



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Estudio de un biomaterial polimérico de
conducción iónica basado en
policaprolactona para posibles
aplicaciones en ingeniería de tejidos óseos**

Estefanía Correa Muñoz

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Minas. Departamento de Materiales y Minerales
Medellín, Colombia
Noviembre 2016

Estudio de un biomaterial polimérico de conducción iónica basado en policaprolactona para posibles aplicaciones en ingeniería de tejidos óseos

Estefanía Correa Muñoz

Tesis presentada como requisito para optar al título de:
Magister en Ingeniería-Materiales y Procesos

Directora:

Dr.I. Maria Elena Moncada Acevedo

Codirector:

Dr. C. Víctor Hugo Zapata Sánchez

Línea de Investigación: Biomateriales

Grupos de Investigación:

Grupo de Materiales Avanzados y Energía. MATyER-ITM

Grupo de Cerámicos y Vítreos-UNALMED

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Minas. Departamento de Materiales y Minerales

Medellín, Colombia

Noviembre 2016

MIS AGRADECIMIENTOS

A mi esposo Alexander Yepes, a quien amo con todo mí ser. Por estar siempre a mi lado y apoyarme en todo, además de ser la motivación para continuar y poder culminar este proceso satisfactoriamente.

A mis padres Luis Eduardo Correa y Gloria María Muñoz. Su paciencia y dedicación me han acompañado cada instante. Su apoyo incondicional ha impulsado mi vida y permitieron llevar a cabo todo este proceso de formación.

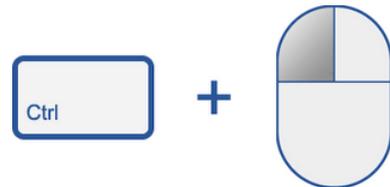
A mi hermano Sebastián Correa por todo el apoyo brindado.

A los profesores Maria Elena Moncada y Víctor Hugo Zapata quienes me acogieron y brindaron su conocimiento y apoyo.

De manera especial quiero dar mis agradecimientos a los laboratorios de Ciencias Térmicas, Materiales Poliméricos y Microscopia Electrónica de Barrido del Instituto Tecnológico Metropolitano, al laboratorio de Cerámicos y Vítreos de la Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín, al laboratorio de Difracción de Rayos X y al Biobanco de la IPS Universitaria de la Universidad de Antioquia, por la colaboración y disposición para la realización de las diferentes pruebas que hicieron posible este trabajo.

Nota al lector

En los diferentes capítulos del presente trabajo se hace mención a secciones, figuras y tablas presentadas a lo largo del documento, por esta razón para facilitar la lectura y visualización de estos elementos se incluyó un hipervínculo cada vez que son mencionados, para usarlos solo debe hacer clic sobre el elemento manteniendo la tecla control presionada.



RESUMEN

Se prepararon dos sistemas de electrolito polimérico a base de policaprolactona, nitrato de plata y nitrato de magnesio con diferentes composiciones de sal mediante evaporación lenta de disolvente y electrohilado. Se emplearon técnicas de Difracción de Rayos X, Calorimetría Diferencial de Barrido y Espectroscopia de Impedancia Compleja para caracterizar las muestras obtenidas por ambas técnicas y Microscopía Electrónica de Barrido, ensayo de tracción y citotoxicidad a muestras obtenidas por la técnica de electrohilado. En general, se evidenció una disminución en la cristalinidad de las muestras cuando se aumentó el contenido de sal tanto para la evaporación lenta del disolvente como para la técnica de electrohilado. El andamio de PCL sin sales mostró perlas junto con fibras finas, mientras que para los andamios de PCL con sales sólo se observaron fibras. La adición de sal a las soluciones empleadas para electrohilar cambia significativamente la estabilidad del cono de Taylor. Las inestabilidades en el cono de Taylor dan como resultado el aumento del diámetro de las fibras (~200 nm) en comparación con PCL sin sal (~98 nm), fibras ramificadas y porosas. Los defectos en las fibras tienen un enorme impacto en las propiedades mecánicas de los andamios. Para las muestras obtenidas por evaporación lenta del disolvente, las conductividades más altas se encontraron para una composición del 20% para ambas sales. Sin embargo, para las muestras obtenidas por electrohilado no fue el caso. Las conductividades más altas para el andamio con nitrato de plata y nitrato de magnesio se encontraron para 10% y 5% de composición de sal, respectivamente. Se encontró que el diámetro de las fibras y la concentración de sales juegan un papel importante en las propiedades eléctricas de los andamios. La muestra de PCL-5Mg-EL mostró mayor similitud con las propiedades óseas descritas en la literatura, especialmente con el hueso trabecular. Por lo tanto, tiene potencial para aplicarse en la ingeniería de tejidos óseos

Palabras clave:

Policaprolactona
Conductividad iónica
Electrolito polimérico
Propiedades mecánicas
Andamios
Biomateriales

ABSTRACT

Two polymer electrolyte systems based on polycaprolactone, silver nitrate and magnesium nitrate with different compositions of salt have been prepared by slow solvent evaporation and electrospinning. X-ray diffraction (XRD), Differential Scanning Calorimetry (DSC) and complex impedance spectroscopy techniques were employed to characterize the samples obtained by both techniques and Scanning Electron Microscopy (SEM), tensile test and cytotoxicity test to samples obtained by electrospinning technique. In general, a decrease in the crystallinity of the samples was evidenced when the salt content was increased for both slow solvent evaporation and electrospinning technique. The scaffold of PCL without salts showed lots of beads along with fine fibers, while for the scaffolds of PCL with salts only fibers were observed. The addition of salt to solutions employed for electrospinning significantly changes Taylor's cone stability. Instabilities in the Taylor's cone results in the increase in the diameter of the fibers (200nm) by comparison with of PCL without salt (98nm), branched and porous fibers. Defects in fibers have an enormous impact the mechanical properties of the scaffolds. For samples obtained by slow solvent evaporation, the highest conductivities were found for 20% composition for both salts. However, for samples obtained by electrospinning this was not the case. The highest conductivities for scaffold with silver nitrate and magnesium nitrate found for 10% and 5% composition respectively. It was found that fibers diameter and concentration of salts play an important role in the electrical properties of the scaffolds. PCL-5Mg-EL sample showed greater similarity to the bone properties reported in the literature, especially with the trabecular bone. Therefore, it has potential to be applied in bone tissue engineering

Keywords:

Polycaprolactone
Ionic conductivity
Polymer electrolyte
Mechanical properties
Scaffolds
Biomaterials

CONTENIDO

Resumen.....	5
Lista de figuras.....	10
Lista de tablas.....	14
Introducción	16
Objetivos	18
Objetivo General	18
Objetivos específicos	18
1. Capítulo uno: Marco teórico	19
1.1 Aspectos teóricos	19
1.1.1 Tejido óseo-hueso	19
1.1.2 Ingeniería de tejidos óseos	20
1.1.3 Biomateriales poliméricos.....	21
1.1.4 Conducción iónica en polímeros	22
1.2 Técnicas para elaboración de membranas poliméricas	25
1.2.1 Evaporación lenta de disolvente (Solvent Casting).....	25
1.2.2 Electrohilado (Electrospinning)	25
1.3 Técnicas de caracterización.....	27
1.3.1 Difracción de rayos X (XRD)	27
1.3.2 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	28
1.3.3 Espectroscopia de impedancia compleja.....	28
1.3.4 Prueba de tensión	30
1.3.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	31
1.3.6 Pruebas citotóxicas.....	31
2. Capítulo dos: Estado del arte.....	32
2.1 Biomateriales poliméricos usados en ingeniería de tejidos óseos	32
2.2 Estimulación eléctrica para tejidos óseos.....	34
2.3 Polímeros conductores aplicados a la ingeniería de tejidos óseos	36
2.4 Electrohilado para la construcción de andamios para tejido óseo.....	37

3.	Capítulo tres: Metodología.....	38
3.1	Materiales.....	38
3.2	Obtención de membranas.....	40
3.2.1	Evaporación lenta de disolvente (Solvent Casting)	40
3.2.2	Electrohilado (Electrospinning)	41
3.3	Caracterización de membranas	43
3.3.1	Caracterización estructural.....	43
3.3.2	Caracterización térmica.....	44
3.3.3	Caracterización morfológica	44
3.3.4	Caracterización mecánica	45
3.3.5	Caracterización eléctrica	45
3.3.6	Caracterización citotóxica.....	47
4.	Capítulo cuatro: Resultados y discusiones.....	48
4.1	Membranas obtenidas por evaporación lenta de disolvente.....	48
4.1.1	Sistema PCL-Ag-SC	48
4.1.1.1	Análisis XRD	49
4.1.1.2	Análisis DSC.....	50
4.1.1.3	Conductividad iónica	51
4.1.2	Sistema PCL-Mg-SC.....	56
4.1.2.1	Análisis XRD	57
4.1.2.2	Análisis DSC.....	58
4.1.2.3	Conductividad iónica	59
4.2	Membranas obtenidas por electrohilado	64
4.2.1	Sistema PCL-Ag-EL	64
4.2.1.1	Análisis XRD	65
4.2.1.2	Análisis DSC.....	65
4.2.1.3	Análisis morfológico.....	67
4.2.1.4	Propiedades mecánicas	70
4.2.1.5	Conductividad iónica	72
4.2.1.6	Citotoxicidad.....	75
4.2.2	Sistema PCL-Mg-EL.....	76
4.2.2.1	Análisis XRD	77
4.2.2.2	Análisis DSC.....	78
4.2.2.3	Análisis morfológico.....	79
4.2.2.4	Propiedades mecánicas	81
4.2.2.5	Conducción iónica.....	82

4.2.2.6	Citotoxicidad.....	86
4.3	Efecto de las técnicas en las propiedades de las membranas.....	87
4.4	Efecto de las sales en las propiedades de las membranas.....	89
4.5	Comparación de las propiedades del tejido óseo y las membranas obtenidas por electrohilado.....	93
5.	Capítulo cinco: Conclusiones.....	96
6.	Anexos.....	98
7.	Referencias.....	119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Representación de movilidad de iones en un electrolito polimérico	23
Figura 1.2. Gráficos de los modelos VTF (izquierda) y Arrhenius (derecha) para los complejos PEO-LiSCN y PEO-LiI respectivamente.....	24
Figura 1.3. Componentes del sistema de electrohilado.....	26
Figura 1.4. Interacción entre los rayos X y la estructura cristalina de un material	27
Figura 1.5. Grafica de Z' vs Z''	29
Figura 1.6a) Esquema del montaje de la muestra y b) Representación del montaje en forma de circuito equivalente.....	30
Figura 1.7. Diagrama esfuerzo- deformación	30
Figura 3.1. Formación del complejo a) polímero-Ag ⁺ y b) polímero-Mg ⁺²	39
Figura 3.2. Patrón de difracción para el nitrato de plata. Ref. 96-210-5349 y el nitrato de magnesio hexahidratado Ref. 00-014-0101	40
Figura 3.3. Procedimiento para obtención de membranas PCL-xMg-SC.....	41
Figura 3.4. Procedimiento para obtención de membranas PCL-xAg-SC	41
Figura 3.5. Parámetros de operación establecidos para el sistema de electrohilado	42
Figura 3.6. Porta-muestras para pruebas mecánicas	45
Figura 3.7. Procedimiento pruebas eléctricas	46
Figura 4.1. Membrana obtenida (blanca) y muestra expuesta a la luz (café).....	49
Figura 4.2. Difractogramas XRD del polímero puro y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal	50
Figura 4.3. Termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal	50
Figura 4.4. Esquema de hidratación del ion plata. Elaboración propia.....	52
Figura 4.5. Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria Z'' de las muestras evaluadas a 24 y 36°C del sistema PCL-Ag-SC.....	52
Figura 4.6. a) Log (σ) vs 1000/T y b) Log (σ) vs concentración - Ea vs concentración del sistema PCL-Ag-SC	53
Figura 4.7. Tangente de perdidas normalizado para las concentraciones 5 y 20% a diferentes temperaturas	54
Figura 4.8. Tangente de perdidas normalizado para las temperaturas de 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Ag-SC	54
Figura 4.9. Circuito equivalente empleado para ajustes. Ejemplo de ajuste a muestra PCL-5Ag-SC a 36°C.....	55
Figura 4.10. Log (σ) vs 1000/T de los iones Ag ⁺ y NO ₃ ⁻ del sistema PCL-Ag-SC	56
Figura 4.11. Energías de activación para los iones Ag ⁺ y NO ₃ ⁻ vs la concentración para el sistema PCL-Ag-SC.....	56

