



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO®



**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA**

**Desarrollo de un material nanocomposito (PLA-CNT-Gf) biocompatible  
para la impresión 3D de piezas de aplicación médica.**

Trabajo de tesis presentado por:

**Ing. Manuel Alejandro Cardona Salcedo**

Para obtener el grado de:

**Maestro en Ciencias de la Ingeniería**

Director de tesis:

**Dra. Mercedes Teresita Oropeza Guzmán**

Codirector de tesis:

**Dra. Yadira Gochi Ponce**

Tijuana, B.C., México



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tijuana

Tijuana Baja California, 30/Mayo/2022

Asunto: Autorización de impresión de trabajo de tesis

**DR. GUADALUPE HERNÁNDEZ ESCOBEDO**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**  
**PRESENTE**

En lo referente al trabajo de tesis, "Desarrollo de un material nanocomposito (PLA-CNT-GF) biocompatible para la impresión 3D de piezas de aplicación médica" presentado por el Ing. Manuel Alejandro Cardona Salcedo, alumno del programa de Maestría en Ciencias de la Ingeniería, con número de control M20210034 informamos a usted que después de una minuciosa revisión e intercambio de opiniones, los miembros del comité manifiestan **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias, por lo que se autoriza al interesado para que proceda de inmediato a la impresión del mismo.

**ATENTAMENTE**

*Excelencia en Educación Tecnológica®*  
*Por una juventud integrada al desarrollo de México®*

**DRA. MERCEDES TERESITA OROPEZA GUZMÁN**  
**DIRECTORA DE TESIS**

**DRA. YADIRA GOCHI PONCE**  
**CO-DIRECTORA DE TESIS**

**DR. ANTONIO TIRADO GUIZAR**  
**MIEMBRO DEL COMITÉ**

ccp. Archivo

Dr. José Ricardo Cárdenas Valdez – Coordinador Académico de la Maestría en Ciencias de la Ingeniería.



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin, Fracc.

Tomás Aquino C.P.22414 Tijuana, Baja California. Tel. 01 (664) 6078400 Est. 101

e-mail: dir\_tijuana@tecnm.mx | tecnm.mx | Tijuana.tecnm.mx



**2022 Flores**  
Año de Magón  
PRESENCIA EN LA REGULACIÓN DEL ESTADO



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tijuana

Tijuana, Baja California,

13/junio/2022

OFICIO No. 065/DEPI/2022

Asunto: **Autorización de Impresión de Tesis**

**MARÍA MAGDALENA SERRANO ORTEGA**  
**JEFA DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**PRESENTE**

En lo referente al trabajo de tesis, "Desarrollo de un material nanocomposito (PLA-CNT-GF) biocompatible para la impresión 3D de piezas de aplicación medica". Presentado por C. **Manuel Alejandro Cardona Salcedo**, alumno de la Maestría en Ciencias de la Ingeniería con numero de control **M20210034.**; informo a usted que a solicitud del comité de tutorial, tengo a bien **Autorizar la impresión de Tesis**, atendiendo las disposiciones de los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado del Tecnológico Nacional de México.

Sin más por el momento le envié un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E**  
*Excelencia en Educación Tecnológica.*



**GUADALUPE HERNÁNDEZ ESCOBEDO**  
**JEFE DE DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

ccp. Archivo

GHE/lap



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin,  
Fracc. Tomás Aquino C.P.22414 Tijuana, Baja California. Tel. 01 (664) 6078400  
Est. 101

e-mail: [dir\\_tijuana@tecnm.mx](mailto:dir_tijuana@tecnm.mx) | [tecnm.mx](http://tecnm.mx) | [Tijuana.tecnm.mx](http://Tijuana.tecnm.mx)



**2022 Flores**  
Año de **Magón**  
PRINCIPIO EN LA REVOLUCIÓN MEXICANA



## CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de Tijuana, Baja California, el día 30 del mes de mayo del año 2022, el que suscribe **Manuel Alejandro Cardona Salcedo**, con número de control **M20210034**, alumno de **Maestría** del programa de Posgrado en Ciencias de la Ingeniería, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Mercedes Teresita Oropeza Guzmán, cede los derechos para su difusión, en su totalidad o en partes, con fines académicos o de investigación del documento de tesis titulado "**Desarrollo de un material nanocomposito (PLA-CNT-GF) biocompatible para la impresión 3D de piezas de aplicación médica**" al Tecnológico Nacional de México.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas, código, fórmulas o datos del trabajo sin permiso expreso del autor o directores del trabajo. Este debe ser obtenido escribiendo a cualquiera de las siguientes direcciones de correo electrónico [manuel.cardona17@tectijuana.edu.mx](mailto:manuel.cardona17@tectijuana.edu.mx), [mercedes.oropeza@tectijuana.edu.mx](mailto:mercedes.oropeza@tectijuana.edu.mx) o bien, dirigirse a las instalaciones del Instituto Tecnológico de Tijuana en Calzada del Tecnológico S/N Esq. Av. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin, Fracc. Tomás Aquino C.P. 22414, Tijuana, Baja California, conmutador 664-6078400.

Si se otorga el permiso, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo como lo indique el autor intelectual o el director del trabajo de Tesis.

**ATENTAMENTE**  
**Manuel Alejandro Cardona Salcedo**

**ALUMNO DEL POSGRADO EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA**



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin, Fracc. Tomás Aquino C.P.22414 Tijuana, Baja California. Tel. 01 (664) 6078400 Est. 101  
e-mail: [dir\\_tijuana@tecnm.mx](mailto:dir_tijuana@tecnm.mx) | [tecnm.mx](http://tecnm.mx) | [Tijuana.tecnm.mx](http://Tijuana.tecnm.mx)



## **Agradecimientos**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (CVU: 1022850) para la realización de este proyecto, así como al Tecnológico Nacional de México/IT de Tijuana por haberme permitido realizar mis estudios de posgrado en el programa de Maestría en Ciencias de la Ingeniería.

Agradezco profundamente a la Dra. Mercedes Teresita Oropeza, a la Dra. Yadira Gochi y al Dr. Antonio Tirado por la enorme paciencia y apoyo que tuvieron hacia un servidor en la realización de este proyecto y, sobre todo, por las grandes enseñanzas y conocimientos que me transmitieron.

De igual manera, a todas las demás personas que contribuyeron a que este proyecto se haya podido culminar exitosamente.

También, doy gracias a cada uno de mis compañeros de laboratorio con los que tuve convivencia (Marlon, Xiomara, Karina, Estephany, Grecia, Luis) por el enorme apoyo y sincera amistad que me brindaron.

Por último, agradezco a la vida por permitirme finalizar esta etapa a pesar de los grandes retos personales que surgieron durante el trayecto, cada uno de los obstáculos vencidos aportaron invaluable enseñanzas que me hicieron crecer como persona.

## **Dedicatoria**

A mis dos más grandes amigos y compañeros de la vida, mi padre y mi hermano. Sin duda su enorme apoyo, motivación y amor fueron un pilar fundamental para poder vencer cada uno de los obstáculos personales y concluir exitosamente esta etapa.

A mi difunta y adorada madre, su recuerdo y enseñanzas han sido la motivación que me impulsan y direccionan cada día a través de los difíciles caminos de esta vida.

A mis grandes amigos Itamar, Marco e Itzel les dedico este logro, sus palabras de apoyo que me brindaron y sus cálidos momentos me inspiraron cada día a no rendirme.

*«La ciencia no sabe de países, porque el conocimiento le pertenece a la humanidad y es la antorcha que ilumina al mundo. La ciencia es el alma de la prosperidad de las naciones y la fuente de todo progreso» Louis Pasteur*

## **Resumen**

El presente proyecto se enfocó en el desarrollo de un filamento a base un nanocomposito de ácido poliláctico (PLA) y nanotubos de carbón de pared múltiple (MWCNT) para ser utilizado en impresión 3D de tornillos para osteosíntesis. El nanocomposito PLA/MWCNT se caracterizó por dispersión de luz dinámica (DLS) para verificar el tamaño de partícula. El análisis del nanocomposito también se hizo por técnicas espectroscópicas de FTIR Y Raman con el fin de detectar la permanencia de los grupos funcionales del ácido poliláctico o cambios estructurales en los MWCNT antes y después de combinar las dispersiones de PLA y MWCNT, así como antes y después de moldear el nanocomposito. Una vez formado el nanocomposito se le practicaron los análisis termogravimétricos (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC). Para identificar la morfología del nanocomposito se empleó la microscopía electrónica de barrido (SEM) y la microscopía de fuerza atómica (AFM). El moldeo del nanocomposito se llevó a cabo por medio de un equipo de extrusión. Adicionalmente, a los filamentos de nanocomposito obtenidos se les realizó ensayos mecánicos de tracción para evaluar su cambio con respecto a aquellos filamentos de PLA. Simultáneamente se realizaron diseños 3D de tornillos de fijación ortopédica (osteosíntesis), para imprimirlos en 3D utilizando el filamento nanocomposito desarrollado como material de impresión. Finalmente, los tornillos fabricados fueron evaluados biológicamente mediante ensayos de hemólisis en sangre obteniendo un valor de biocompatibilidad aceptable conforme a la normativa internacional. En este proyecto se obtuvo como resultado una pieza médica biocompatible fabricada con impresión 3D utilizando como filamento de impresión el nanocomposito PLA/MWCNT.

Palabras clave: biomateriales, nanocompositos, nanotubos de carbono de pared múltiple, ácido poliláctico, impresión 3D.

# Índice General

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1.1 Antecedentes y planteamiento del problema</b> .....	1
<b>1.2 Objetivos</b> .....	4
<b>1.2.1 Objetivo general</b> .....	4
<b>1.2.2 Objetivos específicos</b> .....	4
<b>1.3 Justificación</b> .....	5
<b>1.4 Hipótesis</b> .....	5
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	6
<b>2.1 Biomateriales</b> .....	6
<b>2.2 Biocompatibilidad</b> .....	6
<b>2.3 Dispositivos Médicos</b> .....	8
<b>2.4 Clasificación de biomateriales</b> .....	9
<b>2.4.1 Polímeros</b> .....	9
<b>2.4.2 Compositos</b> .....	10
<b>2.4.2.1 Síntesis de Nanocompositos</b> .....	12
<b>2.5 Osteosíntesis</b> .....	13
<b>2.7 Nanotubos de carbono</b> .....	15
<b>2.7.1 Métodos de obtención</b> .....	18
<b>2.7.2 Nebulización pirolítica</b> .....	18
<b>2.8 Ácido Poliláctico</b> .....	19
<b>2.8.1 Síntesis del PLA</b> .....	20
<b>2.9 Impresión 3D</b> .....	21
<b>2.10 Técnicas de caracterización de biomateriales</b> .....	24
<b>2.10.1 Espectroscopía Infrarroja</b> .....	24
<b>2.10.2 Espectroscopía Raman</b> .....	26
<b>2.10.3 Dispersión de luz dinámica (DLS)</b> .....	29
<b>2.10.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)</b> .....	32
<b>2.10.5 Análisis Termogravimétrico (TGA)</b> .....	35
<b>2.10.6 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)</b> .....	36
<b>2.10.7 Ensayos de biocompatibilidad</b> .....	37
<b>2.11 Ensayos Mecánicos de Tensión</b> .....	39
<b>2.12 Technology Readiness Level (TRL)</b> .....	42
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	43

3.1	Equipo y materiales utilizados.....	43
3.2	Síntesis de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) .....	44
3.3	Funcionalización de MWCNT.....	45
3.4	Desarrollo del nanocomposito PLA/MWCNT <sub>f</sub> .....	46
3.5	Moldeo del nanocomposito .....	48
3.6	Diseño 3D del tornillo ortopédico.....	50
3.7	Ensayos de biocompatibilidad .....	50
3.7.1	Determinación de la Hemoglobina total en plasma y en sangre .....	51
3.7.2	Procedimiento del ensayo de hemólisis.....	52
3.8	Impresión 3D.....	53
4.	RESULTADOS.....	55
4.1	Espectroscopía FTIR .....	55
4.2	Espectroscopía RAMAN .....	57
4.3	Dispersión de Luz Dinámica (DLS).....	59
4.4	Análisis Termogravimétrico (TGA).....	62
4.5	Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	64
4.7	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	66
4.8	Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).....	67
4.9	Ensayos Mecánicos de Tracción.....	68
4.10	Ensayos de Biocompatibilidad (Hemólisis) .....	71
4.11	Moldeo e Impresión 3D.....	72
5.	Conclusiones.....	75
6.	Referencias .....	76

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Hipótesis gráfica sobre el proyecto realizado. ....	5
<b>Figura 2.</b> Implante de seno fabricado con polímeros bioinertes.....	7
<b>Figura 3.</b> Válvula cardiaca fabricada con material bioactivo.....	7
<b>Figura 4.</b> Hilo de sutura fabricado con material bioabsorbible. ....	8
<b>Figura 5.</b> Dispositivos médicos. ....	8
<b>Figura 6.</b> Cadenas de los polímeros termoplásticos (a) y termofijos (b) respectivamente....	9
<b>Figura 7.</b> Ejemplo de polimerización por adición. ....	10
<b>Figura 8.</b> Fases que constituyen un material compuesto.....	11
<b>Figura 9.</b> Técnicas de síntesis de nanocompositos. ....	12
<b>Figura 10.</b> Proceso de osteosíntesis. ....	13
<b>Figura 11.</b> Nanotubos de carbono obtenidos por S Ijima. ....	17
<b>Figura 12.</b> Representación de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) y de pared múltiple (MWCNT).....	16
<b>Figura 13.</b> Lámina de grafeno que muestra el vector quiral $Ch$ y los vectores unitarios $a_1$ y $a_2$ de una celda unitaria bidimensional.....	17
<b>Figura 14.</b> Morfología de los CNTs de acuerdo al ángulo de enrollamiento de la lámina gráfica; enrollamientos con morfología tipo (a) “zigzag”, (b) “chiral” y (c) “armchair”. .	17
<b>Figura 15.</b> Sistema de síntesis de nanotubos de carbono por nebulización pirolítica. ....	19
<b>Figura 16.</b> a) Molécula de ácido láctico, b) Estructura molecular del ácido poliláctico PLA. ....	19
<b>Figura 17.</b> Estructura del ácido poliláctico PLA. ....	21
<b>Figura 18.</b> Sistema de estereolitografía (SLA)..	22
<b>Figura 19.</b> Componentes de la impresión 3D. ....	23
<b>Figura 20.</b> a) Equipo de impresión 3D de modelado por deposición fundida (FDM), b) Equipo de impresión 3D de estereolitografía (SLA).....	23
<b>Figura 21.</b> Intervalos de frecuencia de grupos funcionales. ....	25
<b>Figura 22.</b> Funcionamiento de un equipo FTIR. ....	26
<b>Figura 23.</b> Diferentes posibilidades de dispersión en la espectroscopía Raman. ....	28
<b>Figura 24.</b> Distribución de las distintas señales en una espectroscopía Raman. ....	28

<b>Figura 25.</b> Variación de intensidad de luz dispersada dependiendo del tamaño de partícula. .....	30
<b>Figura 26.</b> Diagrama general del funcionamiento de un equipo DLS .....	31
<b>Figura 27.</b> Comportamiento de la correlación dependiendo del tamaño de partícula. ....	31
<b>Figura 28.</b> Distribuciones de los tamaños de partícula de Latex en distintos solventes.....	32
<b>Figura 29.</b> Esquema general del funcionamiento de un SEM. ....	34
<b>Figura 30.</b> Distintos tipos de electrones producidos tras incidir el haz sobre la muestra....	34
<b>Figura 31.</b> Micrografía SEM de un grano de polen.....	35
<b>Figura 32.</b> Representación general del termograma de un material. ....	36
<b>Figura 33.</b> Representación general de un termograma DSC de un polímero.....	37
<b>Figura 34.</b> Imagen de un ensayo de citotoxicidad llevado a cabo en placa de pocillos .....	39
<b>Figura 35.</b> Gráfico general Esfuerzo-Deformación de un material. ....	40
<b>Figura 36.</b> Equipo de ensayos de tracción. ....	41
<b>Figura 37.</b> Sistema de síntesis de MWCNT. ....	41
<b>Figura 38.</b> MWCNT sintetizados.. ....	45
<b>Figura 39.</b> MWCNT bajo funcionalización en US a), y una vez terminado el proceso b)..	46
<b>Figura 40.</b> Representación de nanotubos funcionalizados (MWCNT <sub>f</sub> ).....	46
<b>Figura 41.</b> a) PLA disperso en cloroformo, b) MWCNT <sub>f</sub> dispersos en cloroformo.....	47
<b>Figura 42.</b> Dispersión PLA/MWCNT <sub>f</sub> secándose antes (a) y durante el secado (b).....	48
<b>Figura 43.</b> Película de nanocomposito PLA/MWCNT <sub>f</sub> obtenida tras el secado. ....	48
<b>Figura 44.</b> Interacciones entre el PLA y los MWCNT <sub>f</sub> .....	48
<b>Figura 45.</b> PLA/MWCNT <sub>f</sub> triturado. ....	49
<b>Figura 46.</b> a) Extrusora Filabot EX2, b) Tolla sin material, c) Tolla con material PLA/MWCNT <sub>f</sub> , d) Configuración del equipo.....	49
<b>Figura 47.</b> Planos 2D del tornillo de osteosíntesis diseñado. ....	50
<b>Figura 48.</b> a) Diluciones de muestra sanguínea, b) Muestra sanguínea extraída.....	51
<b>Figura 49.</b> a) Tornillos de PLA y PLA/MWCNT <sub>f</sub> siendo agregados a las muestras sanguíneas, b) Muestras listas para su incubación.....	52
<b>Figura 50.</b> Equipo de secado de filamento (izquierda) e impresora 3D Ender3 (derecha)..	54
<b>Figura 51.</b> Espectros FTIR de a) PLA, b) PLA/MWCNT <sub>f</sub> , c) MWCNT y d) MWCNT <sub>f</sub> ...	57
<b>Figura 52.</b> Espectros Raman de a) MWCNT y b) MWCNT <sub>f</sub> . ....	58

<b>Figura 53.</b> Espectros Raman de a) PLA, b) MWCNTf, c) PLA-MWCNTf.....	59
<b>Figura 54.</b> Representación gráfica del PLA/MWCNTf en estado sólido a) y en dispersión b).....	60
<b>Figura 55.</b> DLS de tres dispersiones iguales del PLA en cloroformo. ....	61
<b>Figura 56.</b> DLS de tres dispersiones iguales de MWCNTf en cloroformo.. ....	62
<b>Figura 57.</b> DLS de tres dispersiones iguales de PLA/MWCNTf en cloroformo.. ....	62
<b>Figura 58.</b> DLS de los tres materiales utilizados.....	63
<b>Figura 59.</b> Termograma TGA de MWCNT y MWCNTf.....	64
<b>Figura 60.</b> Termogramas TGA de a) PLA, b) MWCNTf y c) PLA/MWCNTf.. ....	65
<b>Figura 61.</b> Termogramas DSC de PLA (rojo) y PLA/MWCNTf (azul).....	66
<b>Figura 62.</b> Micrografías SEM de a) MWCNT y b) MWCNTf.....	67
<b>Figura 63.</b> Micrografía de SEM del PLA/MWCNTf.. ....	68
<b>Figura 64.</b> Micrografía AFM del nanocomposito PLA/MWCNTf.. ....	69
<b>Figura 65.</b> Banco de prueba de ensayos de tracción.....	70
<b>Figura 66.</b> Filamentos de PLA/MWCNTf y PLA sometidos a cargas axiales.....	70
<b>Figura 67.</b> Gráficos esfuerzo-deformación del PLA (negro) y el PLA/MWCNTf (azul)...	72
<b>Figura 68.</b> Filamentos de PLA/MWCNTf de 1.75 mm y 0.48 mm.....	74
<b>Figura 69.</b> Tornillos impresos en PLA a) y en PLA/MWCNTf b).....	75
<b>Figura 70.</b> Total de tornillos impresos en PLA y PLA/MWCNTf.....	75

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Niveles de madurez tecnológica TRL. ....	46
<b>Tabla 2.</b> Parámetros de configuración utilizados en la impresión 3D. ....	55
<b>Tabla 3.</b> Medias de las distintas mediciones de DLS de los tres materiales empleados.....	64
<b>Tabla 4.</b> Pérdidas de masa del PLA y PLA/MWCNTf.....	66
<b>Tabla 5.</b> Temperatura registrada en el termograma DSC.. ....	67
<b>Tabla 6.</b> Valor de esfuerzo deformación del PLA y PLA/MWCNTf.....	71
<b>Tabla 7.</b> Valores de las muestras analizadas tras concluir el ensayo de hemólisis.....	71
<b>Tabla 8.</b> Cálculo del índice o porcentaje hemolítico de las muestras.....	72

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Antecedentes y planteamiento del problema

Actualmente el desarrollo de los biomateriales ha sido un área de gran interés para las ciencias biomédicas, estos son fabricados con la finalidad de ofrecer una mejor calidad de vida a las personas que los requieran. Los biomateriales se utilizan para la fabricación de prótesis, insumos quirúrgicos, biosensores, tejidos artificiales y una diversidad de dispositivos médicos. Existen distintos biomateriales, cada uno para propósitos muy específicos, entre ellos los metálicos, cerámicos, poliméricos y los compositos. Estos últimos, son de gran interés y han sido un fuerte foco de estudio durante las últimas décadas debido a las sobresalientes propiedades y amplio campo de aplicaciones que ofrecen. Dentro de los poliméricos más utilizados destacan el ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL), ácido poliglicólico (PGA) y quitosano debido a la alta biocompatibilidad y biodegradabilidad que poseen. En las recientes décadas diversos autores se han dado a la tarea de desarrollar nanocompositos de PLA reforzados con algún otro material, dentro de los que destacan los distintos alótropos del carbono (nanotubos de carbono, fibras de carbono, grafeno, óxido de grafeno, óxido de grafeno reducido, grafito, carbón activado, puntos cuánticos de carbono, entre otros). Shuqiang Liu, et al. desarrollaron suturas médicas bioabsorbibles a partir de un nanocomposito de PLA con MWCNT (nanotubos de carbono de pared múltiple). Estas suturas presentaron una mejora tanto en el tiempo de degradación como en la resistencia mecánica a diferencia de aquellas únicamente fabricadas con PLA.<sup>1</sup> Yang L., et al. manufacturaron piezas de PLA reforzado con MWCNT a través de técnicas de manufactura aditiva. Asimismo, estudiaron las aportaciones que ofrecen los nanotubos de carbono a las propiedades mecánicas, térmicas y eléctricas a la matriz polimérica.<sup>2</sup>

Por otro lado, Gong M., et al. sintetizaron un nanocomposito a base de PLA, hidroxiapatita y óxido de grafeno (PLA/HA/GO). La adición de hidroxiapatita y óxido de grafeno a la matriz polimérica mejoró la estabilidad térmica, así como la hidrofobicidad del material. Por lo cual, los autores propusieron el composito mencionado como un buen candidato para aplicaciones de implantes ortopédicos.<sup>3</sup>

Otra aportación es la de Chen Q., et al., quienes elaboraron un biomaterial nanocomposito basado en un copolímero de ácido poliláctico, poliuretano y óxido de grafeno (PU/PLA/GO). Este material lo utilizaron en impresión 3D para demostrar su compatibilidad con esta técnica de manufactura aditiva y la prometedora aplicación que ofrece para la elaboración de andamios celulares.<sup>4</sup> De igual manera, en el área de los biomateriales para impresión 3D, Giovanni Spinelli et al. desarrollaron nanocompositos híbridos de PLA con nanotubos de carbono MWCNT y nanoplaquetas de grafeno (GNP). Los autores evaluaron el comportamiento mecánico y eléctrico del material sintetizado tras ser sometido a tres diferentes técnicas de moldeo: prensado térmico, impresión 3D FDM y extrusión.<sup>5</sup> Asimismo, Giovanni Spinelli et al., de nuevo sintetizaron el nanocomposito de PLA/MWCNT/GNP a través de dos métodos de distintos: mezclado en solución (“solution blending”) y mezclado por fundición (“melt mixing”). Los autores estudiaron y compararon las propiedades morfológicas y electromagnéticas del nanocomposito fabricado bajo los dos métodos de síntesis mencionados.<sup>6</sup>

Como se ha revisado, ha habido un extenso interés en el desarrollo e investigación de nanocompositos poliméricos para distintas aplicaciones, en específico, aquellas derivadas de la manufactura aditiva. Si al desarrollar el material se utiliza un polímero biocompatible entonces, el resultado es un biomaterial compatible para impresión 3D. El diseño de injertos ortopédicos a partir de estos materiales es un área bastante prometedora. Tal fue el trabajo que realizaron Tappa K. et al. en donde elaboraron por medio de impresión 3D tornillos y placas para inserción quirúrgica a partir de ácido poliláctico (PLA) recubiertos con gentamicina (antibiótico) para la liberación prolongada de este fármaco en sitios específicos.<sup>7</sup>

Los accidentes traumatológicos son uno de los mayores problemas de salud pública a nivel mundial. Un traumatismo se define como una lesión o daño a los tejidos y/o huesos del cuerpo humano producido por alguna fuerza mecánica externa. Cada año más de 50 millones de estadounidenses sufren lesiones traumatológicas, lo que representa un costo aproximado de 400 billones de dólares anuales para la unión americana. La Organización Mundial de la Salud (OMS) menciona que la mayoría de los accidentes de trauma son generados por dos factores: caídas y accidentes de tráfico. En México no es la excepción, 1 de cada 12 mujeres y 1 de cada 20 hombres mayores de 50 años sufren fractura de cadera cada año. La incidencia de este tipo de problemas traumatológicos va en alza con el paso de los años, se estima que para el año 2050 estas cifras de pacientes vulnerables a fracturas incrementen un 424%.<sup>8,9</sup>

