaje de PBS absorbido con respecto a la concentración de HA.

Fuente. Los autores.



(a) PLGA (50:50)

(b) PLGA (70:30)

Figura 7. Efecto de la degradación en el peso perdido por el PLGA (50:50) y PLGA (70:30) y sus respectivas mezclas.

Fuente. Los autores

3.2 DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE PLGA/HA.

El mecanismo de degradación hidrolítica puede ser definido en dos fases, degradación superficial y degradación del “bulk” o interna del material [20], la primera ocurre principalmente en las zonas amorfas cuyas estructuras se presentan esencialmente desordenadas, las cuales facilitan la difusión y el ataque del medio de hidrólisis, este proceso da lugar a la fragmentación de las grandes cadenas, lo que abre paso a la segunda fase que es el ataque a las zonas cristalinas, este proceso es más lento puesto que el mayor ordenamiento de estas zonas cristalinas ofrecen mayor resistencia a la difusión de la solución de PBS. Por tanto, teniendo en cuenta la anterior descripción del mecanismo

de degradación hidrolítica, se supone que la velocidad de degradación es inversamente proporcional al grado de cristalinidad.

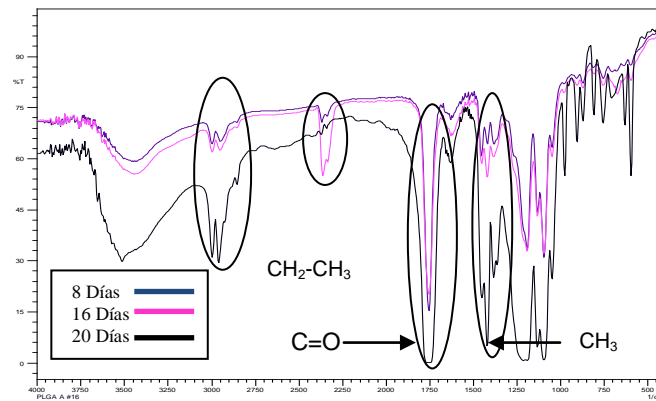
Al determinar las cinéticas de degradación de cada tipo de copolímero, ver ANEXO D, se pudo establecer, teniendo en cuenta el valor calculado para la constante de reacción “k”, que la configuración de PLGA (70:30)/5% de HA se degrada más rápido que las demás, y por el contrario, la muestras que presentan menor degradación son las de PLGA (50-50) con 10% de HA, esto tiene explicación en la configuración de la estructura química del material, porque si bien es cierto que la unión de los dos homopolímeros mejora las propiedades mecánicas y favorece la resistencia a la hidrólisis, también se debe tener en cuenta que la unión de las diferentes estructuras de los homopolímeros, rompe la estereoregularidad y la simetría de las cadenas, lo que se refleja en un aumento de las zonas amorfas, lo cual facilita la difusividad de medio hidrolítico y por tanto la degradación es más rápida.

3.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA MEZCLA PLGA-HA.

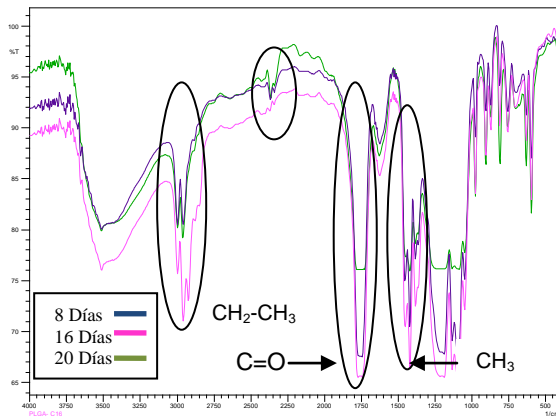
3.3.1 Análisis Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT- IR). Las probetas de PLGA-HA sometidas a degradación hidrolítica fueron analizadas utilizando este método; mediante el análisis estructural de los espectros se encontró gran similitud entre las bandas de absorción presentadas por las mezclas y las reportadas en la literatura por Motta, A. [18].

De la figura 8, los espectros se encuentran agrupados según la composición de la mezcla a diferentes tiempos de degradación y las siguientes son las principales bandas de absorción presentadas: 2997–2965 (CH₂, CH₃), 1759 (C=O), 1360–1450 (CH₃), 750 (CH).

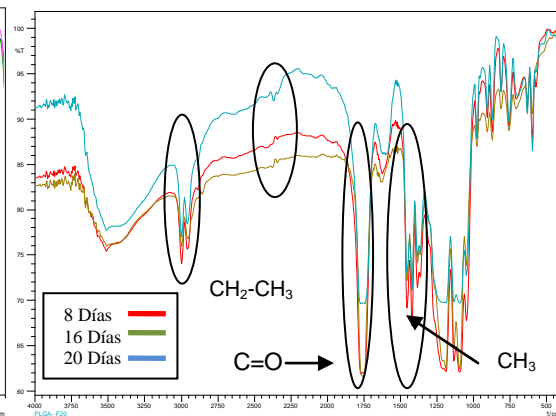
Adicionalmente se encontró en la banda de 2270-2320 un fuerte pico correspondiente a fosfinas, que corresponde a compuestos presentes en la solución de PBS absorbidos por las muestras durante el proceso de degradación.



(a) Espectro FT-IR para PLGA (50:50)/0% HA.



(b) Espectro FT-IR para PLGA (50:50)/10% HA.



(c) Espectro FT-IR para PLGA (70:30)/10% HA.

Figura 8. Espectros FT-IR para mezclas PLGA/HA sometidas a degradación hidrolítica por 8, 16 y 20 días.

Fuente. Los autores.

El análisis espectral indicó que los grupos funcionales de las mezclas PLGA/HA tienen casi las mismas características químicas del copolímero puro. El estudio sugiere que no se producen interacciones moleculares que pudieran alterar la estructura química de la mezcla en el momento del estudio.

Una HA típica muestra bandas para un espectro FTIR en $3.600-3440\text{ cm}^{-1}$ y 633 cm^{-1} correspondientes a grupos OH^- , bandas en $1.080-1.090\text{ cm}^{-1}$ correspondientes a grupos PO_4^{-3} y bandas entre $870, 1.420$ y 1.480 cm^{-1} correspondiente a CO_3^{-2} . Las mezclas mostraron picos resultantes de la simple superposición de sus componentes separados en el espectro infrarrojo. En la región de longitud de onda de baja vibración no pueden ser observados estos picos, perfectamente a causa de la baja concentración de la HA en las mezclas.

3.3.2 Análisis térmico mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

La velocidad de degradación de los polímeros biodegradables es afectada por las propiedades cristalinas del material, cuando hablamos de esto haciendo referencia al tamaño y al número de cristales en el sistema.

El DSC se empleó para determinar la temperatura de transición vítrea de los materiales reforzados mezclados con 5 y 10% de hidroxiapatita respectivamente. En este aparte se realizó un análisis de las propiedades térmicas de las mezclas estudiadas en función del tiempo de hidrólisis. Con lo cual se buscó vislumbrar, como las características y las propiedades de las mezclas se pueden perturbar por el proceso de degradación hidrolítica.

Los termogramas de todas las probetas mostraron sólo una temperatura de transición vítrea (T_g) y no de fusión, lo que indicó que el polímero es esencialmente amorfo. Lo cual es importante si se parte de la hipótesis planteada por Chu [21], en la cual afirma que la hidrólisis se realiza en dos etapas, un ataque inicial a las regiones amorfas de sistemas, y una segunda etapa en un ataque a las regiones cristalinas.

Las temperaturas de transición vítrea de las mezclas sometidas a diferentes días de degradación se muestran en la tabla 3. Se puede resaltar de ésta, que las temperaturas se encuentran lejos de la T_g propia del copolímero de PLGA (entre 40-60° C), lo cual se atribuye a dos factores principalmente, al efecto plastificante causado por la penetración de PBS en la matriz del polímero y a la presencia de solvente orgánico (cloroformo) residual, proveniente del proceso de mezcla o humedad en el sistema. Ver termogramas individuales en el ANEXO E.

En esta tabla también se pudo observar que la temperatura de transición vítrea sufre una disminución con el tiempo de hidrólisis para el PLGA (50:50) y para el PLGA (50:50)/10% de HA que se relaciona con la facilidad que los cristales han de ser formados como consecuencia de una mayor libertad para reorganizarse las cadenas durante el proceso de degradación. Adicionalmente, teniendo en cuenta que la transición vítrea, T_g del PLGA es una función del peso molecular

del polímero; en esta primera etapa del proceso de degradación, la disminución de la Tg se puede atribuir de igual manera a la disminución del peso molecular, tal como lo indica la literatura pues lamentablemente, durante este estudio no se pudieron obtener datos sobre el peso molecular de las muestras, que permitieran verificar, en alguna medida.

También en ella se observa que la temperatura de transición vítrea es relativamente estable para los días 8 y 16 de hidrólisis, mientras que para el día 20 de hidrólisis, las mezclas con presencia de HA en comparación con la muestra que no posee composición alguna de HA, presentan una temperatura de transición mayor.

Tiempo de Degradación (Días)	Tg (°C) PLGA(50:50)	Tg (°C) PLGA(50:50)/10% HA	Tg (°C) PLGA (70:30)/10% HA
8	40,15	36,27	34,54
16	35,34	37,67	33,05
20	33,17	36,46	37,89

Tabla 3. Temperaturas de transición vítrea de las mezclas.

Fuente. Los autores

La entalpía por su parte, se presenta en función del tiempo de hidrólisis en la Tabla 4. En esta tabla puede observarse, como el calor de la transición aumenta continuamente desde el día 8 hasta el día 20 de degradación, para la probeta de PLGA (50:50); mientras que para las mezclas, es comparativamente constante.

Tiempo de Degradación (Días)	ΔH (W/g) PLGA(50:50)	ΔH (W/g) PLGA(50:50)/10% HA	ΔH (W/g) PLGA (70:30)/10% HA
8	0.00008445	0.0007685	0.001554
16	0.0003857	0.0002964	0.0003235
20	0.001225	0.0004482	0.0002200

Tabla 4. Variación de la entalpía en función del tiempo de hidrólisis.

Fuente. Los autores

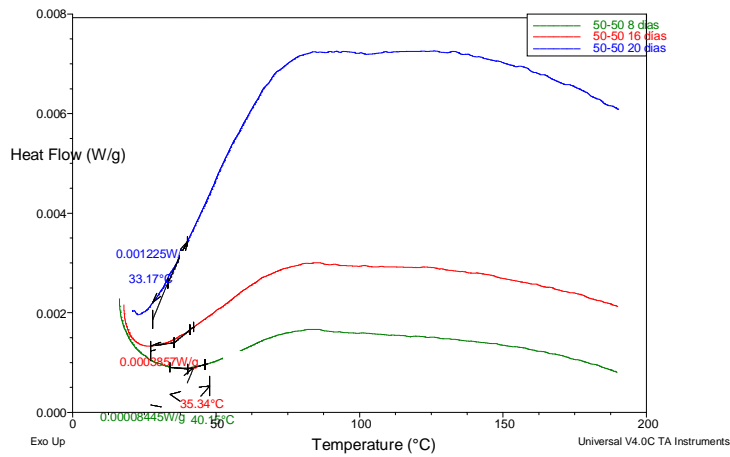
En la figura 9 se observan los termogramas de DSC de las diferentes probetas en función del tiempo de degradación hidrolítica. En el termograma de PLGA (70:30)/10% de HA se observó el crecimiento de un pico adicional a la temperatura de transición vítrea alrededor de los 85-90° C, de igual forma la

mezcla PLGA (50:50)/10% de HA también presentaron la formación de este pico con el tiempo, aunque no es tan evidente como en la mezcla anteriormente nombrada. La formación de estos nuevos picos, es una clara evidencia de que el sistema está compuesto de regiones cristalinas de diferente tamaño, las cuales se han podido formar a lo largo del proceso de degradación hidrolítica. La formación de estos picos se podría atribuir a que fueron generados por la cristalización de los productos de degradación atrapados en la probeta.

