



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Tecnológico Nacional de México

Campus Querétaro

**GENERACIÓN DE ANDAMIOS A PARTIR DE PLA POR IMPRESIÓN 4D CON
ENFOQUE HACIA INGENIERÍA DE TEJIDOS.**

Que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN INGENIERÍA

Presenta:

KEVIN GUZMÁN CHAPA

Dirigida por:

Director: Dra. Ana Laura Martínez Hernández

Codirector: Dra. Luz María López Marín

Asesor: Dr. Oscar Gómez Guzmán

Enero 2024

Querétaro, Qro. **05/octubre/2023**
OFICIO No. DEPIN/196/2023

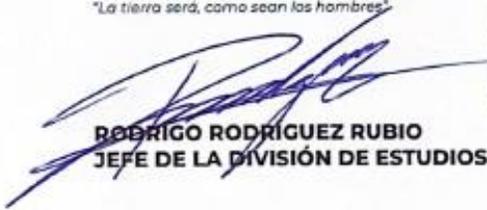
KEVIN GUZMÁN CHAPA
ESTUDIANTE
MAESTRÍA EN INGENIERÍA
PRESENTE

De acuerdo con el Reglamento para Exámenes Profesionales de la Dirección General de Educación Superior Tecnológica, se le autoriza la impresión de la Tesis, para obtener el Grado de MAESTRÍA EN INGENIERÍA, titulada:

"GENERACIÓN DE ANDAMIOS A PARTIR DE PLA POR IMPRESIÓN 4D CON ENFOQUE HACIA INGENIERÍA DE TEJIDOS"

Para el correspondiente Examen de Grado.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica
"La tierra será, como sean los hombres"



RODRIGO RODRÍGUEZ RUBIO
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



c.c. Coordinación de Maestría
Archivo

Jany*

Santiago de Querétaro., Qro. **16/noviembre/2023**
OFICIO No. DEPIN/228/2023
ASUNTO: CONSTANCIA DE NO PLAGIO

**A QUIEN CORRESPONDA:
PRESENTE**

Por medio de la presente se hace constar que el trabajo de tesis con título: "**GENERACIÓN DE ANDAMIOS A PARTIR DE PLA POR IMPRESIÓN 4D CON ENFOQUE HACIA INGENIERÍA DE TEJIDOS**"; ha sido revisado por medio de la herramienta de software TURNITIN, cuyo resultado se anexa a la presente y **no se ha encontrado evidencias de plagio en su realización**. El autor de dicho trabajo, estudiante de **Maestría en Ingeniería, KEVIN GUZMÁN CHAPA**, es el responsable de la autenticidad y originalidad del mismo y manifiesta que para su desarrollo ha utilizado diversas citas para su soporte, mismas que han sido marcadas a lo largo del mismo y listadas al final como REFERENCIAS bibliográficas.

Se extiende la presente para la continuación del proceso de obtención del grado de Maestría en Ingeniería, y a petición de la interesada.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica
La tierra será, como sean los hombres*



RODRIGO RODRIGUEZ RUBIO
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



ccp. Coordinación de Maestría en Ingeniería

Jany*

Santiago de Querétaro, Qro. 12 de diciembre del 2023.

El que suscribe, egresado de Maestría en Ingeniería; de manera libre y voluntaria autorizo al Centro de Información del Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro a difundir la obra de mi autoría con el Título del trabajo **GENERACIÓN DE ANDAMIOS A PARTIR DE PLA POR IMPRESIÓN 4D CON ENFOQUE HACIA INGENIERÍA DE TEJIDOS**. Para fines académicos, científicos y tecnológicos, mediante formato CD-ROM o digital, desde Internet, Intranet y en general cualquier formato conocido o por conocer.

Dicha obra estará disponible al estudiantado de esta Institución a partir del 18 de enero del 2024, fecha en la cual se puede difundir la obra.

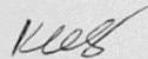
Postulante: Kevin Guzmán Chapa

No. de Control: M21141380 Correo electrónico: kevinguzcha@gmail.com

Título de la obra: **GENERACIÓN DE ANDAMIOS A PARTIR DE PLA POR IMPRESIÓN 4D CON ENFOQUE HACIA INGENIERÍA DE TEJIDOS**.

Área del conocimiento: Materiales compuestos y Nanotecnología

Palabras clave de la obra: Modelado por deposición fundida (FDM), biomateriales, crecimiento celular, bioinspiración.



Kevin Guzmán Chapa

Índice General

Índice de Figuras	VIII
Índice de tablas	IX
Acrónimos	X
Agradecimientos	XI
Dedicatorias	XI
Resumen	XII
Palabras clave:	XII
Abstract	XIII
Keywords:	XIII
Capítulo 1. Introducción	1
Planteamiento del Problema:	2
Específicos:	3
Metas.....	3
Hipótesis.....	3
Justificación	4
CAPITULO 2. Marco teórico	5
2.1 Polímeros	5
2.1.2 Biopolímeros	5
2.1.2 Polímeros Naturales	6
2.1.3 Ácido poliláctico.....	6
2.1.4 Propiedades del Ácido poliláctico	7
2.1.5 En la industria alimenticia	7
2.1.6 Aplicaciones médicas	7
2.1.7 Biodegradabilidad:	7
2.1.3 Estructura	8
2.2.2 Ácido poliláctico en impresión FDM	11

2.2.3	Impresión 3D	12
2.3	Entramados.....	13
2.4	Materiales inteligentes.....	14
2.5	Impresión 3D en Ingeniería de Tejidos	14
2.5.1	Andamios y materiales para ingeniería de tejidos	15
2.6	Materiales biomiméticos.....	16
2.7	Antecedentes	17
Capítulo 3. Metodología		36
3.1	Materiales y equipo.....	36
3.2	Impresión 3D	36
3.2.1	Diseño de las estructuras 3D de andamios.....	37
3.3	Parámetros de impresión	37
3.3.1	Creality Slicer.....	37
3.3.2	Solid Works.....	38
3.4	Técnicas de caracterización.....	39
3.4.1	Microscopia electrónica de Barrido (SEM)	39
3.4.2	Pruebas de flexión	40
3.4.3	Pruebas de compresión	40
3.4	Prueba de recuperación.....	41
3.3.5	Biocompatibilidad.....	41
3.3.5.1	Ensayo MTT	51
3.3.5.2	Microscopia Confocal.....	52
Capítulo 4. Resultados		52
4.1	SEM.....	52
4.2	Flexión.....	53
4.3	Compresión	54
4.4	Recuperación.....	55

4.5 Biocompatibilidad.....	56
Cronograma de actividades:.....	58
Infraestructura y/o recursos económicos:.....	60
Conclusiones	60
Referencias	61

Índice de Figuras

Figura 1. Diferentes rutas en la manufactura de bases poliméricas de ácido láctico (Liliana Serna C, 2003)	8
Figura 2. Esquema del cabezal extrusor de una impresora 3D (Villar, 2019)	10
Figura 3. Diseño de los micro pilares (Quan Liu, 2021)	13
Figura 4. Micropilares (Quan Liu, 2021)	36
Figura 5. Modelajes de izquierda a derecha Gecko tipo A, Gecko tipo B, Rana	37
Figura 6. Programa SolidWorks	38
Figura 7. Diagrama del funcionamiento de un equipo SEM (Fu-Yun Zhu, et. al, 2014) ..	39
Figura 8. Modelaje en SolidWorks de la probeta de compresión	41
Figura 9. Material Esterilizado	42
Figura 10. Autoclave	43
Figura 11. Ultracongelador	43
Figura 12. Gradilla de enfriamiento	44
Figura 13. DMEM	44
Figura 14. Micropipetas	45
Figura 15. Células observadas desde el microscopio	45
Figura 16. Pipetas pasteur	46
Figura 17. PBS	46
Figura 18. Células despegadas por el Triplexpress	46
Figura 19. Tubo Falcon	47
Figura 20. Cámara de Neubauer	47
Figura 21. Cámara de Neubauer vista desde el microscopio	48
Figura 22. Placa de 24 pozos	49
Figura 23. Proceso de esterilidad en las probetas	49
Figura 24. Lámpara de UV	50
Figura 25. Prueba del primer día con probetas	50
Figura 26. Placa de 96 microplatos	51
Figura 27. Lector de microplatos	51
Figura 28. Imágenes SEM de materiales impresos en 3D con PLA, a) Entramado de Gecko tipo A, b) Entramado de Gecko tipo B, C) a E) Entramado de Rana	52

Figura 29. Graficas de los resultados de las pruebas de flexión, A) Entramado Gecko tipo A, B) Entramado Gecko tipo B, C) Entramado Rana.....	53
Figura 30. Graficas con los resultados de las pruebas de compresión, A) Entramado Rana, B) Entramado Gecko tipo A, C) Entramado Gecko tipo B.....	54
Figura 31. Diseños impresos de las probetas de recuperación.....	55
Figura 32. Grafica de recuperación de los entramados.....	56
Figura 33. Grafica comparativa del crecimiento de 3000 fibroblastos mediante el ensayo MTT.....	56
Figura 34. Microscopía confocal de células de fibroblastos después de haberlas cultivado durante 7 días en DMEM, contaminadas con DAPI (azul, núcleo) y TRITC (rojo, microtúbulos).....	57

Índice de tablas

Tabla 1. Propiedades básicas del PLA (Villar,2019).....	11
Tabla 2. Antecedentes sobre el PLA como material de impresión.....	17
Tabla 3. Cronograma.....	58

Acrónimos

Abreviatura	Descripción
Unidades	
PLA	Ácido poliláctico
SEM	Microscopia electrónica de barrido (Por sus siglas en ingles)
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
FBS	Suero fetal bobino (Por sus siglas en ingles)
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
PBS	Solución salina tamponada con fosfato
TRITC	Tetrametilrodamina

Agradecimientos

Quiero agradecer al Dr. Carlos Velasco Santos y a la Dra. Ana Laura Martínez Hernández por haberme dado la oportunidad de trabajar y aprender tantas cosas con su grupo de investigación, además de su apoyo y tutoría en la realización de esta tesis.

A la Dra. Luz María López Marín, Al doctor Alejandro Magallanes Puebla y al equipo del laboratorio de Nanobio por guiarme y apoyarme con las pruebas de biocompatibilidad en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada – UNAM campus Juriquilla.

Al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA), Al Dr. Juventino López y al Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro

Se otorga el reconocimiento público al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCyT), como patrocinador en los productos generados durante el estudio del programa de la Maestría en Ingeniería, a través del apoyo recibido por la convocatoria Becas Nacionales.

Al Instituto Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro por el conocimiento impartido por sus docentes y su constante guía en la realización de esta tesis.

Dedicatorias

A mi familia por todo el apoyo que me brindaron a lo largo de los dos años, a mis compañeros y amigos por el apoyo brindado cuando lo necesité.

Resumen

La elaboración de sistemas inspirados en la naturaleza se ha denominado durante mucho tiempo “biomimética”. De las palabras “bio” significa “vida” y “mimesis” que es “mimetismo”. No obstante, se ha propuesto una nueva palabra “Bioinspiración”, que significa la ciencia de crear nuevos materiales/dispositivos con propiedades/funciones no necesariamente presentes pero inspiradas en organismo naturales. Algunos de estos sistemas imitan a la naturaleza o inspiran a resolver problemas de solución humana. Por otro lado, tenemos a los materiales que en el campo de la medicina regenerativa se basan principalmente en polímeros naturales gelatina, colágeno, quitosano, fibrina, ácido hialurónico, etc., a menudo aislados de tejidos animales y humanos. El Ácido Poliláctico (PLA) tiene una gran importancia como biopolímero biodegradable; debido a que generalmente tiene una vida útil corta y es principalmente un producto natural. Esta investigación evalúa dos estructuras diferentes basadas en ranas arborícolas y geckos, desarrolladas utilizando el software SolidWorks, de los materiales procesados por impresión 3D, se realizaron diferentes pruebas mecánicas de Compresión, y Flexión, Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), pruebas de biocompatibilidad y respuesta inteligente para observar el comportamiento del material impreso y verificar los beneficios y su posible aplicación en el campo de ingeniería de tejidos.

Al realizar las pruebas de biocompatibilidad el mejor número de células para trabajar son 3000 y el mayor crecimiento se da entre los 3 y 7 días de las pruebas.

Palabras clave:

Modelado por deposición fundida (FDM), biomateriales, crecimiento celular, bioinspiración

Abstract

Poly(lactic acid) (PLA) is a versatile and biodegradable scaffold widely used in biomedical fields to repair tissue defects. PLA has been increasingly utilized to construct 3D-printed scaffolds, despite its mechanical stability, and cytocompatibility advantage is still needed to increase its bioactivity. 4D is based on the fact that shape memory polymers are able to memorize a macroscopic shape and preserve it for a certain time and return to their original shape under the effect of an external stimulus. Creation of components/structures or functions that simulate living natural creatures has been referred to as “bionics” or “biomimetics”. From the words "bio" means "life" and "mimesis" which is "mimicry", nature, its systems, examples, processes, elements that imitate nature or inspire to solve problems of human solution. The word “Bioinspiration” is proposed, meaning the science of creating new materials/devices with properties/functions not necessarily present in inspiring natural creatures. This research evaluates two different structures based on tree frogs and geckos developed using the software called Solid Works, different mechanical tests were performed such as bending tests, SEM tests (Microscopy scanning electronics), biocompatibility tests and smart response to observe the behavior of printed material of gecko and tree frog inspired and verify the benefits of using it in tissue engineering.

When carrying out some tests we realized that the best number of cells to work with is 3000 and the greatest growth occurs between 3 and 7 days after the tests.

Keywords:

Fused deposition modeling (FDM), biomaterials, cell growth, bioinspiration

Capítulo 1. Introducción

Existen estudios que se enfocan en utilizar materiales provenientes de la naturaleza, como lo es el ácido poliláctico (PLA), el cual es un poliéster derivado del ácido láctico que ha sido el principal polímero biodegradable utilizado en la investigación biomédica como la ingeniería de tejidos.