La demanda en México de intervenciones quirúrgicas en el área de la ortopedia va en constante crecimiento. Diversos factores son los causantes de que algún paciente recurra a la necesidad de ser intervenido, ya sea por accidentes traumáticos o diversas patologías como artritis reumatoide, osteosarcoma, entre otros. Para que las cirugías ortopédicas se lleven a cabo de manera correcta se requiere disponer de los insumos adecuados, siendo los tornillos y placas los más utilizados para corregir las fracturas óseas. De igual manera, las prótesis son utilizadas cuando el paciente requiere la sustitución de alguna porción ósea completa (cadera, rodilla, articulaciones, entre otros). La mayoría de los biomateriales utilizados en la manufactura de prótesis, tornillos, placas y clavos de cirugía ortopédica están elaborados con distintas aleaciones metálicas, siendo la de Cobalto Cromo (CoCr) una de las más utilizadas. La desventaja de este material utilizado radica en que, al encontrarse en un medio fisiológico tiende a liberar iones metálicos de Co y Cr produciendo metalosis (altas concentraciones de iones metálicos en el cuerpo humano). Diversos registros en la literatura han demostrado que las altas concentraciones de Co y Cr en el organismo han estado asociadas a causar polineuropatías y problemas neuropsiquiátricos a gran cantidad de pacientes registrados. Campbell et al. explican que uno de los efectos secundarios provocados por una alza en la concentración de Co en el cuerpo humano son reacciones inflamatorias en el tejido periprostético, cardiomiopatías e hipotiroidismo.<sup>10</sup> Green y colaboradores mencionan las anormalidades neurológicas emergentes causadas por este tipo de metalosis, dentro de las que destacan: problemas en la concentración mental, déficit de memoria a corto plazo, desorientación, déficits neurocognitivos, incluso demencia.<sup>11</sup> Adicionalmente, otros efectos

secundarios provocados por este tipo de metalosis son la pérdida de peso, pérdida de apetito, depresión, baja energía y sabor metálico. <sup>10-18</sup>

Con la finalidad de buscar una alternativa a esta aleación metálica, se desarrolló en este proyecto un biomaterial nanocomposito de matriz polimérica PLA reforzado con nanotubos de carbono (MWCNT) con miras a promoverlo como material alternativo para la fabricación de tornillos para osteosíntesis.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo general**

Preparar y moldear un filamento a base de un material nanocomposito (PLA-MWCNT) con propiedades biocompatibles para la impresión 3D de implantes ortopédicos.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

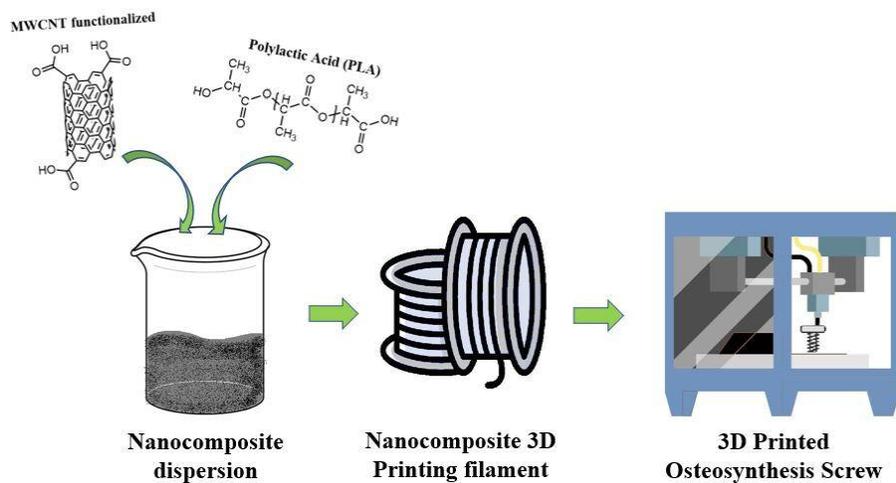
- Diseñar una metodología que permita a la matriz polimérica de ácido poliláctico (PLA) incorporarse con nanotubos de carbono (MWCNT).
- Determinar la proporción adecuada de polímero con nanoestructura de carbón que le permita ser procesado mediante distintas técnicas de moldeo.
- Determinar las propiedades físico químicas y morfológicas del nanocomposito mediante su caracterización con técnicas espectroscópicas (FTIR, Raman), DLS, calorimétricas (TGA), mecánicas y micrografías (SEM, AFM).
- Evaluar la biocompatibilidad del nanocomposito mediante ensayos de viabilidad celular con ensayos hemolíticos en sangre.
- Mediante el software FreeCAD realizar un diseño de tornillo para osteosíntesis con las dimensiones típicas de los modelos que se comercializan actualmente.
- Manufactura del prototipo de pieza médica (tornillo osteosíntesis) mediante la impresión 3D con el nanocomposito desarrollado.

### 1.3 Justificación

Actualmente los materiales utilizados en la fabricación de piezas para aplicaciones de cirugía ortopédica o traumatológica son aleaciones metálicas. Ciertas aleaciones con el paso del tiempo experimentan erosión liberando iones metálicos dentro del organismo vivo, lo que provoca severos daños a la salud. En este proyecto de tesis se desarrolló un filamento de material nanocompuesto de Ácido Poliláctico (PLA) con Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple (MWCNT), para utilizarse en la impresión 3D de piezas para dispositivos de osteosíntesis (tornillos, clavos, placas, prótesis, entre otros).

### 1.4 Hipótesis

Mediante la incorporación de nanotubos de carbono multipared (MWCNT) dentro de una matriz polimérica de ácido poliláctico (PLA) se obtendrá un biomaterial nanocomposito en filamento para impresión 3D de implantes ortopédicos con propiedades (mecánicas, térmicas, biológicas) superiores a las propiedades del filamento de PLA.



**Figura 1.** Hipótesis gráfica del proyecto.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Biomateriales**

Los biomateriales representan un área de gran interés dentro de las ciencias biomédicas, se encuentra en constante desarrollo e investigación y abarca aspectos multidisciplinarios como la medicina, biología, química, ciencia e ingeniería de materiales, entre otras. Su principal aplicación es en el área de la medicina, algunos ejemplos pueden ser: desarrollo de prótesis, órganos artificiales, insumos quirúrgicos, cultivos celulares, ensayos biotecnológicos, biochips, biosensores, implantes, entre otras más. El desarrollo de las aplicaciones mencionadas se realiza con el propósito de lograr mejorar las condiciones la salud de millones de pacientes alrededor del mundo.<sup>19</sup>

Con base en lo mencionado previamente, se puede generalizar la definición de biomaterial como cualquier sustancia o combinación de sustancias de origen natural o artificial que se utiliza durante cierto tiempo como un todo o como parte de un sistema que permite tratar, aumentar o reemplazar algún tejido, órgano o función del cuerpo humano.<sup>20</sup>

Al igual que los materiales convencionales estudiados por la ciencia e ingeniería de materiales, los biomateriales se dividen en metálicos, cerámicos, poliméricos y compositos. Esta clasificación de biomateriales se explicará más adelante en las siguientes secciones.

### **2.2 Biocompatibilidad**

Para que un biomaterial pueda ser utilizado en organismos biológicos, este debe poseer una propiedad fundamental, ser biocompatible. La biocompatibilidad es la habilidad de un material para ser aceptado por el cuerpo del paciente y que, además, no irrite a los tejidos circundantes, no provoque una respuesta inflamatoria, no produzca reacciones alérgicas y que no tenga efectos carcinogénicos (que no produzca cáncer). En la actualidad existen distintas técnicas o ensayos que son utilizados para lograr determinar la biocompatibilidad de un material, por ejemplo, el ensayo de citotoxicidad en linfocitos de sangre periférica humana, ensayos de viabilidad celular conforme a la norma ISO-10993 en cultivos de

fibroblastos, ensayos de viabilidad hemolítica en células sanguíneas conforme la norma ASTM F756-13, ensayo de citotoxicidad MTT, entre otros.<sup>21-23</sup>

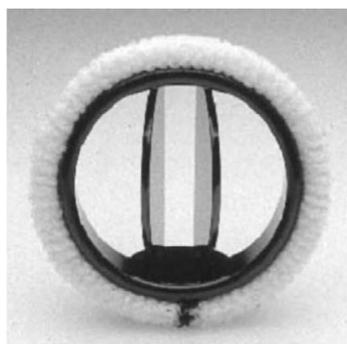
La biocompatibilidad de un material se clasifica en distintos tipos, los cuales son:

- **Bioinerte:** habilidad del material para mantener sin cambios al organismo biológico en el que se encuentra y no inducir reacciones sobre él. Se forma un tejido fibroso alrededor del material. En la Figura 2 se muestra un implante mamario fabricado con un biomaterial polimérico bioinerte.



**Figura 2.** Implante de seno fabricado con polímeros bioinertes.

- **Bioactivo:** habilidad del material para llevar a cabo o modular una respuesta favorable para cualquier parte del organismo biológico. Se establecen enlaces químicos entre el material y el tejido. La Figura 3 muestra un reemplazo de válvula cardiaca, la cual es fabricada con biomateriales bioactivos.



**Figura 3.** Válvula cardiaca fabricada con material bioactivo.

- **Bioabsorbible:** habilidad del material para ser descompuesto por el mismo organismo por medio de procesos metabólicos. La Figura 4 muestra un ejemplo de una aguja con un hilo de sutura bioabsorbible.



**Figura 4.** Hilo de sutura fabricado con material bioabsorbible.

### **2.3 Dispositivos Médicos**

Los dispositivos médicos son utilizados en una gran variedad de aplicaciones en el área del cuidado de la salud. En México, la NOM-240-SSA1-2011 define a los dispositivos médicos como “a la sustancia, mezcla de sustancias, material, aparato o instrumento (incluyendo el programa de informática necesario para su apropiado uso o aplicación), empleado solo o en combinación en el diagnóstico, monitoreo o prevención de enfermedades en humanos o auxiliares en el tratamiento de las mismas y de la discapacidad, así como los empleados en el reemplazo, corrección, restauración o modificación de procesos fisiológicos humanos. Los dispositivos médicos incluyen a los productos de las siguientes categorías: equipo médico, prótesis, órtesis, ayudas funcionales, agentes de diagnóstico, insumos de uso odontológico, materiales quirúrgicos, de curación y productos higiénicos” (Figura 5).<sup>24</sup>



**Figura 5.** Dispositivos médicos.

## 2.4 Clasificación de biomateriales

Los biomateriales, al igual que los materiales convencionales estudiados por la ciencia e ingeniería de materiales se clasifican en: metálicos, cerámicos, poliméricos y compositos, siendo éstos últimos dos, los que se utilizaron en este proyecto.

### 2.4.1 Polímeros

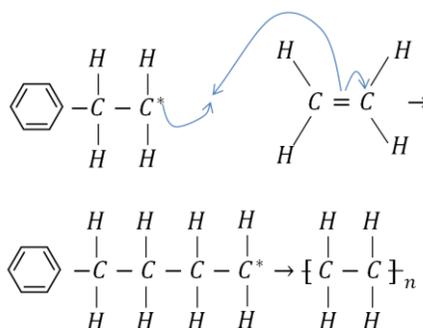
Los polímeros reciben su nombre del griego (polys) “muchos” y (meros) “partes”. Son macromoléculas, es decir, moléculas de gran tamaño y de gran peso molecular las cuales están formadas por subunidades simples repetidas (monómeros) conectadas entre sí por enlaces covalentes formando cadenas largas. Las cadenas largas pueden no estar enlazadas a otras cadenas, pero sí tienen una interacción intermolecular (fuerzas de Van der Waals) con otras cadenas del mismo polímero, a estos los llamamos polímeros termoplásticos. Por otro lado, las cadenas largas pueden estar unidas con enlaces covalentes a otras cadenas en distintas direcciones, se les conoce como polímeros termofijos o termoestables. Las cadenas de los polímeros termoplásticos están levemente unidas unas a otras, lo que los convierte en polímeros bastante maleables y les proporciona una gran característica, la cual es que pueden ser reciclados varias veces, ya que las interacciones entre las cadenas son fáciles de romper por medio del suministro de calor. En el caso de los polímeros termofijos, sus cadenas sí están fuertemente entrecruzadas unas con otras por medio de enlaces covalentes, lo que les proporciona propiedades mecánicas superiores a los termoplásticos sin embargo, poseen una desventaja, la cual es no poder ser reciclados debido al fuerte entrecruzamiento de sus cadenas.<sup>19</sup> En la Figura 6 se muestra una representación gráfica de la estructura molecular de los polímeros termoplásticos y termoestables.



**Figura 6.** Cadenas de los polímeros termoplásticos (a) y termofijos (b), respectivamente.

Los polímeros se clasifican de distintas maneras de acuerdo con sus estructuras, el tipo de reacción por el cual fueron sintetizados, sus propiedades físicas o su uso tecnológico. Al proceso de obtención de un polímero se le denomina “polimerización”. La polimerización es el proceso por el cual los monómeros se van uniendo unos a otros para lograr formar una estructura final (polímero), conformada por muchas subunidades de ese monómero.

Existen distintos tipos de polimerización, siendo la polimerización por adición, también llamada por reacción en cadena y la polimerización por condensación, también llamada por etapas, los más comunes. En la Figura 7 se aprecia una reacción de una polimerización por adición.



**Figura 7.** Ejemplo de polimerización por adición.

La polimerización por adición se divide en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. Siendo la iniciación el origen en donde comienza la reacción por medio de un agente catalizador externo para lograr que los radicales libres o iones (cationes o aniones) rompan un enlace entre uno de los átomos de carbono de la otra molécula de monómero y se repita la misma reacción una y otra vez. La propagación se lleva a cabo cuando cada molécula de monómero comienza a unirse una con otra consecutivamente formando largas cadenas. Por último, la terminación consiste cuando los monómeros se han agotado, debido a que el total de moléculas se han unido, dando como resultado la formación del polímero.<sup>25</sup>

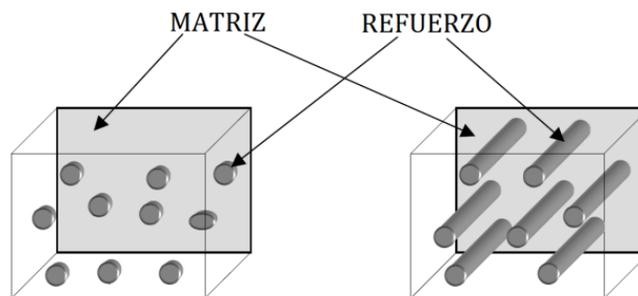
## 2.4.2 Compositos

Los materiales compositos se obtienen al unir dos o más materiales para conseguir una combinación de propiedades que no es posible obtener en los materiales originales. Estos

compuestos se seleccionan para lograr combinaciones poco usuales de rigidez, resistencia, peso, rendimiento a altas temperaturas, resistencia a la corrosión, dureza o conductividad.

Los compositos se clasifican en tres categorías: con partículas, con fibras y laminares, dependiendo de la forma de los materiales. Por ejemplo, el concreto, es una mezcla de cemento y grava corresponde a un compuesto particulado; el adobe, un composito cuya matriz es una mezcla arcillosa con refuerzos de paja seca es un compuesto reforzado con fibras; las piezas de fibra de vidrio contienen finas fibras de vidrio (con grosores del orden de las micras) embebidas en un polímero epóxico igualmente corresponden a un composito reforzado con fibras; la madera contrachapada o triplay posee capas alternas de chapa de madera, es un composito laminar.

Los materiales compositos se constituyen de dos fases, la matriz (polímero, metal o cerámico), es la fase que se encuentra en mayor proporción, y el refuerzo (partículas, fibras o láminas), cuya fase es la que se encuentra en menor proporción tal y como se muestra en la Figura 8.<sup>25</sup>

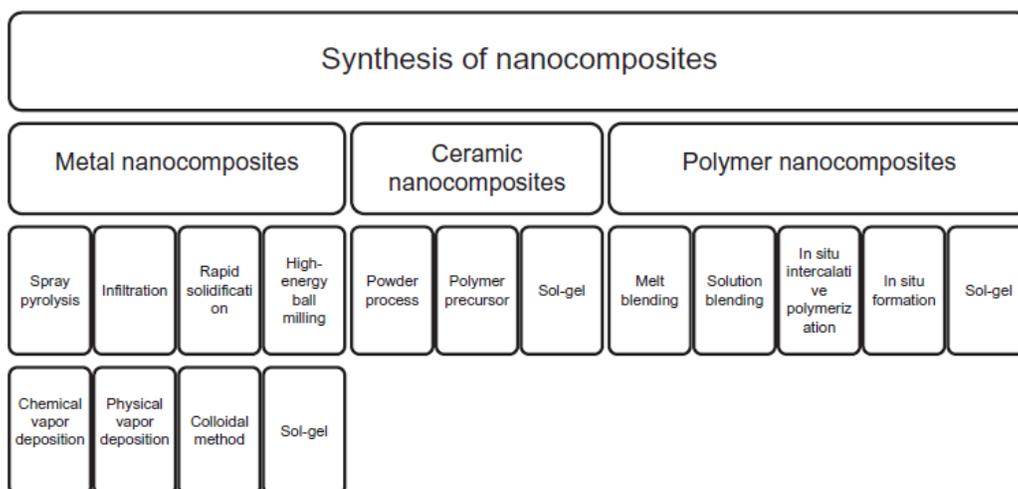


**Figura 8.** Fases que constituyen un material compuesto.

La mayoría de los compositos reforzados con fibras consiguen una mejor resistencia a la fatiga, mayor rigidez y una mejor relación resistencia-peso, al incorporar fibras resistentes y rígidas, aunque frágiles, en una matriz más blanda y dúctil. El material de la matriz transmite la fuerza a las fibras, soportando la mayor parte de la fuerza aplicada. La resistencia del composito puede resultar alta a temperatura ambiente y a temperaturas elevadas.

### 2.4.2.1 Síntesis de Nanocompositos

Los nanocompositos son materiales sólidos multifases en donde al menos una de sus fases contiene una, dos o tres dimensiones menores a 100 nm, o estructuras que poseen distancias repetitivas dentro de la nanoescala entre las fases que componen al material. De acuerdo a esta definición, estos pueden abarcar medios porosos, coloides, geles y copolímeros, sin embargo, el término nanocomposito es más utilizado para referirse a una combinación sólida entre una matriz y una fase con dimensiones dentro de la nanoescala (0-100 nm). La Figura 9 muestra un esquema general de técnicas de síntesis de nanocompositos metálicos, cerámicos y poliméricos. En el presente trabajo las técnicas de síntesis de interés son aquellas para obtener nanocompositos poliméricos, específicamente el método por “solution blending”.<sup>26</sup>



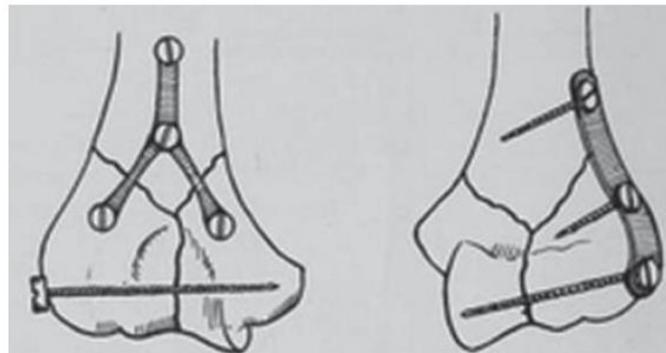
**Figura 9.** Técnicas de síntesis de nanocompositos.

Añadir nanomateriales como aditivos a una matriz polimérica resulta en un nanocomposito polimérico con mejor desempeño en sus propiedades que aquellos compositos poliméricos tradicionales. El método “solution blending” es un sistema basado en solventes donde el polímero y los nanorefuerzos deben ser solubles o dispersables dentro de este. Primeramente, los nanorefuerzos o nanoestructuras son dispersados en un solvente como el agua, acetona, cloroformo, entre otros solventes orgánicos. De igual manera, se requiere que el polímero también se encuentre disperso dentro de uno de los solventes mencionados para lograr mezclar ambas dispersiones, tanto la de las nanoestructuras como la del polímero. Este mezclado puede ser por agitación magnética, agitación mecánica, reflujo o baño ultra sónico.

Una vez concluido el mezclado, se procede al secado de la dispersión por medio de la evaporación del solvente obteniendo como resultado un sólido nanocomposito. Como se ha mencionado, existen diversos métodos para la obtención de nanocompositos, es necesario buscar vías que nos permitan mejorar las interacciones y la incorporación entre el polímero y los nanomateriales a utilizar.

## 2.5 Osteosíntesis

La osteosíntesis es un procedimiento quirúrgico en el cual se estabilizan y unen las porciones de un hueso fracturado con apoyo de distintos dispositivos e instrumentos como placas, tornillos, clavos, varillas, prótesis de reemplazo, cementos óseos, entre otros. El término “osteosíntesis” fue acuñado por primera vez por el cirujano belga Albin Lambotte en la primera década del siglo XX. Lambotte afirmó que la osteosíntesis es la reducción de una fractura y su respectiva fijación utilizando implantes metálicos.<sup>27</sup> Sin embargo, gracias al desarrollo de la ciencia de los biomateriales estos implantes hoy en día ya no son exclusivamente de origen metálico, también pueden ser de origen cerámico o polimérico. En la Figura 10 se muestra una representación de un proceso de osteosíntesis para unir las extremidades de un hueso fracturado.



**Figura 10.** Proceso de osteosíntesis

Diversos médicos a través de los años fueron pioneros en lograr sentar las bases para la osteosíntesis, uno de ellos fue el cirujano alemán Gerhard Küntscher quien en 1939 desarrolló un clavo medular que permitía unir porciones de hueso fracturado por medio del principio de la compresión. Después de la segunda guerra mundial, en 1972 el Dr. Küntscher viajó a

México al Hospital de Ortopedia y Traumatología del Centro Médico Nacional del IMSS en donde operó a diversos pacientes que sufrían fractura de cadera, logrando hacerlos caminar al día siguiente de la intervención.

Para poder entender el comportamiento entre los huesos fracturados y los implantes utilizados en la osteosíntesis se debe comprender los principios biomecánicos que lo rigen, los cuales son: compresión, protección, tirante, sostén y tutor. A continuación se definen:

**Compresión:** es la carga que se genera entre porciones de hueso fracturado mediante la utilización de distintos implantes para producir estabilidad entre los fragmentos rotos. Existen dos tipos de compresión, la transversal y la axial. La compresión transversal es aquella en donde la fuerza que se ejerce se encuentra en sentido ortogonal (perpendicular) al eje longitudinal del hueso. En cambio, la compresión longitudinal es aquella que se ejerce en el sentido longitudinal del segmento óseo fracturado. Algunos de los implantes utilizados bajo el principio biomecánico de la compresión son los tornillos, placas, cables y alambres.

**Protección:** se refiere al uso de implantes agregados para complementar una osteosíntesis insuficiente para evitar su posible falla. Algunos de los implantes que se utilizan son los tornillos, placas, fijadores y clavos endomedulares.

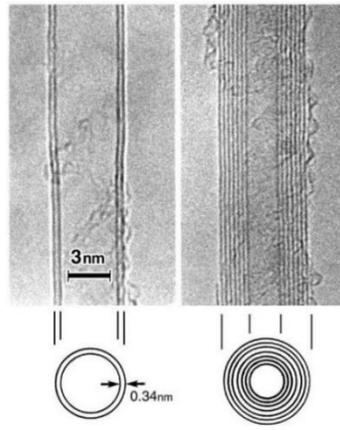
**Tirante:** es la fuerza que ejerce un implante tensado sobre la superficie de un hueso con fractura transversal para convertir aquellos posibles esfuerzos de flexión en esfuerzos de compresión con dirección axial a la fractura. Los implantes utilizados son placas y clavillos con alambres.

**Sostén:** es el principio biomecánico para aquellos implantes que funcionan como sustituto temporal estructural de soporte óseo permitiendo lograr mantener una distancia en aquellos casos en donde no exista una porción ósea que permita soportar las cargas de otros fragmentos. Dentro de los implantes utilizados en este principio destacan las placas, fijadores, tornillos, clavos endomedulares, clavillos y alambres.

**Tutor:** es el principio que rige a aquellos implantes que cumplen la función de alinear, estabilizar y guiar a los fragmentos óseos para que establezcan un correcto contacto entre ellos y se consoliden. Se pueden utilizar clavos endomedulares y fijadores externos.<sup>27</sup>

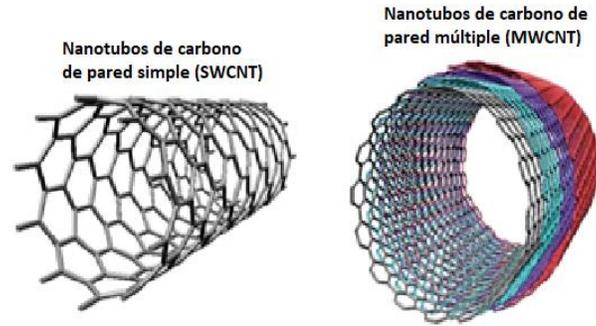
## 2.7 Nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono (CNT, por sus siglas en inglés), son alótopos del carbono como el diamante, el grafeno, el grafito o los fullerenos. Fueron descubiertos en 1991 por S. Iijima.<sup>28</sup> Estos materiales fueron obtenidos por medio del método descarga de arco eléctrico, la Figura 11 muestra una micrografía de los nanotubos de carbono obtenidos por Iijima.



**Figura 11.** Nanotubos de carbono obtenidos por S. Iijima.

La distinta variedad de CNTs que existe ofrece oportunidades de desarrollo tecnológico en diferentes áreas debido a la variedad de sus formas geométricas, número de capas, pureza y relación diámetro-longitud. Estas características de los CNTs determinan sus propiedades elásticas, térmicas, eléctricas y mecánicas. Los CNTs se clasifican en aquellos de pared simple y de pared múltiple (SWCNT o MWCNT, por sus siglas en inglés, respectivamente).<sup>29</sup> Los nanotubos de pared simple se describen como una capa bidimensional de grafeno enrollada formando un tubo, tienden a agruparse en paquetes con diferentes longitudes y radios. Los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) están constituidos por nanotubos de pared simple concéntricos, separados radialmente por aproximadamente  $0.34 \text{ nm}$ , distancia correspondiente a la separación entre láminas de grafeno en la estructura del grafito, consta de enlaces covalentes entre carbonos unidos entre sí, presentando hibridación  $sp^2$ .<sup>30</sup> En la Figura 12 se muestra una representación de los SWCNT y MWCNT.