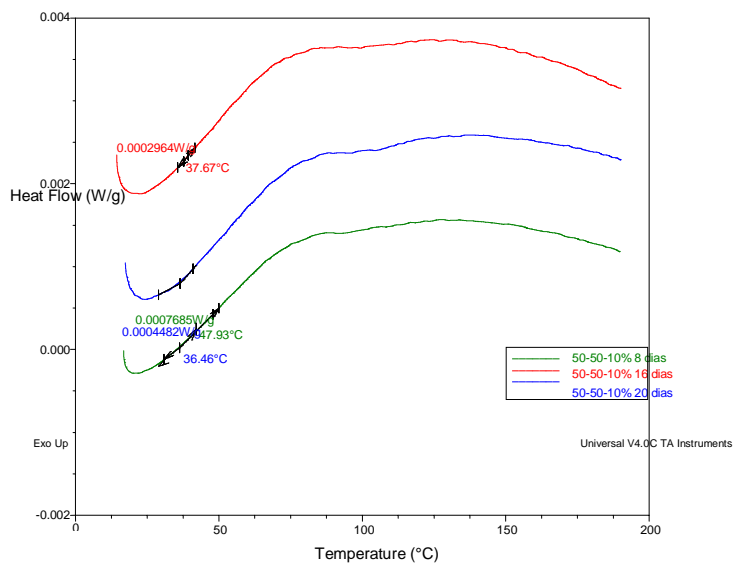
Estos resultados, en principio, pueden atribuirse al arreglo que experimentan los fragmentos formados como consecuencia de las rupturas que sufren las largas cadenas localizadas en las zonas amorfas de las probetas, una vez que han sido atacadas hidrolíticamente. Partiendo de esta aseveración, es posible que se hayan obtenido muestras con segmentos de cadenas más cortos, con menor cantidad de enredos, y con mayor movilidad, de tal manera que tales segmentos pueden reorganizarse, de un estado esencialmente desordenado, a uno ordenado.

Esto, por supuesto, puede traer como consecuencia, la formación de regiones cristalinas de diferente tamaño en las probetas. Estas nuevas regiones cristalinas (formadas a partir de la re-organización de las cadenas resultantes del proceso de hidrólisis en las zonas amorfas), no son muy estables, ya que se componen de cristales de menor espesor.

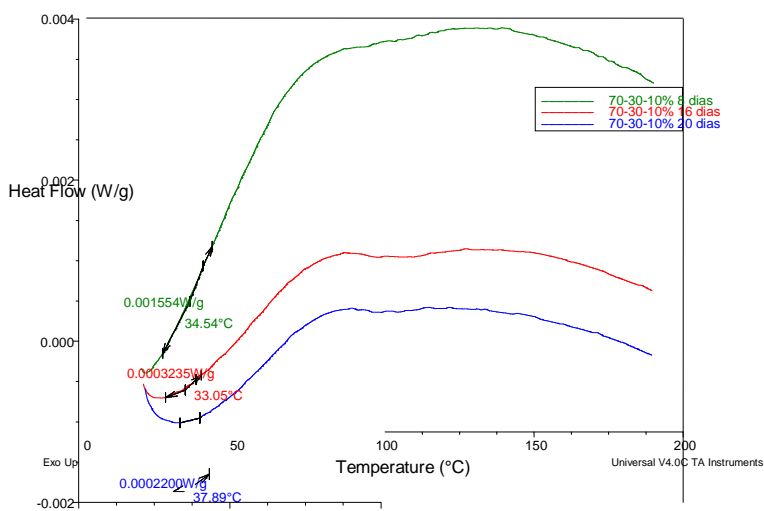
De este modo también es posible afirmar que el máximo nivel de cristalinidad de las mezclas se presentó cuando todas las zonas amorfas de las probeta son atacadas por el proceso hidrolítico, además es de suponer que después de alcanzar este valor máximo, la cristalinidad de las probetas se verá afectado debido a que el ataque hidrolítico se dirige a estas zonas.



(a)PLGA (50:50)



(b)PLGA (50:50)/10% HA



(c)PLGA (70:30)/10% HA

Figura 9. Termogramas de DSC en función del tiempo de hidrólisis.

Fuente. Los autores

3.3.3 Análisis termogravimétrico (TGA). La estabilidad térmica de las probetas fue verificada en forma simultánea mediante TGA y DSC, utilizando un equipo de TA INSTRUMENTS Model SDT Q600 V7.0 Build 84.

La estabilidad térmica es un factor importante en la fabricación de mezclas bioabsorbibles. En el estudio de degradación, la temperatura se mantiene constante y deliberadamente a 37 ° C con el fin de simular la temperatura corporal.

Las curvas de TGA se obtuvieron en el mismo rango de trabajo para la prueba de DSC, es decir, entre la temperatura ambiente y 200° C, usando placas de aluminio.

Las curvas de TGA de las probetas mostraron que el copolímero presentó estabilidad térmica hasta la temperatura de trabajo, de 200 ° C, ya que la pérdida de peso de las muestras fue muy baja, entre el 4% y el 8%, la descomposición térmica, se produjo en dos etapas (390 ° C y 470 ° C).

En la figura 10 se aprecia que se presenta una pequeña caída inicial de la curva de TGA alrededor de los 100-110° C en cada una de las muestras la cual corresponde a la evaporación de agua absorbida por las muestras; lo cual corresponde a una pérdida de peso entre 1,929% y 2,152%. Posteriormente se presentó la degradación total de la muestra, alrededor de los 350-400° C, lo cual corrobora lo realizado por Mainardes [22].

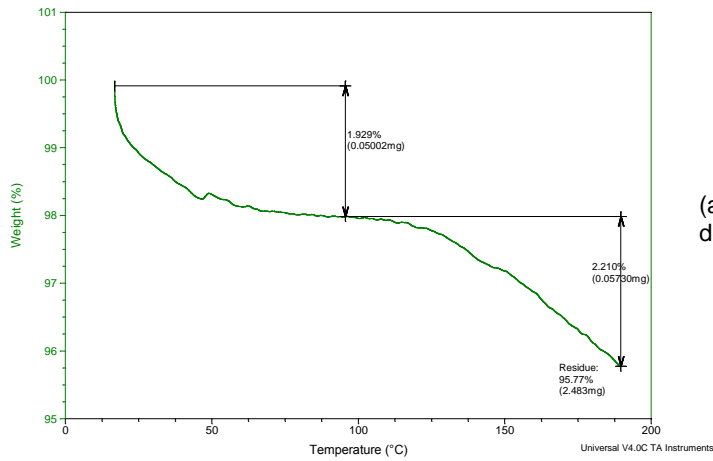
Mediante el análisis de TGA se pudo observar que las muestras mantienen una estabilidad considerable dentro del rango de los 200° C y así mismo conservan sus propiedades mecánicas, lo cual indica que las matrices poliméricas reforzadas con HA son adecuadas.

Ver termogramas individuales en el ANEXO F.

Sample: C8
 Size: 2.5930 mg
 Method: Ramp
 Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...\C-8 abril 23 de 2009.001
 Operator: alexandra torres
 Run Date: 2009-04-23 18:12
 Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

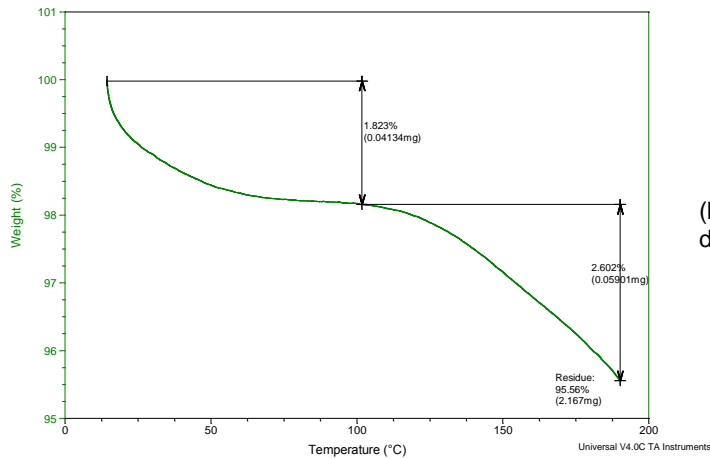


(a) PLGA (50:50)/10% HA y 8 días de degradación

Sample: C-16
 Size: 2.2680 mg
 Method: Ramp
 Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...\C-16 abril 24 de 2009.001
 Operator: alexandra torres
 Run Date: 2009-04-24 08:16
 Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

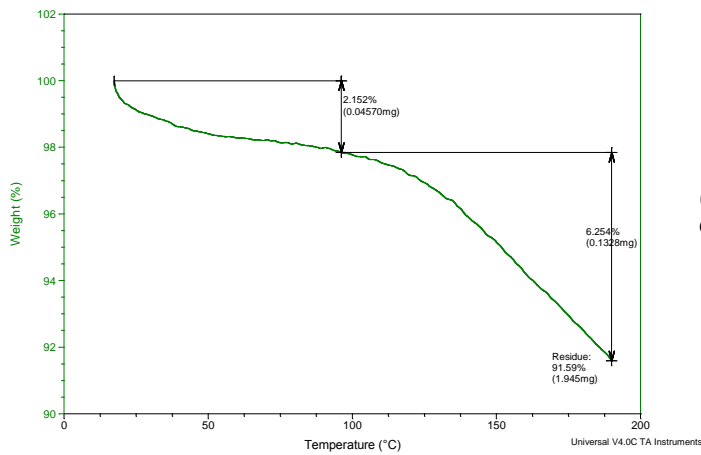


(b) PLGA (50:50)/10% HA y 16 días de degradación

Sample: C-20
 Size: 2.1240 mg
 Method: Ramp
 Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...\C-20 abril 24 de 2009.001
 Operator: alexandra torres
 Run Date: 2009-04-24 09:07
 Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84



(c) PLGA (50:50)/10% HA y 20 días de degradación

Figura 10. Termogramas de TGA para la muestra de PLGA (50:50)/10% HA para 8, 16 y 20 días de degradación, respectivamente.

Fuente. Los autores

CONCLUSIONES

- Las matrices poliméricas reforzadas con HA fueron sintetizadas con éxito mediante la técnica de evaporación/extracción de solvente utilizando cloroformo como tal. Los resultados de las pruebas de FT-IR realizadas presentaron los picos característicos del copolímero y además los correspondientes a la HA, lo cual indica una distribución homogénea de las partículas de HA dentro de la matriz polimérica de PLGA.
- Mediante el ensayo de degradación y mediciones de pérdida de peso, se demostró, que la matriz polimérica de PLGA reforzada con HA se degrada a través de un proceso que inicialmente presentó una difusión de la solución de PBS al interior de la matriz polimérica, alcanzando solo los sectores amorfos, en los cuales comenzó a producirse la hidrólisis de los enlaces éster. Los segmentos de cadena de estos sectores se fragmentan como consecuencia del ataque hidrolítico, y son, precisamente estas rupturas, las que suponen el aumento de la cristalinidad de las muestras.
- Los cambios de pérdida de peso con la temperatura, pérdida de peso y Tg, con el tiempo de degradación hidrolítica indican que el mecanismo de degradación durante los primeros 16 días de hidrólisis, se basó principalmente en la degradación de zonas amorfas.
- Se encontró que la absorción de agua y la pérdida de peso presentada por las muestras, depende en gran medida, de la cantidad de HA presente en la matriz polimérica, así mismo la temperatura de transición vítrea de las muestras, depende del tiempo de degradación.