Los andamios juegan un papel crucial en la ingeniería de tejidos e ingeniería de tejidos óseos y estos pueden elaborarse mediante distintas técnicas, por otro lado la técnica de impresión 3D es interesante por crear andamios tridimensionales con formas muy complejas, sin embargo, se tiene complicaciones a la hora de seleccionar el biopolímero que se va a utilizar para su elaboración, ya que estos tienen que cumplir con ciertos requerimientos, necesarios para que puedan ser colocados dentro del cuerpo humano.

En este trabajo tiene como objetivo general desarrollar andamios poliméricos a base de PLA e impresión 3D con pruebas de recuperación para analizar su uso como biomateriales en organismos vivos de acuerdo al tipo de entramado, para esto se tiene la hipótesis de que los andamios poliméricos bioinspirados tengan una biocompatibilidad tal que demuestren un comportamiento sinérgico y sean adecuadas para su inserción en organismos vivos.

El ácido poliláctico (PLA) es considerado como uno de los polímeros renovables biológicos más competitivos debido a su excelente biocompatibilidad, buena biodegradabilidad y alta resistencia mecánica. En medicina, suturas reabsorbibles (anastomosis oftálmicas, conjuntivales, toracoabdominales, neurológicas), materiales ortopédicos (implantes reabsorbibles), grapas, tornillos, pines, placas, cirugía reconstructiva craneofacial y maxilofacial (huesos y tejidos blandos) y muchas otras aplicaciones. servilleta). (Liliana Serna C, 2003)

Generación de andamios a partir de PLA-PHA por impresión 4D con enfoque hacia ingeniería de tejidos

¿Cuáles son los beneficios de utilizar la impresión 4D en la ingeniería de tejidos?

Planteamiento del Problema:

La impresión 3D ya está siendo utilizada ampliamente por la industria para la fabricación de repuestos y nuevas partes de aviones, trenes y automóviles, que representa su aplicación más directa como reemplazo a procesos tradicionales de manufactura pero con el nuevo paradigma tecnológico que es la impresión 4D la cual tiene como uno de sus objetivos generar productos inteligentes con aplicaciones en textiles, membranas, medicina, robótica entre otros con propiedades como por ejemplo que pueda doblarse, repararse y ensamblarse a sí mismo cuando reacciona a estímulos externos.

Recientemente, el interés en la fabricación de materiales se ha enfocado hacia el uso de compuestos de origen natural debido a sus beneficios ambientales. Vale la pena considerar el uso de una matriz biodegradable ya que esto daría como resultado un compuesto completamente biodegradable. (K. Van de Velde, 2002)

La necesidad actual de reparación y regeneración de órganos y/o tejidos para los pacientes aumenta cada vez más dando como consecuencia que no satisfaga la alta demanda debido a la escasez de donantes, así como problemas de biocompatibilidad que produce el rechazo inmunológico del trasplante, en un esfuerzo para superar estos inconvenientes, los científicos que trabajan en el campo de la ingeniería de tejidos investigan el uso de andamios como alternativa al trasplante. Utilizando tecnologías de impresión 3D, se pueden producir andamios similares a ECM (matriz extracelular) con un alto grado de complejidad y precisión.

Creando tales andamios potencialmente se puede ayudar a la gran demanda que tienen los pacientes de tejidos y órganos sin que tengan que esperar a un donador. (Anh-Vu Do, 2015)

Objetivos (General y Específicos) Objetivo General:

Desarrollar y caracterizar la estructura y biocompatibilidad de andamios biomiméticos obtenidos por impresión 4D de PLA-PHA.

Específicos:

- Estudiar diferentes parámetros de procesamiento para impresión 3D de PLA/PHA.
- Diseñar estructuras para andamios de crecimiento celular en base a modelos biomiméticos.
- Caracterizar y evaluar los prototipos biomiméticos mediante microscopia electrónica de barrido (SEM), pruebas de tensión, análisis mecánico dinámico y crecimiento celular.
- Evaluar la respuesta térmica de los prototipos para ser considerado 4D

Metas

- Obtener la Maestría en Ingeniería en la línea de investigación de Materiales y Nanotecnología
- Aplicar los conocimientos adquiridos en el trayecto de los 2 años en la Maestría en micarrera profesional
- Tener una vinculación en el cuarto semestre con el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM
- Participar en congresos nacionales o internacionales

Hipótesis

Los entramados hechos a partir de PLA-PHA por modelado de deposición fundida (FDM) proporcionarán la estructura para el crecimiento celular en base a modelos bioinspirados en apéndices de reptil (Gecko) y de anfibio (rana arbórea).

La adición de poli-ε-caprolactona (miel de Manuka) mejorará la proliferación celular de los entramados bioinspirados con enfoque hacia la ingeniería de tejidos.

La combinación de la Impresión 4D y los modelos bioinspirados (Gecko y rana arbórea) proporcionará resultados positivos en los estudios de la ingeniería de tejidos y en propiedades termomecánicas.

Justificación

Los beneficios de utilizar materiales multifuncionales en la impresión 4D crean oportunidades para soluciones en los exigentes entornos. El progreso actual de los materiales inteligentes imprimibles en 4D y sus capacidades de respuesta a estímulos, incluida los materiales con memoria de forma, metamateriales y materiales de auto curación y sus respuestas a exposiciones térmicas, de pH, humedad, luz, magnéticas y eléctricas, estos materiales pueden transformarse con el tiempo debido a tensiones predefinidas creado durante el proceso de impresión generado por las reacciones químicas y difusión de resina entre las capas impresas. Los sistemas se han explorado para incluir avances en el monitoreo de la salud, dispositivos eléctricos, robótica blanda y metamateriales sintonizables. (Kirstie R. Ryan, 2021)

Esta es un área de gran interés científico en descubrimientos para la recolección de células, biomateriales afilados que estimulan las células para promover la regeneración y nuevas tecnologías como la bioimpresión 3D aplicada en este campo. Recientemente se abordó la adaptación de la tecnología de impresión 3D para satisfacer la demanda de dispositivos y equipos médicos como respiradores, máscaras, centros de aislamiento, maniqués médicos e hisopos nasofaríngeos en la actual situación de la pandemia de COVID-19. (Vigneshwaran Shanmugam, 2021)

El objetivo de la ingeniería de tejidos es activar estos mecanismos regenerativos e incluso regenerar artificialmente tejidos y órganos. Estas técnicas incluyen la bioingeniería, que combina herramientas y conocimientos tecnológicos para resolver problemas de salud. (Dra. Elisabet Engel, 2017)

Materiales que pueden adaptarse y responden a entornos exigentes dan como resultado una mejora en las funcionalidades evaluadas. Donde se utilizan materiales auto curativos, la longevidad del 4D aumenta el número de piezas impresas, lo que reduce la necesidad de costosas reparaciones o colocaciones.

Estos avances en materiales AM (fabricación aditiva) pueden ofrecer una excitante solución a problemas que normalmente requerirían la intervención humana, sin embargo, debido al uso en ambientes extremos, por ejemplo, componentes utilizados en el espacio exterior.

Relacionado con la agenda 2030

Este proyecto está relacionado con la agenda 2030 en diferentes objetivos de desarrollo sostenible, como, por ejemplo:

Con el objetivo 9.- **Innovación industrial e infraestructura:**

La impresión 4d será de ayuda en un futuro para los sectores industriales, los sistemas se han explorado para incluir avances en el monitoreo de la salud, dispositivos eléctricos, robótica blanda y metamateriales sintonizables e industria aeroespacial.

Con el objetivo 17.- **Alianzas para lograr los objetivos:**

En el caso de este proyecto la vinculación será con el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM, para realizar las pruebas de biocompatibilidad, así mismo si es necesario realizar modificaciones a la impresora 3D durante el proyecto se recurrirá al vínculo que tiene la línea de Materiales y Nanotecnología con la empresa industria 55.

CAPITULO 2. Marco teórico

2.1 Polímeros

2.1.2 Biopolímeros

Hay varios tipos de biopolímeros, unas formas de distinguirlos son:

- Tipo A: biopolímeros elaborados a consecuencia de materias primas renovables material (de base biológica).
- Tipo B: biopolímeros hechos de materias primas de base biológica.
- Tipo C: biopolímeros hechos a base de combustibles fósiles y ser biodegradable.

Los biopolímeros de (tipo A) se pueden producir por sistemas biológicos (microorganismos, plantas y animales) o sintetizados químicamente en función de materiales naturales (maíz,

azúcar, almidón, etc.). Los biopolímeros de (tipo B) se pueden producir de biomas o recursos renovables y no son bio-degradables.

Los biopolímeros del (tipo C) se producen a consecuencia de aceite de fósil, como poliésteres alifáticos sintéticos extraídos del petróleo crudo o gas natural, y están clasificados como biodegradables. Los copoliésteres son, al menos en parte, poliésteres a base de polímeros a base combustibles fósiles, pero pueden ser deteriorados por microorganismos.

Un material plástico se define como un bioplástico si es base biológica, biodegradable, o presenta alguna de estas características. Sobre la base de esta definición, los biopolímeros o bioplásticos albergan polímeros biodegradables.

Los biopolímeros se definen como polímeros que son derivados de recursos renovables, así como biológicos polímeros biodegradables de base cal y fósil. (Deans, 2015)

2.1.2 Polímeros Naturales

Los polímeros naturales están en la naturaleza, y el paisaje de los países naturales del mundo es un momento importante en la complejidad bioquímica de la vida.

Estos incluyen la mayoría de las proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos (azúcares complejos como la celulosa vegetal y la quitina fúngica), el caucho o las gomas vegetales. (Álvarez, 2021)

2.1.3 Ácido poliláctico

El PLA, también conocido como ácido poliláctico, se deriva de materias primas naturales y renovables como el maíz, la remolacha, el trigo, el almidón (glucosa) y el poliéster es un polímero sintético.

Se extrae de las plantas añadiendo enzimas a la dextrosa. Este es fermentado por microorganismos a ácido láctico, que se convierte en poliláctico. Los microorganismos fermentan rápidamente con adiciones mínimas de nutrientes nitrogenados para crecer en condiciones de valores de pH más bajos. (Liliana Serna C, 2003)

2.1.4 Propiedades del Ácido poliláctico

Las propiedades de fusión del PLA tienen una gran influencia en las condiciones de flujo del polímero durante el procesamiento, la temperatura de transición vítrea afecta las propiedades físicas y mecánicas del PLA. (Ahmed Z. Naser, 2021).

El PLA es duro como el acrílico, blando como el polietileno, duro como el poliestireno y flexible como los elastómeros. (Liliana Serna C, 2003)

2.1.5 En la industria alimenticia

El PLA fue investigado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), que encontró una migración limitada de ácido láctico y, por lo tanto, concluyó que el PLA es un material GRAS y puede usarse como material de construcción. Acidulantes y conservantes también se utilizan en los alimentos. (Liliana Serna C, 2003)

2.1.6 Aplicaciones médicas

En medicina, suturas reabsorbibles (anastomosis oftálmicas, conjuntivales, toracoabdominales, neurológicas), materiales ortopédicos (implantes reabsorbibles), grapas, tornillos, pines, placas, cirugía reconstructiva craneofacial y maxilofacial (huesos y tejidos blandos) y muchas otras aplicaciones. servilleta). (Liliana Serna C, 2003)

2.1.7 Biodegradabilidad:

Los hongos y bacterias (bacterias) pueden colonizar la superficie del polímero y producir enzimas que pueden descomponerlo en pedazos más pequeños. Esto suele ocurrir en ambientes acuáticos. Las botellas desaparecen a los 30 días por calentamiento y ataque microbiano. Si la cristalinidad es alta, la degradación del PLA es lenta. (Ahmed Z. Naser, 2021) , (Liliana Serna C, 2003)

2.1.3 Estructura

El proceso PLA comienza con la producción de LA (ácido láctico), luego con la formación de lactida y termina con la polimerización de LA. El proceso PLA puede llevarse a cabo en tres pasos, a saber: primera producción de LA por fermentación microbiana, segunda producción de lactida después de la purificación de LA y finalmente policondensación de LA o polimerización por apertura de anillo (ROP) de lactidas.

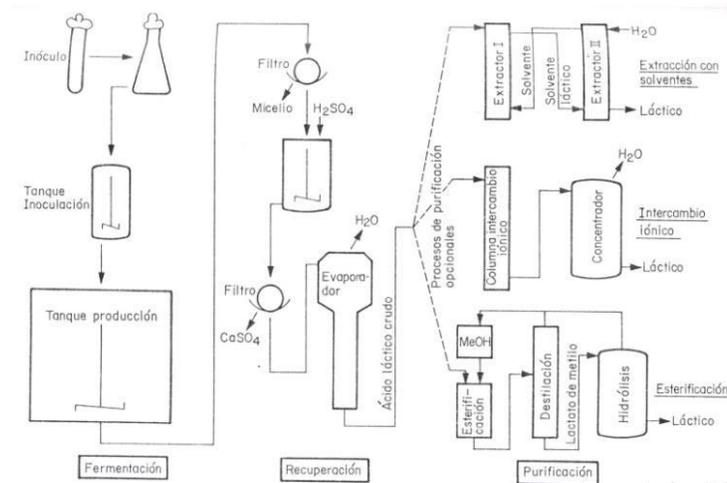


Figura 1. Diferentes rutas en la manufactura de bases poliméricas de ácido láctico (Liliana Serna C, 2003)

2.2 Aplicaciones

2.2.1 Modelado por Deposición Fundida

Hoy en día, esta es una de las técnicas populares más recientes, que consiste en calentar el material por encima de la temperatura del vidrio. Esto permite que el extrusor extruya el material, lo coloque en un plano y mantenga los parámetros deseados para lograr la forma deseada. El material se obtiene en forma de filamentos en bobinas de varios tamaños.