**Figura 12.** Representación de nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT) y de pared múltiple (MWCNT).

La morfología de los CNTs está dictada por el ángulo de enrollamiento respecto a los hexágonos formados por los enlaces de carbono. Las formas o tipos de estructuras de los nanotubos influyen en sus propiedades. Estas estructuras se definen teóricamente a partir del vector llamado vector quiral o vector de circunferencia que forma un ángulo recto con el eje  $T$ , denominado vector de traslación.<sup>30,31</sup> La forma en que se enrollan las láminas está definida por el vector quiral ( $C_h$ ). El vector  $C_h$  está determinado de la siguiente manera:

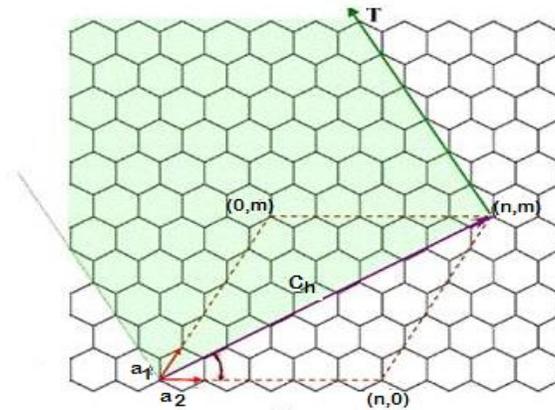
$$C_h = ma_1 + na_2 \quad (ec. 0)$$

en donde  $a_1$  y  $a_2$  son los vectores unitarios en la lámina de grafeno, asimismo,  $m$  y  $n$  son dos escalares conocidos como índices de Hamada, que conectan un punto de la lámina con el origen definido en (0,0). Si a este vector quiral se le orienta a diferentes direcciones con respecto al eje  $T$ , la lámina de grafeno se enrollará de diferentes maneras.<sup>32,33</sup>

La Figura 13 muestra la manera en que se enrollará una lámina de grafeno para formar un nanotubo. Al conocer el vector quiral es posible conocer el diámetro de los nanotubos y la dirección de enrollamiento utilizando las siguientes expresiones matemáticas:

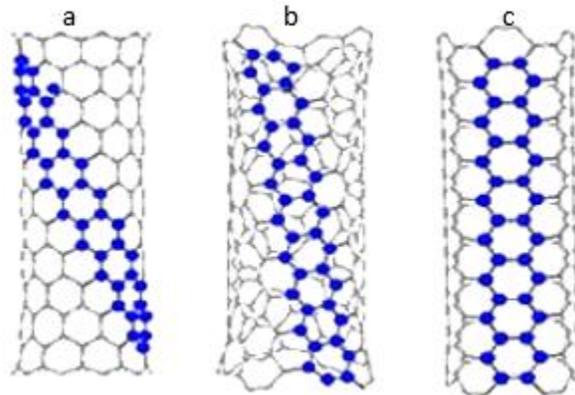
$$d = \frac{a(m^2 + mn + n^2)^{1/2}}{\pi} \quad (ec. 1)$$

$$\theta = \arctan\left(\frac{3n}{2m+2}\right) \quad (ec.2)$$



**Figura 13.** Lámina de grafeno que muestra el vector quiral  $Ch$  y los vectores unitarios  $a_1$  y  $a_2$  de una celda unitaria bidimensional.

Otro de los puntos importantes es la variación de los índices  $(m, n)$ , ya que con ello se obtienen los tres diferentes tipos de estructuras que existen: “zig-zag”, “chiral” y “armchair”, como los de la Figura 14.



**Figura 14.** Morfología de los CNTs de acuerdo al ángulo de enrollamiento de la lámina gráfica; enrollamientos con morfología tipo (a) “zigzag”, (b) “chiral” y (c) “armchair”.

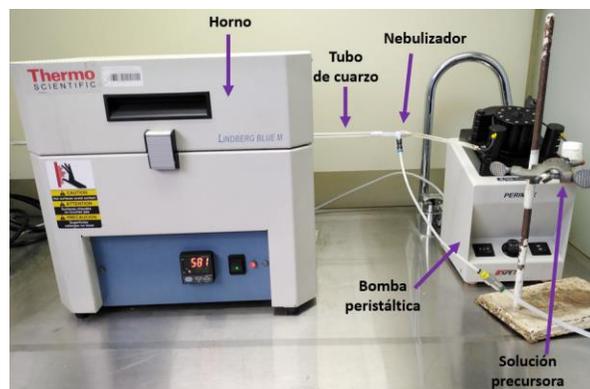
Los nanotubos tipo “zig-zag” poseen índices de Hamada  $n = m$  y una helicidad de  $\theta = 0^\circ$ . Los “armchair” poseen índices de  $m = 0$  y una helicidad de  $\theta = 30^\circ$ . Todas las demás combinaciones son características de los nanotubos tipo “chiral”.<sup>32</sup>

### 2.7.1 Métodos de obtención

Para lograr la obtención de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) se utilizan por lo general tres métodos, descarga de arco eléctrico, ablación con láser y depósito químico de vapor (CVD, por sus siglas en inglés), siendo una variación de este último método el utilizado en el presente proyecto.

### 2.7.2 Nebulización pirolítica

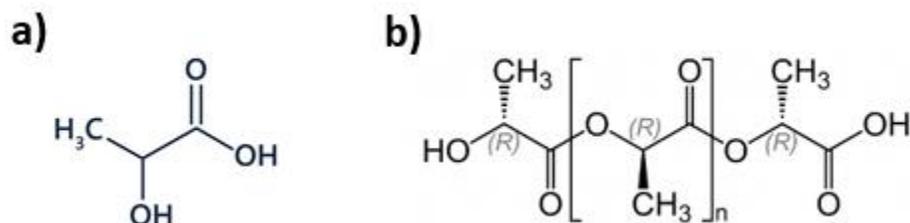
La síntesis de nanotubos de carbono por nebulización pirolítica (“spray pyrolysis”, en inglés) es una variante del método de depósito químico de vapor (CVD), además, es el método más versátil y comúnmente utilizado para la producción de nanotubos de carbono. El método parte de la inserción de una solución precursora hidrocarburo/catalizador dentro de un reactor de cuarzo que se encuentra a una temperatura aproximadamente de  $800^\circ\text{C}$ . La solución de hidrocarburo/catalizador (tolueno/ferroceno) ingresa a manera de rocío con ayuda de un sistema nebulizador-bomba peristáltica dentro del reactor de cuarzo en donde se descompone térmicamente y se producen varias reacciones como deshidrogenación, condensación aromática, apertura de anillo y aglomeración de átomos de hierro, entre otras. La temperatura del reactor y el flujo constante del hidrocarburo/catalizador estimulan la disociación de las moléculas de carbono y generan el ambiente propicio para la deposición del carbono sobre las partículas catalizadoras. El interior del reactor es previamente purgado con Argón (u otro gas inerte) para evitar la formación de monóxidos o dióxidos de carbono.<sup>34</sup> En la Figura 15 se representa un esquema general del sistema de síntesis por nebulización pirolítica.



**Figura 15.** Sistema de síntesis de nanotubos de carbono por nebulización pirolítica.

## 2.8 Ácido Poliláctico

El ácido poliláctico (PLA, por sus siglas en inglés) es un polímero termoplástico, el cual está conformado por largas cadenas de moléculas de ácido láctico unidas entre sí. El ácido láctico es un compuesto que tiene su origen en el metabolismo celular de los seres vivos, específicamente en las vías de respiración anaeróbicas. A nivel celular, la principal ruta energética de las células es la vía aeróbica por medio de la glucólisis, el metabolito resultante de este proceso es el “piruvato”, el cual podrá continuar hacia dos rutas metabólicas, la primera, es hacia la vía aeróbica por medio del Ciclo de Krebs o la segunda opción continuar hacia la vía anaeróbica dando lugar a la formación del “ácido láctico”.<sup>35</sup> En las Figura 16 se presentan la estructura de una molécula de ácido láctico y del PLA, respectivamente.



**Figura 16.** a) Molécula de ácido láctico, b) Estructura molecular del ácido poliláctico PLA.

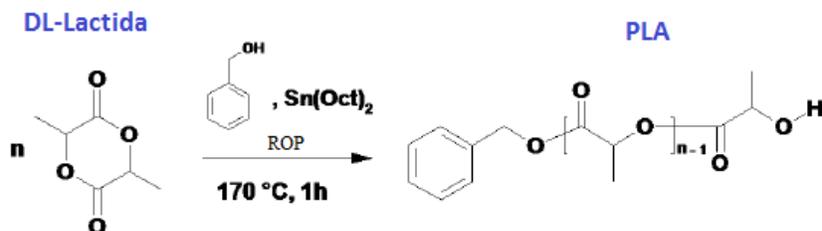
El PLA actualmente es un plástico que ha revolucionado el sector industrial, médico, alimenticio y tecnológico debido a que posee excelentes propiedades. A escalas industriales, el ácido láctico se obtiene por medio de la fermentación del almidón de maíz, es por ello que

el PLA se categoriza como un biopolímero, a diferencia de aquellos plásticos provenientes de los hidrocarburos derivados del petróleo (ej. PP, PET, PS, PE). El PLA al ser un termoplástico, posee una grandiosa maleabilidad para ser sometido a distintas técnicas de moldeo (ej. inyección, extrusión, soplado, termoformado) para la fabricación de piezas a base de este material. Como ya se mencionó previamente, el ácido láctico es un compuesto proveniente del metabolismo de los seres vivos, esto le genera una propiedad muy importante a su versión polimerizada (PLA), una alta biocompatibilidad y biodegradabilidad. Gracias a estas últimas propiedades biológicas es que el PLA puede utilizarse en un amplio espectro de aplicaciones como lo es en empaques y consumibles alimenticios biodegradables, filamentos para impresión 3D, suturas quirúrgicas bioabsorbibles, prótesis, andamios celulares, acarreador de fármacos, entre otros.

### **2.8.1 Síntesis del PLA**

El ácido poliláctico (PLA) se sintetiza por dos métodos, ya sea directamente por una policondensación del ácido láctico, o por la polimerización de apertura de anillo (ROP, por sus siglas en inglés) de un monómero intermediario, la Lactida. Debido a que el método por policondensación es una reacción de equilibrio, se deben tener controladas diversas variables involucradas en el proceso como la presión atmosférica, temperatura, eliminación del agua, entre otras. Este método da como resultado un PLA de bajo peso molecular, lo cual no es muy viable para ciertas aplicaciones en donde el material resultante requiera ciertas capacidades físicas y mecánicas. Por otro lado, el método de ROP es considerado la vía más viable para la fabricación de PLA, ya que requiere menos condiciones de reacción por controlar y se obtiene un polímero de alto peso molecular abriéndole una extensa gama de aplicaciones. La polimerización de la Lactida por ROP implica que su anillo sea susceptible a ser abierto por un compuesto que lo ataque nucleofílicamente o electrofílicamente. El compuesto más utilizado como iniciador para favorecer la apertura de anillo es el octoato de estaño. Además, es necesario el uso de un coiniciador (generalmente alcohol) para lograr inducir la polimerización en presencia del iniciador. La Lactida es ópticamente activa, por lo que en la producción de esta se obtiene una mezcla racémica de D-Lactida y L-Lactida. En la Figura 17 se representa la polimerización de la DL-Lactida por medio del método de apertura de anillo (ROP), el cual comienza con apoyo de un iniciador (octoato de estaño), un

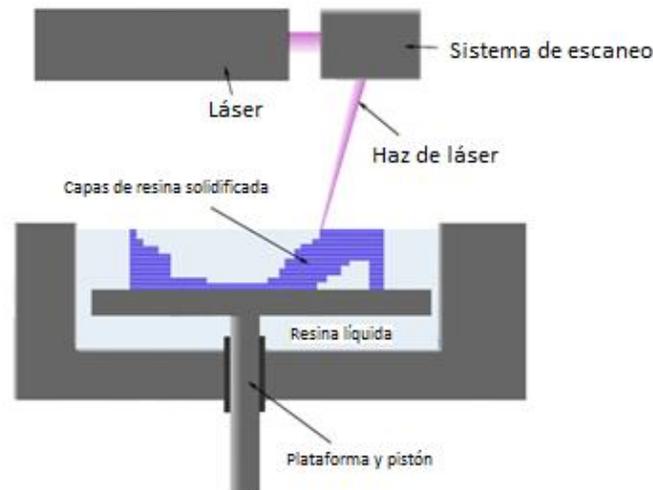
coinizador (alcohol bencílico), suministro de calor y agitación mecánica para obtener como resultado final el ácido poliláctico (PLA).<sup>36</sup>



**Figura 17.** Polimerización de la DL-Lactida para la formación de PLA.

## 2.9 Impresión 3D

La impresión en tres dimensiones (3D), también conocida como manufactura aditiva (AM), es una tecnología de vanguardia que ha revolucionado diversas áreas, tales como la ingeniería, diseño de productos, manufactura y recientemente la industria médica. Los orígenes de la impresión 3D convencional se originan en la década de 1980s cuando el método de estereolitografía (SLA, por sus siglas en inglés), el primer método de impresión 3D, fue inventado por Hull.<sup>37</sup> La SLA consiste en incidir el haz de un láser ultravioleta (UV) en la superficie de un monómero líquido foto-polimerizable para ir endureciendo la superficie líquida capa tras capa hasta formar el diseño deseado. La Figura 18 representa un esquema general de la tecnología SLA.



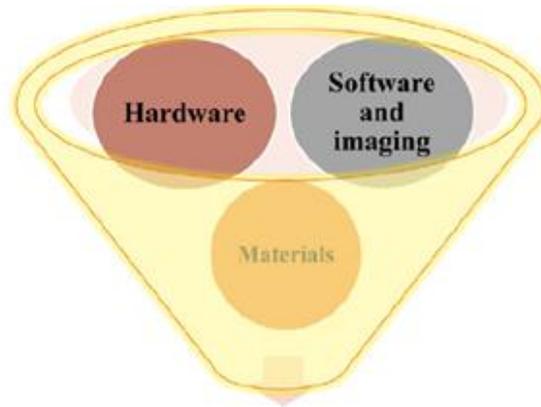
**Figura 18.** Sistema de estereolitografía (SLA).

Además, Hull fue la primera persona en lograr utilizar un archivo CAD (diseño asistido por computadora, por sus siglas en inglés) para lograr la fabricación de diseños en cuerpos sólidos en tres dimensiones. Más adelante, Scott y Lisa Crump introdujeron otra nueva tecnología de impresión 3D llamada modelado por deposición fundida (FDM, por sus siglas en inglés). FDM consiste en calentar un filamento termoplástico a un estado semi líquido, el cual es después extruido y lentamente introducido a salir a través de una apertura (boquilla) para ir depositando capa tras capa el diseño CAD del objeto a construir.<sup>38</sup> El último modelo mencionado es el más aproximado a las tecnologías 3D que se utilizan hoy en día.

La impresión 3D que actualmente se utiliza es un grupo de tecnologías de fabricación por adición o “aditive manufacture” (AM, por sus siglas en inglés) donde un objeto tridimensional previamente diseñado por dibujo asistido por computadora (CAD) es creado mediante la superposición de capas sucesivas de material polimérico termoplástico fundido.<sup>39</sup> Los componentes principales de la impresión 3D se muestran en la Figura 19 y son los siguientes tres:

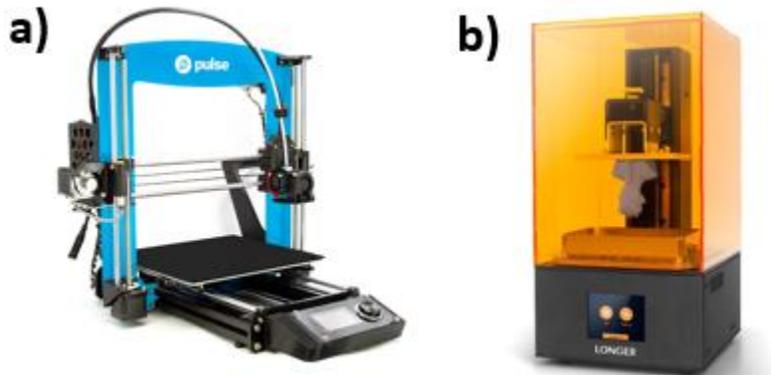
- Hardware: la estructura física y componentes del equipo como motores a pasos, placas controladoras, chasis, extrusores, cama, depósito de resina, carcasa, láser UV, entre otros.
- Software: programa que controlará el proceso de impresión 3D.

- Materiales o insumos: la materia prima que se utiliza para la impresión son filamentos de distintos tipos de polímero (PLA, ABS, PVC, Nylon, PETG), resina líquida foto curable, polvos, entre otros.



**Figura 19.** Componentes de la impresión 3D.

En la Figura 20 se presenta un equipo de impresión 3D que opera bajo la técnica de “modelado por deposición fundida” (FDM) y un equipo de impresión 3D que trabaja bajo el método de “estereolitografía”.



**Figura 20.** a) Equipo de impresión 3D de modelado por deposición fundida (FDM), b) Equipo de impresión 3D de estereolitografía (SLA).

## 2.10 Técnicas de caracterización de biomateriales

Las técnicas de caracterización son procedimientos que se realizan a los materiales con la finalidad de lograr determinar sus propiedades, composición, comportamiento y calidad. Actualmente se realizan caracterizaciones físicas, químicas y biológicas, cada una de estas se lleva a cabo dependiendo de la aplicación en la que se vaya a utilizar el material deseado.

### 2.10.1 Espectroscopía Infrarroja

La espectroscopía infrarroja (IR) es una técnica de caracterización en donde se estudia la manera en que la radiación electromagnética del espectro infrarrojo (aquella cuya longitud de onda abarca desde los  $700\text{ nm} - 1000\ \mu\text{m}$ ) interactúa con la materia. Con base en la interacción de la radiación con la materia se pueden deducir distintas propiedades sobre la muestra analizada como lo es su composición química, estructura, grupos funcionales que lo conforman, concentración de cada compuesto, entre otras. La radiación IR es sensible a la presencia de grupos funcionales presentes en la molécula, cada uno de estos interactúan de distintas maneras manifestando una banda de absorción específica para cada grupo. La intensidad de las bandas que cada grupo funcional manifieste será proporcional a la concentración de estos que haya presentes en la especie que se analice. Muestras con distinta estructura atómica poseerán diferentes absorciones de radiación IR.

El espectro infrarrojo (IR) posee longitudes de onda entre  $1000\ \mu\text{m}$  y  $700\text{ nm}$ . Su frecuencia oscila entre los  $300\text{ GHz}$  y los  $400\text{ THz}$ . Se divide en tres, infrarrojo cercano ( $750\text{ nm} - 2500\text{ nm}$ ), infrarrojo medio ( $2.5\ \mu\text{m} - 10\ \mu\text{m}$ ), e infrarrojo lejano ( $10\ \mu\text{m} - 1000\ \mu\text{m}$ ).

La mayoría de las moléculas absorben luz en el rango del infrarrojo medio. El movimiento vibracional de las moléculas causado por la absorción de IR es complejo, pero puede ser analizado como un determinado número de vibraciones, llamados modos normales de vibración. Solamente las vibraciones normales que producen una variación en el momento dipolar de la molécula serán activas en la espectroscopia infrarroja, es decir, podrán absorber la radiación incidente. Debido a que la espectroscopía IR es únicamente compatible con especies químicas que presentan enlaces, los átomos y iones monoatómicos no absorberán

radiación IR. De igual manera, las moléculas diatómicas homonucleares tampoco serán compatibles con esta técnica.

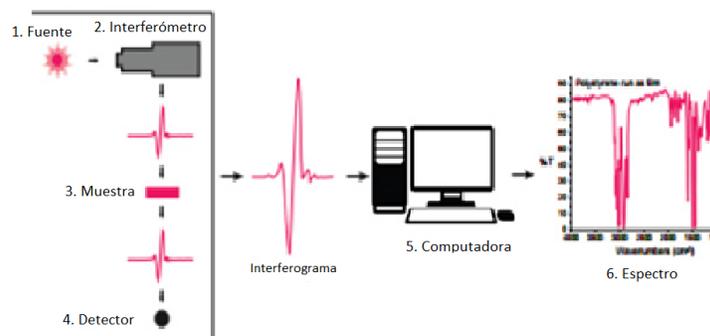
Cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, sufre una transición a un nivel de energía vibracional más alto. Esta transición sólo es posible cuando la energía de la radiación que incide en la molécula es igual a la diferencia de energía entre los niveles de energía vibracionales. Por lo tanto, las dos condiciones necesarias para que ocurra absorción en el infrarrojo son la variación del momento dipolar de la molécula durante la vibración y la incidencia de radiación con energía correspondiente a la diferencia de los niveles vibracionales. Un espectro infrarrojo mostrará bandas de absorción a valores de energía correspondientes a esas vibraciones.<sup>40</sup> Cada uno de los grupos funcionales existentes presenta una energía vibracional característica al ser incidida por un haz infrarrojo, de esta manera si un grupo hidroxilo (-OH) se encuentra en distintas moléculas su pico característico en el espectro IR será el mismo. Este último comportamiento se repite con los demás grupos funcionales y, gracias a este comportamiento es que se ha podido estandarizar una tabla de valores de Absorbancia o Transmitancia para cada grupo funcional mostrándose en la Figura 21.

Grupo	Frecuencia (cm <sup>-1</sup> )	Grupo	Frecuencia (cm <sup>-1</sup> )
-OH	3650-3200	-C≡C-	2260-2100
-NH <sub>2</sub>	3500-3300	>C=O	1790-1650
≡CH	3340-3250	>C=N-	1725-1625
=CH <sub>2</sub>	3095-3075	>C=C<	1690-1635
-CH <sub>3</sub>	2970-2870	C-F	1400-1000
-CH <sub>2</sub> -	2930-2860	C-Cl	850-650
-SH	2600-2540	C-Br	700-600
-C≡N	2260-2240	C-I	600-500

**Figura 21.** Intervalos de frecuencia de grupos funcionales.

Los equipos modernos de espectroscopía IR operan bajo una nueva técnica, la espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés). Estos equipos constan de una fuente de láser infrarrojo que incide un haz sobre la muestra a analizar, un

fotodetector para cuantificar la cantidad de radiación IR transmitida (transmitancia) o absorbida (absorbancia) por la muestra. La señal IR proveniente de haber incidido la muestra pasa a un sistema de adquisición de datos (DAQ) que realiza una conversión analógica a digital de la señal sensada por el fotodetector. Más adelante, la señal ingresa a un procesamiento digital de señal en donde el software del equipo le realiza operaciones matemáticas como la Transformada de Fourier para lograr obtener finalmente el espectro IR de la muestra analizada. En la Figura 22 se presenta un esquema general de un equipo de espectroscopía FTIR.



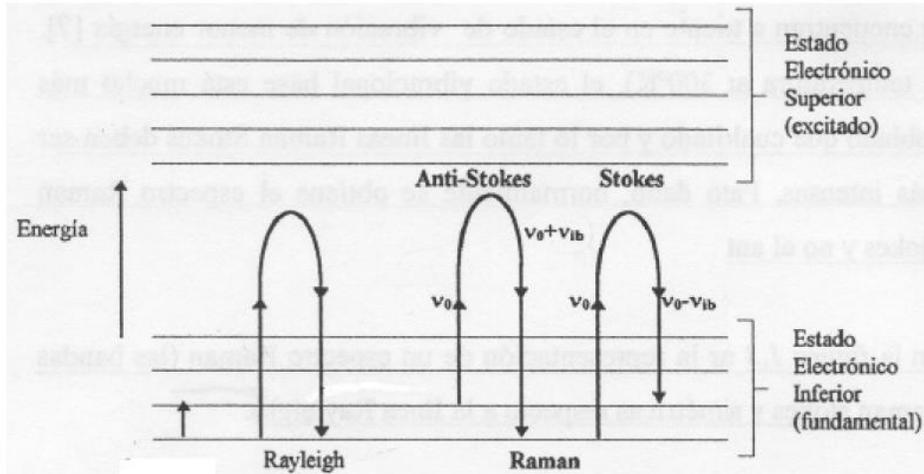
**Figura 22.** Funcionamiento de un equipo FTIR.

### 2.10.2 Espectroscopía Raman

Las técnicas espectroscópicas son herramientas de gran utilidad para la caracterización de biomateriales y la espectroscopía Raman no es la excepción. Esta nos permite recopilar información cualitativa y cuantitativa por lo general, de cualquier material tanto orgánico como inorgánico. Una de las ventajas que ofrece esta técnica es su facilidad de empleo ya que no se requiere una preparación previa de la muestra, además es una técnica no destructiva. Su nombre se atribuye al científico descubridor del efecto Raman. El fundamento de este efecto consiste en la dispersión inelástica de una porción de luz incidente en una muestra, la cual experimenta un cambio de frecuencia debido al intercambio de energía con la materia.