RECOMENDACIONES

- Se plantea el aplicar el estudio de caracterización química a un espectro más amplio de muestras con el fin de encontrar características más precisas del comportamiento de las muestras sometidas a degradación y sus cambios con el tiempo.
- Para posteriores investigaciones, cabe la posibilidad de explorar más la mezcla PLGA/HA utilizando otras concentraciones tanto de HA o variar las concentraciones del copolímero utilizado.
- Se recomienda hacer pruebas morfológicas específicas para las muestras sometidas a degradación hidrolítica para analizar el comportamiento superficial de las probetas.

BIBLIOGRAFIA

- [1] GÓMEZ, J Y CLEMENTE, R “Técnicas de precipitación como alternativa a la tecnología de recubrimientos con HAP mediante plasma spray”. En: Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales. Vol. 20. No. 1. 2000. pp. 30-38.
- [2] Second Consensus Conference on definitions in Biomaterials. Chester, U.K, 1992.
- [3] BLACK J. Biocompatibility: Definitions and Issues in Biological Performance of materials. New York: Dekker, 1992: 3.
- [4] MARCOS A. SABINO G. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 9, Mayo de 2008. Modificación química de biomateriales poliméricos. XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumana 2007. Pág. 206-210.
- [5] Estudio de copolímeros poli (p-dioxanona)/poli-glicólico. Pág. 17.
- [6] RITTO, Korrodi A. tornillos reabsorbibles para anclaje ortodóncico. The orthodontic Cyber Journal. 2007. Pág. 4-10.
- [7] PANDEY ANURAG, PANDEY GIRISH C., ASWATH PRANESH B. Synthesis of Polylactic- acid-polyglycolic acid blends using microwave radiation. Journal of the Mechanical behavior of biomedical materials: 227-233, (2008).
- [8] MORA CAMPOS Y. Msc. Gastón Fuentes Estévez. Preparación y caracterización de composites cargados con HAP. La Habana, 2005. Pág. 1.
- [9] BOSKEY Adele L. Amorphous calcium phosphate: the contention of bone. Journal of Dental Research; Houston; Aug 1997. Vol. 76 No 8 p. 1433-1439.
- [10] LONDOÑO MARTA ELENA, ECHAVARRIA ALEJANDRO, De la Calle Francenith. Características Cristaloquímica de la Hidroxiapatita sintética tratada

a diferentes temperaturas. Revista EIA, ISSN 1794-1237 Número 5. Pág.109-118. Junio 2006.

[11] KALITA S. J.; BHARDWAJ A. AND BHATT H. A. Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering. Materials Science and Engineering. Article in press (2006).

[12] BARBERO ALFREDO, Cesar. Polímeros conductores y semiconductores de la biología a la nanotecnología. Universidad Nacional de Río Cuarto. Asociación Argentina de Materiales, 2005. Pág. 1-7.

[13] HECHAVARRIA BALMASEDA, Ángel. Manual de procedimientos de técnicas para el diagnóstico del dengue. División de Desarrollo de sistemas y servicios de salud. Programa de medicamentos esenciales y tecnología. Servicio de laboratorio y sangre. El Salvador. 2002.

[14] MIDDLETON, J., Tipton, A.J., "Synthetic Biodegradable Polymers as Orthopedic Devices", Biomaterials. Vol 20. 2000. p. 2335-2346.

[15] D. LEWIS, Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymers, in: Biodegradable polymers as drug delivery systems, Marcel Dekker, New York, 1990, pp 1-41.

[16] LINBO WU, JIANDONG DING, In Vitro of Three-Dimensional Porous Poly(D,L-lactide-co-glycolide) Scaffolds for Tissue Engineering, J Biomaterials 2004; 25: 5821-5830.

[17] D. LEWIS, Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymers, in: Biodegradable polymers as drug delivery systems, Marcel Dekker, New York, 1990, pp 1-41.

[18] MOTTA, A.C., DUEK, E.A.R. Síntese, Caracterização e Degradação "in vitro" do poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico). Revista Materia, v. 11, n.3, Sorocaba, Brasil.2006.p.340 – 350.

[19] EEVA ORAVA, JONI KORVENTAUSTA. In vitro degradation of porous poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA)/bioactive glass composite foams with a polar structure. *Polymer Degradation and Stability* 92 (2007) 14-23.

[20] TAIYO YOSHIOKA, NAOKI KAWAZOE, TETSUYA TATEISHI Y GUOPING CHEN. In Vitro Evaluation of Biodegradation of Poly (lactic-co-glycolic acid) Sponges. *J Biomaterials* 2008; 29: 3438-3443.

[21] CHU, C. Hydrolytic degradation of poly (glycolic acid): tensile strength and crystallinity study. *J. Appl. Polym. Sci.* 26: 1727-1734, 1981.

[22] RUBIANA MARA MAINARDES, María Palmira Daflon Gremião, Raul Cesar Evangelista. Estudio termoanalítico de nanopartículas de PLGA contendo praziquantel. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* Vol.42 no.4 São Paulo Oct. /Dec. 2006.

[23] 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)

[24] TAKAHASHI K., TANIGUCHI I., MIYAMOTO M., KIMURA Y. Melt/solid polycondensation of glycolic acid to obtain high-molecular weight Poly(glycolic acid): *Elsevier Polymer Communication, Polymer* 41: 8725-8728, (2000).

ANEXOS

ANEXO A. SÍNTESIS DE POLÍMEROS Y COPOLIMERO

Síntesis del Acido Poliláctico.

El ácido poliláctico se sintetizó por policondensación del ácido láctico, utilizando como catalizador Zn, este proceso se efectuó con las siguientes etapas: deshidratación, temperatura $T=100\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 2-3 horas y presión atmosférica; esterificación a $T=180\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 6-7 horas y presión de 100 mmHg; oligomeración, a $T=180\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20-30 horas con una presión de 25 mmHg; por último se realizó la policondensación a temperatura de $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 5 horas y presión de 10 mmHg, variando condiciones en la etapa de oligomeración y % de catalizador.

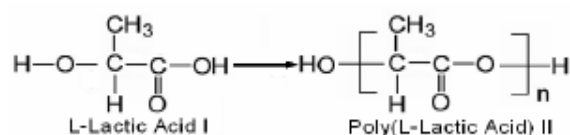


Figura A1. Esterificación del ácido L-láctico a ácido poli(L-láctico)

Fuente. PANDEY Anurag, PANDEY Girish C., ASWATH Pranesh B.

Fuente. D. C. Parada Quinaya, P. González [23].

Síntesis del ácido poliglicólico.

El PGA fue sintetizado por policondensación del ácido glicólico. En la síntesis, existen dos reacciones principales del equilibrio. Una es el equilibrio de deshidratación para la esterificación y la otra implica la depolimerización para el glicode.

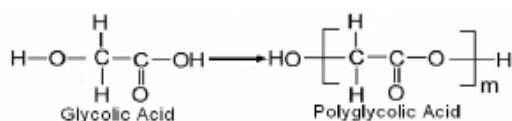


Figura A2. Esterificación del ácido glicólico a ácido poliglicólico

Fuente. PANDEY Anurag, PANDEY Girish C., ASWATH Pranesh B.

En la figuras a continuación podemos observar el montaje realizado para la síntesis y el FT-IR obtenido.



Figura A3. Montaje realizado para la síntesis de PGA.

Fuente. Los autores

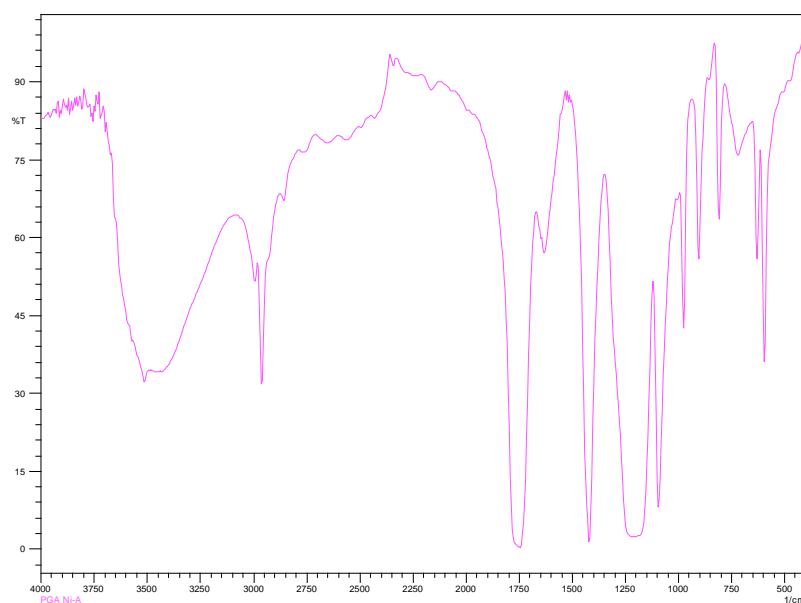


Figura A4. Espectro de Infrarrojo del PGA obtenido en el laboratorio.

Fuente. Los autores.

Fuente. TAKAHASHI K., TANIGUCHI I., MIYAMOTO M., KIMURA Y. [24].

Copolimerización PLGA. Para obtener las probetas de PLGA, se realizó una copolimerización del ácido poliglicólico y del ácido poliláctico, con composición de 50% de PLA y 50% de PGA; 70% de PLA y 30% de PGA.

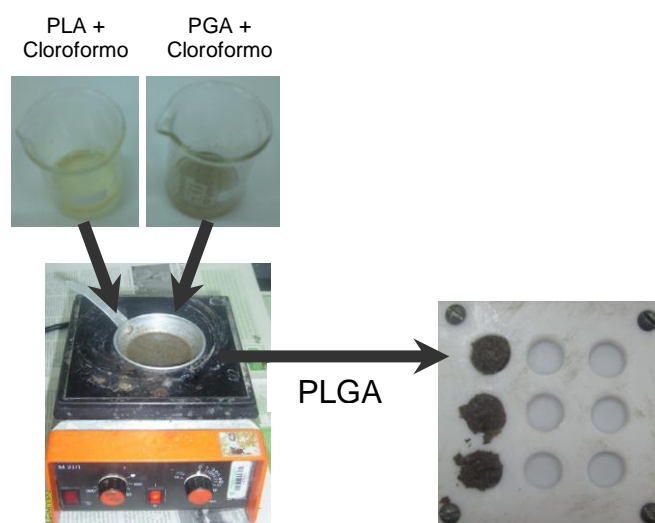


Figura A5. Preparación de las probetas de PLGA

Fuente. Los autores

ANEXO B. DATOS DE PERDIDA DE PESO DE LAS MUESTRAS

PROBETAS CON 4 DIAS EN PBS					
MEZCLA	Mo (Peso Inicial)	M1 (Peso Húmedo)	M2 (Peso Seco)	PBS Abs (%)	Weight loss (%)
PLGA (50-50)	0,69872	0,80805	0,53305	51,58990714	23,7104992
PLGA (50-50)/HA al 5%	0,64165	0,74325	0,45045	65,001665	29,79817658
PLGA (50-50)/HA al 10%	0,65078	0,75870	0,43705	73,59569843	32,84212791
PLGA (70-30)	0,63761	0,71830	0,52660	36,4033422	17,4103292
PLGA (70-30)/HA al 5%	0,47964	0,56247	0,37797	48,81339789	21,19714786
PLGA (70-30)/HA al 10%	0,63219	0,77850	0,48890	59,23501739	22,66565431

PROBETAS CON 8 DIAS EN PBS					
MEZCLA	Mo (Peso Inicial)	M1 (Peso Húmedo)	M2 (Peso Seco)	PBS Abs (%)	Weight loss (%)
PLGA (50-50)	0,80160	1,0491	0,5896	77,93419267	26,44710579
PLGA (50-50)/HA al 5%	0,66202	0,7880	0,4478	75,97141581	32,35853902
PLGA (50-50)/HA al 10%	0,79700	1,0327	0,4806	114,8772368	39,69887077
PLGA (70-30)	0,42314	0,5871	0,3259	80,14728444	22,98057381
PLGA (70-30)/HA al 5%	0,60150	0,7541	0,4414	70,842773	26,61679135
PLGA (70-30)/HA al 10%	0,68162	0,8337	0,4942	68,69688385	27,49625891