Cada material con diferentes aditivos requiere modos específicos de control de temperatura, condiciones de almacenamiento, tratamientos posteriores a la impresión o condiciones de la superficie sobre la que se va a imprimir. Muchos de estos parámetros pueden ser cambiados por el programa que prepara la pieza para la impresión. Es importante diseñar la pieza o escaneo 3D en formato "STL".

El programa utiliza este archivo para analizar los datos de forma del objeto y enviar instrucciones a la impresora para su impresión. No logra la calidad de SLA (Estereolitografía) o SLS (Sinterizado Selectivo por Láser), pero gracias a la velocidad del proceso y el precio relativamente bajo, las logra en muchas áreas. La tecnología FDM es relativamente fácil de operar. Podemos distinguir dos sistemas principales: el cabezal extruido y el robot cartesiano. El cabezal del extrusor tiene tres zonas distintas dentro del cabezal.

Extrusoras, tubos calientes y boquillas. Tras el recorrido de la fibra desde el husillo, el primer elemento encontrado fue el montaje mecánico de la extrusora.

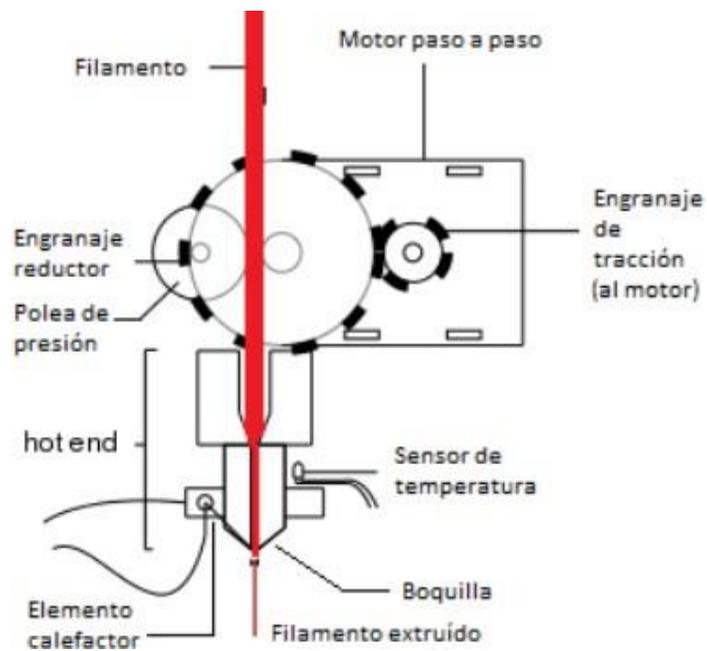


Figura 2. Esquema del cabezal extrusor de una impresora 3D (Villar, 2019)

El extrusor es el elemento mecánico que mueve el filamento desde la boquilla hasta el hotend, lo que en impresión 3D debe hacerse a una velocidad controlada y precisa. Una velocidad más lenta que la deseada dará como resultado una escasez de material cuando se aplique el material, mientras que una velocidad más alta dará como resultado que se expulsen un exceso de material de la boquilla.

El filamento pasa por un sistema de extrusión el cual pasa por un hot end. Esta unidad térmica se encarga de calentar y fundir el filamento. Consta de 3 partes.

Una zona fría o extremo frío es una zona de disipación de calor. Su función es evitar la propagación de altas temperaturas en el interior del grupo extrusor.

2.2.2 Ácido poliláctico en impresión FDM

Este material es utilizado principalmente por las empresas de impresión FD por diversas razones, como la temperatura, Baja extrusión entre 180°C y 210°C. y presiona una cama caliente de unos 60 grados centígrados.

PLA no es flexible y fácilmente bajo estrés, además tiene una gran fortaleza como biopolímero biodegradable; por lo general, tiene una vida útil corta y es principalmente un producto natural del que se deriva. El almidón de maíz es más difícil de reciclar que el ABS (acrilonitrilo butadieno estireno). Es completamente biodegradable, y una vez disuelto huele delicioso. (Villar, 2019)

Tabla 1. Propiedades básicas del PLA (Villar,2019)

Densidad	1.24 e3 – 1.27 e3 kg/m ³
Temperatura de fusión	160 – 177 °C
Temperatura de transición vítrea	56 – 58 °C
Módulo de Young	3.3 – 3.6 GPa
Límite elástico	55 – 72 MPa
Tensión de rotura (Tracción)	47 – 70 MPa
Coefficiente de Poisson	0.38 – 0.4
Esfuerzo de compresión	66 – 86 MPa
Dureza (Vickers)	17 – 22 HV
Conductividad térmica	0.13 – 0.16 W/m·°C
Calor específico	1.18 e3 – 1.21 e3 J/kg·°C

2.2.3 Impresión 3D

La impresión 3D, también conocida como fabricación aditiva, es el proceso de creación de objetos agregándolos a capas basadas en un modelo 3D.

Los plásticos y los metales son los materiales más comunes que se utilizan para la impresión 3D, pero se puede utilizar cualquier cosa, desde hormigón hasta fibras vivas.

Sobresale en piezas únicas y formas complejas que solo se pueden hacer con impresión 3D, como:

- **Fabricación de prototipos**

La impresión 3D se ha utilizado durante mucho tiempo para la creación rápida de prototipos de maquetas, efectos visuales y plantillas de presentación.

- **Piezas ligeras**

La necesidad de imprimir piezas ligeras en 3D para aplicaciones como la aeroespacial y la automoción.

- **Implantes médicos personalizados**

Para lograr la osteointegración, la impresión 3D se utiliza con mayor precisión para controlar los poros de la superficie y simular con mayor precisión la estructura ósea real.

- **Patrones para fundición de metal**

La combinación de la impresión 3D con puentes de acero crea una brecha entre las piezas de diseño general y el acceso a la producción de metal a gran escala. (Autodesk, s.f.)

2.3 Entramados

La creación de componentes/estructuras o las funciones de las criaturas naturales se ha denominado por largo tiempo como "biónicas" o "biomiméticas". Se propone una nueva palabra "Bíoinspiración", que significa la ciencia para crear nuevos materiales/dispositivos con propiedades/funciones no necesariamente presentes en las criaturas naturales inspiradoras. Además, la estructura en la punta en forma de T puede reducir en gran medida la tensión en el contacto perimetral e inhibir la iniciación de grietas, que podrían incluso introducir una succión de vacío adicional a la interfaz de separación.

Se demostró que la punta en forma de T ha sido la mejor geometría para la mejora de adhesión además que garantiza una forma de contacto que las puntas romanas, semiesféricas y espátulas, aparte de que ofrece un área de contacto más grande. La estructura optimizada en la punta de la forma T puede reducir la medida de tensión en el contacto perimetral e inhibir las grietas las cuales podrían producir una succión de vacío adicional a la interfaz de separación.

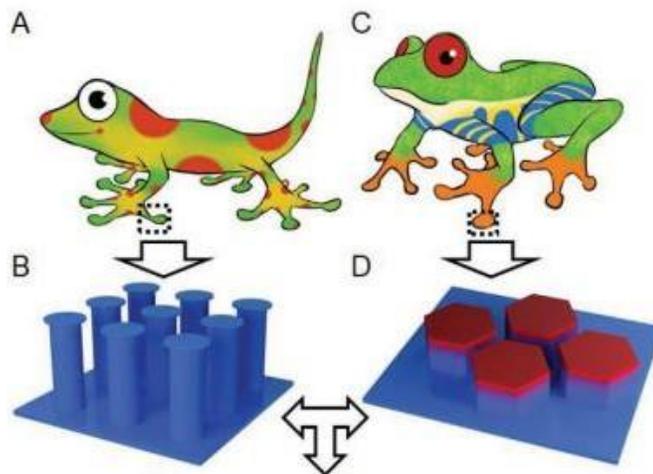


Figura 3. Diseño de los micro pilares (Quan Liu, 2021)

2.4 Materiales inteligentes

Los materiales inteligentes son un tipo de materiales que producen un cambio de forma o propiedad (rigidez, color, textura, transparencia, volumen) cuando se exponen a un estímulo exterior por ejemplo el calor y la humedad. El inicio de la impresión 3D y la combinación de materiales inteligentes ha llevado al desarrollo de una nueva y emocionante tecnología llamada impresión 4D.

La impresión 4D tiene la perspectiva para simplificar el diseño y la fabricación de diferentes productos y el potencial de automatización dispositivos de actuación que reaccionan naturalmente a su entorno sin necesidad de intervención humana interacción, baterías, procesadores, sensores y motores.

Los materiales inteligentes son esenciales para el desarrollo de Investigación de impresión 4D, sin embargo, no todos los materiales inteligentes pueden ser impresos por la 3D. Además, los materiales inteligentes no necesitan poseer cambio de forma para ser importante para investigaciones de impresión 3D.

Materiales que poseen la capacidad de cambiar el color, la dureza o la transparencia pueden volverse importante en la tecnología de camuflaje, detección de sustancias extrañas y aplicaciones biomédicas. (Zhou, 2016)

2.5 Impresión 3D en Ingeniería de Tejidos

La convergencia de la impresión 3D y la tecnología CAD/CAM (diseño asistido por computadora) ha intentado hacer posibles las estructuras de bioingeniería 3D. La mayor similitud. La impresión 3D se ha utilizado recientemente como una herramienta utilizada en cirugía. Una mejor comprensión de las anomalías complejas.

Los andamios biomédicos fabricados a partir de polímeros naturales o sintéticos se han utilizado para la sustitución o regeneración funcional y estructural de tejidos. carácter mecánico. Los materiales en el campo de la medicina regenerativa se basan principalmente en el uso de polímeros naturales (gelatina, colágeno, quitosano, fibrina, ácido hialurónico, etc., a menudo aislados de tejidos animales y humanos). (César-Juárez, 2018)

2.5.1 Andamios y materiales para ingeniería de tejidos

Los grupos de células generalmente fabrican y secretan su propia estructura de soporte llamada matriz extracelular. Esta matriz, o andamio, hace más que solo soportar las células. También funciona como una estación de transferencia para varias moléculas de señalización. Como resultado, la célula recibe mensajes de muchas fuentes disponibles en el entorno local. El proceso comienza con la creación de un marco a partir de tantos recursos como sea posible, desde servidores hasta materias primas. Una vez que se crea el andamio, las células se pueden sembrar con o sin un cóctel de factores de crecimiento. Si el entorno es adecuado, se instalará el dispositivo. En algunos casos, las células, los andamios y los factores de crecimiento se mezclan, lo que permite que el tejido se construya solo.

Otro método de creación de tejido consiste en extraer células de un órgano donado y utilizar el colágeno adicional para desarrollar tejido nuevo. Este proceso se ha utilizado para diseñar tejido de corazón, hígado, pulmón y riñón. Esta técnica tiene un gran potencial para crear andamios a partir de tejido humano extraído durante la cirugía y combinarlo con las propias células del paciente para crear órganos normales que no sean rechazados por el sistema inmunitario. ((NIBIB), s.f.)

2.5.2 Entramados

El diseño y la fabricación de andamios son áreas importantes de la investigación de biomateriales, y también son temas importantes para la ingeniería de tejidos y la investigación en medicina regenerativa. El andamio juega un papel único en la regeneración y reparación de tejidos.

Se requieren varias características para la fabricación de andamios 3D exitosos:

- geometría externa (por ejemplo, macro, microestructura, interconectividad),
- propiedades de la superficie (por ejemplo, energía superficial, química, carga, superficie),
- porosidad y tamaño de los poros

- adherencia y biocompatibilidad de la interfaz
- caracterización de la degradación (por ejemplo, biodegradación)

2.6 Materiales biomiméticos

La obtención de biomateriales que apoyen la regeneración es uno de los retos en el desarrollo de una nueva generación de implantes ortopédicos. Otra opción para el desarrollo de este tipo de biomaterial es el material procedente de fuentes naturales de origen animal o vegetal. Por lo tanto, podemos identificar propiedades clave que podrían convertirlos en materiales potenciales para aplicaciones biomédicas.

Los materiales naturales tienen propiedades biomiméticas, esto significa que tienen propiedades biológicas y estructurales similares a las del tejido humano, especialmente el tejido óseo, y la mayoría de estas matrices se utilizan en tejidos vivos para tratar defectos en huesos y cartílagos. Estas propiedades producen sustancias químicas similares a las del cuerpo humano, como derivados de calcio y fosfato, lo que permite incorporar el material a materiales biomiméticos.