Figura 4.12. Membrana obtenida y defectos porosos del sistema PCL-Mg-SC	57
Figura 4.13. Difractogramas DRX del polímero puro y del sistema PCL-Mg-SC con diferentes contenidos de sal.....	58
Figura 4.14. Termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Mg-SC con diferentes contenidos de sal	58
Figura 4.15. Esquema de hidratación del ion magnesio. Elaboración propia	59
Figura 4.16. Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria Z'' de las muestras evaluadas a 24 y 36°C del sistema PCL-Mg-SC	60
Figura 4.17. a) Log (σ) vs 1000/T y b) Log (σ) vs concentración - Ea vs concentración del sistema PCL-Mg-SC	61
Figura 4.18. Tangente de perdidas normalizado para las concentraciones 5 y 20% a diferentes temperaturas	61
Figura 4.19. Tangente de perdidas normalizado para las temperaturas de 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Mg-SC	62
Figura 4.20. Circuito equivalente empleado para ajuste a temperaturas superior a 36°C. Ejemplo de ajuste a muestra PCL-5Mg-SC a 36°C	63
Figura 4.21. Log (σ) vs 1000/T de los iones Mg^{+2} (a) y NO_3^- (b) del sistema PCL-Mg-SC	63
Figura 4.22. Energías de activación para los iones Mg^{+2} y NO_3^- vs la concentración para el sistema PCL-Mg-SC.....	64
Figura 4.23. a) Membrana electrohilada en el colector de aluminio y b) Muestra empleada para pruebas mecánicas. Fotografías	64
Figura 4.24. Difractogramas XRD del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal	65
Figura 4.25. Termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal	66
Figura 4.26. Micrografías SEM e histogramas de la muestra PCL-EL.....	67
Figura 4.27. Micrografías SEM e histogramas de la muestra PCL-5Ag-EL y PCL-7Ag-EL	69
Figura 4.28. Micrografías SEM e histogramas de la muestra PCL-10Ag-EL y PCL-14Ag-EL	70
Figura 4.29. Propiedades mecánicas del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL	71
Figura 4.30. Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria Z'' de las muestras evaluadas a 24 y 36°C del sistema PCL-Ag-EL.....	72
Figura 4.31. a) Log (σ) vs 1000/T y b) Log (σ) vs concentración - Ea vs concentración del sistema PCL-Ag-EL.....	72
Figura 4.32. Tangente de perdidas normalizado para las concentraciones 7 y 10% a diferentes temperaturas	73
Figura 4.33. Tangente de perdidas normalizado para las temperaturas de 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Ag-EL	74
Figura 4.34. Circuito equivalente empleado para ajuste a temperaturas superior a 36°C. Ejemplo de ajuste a muestra PCL-5Ag-EL a 36°C.....	74
Figura 4.35. Log (σ) vs 1000/T de los iones Mg^{+2} y NO_3^- del sistema PCL-Mg-SC y energías de activación	75
Figura 4.36. Viabilidad celular del polímero puro electrohilado y del sistema PCL-Ag-EL al 5 y 10% del contenido de sal	76
Figura 4.37. Muestra utilizadas para pruebas mecánicas b) muestras empleadas para pruebas eléctricas	76
Figura 4.38. a) Muestra PCL-20Mg-El y b) Gota de la solución solidificada en la punta del sistema de electrohilado	77
Figura 4.39. Difractogramas DRX del polímero puro y del sistema PCL-Mg-EL	

con diferentes contenidos de sal.....	78
Figura 4.40. Termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal.....	78
Figura 4.41. Micrografías SEM e histogramas de la muestra PCL-5Mg-EL y PCL-7Mg-EL	80
Figura 4.42. Micrografías SEM e histogramas de la muestra PCL-10Mg-EL y PCL-14Mg-EL	81
Figura 4.43. Propiedades mecánicas del polímero puro y del sistema PCL-Mg-EL	82
Figura 4.44. Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria de las muestras evaluadas a 24 y 36°C del sistema PCL-Mg-EL	83
Figura 4.45. a) $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ y b) $\text{Log}(\sigma)$ vs concentración - E_a vs concentración del sistema PCL-Mg-EL	84
Figura 4.46. Tangente de perdidas normalizado para las concentraciones 7 y 10% a diferentes temperaturas	84
Figura 4.47. Tangente de perdidas normalizado para las temperaturas de 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Mg-EL	85
Figura 4.48. Circuito equivalente empleado para ajuste a temperaturas superior a 36°C. Ejemplo de ajuste a muestra PCL-5Mg-EL a 36°C.....	85
Figura 4.49. $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ de los iones Mg^{+2} y NO_3^- del sistema PCL-Mg-ELY y energías de activación	86
Figura 4.50. Viabilidad celular del polímero puro electrohilado y del sistema PCL-Mg-EL al 5 y 10% del contenido de sal	87
Figura 4.51 Efecto de las técnicas de elaboración de membranas en los resultados XRD y DSC para el polímero puro y los sistemas PCL-Ag y PCL-Mg	88
Figura 4.52. Efecto de la técnica de elaboración de membranas en la conductividad iónica entre los sistemas PCL-Ag y PCL-Mg	89
Figura 4.53. Efecto del tipo de sal en los resultados XRD para la a técnica de elaboración lenta de disolvente y la técnica de electrohilado.	90
Figura 4.54. Esquema de formación de complejos para a) PCL-Ag y b) PCL-Mg	91
Figura 4.55. Efecto del tipo de sal en la morfología de las membranas electrohiladas, para 5 y 10%	92
Figura 4.56. Efecto del tipo de sal en las propiedades mecánicas de los andamios electrohilados.....	92
Figura 4.57. Efecto del tipo de sal en la conductividad iónica para la a técnica de elaboración lenta de disolvente y la técnica de electrohilado	93
Figura 6.1. Propiedades térmicas de la muestra PCL-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	98
Figura 6.2. Propiedades térmicas de la muestra PCL-5Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	99
Figura 6.3. Propiedades térmicas de la muestra PCL-7Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	99
Figura 6.4. Propiedades térmicas de la muestra PCL-10Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	100
Figura 6.5. Propiedades térmicas de la muestra PCL-14Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	100
Figura 6.6. Propiedades térmicas de la muestra PCL-20Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	101
Figura 6.7. Propiedades térmicas de la muestra PCL-5Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	101
Figura 6.8. Propiedades térmicas de la muestra PCL-7Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	102

Figura 6.9. Propiedades térmicas de la muestra PCL-10Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	102
Figura 6.10. Propiedades térmicas de la muestra PCL-14Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	103
Figura 6.11. Propiedades térmicas de la muestra PCL-20Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis	103
Figura 6.12. Propiedades térmicas de la muestra PCL-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis.....	104
Figura 6.13. Propiedades térmicas de la muestra PCL-5Ag-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis.....	104
Figura 6.14. Propiedades térmicas de la muestra PCL-7Ag-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis	105
Figura 6.15. Propiedades térmicas de la muestra PCL-10Ag-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis	105
Figura 6.16. Propiedades térmicas de la muestra PCL-14Ag-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis	106
Figura 6.17. Propiedades térmicas de la muestra PCL-5Mg-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis	106
Figura 6.18. Propiedades térmicas de la muestra PCL-7Mg-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis	107
Figura 6.19. Propiedades térmicas de la muestra PCL-10Mg-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis	107
Figura 6.20. Propiedades térmicas de la muestra PCL-14Mg-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis	108
Figura 6.21. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-14Ag-SC a 48°C. (Sin la formación de semicírculo).....	110
Figura 6.22. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-20Ag-SC a 48°C. (Sin la formación de semicírculo).....	111
Figura 6.23. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-7Mg-EL a 39°C. (Sin la formación de semicírculo).....	115
Figura 6.24. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-7Mg-EL a 42°C. (Sin la formación de semicírculo).....	115
Figura 6.25. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-10Mg-EL a 39°C. (Sin la formación de semicírculo).....	116
Figura 6.26. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-10Mg-EL a 42°C. (Sin la formación de semicírculo).....	116
Figura 6.27. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-10Mg-EL a 45°C. (Sin la formación de semicírculo).....	117
Figura 6.28. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-10Mg-EL a 48°C. (Sin la formación de semicírculo).....	117
Figura 6.29. Difractograma XRD de la muestra PCL-10Mg-SC obtenida con bomba de vacío.....	118

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Propiedades mecánicas del hueso cortical y trabecular	20
Tabla 1.2.Efectos en la morfología y el diámetro de la fibra con cambios en los parámetros	26
Tabla 2.1. Propiedades térmicas, mecánicas y de degradación de algunos polímeros sintéticos	33
Tabla 2.2. Efectos de diferentes estímulos de campo eléctrico y corriente eléctrica sobre los osteoblastos.....	35
Tabla 3.1. Reactivos utilizados en el estudio	39
Tabla 3.2. Pruebas de caracterización realizadas a las membranas obtenidas por evaporación lenta de disolvente y electrohilado	43
Tabla 4.1. Entalpías de reblandecimiento (ΔH_f), temperaturas de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-SC y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal	51
Tabla 4.2. Entalpia de reblandecimiento (ΔH_f), temperatura de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-SC y el sistema PCL-Mg-SC con diferentes contenidos de sal	59
Tabla 4.3. Entalpia de reblandecimiento (ΔH_f), temperatura de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-EL y el sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal	66
Tabla 4.4. Diámetro de fibras de PCL por electrohilado reportados en la literatura.....	68
Tabla 4.5. Entalpia de reblandecimiento (ΔH_f), temperatura de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-EL y el sistema PCL-Mg-EL con diferentes contenidos de sal	79
Tabla 4.6. Efecto del tipo de las en las entalpías de reblandecimiento	89
Tabla 4.7. Propiedades mecánicas y eléctricas de las muestras electrohiladas.....	94
Tabla 4.8. Comparación de las propiedades obtenidas por las membranas respecto a las propiedades del hueso	95
Tabla 6.1. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-5Ag-SC	109
Tabla 6.2. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-7Ag-SC	109
Tabla 6.3. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-10Ag-SC	109
Tabla 6.4. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-14Ag-SC	110
Tabla 6.5. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-20Ag-SC	110
Tabla 6.6. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-5Mg-SC.....	111
Tabla 6.7. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-7Mg-SC.....	111
Tabla 6.8. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-10Mg-SC.....	112
Tabla 6.9. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-14Mg-SC.....	112

Tabla 6.10. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-20Mg-SC	112
Tabla 6.11. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-5Ag-EL.....	113
Tabla 6.12. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-7Ag-EL.....	113
Tabla 6.13. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-10Ag-EL.....	113
Tabla 6.14. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-14Ag-EL.....	114
Tabla 6.15. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-5Mg-EL.....	114
Tabla 6.16. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-7Mg-EL.....	114
Tabla 6.17. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-10Mg-EL	115
Tabla 6.18. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-14Mg-EL	117

INTRODUCCIÓN

Millones de pacientes sufren de defectos óseos causados por tumores, infecciones, traumatismos o trastornos genéricos que conducen a un desarrollo esquelético anormal. Aunque el hueso tiene propiedades auto-regenerativas, cuando los defectos son de un tamaño considerable o el paciente sufre de alguna enfermedad, estos defectos no pueden sanar correctamente y se convierte en un desafío clínico resolver el problema. El uso de injertos o espaciadores surgen como elementos reparadores a partir de estudios en ingeniería de tejidos [1,2].

Actualmente en la ingeniería de tejidos óseos se emplean auto-injertos, alo-injertos y biomateriales. Los auto-injertos son considerados el “estándar de oro” en los procedimientos clínicos ya que son más eficaces para la regeneración ósea promoviendo la formación del hueso sobre su superficie por unión ósea directa induciendo a la diferenciación de células madres sin ninguna respuesta inmune [1]. Sin embargo, someter al paciente a la extracción del auto-injerto conlleva a la intervención quirúrgica, riesgo de infección o dolor a largo plazo presentándose una tasa de complicación entre el 13-30%. [2,3] Otra de las alternativas exploradas ha sido los alo-injertos pero con estos aún existen barreras inmunológicas que tratar, prevaleciendo el riesgo de transmisión de enfermedades, además de escasez de donantes [3,4].

Una de las alternativas más novedosas es la de sintetizar biomateriales capaces de reemplazar a los auto-injertos y/o alo-injertos. Dentro de los materiales más populares empleados en ingeniería de tejidos óseos están los cerámicos de fosfato de calcio como la hidroxiapatita o el trifosfato de calcio, estos se caracterizan por tener semejanza a la composición del hueso permitiéndole una mejor interacción. Los inconvenientes que sin embargo presentan los materiales cerámicos son su pobre resistencia a la tracción y susceptibilidad a la fractura [3]. Los materiales poliméricos también han tenido gran acogida en aplicaciones de ingeniería de tejidos óseos principalmente por permitir la construcción de andamios con diferentes propiedades. Sintetizar polímeros, por ejemplo, permite ajustar y diseñar el material de acuerdo a las necesidades, tales como cambiar los pesos moleculares, la configuración y conformación de cadenas poliméricas, controlar la tasa de degradación, entre otras posibilidades.

Por otra parte, las propiedades eléctricas del hueso han sido ampliamente estudiadas a partir de lo cual se ha planteado que estímulos electromagnéticos generados dentro del mismo juegan un papel importante en el control de los procesos de formación y remodelación. Debido a esto la ingeniería de tejidos óseos ha involucrado el uso de polímeros conductores, los cuales pueden emular dichas propiedades [5]. Los polímeros conductores iónicos son electrolitos sólidos y una alternativa poco

explorada en la ingeniería de tejidos, su propiedad de conducción eléctrica se debe a la migración de iones provenientes de una sal o un ácido. La literatura de conductores iónicos se centra en la obtención de estos polímeros para posibles aplicaciones en dispositivos electrónicos, sensores o celdas electroquímicas. Dentro de este contexto las investigaciones se han abierto al uso de polímeros biodegradables y amigables con el ambiente. Se puede encontrar el uso de polímeros como la policaprolactona y quitosano que juegan un papel importante en la ingeniería de tejidos óseos. Sin embargo, las sales empleadas en estos trabajos como son el triocianato de amonio NH_4SCN , triocianato de litio LiSCN y perclorato de Litio LiClO_4 , no se reportan en la literatura como sales biocompatibles.