PROBETAS CON 12 DIAS EN PBS					
MEZCLA	Mo (Peso Inicial)	M1 (Peso Húmedo)	M2 (Peso Seco)	PBS Abs (%)	Weight loss (%)
PLGA (50-50)	0,66232	0,72236	0,49938	44,65233324	24,60190442
PLGA (50-50)/HA al 5%	0,68689	0,66750	0,44074	51,44983437	35,83543217
PLGA (50-50)/HA al 10%	0,79877	0,78150	0,48988	59,52886421	38,67070621
PLGA (70-30)	0,61262	0,65432	0,43844	49,23752743	28,43165421
PLGA (70-30)/HA al 5%	0,56440	0,57186	0,39210	45,84668747	30,52858493
PLGA (70-30)/HA al 10%	0,62643	0,58431	0,41807	39,76367594	33,26149769

PROBETAS CON 16 DIAS EN PBS					
MEZCLA	Mo (Peso Inicial)	M1 (Peso Húmedo)	M2 (Peso Seco)	PBS Abs (%)	Weight loss (%)
PLGA (50-50)	0,70639	0,69940	0,42182	65,80321936	40,28463974
PLGA (50-50)/HA al 5%	0,63844	0,61413	0,38927	57,76674088	39,02846522
PLGA (50-50)/HA al 10%	0,72461	0,73324	0,41960	74,74737846	42,09298795
PLGA (70-30)	0,64648	0,63777	0,45033	41,62102147	30,34071691
PLGA (70-30)/HA al 5%	0,59637	0,57780	0,36421	58,6442012	38,92829396
PLGA (70-30)/HA al 10%	0,64858	0,58309	0,40393	44,35504502	37,72086713

PROBETAS CON 20 DIAS EN PBS					
MEZCLA	Mo (Peso Inicial)	M1 (Peso Húmedo)	M2 (Peso Seco)	PBS Abs (%)	Weight loss (%)
PLGA (50-50)	0,63567	0,65356	0,57253	14,15297015	9,932826781
PLGA (50-50)/HA al 5%	0,73450	0,75080	0,66363	13,13533143	9,64874064
PLGA (50-50)/HA al 10%	0,63520	0,68653	0,57889	18,59420615	8,864924433
PLGA (70-30)	0,52785	0,52436	0,46326	13,18913785	12,2364308
PLGA (70-30)/HA al 5%	0,61583	0,60803	0,52724	15,32319247	14,38546352
PLGA (70-30)/HA al 10%	0,64783	0,61676	0,54461	13,24801234	15,93319235

ANEXO C. CONCEPTOS TÉCNICAS DE CARACTERIZACION QUÍMICAS UTILIZADAS

Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT- IR). La espectroscopia por transformad de Fourier es una técnicas más ampliamente utilizadas. Esta técnica espectroscópica de absorción analiza la interacción de los niveles de energía vibracionales de los enlaces covalentes con la radiación infrarroja.

La espectroscopia infrarroja ha probado ser una técnica muy poderosa en la determinación del grado de orientación en polímeros y resulta ser particularmente sensible en el estudio de la conformación.

Las medidas de intensidad de las absorciones con radiación polarizada paralela o perpendicular a la dirección de orientación de la muestra, permiten determinar los momentos de transición de los diferentes grupos cromóforos y obtener información sobre la conformación del polímero

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Es un método analítico térmico diferencial en el cual el tiempo/ temperatura del ensayo es directamente proporcional al flujo de calor diferencial entre una muestra y un material de referencia.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC, Differential Scanning Calorimetry) permite el estudio de aquellos procesos en los que se produce una variación entálpica, por ejemplo determinación de calores específicos, puntos de ebullición y fusión, pureza de compuestos cristalinos, entalpías de reacción y determinación de otras transiciones de primer y segundo orden.

En general, el DSC puede trabajar en un intervalo de temperaturas que va desde la temperatura del nitrógeno líquido hasta unos 600 °C. Por esta razón esta técnica de análisis se emplea para caracterizar aquellos materiales que sufren transiciones térmicas en dicho intervalo de temperaturas. La familia de materiales que precisamente presenta todas sus transiciones térmicas en ese intervalo es la de los polímeros. Por esta razón, el DSC se emplea fundamentalmente para la caracterización de estos materiales y es por lo que, de aquí en adelante, nos centraremos fundamentalmente en transiciones térmicas en polímeros estudiadas por DSC.

En el campo de polímeros pueden determinarse transiciones térmicas como la temperatura de transición vítrea T_g , temperatura de fusión T_m ; se pueden hacer estudios de compatibilidad de polímeros, reacciones de polimerización y procesos de curado.

Aplicaciones comunes de DSC

- Calor específico y propiedades en las que varía el calor específico como la temperatura de transición vítrea o la transición de Curie
- Transiciones de fase
- Polimorfismos
- Determinación de puntos de fusión
- Determinación de parte amorfa y cristalina
- Cinéticas de reacción
- Tiempo e inducción a la oxidación
- Descomposición

Análisis Termo-gravimétrico (TGA). La Termogravimetría (TG) está basada en la medida de la variación de la masa de una muestra cuando dicha muestra se somete a un programa de temperatura en una atmósfera controlada. Esta variación de masa puede ser una pérdida de masa o una ganancia de masa. La Termogravimetría se está usando muy ampliamente acoplada a otras técnicas, como por ejemplo DTA o DSC, y también a técnicas EGA. Asimismo en los últimos años se viene hablando de la Termogravimetría de Alta Resolución (HRTG), en la cual, y mediante software, es posible modificar la velocidad de variación de la temperatura en función de que se produzcan o no variaciones de masa de la muestra.

Aplicaciones de la Termogravimetría:

- Estudios de descomposición y estabilidad térmica.
- Estudios composicionales.
- Determinación de purezas.
- Determinación de contenido en humedad, materia volátil, cenizas y carbono fijo.

ANEXO D. DETERMINACION DE LA CINETICA DE DEGRADACION DE PLGA/HPA

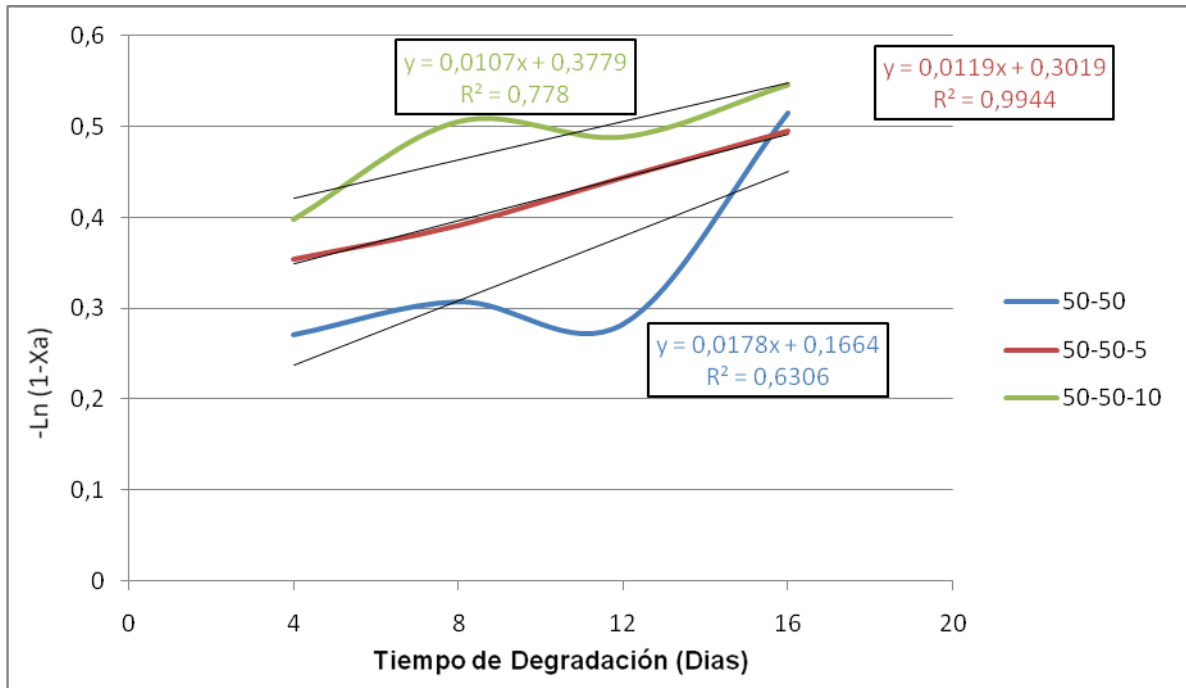


Figura D1. Cinéticas de Degradación PLGA (50:50).

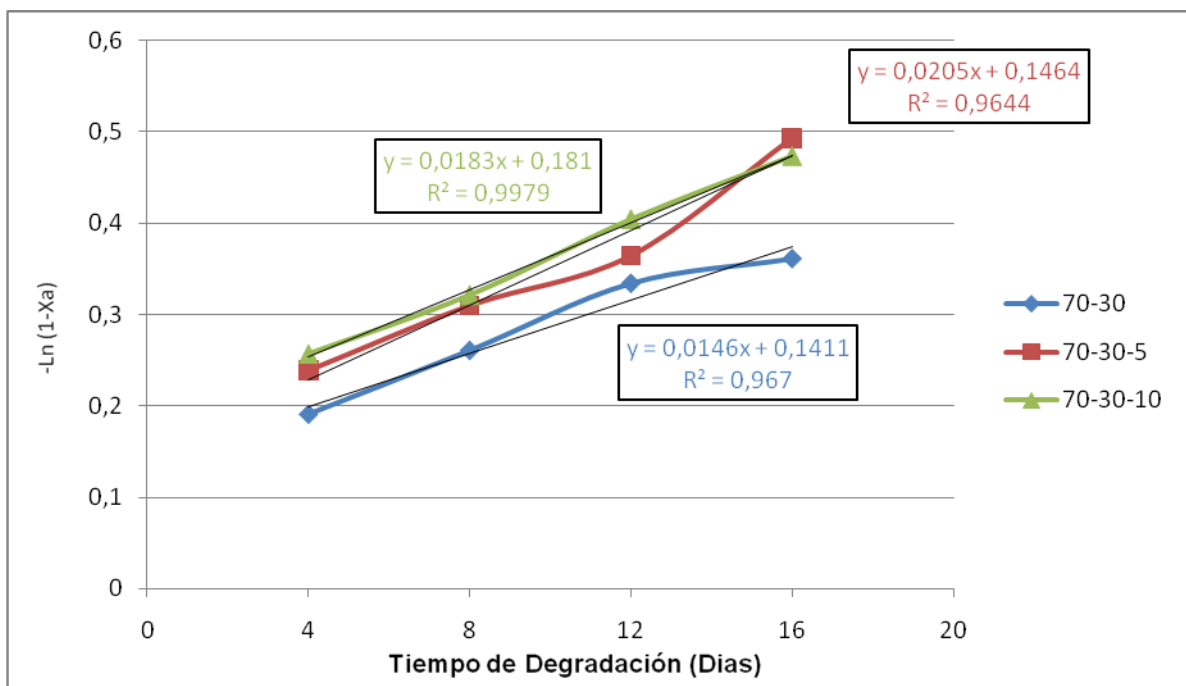


Figura D2. Cinéticas de Degradación PLGA (70:30).