De las palabras "bio" significa "vida" y "mímesis" que es "mimetismo", la naturaleza, sus sistemas, ejemplos, procesos, elementos que imitan a la naturaleza o inspiran a resolver los problemas de solución humana. La investigación es ciencia, el término biomimetismo se refiere a los procesos y materiales de fabricación al imitar el estado final y las propiedades de los materiales vivos naturales. (Montañez Supelano, 2014) (J.O'Brien, 2011)

2.7 Antecedentes

Tabla 2. Antecedentes sobre el PLA como material de impresión

Nombre del artículo	Resultados	Aplicaciones en bioimpresión	Condiciones de procesamiento	Pruebas de caracterización
<p>Microstructure and Mechanical Performance of 3D Printed Wood-PLA/PHA Using Fused Deposition Modelling: Effect of Printing Temperature https://www.mdpi.com/2073-4360/11/11/1778</p>	<p>El filamento a base de madera fabricado con matriz PLA/PHA reforzada con partículas de madera se puede imprimir en una amplia gama de temperaturas que van desde los 210 °C hasta los 250 °C. Este estudio también concluye que los mecanismos de fractura no están completamente correlacionados con la trama, aunque se observan trayectorias irregulares de grietas. Esto se debe particularmente a la naturaleza casi frágil del propio filamento.</p>	<p>Solo se obtiene una mejora limitada en el rendimiento de tracción cuando la temperatura de impresión se aumenta de 210 °C a 230 °C. Las temperaturas de impresión superiores a 230 °C no son adecuadas.</p>	<p>30 % fibra de madera de pino reciclada— 70 % PLA/PHA, impresión por FDM, diámetro de 1.75 ± 0.05 mm, la temperatura de impresión está entre 195 °C y 220 °C, cama de impresión calentada de 50 °C a 60 °C, velocidad de impresión de 40-100 mm/s.</p>	<p>SEM, microtomografía de rayos X, tensión, medición de infrarrojo, Calorimetría diferencial de barrido (DSC).</p>

<p>Process Parameter Optimization in Fused Deposition Modeling (FDM) Using Response Surface Methodology (RSM) https://www.researchsquare.com/article/rs-122421/v1</p>	<p>Establece los parámetros óptimos (grosor de capa de 0,44 mm, densidad de relleno del 44,7 % y temperatura de la cama de impresión de 20 °C)</p>	<p>El grosor de la capa tiene la influencia más significativa en las propiedades mecánicas (tracción e impacto) de las muestras de PLA/PHA, seguido del % de densidad de relleno y la temperatura de la cama de</p>	<p>En los experimentos de FDM se utilizó un filamento de alambre hecho de polímero compuesto de ácido poliláctico (PLA) y polihidroxialcanoatos (PHA),</p>	<p>Metodología de superficie de respuesta (RSM) se aplicó para investigar el % de densidad de relleno, el espesor de la capa y la temperatura del lecho sobre la energía de</p>
--	--	---	--	---

		impresión.	velocidad de impresión 40 mm/s, temperatura de impresión de 200 °C, Diámetro de la boquilla 0.4 mm, Gruoso de la pared 1.2 mm, velocidad de prueba de 1mm/min.	impacto y la resistencia a la tracción (ANOVA).
--	--	------------	--	---

<p>Morpho-Structural, Thermal and Mechanical Properties of PLA/PHB/Cellulose Biodegradable Nanocomposites Obtained by Compression Molding, Extrusion, and 3D Printing https://www.mdpi.com/2079-4991/10/1/51/htm</p>	<p>Los efectos acumulados representados por la estabilidad térmica mejorada, la adhesión interfacial mejorada entre PLA y PHB, la dispersión mejorada de NC en la matriz PLA/PHB sobre las propiedades finales de los filamentos de nanocompuestos PLA/PHB/NC</p>	<p>Las mallas impresas en 3D demuestran que estos nanomateriales cumplen con los altos estándares de las aplicaciones de ingeniería siempre que se elija el método de procesamiento adecuado.</p>	<p>ácido poliláctico (PLA), poli(3-hidroxitirato) (PHB) y nanocristales de celulosa (NC) mediante un proceso de mezcla reactiva de un solo paso que utiliza peróxido de dicumilo (DCP) como agente reticulante, el filamento fue secado en hornos de vacío a 80 °C por 4 h, los nanocristales de celulosa entre 30 y 80 nm, tamaño de la partícula de las cascaras de semilla de</p>	<p>Moldeo por compresión, extrusión e impresión 3D, Microscopia de fuerza atómica (AFM), Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), reflectancia total atenuada (ATR), Mapeo nanomecánico o cuantitativo (QNM), Análisis termogravimétrico dinámico (TGA), Microscopia electrónica de barrido (SEM), fuerza máxima (PF), Curvas</p>
---	---	---	--	--

			<p>ciruela de 0.16nm, centrifugado con agua ionizada a 7000 rpm,</p>	<p>termogavrimetricas (TG), Análisis mecánico dinámico (DMA),</p>
<p>Improving the ductility of polylactic acid parts produced by fused deposition modeling through polyhydroxyalkanoate additions</p>	<p>Se investiga el comportamiento térmico y mecánico de las muestras de PLA/PHA que contienen 12 % en peso de PHA para un rango de temperaturas de la boquilla de impresión. Las temperaturas de boquilla más bajas y más altas dan como resultado una baja ductilidad, similar a la del PLA puro. En general, PLA/PHA es una mezcla de polímeros muy prometedora para los procesos FDM, que proporciona una combinación de resistencia suficiente con una excelente tolerancia al daño.</p>	<p>Todas las muestras de PLA/PHA exhiben una fase de PLA amorfa con PHA semicristalino y poseen una ductilidad excepcional que supera el 160 % para temperaturas de boquilla en el rango de 200 °C a 240 °C.</p>	<p>Diámetro del filamento 2.85 mm, velocidad de impresión 0.2 mm/s, densidad de relleno (%) 100, diámetro de la boquilla 0.4 mm, temperatura de la boquilla 190 – 260 °C, temperatura de la cama 60 °C.</p>	<p>Difracción de rayos X, Calorimetría diferencial de barridos (DSC), Tensión, SEM.</p>

<p>A comparative study of three-dimensional printing directions: The degradation and toxicological profile of a PLA/PHA blend https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391018301253</p>	<p>Demostramos la impresión 3D de una mezcla de PLA/PHA como candidato potencial para aplicaciones de materiales biocompatibles.</p>	<p>Permite la formulación de un material mecánicamente más potente y esto permite propiedades de biodegradación personalizadas. Las muestras impresas en 3D exhibieron una buena biocompatibilidad</p>	<p>Diámetro del filamento 1.75 mm, temperatura de procesamiento del PLA ≤ 205 °C, temperatura del filamento PLA/PHA 190 – 210 °C, Impresora 3D</p>	<p>SEM, Resonancia magnética nuclear (NMR), Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), Cromatografía de permeación</p>
--	--	--	--	---

		<p>con las células HEK293, lo que indica una verdadera promesa como andamios biológicos para aplicaciones de ingeniería de tejidos.</p>	<p>de doble extrusión FLASHFOR GE Dreamer, velocidad de impresión 50mm/s, temperatura de boquilla 200 °C, temperatura de la plataforma 65 °C, diámetro de la boquilla 0.4 mm.</p>	<p>en gel (GPC), Análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC), Ionización por electrospray (ESI-MS), evaluación de la toxicidad para las células humanas, Ensayo MTT, Análisis estadístico del ensayo de viabilidad, Microscopia óptica de células humanas.</p>
--	--	---	---	--

<p>Thermal cycling, microstructure and tensile performance of PLA-PHA polymer printed using fused deposition modelling technique https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/RPJ-06-2019-0151/full/html</p>	<p>Este estudio también concluye que los patrones de fractura están correlacionado con la ductilidad del PLA-PHA impreso. Por bajo temperaturas de impresión, la propagación de grietas es inestable y no es afectado por la orientación de la trama. El gran estrés positivo identificado en el marco externo demuestra el papel clave de la Disposición de filamentos dentro de la periferia de la pieza para permitir mejorar la integridad</p>	<p>Los resultados muestran una estructura cohesiva notable de PLA-PHA, particularmente a 240°C, La temperatura de impresión resulta ser un factor clave para ajustar la ductilidad del PLA-PHA impreso que permite la restauración completa de la resistencia a la tracción a alta temperatura de impresión.</p>	<p>El diámetro del filamento es de 1.75mm, temperatura de impresión recomendada a (190 – 220 °C), se recomienda calentar la plataforma a 50 °C, densidad 1.25 g/cm³, módulo de Young 3GPa, fuerza de tensión, 40 MPa, temperatura de fusión</p>	<p>Modelaje por deposición fundida (FDM), Cromatografía de permeación en gel (GPC), calorimetría diferencial de barrido (DSC), tensión, Infra rojo,</p>
--	--	--	--	---

	<p>estructural. Sin embargo, la cantidad limitada de la porosidad parece ser la causa del papel menor del filamento orientación sobre las propiedades de fractura. Esto es confirmado por micrografías SEM que no muestran signos de porosidad durante la carga de tracción.</p>		<p>170-175 °C, diámetro de la boquilla 0.4 mm, velocidad de impresión 150 mm/s,</p>	
--	--	--	---	--

<p>Three-Dimensional Printed PLA and PLA/PHA Dumbbell-Shaped Specimens: Material Defects and Their Impact on Degradation Behavior https://www.mdpi.com/1944/13/8/2005/html</p>	<p>La publicación actual describe fenómenos de contracción inesperados después del tratamiento térmico posterior al procesamiento observado durante un estudio de degradación estándar de probetas en forma de mancuerna de PLA y PLA/PHA en la serie de degradación después de un período de 70 días, lo que representa aproximadamente el 50 % de la longitud de la muestra. Especímenes.</p>	<p>La observación de fenómenos de contracción inesperados después del tratamiento térmico de post-procesado en el caso de materiales fabricados con PLA o con su adición, que son de gran importancia en aplicaciones especializadas, especialmente con potencial para uso biomédico, es un defecto material bastante significativo.</p>	<p>Impresora 3D de doble extrusión FLASHFOR GE Dreamer, temperatura de la plataforma 65 °C, diámetro de la boquilla 400 um, grosor de la capa 200 um,</p>	<p>Cromatografía de permeación en gel (GPC), análisis termogravimétrico, Procesamiento 3D de especímenes con forma de mancuerna, Proceso de preparación y acondicionamiento de muestras (recocido), Experimentos de degradación hidrolítica, SEM, calorimetría diferencial de barrido (DSC), Degradación,</p>
---	---	--	---	---

<p>Development of Surface-Coated Polylactic Acid/Polyhydroxyalkanoate (PLA/PHA) Nanocomposites https://www.mdpi.com/2073-4360/11/3/400/html</p>	<p>PLA/PHA+AgNP reveló propiedades ópticas interesantes (un aumento de ~10 veces en la SNR) debido a la activación de plasmones de AgNP en la superficie, lo que lo convierte en un buen candidato potencial para dispositivos de detección basados en SERS.</p>	<p>La combinación de estas propiedades junto con este nuevo proceso de fabricación abrirá una nueva pista en el diseño de materiales procesables donde los aditivos son valiosos y se usan preferiblemente pequeñas cantidades, pero se requieren materiales funcionales a gran escala.</p>	<p>Dentro del recipiente de molienda y agitado a 400 rpm durante 10 min, grosor de la capa de 100 nm, gránulos fueron secados a 80 °C por 3 horas para impedir la absorción de agua.</p>	<p>Microscopio de transmisión por electrones, SEM, Haz de iones enfocado (FIB), fluorescencia de rayo X, tensión, espectrografía de raman</p>
--	--	---	--	---

<p>Three-dimensional printing of PLA and PLA/PHA dumbbell-shaped specimens of crisscross and transverse patterns as promising materials in emerging application areas: Prediction study</p>	<p>La sección central de la forma obtenida por impresión 3D en dirección horizontal se acumulan más calor y por lo tanto la tasa de cristalización en este lugar es mayor.</p>	<p>La dirección de impresión tridimensional es un parámetro importante que debe tenerse en cuenta al diseñar la aplicación de materiales impresos en 3D.</p>	<p>Velocidad de la cruceta 20 mm/min, Impresora 3D de doble extrusión FLASHFOR GE Dreamer</p>	<p>Degradación hidrolítica en condiciones de laboratorio, Cromatografía de permeación en gel (GPC), Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), SEM, calorimetría diferencial de barrido (DSC), tensión, análisis de PH, DMA,</p>
---	--	--	---	---

<p>FDM 3D Printed Composites for Bone Tissue Engineering Based on Plasticized Poly(3-hydroxybutyrate)/poly(d,l-lactide) Blends</p>	<p>Para concluir, el plastificante de citrato de n-butiril tri-n-hexilo (CT) es un plastificante adecuado para mezclas de poli(3-hidroxitirato) (PHB)/poli(d,l-lactida) (PLA) que conducen a una mejor procesabilidad y propiedades mecánicas. Sin embargo, las muestras con Citroflex mostraron malas propiedades de biocompatibilidad en la prueba in vitro, lo que las excluyó de futuras investigaciones en el campo de la ingeniería de tejidos</p>	<p>Ambos materiales estudiados que contienen PHB/PLA y Syncroflex, con y sin la adición de fosfato tricálcico (TCP), son aptos para la impresión 3D por el método FDM y al mismo tiempo exhiben propiedades prometedoras para ser utilizados como materiales para estructura de tejido óseo. Sin embargo, las pruebas in vitro revelaron que el diseño del andamio debe ajustarse principalmente por medio de la topografía de la</p>	<p>La composición de las muestras preparadas: la mezcla básica está compuesta por un 12% de plastificante y el 88% restante es PHB/PLA en una proporción de 70/30. Para muestras llenas, se agrega 15% en peso de TCP a la mezcla, la temperatura de impresión y la boquilla se ajustó a 185–175–170–150 °C y la velocidad de rotación del tornillo se mantuvo en</p>	<p>Calorimetría diferencial de barrido (DSC), Análisis termogravimétrico (TGA), utilizando la Extrusora de un solo tornillo HAAKETM Rheomex OS, Prueba de tensión, de eflexión, In vitro de andamios, Ensayo de actividad metabólica, Cuantificación de ADN,</p>
---	--	---	---	---

		<p>superficie. Por lo tanto, se realizarán más investigaciones en la dirección de ajustar la superficie y las propiedades mecánicas de las mezclas desarrolladas.</p>	<p>25 rev por minuto, El filamento se introdujo primero en el tanque de agua templado a 60 °C. En segundo lugar, el filamento se dirigió al dispositivo de extracción con la unidad de</p>	<p>Visualización celular, Pruebas de actividad de la fosfatas alcalina, Análisis de diferenciación osteogénica, Tinción inmunohistoquímica, Análisis estadístico.</p>
--	--	---	--	---

			calibración para asegurar un diámetro constante del filamento de 1,75 mm.	
--	--	--	---	--

Explicación de cada antecedente

1.-

Las fibras de madera, que consisten en una matriz PLA/PHA que contiene partículas de madera, se pueden imprimir en un amplio rango de temperatura de 210 °C a 250 °C. A medida que la temperatura aumenta de 210 °C a 230 °C, solo se logra una mejora limitada en el rendimiento de tracción. Las temperaturas de impresión superiores a 230 °C no son adecuadas porque las deformaciones son visibles.