Algunas sales biocompatibles como AgNO_3 [6-9] o $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ [10,11] han sido mezcladas con otros polímeros para obtener polímeros conductores iónicos, por tanto, mezclar materiales biodegradables como policaprolactona o quitosano con estas sales puede ser una nueva alternativa para obtener polímeros biodegradables conductores aplicables a la ingeniería de tejidos óseos. El objetivo principal de este trabajo es evaluar un biomaterial polimérico de conducción iónica basado en policaprolactona para posibles aplicaciones en ingeniería de tejidos óseos. Los sistemas evaluados fueron policaprolactona- nitrato de plata y policaprolactona- nitrato de magnesio por las técnicas de evaporación lenta de disolvente y electrohilado.

La técnica de evaporación lenta de disolvente, empleada comúnmente en la obtención de películas de semiconductores, constituye la base de partida para comprender la dinámica de los iones a través de la policaprolactona debido a que el estudio de estos sistemas no se encuentra reportado en la literatura. Las membranas obtenidas bajo esta técnica fueron caracterizadas estructural, térmica y eléctricamente. Los resultados demostraron la exitosa formación de los complejos polímero-sal, el efecto de la sal en la cristalinidad y en las propiedades eléctricas de las membranas humedecidas.

Por otra parte, con la técnica de electrohilado fue posible obtener nanofibras de diversas características debido a los cambios generados en la estabilidad del cono de Taylor por la adición de sal a la soluciones. Los andamios obtenidos por ambas sales fueron caracterizados por difracción de rayos X Calorimetría Diferencial de Barrido, Microscopia Electrónica de Barrido, pruebas de tensión mecánica, espectroscopia de impedancia compleja y citotoxicidad para conocer finalmente el sistema que presenta propiedades similares al hueso y posible aplicación en la ingeniería de tejidos óseos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar un biomaterial polimérico de conducción iónica basado en policaprolactona para posibles aplicaciones en ingeniería de tejidos óseos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener un sistema biopolimérico con características de conducción iónica basado en policaprolactona con sales tipo nitrato (Ag, Mg) con miras en aplicaciones de ingeniería en tejido óseo.
- Evaluar las propiedades mecánicas, eléctricas, morfológicas y citotóxicas de andamios contruidos a partir del biomaterial obtenido.
- Comparar las propiedades obtenidas del biomaterial con las propiedades de tejido óseo reportadas en la literatura para analizar posibles aplicaciones en la ingeniería de tejidos.

1. CAPÍTULO UNO: MARCO TEÓRICO

1.1 ASPECTOS TEÓRICOS

1.1.1 TEJIDO ÓSEO-HUESO

El tejido óseo o hueso es un material duro, anisótropo que forma la base del esqueleto y sus funciones son soportar la estructura del cuerpo y protegerlo contra cargas externas [5,12].

El hueso puede considerarse un material complejo formado por un componente mineral y un componente orgánico. El componente mineral corresponde a un 60-70% del tejido óseo y es reconocido cristalográficamente como mineral apatita, específicamente hidroxiapatita impura de baja cristalinidad $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ la cual le da la dureza que caracteriza al hueso. El 30-40% del tejido restante es el componente orgánico con un 90% de colágeno tipo I y un 10% de otras proteínas, brindando la flexibilidad al hueso. Posee una humedad de hasta el 30% de su masa total. Los cristales de hidroxiapatita están en forma de aguja, placas y varillas con tamaños de decenas de nanómetros de largo y ancho, y con espesor de 2 o 3 nm, estas se sitúan dentro de las fibras de colágeno (aproximadamente 15 μm de largo 50-70 nm de diámetro) formando dos tipos de estructuras óseas [5,12].

Hay dos tipos de tejidos óseos: hueso trabecular o esponjoso y hueso cortical o compacto. El hueso trabecular se encuentra en los extremos y zonas intermedias de los huesos largos y en el interior de los huesos planos o pequeños, constituyendo placas y barras interconectadas formando una red que da origen a su segundo nombre. El hueso cortical representa aproximadamente el 80% de toda la masa esquelética y está formado por capas con canales vasculares rodeadas por hueso laminar [12].

En el tejido óseo se encuentran cuatro tipos de células: osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. Las células osteoprogenitoras son células mesenquimales que poseen la capacidad de proliferar y diferenciarse en osteoblastos los cuales construyen la matriz ósea. Los osteoblastos se diferencian de los osteocitos en que estos permiten la transmisión de información a través de una red celular donde establecen contacto con otros osteocitos y osteoblastos permitiendo la formación del hueso [13]. Para la remodelación del hueso las principales células actuantes son los osteoclastos encargados de la resorción ósea. La acción de los osteoclastos está dada por la disminución del pH en la zona a remodelar donde la producción de iones de hidrógeno genera un ambiente ácido que

permite la solubilidad de los cristales de apatita, luego la acción de los osteoblastos produce la matriz ósea y se termina el proceso de remodelación [12].

Las propiedades mecánicas del hueso dependen de la densidad ósea y su arquitectura. La densidad aparente del hueso cortical es $1,85 \text{ g/cm}^3$ y la del hueso trabecular es $0,30 \text{ g/cm}^3$ [5,12]. Esta diferencia se refleja en las propiedades mecánicas como el módulo de Young, la resistencia a la compresión y la resistencia a la flexión (Tabla 1.1).

Tabla 1.1 Propiedades mecánicas del hueso cortical y trabecular [14]

Tipo de hueso	Módulo de Young (GPa)	Resistencia a la compresión (MPa)	Resistencia a la flexión (MPa)
Cortical	7 - 30	100 - 230	50 – 150
Trabecular	0,01 - 0,5	2 - 12	-

Las propiedades eléctricas del hueso también han sido estudiadas y se ha planteado que estímulos electromagnéticos generados dentro del hueso juegan un papel importante en el control de los procesos de formación y remodelación. Los mecanismos para generar estos estímulos eléctricos dentro del hueso son el fenómeno electrocinético y la piezoelectricidad. El fenómeno electrocinético se debe a la formación de una doble capa electrostática compuesta de una superficie cargada (proteínas en la superficie) y una capa difusa con iones positivos y negativos (fluido corporal). El movimiento de este fluido cargado genera entonces una corriente eléctrica que provoca una diferencia de potenciales denominada potencial de flujo. Por otra parte, el fenómeno piezoeléctrico fue observado por Fukada et al. y es atribuido al estrés en el hueso que produce deslizamiento de las fibras de colágeno generando un estímulo eléctrico [5].

Estudios de fotoconductividad, resonancia paramagnética electrónica y fluorescencia han mostrado que el hueso posee propiedades de estado sólido y se comporta como un semiconductor. El hueso seco tiene resistividades en el intervalo de $10^{10} - 10^{12} \Omega\text{cm}$ y la energía de activación de más de $6,7\text{eV}$. Las características semiconductoras del hueso están asociadas a cada uno de los componentes de la matriz ósea y del agua presente en la estructura [5].

1.1.2 INGENIERÍA DE TEJIDOS ÓSEOS

El término “ingeniería de tejidos” ha sido definido de diversas formas durante la historia. En la década de 1980 el uso del término era escaso y solo se refería a la manipulación quirúrgica de los tejido y órganos o cuando se empleaban prótesis o biomateriales [15]. Para 1989 Langer y Vaccanti definieron ingeniería de tejidos de la siguiente forma “La ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario que aplica los principios de ingeniería y ciencias de la vida hacia el desarrollo de sustitutos biológicos para restaurar, mantener o mejorar la función del tejido u órgano completo” [3,16, 17]. Más tarde, Laurencin en 1999, incluyó en la definición el uso de biomateriales, células y otros factores para las funciones de reparación y regeneración. [16,18].

En 2010, Laurenci redefinió ingeniería de tejidos en términos de ingeniería regenerativa como "La integración de la ciencia de los materiales e ingeniería de tejidos con la biología celular y la medicina regenerativa hacia la regeneración de tejidos, sistemas de órganos o de órganos complejos" [16,19].

En la ingeniería de tejidos óseo hay tres estrategias terapéuticas para el tratamiento de tejido enfermo o perdido. La primera estrategia denominada regeneración *in situ* pretende regenerar el hueso con la incorporación de un andamio o estimulación externa para que la regeneración se realice con las células del propio cuerpo. La segunda estrategia es la implantación de células recién aisladas donde se inyectan directamente en la región dañada con o sin andamio desplegable y la tercera es la implantación de un tejido similar al hueso ensamblado *in vitro* con células y andamios el cual es implantado una vez alcanzada la madurez [4].

El producto de ingeniería de tejidos debe ser tridimensional, que permita la integración y desarrollo del tejido favoreciendo el área superficial expuesta a comparación del volumen, aumentando la porosidad. Debe además soportar el cultivo celular antes de ser incorporado al cuerpo o promover la osteoinducción, mediante el uso de factores de crecimiento, hormonas, fármacos, estímulos físicos, etc y por último debe funcionar fisiológicamente y cumplir con las propiedades exigidas en el defecto a rellenar, es decir, biodegradabilidad y propiedades mecánicas. La velocidad de degradación y sus subproductos también deben ser compatibles. Una alta velocidad de degradación no permite la regeneración completa del tejido y los subproductos deben ser sintetizados o eliminados por el cuerpo [3,20-22].

1.1.3 BIOMATERIALES POLIMÉRICOS

Los biomateriales usados para tratamientos óseos pueden ser poliméricos, cerámicos o metálicos. Se caracterizan por ser no tóxicos tanto local como sistemáticamente, de baja densidad, resistentes mecánicamente, rígidos, resistentes a la abrasión y a los golpes, de difícil corrosión y no deben ser alergénicos [23]. La aplicación de implantes metálicos es muy común y considerablemente económica y por tanto se ha cuadruplicado su uso en los últimos 20 años. Estos materiales se usan principalmente para el tratamiento de fracturas y la artroplastia. Los biomateriales cerámicos por su parte, permiten tener superficie de baja fricción y son aplicados en procedimientos ortopédicos, como material de relleno óseo y revestimientos en forma activa. Por último los polímeros han tenido una gran acogida por sus diversas aplicaciones en este campo, ya sea como superficies de fricción, material de relleno y fijación, materiales reabsorbibles, entre otros [24].

En general, todos los biomateriales deben ser biocompatibles. La biocompatibilidad según David Williams se define como la habilidad de un material para llevar a cabo una respuesta del huésped apropiado en una situación específica [25].

Para la selección de un material para aplicaciones a pacientes se debe tener en cuenta los siguientes aspectos: materiales, química del bulto, química de la superficie, rugosidad de la superficie, energía superficial, cargas superficiales, estabilidad química, química de productos de degradación, características físicas de los productos de degradación, tamaño, forma, módulo elástico / rigidez,

tipo de tejido y la ubicación, en relación al paciente influye la edad, sexo, estado general de salud y técnica quirúrgica [26].

En relación a los materiales poliméricos, estos surgieron en 1920 cuando Staudinger llegó a la conclusión de que el almidón, caucho natural y celulosa están compuestos por cadenas gigantes de átomos de carbono unidos por enlaces covalentes. Sin embargo, el término solo fue aceptado hasta 1930 cuando W. H. Carothers sintetizó polímeros lineales [23].

Los biopolímeros empleados para aplicaciones médicas se pueden clasificar en inertes y bioactivos según su función y en sintéticos y naturales según su origen. Los biopolímeros inertes son utilizados en aplicaciones donde el material está en el cuerpo por largo tiempo y no tienen ningún cambio químico. Los polímeros bioactivos se caracterizan por estimular procesos celulares. Los polímeros de origen natural como colágenos, polisacáridos, fibrinas, alginatos, quitina y quitosano se caracterizan por tener actividad biológica innata [23].

Sintetizar polímeros permite ajustar y diseñar el material de acuerdo a las necesidades por ejemplo cambiar los pesos moleculares, configuración y conformación de cadenas de polímero, la tasa de degradación, entre otros [20]. Los polímeros biodegradables y conductores han tenido mucha acogida en la ingeniería de tejidos óseos. El término “polímeros biodegradables” indica que un polímero por medio de reacciones químicas en el cuerpo se convierte poco a poco en material soluble o sintetizable por el organismo. En ingeniería de tejidos óseos, el material se sustituye gradualmente con el tiempo con el hueso normal, y la restauración ósea no se ve obstaculizada por la presencia del material [20,23].

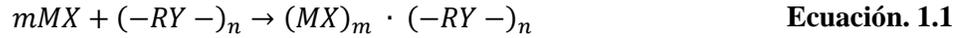
Ante las propiedades eléctricas del hueso el campo de la ingeniería de tejidos óseos ha involucrado el uso de polímeros conductores para el desarrollo de andamios con propiedades eléctricas que estimulen la regeneración [27].