ANEXO E. TERMOGRAMAS DSC DE LAS MUESTRAS

Sample: A-8 repeticion abril 18 2009
Size: 2.5010 mg
Method: Ramp
Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: ...A-8 repeticion abril 18 de 2009.001
Operator: Alexandra Torres
Run Date: 2009-04-18 11:30
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

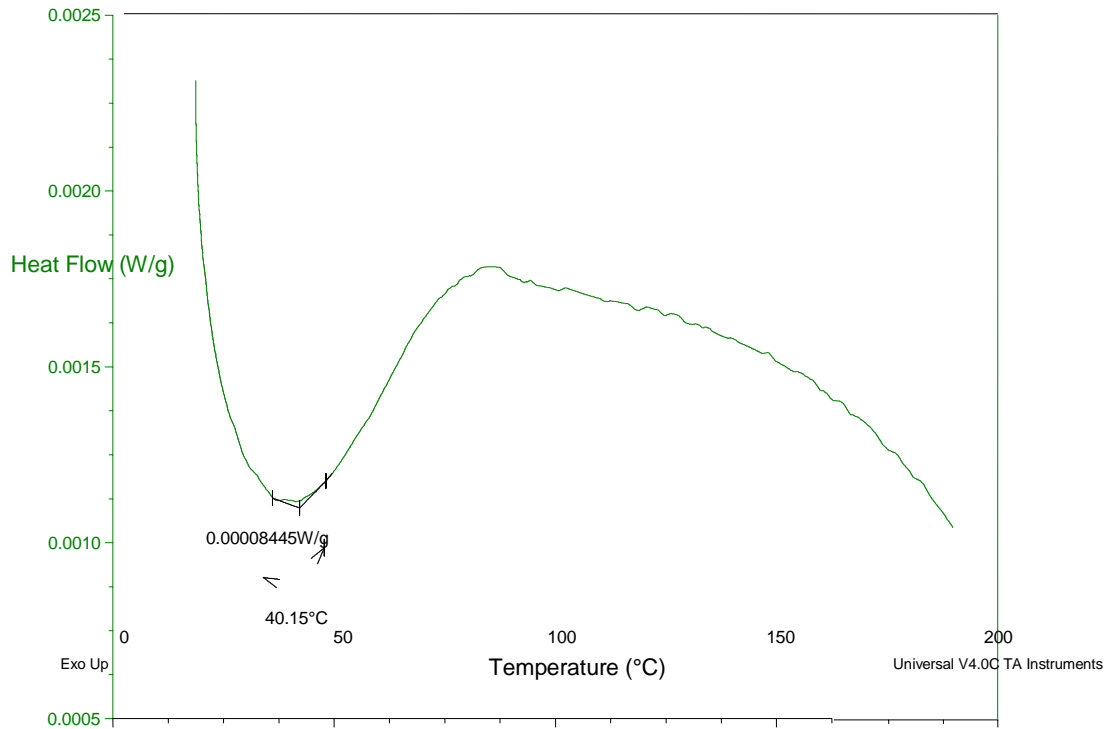


Figura E1. Termograma DSC PLGA (50:50) y 8 días de degradación.

Sample: A-16
Size: 1.7930 mg
Method: Ramp
Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:...A-16 abril 17 de 2009.001
Operator: Alexandra Torres
Run Date: 2009-04-17 13:01
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

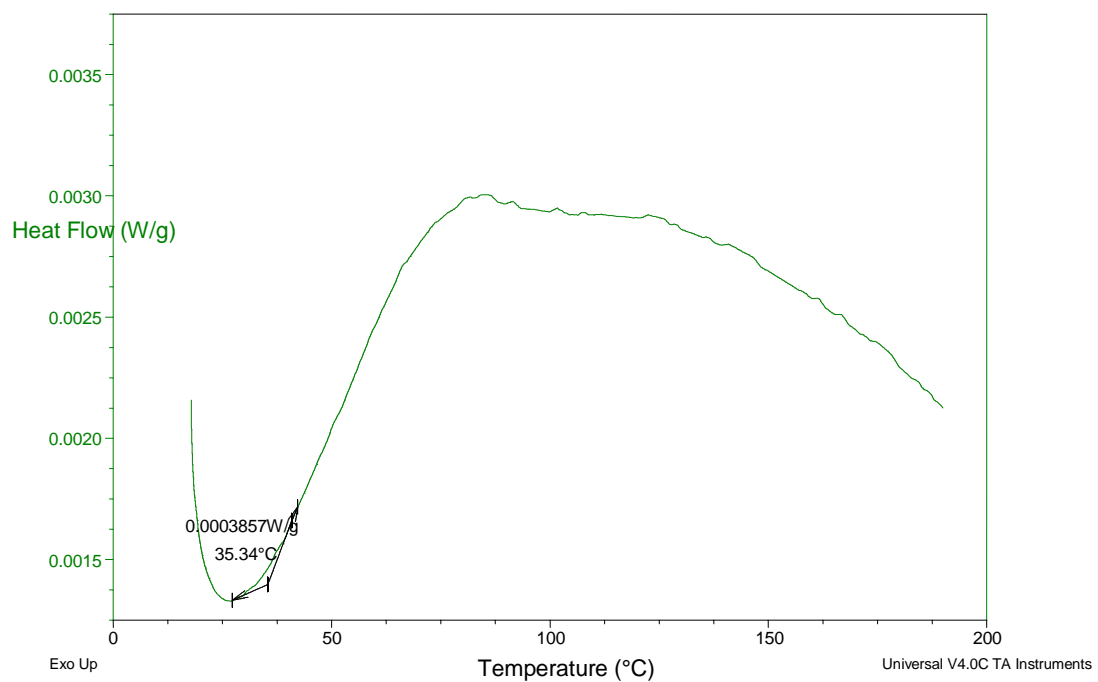


Figura E2. Termograma DSC PLGA (50:50) y 16 días de degradación.

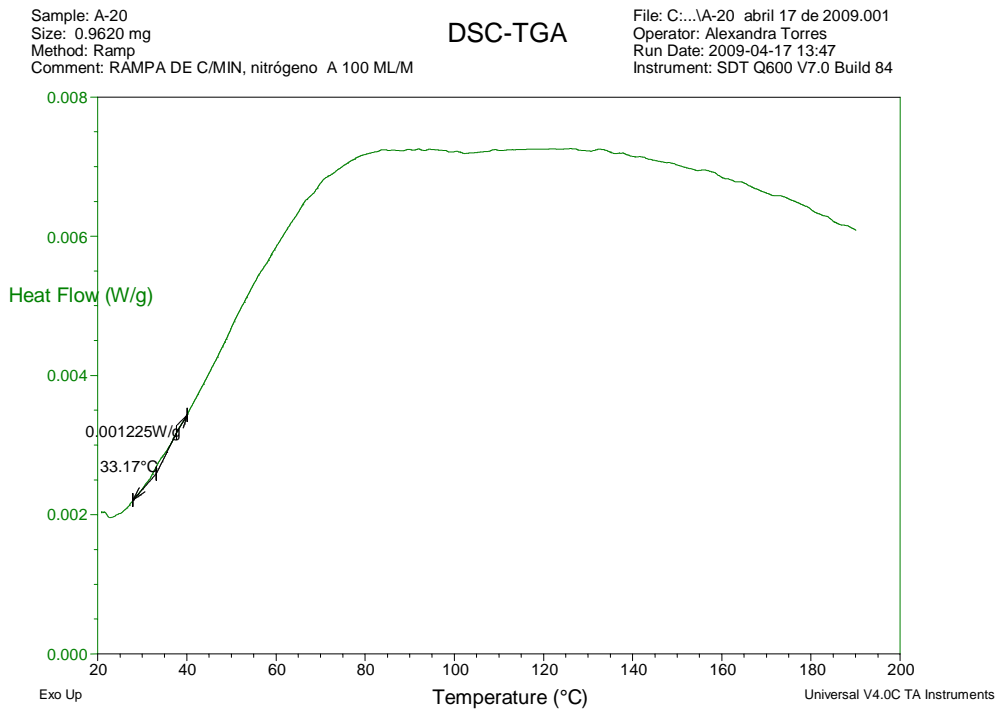


Figura E3. Termograma DSC PLGA (50:50) y 20 días de degradación.

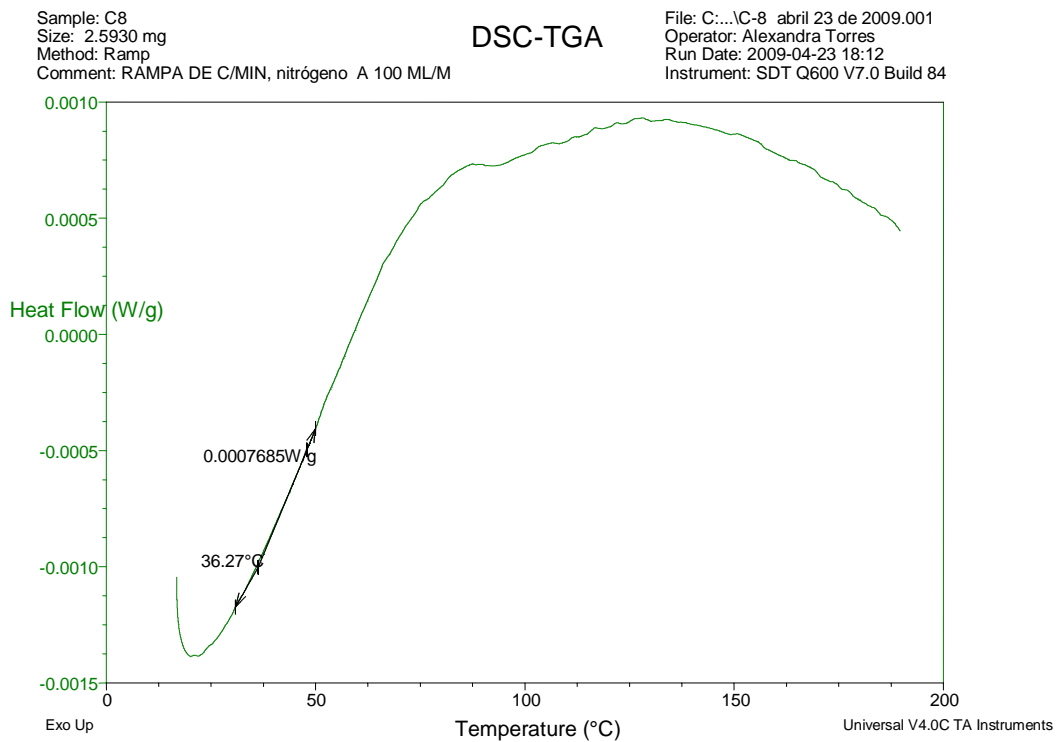


Figura E4. Termograma DSC PLGA (50:50)/10% HA y 8 días de degradación.

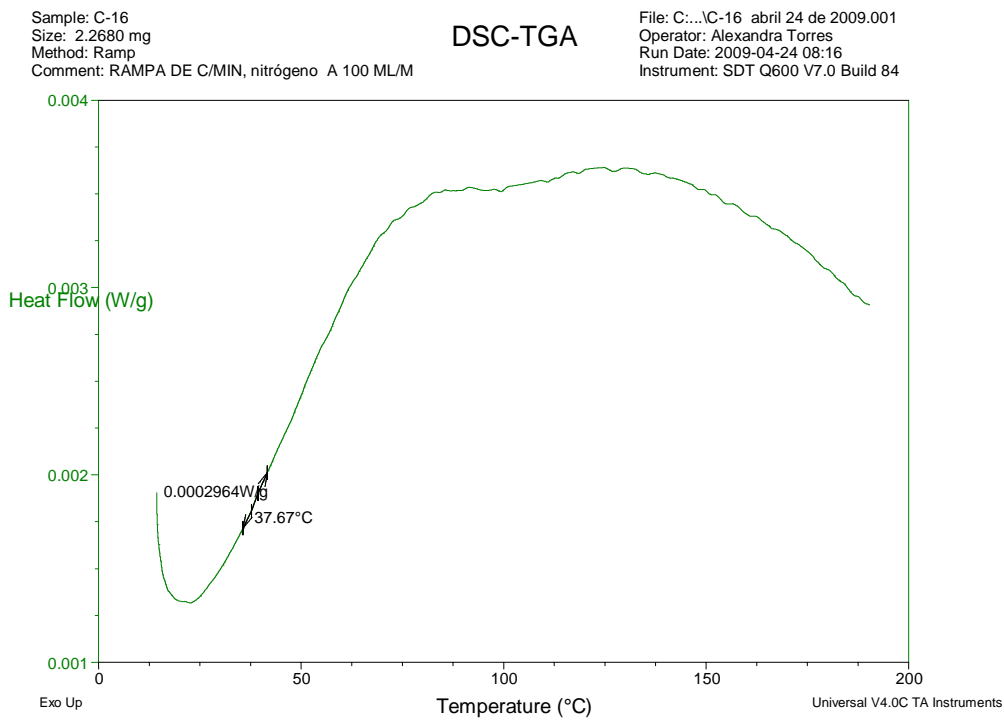


Figura E5. Termograma DSC PLGA (50:50)/10% HA y 16 días de degradación.