En consecuencia, el rendimiento mecánico, especialmente la rigidez y la resistencia, se degradan en un 41 % y un 35 %, respectivamente, según las condiciones de impresión. La principal debilidad de la fibra de madera es su resistencia limitada, su resistencia a la tracción es inferior a 21 MPa. Desde un punto de vista microestructural, el tratamiento FDM de las fibras de madera da como resultado una microestructura compleja caracterizada por la presencia de dos unidades porosas. Uno es específico de la fibra y el otro es inducido por el proceso. También encontraron que esta porosidad tiene una conectividad limitada y un contenido relativamente bajo.

2.-

El estudio propuesto pretendía mejorar las propiedades mecánicas de los compuestos PLA/PHA mediante el modelado por deposición fundida (FDM). Para aplicar la metodología de superficie de respuesta (RSM), se imprimieron patrones de tracción e impacto utilizando el proceso FDM para determinar los parámetros óptimos del proceso. Se consideraron tres parámetros como variables importantes en el modelo RSM: espesor de capa, porcentaje de densidad de relleno y temperatura de la cama de impresión.

El grosor de la capa fue el factor más importante para las propiedades mecánicas (tracción e impacto) de las muestras de PLA/PHA, seguido del porcentaje de densidad del relleno y la temperatura de la cama de impresión, el uso de la metodología de superficies reactivas (RSM) para FDM ha reducido de manera efectiva los parámetros de relieve y milimétricos para la impresión, la temperatura y los costos de fabricación, al tiempo que logra una resistencia estructural permanente.

El modelo de regresión y las ecuaciones resultantes son, por lo tanto, convenientes y podrán usarse en futuras investigaciones que muestren que RSM es una buena técnica de optimización.

3.-

Los nanocristales de celulosa de la cáscara de la semilla de ciruela se prepararon mediante hidrólisis ácida y se incorporaron con éxito a la matriz de PLA/PHB mediante un proceso de mezcla reactiva, y se usó el uso de reticulador tanto para la dispersión NC de nanocompuestos como para la adhesión entre los componentes de PLA y PHB.

Se lograron una excelente estabilidad térmica, una excelente adhesión entre PLA y PHB y una excelente dispersión de NC en la matriz PLA/PHB en las propiedades resultantes de los filamentos nanocompuestos PLA/PHB/NC y la malla impresa en 3D que estos nanomateriales son congruentes. Las aplicaciones de ingeniería de alto nivel se pueden lograr eligiendo el método de procesamiento adecuado.

4.-

Se investigaron las propiedades térmicas y mecánicas de las muestras de PLA/PHA producidas por el método FDM. El análisis microestructural muestra principalmente las características de la fase PLA amorfa y la fase PHA semicristalina. La temperatura de la boquilla de impresión no afecta significativamente la microestructura, sin embargo, a 260 °C se encontraron signos de degradación térmica.

La resistencia mecánica de las muestras de PLA/PHA es un 25 % inferior a la del PLA a una temperatura de boquilla dada. Por otro lado, PLA/PHA muestran una tasa de error muy alta. Casi 40 veces más que el PLA. Las estructuras FDM basadas en PLA/PHA combinan una resistencia aceptable con una ductilidad excepcional, lo que las hace adecuadas para una amplia gama de aplicaciones de ingeniería que requieren una alta tolerancia a fallas.

5.-

El análisis de los filamentos PLA/PHA comerciales muestra que el PHA contiene el elemento de mezcla HB y una pequeña cantidad de unidades HV. Esto conduce a diferentes propiedades térmicas y mecánicas del material y perfiles de distribución de las muestras de PLA y PLA/PHA analizadas. La influencia de la dirección del diseño en la degradación de los modelos de biela impresos en 3D es más pronunciada a una temperatura de degradación de 50 °C.

El material impreso en 3D no muestra toxicidad para la proliferación celular y ofrece una buena biocompatibilidad con las células HEK293. Los resultados presentados muestran que los materiales impresos en 3D tienen propiedades mecánicas favorables, estabilidad térmica y vitalidad celular. Esto hace que las mezclas PLA/PHA sean excelentes candidatas para muchas aplicaciones, especialmente textiles.

6.-

PLA-PHA se puede encontrar en un rango de temperatura de impresión más amplio (210 °C a 255 °C) que el recomendado, con una estructura quebradiza a temperaturas de impresión más bajas y una estructura más resistente a temperaturas más altas. El tratamiento PLA-PHA FDM crea cierta porosidad (<6%).

El efecto positivo de la temperatura de impresión sobre la densidad general, la porosidad y la resistencia al desgarro de las impresiones PLA-PHA es significativo. El volumen del modelo está ligado al canal PLA-PHA impreso, la propagación de las grietas es inestable y no depende de la orientación del canal.

Sin embargo, los límites de porosidad parecen explicar el papel menor de la orientación de las fibras en las características de fractura. El papel se examinó bajo un microscopio SEM y no mostró signos de manipulación durante el transporte por estiramiento.

7.-

El fenómeno de reducción observado durante el experimento de degradación se repitió a 110°C. La reducción posterior al proceso ocurrió en las muestras no acondicionadas y acondicionadas bajo condiciones específicas de procesamiento posterior. (Hidrólisis a 70°C y pretratamiento a 110°C)

Primero, la contracción puede cambiar a medida que la fase del material cambia de fundido a sólido. En segundo lugar, PLA y PHA pueden cristalizar por debajo de su punto de fusión y sufrir cambios de volumen después de la cristalización. Si la temperatura ambiente es más alta que la temperatura de transición vítrea, puede causar una deformación inesperada. En tercer lugar, puede producirse una contracción térmica normal durante el enfriamiento.

También se debe tener en cuenta que las propiedades de memoria de forma informadas también juegan un papel importante en los materiales basados en PLA.

Son muy críticos en aplicaciones biomédicas especializadas y son muy susceptibles a fallas de hardware.

8.-

Al igual que los nanocompuestos basados en PLA, la matriz PLA/PHA mejora la resistencia al impacto y la absorción de energía. Este es el primer informe de propiedades funcionales mejoradas como PLA / PHA + AgNP que muestran propiedades ópticas interesantes.

La combinación de estas propiedades con un nuevo proceso de fabricación ofrece nuevas ventajas en términos de deformación del material deformable. que se pueden aplicar y abordar antes del procedimiento. Pero los materiales funcionales no deben ser considerados.

9.-

Los patrones de PLA y PLA/PHA en forma de cuchilla obtenidos mediante impresión 3D lateral son más regulares. Los resultados de las pruebas de las muestras en forma de lámina, las condiciones de procesamiento de las propiedades de la fibra PLA y PLA/PHA y las instrucciones de montaje mostraron que el tiempo de contacto con el circuito impreso 3D no solo provocó un aumento en la fase cristalina. No solo la impresión, sino también la superficie de patrones finos.

Las muestras acumularon más calor en la parte horizontal y por lo tanto en este lugar el grado de cristalización es mayor, la dirección de construcción resultó ser un parámetro más importante en la degradación que la determinación de la hidrofobicidad de las muestras. Inicialmente, se encontró que la degradación de las muestras verticales mejoraba las propiedades mecánicas en comparación con las muestras horizontales y, después de la degradación, el material se volvió más blando, pero menos fuerte y menos flexible. En general, el control de la impresión 3D es un parámetro importante a tener en cuenta al diseñar una aplicación de material impreso en 3D.

10.-

Las mezclas en el producto mejoran sus propiedades técnicas y mecánicas. Sin embargo, se demostró que las muestras de Citroflex tienen poca biocompatibilidad in vitro y no se pudieron usar en estudios futuros.

Las muestras estándar preparadas de esta manera sin rellenos ni compuestos no solo son adecuadas para la impresión 3D, sino que también muestran excelentes resultados en pruebas in vitro y pueden servir como andamios para implantes de células madre en la curación ósea regenerativa. la posibilidad de usarlo como artículo.

Capítulo 3. Metodología

3.1 Materiales y equipo

Para el desarrollo de este proyecto se utilizará el PLA premium transparente comercial de Color Plus, tamaño del filamento 1.75 mm, color transparente, distribuidora 3D MARKET.

Para las pruebas de biocompatibilidad se utilizó Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suero fetal bovino (FBS) y 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI).

Para la impresión se utilizó la impresora Creality del Instituto Tecnológico Nacional de México, Campus Querétaro.

3.2 Impresión 3D

Revisión de la literatura

Con la revisión de la literatura se consultaron diversas fuentes y artículos para poder completar este trabajo de investigación las cuales utilizamos para basarnos en el diseño de las estructuras de los diferentes entramados.

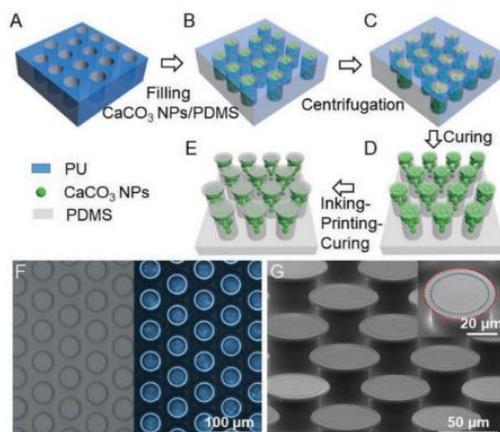


Figura 4. Micropilares (Quan Liu, 2021)

3.2.1 Diseño de las estructuras 3D de andamios

Se imprimieron en base a las medidas que son 10 mm x 10 mm x 2 mm, fueron realizados 3 diferentes entramados bioinspirados para las pruebas de proliferación, se harán 25 impresiones de cada tipo de entramado.

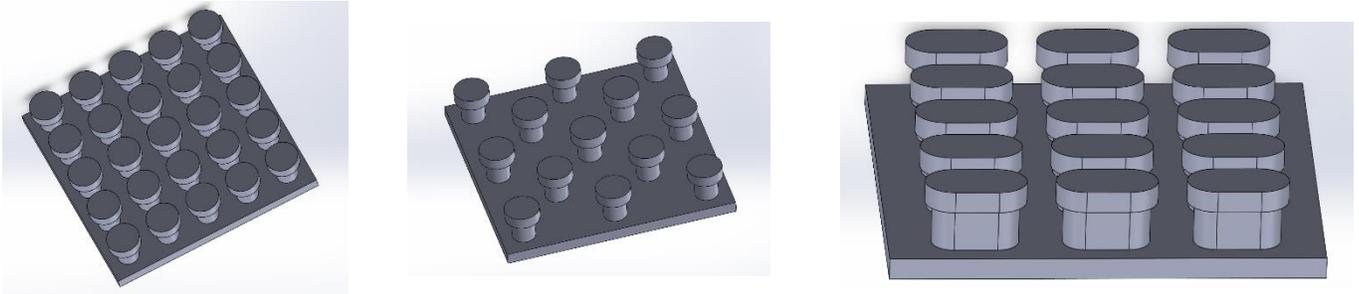


Figura 5. Modelajes de izquierda a derecha Gecko tipo A, Gecko tipo B, Rana

3.3 Parámetros de impresión

Las condiciones que fueron seleccionadas para el uso de la impresora fueron seleccionados de las recomendaciones de la propia marca las cuales vienen en el paquete del filamento las cuales fueron, Diámetro del filamento: 1.75 mm, la temperatura de la cama de 60 °C y la temperatura de la boquilla: 210 °C

Los datos fueron importados al software Creality Slicer 4.8.2, por este programa se establecieron los parámetros para la impresión 3D, por defecto venia PLA como material utilizado, se estableció calidad buena de impresión (0.12 mm), densidad del relleno del 100%, un flujo del 100%, velocidad de impresión del 40%, velocidad del relleno de 40%, una adherencia a la placa de la impresión tipo balsa con un margen de 5 mm.

3.3.1 Creality Slicer

Creality Slicer es un software de corte de modelos 3D que puede convertir archivos CAD en instrucciones de impresión especiales para su impresora 3D. El programa está especialmente desarrollado para la marca de impresoras 3D Creality y ofrece funciones avanzadas como la personalización de configuraciones de forma, manejo de diferentes materiales, generación de soporte, control de velocidad de impresión, detección de errores y vista previa del modelo 3D

antes de imprimir, además, el programa es fácil de usar y tiene una interfaz gráfica intuitiva que permite cambiar fácilmente la configuración de impresión.

3.3.2 Solid Works

SolidWorks es un programa de diseño asistido por computadora (CAD) que se utiliza para crear modelos 3D y 2D en una variedad de aplicaciones, desde ingeniería mecánica hasta diseño arquitectónico. Es conocido por su facilidad de uso, muchas funciones y herramientas, y compatibilidad con una amplia gama de formatos de documentos. SolidWorks permite a los usuarios realizar cálculos detallados, simulaciones y pruebas, dibujos de producción y animaciones y visualizaciones realistas. Es ampliamente utilizado en la fabricación, ingeniería, arquitectura y diseño de productos.