1.1.4 CONDUCCIÓN IÓNICA EN POLÍMEROS

Los polímeros son materiales aislantes donde en su estructura la banda de valencia llena está separada de la banda de conducción vacía por un intervalo grande de energía, por tanto, a temperatura ambiente solo pocos electrones podrían excitarse a través de las bandas lo cual explica su baja conductividad. La conductividad de los polímeros puede estar en un intervalo $10^{-9} - 10^{-17}$ S/m o menores [28]. Sin embargo, es posible obtener polímeros conductores a partir de ácidos o sales dentro de una película polimérica, es decir, el polímero actúa como disolvente para el ácido o sal que se disocia parcialmente en la matriz dando lugar a un comportamiento electrolito. El grado de aumento en los niveles de conductividad dependerá de la energía y el ordenamiento estructural del polímero formado. La conducción iónica de este nuevo polímero se debe a la migración o difusión de los iones adicionados de la sal o ácido cuando se aplica un campo eléctrico. Por lo tanto, el movimiento neto de los iones cargados resultará en una corriente eléctrica. Desde luego, las migraciones de los aniones y cationes serán en direcciones opuestas. La conductividad iónica de un electrolito polimérico está alrededor de 100 a 1000 veces menor a un electrolito líquido [28,29]. Los polímeros conductores iónicos solo presentan movilidad rápida de iones cuando se

encuentra por encima de su temperatura de transición vítrea en el cual los segmentos poliméricos tienen la capacidad de moverse permitiendo la movilidad de los iones [30].

La Ecuación. 1.1 se presenta la reacción solido/sólido para la formación de complejos polímero-sal necesario para obtener un sistema de electrolito sólido.



Donde $(-RY-)$ es el monómero y MX la sal metálica.

La cinética de reacción es desfavorable incluso cuando el complejo es estable. Dos métodos pueden ser empleados para acelerar la reacción, uno de ellos es mezclar mecánicamente o moler los reactivos y el otro, usualmente empleado, consiste en disolver la sal y el polímero en un solvente común para luego remover el solvente y obtener el electrolito polimérico sólido [30].

No todos los polímeros pueden formar complejos con sales metálicas. Para esto se deben tener en cuenta las siguientes condiciones que favorecen la formación de complejos [30].

- La alta presencia de grupos polares básicos en la cadena del polímero son necesarios solvatar la sal efectivamente.
- El polímero debe presentar una energía de cohesión baja y alta flexibilidad (indicada por una baja temperatura de transición vítrea) que permitan la reorientación de coordinación local que logra la solvatación de forma eficaz.

En general, la obtención de electrolitos poliméricos está basada en oxígenos contenidos en los monómeros u otras bases de Lewis que permiten coordinar los cationes de la sal. Por tanto, el ion metálico representa un papel importante en la conductividad iónica. En la Figura 1.1 se presenta un catión de Litio coordinado por oxígenos de una cadena polimérica, luego de un tiempo t se presenta un “salto” del catión a otra posición, lo cual representa el mecanismo de conducción iónica de un electrolito polimérico [30].

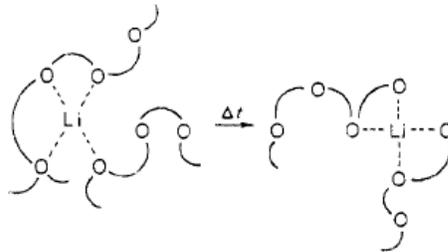


Figura 1.1. Representación de movilidad de iones en un electrolito polimérico. Tomada de [30]

La cristalinidad de los sistemas poliméricos juega un papel muy importante en la movilidad de los iones a través de la estructura. La presencia de fase amorfa facilita la movilidad de los segmentos poliméricos mejorando así la conductividad [30].

La dependencia de la temperatura de la conductividad iónica indica un proceso activado. Así, la conductividad aumenta con el aumento de la temperatura. Diversos modelos fenomenológicos han sido empleados para analizar el comportamiento de la conductividad con la temperatura. El modelo Arrhenius (Ecuación. 1.2) representa una línea recta, mientras el modelo de Vogel-Tammann-Fulcher (VTF) (Ecuación. 1.3) representa una línea curva.

$$\sigma(T) = \sigma_0 \exp\left[-\frac{E_a}{K_B T}\right] \quad \text{Ecuación. 1.2}$$

Donde σ es la conductividad, E_a es la energía de activación y K_B es la constante de Boltzmann

$$\sigma(T) = \sigma_0 \exp\left[-\frac{E_p}{K_B(T - T_0)}\right] \quad \text{Ecuación. 1.3}$$

Donde σ es la conductividad, E_p y T_0 son parámetros de ajuste y K_B es la constante de Boltzmann

La Figura 1.2 muestra las gráficas de $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ de sistemas poliméricos basados en polietilenglicol con sales de litio, a la izquierda se representa el modelo VTF y la derecha el modelo Arrhenius.

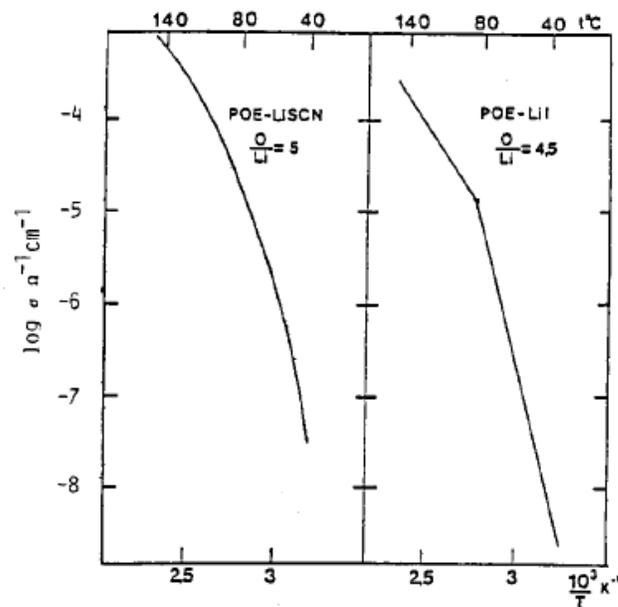


Figura 1.2. Gráficos de los modelos VTF (izquierda) y Arrhenius (derecha) para los complejos PEO-LiSCN y PEO-LiI respectivamente. Tomada de [30].

1.2 TÉCNICAS PARA ELABORACIÓN DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS

1.2.1 EVAPORACIÓN LENTA DE DISOLVENTE (SOLVENT CASTING)

La técnica de evaporación lenta de disolvente (*solvent casting*) se caracteriza por ser muy simple fácil y económica. No requiere ningún equipo robusto y se basa en la evaporación de un disolvente para finalmente obtener una membrana polimérica. Puede realizarse por dos métodos: el primero consiste en sumergir un molde en una solución polimérica para luego extraer y obtener una capa de membrana y el segundo, consiste en añadir la solución polimérica en un molde y luego de un tiempo suficiente para la evaporación del disolvente extraer el polímero adherido al molde. La desventaja de ésta técnica es que puede permanecer disolvente en el interior que puede generar toxicidad. Sin embargo, esto se puede corregir sometiendo la membrana a vacío para eliminar los residuos líquidos [31].

1.2.2 ELECTROHILADO (ELECTROSPINNING)

El electrohilado o *electrospinning* es una técnica que ha ganado mucha popularidad en la última década especialmente en el área de ingeniería de tejidos en la construcción de andamios poliméricos de diversas características como nanofibras, fibras híbridas, fibras huecas etc., obtenidas mediante la modificación de parámetros de operación del equipo [32].

Los estudios sobre campos eléctricos en el siglo XIX son el origen de esta técnica, patentada originalmente en 1902 y considerada en 1934 como un medio para el procesamiento textil. Taylor fue quien en su trabajo comprendió la influencia de un campo eléctrico en un pequeño volumen de líquido [32].

Cuando un campo eléctrico es aplicado a una gotita de líquido, la carga electrostática se acumula en la punta de la gotita, por tanto, la repulsión de carga trabaja en contra de la tensión superficial cambiando la forma esférica de la gota a un cono alargado denominado cono de Taylor donde luego se libera un chorro. El chorro puede tomar un camino complejo debido a inestabilidades inducidas por el campo eléctrico. Si el soluto es un líquido no viscoso se generan pequeñas gotas y en el caso de polímero se obtienen pequeñas fibras que llegan a formar estructuras entrecruzadas con forma de andamio [32].

La Tabla 1.2 presenta una relación de los efectos que puede generar en el hilado, los cambios en los parámetros del sistema de electrohilado.

Tabla 1.2.Efectos en la morfología y el diámetro de la fibra con cambios en los parámetros [32]

Parámetros		Efectos en la morfología y el diámetro de la fibra
Solución	Concentración	Incrementa el diámetro de la fibra con el Incremento de la concentración
	Viscosidad	Se pueden generar partículas incrementando la viscosidad
	Peso molecular	Con alto peso molecular la morfología es muy uniforme
Procesamiento	Conductividad	Disminuye el diámetro de fibra con el incremento de la conductividad
	Voltaje	Disminuye el diámetro de fibra con el incremento del voltaje
	Velocidad de flujo	Alta velocidad produce fibras con grandes diámetros o las fibras no están secas al alcanzar el colector
	Tipo de colector	Es posible alinear las fibras
Ambiente	Punta temperatura	Se pueden obtener huecos o mezclas
	Humedad	Incremento de la temperatura disminuye el diámetro de fibra
		Alta humedad resulta en formación de poros

El equipo de electrohilado es un equipo simple, consta de tres componentes: el suministro de energía de alta tensión, una jeringa y el colector, que puede ser tan simple como una hoja de papel de aluminio (Figura 1.3).

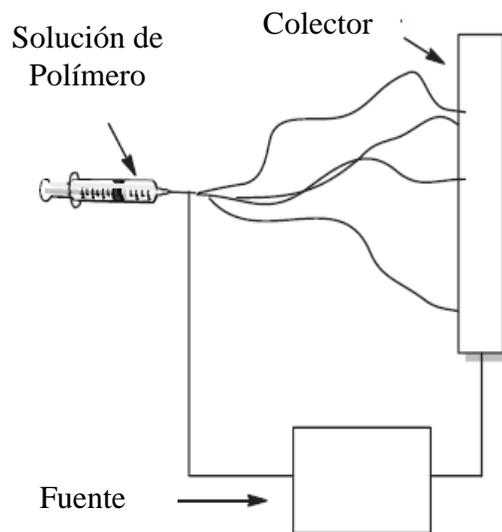


Figura 1.3. Componentes del sistema de electrohilado. Tomada de [32]

1.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

1.3.1 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (XRD)

La difracción de rayos X (por sus siglas en inglés XRD) es una técnica que permite identificar cualitativamente los compuestos cristalinos, el ordenamiento y espaciado de los átomos en materiales cristalinos, se basa en el hecho de que cada sustancia cristalina presenta un diagrama de difracción único. Los rayos X son ondas electromagnéticas de corta longitud. La técnica consiste en hacer incidir una muestra con un haz de rayos X y la interacción entre la onda y los electrones del material dan lugar a una dispersión. Las ondas dispersas interfieren generando interferencia tanto constructiva como destructiva obteniéndose un patrón de diversas intensidades que está ligado a la ubicación de los átomos en el cristal, de forma que puede interpretarse por medio de la ley de Bragg. Esta ley establece que cuando un haz de rayos X incide sobre una superficie perteneciente a un cristal formando un ángulo θ , parte de este se dispersa por la capa de átomos que se encuentran alojados en la superficie. La parte del haz que no se dispersa ingresa en la segunda capa de átomos donde ocurre un proceso similar y una porción de este es dispersada. El proceso se repite de manera sucesiva con todas las capas hasta una profundidad aproximada de 1000 nm, lo que lo hace una técnica másica. El efecto de la dispersión acumulada generada por los centros regularmente espaciado del cristal es la difracción del haz. En 1912, W. L. Bragg trató la difracción de rayos X por cristales, como se muestra en la Figura 1.4 [33].

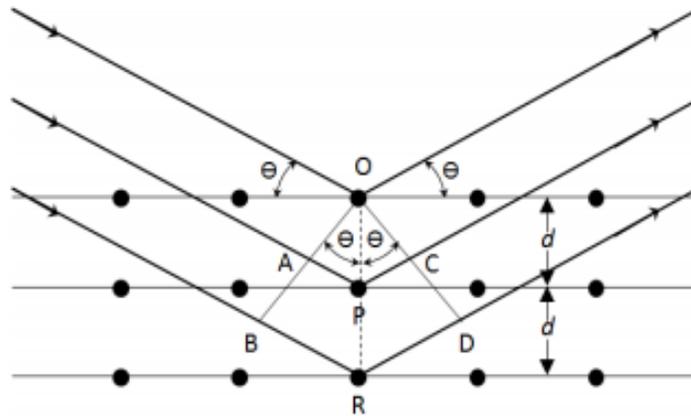


Figura 1.4. Interacción entre los rayos X y la estructura cristalina de un material. Tomada de [34]

Un delgado haz de radiación golpea la superficie del cristal formando un ángulo θ , la dispersión genera una interacción de la radiación con los átomos en O, P, y R. De esta manera se puede expresar que las condiciones para que se origine la interferencia constructiva del haz, son: $n\lambda = 2d \sin \theta$ donde n es un número entero que representa el orden de la difracción y d es la distancia interplanar del cristal. Es importante resaltar que los rayos X son reflejados por el cristal solo si el ángulo de incidencia satisface la condición $\theta = \lambda/2$. Para cualquier otro valor se producen interferencias destructivas. De esta manera las condiciones para la difracción de rayos X son:

- El espacio entre las capas de átomos debe ser similar a la longitud de onda de la radiación.
- Los centros de dispersión deben estar distribuidos en el espacio de una manera muy regular [34].