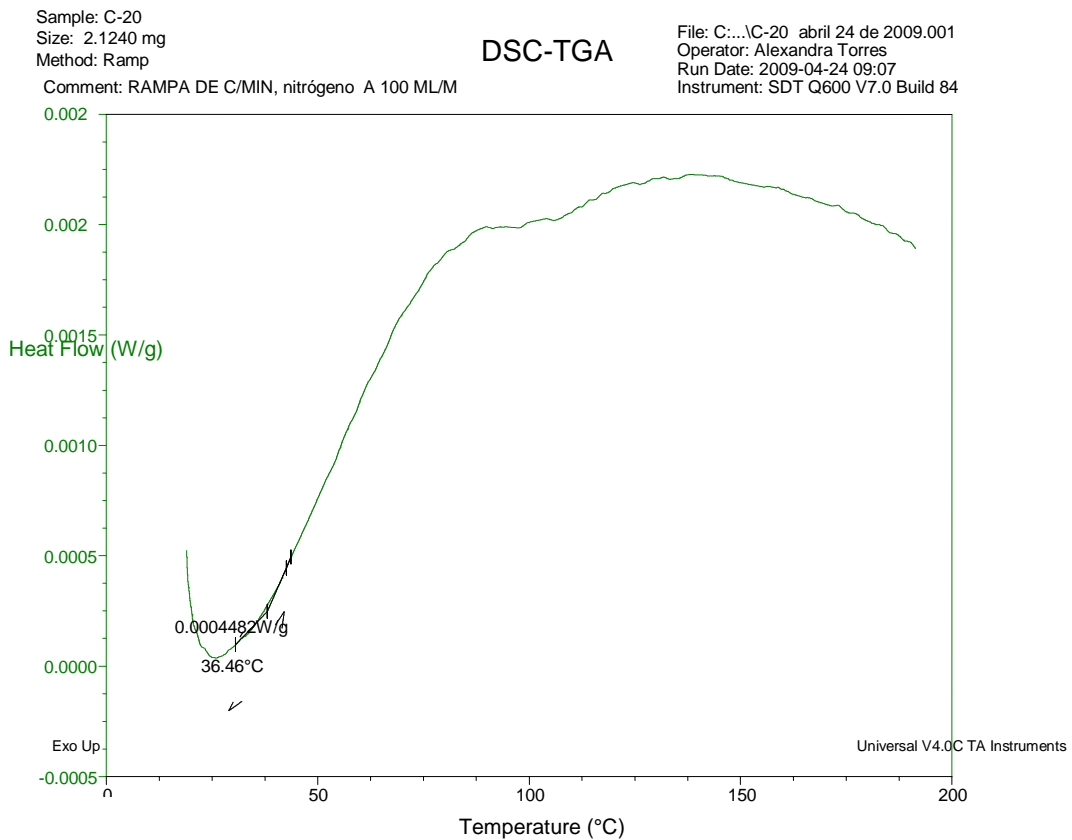


Figura E6. Termograma DSC PLGA (50:50)/10% HA y 20 días de degradación.

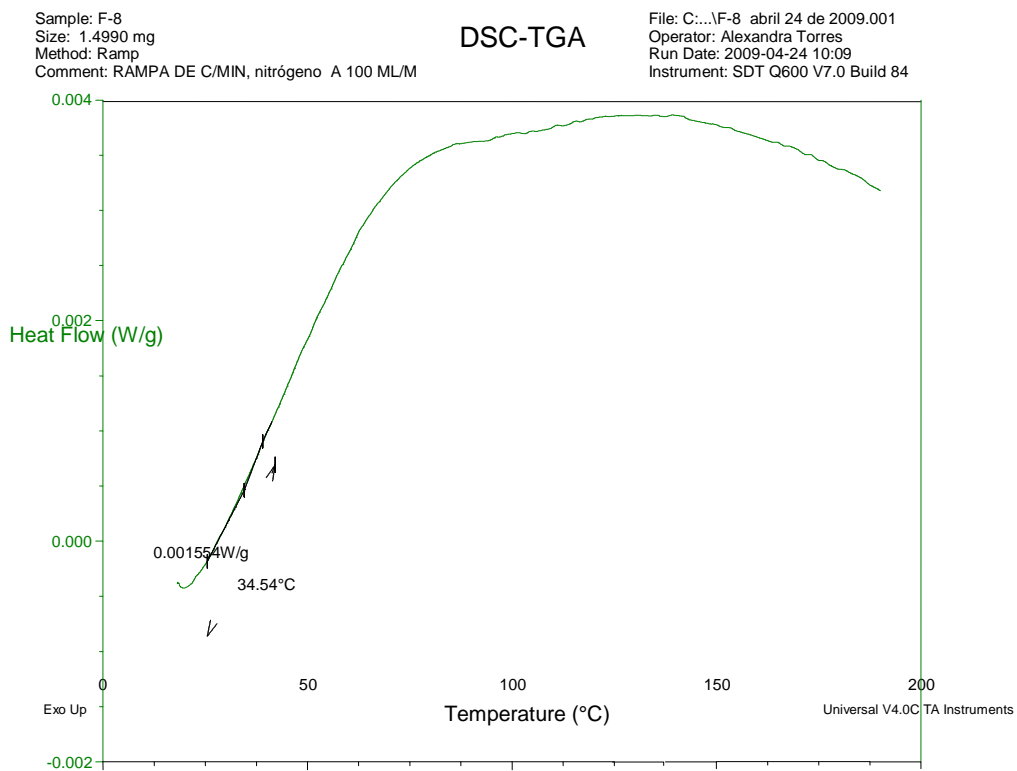


Figura E7. Termograma DSC PLGA (70:30)/10% HA y 8 días de degradación.

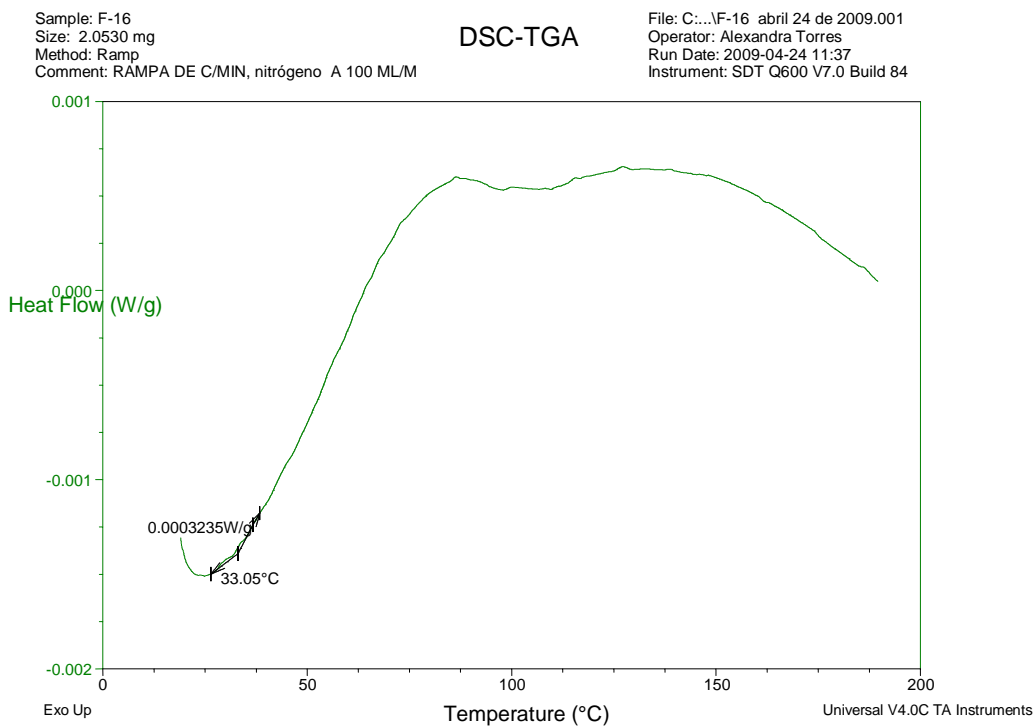


Figura E8. Termograma DSC PLGA (70:30)/10% HA y 16 días de degradación.

Sample: F-20
Size: 1.8020 mg
Method: Ramp
Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...F-20_abril_24_de_2009.001
Operator: Alexandra Torres
Run Date: 2009-04-24 12:30
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

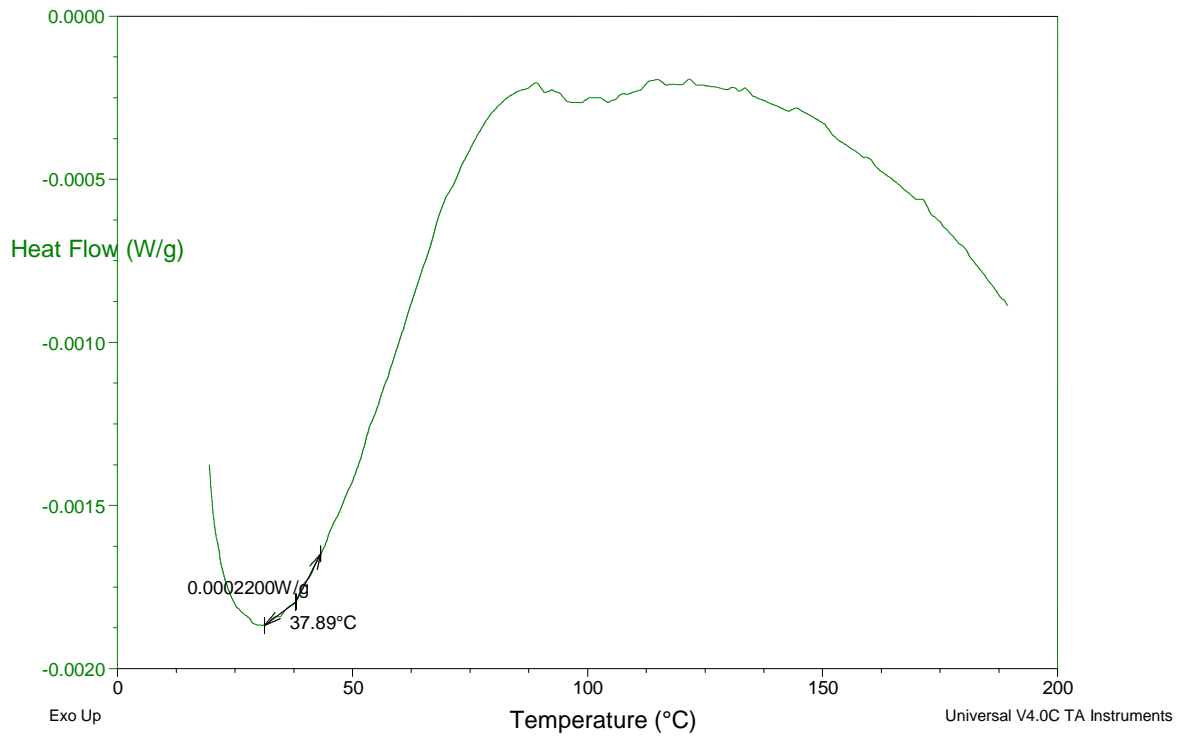


Figura E9. Termograma DSC PLGA (70:30)/10% HA y 20 días de degradación.