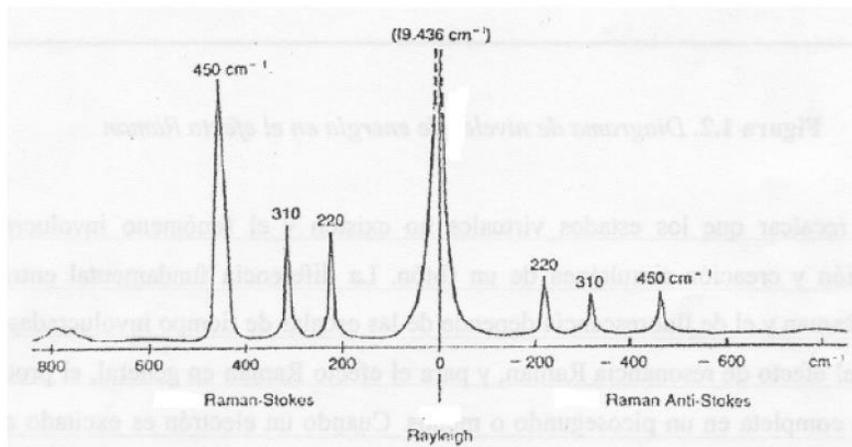
El procedimiento de medida consiste en incidir un haz de luz monocromático, de una determinada frecuencia sobre la muestra, provocando en mayor parte una dispersión elástica (dispersión de Rayleigh). No obstante, una porción de la luz dispersada se comporta de manera inelástica, la cual presenta una frecuencia distinta a la de la luz incidente. Estos cambios de frecuencia son propios de la naturaleza físico-química de cada material o muestra. Los cambios de frecuencia manifestados se atribuyen a una interacción entre los fotones incidentes y las nubes electrónicas de los átomos de las moléculas de la muestra. Los fotones incidentes excitan la muestra a otro estado, de esta manera la molécula al regresar al estado original habrá emitido un fotón. Cuando la interacción es inelástica (perdido o ganado energía), la molécula de la muestra no volverá al estado original, sino que se encontrará en un estado distinto al inicial. Esta diferencia de energía entre estados es lo que causa los cambios de frecuencia en los fotones emitidos, de esta manera existen tres tipos de casos de dispersión de luz a nivel molecular en la espectroscopía Raman los cuales se detallan a continuación y en la Figura 23:

1. Dispersión Rayleigh: interacción elástica, la frecuencia del fotón incidente y emitido es igual, por lo que no habrá ninguna variación energética. Esta dispersión no proporciona información espectroscópica.
2. Dispersión Raman-Stokes: interacción inelástica, la frecuencia del fotón incidente y emitido serán distintas debido a que se ha transferido energía a la molécula, provocando que esta se encuentre en un estado energético superior al inicial.
3. Dispersión Raman Anti-Stokes: interacción inelástica, la frecuencia del fotón incidente y emitido son distintas. Se transfiere energía al fotón, provocando que la molécula decaiga a un estado de menor energía que el inicial.



**Figura 23.** Diferentes posibilidades de dispersión en la espectroscopía Raman.

La espectroscopía Raman es una representación de la intensidad de luz dispersada frente al número de onda (recíproco de la longitud de onda). En la Figura 24, la banda central observable corresponde a la dispersión de Rayleigh, la cual posee la misma frecuencia que el fotón incidente y una gran intensidad. De cada lado de la banda central, se localizan simétricamente las bandas Raman-Stokes y Raman Anti-Stokes correspondientes a la dispersión inelástica.



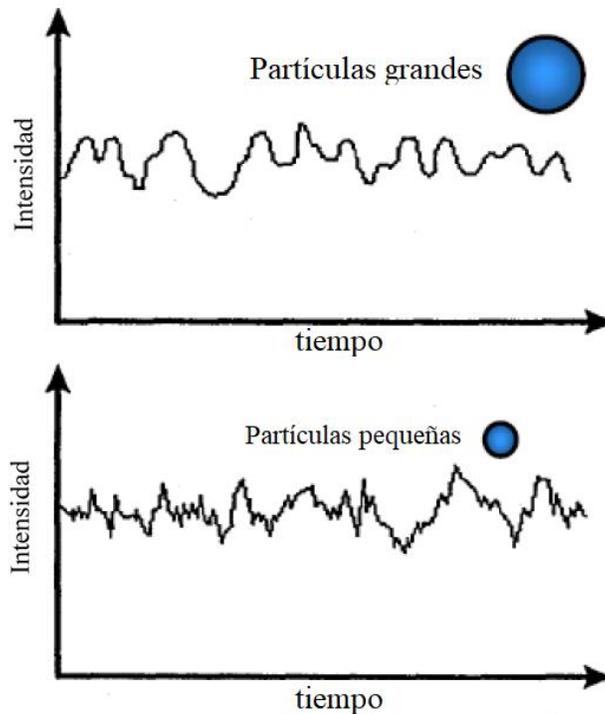
**Figura 24.** Distribución de las distintas señales en una espectroscopía Raman.

### 2.10.3 Dispersión de luz dinámica (DLS)

Las propiedades físico químicas de cada nanomaterial determina específicamente su comportamiento en el medio en el que se encuentre. La correcta caracterización de las nanopartículas nos permite obtener información relevante sobre la manera en que estas se comportan en un medio, así como su tamaño. Este último es uno de los datos de mayor importancia y es ahí en donde la técnica de Dispersión de Luz Dinámica (DLS, por sus siglas en inglés) tiene el protagonismo. El DLS permite la cuantificación del tamaño de partícula que se tenga en un medio, específicamente en una dispersión.

Las partículas contenidas en una muestra se encuentran en constante movimiento aleatorio debido al choque que cada una de estas experimenta con las moléculas del solvente, este fenómeno se conoce como Movimiento Browniano. Al hacer incidir un haz de luz sobre la muestra, cada partícula en movimiento causará una dispersión del haz y variaciones en su intensidad con respecto al tiempo. Distintos comportamientos de las partículas como la velocidad de difusión en el medio y el tipo de dispersión se deben específicamente al tamaño que cada una de estas posee. Cuando el tamaño de la partícula es menor a un décimo de la longitud de onda de la luz incidente  $< \frac{\lambda}{10}$ , la energía del haz incidente y el dispersado serán iguales (Dispersión de Rayleigh o dispersión elástica).

En cambio, cuando el tamaño de la partícula es mayor a un décimo de la longitud de onda de la luz incidente  $> \frac{\lambda}{10}$ , la energía de la luz incidente y dispersada serán distintas (Dispersión Mie o dispersión inelástica). En cuanto a la intensidad del haz, aquellas partículas de mayor tamaño provocarán fluctuaciones más lentas, mientras que aquellas de menor tamaño causarán fluctuaciones más rápidas, como se muestra en la Figura 25.

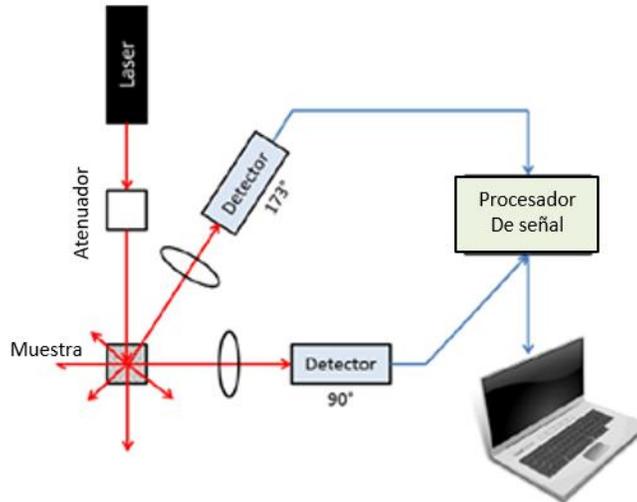


**Figura 25.** Variación de intensidad de luz dispersada dependiendo del tamaño de partícula.

El principio de funcionamiento de la técnica DLS comienza al incidir un haz de luz láser monocromático a la dispersión que se desea analizar y, por medio de la detección de las variaciones de intensidad de la luz dispersada, determinar el tamaño de las partículas (diámetro hidrodinámico). La Figura 26 muestra un esquema general del funcionamiento de un equipo DLS.<sup>41</sup> El equipo DLS mientras se encuentra detectando estas variaciones de intensidad va desarrollando una correlación para generar en el software interno una función de correlación. El equipo extrae de la función de correlación una variable importante, el coeficiente de difusión traslacional ( $D$ ). Una vez determinado  $D$ , el software utiliza esta variable en la ecuación de Stokes-Einstein para calcular el diámetro de la partícula:

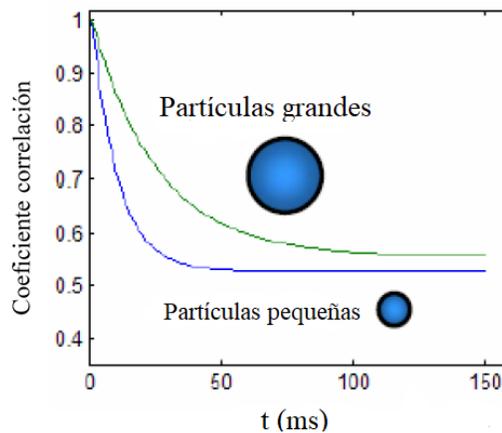
$$d_H = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (ec.3)$$

En donde:  $d_H$  = diámetro hidrodinámico,  $k$  = constante de Boltzmann's,  $T$  = temperatura,  $\eta$  = viscosidad (solvente),  $D$  = coeficiente de difusión traslacional.



**Figura 26.** Diagrama general del funcionamiento de un equipo DLS.

El comportamiento de la gráfica de correlación generada por el equipo también es afectado por el tamaño de las partículas en la dispersión. Aquellas partículas de mayor tamaño presentarán un decaimiento en la correlación en un mayor lapso de tiempo, mientras que las de menor tamaño lo harán en un intervalo menor. La Figura 27 muestra la relación entre el decaimiento del correlograma y el tamaño de las nanopartículas.

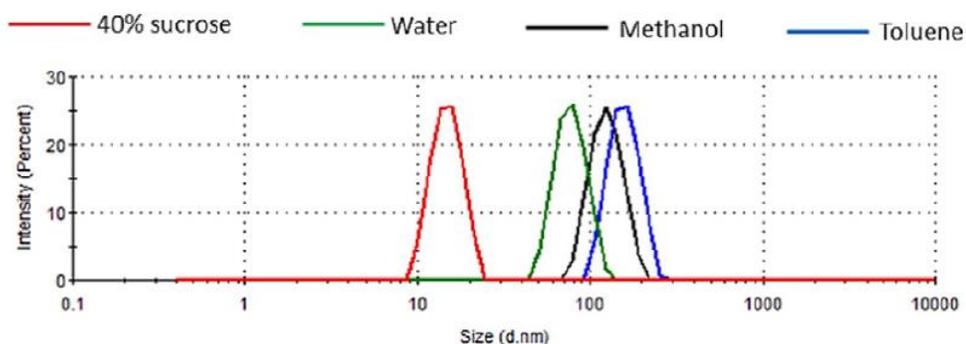


**Figura 27.** Comportamiento de la correlación dependiendo del tamaño de partícula.

En una solución las partículas dispersadas pueden presentar dos comportamientos en cuanto a su tamaño, formar grupos heterogéneos o grupos homogéneos. Una dispersión heterogénea poseerá poblaciones de partículas de distintos tamaños, mientras que, en una homogénea la mayoría de las poblaciones serán semejantes en tamaño, incluso iguales. Este

comportamiento sobre la distribución del tamaño de las partículas en una muestra se conoce como Índice de Polidispersidad (PI, por sus siglas en inglés). El valor numérico del PI puede variar desde 0.0 (muestras monodispersas con tamaños de partícula completamente homogéneos) hasta 1.0 (muestras polidispersas con diferentes tamaños de partícula, heterogéneo).<sup>42</sup> De acuerdo a la normativa internacional ISO 22412:2017 “Análisis de tamaño de partícula-Dispersión de luz dinámica DLS”, un valor de PI <0.05 se considera una muestra monodispersa, mientras que aquellas con valor >0.7 se consideran polidispersas.<sup>41</sup>

El software interno del equipo DLS tras haber generado los gráficos y funciones de correlación desplegará el tamaño de las partículas contenidas en la muestra. Estos tamaños se mostrarán por medio de una distribución Gaussiana, en donde la parte superior de cada cresta corresponderá al promedio del tamaño cuantificado de cada población de partículas, como los mostrados en la Figura 28. De esta manera, muestras monodispersas presentarán una única cresta de distribución mientras que aquellas polidispersas poseerán más de una.<sup>41</sup>



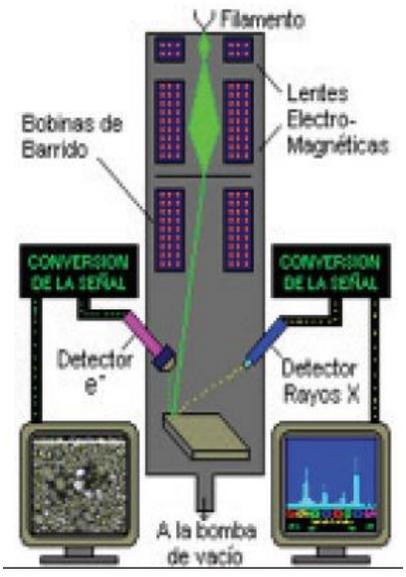
**Figura 28.** Distribuciones de los tamaños de partícula de Látex en distintos solventes.

#### 2.10.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

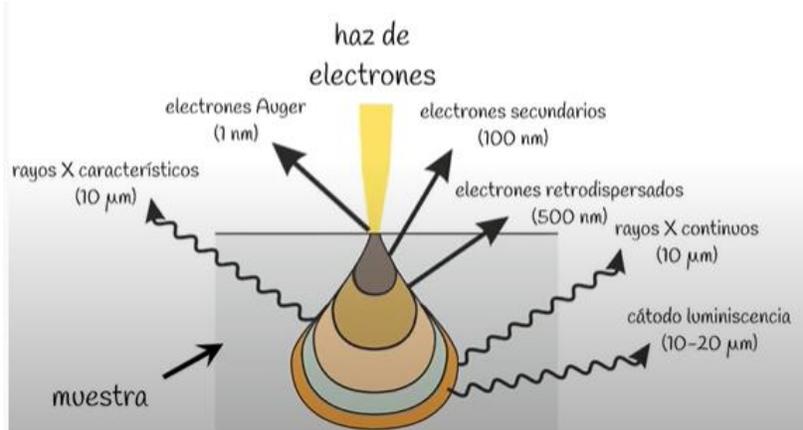
La microscopía ha sido una herramienta que ha permitido en gran manera el desarrollo y avance de distintas áreas de la ciencia. Los microscopios ópticos constan de una fuente luminosa (espectro de luz visible) junto con un arreglo de lentes oculares que permiten la observación de la muestra analizada. Esta luz incide sobre la muestra y por medio de las lentes es posible observarla, sin embargo, el poder de resolución y tamaño de muestras que es capaz de observar se encuentran limitados. En un microscopio de este tipo, no es posible

observar aquellas muestras que se encuentren dentro de un tamaño inferior al de la longitud de onda de la fuente luminosa incidente. Si se desea observar muestras cuyos tamaños estén por debajo de la longitud de onda de la luz visible se requerirá otro tipo de fuente de radiación incidente. Es ahí donde la microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) es la técnica adecuada para observar este tipo de objetos. A diferencia de un microscopio óptico que utiliza un haz de luz visible, el SEM utiliza como radiación incidente un haz de electrones que posee una longitud de onda del orden de  $10^{-4}$  nm. El principio de funcionamiento de un SEM es el siguiente: dentro de una cámara de alto vacío ( $2.5 \times 10^{-5}$  Pa, aprox.) se producen los electrones por medio del paso de una corriente eléctrica a través de un cátodo (por lo general, filamento de Tungsteno) los cuales serán acelerados hacia un ánodo utilizando una alta diferencia de potencial (15-100 kV). Una vez que los electrones sean acelerados serán direccionados a lo largo de la cámara de vacío con lentes electromagnéticas (bobinas o solenoides), además de direccionar, el campo magnético producido por estas bobinas también causará que el grosor del haz de electrones vaya disminuyendo. Posteriormente, el haz incidirá sobre la muestra en donde los electrones del haz experimentarán distintos comportamientos debido a la interacción con la materia. Estos distintos tipos de comportamiento son recopilados por medio de detectores los cuales producirán una señal analógica que será introducida a un procesamiento digital de señal y, de esta manera, generar una imagen de la muestra analizada.<sup>43</sup> La Figura 29 muestra las partes que conforman un microscopio SEM, mientras que la Figura 30 muestra los distintos tipos de señales generadas al incidir el haz de electrones sobre la muestra. Como ejemplo, en la Figura 31 se muestra una micrografía SEM de un nanocomposito polimérico reforzado con óxido de grafeno (GO).<sup>4</sup> A continuación, se especifica cada uno de los tipos de electrones resultantes después que el haz incide sobre la muestra:

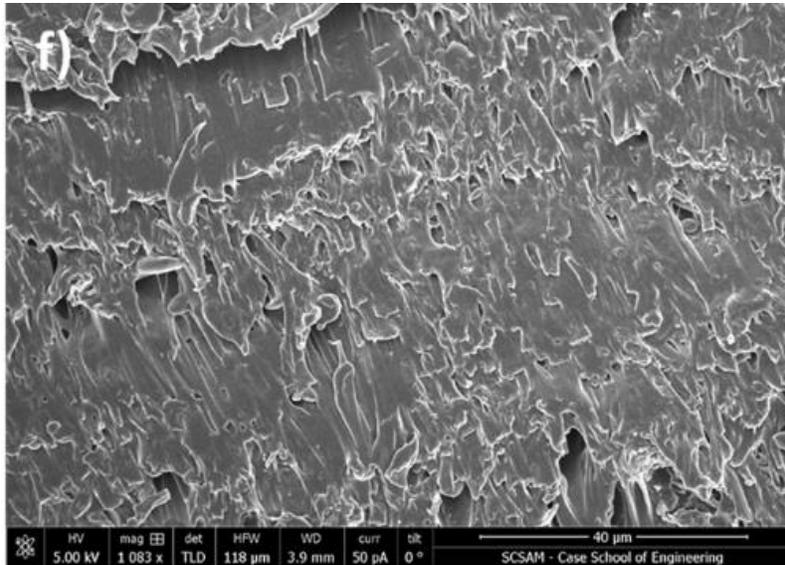
- Electrones secundarios: producidos a 100 nm de profundidad de la muestra, nos brindan información sobre la morfología y topografía del material analizado.
- Electrones retrodifundidos (backscattered): nos brinda información sobre la composición química del material gracias a que la diferencia de contrastes está asociada a los diferentes pesos atómicos.



**Figura 29.** Esquema general del funcionamiento de un SEM.



**Figura 30.** Distintos tipos de electrones producidos tras incidir el haz sobre la muestra.



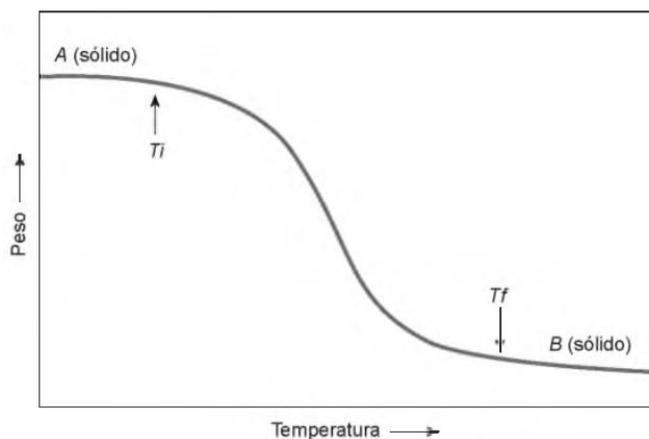
**Figura 31.** Micrografía SEM de nanocomposito polimérico reforzado con GO.

### 2.10.5 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés) es una de las técnicas de caracterización más utilizadas en el área de estudio de los materiales, mayormente en los polímeros. Esta técnica pertenece a los distintos métodos de análisis térmico existentes, permite determinar la variación de la masa de la muestra con respecto al cambio de temperatura. Los resultados de este comportamiento son de gran relevancia debido a que se puede determinar información importante sobre el material, tal como su estabilidad térmica. Conocer estos resultados permite realizar una correcta elección del material que se requiera utilizar para una aplicación específica.

Un equipo de TGA consta principalmente de una termobalanza, un portamuestra dentro de una cámara de atmósfera ajustable y un ordenador. Previamente al análisis, se debe conocer los parámetros a los que se desea realizar el análisis, tales como: temperatura, rampa de calentamiento, atmósfera (inerte u oxidante), entre otros. Un material polimérico al ser calentado comenzará a perder masa a partir de cierta temperatura específica. En la Figura 32 se muestra una representación general de un termograma correspondiente a un TGA, en donde  $T_i$  corresponde a la temperatura en donde se comienza a registrar la pérdida de masa

de la muestra, mientras que  $T_f$  es la temperatura a la cual se alcanza la máxima pérdida de masa. La muestra (A) al terminar el análisis se convertirá en una muestra distinta (B), esto debido a los cambios moleculares (pérdida de masa) que ocasionó el incremento de calor. Es por ello que el TGA es una técnica de caracterización destructiva.<sup>44</sup>

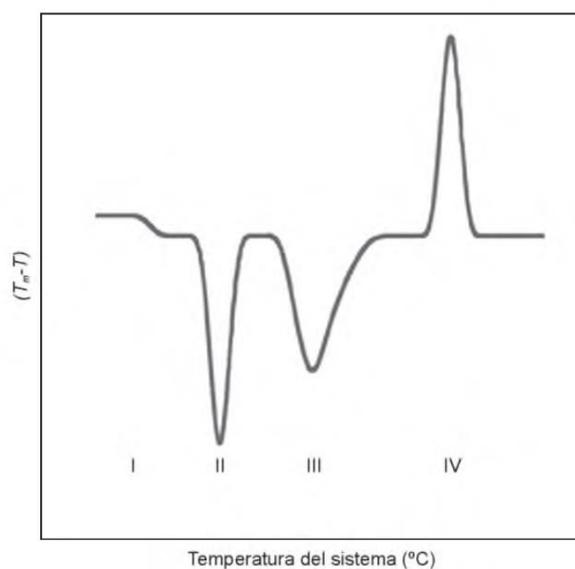


**Figura 32.** Representación general del termograma de un material.

### 2.10.6 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Las técnicas termoanalíticas han sido una herramienta fundamental para el estudio y desarrollo de nuevos materiales. Por medio de ellas se puede extraer información relevante sobre el comportamiento físico-químico y mecánico que experimentará el material analizado a distintos cambios de temperatura. Con esta información se puede realizar una correcta elección de qué materiales utilizar para aplicaciones específicas. La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, por sus siglas en inglés) es una técnica más perteneciente al análisis térmico. Gracias a ella podemos estudiar de qué manera ocurren variaciones en la entalpía del material con respecto al cambio de temperatura, específicamente transiciones termodinámicas de primer y segundo orden. Cada cambio físico-químico y mecánico que manifieste la muestra en su estructura interna al calentarse, se verá reflejado en el termograma generado por el equipo DSC. Estos cambios ocurren debido a la variación en la Capacidad Calorífica ( $C_p$ ) que cada material experimenta al cambiar su entalpía. El DSC es mayormente utilizado en el estudio de los polímeros, esta técnica nos brinda información relevante sobre estos materiales como: temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), temperatura de fusión ( $T_m$ ), temperatura de cristalización y temperatura de degradación ( $T_d$ ).

La  $T_g$  es aquella temperatura a partir de la cual el polímero pasa de un estado vítreo (rígido, quebradizo) a un estado blando gomoso, esta solo ocurre en la porción amorfa del polímero, por lo que es exclusiva para aquellos que son amorfos y semicristalinos. La  $T_m$  se considera la temperatura a la cual el polímero pasa de estado sólido a líquido. La temperatura a partir en la que un material tiende a manifestar un cierto grado de ordenamiento en su estructura (cristalinidad) se le conoce como temperatura de cristalización ( $T_c$ ). En la Figura 33 se aprecia una representación general de un termograma DSC, la  $T_g$  (I) se observará como una discontinuidad o descenso en la línea base, la  $T_m$  (II) se representa como un pico descendiente (fenómeno endotérmico), picos descendientes ensanchados (III) representan reacciones químicas de descomposición o disociación que están ocurriendo en el material. Por otro lado, la  $T_d$  (IV) se observa como un pico ascendente (fenómeno exotérmico).<sup>44</sup>



**Figura 33.** Representación general de un termograma DSC de un polímero.

### 2.10.7 Ensayos de biocompatibilidad

Los ensayos de biocompatibilidad se realizan mediante técnicas para determinar el grado de viabilidad celular que presentará un material al estar en contacto e interacción con sistemas biológicos como bacterias, células, tejidos, órganos, animales, humanos. Existen dos campos de ensayos de biocompatibilidad, ensayos *in vitro* y ensayos *in vivo*. Los ensayos bajo condiciones *in vitro* se realizan en instrumentos de vidrio (cajas de Petri, placas de pocillos),

los cuales contendrán cultivos celulares expuestos a los materiales a evaluar. Este tipo de ensayos proveen información rápida y económica sobre la biocompatibilidad del material, a diferencia de los ensayos *in vivo* donde se requiere la disposición de un bioterio para implantar los materiales dentro de animales y analizar su comportamiento dentro del organismo.

La “citotoxicidad” es el grado de efecto tóxico (muerte, alteración de la permeabilidad de membranas celulares, inhibición enzimática, entre otras) que provoca un material o sustancia a nivel celular. Es diferente a los efectos físicos que también pueden afectar al desarrollo y adhesión celular (carga superficial del material, hidrofobicidad, hidrofiliidad, entre otras). Por más de tres décadas se han utilizado cultivos celulares para lograr evaluar el grado de citotoxicidad que posee un material.<sup>20</sup>

De acuerdo a diversas normativas internacionales para la evaluación de biomateriales como la ISO 10993-1 y la ASTM F567-13, los ensayos de citotoxicidad *in vitro* más utilizados se clasifican como ensayos en “contacto directo”. En el desarrollo de este tipo de prueba se debe previamente realizar un cultivo celular (linfocitos, fibroblastos, glóbulos rojos o blancos, entre otros) en una placa con su respectivo medio de cultivos a 37°C durante 24 horas. Después, se introduce el material a evaluar dentro de la placa en contacto directo con el cultivo y nuevamente se dejan a incubar a 37°C durante 24 horas. Una vez transcurrido el periodo de incubación se agrega una porción de colorante para tinción histológica (azul tripano, entre otros) y se realiza una visualización bajo microscopio. Si el material presenta alta citotoxicidad habrá causado alteración en la permeabilidad de las membranas celulares provocando que el colorante se introduzca dentro de las células y se tiñen, bajo el microscopio se observarán células teñidas (muertas). Por otro lado, si el material presentó baja citotoxicidad no habrá causado alteración en la permeabilidad de las membranas celulares y, por lo tanto, las células no se habrán teñido lo que se concluye que el material resultó apropiado para estar en contacto con sistemas biológicos.<sup>20,23</sup> La Figura 34 presenta un ensayo de viabilidad celular realizado en cultivos de fibroblastos en placas de pocillos.