Finalmente, el reconocimiento de las especies mediante el diagrama, tiene como principio la posición de líneas en sus intensidades relativas

1.3.2 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés) significa "...la medida del cambio de la diferencia en la tasa de flujo de calor a la muestra y a una muestra de referencia, mientras que están sometidos a un programa de temperatura controlada". Esta técnica nos permite determinar la cantidad de calor absorbido o liberado de una sustancia a una temperatura constante en un tiempo determinado o cuando es calentada o enfriada a una velocidad constante en un rango de temperaturas determinado [35,36].

En la DSC se dispone de dos cápsulas, una de ellas contiene la muestra a analizar y la otra generalmente está vacía (cápsula de referencia). Se disponen calefactores individuales en cada cápsula y se comprueba si hay una diferencia de temperatura con un sistema de control. Cuando hay una diferencia los calefactores se corregirán para tener la misma temperatura en ambas cápsulas [36].

Como las reacciones químicas y transiciones físicas están asociadas al consumo o liberación de calor, este método es universal para la investigación de tales procesos. Entre las diversas utilidades de DSC se encuentran: medidas de capacidad calorífica aparente (fenómenos de relajación estructural), determinación de temperaturas características de transformación o de transición (transición vítrea, transición ferro-paramagnética, cristalización, transformaciones polimórficas, fusión, ebullición, descomposición, etc.), estabilidad térmica de los materiales y cinética de cristalización de los materiales [35,36].

1.3.3 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA COMPLEJA

Las mediciones eléctricas para evaluar el comportamiento electroquímico de los materiales se hacen habitualmente en una celda de dos electrodos idénticos (electroquímicamente inertes) aplicados a las caras de una muestra en forma de cilindro circular. Las mediciones pueden hacerse en una atmósfera de vacío, inerte como argón o una atmósfera oxidante. El principio general de la técnica es aplicar un estímulo eléctrico a los electrodos y observar la respuesta [37].

Una gran cantidad de procesos microscópicos tienen lugar en toda la celda cuando se estimula eléctricamente. Los procesos fundamentales que ocurren pueden ser el transporte de electrones a través de los conductores electrónicos, la transferencia de electrones en las interfases electrodo-electrolito hacia o desde especies atómicas cargadas o no cargadas que se originan a partir de los

materiales de la celda y su medio ambiente atmosférico (reacciones de oxidación o de reducción) y átomos aglomerados a través de defectos en el electrolito [37].

Por otra parte, la espectroscopia de impedancia compleja permite determinar la conductividad iónica de electrolitos sólidos a partir de los datos de impedancia compleja (Z) que se obtienen. La impedancia compleja $Z(\omega)$ es definida por la razón entre el voltaje aplicado y la corriente originada durante la prueba (Ecuación. 1.4) [37].

$$Z(\omega) = \frac{V(\omega)}{I(\omega)} \quad \text{Ecuación. 1.4}$$

Donde ω es la frecuencia angular de la señal aplicada.

La impedancia compleja puede expresarse en función de la parte real $Z' = |Z|\cos\theta$ y la parte imaginaria $Z'' = |Z|\sin\theta$, donde θ es el ángulo de desfase entre el voltaje aplicado y la corriente originada. Los resultados suelen presentarse en un gráfico Z' vs Z'' el cual permite obtener la información suficiente para describir el comportamiento eléctrico del electrolito sólido [37]. En la Figura 1.5 se presenta la gráfica Z' vs Z'' de un sistema de electrolito sólido con comportamiento ideal, en la cual el semicírculo representa las interacciones en el bulto y la línea recta las interacciones en la interface. La intersección del semicírculo con el eje x indica la resistencia eléctrica del bulto, con el cual y a partir de los datos de espesor y área transversal de la muestra, es posible calcular la conductividad iónica [37].

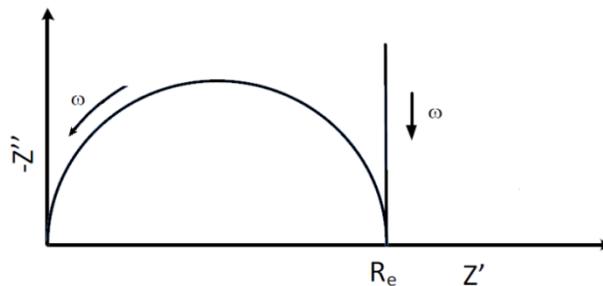


Figura 1.5. Grafica de Z' vs Z'' . Tomada de [38].

Los resultados obtenidos en estas pruebas son usualmente ajustados a circuitos equivalentes que permiten conocer más información del comportamiento eléctrico de las muestras evaluadas. La Figura 1.6-a) muestra el montaje empleado para las pruebas eléctricas, en esta se presenta la formación de una doble capa eléctrica en la interface entre la muestra y los electrodos metálicos. Por otra parte, la Figura 1.6-b) describe el circuito equivalente para el caso ideal presentado como ejemplo.

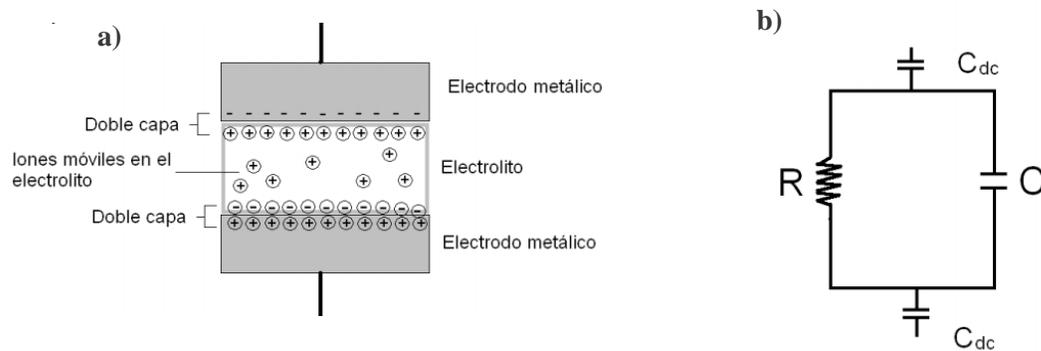


Figura 1.6 a) Esquema del montaje de la muestra y b) Representación del montaje en forma de circuito equivalente. Tomada de [38].

1.3.4 PRUEBA DE TENSIÓN

La resistencia de un material depende de su capacidad para soportar una carga sin deformación excesiva o falla. Es una característica propia del material y debe determinarse por experimentación. Para llevar a cabo esta prueba se prepara un espécimen o probeta de forma y tamaño “estándar”. Se toman mediciones tanto del área de la sección transversal del espécimen como de la longitud calibrada, luego se utiliza una máquina que permita aplicar una carga axial y que pueda leer la carga requerida para un alargamiento uniforme. Finalmente con los resultados es posible graficar el esfuerzo vs deformación como lo muestra la Figura 1.7 [39].

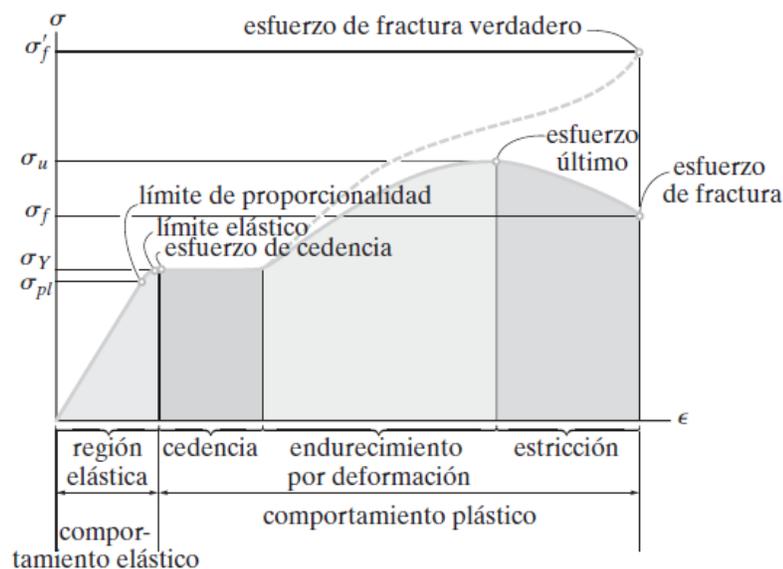


Figura 1.7. Diagrama esfuerzo- deformación. Tomada de [39]

De la figura se puede extraer información como el Modulo de Young el cual es la pendiente de la recta de la región elástica, el esfuerzo final, la deformación a la rotura, entre otros.

1.3.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

El microscopio electrónico de barrido - SEM (por sus siglas en inglés) es uno de los instrumentos más versátiles disponibles para examinar y analizar las características microestructurales de un objeto sólido. Los principales componentes del SEM son la columna de electrones y la consola de control. La columna de electrones consiste de un cañón de electrones y dos o más lentes que influyen en la trayectoria de los electrones a través de la columna. La fuente de electrones consiste en un filamento de tungsteno el cual tiene un diámetro alrededor de 0.1mm y esta doblado en forma de v. La base de la columna debe tener un vacío cerca de 10^{-4} Pa donde se encuentra el soporte de las muestras. El soporte de las muestras permite sujetar varias muestras de varios centímetros. La consola de control consta de una pantalla de visualización, perillas y teclado que controlan el haz de electrones y el movimiento del soporte de muestras en dirección X, Y y Z, además de poder rotar en cada uno de los ejes. Las muestras a examinar deber ser conductoras de la electricidad [40].

Con el SEM es posible obtener imágenes con apariencia tridimensional y de este modo observar la topografía de las muestras. Para esto, el área a examinar es irradiada con un fino haz de electrones el cual barre un patrón rectangular a través de la superficie de la muestra. Las señales producto de la interacción electrones-muestra son electrones secundarios, electrones retrodispersados, rayos X característicos y otros fotones que permiten la caracterización del material (topografía superficial, cristalografía, composición, etc.) [40].

Los electrones secundarios y retrodispersados son de gran interés para la formación de la imagen puesto que varían según las diferencias en la topografía superficial. La apariencia tridimensional de la imagen se debe a la profundidad de campo de SEM como también del efecto de estas dos señales. El análisis de los rayos X característicos, permite identificar cualitativa y cuantitativamente los elementos presentes en la muestra [40].

1.3.6 PRUEBAS CITOTÓXICAS

Una prueba de citotoxicidad es una prueba de evaluación biológica y de detección de células *in vitro* para observar el crecimiento, reproducción y efectos morfológicos de un material que se desea evaluar. La norma ISO 10993-5 tiene reglamentada las pruebas de citotoxicidad *in vitro* en la cual se especifican tres tipos de ensayos: pruebas de extracto, contacto directo y contacto indirecto. En general, el ensayo de extracto es adecuado para detectar la toxicidad de sustancias solubles de dispositivos médicos y suele ser coherente con los resultados de ensayos de toxicidad animal.

La citotoxicidad se determina comparando porcentualmente los resultados del medio de cultivo contra el extracto del material. El material se considera con potencial citotóxico si su viabilidad está por debajo de 70% [41].

2. CAPÍTULO DOS: ESTADO DEL ARTE

2.1 BIOMATERIALES POLIMÉRICOS USADOS EN INGENIERÍA DE TEJIDOS ÓSEOS

Un gran número de polímeros son utilizados en la ingeniería de tejidos óseos. Los polímeros naturales fueron los primeros en ser empleados para aplicaciones médicas y de estos hay dos tipos los polisacáridos y los polipéptidos. La principal ventaja del uso de polímeros naturales es que normalmente contienen moléculas biofuncionales que ayudan a la proliferación y diferenciación celular. Sin embargo, su degradación no es fácilmente controlable y pueden inhibir la célula. Además, dada la complejidad de sus moléculas es difícil realizar cambios en su estructura o composición para modificar sus propiedades [16,21].

Uno de los polímeros naturales más usados en áreas de ingeniería de tejidos es el colágeno, ésta es una de las proteínas más abundantes de la matriz extracelular del cuerpo (ECM) y se encuentra ampliamente en el tejido musculoesquelético. Hay cerca de 22 diferentes tipos de colágeno que existen en el cuerpo humano, los tipos I–IV son los más comunes [16,21]. Andamios elaborados de colágeno son ideales en la ingeniería de tejidos óseo ya que es uno de los principales componentes del hueso. Fibras de colágeno con hidroxiapatita se han encontrado viables para la diferenciación de osteoblastos. Una de las desventajas de este polímero es que tiende a degradarse abruptamente lo que limita su uso a largo plazo [21].

Otro polímero muy usado es la seda, ésta la forman las proteínas, fibroínas y sericina. Fini et al. [16] en su trabajo implantó exitosamente fibroínas de seda para curar el tamaño de defecto crítico de hueso esponjoso y Kim et al. mejoraron la osteoconductividad de células madres óseas incorporando fosfatos de calcio a un andamio de fibroínas [16]. La enorme fuerza mecánica es la razón principal del gran interés que despierta este material para ser usado como un andamio, a pesar de que algunos componentes pueden causar una respuesta alérgica [21].

El quitosano es otro polímero natural muy empleado en la ingeniería de tejidos óseos y es usado comúnmente en mezcla con otros polímeros ya sean naturales o sintéticos. Algunos trabajos por ejemplo, han mezclado quitosano con ácido poliláctico–co-glicólico (PLGA) para crear andamios y apoyar la proliferación de células similares a los osteoblastos [16]. También se ha mezclado con gelatina, otro polímero natural implementado en la ingeniería de tejidos, para ensayos con cultivos

de osteoblastos de rata, obteniendo un andamio muy prometedor. El quitosano sin mezclar también ha mostrado ser prometedor para aplicaciones ortopédicas. Los principales inconvenientes de quitosano son su baja resistencia mecánica e insolubilidad en agua [16,21]. Por último, el alginato, un polisacárido lineal derivado de las algas se ha implementado en aplicaciones biomédicas por su biocompatibilidad y poca acción inmune. Las propiedades mecánicas de alginato pueden ser controlada e incluso mejoradas [16,21].