ANEXO F. TERMOGRAMAS TGA DE LAS MUESTRAS

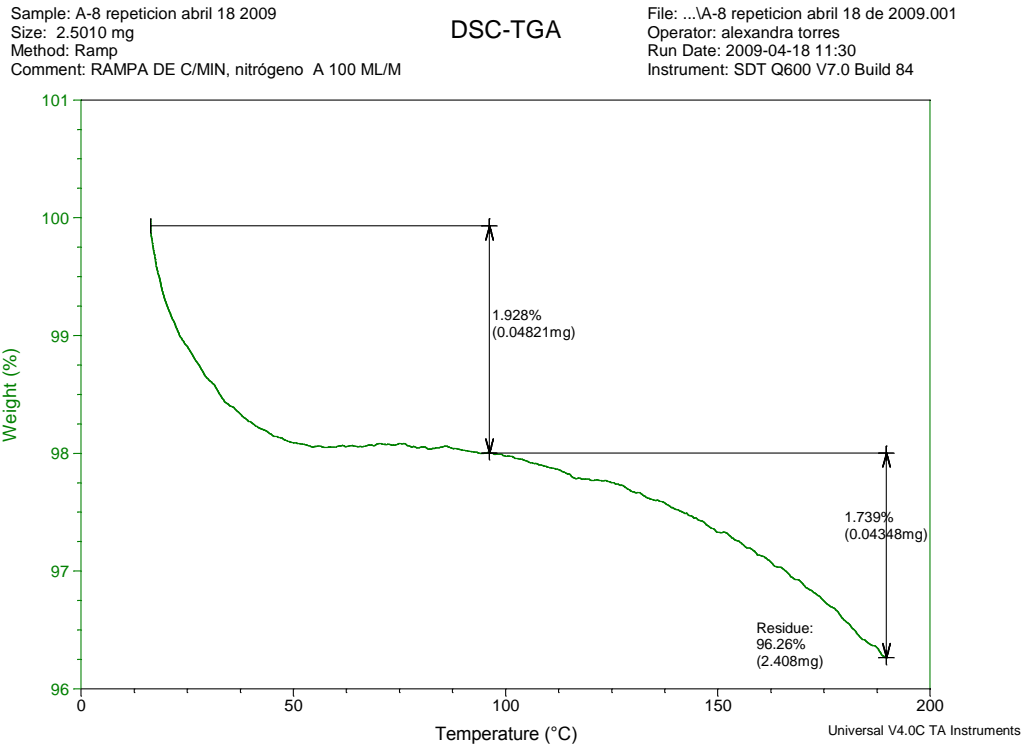


Figura F1. Termograma TGA PLGA (50:50) y 8 días de degradación.

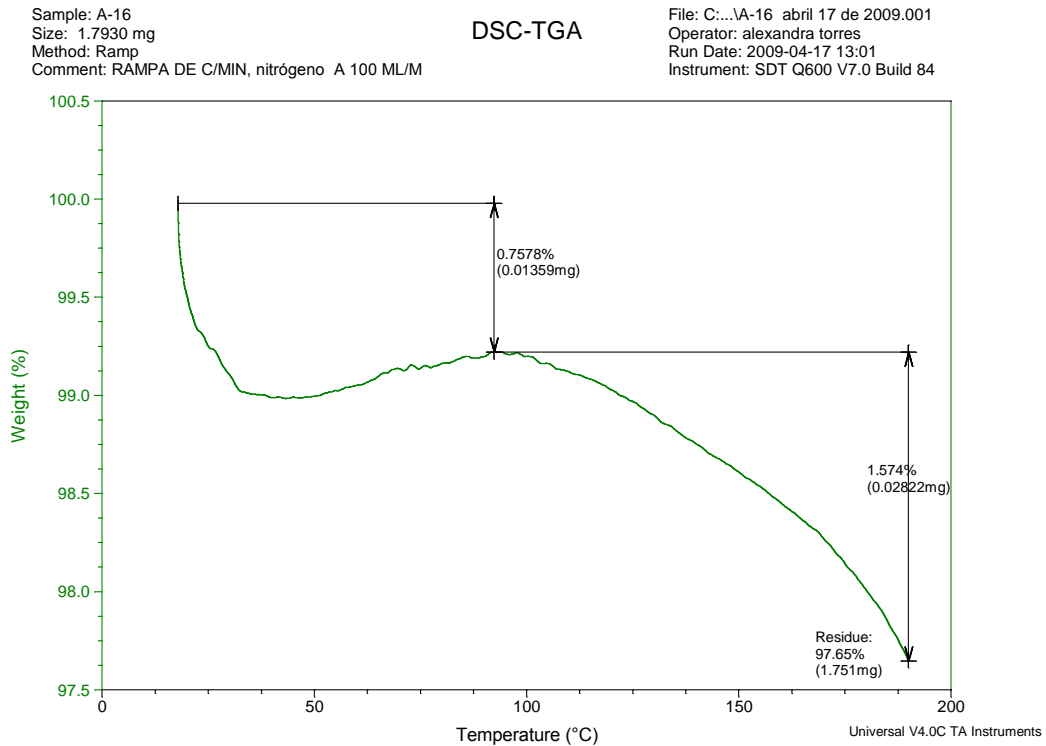


Figura F2. Termograma TGA PLGA (50:50) y 16 días de degradación.

Sample: A-20
Size: 0.9620 mg
Method: Ramp
Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...A-20 abril 17 de 2009.001
Operator: alexandra torres
Run Date: 2009-04-17 13:47
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

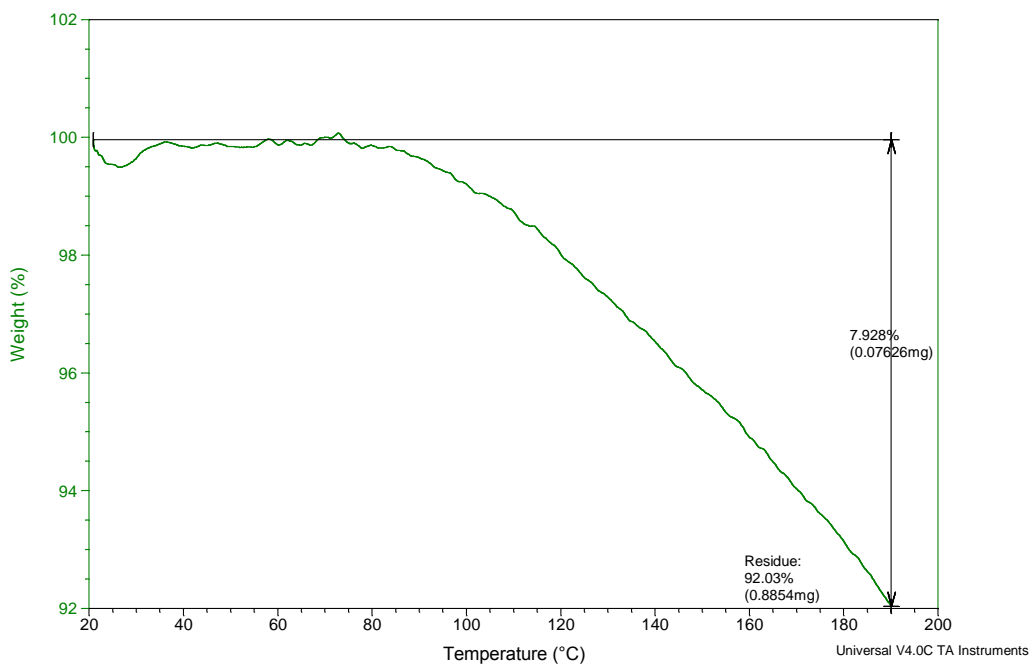


Figura F3. Termograma TGA PLGA (50:50) y 20 días de degradación.

Sample: C8
Size: 2.5930 mg
Method: Ramp
Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...C-8 abril 23 de 2009.001
Operator: alexandra torres
Run Date: 2009-04-23 18:12
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

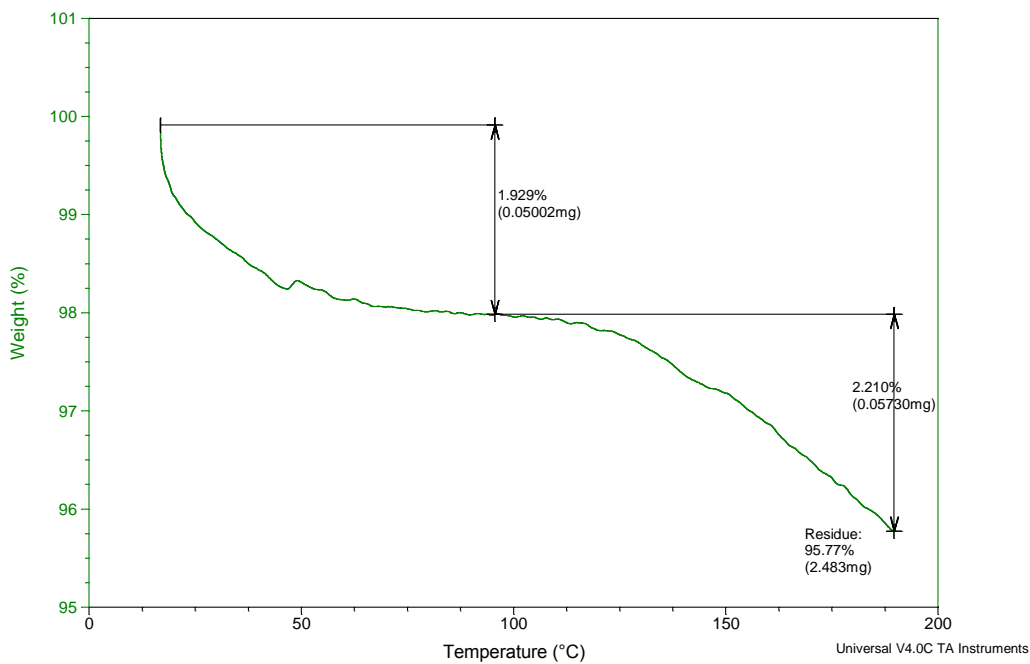


Figura F4. Termograma TGA PLGA (50:50)/10% HA y 8 días de degradación.

Sample: C-16
Size: 2.2680 mg
Method: Ramp
Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...C-16 abril 24 de 2009.001
Operator: alexandra torres
Run Date: 2009-04-24 08:16
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

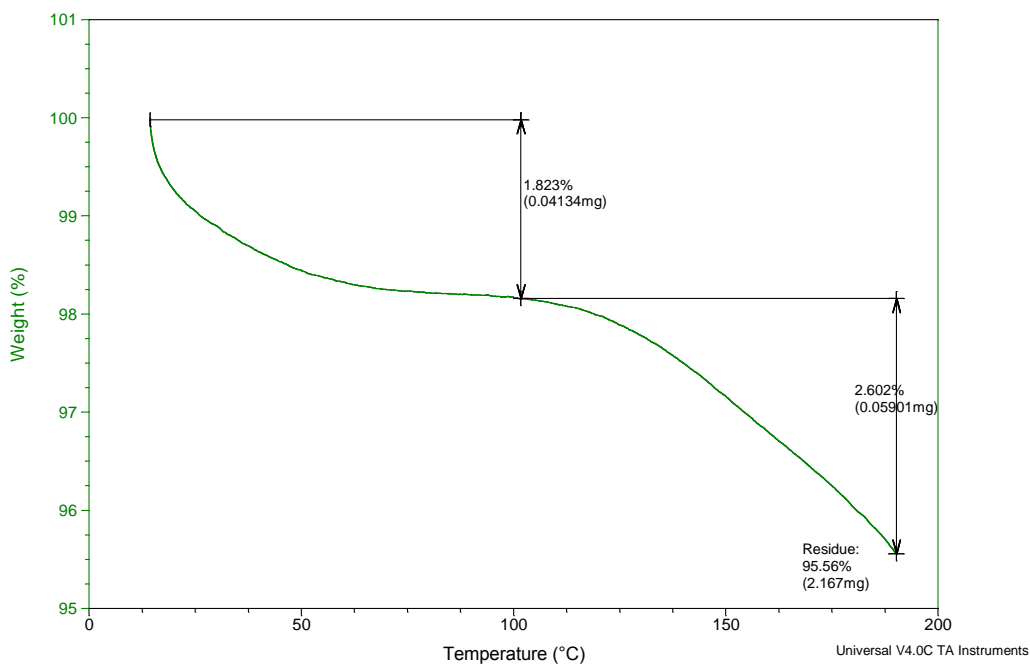


Figura F5. Termograma TGA PLGA (50:50)/10% HA y 16 días de degradación.