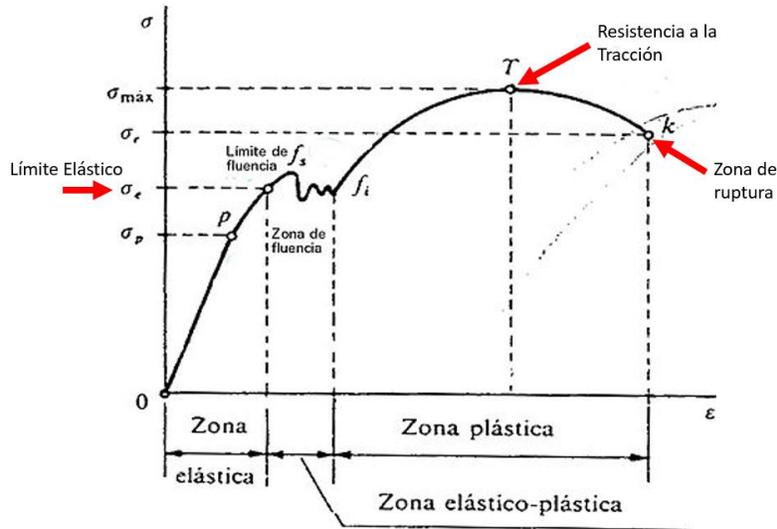


**Figura 34.** Imagen de un ensayo de citotoxicidad llevado a cabo en placa de pocillos.

Los ensayos de pruebas hemolíticas son otro tipo de prueba de viabilidad celular que se realiza a aquellos biomateriales que en su aplicación final estarán en contacto con sangre. Consiste en cuantificar la concentración de hemoglobina de una muestra de glóbulos rojos antes y después de permanecer en contacto con el material a evaluar. El cociente de estas dos concentraciones se conoce como “índice hemolítico”. De acuerdo a la normativa internacional ASTM F567-13 para que un biomaterial sea considerado biocompatible debe presentar un “índice hemolítico” menor a 2.<sup>22</sup>

## **2.11 Ensayos Mecánicos de Tensión**

Los distintos tipos de biomateriales (poliméricos, cerámicos, metálicos, composites, nanocomposites) poseen propiedades físico químicas distintas que los diferencian a cada uno de ellos. Asimismo, las propiedades mecánicas no son la excepción. Conocer este último tipo de propiedades permitirá realizar una correcta elección de materiales para la aplicación que se pretenda desarrollar. Los ensayos de tensión permiten estudiar el comportamiento mecánico de un material al ser sometido a cargas axiales, es decir, se cuantifica la deformación del material a distintos esfuerzos conocidos. Este tipo de ensayos se estudian mediante los gráficos de Esfuerzo-Deformación como el mostrado en la Figura 35.



**Figura 35.** Gráfico general Esfuerzo-Deformación de un material.

Un gráfico de esfuerzo-deformación posee distintas secciones con comportamientos particulares. El eje “x” se representa mediante la letra griega épsilon “ $\epsilon$ ”, es la deformación que experimenta el material y sus unidades son “mm/mm”. Por otro lado, el esfuerzo aplicado al material corresponde al eje “y” representándose con la letra griega sigma “ $\sigma$ ”, sus unidades son  $N/mm^2$  o MPa. Cuando un material es sometido a una carga axial experimentará diferentes comportamientos en su gráfico esfuerzo-deformación; la zona elástica corresponde a la zona en la que el material puede recuperar su forma inicial si se interrumpe la aplicación del esfuerzo, el límite elástico es el valor máximo de la zona elástica, es decir, el máximo valor en el cual el material pueda recuperar su forma inicial en dado caso que se interrumpa la aplicación de la carga. Una vez que se supera la “región plástica” comienza la zona de fluencia, en donde el material sufrirá deformaciones sin la necesidad de que el esfuerzo aplicado aumente, esto se debe a las dislocaciones que ocurren a nivel molecular. Sin embargo, cuando se sobrepasa la zona de fluencia comienza la “zona plástica”, la cual corresponde a la porción en donde el material experimentará deformaciones permanentes y, para que estas ocurran se requiere una mayor aplicación de carga o esfuerzo. Al punto máximo de esta zona se conoce como “Resistencia a la tracción” y es el valor máximo de esfuerzo que es capaz de soportar un material en su zona plástica. Por último, la “zona de ruptura” es el valor de esfuerzo en el cual el material se rompe, su valor será menor al de la “resistencia a la tracción”.<sup>25,45</sup>

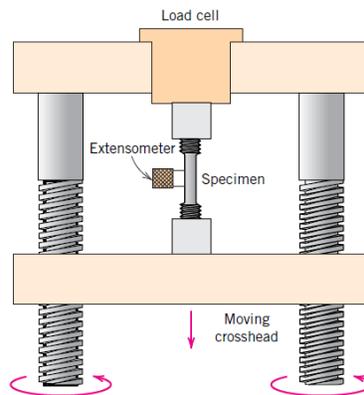
Las variables que representan el comportamiento mecánico de un material se obtienen por medio de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Esfuerzo } \left(\frac{N}{mm^2}\right): \sigma = \frac{F}{A_0}, \quad \text{Deformación } \left(\frac{mm}{mm}\right): \varepsilon = \frac{l-l_0}{l_0} \quad (\text{ec. 4})$$

En donde  $F$  es la fuerza axial aplicada,  $A_0$  es el área transversal de la muestra,  $l$  es el cambio en la longitud del material mientras que,  $l_0$  corresponde a longitud inicial de la muestra. Existe una relación entre el esfuerzo ( $\sigma$ ) y la deformación del material ( $\varepsilon$ ), siendo una de las propiedades más importantes que es posible determinar por medio de este tipo de ensayos; el Módulo de Elasticidad o Módulo de Young. El Módulo de Elasticidad es una medida del grado de rigidez de un material y está relacionado con la energía de enlaces de sus átomos. Este valor corresponde a la pendiente de la porción gráfica de la zona elástica, se representa con la letra “ $E$ ” y se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Módulo de Young: } E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (\text{ec.5})$$

Los ensayos de tensión se llevan a cabo en un equipo que consta de varias partes: mordazas para sujetar la muestra de material a analizar, motores que generan un desplazamiento en las mordazas provocando una carga axial en el material, la fuerza aplicada se sensa mediante una celda de carga, tarjeta controladora y un equipo de cómputo para la adquisición de datos registrados. La Figura 36 muestra una representación de un equipo utilizado para ensayos de tracción.



**Figura 36.** Equipo de ensayos de tracción.

## 2.12 Technology Readiness Level (TRL)

El nivel de madurez tecnológica (TRL, por sus siglas en inglés) es una ponderación desarrollada en la década de los 1970s por la Administración Nacional de Aeronáutica y del Espacio (NASA) con la finalidad de cuantificar el nivel o grado de madurez en el que se encuentra la tecnología que desarrollaban dentro de la agencia espacial. Sin embargo, hoy en día el concepto TRL no es exclusivo del sector aeroespacial, distintas disciplinas del área de desarrollo tecnológico han acuñado este concepto con el mismo propósito, identificar el grado de madurez de la tecnología que se encuentran desarrollando.<sup>46-48</sup> La escala TRL consta de 9 niveles, siendo el nivel 1 el de menor valor y el 9 el último nivel, tal como se muestra en la Tabla 1.

TRL 1	Idea y principios básicos observados y reportados (concepción de la idea)	Investigación; Prueba de concepto
TRL 2	Concepto, idea o aplicación tecnológica formulada	
TRL 3	Prueba del concepto o idea	
TRL 4	Validación de los componentes del concepto o idea a nivel laboratorio	Prototipo; Desarrollo tecnológico; Entorno de simulación
TRL 5	Validación de los componentes del concepto o idea en un entorno relevante	
TRL 6	Modelo de sistema y validación de este en un entorno relevante	
TRL 7	Demostración y/o validación del sistema o prototipo en un entorno real	
TRL 8	Sistema completado y certificado mediante pruebas y demostraciones	Producto o modelo comercializable; Certificaciones; Entorno real
TRL 9	Sistema probado exitosamente en un entorno real	

**Tabla 1.** Niveles de madurez tecnológica TRL.

## 3. METODOLOGÍA

### 3.1 Equipo y materiales utilizados

#### Materiales y reactivos

- Carrete de filamento de PLA transparente.
- Viales de cristal.
- Vasos de precipitado.
- Embudo Buchner.
- Papel filtro.
- Parafilm.
- Agitador magnético.
- Cloroformo.
- Ácido sulfúrico.
- Ácido Nítrico.
- Ácido Clorhídrico.
- Tolueno.
- Ferroceno.
- Reactivo Drabkins.
- Agua desionizada.

#### Equipos

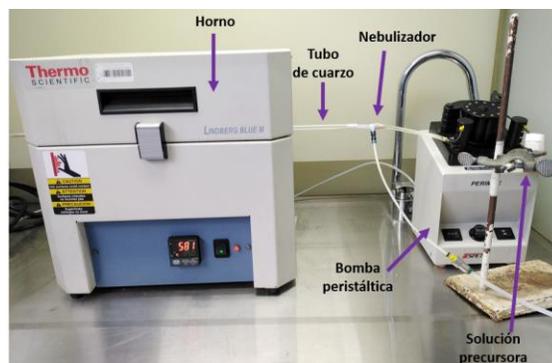
- Horno Thermo Scientific Lindberg Blue M.
- Bomba peristáltica Spetec Perimax.
- Nebulizador Agilent Technologies One Neb.
- Impresora 3D Anet ET4.
- Impresora 3D Creality Ender 3 V2.
- Secador de filamentos marca eSUN modelo eBOX Lite.
- Extrusora Filabot EX2.
- Trituradora Nutribullet.
- Equipo de ensayos de tracción con celda de carga Nidec FG-3005.
- Parrilla magnética calefactable.
- Balanza analítica eAdam.
- Baño ultrasónico Branson.
- Micropipeta.
- Calibrador vernier Husky.
- Espectroscopio FTIR Shimadzu IR Spirit.
- Espectrofotómetro Shimadzu UV 2700
- Espectroscopio Raman Thermo Scientific DXR Smart Raman.
- Termobalanza TA Instruments SDT 2960.
- Equipo de Dispersión de Luz Dinámica Anton Para Litesizer 500 Particle Analyzer.

- Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-7800F.
- Microscopio electrónico de barrido TESCAN VEGA3.
- Microscopio de fuerza atómica Nanosurf Easy Scan.

La elaboración del nanocomposito polimérico de PLA reforzado con nanotubos de carbono multipared (PLA/MWCNT<sub>f</sub>) se llevó a cabo en varias fases, la primera consistió en la síntesis de los MWCNT, en la segunda etapa se les realizó a los nanotubos un proceso de funcionalización mediante un tratamiento oxidativo. Durante la tercera etapa se incorporaron los MWCNT dentro de la matriz de PLA. La cuarta etapa consistió en el moldeo del nanocomposito y durante la quinta etapa se utilizó el material desarrollado para imprimir en 3D el tornillo para osteosíntesis. Simultáneamente al desarrollo de cada etapa se fueron realizando distintas caracterizaciones a los materiales que se fueron obteniendo, finalmente, los ensayos de biocompatibilidad y pruebas mecánicas de tracción.

### **3.2 Síntesis de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT)**

Los nanotubos de carbono de pared múltiple utilizados en este proyecto se sintetizaron por el método de nebulización pirolítica (“spray pirolisis”).<sup>34</sup> Se preparó una solución precursora de Tolueno/Ferroceno a una concentración de 0.1 M. Se ingresó la solución al tubo de cuarzo ubicado bajo una atmósfera inerte dentro del horno a 850 °C ThermoFisher Lindberg BlueM con apoyo de un equipo de nebulización marca Agilent Technologies One Neb y una bomba peristáltica Spetec Perimax con un flujo de 10 ml/h durante 30 minutos (Figura 37). Una vez culminado el tiempo de síntesis se extrajeron los nanotubos obtenidos del tubo de cuarzo y se almacenaron en un vial de cristal (Figura 38). Los nanotubos obtenidos del proceso de síntesis se denominaron MWCNT.



**Figura 37.** Sistema de síntesis de MWCNT.

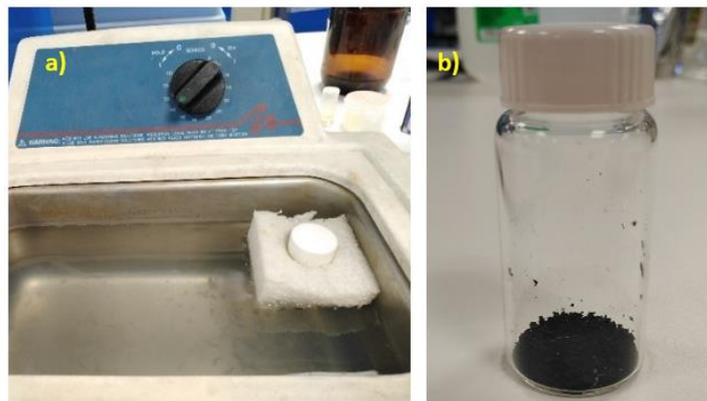


**Figura 38.** MWCNT sintetizados.

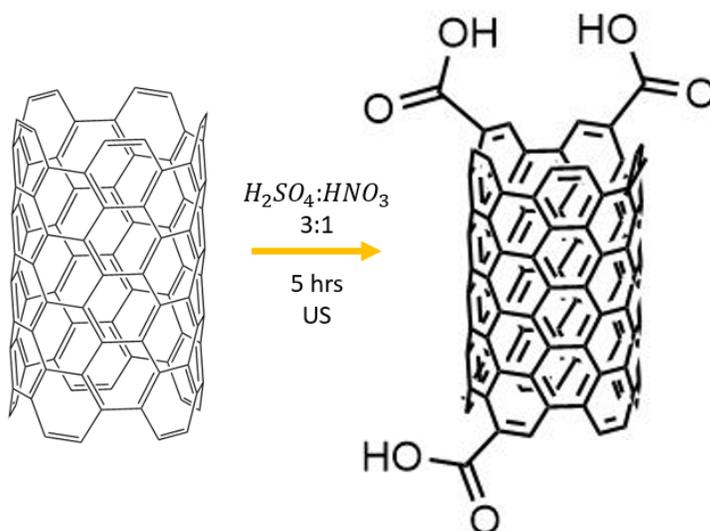
### 3.3 Funcionalización de MWCNT

Los nanotubos de carbono pueden tener una adecuada incorporación con la matriz polimérica modificando su superficie mediante un tratamiento de funcionalización, es por ello que se realizó un tratamiento oxidativo mediante ultrasonido para lograr añadir ácidos carboxílicos (COOH) a la superficie de los MWCNT.<sup>49</sup> Se preparó una mezcla de  $H_2SO_4$  y  $HNO_3$  en una relación de 3:1 respectivamente y se añadió a los nanotubos en una proporción de 10 ml/100 mg. Posteriormente, se dejaron en baño ultrasónico durante 5 horas, una vez transcurrido el tiempo mencionado se secaron por gravedad con apoyo de un filtro de fibra de vidrio, embudo Buchner y un vaso de precipitado. Después, se añadió a los nanotubos secados 10 ml de HCl al 1 M para volver a dejarlos en baño ultrasónico durante 30 minutos. Una vez transcurrido ese tiempo se diluyeron los nanotubos en 500 ml de agua desionizada, se volvieron a filtrar y, finalmente, se secaron a 70 °C en una parrilla durante tres días. Los

nanotubos de carbono resultantes del tratamiento de funcionalización se denominaron  $MWCNT_f$  y se muestran en la sección (b) de la Figura 39. La representación gráfica de las estructuras de los nanotubos funcionalizados se muestra en la Figura 40.



**Figura 39.** MWCNT bajo funcionalización en US a), y una vez terminado el proceso b).

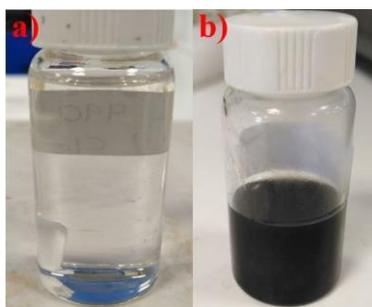


**Figura 40.** Representación de nanotubos funcionalizados ( $MWCNT_f$ ).

### 3.4 Desarrollo del nanocomposito $PLA/MWCNT_f$

El nanocomposito de ácido poliláctico con nanotubos de carbono de pared múltiple ( $PLA/MWCNT_f$ ) se sintetizó mediante el método “solution blending” o mezclado en solución. La proporción de  $MWCNT_f$  utilizada como refuerzo respecto a la matriz polimérica

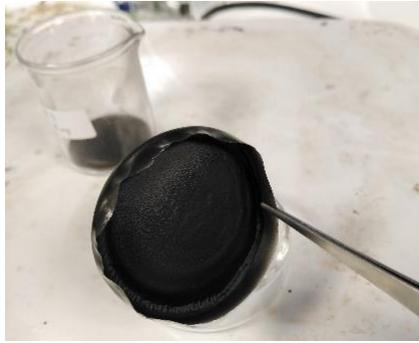
de PLA fue de 0.5 wt%. Primeramente, se realizó una dispersión de PLA en cloroformo en una proporción de 100 mg/ml mediante agitación magnética durante 24 hrs. Similarmente, se realizó una dispersión de MWCNT<sub>f</sub> en cloroformo con una proporción de 5 mg/ml en baño ultrasónico durante 1 hora. Una vez teniendo ambas dispersiones homogéneas (Figura 41), se procedió a agregar la dispersión de MWCNT<sub>f</sub>/Cloroformo en la de PLA/Cloroformo para dejar en agitación durante 24 hrs y, más adelante, se dejó secando la mezcla de dispersiones en una parrilla de calentamiento a 50 °C durante dos días (Figura 42). El material nanocomposito obtenido se denominó PLA/MWCNT<sub>f</sub> y se muestra en la Figura 43. Por otro lado, se propone mediante la Figura 44 que el tipo de interacción entre los nanotubos de carbono funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>) con la matriz polimérica de PLA es mediante puentes de Hidrógeno entre los grupos funcionales (hidroxilos, carbonilos) presentes en ambos materiales.



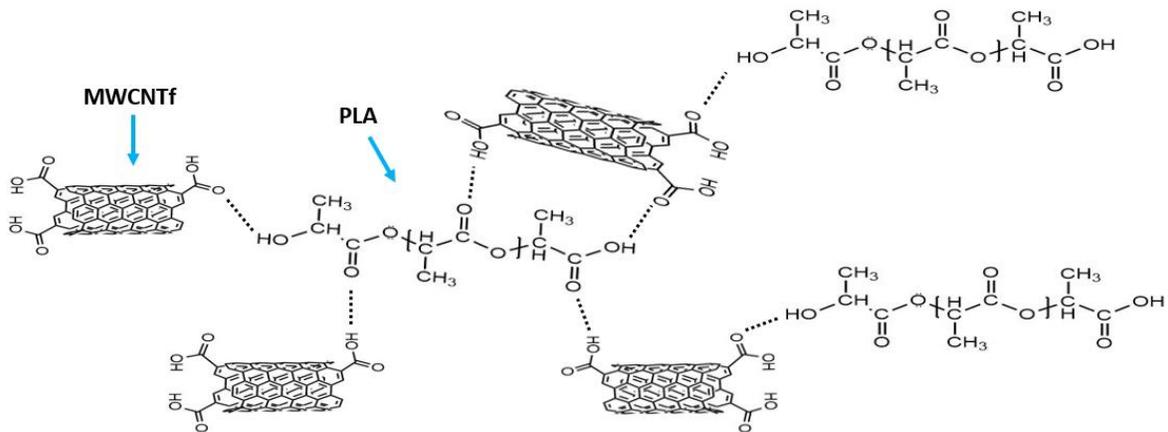
**Figura 41.** a) PLA disperso en cloroformo, b) MWCNT<sub>f</sub> dispersos en cloroformo.



**Figura 42.** Dispersión de PLA/MWCNT<sub>f</sub> antes (a) y durante el secado (b).



**Figura 43.** Película de nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> obtenida tras el secado.



**Figura 44.** Interacciones entre el PLA y los MWCNT<sub>f</sub>.

### 3.5 Moldeo del nanocomposito

Las películas de nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> se sometieron a distintos procesos de moldeo para ser utilizadas en una presentación y dimensiones compatibles con las técnicas de manufactura. Se trituraron las películas sintetizadas en una licuadora Nutribullet para obtener el PLA/MWCNT<sub>f</sub> pelletizado en dimensiones aceptables por el proceso de extrusión, el producto del proceso de trituración se muestra en la Figura 45.



**Figura 45.** PLA/MWCNT<sub>f</sub> triturado.

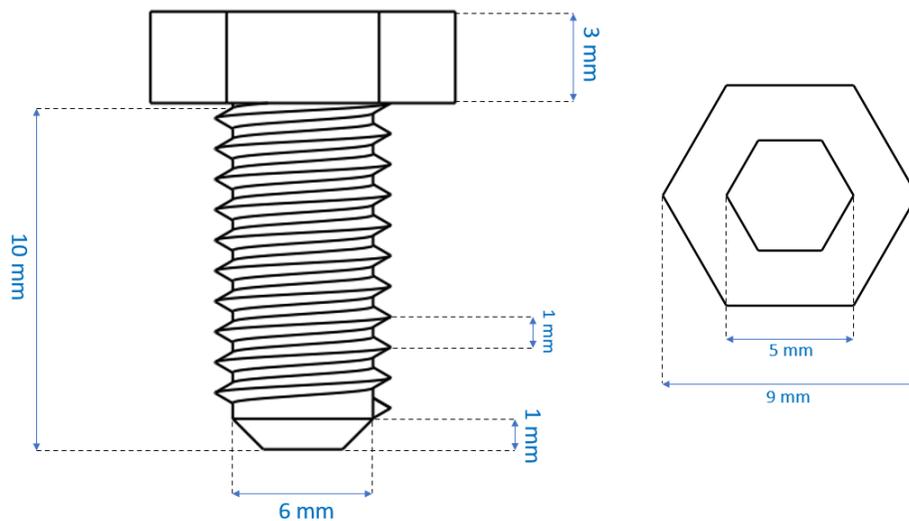
El segundo proceso de moldeo realizado al nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> fue la extrusión. Se ingresaron aproximadamente 30 gr del material triturado dentro de la tolva de una extrusora marca Filabot EX2 a una temperatura de 170 °C con una boquilla de salida de 1.75 mm de diámetro. El proceso tuvo una duración de alrededor de 12 minutos y se obtuvieron aproximadamente 9 metros de filamento PLA/MWCNT<sub>f</sub> con un diámetro de 1.75 mm, cuya dimensión es la estándar en la impresión 3D. La Figura 46 muestra el equipo de extrusión utilizado, su configuración, el ingreso del material, así como su funcionamiento.



**Figura 46.** a) Extrusora Filabot EX2, b) Tolva sin material, c) Tolva con material PLA/MWCNT<sub>f</sub>, d) Configuración del equipo.

### 3.6 Diseño 3D del tornillo ortopédico

El dispositivo médico diseñado y fabricado en este proyecto fue un implante ortopédico, específicamente un tornillo para osteosíntesis. Se diseñó con apoyo del programa FreeCAD, el cual es un software de acceso libre “open source”. El diseño es de dimensiones semejantes a los modelos que actualmente comercializan diversos fabricantes por ejemplo, “DePuySynthes”, “Johnson&Johnson”, entre otros. El tornillo posee un diámetro de 6 mm en su espárrago con un chaflán de 1 mm en la punta, la rosca posee un paso de 1 mm, la cabeza hexagonal exterior es de 9 mm y la interior de 5 mm. La Figura 47 muestra los planos del diseño realizado con sus respectivas cotas dimensionales.



**Figura 47.** Planos 2D del tornillo de osteosíntesis diseñado.

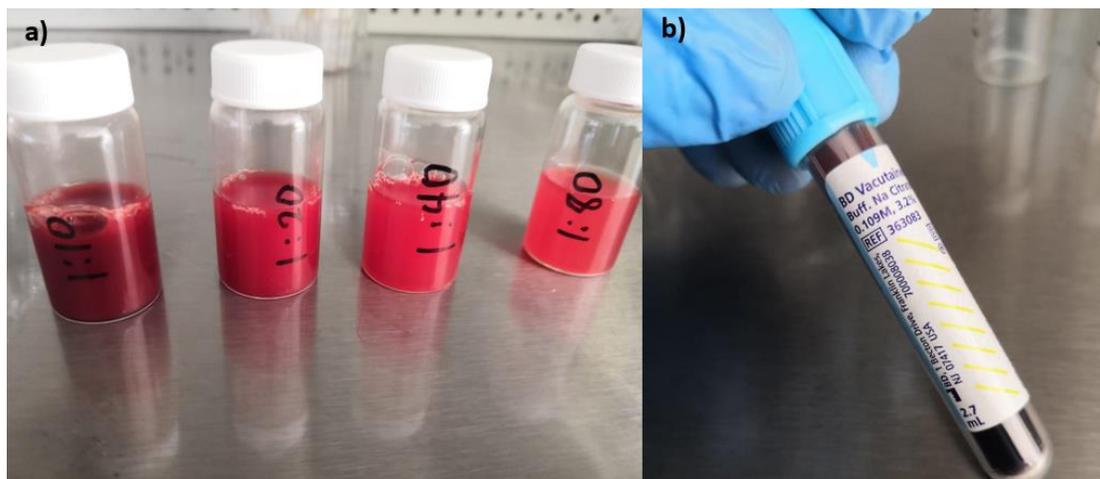
### 3.7 Ensayos de biocompatibilidad

Para la evaluación de la biocompatibilidad de los materiales desarrollados realizó una prueba de hemólisis basada en la normativa internacional ASTM F756-13, la cual se clasifica como una prueba de contacto directo.<sup>20</sup> Este tipo de ensayos consiste en evaluar la viabilidad celular de los eritrocitos al estar en contacto con el material a evaluar siendo el porcentaje hemolítico el principal indicador de la viabilidad, entre mayor sea la muerte celular de los eritrocitos mayor será la concentración presente de hemoglobina en la muestra. Un valor del porcentaje

hemolítico por debajo de 5 es considerado un material con bajas propiedades hemolíticas mientras que por encima de 5 se considera altamente hemolítico.<sup>22</sup>

### 3.7.1 Determinación de la Hemoglobina total en plasma y en sangre

Primeramente, se extrajo una muestra sanguínea humana (10 ml) de un donador voluntario y se almacenó a 4 °C de refrigeración en tubos con anticoagulante de citrato. Se preparó una curva de calibración de hemoglobina con 4 diluciones con concentraciones entre los rangos de 1:10, 1:20, 1:40 y 1:80 sangre en buffer donde el eje “y” corresponde a la concentración de hemoglobina (mg/ml) y el eje “x” a su absorbancia a 540 nm ( $A_{540}$ ). La pendiente del gráfico resultante se conoce como coeficiente de calibración (F). La Figura 48 muestra la muestra de sangre extraída así como las diluciones realizadas de esta en PBS.