Actualmente se ha incrementado el uso de polímeros sintéticos en la ingeniería de tejidos óseos, esto, debido a que los polímeros sintéticos pueden ser diseñados y controlados según las especificaciones que se requieran. Sin embargo, estos polímeros no poseen biomoléculas que ayuden a la unión celular como es el caso de algunos polímeros naturales [16].

El ácido poliglicólico (PGA) es un polímero degradable obtenido a partir del ácido glicólico el cual se produce durante el metabolismo normal del cuerpo. La versatilidad del poli (ácido glicólico) en el campo de la medicina ha llevado a su uso como andamios para aplicaciones de ingeniería de tejidos [21]. Si el PGA sufre una alta degradación puede generar zonas con pH ácido y ocasionar inflamación del tejido circundante. Otro polímero sintético es el ácido poliláctico (PLA) con alta resistencia a la tracción y alto módulo de tensión, por lo que se considera un biomaterial ideal para aplicaciones de soporte de carga. Sin embargo, las investigaciones han demostrado que las células se adhieren menos al PLA en comparación a otros polímeros, tales como PGA [16,21].

Un copolimero muy conocido es PLGA que se copolimeriza a partir de poliglicólido y con l-láctico o D-láctico. Se han elaborado diferentes andamios de PLGA que han permitido la adhesión celular, y también se ha combinado con hidroxiapatita obteniendo mejoras en proliferación de osteoblastos [21, 42].

La policaprolactona (PCL) es un poliéster semicristalino que puede hacerse a partir de la polimerización de apertura de anillo de la “ε-caprolactona” [16,43]. En comparación con otros polímeros, tiene un tiempo de degradación relativamente largo de hasta 2 ó 3 años. En los últimos años, PCL ha sido ampliamente estudiado como material para aplicaciones de ingeniería de tejidos. Yoshimoto preparó electrohilado de PCL como un potencial candidato para andamios aplicable a la ingeniería de tejidos óseos [21,44]. Otros polímeros sintéticos como poli (fumarato de propileno) (PPF) y polihidroxibutirato también han sido investigados. En la Tabla 2.1 se presentan diversas propiedades encontradas para algunos de los polímeros sintéticos más utilizados en ingeniería de tejidos.

Tabla 2.1. Propiedades térmicas, mecánicas y de degradación de algunos polímeros sintéticos [14,45]

Polímero	Propiedades térmicas y mecánicas			Propiedades de degradación	
	Temperatura de reblandecimiento (°C)	Temperatura de transición vítrea (°C)	Módulo tracción (GPa)	Tiempo (Meses)	Productos
PLA	173-178	60-65	1,5-2,7	12-18	Ácido l-láctico
PGA	225-230	35-40	5-7	3-4	Ácido glicólico
PCL	58-63	-60	0,4-0,6	>24	Ácido caproico

Poli-lactico-co-glicólico PLGA (50/50)	Amorfa	50-55	1,4-2,8	3-6	Ácido D, L-láctico y ácido glicólico
PLGA (85/15)	Amorfa	50-55	1,4-2,8	3-6	Ácido D, L-láctico y ácido glicólico
PLGA (90/10)	Amorfa	50-55	-	<3	Ácido D, L-láctico y ácido glicólico
PPF	30-50	-60	2-3	Depende	Ácido fumárico, propilen glicol

2.2 ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA PARA TEJIDOS ÓSEOS

A finales de 1700 Galvani generó contracciones musculares en ranas con electricidad obtenida de las tormentas eléctricas y generadores de electricidad estática. Luego, en 1794 descubrió que tocando con el extremo de un bisturí los nervios de una de las patas de las ranas podría generar movimiento en el miembro opuesto. Con los experimentos surgió la idea de la bioelectricidad o una fuerza mística que Galvani denominó “vis vitalis” [46]. Pero solo en la década de 1990 con el desarrollo de herramientas moleculares y celulares fue posible conectar la biología celular con el fenómeno de la bioelectricidad [46]. En 2007 Levin demostró que campos eléctricos que se generaban por los canales iónicos de K^+ , H^+ y Ca^{2+} proporcionaban señales específicas que regulaban el comportamiento celular para la regeneración de tejidos [47]. Los campos electromagnéticos afectan varios tejidos como el cardiaco, muscular, óseo, nervios y piel, y estos desempeñan un papel en los procesos biológicos de la angiogénesis, la división celular, señalización celular, germinación del nervio, el desarrollo prenatal, y cicatrización de heridas [27].

Dadas las características eléctricas del hueso, éste puede ser influenciado por estímulos eléctricos externos. Actualmente hay dos hipótesis que sugieren la respuesta del hueso a estímulos eléctricos. La primera hipótesis dice que la presión transmitida a través del tejido es recibida por la célula y la segunda hipótesis y más aceptada indica que el estrés mecánico genera señales eléctricas que indican el acontecimiento posterior. Esto se ha explicado debido a las propiedades piezoeléctricas del hueso y los hallazgos del efecto de la corriente eléctrica sobre el crecimiento óseo y su remodelación [5]. Investigadores como Bassett y Becker en 1962 sugieren que la estimulación proporciona un medio para acelerar la velocidad y capacidad para la curación de fracturas [4,5].

Todos los cambios en las condiciones ambientales ya sean internas o externas son considerados como estímulos que se convierten en estímulos eléctricos [5].

Diferentes estudios se han realizado en relación a los efectos de los campos electromagnéticos en los sistemas biológicos a nivel de órganos, tejidos y células y han demostrado ser útiles para la formación de hueso y tratamientos clínicos para consolidación de fracturas. Esto es debido a que

los campos electromagnéticos provocan una corriente inducida en el hueso que carga la membrana celular y afecta los ciclos intracelulares [48]. Esfuerzos mecánicos, magnéticos y ondas ultrasónicas también se han aplicado con los mismos objetivos [49].

Yasuda en 1953 aplicó una corriente eléctrica continua a un fémur de conejo que luego de tres semanas se evidenció formación de hueso nuevo cerca al cátodo [50]. Brighton et al. en 1981 realizaron experimentos usando estímulos a diferentes corrientes con cuatro cátodos implantados en una fractura por 12 semanas, encontrando una recuperación de la fractura de 76,8% con una corriente de 20 μ A [51,52]. Martini et al., en 2003 examinaron los efectos de campos magnéticos en osteoblastos donde encontraron que 24 horas de tratamiento aumenta significativamente la producción de osteocalcina y el óxido nítrico, las cuales son vías bioquímicas de las células óseas activas[5]. Las células tienen una fuerte selectividad con campos electromagnéticos que alcanzan frecuencias de 15- 50 Hz, por su parte los campos eléctricos tan bajos como 0.01mV / cm afectan la remodelación [46]. En la Tabla 2.2 se presenta un resumen sobre los efectos en osteoblastos de estímulos eléctricos y magnéticos.

Con los avances tecnológicos en este tema se han desarrollado terapias para la restauración de fracturas con base en los diferentes campos electromagnéticos. Una de ellas es el acoplamiento capacitivo la cual consiste en colocar dos electrodos en la piel cercana a la fractura y pasar una corriente alterna generando un campo eléctrico dentro del sitio de fractura. Otra técnica es el acoplamiento inductivo que usa una bobina de alambre en la cual pasa una corriente eléctrica que genera un campo magnético e induce un campo eléctrico en el interior donde se encuentra la fractura [22, 49, 53,54].

Tabla 2.2. Efectos de diferentes estímulos de campo eléctrico y corriente eléctrica sobre los osteoblastos [22]

Efecto de diferentes intensidades de campo eléctrico (V/mm)		Efecto de diferentes intensidades de corriente eléctrica (A/m ²)	
4,8x10 ⁻⁷	Reducción de la osteoclastogénesis en cultivos de médula ósea		Mejora proliferación, incremento de expresión VEGF, sin regulación de los marcadores óseos en los osteoblastos
6x10 ⁻⁷	Reducción de la proliferación pero incremento de la actividad ALP de osteoblastos	0,015	Mejora proliferación, incremento de expresión VEGF, sin regulación de los marcadores óseos en los osteoblastos una semana después de la estimulación
2x10 ⁻⁶	Inhibe el crecimiento de osteoblastos		Incremento de la expresión VEGF
2x10 ⁻³	Mejora de la proliferación y expresión de TGF-B1 en osteoblastos	0,15	Mala proliferación de células madre

0,01	migración de fibroblastos encima de este umbral	3	un mayor aumento en el contenido de ADN de osteoblastos
0,04	Orientación de fibroblastos encima de este umbral	4,2	Mejora en la proliferación y expresión de osteoblastos
6	Mejora de la formación mineral en osteoblastos, mejora de la proliferación , actividad ALP	5	Necrosis en osteoblastos por encima de este umbral

Descubrir el efecto positivo de diferentes estímulos eléctricos sobre el hueso ha involucrado materiales conductores en la ingeniería de tejidos óseos para acelerar el proceso de regeneración. Por ejemplo, Shi et al. [55] estudiaron el comportamiento de fibroblastos con una corriente directa de 0,05 V/mm por 24-48 horas usando un andamio conductor de PPy (Polipirrol) /PLA donde se mejoró la adhesión y proliferación celular. En otro trabajo, se evaluaron películas conductoras de polipirrol / quitosano para la estimulación eléctrica con 200mA DC durante 4 horas por día. En este caso se incrementó 1,8 veces la actividad metabólica de osteoblastos comparada con la actividad sin estimulación DC [56]. Similar a los trabajos anteriores, también se evaluó la viabilidad de diferentes materiales conductores, especialmente polímero para la construcción de andamios aplicables a ingeniería de tejidos óseos [57,58].

2.3 POLÍMEROS CONDUCTORES APLICADOS A LA INGENIERÍA DE TEJIDOS ÓSEOS

Dentro de los biomateriales existe una clasificación denominada “biomateriales electroactivos”, que permiten entregar a las células estímulos eléctricos, electroquímicos o electromecánicos para mejorar la respuesta celular ante un material desconocido [59]. Uno de los materiales más aplicados a la ingeniería de tejidos óseos son los polímeros conductores. Como se explicó en secciones anteriores, los polímeros son malos conductores de la electricidad y son empleados como aislantes térmicos y eléctricos. Sin embargo, se han desarrollado diferentes métodos para brindarles algún nivel de conductividad a estos aislantes.

Los polímeros conductores como polipirrol (PPy), polianilina (PANI) y politiofeno (PEDOT) se caracterizan por tener conductividades del orden de 200 a 10000 S/m. Las propiedades eléctricas son adquiridas cuando los polímeros son oxidados o reducidos y de este modo ionizan la cadena principal. La desventaja más grande que tienen estos polímeros es que no son biodegradables lo que limita sus aplicaciones para ingeniería de tejidos óseos [27,60]. Varias alternativas se han planteado para resolver este problema, una de ellas es combinar estos polímeros conductores con otros biodegradables, dándoles propiedades eléctricas y permitiendo manipular las propiedades mecánicas, de degradación y otras según la necesidad. Una mezcla PPy/PLA es un ejemplo de ello. También el uso de oligómero ha permitido obtener polímeros biodegradables conductores [27,61].

También se han fabricado películas y andamios de polímero biodegradables con nanotubos de carbono (CNT). Los CNT poseen propiedades mecánicas, térmicas y eléctricas excepcionales, lo que facilita su uso como refuerzos o aditivos de distintos materiales mejorando sus propiedades

[62]. Por ejemplo, Shao et al. [63] fabricaron nanofibras conductoras de PLA y CNT de pared múltiple [63] con excelente resultados en la estimulación eléctrica de osteoblastos.

Una alternativa poco explorada en la ingeniería de tejidos son los polímeros conductores iónicos. Como se explicó en secciones anteriores, los polímeros conductores iónicos son electrolitos sólidos, donde las propiedades de conducción eléctrica se dan por la migración de iones provenientes de una sal o un ácido.

2.4 ELECTROHILADO PARA LA CONSTRUCCIÓN DE ANDAMIOS PARA TEJIDO ÓSEO

La técnica de electrohilado y las matrices fibrosas han ganado mucha popularidad debido principalmente a la similitud de los andamios obtenidos con la matriz extracelular de los tejidos del cuerpo. Casi todos los tejidos y órganos del cuerpo se sintetizan y se organizan con estructuras fibrosas de tamaños micro y nano [32]. Usar el sistema de electrohilado es un enfoque biomimético a la ingeniería de tejidos óseos [32].

Diferentes polímeros, tanto naturales como sintéticos se han usado para crear andamios con la técnica de electrohilado para la ingeniería de tejidos óseos. En los últimos años se han involucrado nanopartículas inorgánicas en la técnica, como CaCO_3 , Fe_3O_4 , hidroxiapatita, nanotubos de carbono, entre otros. [32,63] A continuación, se mencionan algunos trabajos de construcción de andamios con la técnica de electrohilado.