Sample: C-20
Size: 2.1240 mg
Method: Ramp
Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...C-20 abril 24 de 2009.001
Operator: alexandra torres
Run Date: 2009-04-24 09:07
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

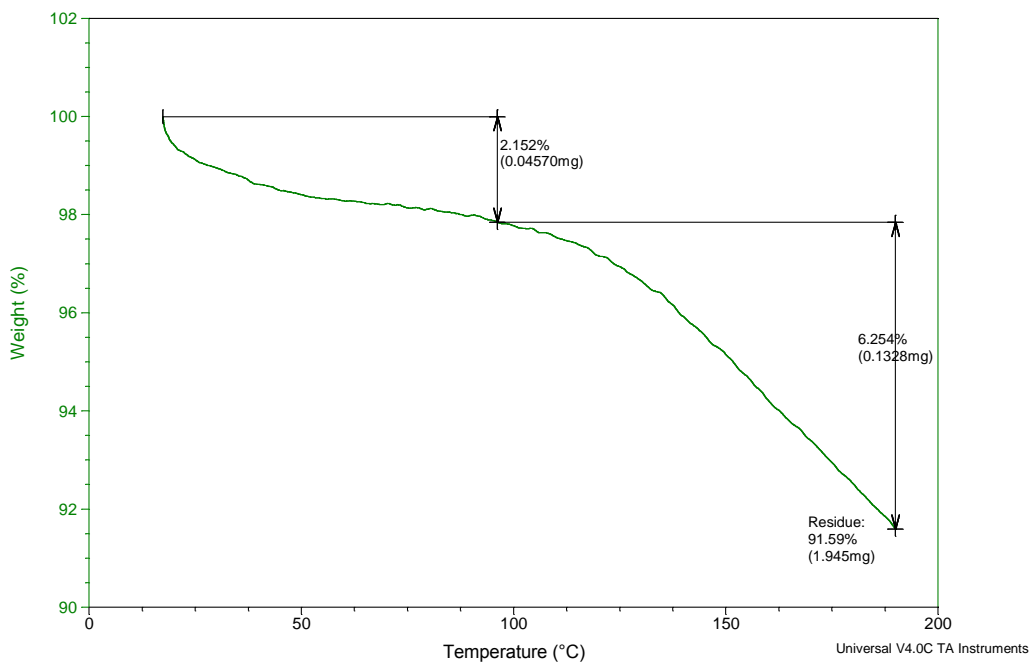


Figura F6. Termograma TGA PLGA (50:50)/10% HA y 20 días de degradación.

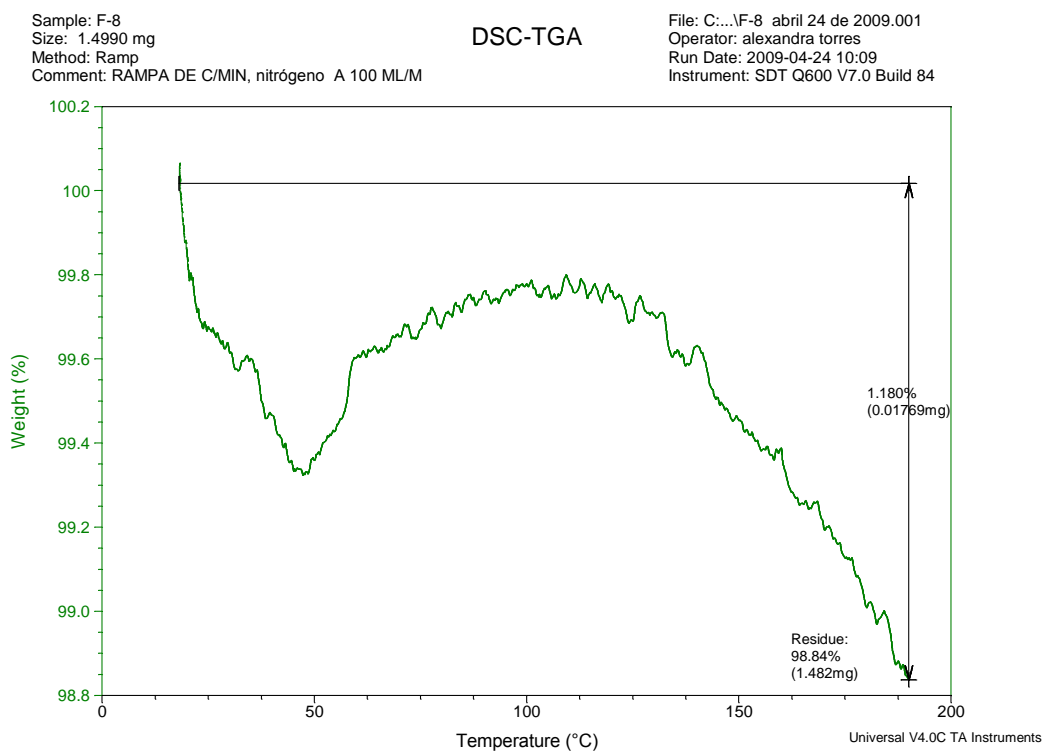


Figura F7. Termograma TGA PLGA (70:30)/10% HA y 8 días de degradación.

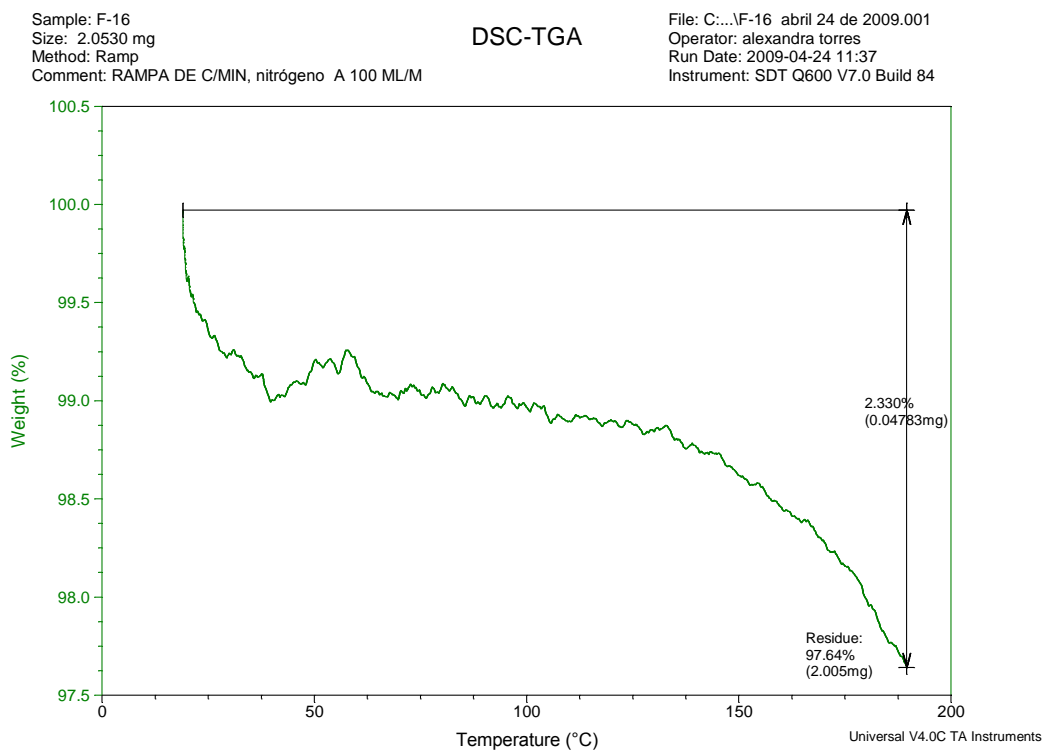


Figura F8. Termograma TGA PLGA (70:30)/10% HA y 16 días de degradación.

Sample: F-20
Size: 1.8020 mg
Method: Ramp
Comment: RAMPA DE C/MIN, nitrógeno A 100 ML/M

DSC-TGA

File: C:\...F-20_abril_24_de_2009.001
Operator: alexandra torres
Run Date: 2009-04-24 12:30
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

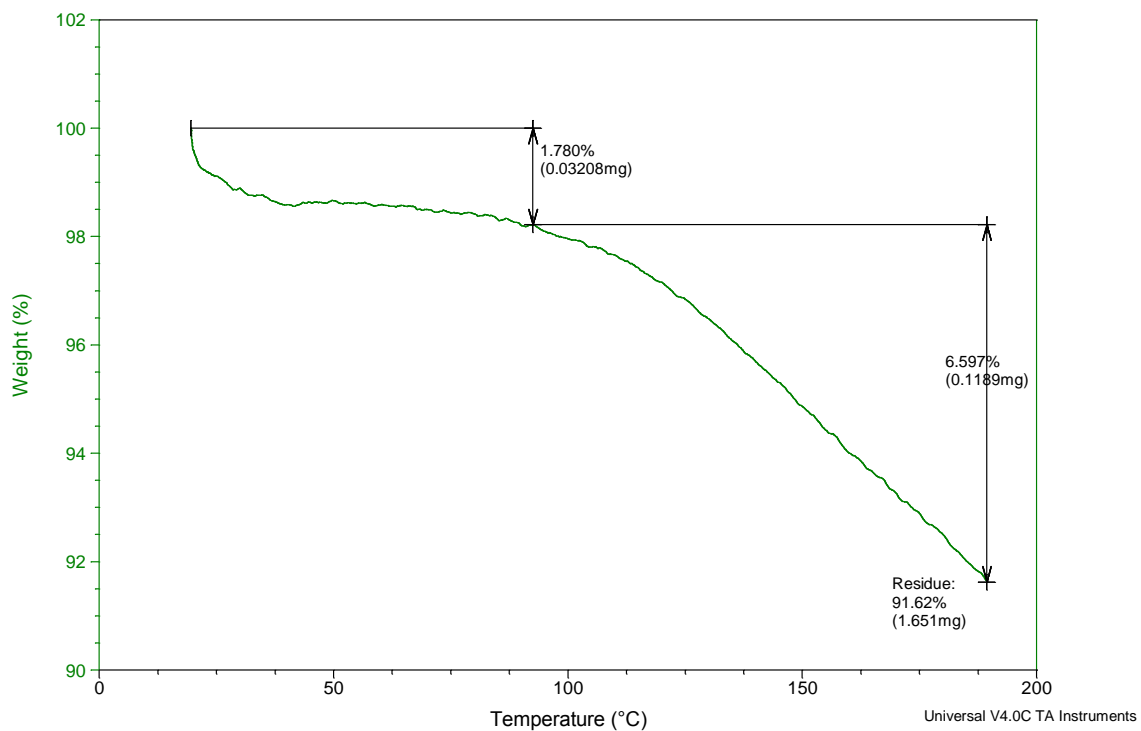


Figura F9. Termograma TGA PLGA (70:30)/10% HA y 20 días de degradación.