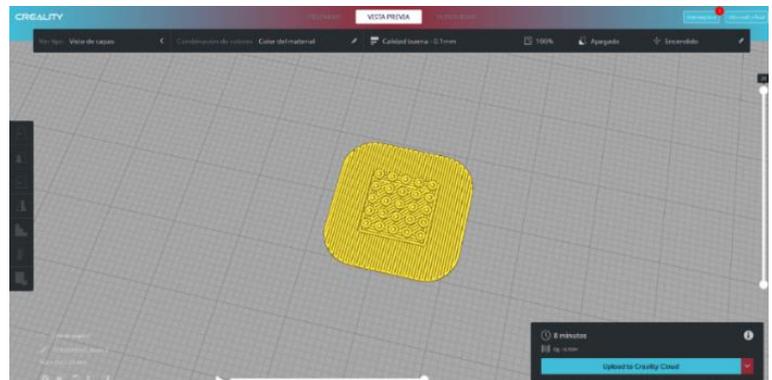
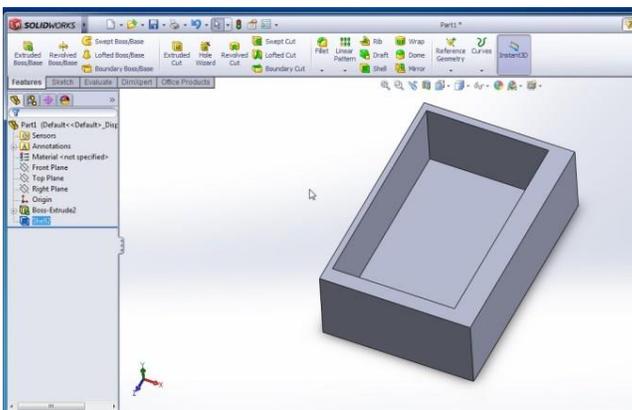


Figura 6. Programa SolidWorks

3.4 Técnicas de caracterización

3.4.1 Microscopía electrónica de Barrido (SEM)

La microscopía electrónica se basa en la emisión de un barrido de haz de electrones sobre la muestra, los cuales golpean la muestra produciendo diferentes tipos de señales que son obtenidas por detectores. Finalmente, la información recolectada en los detectores es transformada para dar lugar a una imagen de alta definición, con una resolución de 0,4 a 20 nanómetros. Como conclusión, obtenemos una imagen de alta resolución de la topografía de la superficie de nuestra muestra.

Con esta información somos capaces de obtener información superficial de:

1. Forma y topografía
2. Textura
3. Composición

La penetración dependerá de los kV a los que trabajemos, un estándar es una penetración de 1-5 micras. La microscopía electrónica es una técnica muy útil en la caracterización de materiales ya que se ocupa muy poca cantidad de muestra y se trata de una técnica no destructiva, es decir, la muestra no se ve perjudicada y se puede recuperar. (innovation, 2020)

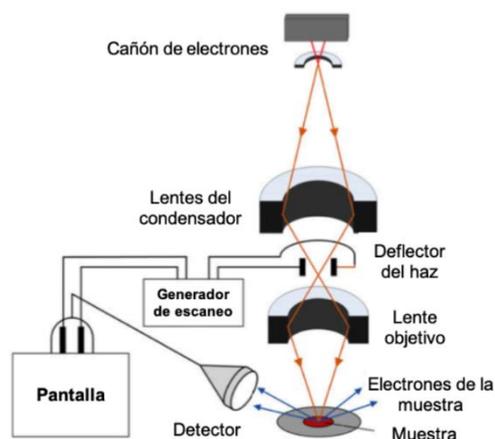


Figura 7. Diagrama del funcionamiento de un equipo SEM (Fu-Yun Zhu, et. al, 2014)

3.4.2 Pruebas de flexión

La resistencia a flexión es la capacidad de un material de soportar fuerzas aplicadas perpendicularmente a su eje longitudinal.

El objetivo del ensayo de flexión es delimitar las propiedades mecánicas de los materiales relacionados con los esfuerzos y flechas (deformaciones) en los puntos máximo y de rotura, y módulo elástico en flexión teniendo en cuenta la división entre apoyos calculados a partir del espesor de la probeta.

Existen dos métodos de aplicación del ensayo de flexión:

- Probetas apoyadas en sus extremos, sin tensión y cargadas en la mitad de su longitud: 3 puntos.
- Probetas apoyadas en los extremos, sin tensión y cargadas en dos puntos equidistantes en los extremos: 4 puntos.

La ejecución correcta de los ensayos en los materiales es importante ya que permite, conocer su comportamiento ante diferentes circunstancias y obtener correctamente sus propiedades. Asimismo, su realización puede ayudar a asegurar que sus productos sean fabricados según la normativa y legislación. (AIMPLAS, s.f.)

3.4.3 Pruebas de compresión

La prueba de compresión es un procedimiento de prueba utilizado para determinar la resistencia de un material a las cargas de compresión. En esta prueba, se coloca una muestra de material en un probador de compresión y se aplica una carga axial a la muestra. Se mide en unidades de fuerza por área de sección transversal de la muestra. La muestra se comprime gradualmente hasta la carga máxima que puede soportar antes de que ocurra la falla. La carga máxima se da en unidades de presión, como psi y MPa. Las pruebas de compresión se utilizan ampliamente para evaluar la calidad y la durabilidad de los materiales de construcción, como el hormigón, el ladrillo y la piedra, así como los componentes mecánicos y estructurales.

Utilizando la norma Norma D695-15.

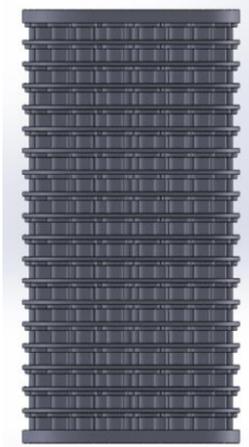


Figura 8. Modelaje en SolidWorks de la probeta de compresión

3.4 Prueba de recuperación

Para esta prueba se realizó para verificar la capacidad de recuperación utilizando solamente dos diseños, el de rana y el de gecko. El diseño con el cual se trabajó para esta prueba fue de un cubo con las medidas de 30 mm x 30 mm x 30 mm en el programa SolidWorks.

3.3.5 Biocompatibilidad

La biocompatibilidad es la capacidad de un material de ser utilizado para una aplicación específica sin tener efectos tóxicos o perjudiciales sobre la función biológica (Ribeiro DA, et al., 2005). Para las pruebas de biocompatibilidad se utilizaron los andamios con medidas de 1x1 cm².

Las células utilizadas en este proyecto tienen como nombre cultivo de células inmortalizadas, se les da este nombre ya que consiste en cultivar células que han adquirido la capacidad de dividirse indefinidamente y no experimentan la muerte celular tras varias divisiones de las mismas. Existen dos tipos de células las cuales tienen estas características, la primera es el cáncer o células tumorales y las células que se utilizan en las investigaciones ya que son modificadas genéticamente para que sean parecidas a las cancerígenas.

Para trabajar en esta prueba realicé una estadía en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM Campus Juriquilla Querétaro dándonos una explicación de cómo se utilizan y se usan los equipos del laboratorio de Bio óptica para poder empezar trabajar en el proyecto.

Empezando por esterilizar todo el material necesario para trabajar como por ejemplo puntas para las micropipetas y frascos en donde almacenaríamos nuestros reactivos.



Figura 9. Material Esterilizado

El material se esteriliza en un equipo llamado autoclave el cual funciona mediante el uso de vapor de agua a una presión y temperatura alta para matar microorganismos y eliminar cualquier forma de contaminación posible que pueda residir en los objetos.

El proceso comienza llenando la autoclave con agua destilada hasta cierto punto y calentándola a una temperatura aproximadamente de 121 °C para crear el vapor, una vez cerrado la autoclave el vapor penetra los objetos así esterilizándolos de forma rápida y efectiva.

El proceso acaba cuando la temperatura dentro del autoclave regresa a temperatura ambiente y los objetos pueden ser retirados, el material puede seguir teniendo algo de líquido gracias al vapor así que se introduce una hora al horno para secar por completo.



Figura 10. Autoclave

Ya cuando tenemos nuestro material listo y esterilizado procedemos a ir por las células al laboratorio de Neurobiología ya que cuenta con un Ultracongelador que es necesario para la conservación de las células a una temperatura muy baja.

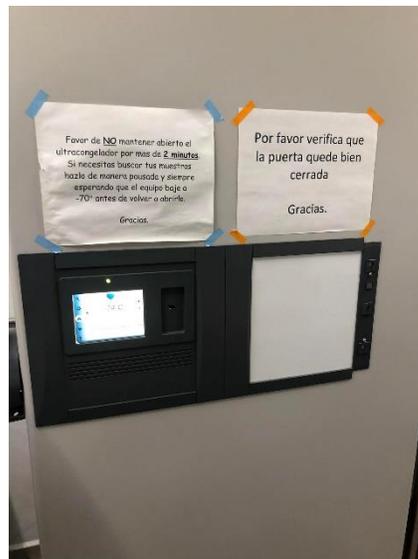


Figura 11. Ultracongelador

Utilizando una gradilla de enfriamiento la cual puede conservar hasta -20 grados transportamos la línea celular que tiene por nombre 3T3-L1 (fibroblastos) hasta el

laboratorio y procedemos a calentarlas en un baño maría a 37 grados hasta que esté completamente descongelado para su uso.



Figura 12. Gradilla de enfriamiento

Al momento de que las células sean descongeladas tendremos que cultivarlas en una caja Petri para observar su crecimiento durante los siguientes 3 días y volver a cambiarlas cuando veamos que las células hayan ocupado alrededor del 80% de la caja, para esto primeramente tenemos que utilizar micropipetas y administrar en la caja Petri el DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) el cual es un medio de cultivo que contiene sustancias químicas como aminoácidos, vitaminas, glucosa y sales que son importantes para el desarrollo y el crecimiento de las células. Ya colocado el medio con las células, la caja Petri se guarda en una incubadora a 37°C y con 5% de CO₂ ya que son requerimientos básicos en el crecimiento de las células.



Figura 13. DMEM

Dejamos las células guardadas hasta que sea el momento de cambiarlas de caja Petri y dividir las.



Figura 14. Micropipetas

Cambio de células

Al observar que las células ya ocuparon aproximadamente el 80% de la caja ya podemos realizar el cambio de las células el cual tiene varios pasos, primero es absorber el medio que contiene la caja con pipetas Pasteur (las células están pegadas a la caja así que no hay problema al hacer esto), al momento de absorber el medio se lava la caja con 5 ml de PBS el cual es una solución salina tamponada con fosfato el cual sirve para enjuagar las células, durante 5 minutos.

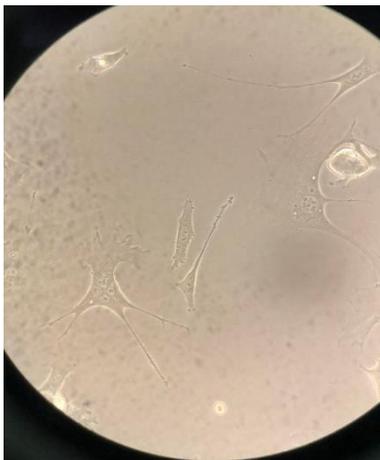


Figura 15. Células observadas desde el microscopio



Figura 16. Pipetas pasteur

Pasados los 5 minutos del PBS se absorbe con otra pipeta Pasteur y se agregan 3 ml de Triplexpress durante 5 a 15 minutos ya que esta línea celular tiende a pegarse mucho el cual sirve para despegar las células de la caja y servirá para realizar el conteo celular.



Figura 17. PBS

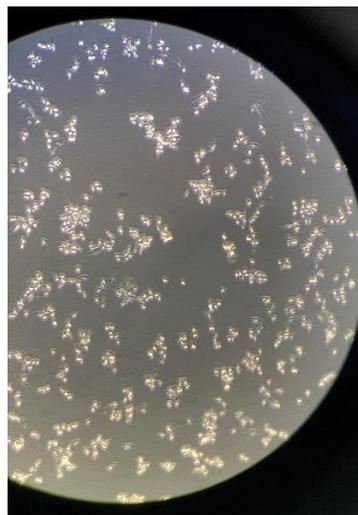


Figura 18. Células despegadas por el Triplexpress

Cuando haya pasado el tiempo y las células se vean como la imagen anterior ya podemos pasar al siguiente paso que es disgregar las células por toda la caja para obtener la mayor cantidad de células y pasarlas a un tubo Falcon y se agregan 6 mililitros de medio para llegar a los 10 mililitros con el doble de triple usado anteriormente.

Cuando tengamos el tubo con los 10 mililitros y las células pasamos a centrifugar poniendo un contrapeso el cual tiene que tener el mismo peso que el tubo Falcon deseado a 4000 RPM durante 6 minutos, al terminar el tiempo se podrá observar que el pellet de células está concentrado en una pared, los 10 mililitros de medio se absorben con una pipeta Pasteur dejando solo el pellet y teniendo cuidado de no absorberlo.

Y se agrega de nuevo 4 mililitros de medio disgregando (lavando) el pellet una y otra vez con el medio, con ayuda de las micropipetas y las puntas de 10 microlitros depositamos en la cámara de Neubauer la cual nos ayudará con el conteo celular.



Figura 19. Tubo Falcon



Figura 20. Cámara de Neubauer

La cámara de Neubauer es un dispositivo utilizado para contar células y otras partículas presentes en un líquido. Esta cámara está conformada de dos placas de vidrio delgadas las cuales tienen una cuadrícula grabada en la superficie, las cuales tienen un espacio reservado para colocar la muestra líquida y analizarla en el microscopio.

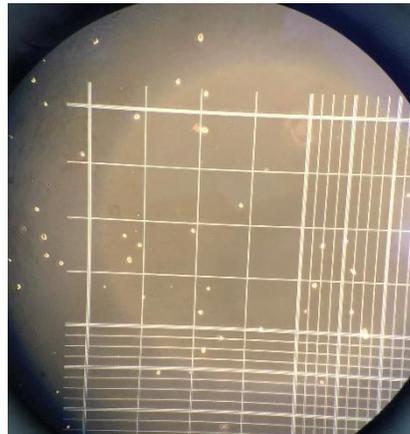


Figura 21. Cámara de Neubauer vista desde el microscopio

Al momento de utilizar la cámara de Neubauer podemos observar 4 cuadrantes iguales a la figura 32 en las cuales se cuentan las células dentro de dichos cuadrantes, al sumar la cantidad resultante de los 4 cuadrantes se divide entre el número de mililitros en los cuales se re suspendió las células después de ser centrifugadas (los cuales fueron 4 mililitros) y realizamos una serie de cálculos para sacar el número de células por cada mililitro.

Ensayo MTT

Es una técnica utilizada en ensayos de viabilidad celular para evaluar la actividad metabólica de las células. Se basa en la capacidad de las células metabólicamente activas para reducir el bromuro de tetrazolio (MTT) en un producto insoluble de color púrpura.