Shahini et al. [67] crearon andamios conductores con poli (3,4-etilendioxitiofeno) poli (sulfonato de 4-estireno) (PEDOT: PSS). El material obtenido mostró estabilidad fisicoquímica, mejorando las propiedades mecánicas y la resistencia a la biodegradación. Zhang et al. [68] prepararon nanofibras compuestas de PLA con nanoesferas de fosfato de calcio amorfo y nanobarras de hidroxiapatita. Los andamios exhibieron mineralización favorable en fluido biológico simulado (SBF).

Ren et al. [69] crearon fibras de gelatina / siloxano (GS) y evaluaron el crecimiento de las células madre mesenquimales derivadas de médula ósea. Los resultados indican que la estructura y el tamaño de fibra porosa de las esterillas fibrosas GS se puede ajustar con precisión mediante la variación de la viscosidad de la solución. Además, se evidenció proliferación y diferenciación de las células de mesenquimales. Liu et al. [70] elaboraron nanofibras de anilina pentámero-injerto-gelatina (AP-g-GA) y poli(L-láctico) (PLLA). Las nanofibras exhibieron buena electroactividad, estabilidad térmica y biodegradabilidad.

Un último ejemplo es el andamio fabricado por Neto et al. [71] con poli (adipato de butileno-co-tereftalato) (PBAT) y nanopartículas de HA. Este estudio mostró que el material compuesto tenía una morfología adecuada, la estructura y buenas propiedades mecánicas, proliferación y diferenciación en células óseas.

3. CAPÍTULO TRES: METODOLOGÍA

En este capítulo se describe de forma detallada todo el proceso experimental que se realizó para obtener los resultados mostrados en el capítulo 4. Se inicia exponiendo los materiales empleados en este estudio y el motivo de su selección.

Posteriormente se describen los procedimientos seguidos para obtener las membranas por evaporación lenta de disolvente y por la técnica de electrohilado para los materiales seleccionados, considerando las cantidades de reactivos, concentraciones y cuidados que se tuvieron en cuenta para su ejecución.

La tercera parte de este capítulo hace referencia a las técnicas empleadas para la caracterización de las membranas, los equipos empleados, los parámetros de operación y como fue el manejo de los resultados para su posterior análisis.

3.1 MATERIALES

Para la fabricación de polímeros de conducción iónica son necesarios tres elementos: un polímero, una sal o ácido como fuente de iones y un disolvente común para ambos sólidos. En este trabajo de investigación se emplearon policaprolactona, sales de nitrato (plata y magnesio) y acetona.

La policaprolactona (PCL) con fórmula molecular $(C_6H_{10}O_2)_n$ es un poliéster semicristalino de bajo punto de reblandecimiento entre 59-64°C y una temperatura de transición vítrea de -60°C. Es soluble en ácido acético, ácido fórmico, cloroformo, entre otras y parcialmente en acetona [72]. Ha sido ampliamente usado en investigaciones para aplicaciones en ingeniería de tejidos por su lenta velocidad de degradación, buena permeabilidad y biocompatibilidad [16]. Es un buen candidato para ser usado en la elaboración de polímeros de conducción iónica para ingeniería de tejidos debido a que la temperatura corporal se encuentra entre el intervalo de temperatura de transición vítrea y de reblandecimiento, además consta con una base de Lewis (grupo éster) que permite formar complejos con la sal [16].

Ambas sales, nitrato de plata (AgNO_3) y nitrato de magnesio ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) han sido empleadas para la construcción de biomateriales [73-76]. Por las propiedades antimicrobianas del ion plata, esta sal es utilizada para impedir la formación de biopelícula en los biomateriales limitando la aparición de infecciones [77,78]. Por otra parte los iones magnesio tienen gran relevancia en las funciones bioquímicas de las células, indispensable para el funcionamiento del núcleo, estabilidad física, actuador como cofactor para enzimas de ácido ribonucleico y papel esencial en las funciones mitocondriales, entre otras funciones [79].

Debido a que ambas sales contienen como anión al nitrato es posible analizar el comportamiento de los cationes quienes se esperan formen el complejo con los oxígenos del grupo éster, en la Figura 3.1 se muestra el esquema del complejo formado con uno de los oxígenos. Con respecto a la solubilidad de estas sales en acetona, el nitrato de magnesio es soluble mientras el nitrato de plata lo es parcialmente.

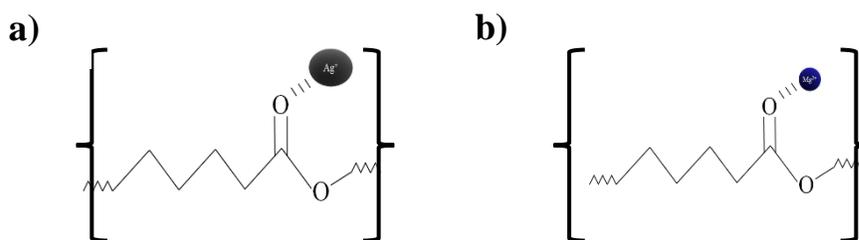


Figura 3.1. Formación del complejo a) polímero- Ag^+ y b) polímero- Mg^{+2} . Elaboración propia

La acetona ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) es un disolvente común para el polímero y las sales, es sustentable y no tóxico y ha sido poco utilizado para electrohilar por la dificultad de encontrar los parámetros adecuados de operación, particularmente para la policaprolactona [80]. Sin embargo, por sus propiedades es adecuada en comparación a otros disolventes altamente tóxicos.

En la Tabla 3.1 se encuentran las características de los reactivos empleados en este estudio y en la Figura 3.2 se encuentra los patrones de XRD del nitrato de plata y nitrato de magnesio necesarios para los análisis de las secciones 4.1.1.1, 4.1.2.1, 4.2.1.1 y 4.2.2.1.

Tabla 3.1. Reactivos utilizados en el estudio

Reactivos	Marca	Características
Policaprolactona (PCL)	Sigma Aldrich	Mn= 80kDa
AgNO_3	Alfa Aesar	Grado ACS
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Sigma Aldrich	Grado ACS
Acetona	Merck	Para análisis

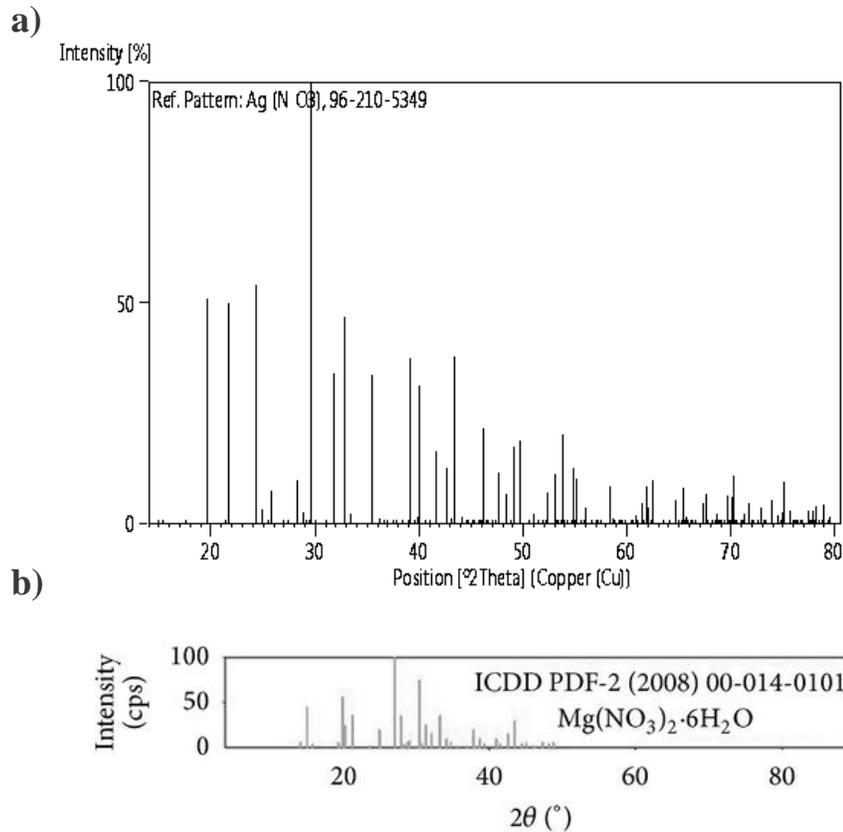


Figura 3.2. Patrón de difracción para el nitrato de plata. Ref. 96-210-5349. Tomada de [81] y el nitrato de magnesio hexahidratado Ref. 00-014-0101. Tomada de [82]

3.2 OBTENCIÓN DE MEMBRANAS

3.2.1 EVAPORACIÓN LENTA DE DISOLVENTE (SOLVENT CASTING)

La Figura 3.3 muestra el procedimiento paso a paso para la obtención de membranas por el método de evaporación lenta de disolvente con la sal de nitrato de magnesio. Se agitaron 0,6g de PCL en 10ml de acetona a 40°C por 30 min para su disolución. Luego, 0,067g de Mg (NO₃)₂·6H₂O en 10ml de acetona se agitaron por 30min para conseguir una relación con el polímero de 5%(mol de sal/mol de monómero de PCL). Las soluciones anteriores fueron mezcladas y agitadas por 24h. Posteriormente la solución final se vertió en una caja Petri, se tapó y dejó reposar a temperatura ambiente por aproximadamente 3 días en los cuales se eliminó todo el disolvente. Finalmente, la muestra fue extraída de la caja Petri y almacenada en un desecador. Se repite el procedimiento para las relaciones de sal-polímero 7, 10,14 y 20%. Estas membranas están nombradas en el documento como PCL-xMg-SC, donde la x corresponde al porcentaje de relación sal-polímero y SC se refiere a *solvent casting*.

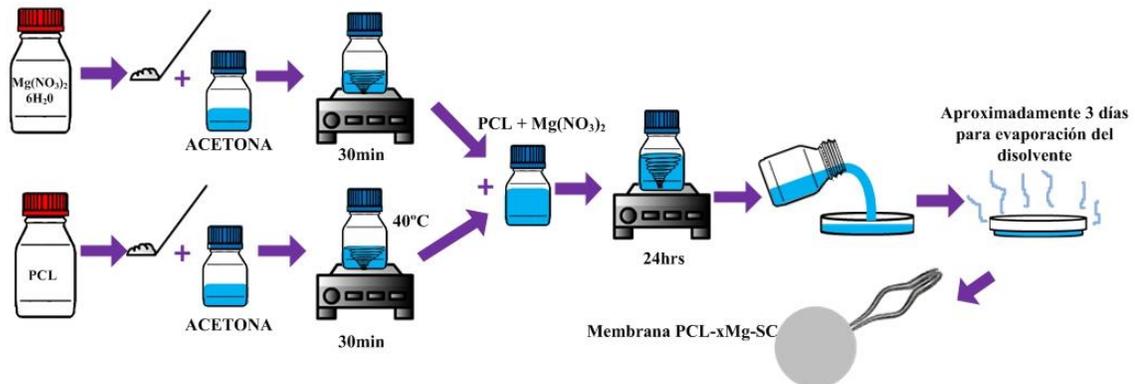


Figura 3.3. Procedimiento para obtención de membranas PCL-xMg-SC. Elaboración propia.

Las membranas con sal de nitrato de plata fueron elaboradas de forma similar. Sin embargo, para diluir la sal fue necesario utilizar 100ml de acetona debido a la poca solubilidad del nitrato de plata en el disolvente. Luego de agitar la solución por 24h, se dejó al aire libre para disminuir la cantidad de disolvente hasta 20ml, proceso que puede tardar hasta 3 días. Se verificó que no se presentara ningún precipitado de la sal, lo que da indicios de la formación del complejo polímero-sal. Finalmente se vierte la solución en la caja Petri para posterior extracción y almacenamiento (el procedimiento fue realizado con cuidado de no exponer las soluciones o las membranas a la luz, dadas las propiedades fotosensibles de esta sal). Se obtuvieron membranas para las concentraciones de 5, 7, 10,14 y 20% todas siguiendo el procedimiento anterior. El nombre asignado para estas membranas fue PCL-xAg-SC. En la Figura 3.4 se muestra la etapa adicional al procedimiento. Para la obtención de la membrana del polímero puro se realizaron los mismos pasos.

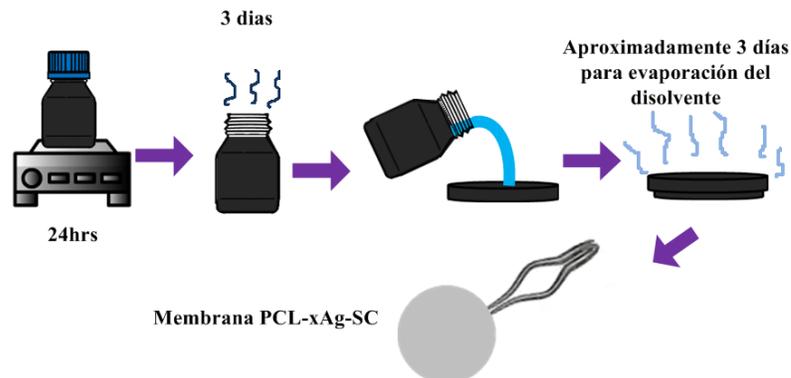


Figura 3.4. Procedimiento para obtención de membranas PCL-xAg-SC. Elaboración propia.

3.2.2 ELECTROHILADO (ELECTROSPINNING)

Para obtener las membranas hiladas se utilizó el sistema de electrohilado FLUIDNATEK™ LE 100 de BioInicia, del laboratorio de Biomateriales y Electromedicina del Instituto Tecnológico Metropolitano.