**Figura 48.** a) Diluciones de muestra sanguínea, b) Muestra sanguínea extraída.

Posteriormente, se centrifugaron 3 ml de la muestra sanguínea a 700-800 G durante 15 minutos y se preparó una solución 1:1 entre el plasma resultante y el reactivo Drabkin, una vez transcurridos 15 minutos se registró la absorbancia a 540 nm ( $A^{PFH}$ ). La concentración de hemoglobina libre en plasma (PFH, por sus siglas en inglés) se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$PFH = (A^{PFH})(F)(2) \quad (\text{ec.6})$$

Más adelante, se añadieron 20  $\mu$ l de sangre total extraída a 5 ml del reactivo Drabkin dejándose reposar durante 15 minutos y una vez transcurrido el tiempo mencionado se midió

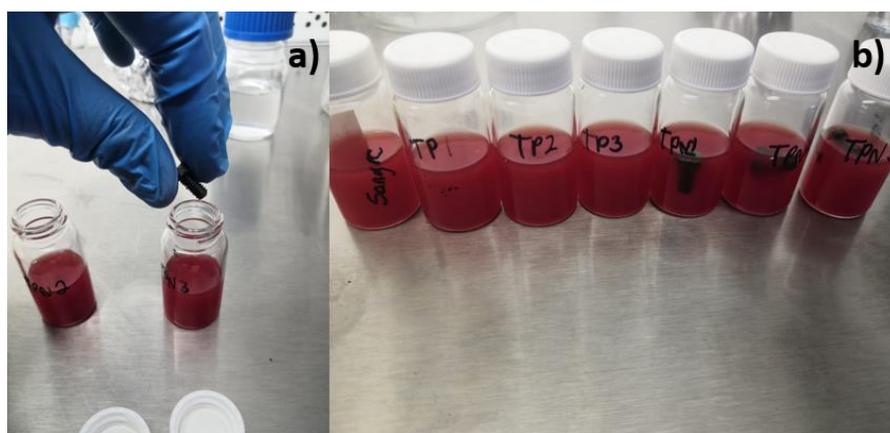
su absorbancia a 540 nm ( $A^C$ ). La concentración total de hemoglobina en sangre (C) se determina utilizando la siguiente ecuación:

$$C = (A^C)(F)(251) \quad (\text{ec.7})$$

### 3.7.2 Procedimiento del ensayo de hemólisis

El ensayo de hemólisis al ser una prueba de biocompatibilidad de tipo contacto directo requiere que la morfología del material a evaluar se encuentre en la presentación final en la que se pretende utilizar como aplicación final. Es por ello que los materiales desarrollados en este proyecto (PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub>) se evaluaron en su presentación final como tornillos ortopédicos impresos en 3D.

Primeramente, se añadieron 7 ml de PBS a los viales en donde se desarrolló el ensayo hemolítico y después se agregó 1 ml de la muestra sanguínea a cada uno de los recipientes. Más tarde, se esterilizaron e introdujeron un tornillo de cada material (PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub>) por triplicado en los viales previamente preparados. Los viales que contienen los tornillos evaluados fabricados en PLA se denominaron como “TP” y aquellos con tornillos fabricados en PLA/MWCNT<sub>f</sub> se les asignó las letras “TPN”. Similarmente, el vial que fungió como blanco se denominó “Sangre”. La Figura 49 muestra los viales con las muestras preparadas, así como el momento en el que se introdujeron los materiales a evaluar.



**Figura 49.** a) Tornillos de PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub> siendo agregados a las muestras sanguíneas, b) Muestras listas para su incubación.

Se dejaron las muestras en baño María a 37 °C durante 3 horas, cada 30 minutos se invirtieron los tubos con el propósito de que la muestra sanguínea tenga un mejor contacto con la muestra a evaluar (tornillo). Una vez transcurrido el tiempo mencionado se transfirió el fluido de cada vial a nuevos tubos y se centrifugaron a 700-800 G durante 15 min. Se añadió 1 ml del supernadante a un nuevo vial junto con 1 ml del reactivo Drabkin dejándose en reposo durante 15 minutos y, posteriormente se midió la absorbancia de cada muestra a 540 nm ( $A^S$ ). La concentración de hemoglobina del supernadante del material a evaluar se determina por la siguiente ecuación:

$$S = (A^S)(F)(2) \quad (\text{ec.8})$$

Similarmente, la concentración de hemoglobina de la muestra blanco se calcula utilizando la ecuación siguiente:

$$B = (A^B)(F)(2) \quad (\text{ec.9})$$

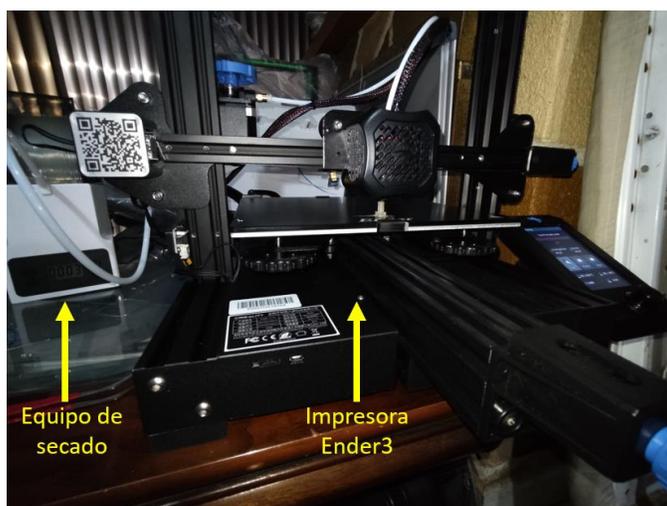
Por otro lado, el porcentaje de hemólisis o índice hemolítico fue determinado haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$\%hemólisis = \frac{\text{concentración hemoglobina en supernadante}}{\text{concentración total de hemoglobina}} \times 100 \quad (\text{ec.10})$$

### 3.8 Impresión 3D

El proceso de impresión 3D se llevó a cabo utilizando dos impresoras FDM, una Anet ET4 y una Creality Ender3 V2, ambas impresoras poseen un sistema de extrusión tipo Bowden. Primeramente, una vez que se obtuvo el filamento de nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> con diámetro de 1.75 mm, fue ingresado dentro de la primera impresora mencionada a una temperatura de 220 °C para comprobar que el material pueda ser fundido y fluya sin ningún inconveniente a través del extrusor de la impresora. Después, se realizaron varias impresiones del diseño 3D del tornillo diseñado en filamento de PLA transparente en la impresora Anet y en la Ender3. El filamento PLA/MWCNT<sub>f</sub> fue utilizado en la impresora Ender3 para imprimir el diseño realizado. Los filamentos tanto de PLA como de PLA/MWCNT<sub>f</sub> fueron previamente secados a 50 °C en un equipo secador de filamento eSUN durante 3 horas. De

esta manera, se obtuvieron 6 tornillos impresos de cada material, tanto de PLA comercial como del nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub>. Los filamentos utilizados siempre estuvieron dentro del equipo eSUN durante el lapso de impresión gracias a que el equipo de secado posee un conducto por el cual fue transportado el material hasta el interior del conducto de la impresora, de esta manera se evitó exponerlos a la humedad del ambiente. La Figura 50 muestra ambos equipos realizando la impresión del diseño. Los parámetros de configuración que se programaron en el software Ultimaker Cura 4.6 para utilizarse en la impresión de los tornillos en los dos materiales se muestran en la Tabla 2. Con apoyo de un vernier digital marca Husky se comprobó que las dimensiones de la pieza impresa coincidan con las establecidas en el diseño 3D.



**Figura 50.** Equipo de secado de filamento (izquierda) e impresora 3D Ender3 (derecha).

Material (filamento)	Temp. de extrusor (°C)	Temp. de cama caliente (°C)	Velocidad de impresión (mm/s)	Altura de capa (mm)	Relleno (%)
PLA	215	60	50	0.1	100
PLA/MWCNT <sub>f</sub>	220	60	50	0.1	100

**Tabla 2.** Parámetros de configuración utilizados en la impresión 3D.

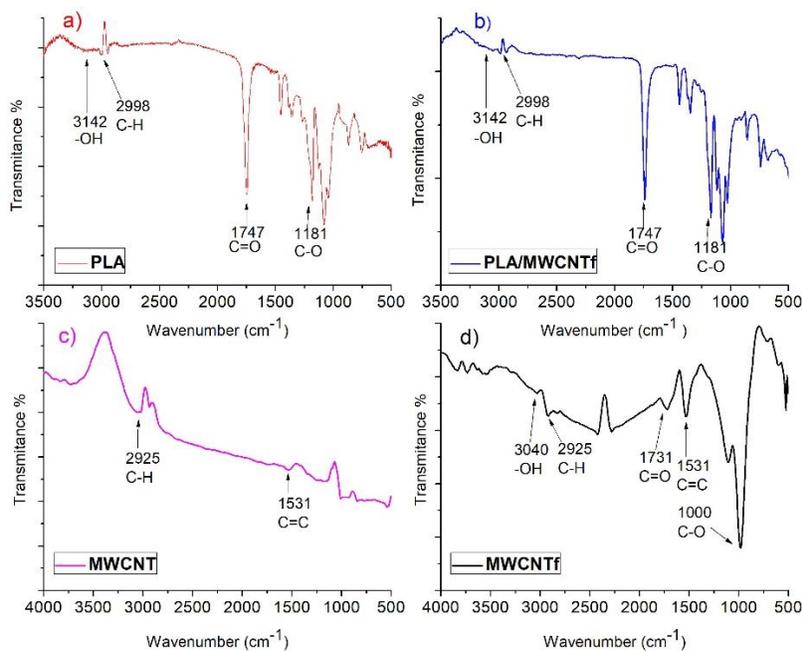
## 4. RESULTADOS

A continuación, se discutirán los resultados obtenidos en este proyecto iniciando con los que se obtuvieron por medio de técnicas de caracterización. Posteriormente, los resultados obtenidos a partir de técnicas de moldeo y manufactura aditiva de los materiales PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub> y, finalmente, la fabricación de la pieza médica (tornillo de osteosíntesis). Los materiales utilizados (PLA, MWCNT, MWCNT<sub>f</sub>, PLA/MWCNT<sub>f</sub>) fueron estudiados mediante las siguientes técnicas de caracterización: espectroscopía infrarroja (FTIR), espectroscopía Raman, dispersión de luz dinámica (DLS), análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC), ensayos mecánicos de tracción, microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía de fuerza atómica (AFM) y ensayos de biocompatibilidad (hemólisis). Además de las discusiones realizadas a los resultados de las caracterizaciones, se discuten los resultados obtenidos en las técnicas de moldeo y de manufactura aditiva (impresión 3D).

### 4.1 Espectroscopía FTIR

La espectroscopía Infrarroja se llevó a cabo en un equipo Shimadzu IR Spirit el cual permitió determinar la naturaleza química de los materiales utilizados y sintetizados. Por medio de esta técnica se comprobó la presencia de grupos funcionales característicos del Ácido Poliláctico y enlaces carbono-carbono en la estructura de los nanotubos. De igual manera, se identificaron los grupos funcionales presentes en el nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub>. Se confirmó que el Ácido Poliláctico posee en su estructura química grupos carboxilos (COOH), hidroxilos (OH) y ésteres (COO). En la Figura 51, el espectro a) muestra el espectro infrarrojo del PLA utilizado, los grupos carbonilo (C=O) correspondientes a los ácidos carboxílicos presentes en la estructura se localizan en el valor de 1747 cm<sup>-1</sup>, los enlaces C-O corresponden a los grupos éster presentes en la cadena del polímero mencionado y se ubican en 1181 cm<sup>-1</sup>. Adicionalmente, el grupo hidroxilo de los ácidos carboxílicos se localiza en 3142 cm<sup>-1</sup>, mientras que los enlace C-H pertenecientes al grupo metilo de la estructura del PLA se ubica en 2998 cm<sup>-1</sup>.

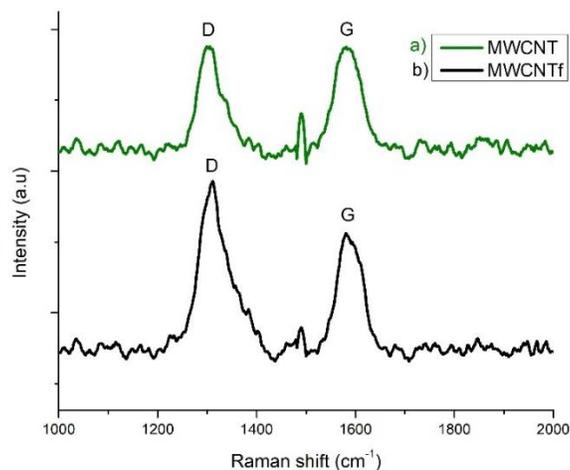
El espectro de los nanotubos de carbono prístinos sintetizados (MWCNT) se ubica en el cuadrante c). Los enlaces C=C  $sp^2$  de la estructura carbonácea de los nanotubos se localizan en  $1531\text{ cm}^{-1}$  y en  $2925\text{ cm}^{-1}$  se detectaron enlaces C-H. El cuadrante d) nos presenta el espectro de los nanotubos funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>) en donde fueron sometidos a un tratamiento oxidativo para incorporar ácidos carboxílicos sobre su estructura. Los enlaces C=C  $sp^2$  y C-H pertenecientes a la estructura del nanotubo se localizan al igual que los MWCNT, en  $1531\text{ cm}^{-1}$  y  $2925\text{ cm}^{-1}$  respectivamente. Por otro lado, los grupos carboxilo (C=O) e hidroxilo (OH) correspondientes a los ácidos carboxílicos añadidos se detectaron ligeramente en  $1731\text{ cm}^{-1}$  y  $3040\text{ cm}^{-1}$  respectivamente. De esta manera, se obtiene el espectro b), es decir, el espectro del nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub>. Este último, posee una similitud al espectro del PLA debido a que la proporción de nanotubos añadidos a la matriz es bastante pequeña (0.5 wt%), lo que vuelve casi imperceptible la detección de los MWCNT dentro del PLA por parte del equipo FTIR.



**Figura 51.** Espectros FTIR de a) PLA, b) PLA/MWCNT<sub>f</sub>, c) MWCNT y d) MWCNT<sub>f</sub>.

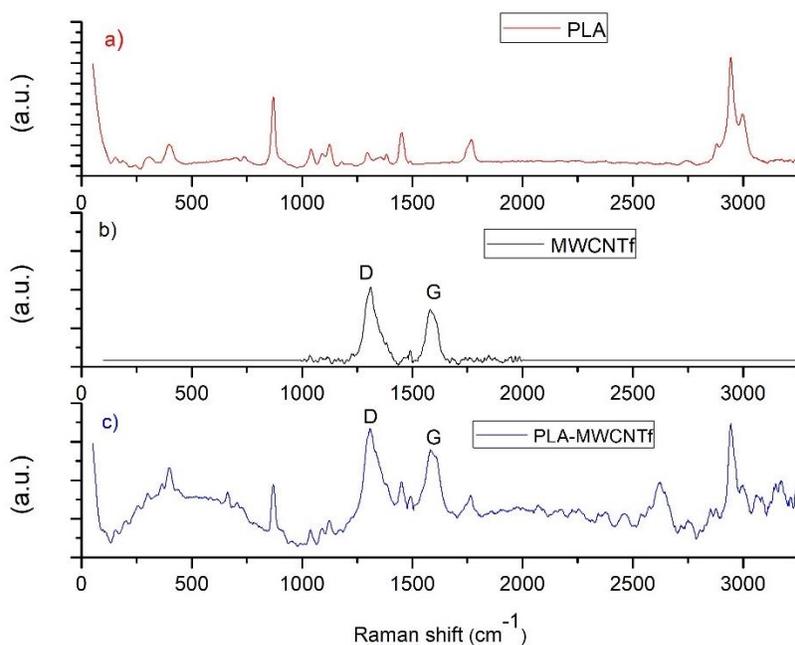
## 4.2 Espectroscopía RAMAN

La espectroscopía Raman fue llevada a cabo en un equipo Thermo Scientific DXR Smart Raman para el estudio de los materiales utilizados, el ácido poliláctico (PLA), nanotubos de carbono de pared múltiple prístinos (MWCNT) y funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>), así como el nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub>. Este tipo de técnica de caracterización genera un espectro característico para cada material debido al arreglo en las estructuras atómicas de cada uno de ellos. En el caso de los nanotubos de carbono, estos presentan dos bandas características muy conocidas, la banda D y la G, cada una de ellas se localiza en un valor de 1300 cm<sup>-1</sup> y 1600 cm<sup>-1</sup> respectivamente. En cuanto a la banda D, recibe este nombre del inglés “desorden”, mientras que la banda G se relaciona con el grado de “grafitización”. La relación de amplitudes entre la banda D y G (D/G) nos da un indicio del nivel de defectos y desorden presente en los nanotubos, cuando ambas bandas presentan amplitudes similares el nivel de defectos será mayor, mientras que, al haber amplitudes distintas, el nivel de desorden será menor. En la Figura 52 se muestran dos espectros Raman correspondientes a los nanotubos de carbono prístinos (a) y funcionalizados (b). En el espectro a) las amplitudes de la banda D y G son similares mientras que en el espectro b) la banda D posee una amplitud mayor a la G. De esta manera, se deduce que los nanotubos de carbono prístinos (sin funcionalizar) poseen un grado de desorden y defectos mayor que los que si fueron sometidos al tratamiento oxidativo de funcionalización.



**Figura 52.** Espectros Raman de a) MWCNT y b) MWCNT<sub>f</sub>.

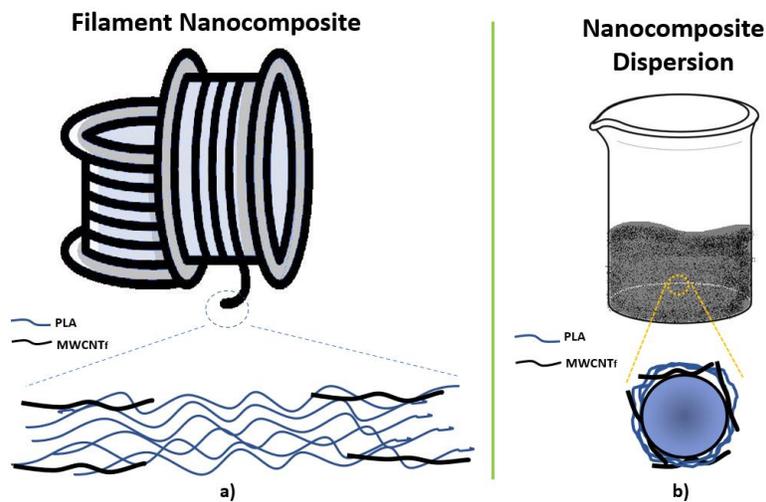
El Ácido Poliláctico (PLA) posee distintos picos característicos en su espectro Raman, la Figura 53 muestra tres espectros en donde el a) corresponde al PLA, el b) a los MWCNT<sub>f</sub> y el c) al nanocomposito sintetizado PLA/MWCNT<sub>f</sub>. Algunos de los picos más sobresalientes del PLA se encuentran aproximadamente a 800 cm<sup>-1</sup>, 1400 cm<sup>-1</sup>, 1750 cm<sup>-1</sup>, 2900 cm<sup>-1</sup>. Por otro lado, el espectro b) nos muestra los picos característicos de los nanotubos funcionalizados, las bandas D y G ubicadas en los valores previamente mencionados. Sin embargo, el comportamiento de un material nanocomposito estudiado bajo la espectroscopía Raman es bastante particular, su espectro será la suma de los espectros de los materiales que lo conforman (matriz y nanorefuerto). De esta manera el nanocomposito de PLA/MWCNT<sub>f</sub> desarrollado en este proyecto manifestó el comportamiento mencionado. El espectro c) PLA/MWCNT<sub>f</sub> es la suma del espectro a) PLA y del b) MWCNT<sub>f</sub>, no obstante, se registra un nuevo pico aproximadamente en 2650 cm<sup>-1</sup>. Este último pico generado se propone que corresponde a la interacción generada entre las cadenas poliméricas del PLA con la estructura de los MWCNT<sub>f</sub>.



**Figura 53.** Espectros Raman de a) PLA, b) MWCNT<sub>f</sub>, c) PLA-MWCNT<sub>f</sub>.

### 4.3 Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

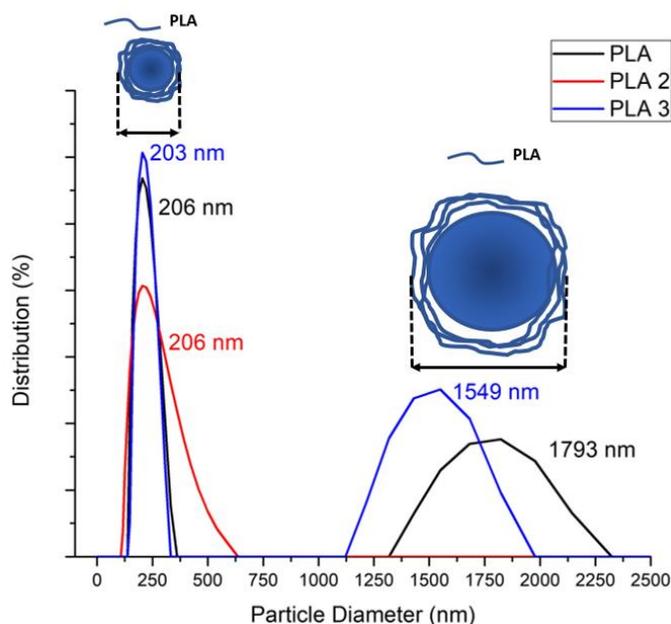
El material nanocomposito desarrollado en el presente proyecto fue a partir del método mezclado en solución o “solution blending”. En este tipo de técnica los materiales a utilizar deben encontrarse dispersos en un solvente, siendo en el caso del presente proyecto dispersiones en cloroformo. Cuando un material se encuentra en dispersión en un solvente, las moléculas del material estarán agrupadas de manera que formen distintas poblaciones con alguna de sus dimensiones dentro o cercanas a la nanoescala (0 a 100 nm). El filamento de nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> en estado sólido se estima que sus cadenas poliméricas de PLA se encuentren estiradas y, similarmente, los nanotubos de carbono (MWCNT<sub>f</sub>) estarán de la misma manera formando interacciones con las cadenas de PLA. Por otro lado, el PLA/MWCNT<sub>f</sub> en su forma dispersa, las cadenas poliméricas juntos con los nanotubos de carbono presentan una tendencia hacia la formación de complejos con morfología semi esférica. La Figura 54 muestra una representación gráfica de la manera en que se propone que se encuentra el nanocomposito en estado sólido y en dispersión.



**Figura 54.** Representación gráfica del PLA/MWCNT<sub>f</sub> en estado sólido a) y en dispersión b).

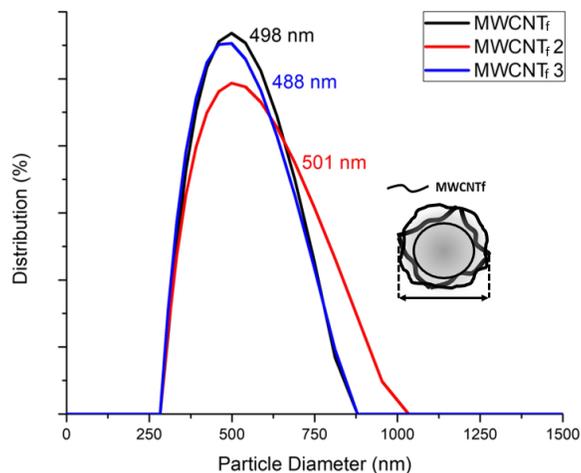
Las dispersiones en cloroformo de ácido poliláctico (PLA), nanotubos de carbono funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>) y nanocomposito (PLA/MWCNT<sub>f</sub>) fueron estudiados mediante la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) con apoyo de un equipo Anton Paar Particle Analyzer Litesizer 500 DLS.

Para poder realizar estas mediciones se prepararon tres dispersiones de cada uno de los tres materiales (PLA, MWCNT<sub>f</sub>, PLA/MWCNT<sub>f</sub>) a una concentración de 0.01 % en cloroformo. Las dispersiones de PLA manifestaron un comportamiento polidisperso, es decir, se detectaron dos grupos poblacionales (crestas) con diferentes tamaños de partícula en cada una de las muestras. El primer grupo de distribuciones registró un tamaño de partícula de 203 nm y 206 nm, mientras que el segundo grupo fue entre 1549 nm y 1793 nm como se muestra en la Figura 55.



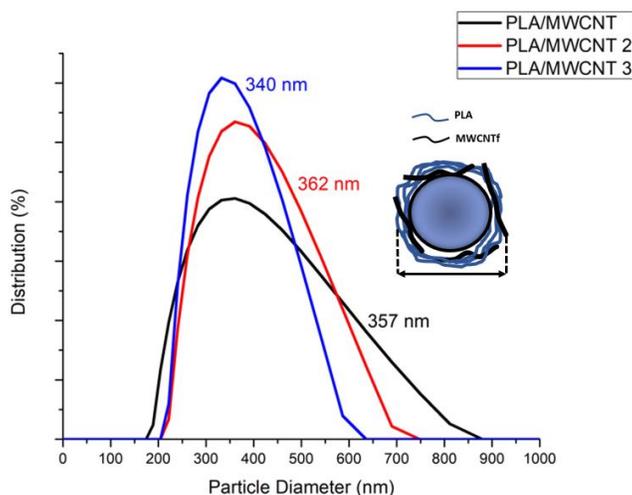
**Figura 55.** DLS de tres dispersiones iguales de PLA en cloroformo.