Las células se cultivan en placas de cultivo en presencia de la sal de tetrazolio bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) la cual es reducida por una enzima presente en las mitocondrias de las células activas, dividiéndose e incorporándolo a sus mitocondrias.

Sabiendo el principio del ensayo pudimos empezar a realizar las pruebas en el laboratorio, después de hacer el conteo celular y saber cuántas células tenemos disponibles realizamos algunos cálculos para saber exactamente cuántos microlitros de células plantaremos en las placas de 24 pozos para tener un control con 0, 3000, 6000, 12000 y 18000 células a diferentes días 1.3 y 7 para observar y determinar cuál día y concentración es mejor para el crecimiento.



Figura 22. Placa de 24 pozos

Se realizaron varias pruebas para poder aprender a utilizar bien este ensayo y no fallar al momento de utilizar probetas, para iniciar el ensayo con probetas se esterilizaron con 75 ml de etanol a 96% y 25 ml de agua destilada durante 10 minutos, después se dejaron secar en la campana durante el tiempo que fuera necesario.

Al momento que se secan las probetas se dejaron por 10 minutos por cada lado de la probeta volteándolas con unas pinzas esterilizadas, el proceso de esterilización fue con la ayuda de una lampara de rayos UV modelo UVGL-55

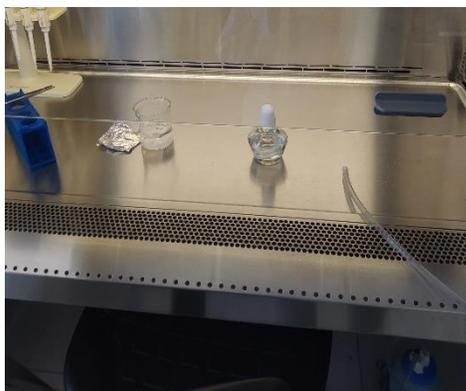


Figura 23. Proceso de esterilidad en las probetas



Figura 24. Lampara de UV

Al tener las probetas esterilizadas procedemos a ponerlas en las placas de 24 pozos para realizar el crecimiento celular y su respectivo ensayo MTT a los días 1, 3 y 7

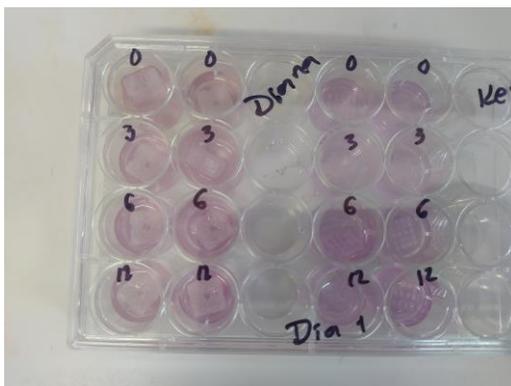


Figura 25. Prueba del primer día con probetas

Al paso de los días que se realizarían cada prueba 1,3 y 7 se cambiaban las células a una placa de 96 pozos diluyéndolo con DMSO (Dimetilsulfóxido) para notar el cambio de la coloración en las células y el conteo de las mismas no saliera similar en el lector de microplatos.

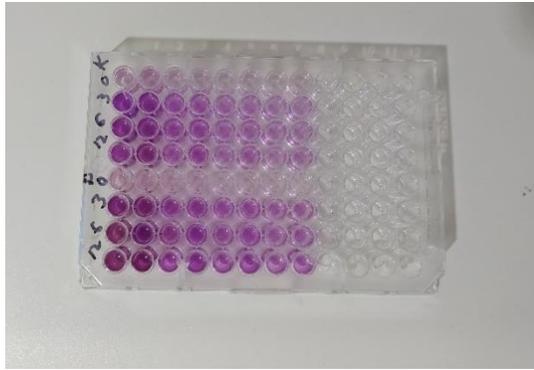


Figura 26. Placa de 96 microplatos



Figura 27. Lector de microplatos

El lector de microplatos se utiliza para medir la proliferación de las células en las placas, el principio básico es que el dispositivo mide la cantidad de luz absorbida o emitida por las células en la placa. La mayoría de lectores utiliza la tecnología de absorbancia o fluorescencia para medir el crecimiento.

3.3.5.1 Ensayo MTT

Es una técnica utilizada en ensayos de viabilidad celular para evaluar la actividad metabólica de las células. Se basa en la capacidad de las células metabólicamente activas para reducir el bromuro de tetrazolio (MTT) en un producto insoluble de color púrpura.

Las células se cultivan en placas de cultivo en presencia de la sal de tetrazolio bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) la cual es reducida por una enzima presente en las mitocondrias de las células activas, dividiéndose e incorporándolo a sus mitocondrias.

3.3.5.2 Microscopia Confocal

El microscopio confocal se ha convertido en un instrumento vital para el examen de la estructura subcelular, especialmente en células teñidas fluorescentemente. Debido a su capacidad de reducir notablemente la llamada desenfozada, en comparación con el microscopio de fluorescencia de campo amplio convencional, el microscopio confocal proporciona una mejora sustancial en la resolución a lo largo del eje "z" y permite el seccionamiento óptico de las células.

Capítulo 4. Resultados

4.1 SEM

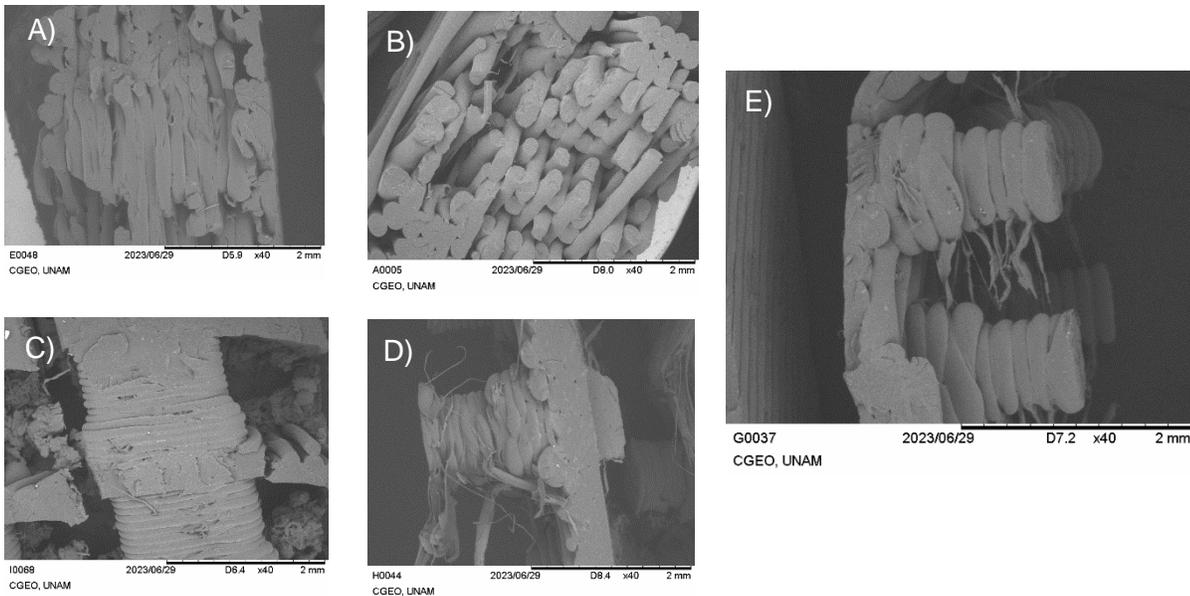


Figura 28. Imágenes SEM de materiales impresos en 3D con PLA, a) Entramado de Gecko tipo A, b) Entramado de Gecko tipo B, C) a E) Entramado de Rana

Con los resultados obtenidos de las pruebas de SEM se observó con más claridad los entramados impresos con PLA, en la imagen E) y C) podemos observar con más detalle el entramado de rana e incluso se observa el filamento, a diferencia de las imágenes A) y B) los cuales no se ve el entramado, pero si el filamento y su distribución.

4.2 Flexión

En las pruebas de flexión se mandaron 5 impresiones de cada tipo de entramado para observar su deformación y su esfuerzo, obteniendo los siguientes resultados.

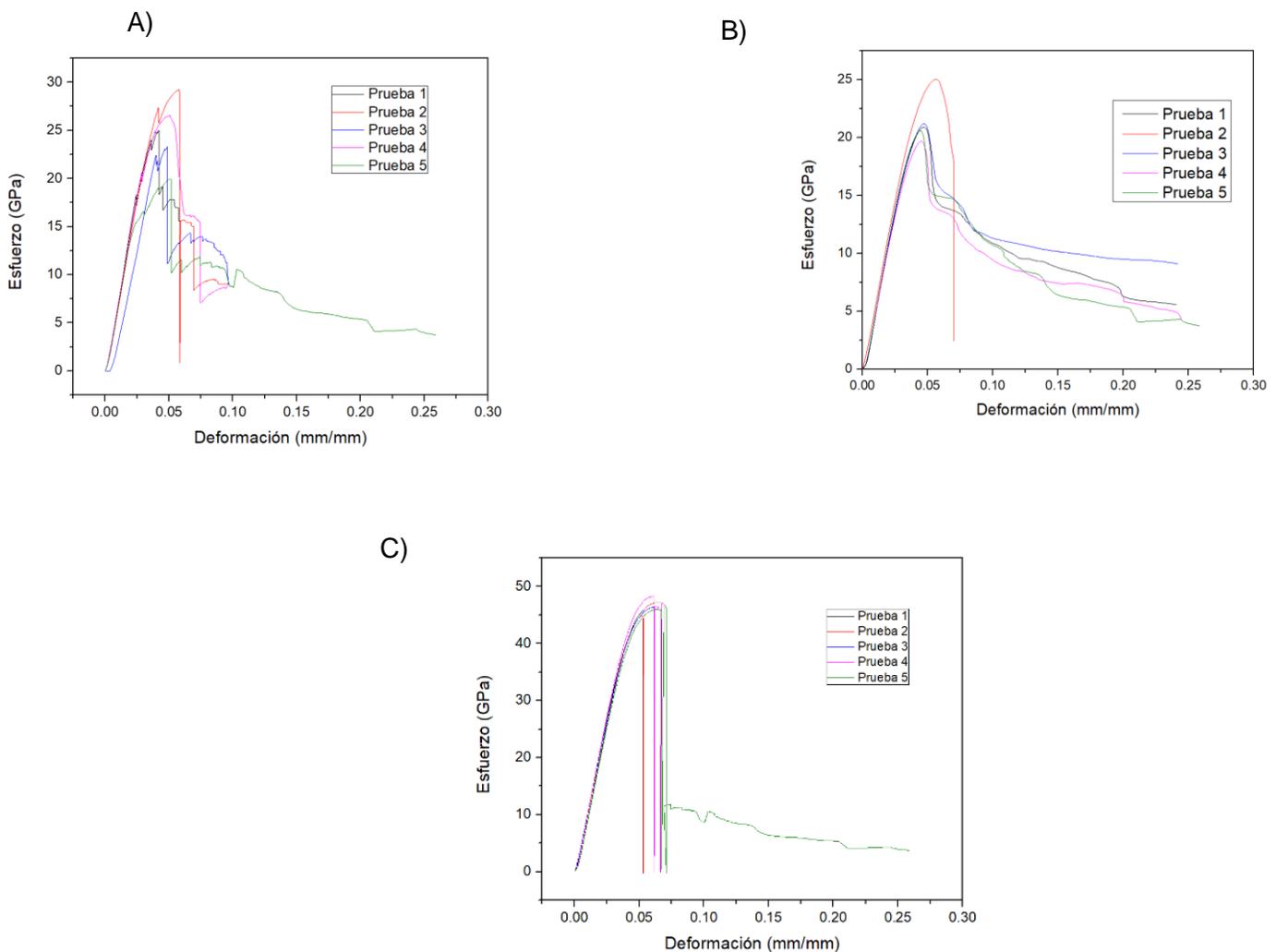


Figura 29. Graficas de los resultados de las pruebas de flexión, A) Entramado Gecko tipo A, B) Entramado Gecko tipo B, C) Entramado Rana

Se observa que el entramado de rana es la que mayor esfuerzo tiene entre los 3 diferentes tipos de entramado, pero su deformación ocurre muy rápido en comparación de los entramados de Gecko las cuales no tienen un gran esfuerzo, tienen una mayor resistencia a la deformación que la de Rana. El PLA es un material que destaca en resistencia, pero esta puede variar con el grado cristalinidad y su diseño, esto implica que el diseño de Rana aumenta su resistencia y lo podemos observar en la imagen C).

4.3 Compresión

En esta prueba de caracterización también se mandaron 5 diferentes pruebas de cada entramado, los resultados fueron los siguientes.

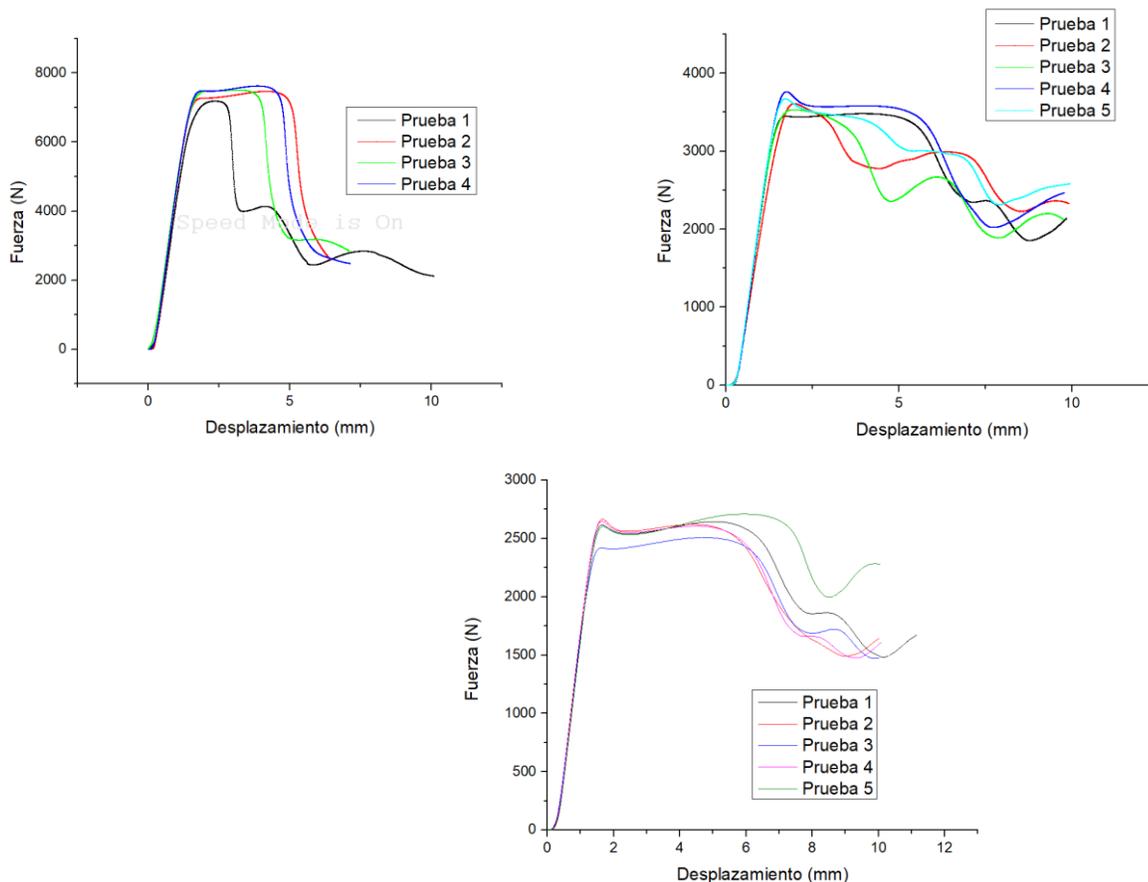


Figura 30. Graficas con los resultados de las pruebas de compresión, A) Entramado Rana, B) Entramado Gecko tipo A, C) Entramado Gecko tipo B

De estos resultados se puede observar que la fuerza requerida en el PLA en el entramado de la Rana es superior a las de los entramados de los Geckos, mientras que el desplazamiento de los tres entramados es similar, el de Gecko tipo A ligeramente mayor.

Al igual que en las pruebas de flexión, estos resultados se deben a la capacidad del PLA de soportar cargas y tensiones debido a su cristalinidad y el diseño que las probetas contienen, dando la razón a que el entramado de Rana incrementa la resistencia o la fuerza necesaria de la carga para poder realizar esta prueba.

4.4 Recuperación

Para este experimento se utilizó una parrilla, un termómetro de -20 a 150 °C, un calibrador vernier y un vaso precipitado de 400 ml. Se imprimieron 6 probetas, 3 de cada tipo de diseño utilizando el filamento PLA.

Utilizando una parrilla se calentó agua hasta 80 C°, una vez alcanzada la temperatura deseada se introdujeron las piezas, en este caso solo se utilizaron dos diferentes entramados, el de rana y gecko tipo A.

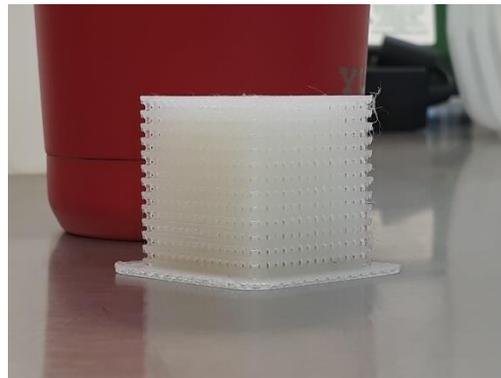


Figura 31. Diseños impresos de las probetas de recuperación

Las piezas se calentaron durante 10 minutos a 80 C°, transcurrido el tiempo utilizando una prensa del Instituto Nacional de México Campus Querétaro, se aplicó fuerza hasta aplastar la pieza a un 75% del tamaño original de la pieza, inmediatamente después de ser aplastada

hasta el porcentaje deseado se introdujo de nuevo en el agua caliente para poder observar el nivel de recuperación de cada una de las piezas obteniendo los siguientes resultados.

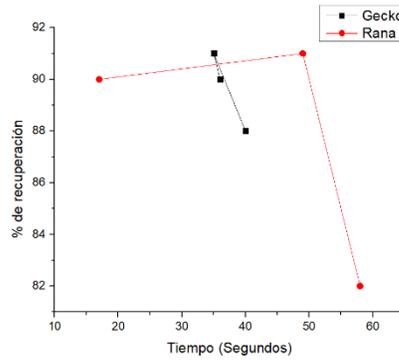


Figura 32. Grafica de recuperación de los entramados

La probeta de Gecko tuvo una mejor recuperación y un tiempo más estable que el entramado de rana, así como la fuerza requerida para poder llegar al 75% de su tamaño.

4.5 Biocompatibilidad

En este proyecto utilizamos las células llamadas Fibroblastos, después de hacer el conteo celular y saber cuántas células tenemos disponibles realizamos algunos cálculos para saber exactamente cuántos microlitros de células plantaremos en las placas de 24 pozos para tener un control con 0, 3000, 6000, 12000 y 18000 células a diferentes días 1, 3 y 7 para observar y determinar cuál día y concentración es mejor para el crecimiento.

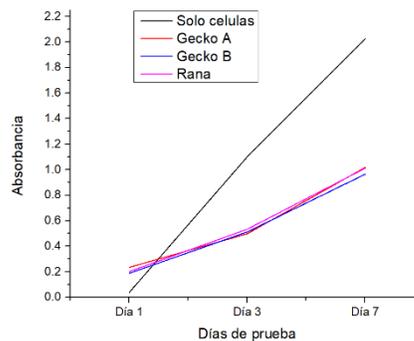


Figura 33. Grafica comparativa del crecimiento de 3000 fibroblastos mediante el ensayo MTT.

Al realizar algunas pruebas nos dimos cuenta que el mejor número de células para trabajar son 3000 y el mayor crecimiento se da entre los 3 y 7 días de las pruebas.

En la figura podemos observar la absorbancia de los 3 tipos de entramados la cual no tienen gran diferencia entre cada una, mostrando una pequeña mejora en el entramado de Rana sobre las otras en el día 7 pero teniendo una similitud en los días 1 y 3.

En la siguiente figura se observan las imágenes obtenidas mediante el microscopio confocal las cuales muestran los fibroblastos teñidos con un marcador fluorescente DAPI (Azul, núcleo) y TRITC (Rojo, microtúbulos)

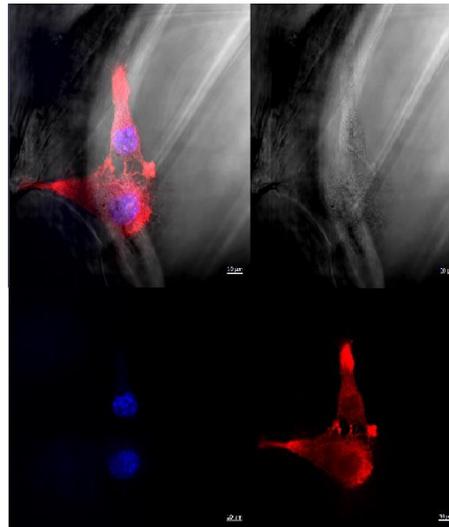


Figura 34. Microscopía confocal de células de fibroblastos después de haberlas cultivado durante 7 días en DMEM, contaminadas con DAPI (azul, núcleo) y TRITC (rojo, microtúbulos).

Cronograma de actividades:

Tabla 3. Cronograma

Etapas/Meses		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1- Revisión de la literatura	P	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	R	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2- Definir condiciones para FDM (PLA/PHA)	P		■	■	■																				
	R										■	■	■												
3.-Capacitación de Solid Works	P				■	■	■																		
	R										■	■	■												
4-Diseño de las estructuras y probetas para la cantidad	P							■	■	■															
	R										■	■	■												
5.-Definir cantidad de PLA/PHA que se requiere	P								■	■	■														
	R									■	■	■													
6.-Cotizar y adquirir filamento	P									■	■	■													
	R									■	■	■													
7.-Capacitación para manejo de la impresora FDM	P							■	■	■	■	■	■												
	R										■	■													

14.-Preparación del producto académico	R	[Bar chart with 20 blue bars]																			
15.-Preparación de la tesis y presentación	P	[Bar chart with 20 black bars]																			
	R	[Bar chart with 20 blue bars]																			

Infraestructura y/o recursos económicos:

El proyecto de investigación se realizará en del Instituto Tecnológico de Querétaro (ITQ), en el caso de este proyecto la vinculación será con el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM, para realizar las pruebas de biocompatibilidad, así mismo si es necesario realizar modificaciones a la impresora 3D durante el proyecto se recurrirá al vínculo que tiene la línea de Materiales y Nanotecnología con la empresa industria 55.

Presupuesto:

El proyecto se desarrollará con los recursos conseguidos por el grupo de Materiales Avanzados y Nanotecnología del posgrado en Ingeniería.

Conclusiones

El PLA ofrece importantes beneficios en la ingeniería de tejidos, como biocompatibilidad, versatilidad y facilidad de procesamiento. Estas características ayudan a completar el proyecto, el crecimiento de las células es notable y con la ayuda del microscopio confocal fue tanta que se logró enfocar los fibroblastos teñidos con DAPI y TRITC en los andamios. También se concluyó que los andamios impresos tienen un crecimiento similar. Los resultados de las pruebas de recuperación demuestran que el andamio de Gecko tiene un mejor tiempo de recuperación que el de la rana. Las pruebas de flexión dieron como resultado que el andamio tipo Rana tiene una buena resistencia, pero su deformación ocurre rápidamente. Los resultados obtenidos en las diferentes pruebas realizadas muestran que el andamio de Rana es mejor que el andamio de Gecko por ejemplo la prueba de flexión y biocompatibilidad, el andamio tuvo mejores resultados fue en la prueba de recuperación.

Referencias

- (NIBIB), N. I. (s.f.). *Nibib.nih.gov*. Obtenido de Nibib.nih.gov: <https://www.nibib.nih.gov/espanol/temas-cientificos/ingenier%C3%ADa-de-tejidos-y-medicina-regenerativa-0>
- Ahmed Z. Naser, I. D. (2021). Poly(lactic acid) (PLA) and polyhydroxyalkanoates (PHAs), green alternatives to petroleum-based plastics: a review. *RSC Advances*, 17151-17196.
- Álvarez, D. O. (15 de Julio de 2021). *Concepto*. Obtenido de Concepto: <https://concepto.de/polimeros/Anh-Vu>
- Do, B. K. (2015). 3D Printing of Scaffolds for Tissue Regeneration Applications. *Adv Healthc Mater*, 52242.
- Autodesk. (s.f.). Obtenido de <https://www.autodesk.mx/solutions/3d-printing>
- Brahatheeswaran Dhandayuthapani, Y. Y. (2011). Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. *International Journal of Polymer Science*, 19.
- César-Juárez, Á. A.-M.-S.-S.-B.-P. (2018). Uso y aplicación de la tecnología de impresión y bioimpresión 3D en medicina. *Revista de la Facultad de Medicina*, 43-51.
- Deans, M. (2015). *BIOPOLYMERS: APPLICATIONS AND TRENDS*. USA: Elsevier.
- Dra. Elisabet Engel, P. J. (3 de mayo de 2017). *Fundación "La Caixa"*. Obtenido de Fundación "La Caixa": <https://blog.caixaresearch.org/la-importancia-de-la-investigacion-en-ingenieria-de-tejidos/>
- GONZÁLEZ GARCÍA, Y. M. (2013). Síntesis y biodegradación de polihidroxicanoatos: plásticos de origen microbiano. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 77-115.
- J.O'Brien, F. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *materialstoday*, 88-95.
- K. Van de Velde, P. K. (2002). Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. *POLYMER TESTING*, 433-442.
- Kirstie R. Ryan, M. P. (2021). Future of additive manufacturing: Overview of 4D and 3D printed smart and advanced materials and their applications. *Chemical Engineering Journal*, 126162.
- Liliana Serna C, A. R. (2003). *Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones*.

- Mariano. (23 de octubre de 2012). *blogspot*. Obtenido de *blogspot*:
<https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2012/10/polihidroxialcanoatos-pha.html>
- Montañez Supelano, N. (2014). Materiales de origen natural para uso biomédico.
Medicas UIS, 35-41.
- Quan Liu, D. T. (2021). Adhesion Enhancement of Micropillar Array by Combining the Adhesive Design from Gecko and Tree Frog. *small*, 2005493.
- Vigneshwaran Shanmugam, O. D. (2021). Fatigue behaviour of FDM-3D printed polymers, polymeric composites and architected cellular materials. *International Journal of Fatigue*, 106007.
- Villar, J. P. (septiembre de 2019). ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES UTILIZADOS PARA LA CONSTRUCCIÓN DE PRÓTESIS IMPRESAS MEDIANTE TECNOLOGÍA FDM. Madrid.
- Zhou, S. K. (2016). Current status of 4D printing technology and the potential of light- reactive smart materials as 4D printable materials. *Virtual and Physical Prototyping*, 1745-2767.
- Chen, W., Lu, F., Frew, D. J., & Forrestal, M. J. (2002). Dynamic Compression Testing of Soft Materials. *Journal of Applied Mechanics*, 69(3), 214. doi:10.1115/1.1464871
- Tobushi, H., Matsui, R., Hayashi, S., & Shimada, D. (2004). The influence of shape-holding conditions on shape recovery of polyurethane-shape memory polymer foams. *Smart Materials and Structures*, 13(4), 881–887.