Las tres dispersiones de nanotubos de carbono funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>) realizadas en cloroformo presentaron un solo grupo de amplitudes las cuales registraron los siguientes tamaños de partícula: 488 nm, 498 nm y 501 nm. Estos valores, al ser mayores que el primer grupo de amplitudes del PLA de la Figura 55, manifiesta que los MWCNT<sub>f</sub> tienden a formar complejos de mayor tamaño que las primeras amplitudes del PLA, pero menores a las segundas. De esta manera, la Figura 56 muestra los gráficos obtenidos para cada una de las muestras de nanotubos en dispersión.

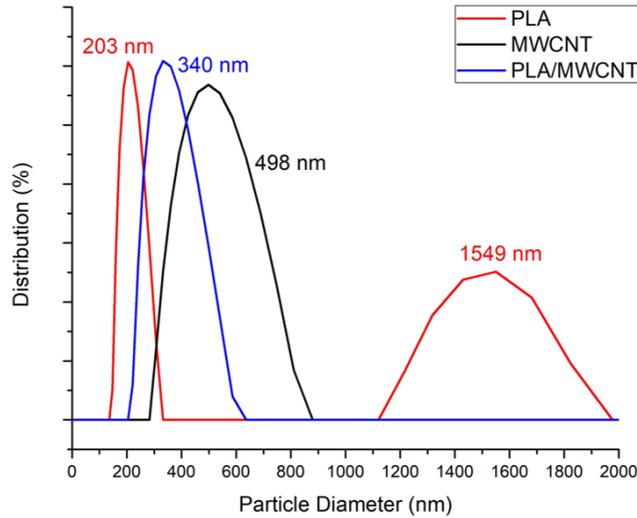


**Figura 56.** DLS de tres dispersiones iguales de MWCNT<sub>f</sub> en cloroformo.

Por otro lado, el nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> presentó un solo grupo de distribuciones con valores incluso menores a la dispersión de nanotubos de carbono, pero mayores al primer grupo de distribuciones del PLA. Los valores registrados del nanocomposito fueron 340 nm, 357 nm y 362 nm. Debido a este comportamiento de tamaños de amplitudes, se propone que los MWCNT<sub>f</sub> en dispersión interactúan con el primer grupo de distribuciones del PLA disperso para dar formación a la dispersión nanocompuesta de PLA/MWCNT<sub>f</sub> mostrada en la Figura 57. Adicionalmente, la Figura 58 exhibe la comparación entre las distribuciones de una muestra de cada una de las dispersiones realizadas (PLA, MWCNT<sub>f</sub> y PLA/MWCNT<sub>f</sub>), mientras que la Tabla 3 muestra la media de las distribuciones de tamaños de partícula, así como sus respectivos diámetros hidrodinámicos e índices de polidispersidad.



**Figura 57.** DLS de tres dispersiones iguales de PLA/MWCNT<sub>f</sub> en cloroformo.



**Figura 58.** DLS de los tres materiales utilizados.

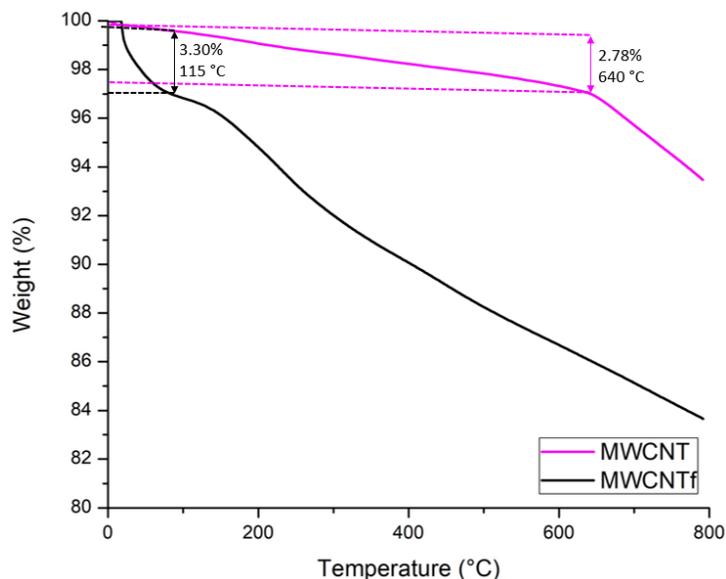
Material	Particle diameter (nm)	Hydrodynamic diameter	Polydispersity index (%)
PLA	205	422.42	22
MWCNT <sub>f</sub>	49	533.06	1
PLA/MWCNT <sub>f</sub>	353	460.95	21

**Tabla 3.** Medias de las distintas mediciones de DLS de los tres materiales empleados.

#### 4.4 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA) realizado en el presente proyecto se llevó a cabo en un equipo TA Instruments SDT 2960, las muestras de nanotubos de carbono prístinos (MWCNT) y funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>) fueron analizadas bajo una atmósfera inerte de Nitrógeno, mientras que, los materiales de PLA y nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> se estudiaron bajo una atmósfera de aire. La Figura 59 muestra el termograma registrado de los MWCNT en color violeta y los MWCNT<sub>f</sub> en color negro, estos últimos manifestaron una pronta pérdida de peso de aproximadamente 3.30 % a partir de los 115 °C, este comportamiento se le atribuye a los grupos funcionales adicionados a la estructura del nanotubo. La pérdida de peso total que experimentaron los MWCNT<sub>f</sub> fue de 16 % a 800 °C (temperatura final del análisis). Por otro lado, los MWCNT registraron su primera

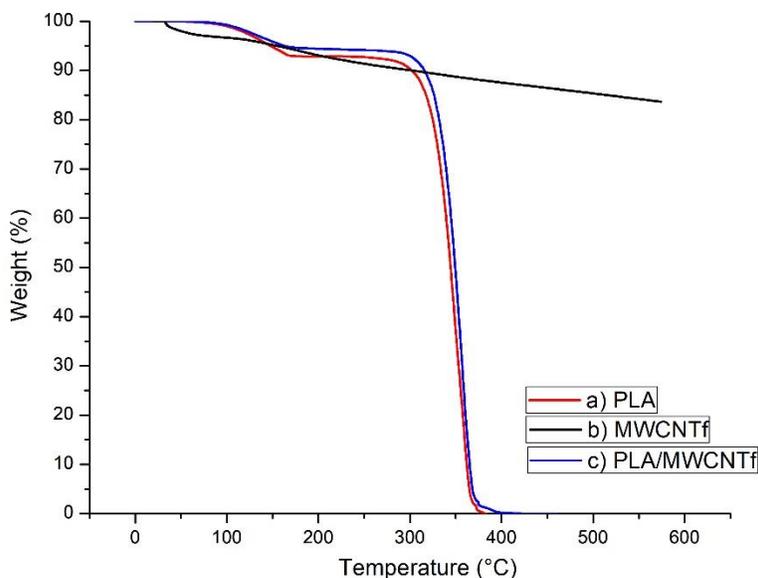
disminución de peso de 2.78 % a partir de los 640 °C, esta alta estabilidad térmica observada se atribuye a que las estructuras de los nanotubos no se encuentran modificadas ni presentan grupos funcionales adheridos. Estos MWCNT manifestaron una pérdida de peso total de aproximadamente 6 % a 800 °C.



**Figura 59.** Termograma TGA de MWCNT y MWCNT<sub>f</sub>.

Las muestras analizadas de PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub> presentaron una estabilidad térmica similar entre ambas muestras, sin embargo, el nanocomposito obtuvo un ligero incremento en su estabilidad a comparación de la matriz polimérica sola. La Figura 60 muestra el termograma del PLA en color azul, los nanotubos de carbono funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>) en color negro y el nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> en color azul. La muestra de PLA registró una pérdida del 10 % y 25 % de su masa a partir de los 302 °C y 329.75 °C respectivamente, mientras que el PLA/MWCNT<sub>f</sub> esas mismas pérdidas la manifestó a los 315.5 °C y 336.04 °C respectivamente. Este incremento en la estabilidad térmica del nanocomposito se atribuye a la incorporación de los MWCNT<sub>f</sub> dentro de la matriz polimérica lo cual permite ampliar el campo de aplicación de este tipo de biomateriales. Sin embargo, este nanocomposito al ser propuesto para aplicaciones en implantes ortopédicos, la temperatura a la que se encontrará desempeñando su función será a 37 °C (temperatura corporal), es decir, una temperatura en la cual no hay registro de pérdida de masa. La Tabla 4 muestra detalladamente la temperatura

específica a la que ambos materiales (PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub>) registraron el 10%, 25%, 50% y 75% de pérdida de sus masas.



**Figura 60.** Termogramas TGA de a) PLA, b) MWCNT<sub>f</sub> y c) PLA/MWCNT<sub>f</sub>.

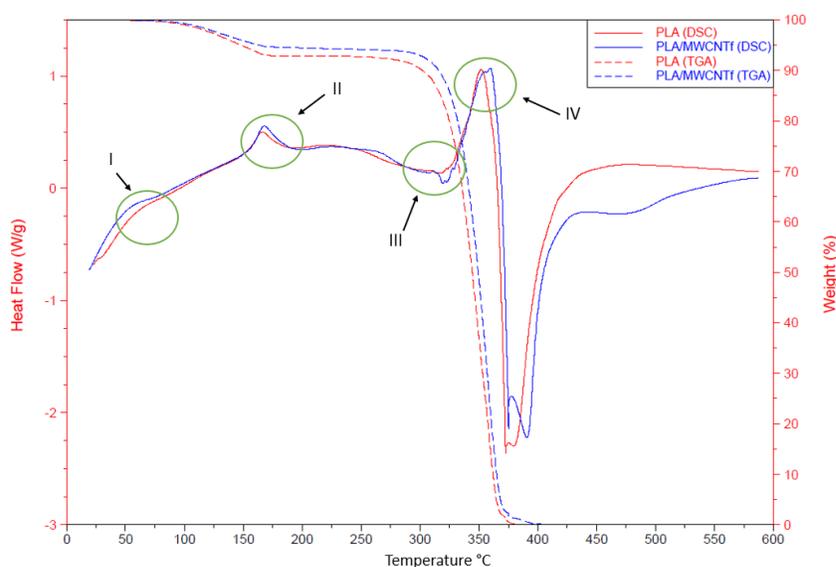
Sample	T <sub>10%</sub> weight loss (°C)	T <sub>25%</sub> weight loss (°C)	T <sub>50%</sub> weight loss (°C)	T <sub>75%</sub> weight loss (°C)
PLA	302	329.75	344.36	355.44
PLA/MWCNT <sub>f</sub>	315.5	336.04	349.34	358.84

**Tabla 4.** Pérdidas de masa del PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub>.

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

Las mediciones de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se llevaron a cabo simultáneamente en el mismo equipo del análisis termogravimétrico, un TA Instruments SDT 2960. Tanto la muestra de ácido poliláctico (PLA) como la del nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> presentaron un comportamiento similar en la transferencia de calor suministrado. La Figura 61 muestra los termogramas DSC (líneas continuas) junto con los termogramas TGA (líneas discontinuas) de los materiales PLA (gráficos rojos) y PLA/MWCNT<sub>f</sub> (gráficos azules) para una mejor interpretación y asociación de fenómenos

térmicos que ocurridos entre ambas técnicas. La primera discontinuidad en el termograma es observada en la porción (I) que corresponde a la temperatura transición vítrea ( $T_g$ ) en donde el material experimenta un cambio de estado rígido (vítreo) a un estado blando (gomoso). El ácido poliláctico (PLA) registró su  $T_g$  a una temperatura de 55 °C mientras que en el caso del nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> fue aproximadamente a 60 °C. La porción (II) del termograma DSC muestra la fase correspondiente a la temperatura de fusión ( $T_m$ ), es decir, el material pasa del estado sólido al estado líquido. El PLA presentó su  $T_m$  a 165 °C, sin embargo, la temperatura de fusión del PLA/MWCNT<sub>f</sub> fue de 168 °C. En la región (III) se observa un descenso en la continuidad de los termogramas que corresponde a un fenómeno endotérmico presente en los materiales, la temperatura de cristalización ( $T_c$ ). Esta temperatura ( $T_c$ ) se asocia a reacciones químicas de descomposición y/o disociación que ocurre en el material y, a su vez, este tiende a manifestar un cierto grado de ordenamiento en su estructura cristalina. Se registró la  $T_c$  del PLA a 321 °C mientras que, en el caso del PLA/MWCNT<sub>f</sub> fue a 325 °C. Por último, la sección (IV) del termograma está asociada a un fenómeno exotérmico e irreversible en los materiales, la temperatura de descomposición ( $T_d$ ). Este valor de temperatura en el DSC coincide con el valor de temperatura del TGA en donde el material ha perdido el total de su masa. La temperatura de descomposición ( $T_d$ ) del PLA fue a 352 °C y la del PLA/MWCNT<sub>f</sub> a 360 °C. La Tabla 5 muestra las temperaturas de relevancia obtenidas en la calorimetría diferencial de barrido.



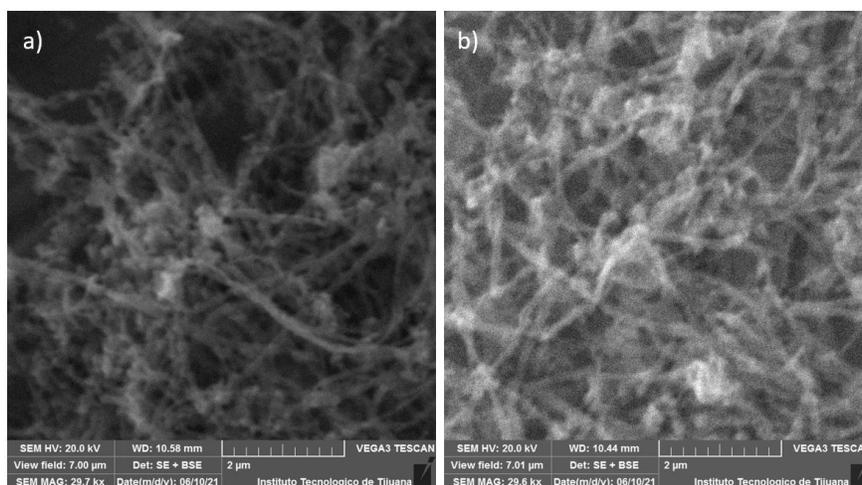
**Figura 61.** Termogramas DSC de PLA (rojo) y PLA/MWCNT<sub>f</sub> (azul).

Sample	$T_g$ (°C)	$T_m$ (°C)	$T_c$ (°C)	$T_d$ (°C)
PLA	55	165	321	352
PLA/MWCNT <sub>f</sub>	60	168	325	360

**Tabla 5.** Temperaturas registradas en el termograma DSC.

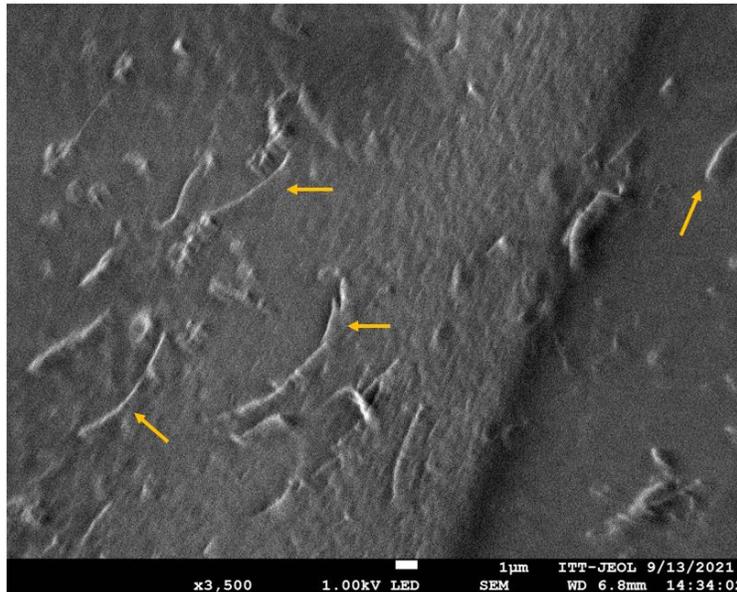
#### 4.7 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Los materiales utilizados en el presente proyecto fueron estudiados bajo la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) con apoyo de dos microscopios SEM, un TESCAN VEGA 3 y un JEOL JSM-7800F. Mediante el primer microscopio mencionado se obtuvieron micrografías de los nanotubos de carbono prístinos (MWCNT) y funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>). En la Figura 62 se muestra del lado izquierdo la imagen adquirida de los MWCNT y del lado derecho los MWCNT<sub>f</sub>. Estos últimos exhiben un menor grado de desorden y aglomeración a comparación de los nanotubos prístinos. Este último comportamiento es atribuido al tratamiento de funcionalización al que fueron sometidos ya que además de añadirles grupos funcionales, se removieron residuos provenientes del proceso de síntesis evitando de esta manera la aglomeración de los nanotubos. Con apoyo de ImageJ, un software “open source” para procesamiento digital de imágenes, se calculó el diámetro de los MWCNT<sub>f</sub>, obteniendo como resultado un rango de 28-60 nm y, un diámetro promedio de 48 nm.



**Figura 62.** Micrografías SEM de a) MWCNT y b) MWCNT<sub>f</sub>.

De manera similar, utilizando el microscopio JEOL se obtuvieron imágenes del nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> como la mostrada en la Figura 63. Gracias a esta micrografía se pudo comprender visualmente la manera en que se encuentran incorporados los nanotubos de carbono funcionalizados (MWCNT<sub>f</sub>) dentro de la matriz polimérica de ácido poliláctico (PLA). Algunos de los nanotubos embebidos en la matriz son resaltados en la micrografía mediante flechas amarillas.

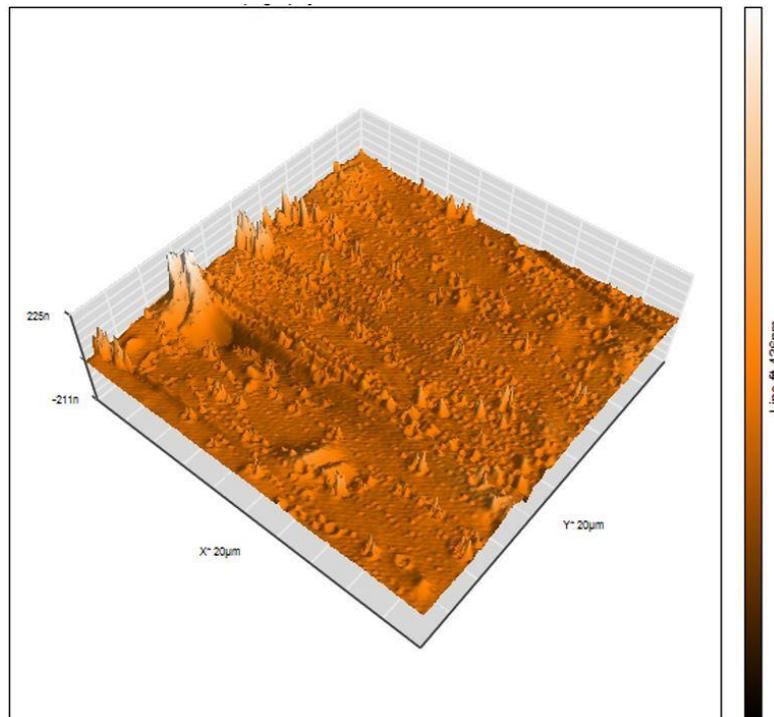


**Figura 63.** Micrografía SEM del PLA/MWCNT<sub>f</sub>.

#### **4.8 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)**

La microscopía de fuerza atómica (AFM) fue otra técnica microscópica adicional desempeñada en este proyecto. Por medio de un equipo Nanosurf Easy Scan se analizó el nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> permitiendo determinar la manera en que se constituye topológicamente la superficie del material. Se lograron observar pequeñas protuberancias semicirculares sobre la mayor parte del área examinada, mediante ImageJ se examinó y calculó las dimensiones de las protuberancias detectadas obteniendo como resultado un diámetro promedio de 57.16 nm, el cual se encuentra dentro del rango del diámetro de los MWCNT<sub>f</sub> calculado en la micrografía SEM. De esta manera, se estima que las pequeñas mesetas detectadas en la superficie del nanocomposito mediante la micrografía AFM son

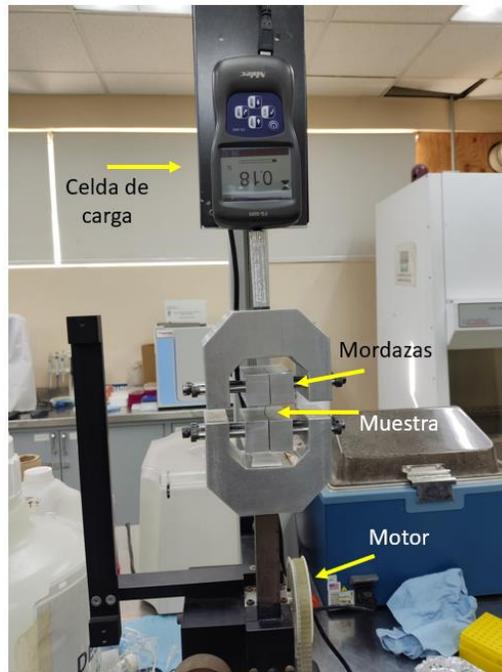
provocadas por la incorporación de los nanotubos de carbono con la matriz polimérica y, se pueden apreciar en la Figura 64.



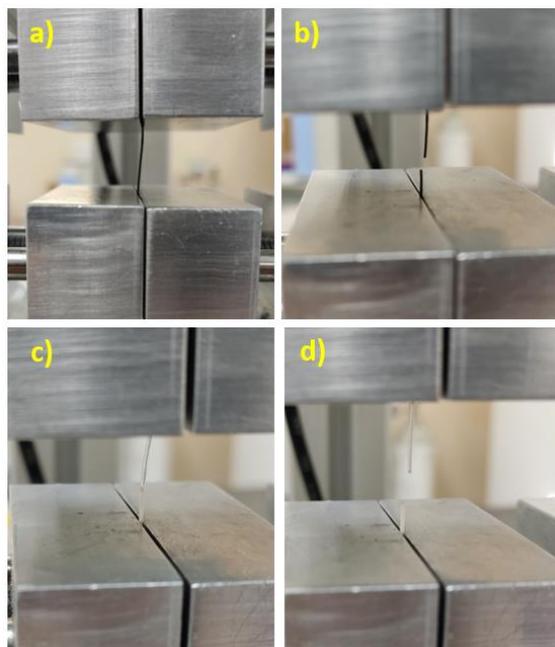
**Figura 64.** Micrografía AFM del nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub>.

#### 4.9 Ensayos Mecánicos de Tracción

El comportamiento mecánico de los materiales desarrollados y utilizados en el presente proyecto se realizó mediante un banco de prueba para ensayos de tracción mostrado en la Figura 65, el cual cuenta con una celda de carga Nidec FG-3005. Se prepararon tres muestras de filamento de los materiales PLA y del nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> de 5 cm de longitud y 0.60 mm de diámetro. En la Figura 66 se muestran los filamentos de material a los que se les aplicó una carga axial, la sección a) corresponde a la muestra de PLA/MWCNT<sub>f</sub> antes del ensayo mientras que la b) después de haber aplicado la carga hasta alcanzar su fractura. Similarmente, la sección c) de la misma figura muestra el filamento de PLA previamente al esfuerzo mecánico y la d) una vez alcanzado el punto de fractura debido a la carga axial aplicada.

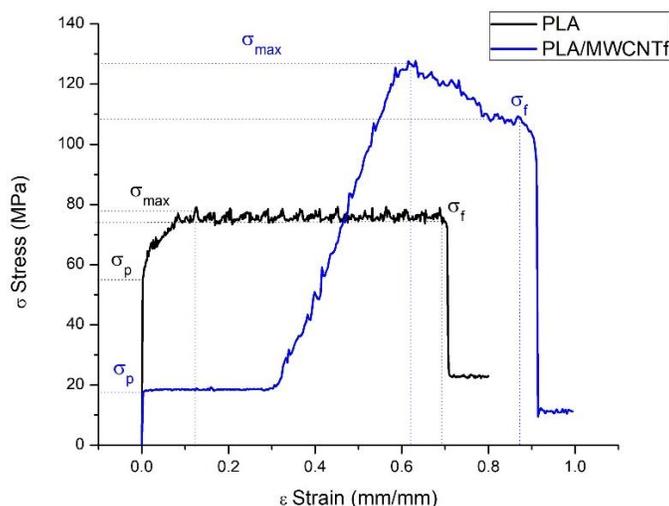


**Figura 65.** Banco de prueba de ensayos de tracción.



**Figura 66.** Filamento de PLA/MWCNT<sub>f</sub> sometido a carga axial antes (a) y después (b) de alcanzar la ruptura respectivamente. Filamento de PLA sometido a carga axial antes (c) y después (d) de alcanzar la ruptura respectivamente.

Los datos adquiridos por la celda de carga y su software durante el ensayo de tracción fueron procesados para generar los gráficos esfuerzo-deformación de los materiales analizados. El comportamiento mecánico entre el PLA y el nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub>, es decir sus gráficos esfuerzo-deformación se muestran en la Figura 67 en donde el PLA se muestra de color negro y el PLA/MWCNT<sub>f</sub> de color azul. El filamento de ácido poliláctico (PLA) presentó su límite elástico ( $\sigma_p$ ) a un valor de esfuerzo de 54.58 MPa y una deformación de 0.0030 mm/mm, el esfuerzo máximo ( $\sigma_{max}$ ) a 77.54 MPa y una deformación de 0.1229 mm/mm y un esfuerzo de ruptura ( $\sigma_f$ ) a 74.76 MPa con una deformación de 0.6831 mm/mm. Por otro lado, el nanocomposito registró un límite elástico ( $\sigma_p$ ) de 17.37 MPa a una deformación de 0.0024 mm/mm, su esfuerzo máximo ( $\sigma_{max}$ ) fue a 126.58 MPa con una deformación de 0.6117 mm/mm y, el valor obtenido de su esfuerzo de ruptura ( $\sigma_f$ ) se registró a 108.80 MPa con una deformación de 0.8643. Como se puede apreciar, el PLA/MWCNT<sub>f</sub> obtuvo un menor valor de límite elástico ( $\sigma_p$ ) que el PLA, sin embargo, el esfuerzo máximo ( $\sigma_{max}$ ) del nanocomposito fue de 126.58 MPa, un 61% mayor que el del polímero solo. El PLA/MWCNT<sub>f</sub> al estar constituido por dos fases (PLA y MWCNT<sub>f</sub>) presentó un diagrama de esfuerzos bastante novedoso, se observan dos zonas de esfuerzos de cedencia, al comienzo de  $\sigma_p$  y  $\sigma_{max}$ . Este último comportamiento es atribuido a la incorporación de los nanotubos de carbono dentro de la matriz polimérica permitiendo de esta manera distribuir de una mejor manera las cargas axiales aplicadas. Adicionalmente, la Tabla 6 muestra los valores de esfuerzo de deformación previamente mencionados.



**Figura 67.** Gráficos esfuerzo-deformación del PLA (negro) y el PLA/MWCNT<sub>f</sub> (azul).

Material	$\sigma_p$ (Mpa)	$\epsilon$ (mm/mm)	$\sigma_{max}$ (Mpa)	$\epsilon$ (mm/mm)	$\sigma_f$ (Mpa)	$\epsilon$ (mm/mm)
PLA	54.58	0.0030	77.54	0.1229	74.76	0.6831
PLA/MWCNT <sub>f</sub>	17.37	0.0024	126.58	0.6117	108.80	0.8643

**Tabla 6.** Valor de esfuerzo deformación del PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub>.

#### 4.10 Ensayos de Biocompatibilidad (Hemólisis)

En el presente proyecto la biocompatibilidad de los materiales desarrollados se evaluó mediante el ensayo de hemólisis basado en la normativa internacional ASTM F756-13 la cual determina el grado de viabilidad celular que presenta un biomaterial analizado mediante el índice hemolítico. Las mediciones de absorbancia de las muestras se realizaron con apoyo de un espectrofotómetro SHIMADZU UV 2700. La Tabla 7 muestra las mediciones de absorbancia registradas en cada una de las muestras tras haber transcurrido el tiempo indicado del ensayo en donde la muestra blanco se denominó como “Sangre”, la del tornillo de PLA como “TP” y, por último, el tornillo nanocomposito de PLA/MWCNT<sub>f</sub> como “TPN”. Por otro lado, la Tabla 8 desglosa el cálculo realizado para determinar el índice hemolítico o porcentaje de hemólisis de cada uno de los materiales mediante las ecuaciones 6, 7, 8, 9 y 10. Conforme a los resultados obtenidos y a la norma ASTM F756-13, la muestra blanco “Sangre” registró un índice hemolítico de 0.799 %, la del tornillo PLA obtuvo un valor de 2.1835 % y, el tornillo de PLA/MWCNT<sub>f</sub> fue de 2.0976 %. Estos valores al ser menores a 5% y muy cercanos a 2% son considerados como porcentajes hemolíticos aceptables para un biomaterial.<sup>22</sup>

	Sangre	TP	TPN
<b>Muestra 1</b>	0.911	0.897	0.888
<b>Muestra 2</b>	0.923	0.879	0.851
<b>Muestra 3</b>	0.911	0.851	0.848
<b>Promedio (A<sup>B</sup>, A<sup>S</sup>, A<sup>S</sup>)</b>	0.917	0.87566667	0.86233333
<b>Desv.</b>	0.00848528	0.02318045	0.02227854
<b>Coficiente (F)</b>	0.92533058	2.64717756	2.58351833

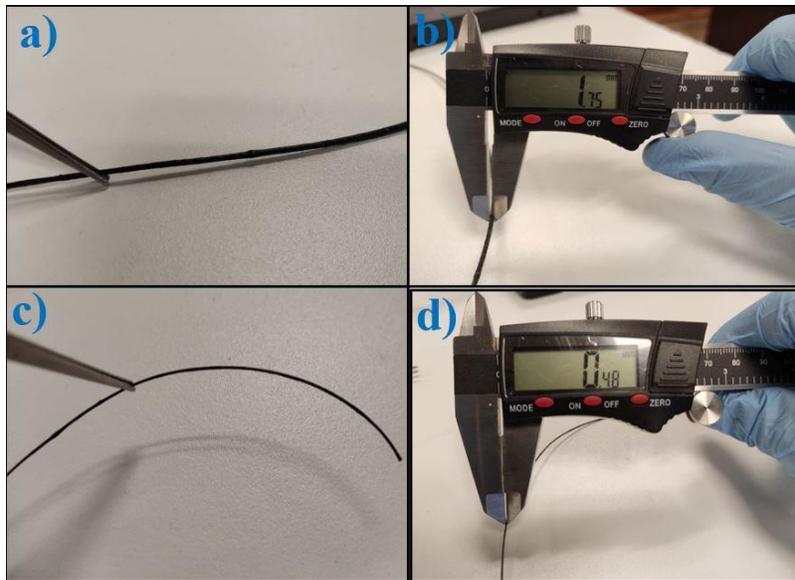
**Tabla 7.** Valores de las muestras analizadas tras concluir el ensayo de hemólisis.

	<b>Sangre</b>	<b>TP (PLA)</b>	<b>TPN (PLA/MWCNT<sub>f</sub>)</b>
<b>F</b>	0.92533058	2.64717756	2.58351833
<b>A<sup>B</sup></b>	0.917		
<b>A<sup>S</sup></b>		0.87566667	0.86233333
<b>B</b>	= (A <sup>B</sup> )(F)(2) = (0.917)(0.9253)(2) B = 1.6970		
<b>S</b>		= (A <sup>S</sup> )(F)(2) = (0.8756)(2.6471)(2) S = 4.6356	= (A <sup>S</sup> )(F)(2) = (0.8623)(2.5823)(2) S = 4.4534
<b>PFH</b>	= (A <sup>B</sup> )(F)(2) = (0.917)(0.9253)(2) PFH = 1.6970		
<b>C</b>	= (A <sup>B</sup> )(F)(251) = (0.917)(0.9253)(251) C = 212.973		
<b>%hemo</b>	= $\frac{\text{concentración Hb supernadante (B)}}{\text{concentración total Hb (C)}} \times 100$  = $\frac{B}{C} \times 100 = \frac{1.6970}{212.973} \times 100$  <b>%hemólisis = 0.799</b>	= $\frac{\text{concentración Hb supernadante (S)}}{\text{concentración total Hb (C)}} \times 100$  = $\frac{S}{C} \times 100 = \frac{4.6356}{212.973} \times 100$  <b>%hemólisis = 2.1835</b>	= $\frac{\text{concentración Hb supernadante (S)}}{\text{concentración total Hb (C)}} \times 100$  = $\frac{S}{C} \times 100 = \frac{4.4534}{212.973} \times 100$  <b>%hemólisis = 2.0976</b>

**Tabla 8.** Cálculo del índice o porcentaje hemolítico de las muestras.

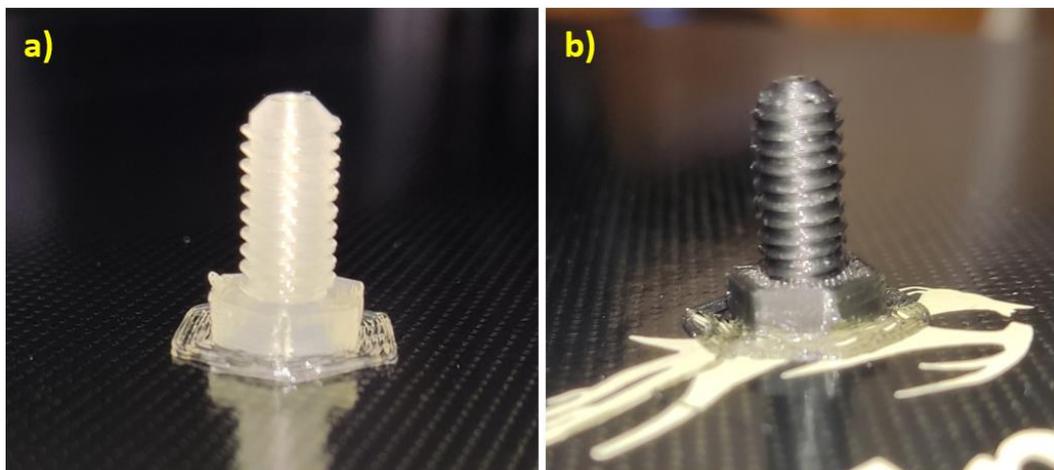
### 4.11 Moldeo e Impresión 3D

El producto obtenido mediante el proceso de extrusión fueron filamentos de nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> de distintos diámetros, siendo el de 1.75 mm el de mayor importancia por su compatibilidad con el equipo de impresión 3D. Una vez producido el filamento del diámetro indicado para el equipo de manufactura aditiva, se ingresó dentro de este para confirmar que pueda ser fundido y transportado a través de la boquilla de 0.4 mm del extrusor o “hot end”. La Figura 68 muestra en las secciones a) y b) el filamento de 1.75 mm obtenido tras el proceso de extrusión mientras que en las secciones c) y d) se exhibe el filamento de 0.48 mm resultante del proceso de impresión 3D.

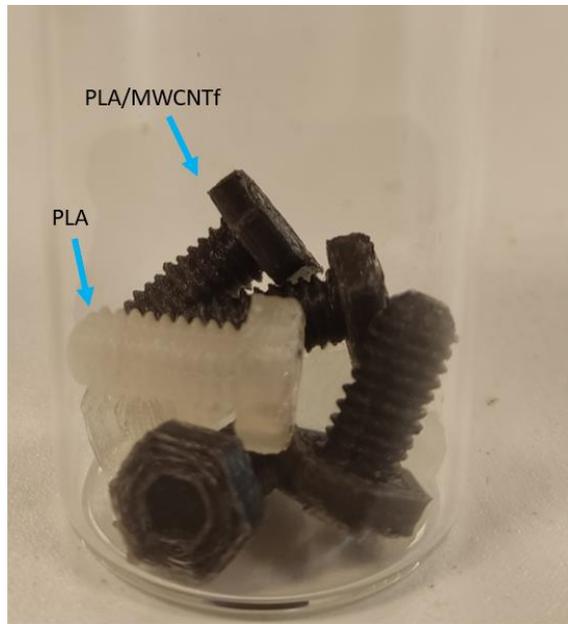


**Figura 68.** Filamentos de PLA/MWCNT<sub>f</sub> de 1.75 mm y 0.48 mm.

Por otra parte, los resultados obtenidos del proceso de impresión 3D fueron tornillos de osteosíntesis impresos en PLA y en el nanocomposito PLA/MWCNT<sub>f</sub> de 6 mm diámetro, un paso de 1 mm, longitud de 10 mm y una cabeza hexagonal de 9 mm. En la Figura 69 se muestra del lado izquierdo el tornillo impreso únicamente en PLA y del lado derecho impreso en PLA/MWCNT<sub>f</sub>. La Figura 70 presenta todos los tornillos impresos en ambos materiales, siendo un total de 4 tornillos impresos en cada uno de los materiales.



**Figura 69.** Tornillos impresos en PLA a) y en PLA/MWCNT<sub>f</sub> b).



**Figura 70.** Total de tornillos impresos en PLA y PLA/MWCNT<sub>f</sub>.

## 5. Conclusiones

- El mezclado en solución resultó una técnica exitosa para el desarrollo de un nanocomposito de matriz polimérica con nanoestructuras de carbono.
- Mediante una proporción de 0.5 % wt de MWCNT<sub>f</sub> con respecto al PLA, se obtuvo un nanocomposito que pudo ser moldeado exitosamente mediante trituración, extrusión e impresión 3D.
- Por medio del análisis termogravimétrico (TGA) el PLA/MWCNT<sub>f</sub> se demostró una mayor estabilidad térmica con respecto al PLA. La técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) permitió comprender la manera en que interactúan los componentes del nanocomposito en dispersión. Asimismo, las microscopías SEM y AFM confirmaron visualmente la incorporación de los MWCNT<sub>f</sub> en la matriz de PLA. El ensayo mecánico de tensión registró un mayor esfuerzo máximo para el PLA/MWCNT<sub>f</sub> a comparación del PLA.
- Utilizando un ensayo de viabilidad celular basado en la norma ASTM F756-13 se demostró que el material desarrollado de PLA/MWCNT<sub>f</sub> registra un mejor porcentaje hemolítico que el PLA, es decir mejor biocompatibilidad.
- A través del software de diseño 3D se logró realizar un diseño propio de un tornillo para osteosíntesis.
- Utilizando el filamento de nanocomposito desarrollado (PLA/MWCNT<sub>f</sub>), se manufacturó satisfactoriamente mediante impresión 3D el tornillo para osteosíntesis diseñado.
- El presente proyecto de tesis logró desarrollarse hasta un nivel 4 dentro de la escala TRL (nivel de madurez tecnológica, por sus siglas en inglés).

## 6. Referencias

- (1) Liu, S.; Wu, G.; Chen, X.; Zhang, X.; Yu, J.; Liu, M.; Zhang, Y.; Wang, P. Degradation Behavior in Vitro of Carbon Nanotubes (CNTs)/Poly(Lactic Acid) (PLA) Composite Suture. *Polymers (Basel)*. **2019**, *11* (6). <https://doi.org/10.3390/polym11061015>.
- (2) Yang, L.; Li, S.; Zhou, X.; Liu, J.; Li, Y.; Yang, M.; Yuan, Q.; Zhang, W. Effects of Carbon Nanotube on the Thermal, Mechanical, and Electrical Properties of PLA/CNT Printed Parts in the FDM Process. *Synth. Met.* **2019**, *253* (December 2018), 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2019.05.008>.
- (3) Gong, M.; Zhao, Q.; Dai, L.; Li, Y.; Jiang, T. Fabrication of Poly(lactic Acid)/Hydroxyapatite/Graphene Oxide Composite and Their Thermal Stability, Hydrophobic and Mechanical Properties. *J. Asian Ceram. Soc.* **2017**, *5* (2), 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.jascer.2017.04.001>.
- (4) Chen, Q.; Mangadlao, J. D.; Wallat, J.; De Leon, A.; Pokorski, J. K.; Advincula, R. C. 3D Printing Biocompatible Polyurethane/Poly(Lactic Acid)/Graphene Oxide Nanocomposites: Anisotropic Properties. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9* (4), 4015–4023. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b11793>.
- (5) Spinelli, G.; Kotsilkova, R.; Ivanov, E.; Petrova-Doycheva, I.; Menseidov, D.; Georgiev, V.; Di Maio, R.; Silvestre, C. Effects of Filament Extrusion, 3D Printing and Hot-Pressing on Electrical and Tensile Properties of Poly(Lactic) Acid Composites Filled with Carbon Nanotubes and Graphene. *Nanomaterials* **2020**, *10* (1). <https://doi.org/10.3390/nano10010035>.
- (6) Spinelli, G.; Lamberti, P.; Tucci, V.; Kotsilkova, R.; Tabakova, S.; Ivanova, R.; Angelova, P.; Angelov, V.; Ivanov, E.; Maio, R. Di; Silvestre, C.; Meisak, D.; Paddubskaya, A.; Kuzhir, P. Morphological, Rheological and Electromagnetic Properties of Nanocarbon/Poly(Lactic) Acid for 3D Printing: Solution Blending vs. Melt Mixing. *Materials (Basel)*. **2018**, *11* (11). <https://doi.org/10.3390/ma11112256>.
- (7) Tappa, K.; Jammalamadaka, U.; Weisman, J. A.; Ballard, D. H.; Wolford, D. D.; Pascual-Garrido, C.; Wolford, L. M.; Woodard, P. K.; Mills, D. K. 3D Printing Custom Bioactive and Absorbable Surgical Screws, Pins, and Bone Plates for Localized Drug Delivery. *J. Funct. Biomater.* **2019**, *10* (2). <https://doi.org/10.3390/jfb10020017>.
- (8) Clark, P.; Lavielle, P.; Franco-Marina, F.; Ramírez, E.; Salmerón, J.; Kanis, J. A.; Cummings, S. R. Incidence Rates and Life-Time Risk of Hip Fractures in Mexicans over 50 Years of Age: A Population-Based Study. *Osteoporos. Int.* **2005**, *16* (12), 2025–2030. <https://doi.org/10.1007/s00198-005-1991-4>.
- (9) Clark, P.; Carlos, F.; Barrera, C.; Guzman, J.; Maetzel, A.; Lavielle, P.; Ramirez, E.; Robinson, V.; Rodriguez-Cabrera, R.; Tamayo, J.; Tugwell, P. Direct Costs of Osteoporosis and Hip Fracture: An Analysis for the Mexican Healthcare System. *Osteoporos. Int.* **2008**, *19* (3), 269–276. <https://doi.org/10.1007/s00198-007-0496-8>.
- (10) Campbell, J. R.; Estey, M. P. Metal Release from Hip Prostheses: Cobalt and Chromium Toxicity and the Role of the Clinical Laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2013**, *51* (1), 213–220. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0492>.
- (11) Green, B.; Griffiths, E.; Almond, S. Neuropsychiatric Symptoms Following Metal-on-Metal Implant Failure with Cobalt and Chromium Toxicity. *BMC Psychiatry* **2017**, *17*

- (1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/s12888-016-1174-1>.
- (12) Leyssens, L.; Vinck, B.; Van Der Straeten, C.; Wuyts, F.; Maes, L. Cobalt Toxicity in Humans—A Review of the Potential Sources and Systemic Health Effects. *Toxicology* **2017**, *387*, 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.05.015>.
- (13) Schaffer, A. W.; Pilger, A.; Engelhardt, C.; Zweymueller, K.; Ruediger, H. W. Increased Blood Cobalt and Chromium after Total Hip Replacement. *J. Toxicol. - Clin. Toxicol.* **1999**, *37* (7), 839–844. <https://doi.org/10.1081/CLT-100102463>.
- (14) Ikeda, T.; Takahashi, K.; Kabata, T.; Sakagoshi, D.; Tomita, K.; Yamada, M. Polyneuropathy Caused by Cobalt-Chromium Metallosis after Total Hip Replacement. *Muscle and Nerve* **2010**, *42* (1), 140–143. <https://doi.org/10.1002/mus.21638>.
- (15) Cheung, A. C.; Banerjee, S.; Cherian, J. J.; Wong, F.; Butany, J.; Gilbert, C.; Overgaard, C.; Syed, K.; Zywiell, M. G.; Jacobs, J. J.; Mont, M. A. Systemic Cobalt Toxicity from Total Hip Arthroplasties. *Bone Jt. J.* **2016**, *98B* (1), 6–13. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.98B1.36374>.
- (16) Scharf, B.; Clement, C. C.; Zolla, V.; Perino, G.; Yan, B.; Elci, S. G.; Purdue, E.; Goldring, S.; MacAluso, F.; Cobelli, N.; Vachet, R. W.; Santambrogio, L. Molecular Analysis of Chromium and Cobalt-Related Toxicity. *Sci. Rep.* **2014**, *4* (1), 5729. <https://doi.org/10.1038/srep05729>.
- (17) Vaicelyte, A.; Janssen, C.; Le Borgne, M.; Grosogeat, B. Cobalt–Chromium Dental Alloys: Metal Exposures, Toxicological Risks, CMR Classification, and EU Regulatory Framework. *Crystals* **2020**, *10* (12), 1151. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/cryst10121151>.
- (18) Apel, W.; Stark, D.; Stark, A.; O’Hagan, S.; Ling, J. Cobalt-Chromium Toxic Retinopathy Case Study. *Doc. Ophthalmol.* **2013**, *126* (1), 69–78. <https://doi.org/10.1007/s10633-012-9356-8>.
- (19) Duffo, G. Biomateriales. In *Materiales y materias primas*; Buenos Aires, 2011.
- (20) Ratner, B. D.; Hoffman, A. S.; Schoen, F. J.; Lemons, J. E. *Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine*, second.; Elsevier: San Diego.
- (21) Mosmann, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65* (1–2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- (22) ASTM. *ASTM F756-13 Standard Practice for Assessment of Hemolytic Properties of Materials*; 2000; p 5. <https://doi.org/10.1520/F0756-13.Copyright>.
- (23) United States Pharmacopeial Convention. *Biological Reactivity Tests , in Vitro*; USA, 2015.
- (24) Norma Oficial Mexicana. *NOM-240-SSA1-2011, Instalación y Operación de La Tecnovigilancia*; 2012; p 13.
- (25) Askeland, D. R. *Ciencia e Ingeniería de Los Materiales*, tercera.; International Thomson Editores: Rolla, 1998.
- (26) Rane, A. V.; Kanny, K.; Abitha, V. K.; Thomas, S. Methods for Synthesis of Nanoparticles and Fabrication of Nanocomposites. In *Synthesis of Inorganic Nanomaterials*; Elsevier Ltd., 2018; pp 121–139. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101975-7.00005-1>.
- (27) Ramos-Maza, E.; García-Estrada, F.; Domínguez-Barrios, C.; Chávez-Covarrubias, G.; Meza-Reyes, G.; Buffo-Sequeira, I. Principios Biomecánicos Para La Osteosíntesis, Re-Evolución. *Acta Ortopédica Mex.* **2016**, *30* (S1), 1–8.

- (28) Ijima, S. Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature* **1991**, *354*, 56–58.
- (29) Suzuki, S. *Physical and Chemical Properties of Carbon Nanotubes*, INTECH.; Rijeka, 2013.
- (30) Kalamkarov, A. L.; Georgiades, A. V.; Rokkam, S. K.; Veedu, V. P.; Ghasemi-Nejhad, M. N. Analytical and Numerical Techniques to Predict Carbon Nanotubes Properties. *Int. J. Solids Struct.* **2006**, *43* (22–23), 6832–6854. <https://doi.org/10.1016/J.IJSOLSTR.2006.02.009>.
- (31) S. Niyogi; M. A. Hamon; H. Hu; B. Zhao; P. Bhowmik; R. Sen; M. E. Itkis, and; Haddon\*, R. C. Chemistry of Single-Walled Carbon Nanotubes. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35* (12), 1105–1113. <https://doi.org/10.1021/AR010155R>.
- (32) Dresselhaus, M. S.; Dresselhaus, G.; Saito, R. Physics of Carbon Nanotubes. *Carbon N. Y.* **1995**, *33* (7), 883–891. [https://doi.org/10.1016/0008-6223\(95\)00017-8](https://doi.org/10.1016/0008-6223(95)00017-8).
- (33) Hamada, N.; Sawada, S.; Oshiyama, A. New One-Dimensional Conductors: Graphitic Microtubules. *Phys. Rev. Lett.* **1992**, *68* (10), 1579. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.68.1579>.
- (34) Aguilar-Elguézabal, A.; Antúnez, W.; Alonso, G.; Delgado, F. P.; Espinosa, F.; Miki-Yoshida, M. Study of Carbon Nanotubes Synthesis by Spray Pyrolysis and Model of Growth. *Diam. Relat. Mater.* **2006**, *15* (9), 1329–1335. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2005.10.011>.
- (35) Mckee, T.; Mckee, J. R. *Bioquímica La Base Molecular de La Vida*, tercera.; McGraw Hill, 2003.
- (36) Báez, J. E. Cómo Obtener Un Polímero Degradable En El Laboratorio: Síntesis de La Poli( d , l -Lactida) y Caracterización Por RMN 1 H. *Educ. Química* **2010**, *21* (2), 170–177. [https://doi.org/10.1016/s0187-893x\(18\)30168-x](https://doi.org/10.1016/s0187-893x(18)30168-x).
- (37) Hull, C. W. Apparatus for Production of Three-Dimensional Objects By Stereography, 1984.
- (38) Sanders, I. R. C.; Forsyth, L.; Lyndeborough, S.; Philbrook, K. F.; Prototypes, A. S. United States Patent ( 19 ), 1998.
- (39) Kalaskar, D. M. *3D Printing in Medicine*; Elsevier, 2017.
- (40) Gomez, R.; Murillo, R. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA Raúl Gómez y Rogelio Murillo. *Fac. Ciencias UNAM* **2015**, 1–14.
- (41) Bhattacharjee, S. DLS and Zeta Potential - What They Are and What They Are Not? *J. Control. Release* **2016**, *235*, 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>.
- (42) Danaei, M.; Dehghankhold, M.; Ataei, S.; Hasanzadeh Davarani, F.; Javanmard, R.; Dokhani, A.; Khorasani, S.; Mozafari, M. R. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics* **2018**, *10* (2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>.
- (43) Ipohorski, M.; Bozzano, P. B. Microscopía Electrónica de Barrido En La Caracterización de Materiales. *Cienc. Invest.* **2013**, *63* (3), 43–53.
- (44) Faraldos, M.; Consuela, G. *Técnicas de Análisis y Caracterización de Materiales*, segunda.; Madrid, 2011.
- (45) Callister, W. D.; Rethwisch, D. G. *Materials Science and Engineering*, 9th ed.; Wiley: Hoboken, 2014. <https://doi.org/10.1088/0031-9120/5/2/304>.
- (46) Olechowski, A. L.; Eppinger, S. D.; Joglekar, N.; Tomaszek, K. Technology Readiness Levels: Shortcomings and Improvement Opportunities. *Syst. Eng.* **2020**, *23* (4), 395–408. <https://doi.org/10.1002/sys.21533>.

- (47) Olechowski, A.; Eppinger, S. D.; Joglekar, N. Technology Readiness Levels at 40: A Study of State-of-the-Art Use, Challenges, and Opportunities. *Portl. Int. Conf. Manag. Eng. Technol.* **2015**, *2015-Septe*, 2084–2094. <https://doi.org/10.1109/PICMET.2015.7273196>.
- (48) Straub, J. In Search of Technology Readiness Level (TRL) 10. *Aerosp. Sci. Technol.* **2015**, *46* (701), 312–320. <https://doi.org/10.1016/j.ast.2015.07.007>.
- (49) Tejada Aguayo, L. S. Síntesis de Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple (MWCNT) Funcionalizados Con El Ácido 2,3-Dihidroxibenzoico Selectivo Al Fe<sup>3+</sup> Como Tratamiento Potencial de Talasemia, Instituto Tecnológico de Tijuana, 2018.