Para determinar los parámetros de operación del equipo y obtener membranas electrohiladas de características definidas fue necesario realizar los ensayos preliminares para cada una de las soluciones, al modificar la PCL con las sales, fueron modificadas las propiedades y con esto los parámetros de hilado necesarios para tener la estabilidad del cono de Taylor, estos resultados son ampliados en la Secciones 4.2.1 y 4.2.2.

Los parámetros utilizados en el sistema de electrohilado con los que fueron obtenidos los andamios nanoestructurados fueron:

Tasa de flujo: 1ml/h

Distancia punta a colector: 10cm

Voltaje en la punta: +10kV

Voltaje en colector: -15kv

La concentración de la solución debió diluirse en mayor grado en comparación a lo reportado en la literatura, esto dados los efectos ocasionados por la presencia de la sal. Para el electrohilado fue entonces necesario contar con una concentración entre el polímero y la acetona de 3% w/v en lugar del 10% w/v reportado [80]. Las soluciones sal-polímero obtenidas fueron 5, 7, 10, 14 y 20%. La Figura 3.5 muestra el sistema de electrohilado y los parámetros establecidos.

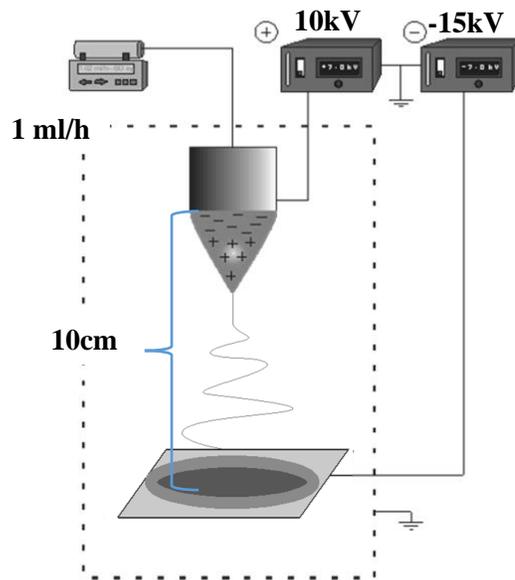


Figura 3.5. Parámetros de operación establecidos para el sistema de electrohilado. Tomado del Manual del equipo

Cada solución sal-polímero fue cargada en la jeringa de 5 ml y puesta en la bomba del sistema de electrohilado. Sobre el colector fue colocada una hoja cuadrada de papel aluminio de 30cm de lado donde el andamio va siendo construido. Dado que la jeringa solo puede contener 5ml esta es recargada continuamente. El proceso para obtener un andamio de espesor entre 150 y 200 μ m puede tardar aproximadamente 12h. Al finalizar, el andamio es removido del aluminio con sumo cuidado y almacenado en un desecador. Al interior del sistema de electrohilado se cuenta con un

medidor de humedad y temperatura el cual registró en todos los casos un rango de 25-37% de humedad relativa y 20-43°C de temperatura durante el uso del equipo¹. En el caso de las soluciones con contenido de nitrato de plata, el equipo fue cubierto para evitar la exposición de la solución y del andamio construido, a la luz. Los andamios obtenidos por este método se denominan PCL-xAg-EL y PCL-xMg-EL, donde EL indica electrohilado.

3.3 CARACTERIZACIÓN DE MEMBRANAS

En la Tabla 3.2 se especifican las pruebas de caracterización realizadas a las membranas obtenidas por evaporación lenta y por electrohilado

Tabla 3.2. Pruebas de caracterización realizadas a las membranas obtenidas por evaporación lenta de disolvente y electrohilado

Membrana	Prueba					
	XRD	DSC	SEM	Prueba de tensión	Espectroscopia de impedancia	Prueba de citotoxicidad
PCL-SC	x	x				
PCL-5Ag-SC	x	x			x	
PCL-7Ag-SC	x	x			x	
PCL-10Ag-SC	x	x			x	
PCL-14Ag-SC	x	x			x	
PCL-20Ag-SC	x	x			x	
PCL-5Mg-SC	x	x			x	
PCL-7Mg-SC	x	x			x	
PCL-10Mg-SC	x	x			x	
PCL-14Mg-SC	x	x			x	
PCL-20Mg-SC	x	x			x	
PCL-EL	x	x	X	x		X
PCL-5Ag-EL	x	x	X	x	x	X
PCL-7Ag-EL	x	x	X	x	x	
PCL-10Ag-EL	x	x	X	x	x	X
PCL-14Ag-EL	x	x	X	x	x	
PCL-5Mg-EL	x	x	X	x	x	X
PCL-7Mg-EL	x	x	X	x	x	
PCL-10Mg-EL	x	x	X	x	x	X
PCL-14Mg-EL	x	x	X	x	x	

3.3.1 CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL

Esta prueba fue realizada tanto para las membranas con evaporación lenta de disolvente como para los andamios electrohilados.

¹ El equipo no dispone de control de temperatura y humedad

Para las pruebas de XRD, se extrajo una muestra de 1cm de diámetro de cada membrana. Se usó un Difractómetro de Rayos X (DRX) XPert PANalytical Empyrean Serie II - Alpha1, Modelo 2012 del Laboratorio de Difracción de rayos-X de la Universidad de Antioquia. La prueba se realizó entre un ángulo 2θ de 10° a 33° a un paso de $0,013^\circ$ y 61,2 s por paso con tubo de cobre.

Los difractogramas obtenidos fueron comparados con los patrones encontrados en la literatura del polímero puro y los mostrados en la Figura 3.2 para su respectivo análisis.

3.3.2 CARACTERIZACIÓN TÉRMICA

Esta prueba fue realizada tanto para las membranas con evaporación lenta de disolvente como para los andamios electrohilados.

En las pruebas DSC se empleó un SDT Q600 de TA Instruments del Laboratorio de Ciencias Térmicas del Instituto Tecnológico Metropolitano con un flujo de nitrógeno 100ml/min y una rampa $5.00^\circ\text{C}/\text{min}$ hasta 90.00°C a muestras de (5-6) mg. Con los termogramas obtenidos y el Software Universal Analysis 2000 de TA Instruments fue posible obtener las entalpías de reblandecimiento (ΔH_f) y temperaturas de reblandecimiento para cada una de las muestras (ver ANEXO 1), y se calculó con la Ecuación. 3.1 el porcentaje de cristalinidad relativa $\% \chi$ para su posterior análisis.

$$\% \chi = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_0} * 100 \quad \text{Ecuación. 3.1}$$

Donde χ es la cristalinidad relativa, ΔH_f es la entalpia de reblandecimiento de la muestra y ΔH_0 es la entalpia de reblandecimiento de referencia el cual será el polímero puro según la técnica empleada.

3.3.3 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Esta prueba fue realizada solo para los andamios electrohilados, dado que de las membranas obtenidas por evaporación lenta, no se obtienen nanoestructuras.

La morfología de las superficies electrohiladas fue observada con un Microscopio electrónico de barrido marca JEOL JSM-7100 con cañón de electrones auxiliado por campo (Field Emission Gun, FEG) del Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido del Instituto Tecnológico Metropolitano. Las muestras fueron recubiertas previamente con una capa gruesa de oro por un Sputtering Quorum Q300td del mismo laboratorio.

Con las micrográficas obtenidas y el software ImageJ se midieron los diámetros de alrededor 1000 fibras para cada una de las muestras electrohiladas con el fin de obtener un histograma confiable y diámetro de fibra promedio.

3.3.4 CARACTERIZACIÓN MECÁNICA

Esta prueba fue realizada solo sobre los andamios electrohilados abordando los objetivos del trabajo de investigación.

Las pruebas de tensión fueron realizadas con una Máquina Universal marca SHIMADZU / Modelo: AG-100NKX con una celda de 500N del Laboratorio de Materiales Poliméricos del Instituto Tecnológico Metropolitano. Las dimensiones de cada muestra fueron de 7 cm de largo, 5 mm de ancho y espesor mayor a 100 μ m. Cada muestra fue sometida a pruebas de tensión en longitud calibrada de 5cm y con velocidad de 10mm/min (Norma ASTM D882-12 para películas delgadas) a temperatura ambiente. El resultado se derivó del promedio de cinco (5) especímenes por cada andamio evaluado.

Debido a las dimensiones del equipo fue necesario utilizar porta-muestras elaborados en cartón paja como lo muestra la Figura 3.6. La muestra es pegada de sus extremos por encima de líneas marcadas asegurando una longitud calibrada de 5cm. Las dimensiones de las muestras fueron realizadas con un micrómetro digital con incertidumbre de 0,01mm.

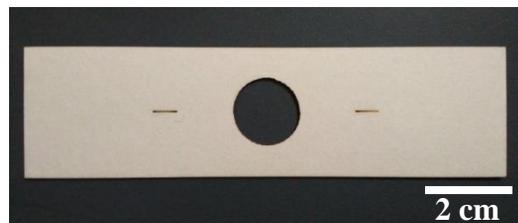


Figura 3.6. Porta-muestras para pruebas mecánicas. Fotografía.

Con los resultados de la fuerza aplicada fueron calculados los esfuerzos, utilizando la Ecuación. 3.2, para posteriormente graficar esfuerzo vs deformación y determinar el módulo de Young, el esfuerzo final y la deformación a la rotura, tal como se expone en la Sección 1.3.4.

$$\text{Esfuerzo} = \frac{F}{A} \qquad \text{Ecuación. 3.2}$$

Donde F es la fuerza aplicada y A es área transversal de las muestras.

3.3.5 CARACTERIZACIÓN ELÉCTRICA

Esta prueba fue realizada tanto para las membranas con evaporación lenta de disolvente como para los andamios electrohilados. A la policaprolactona pura no le fueron realizadas estas pruebas dado su carácter hidrófobo.

De cada muestra fue obtenido un círculo con 1cm de diámetro (las dimensiones de las muestras son medidas con un micrómetro digital) que fueron humedecidas en agua desionizada hasta alcanzar 30% de su peso en agua para simular la humedad del hueso. El equipo utilizado fue un impedanciometro HIOKI 3532-50 LCR HiTESTER del Laboratorio de Cerámicos y vítreos de Ingeominas de la Universidad Nacional de Colombia- Sede Medellín. El voltaje aplicado fue de 1V y el barrido de frecuencias entre 42 Hz a 5MHz. La película es puesta entre dos electrodos de oro de igual diámetro en una celda con control de temperatura para un barrido de 24-48°C cada 3 °C, es decir se realizaron 9 medidas de temperatura para cada tipo de membrana. La Figura 3.7 muestra el procedimiento realizado.

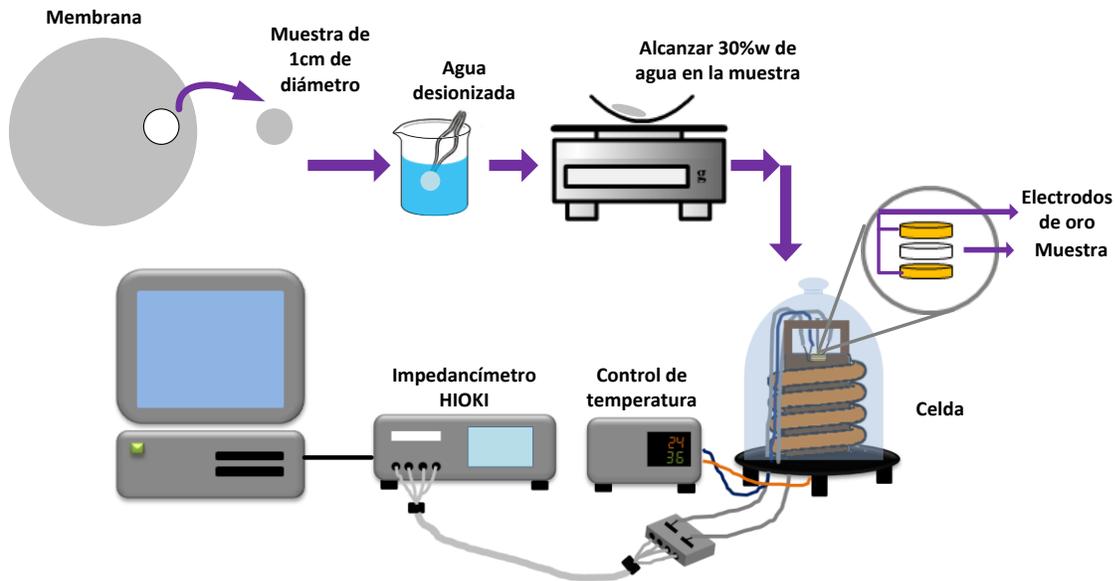


Figura 3.7. Procedimiento pruebas eléctricas. Elaboración propia

En el proceso de humedecer las muestras se usa agua desionizada y no un fluido biológico simulado como normalmente es usado en los estudios en biomateriales, esto debido a que los iones presentes en este tipo de fluidos participarían en el proceso de conducción iónica y no permitirían un estudio adecuado de los iones involucrados en las sales.

Con los resultados obtenidos para cada una de las pruebas se grafica la impedancia real Z' vs la impedancia imaginaria Z'' . El corte de la curva con el eje X representa la resistencia del bulbo con la cual se calcula la conductividad iónica (σ) a partir de la Ecuación. 3.3

$$\sigma = \frac{l}{A} \cdot \frac{1}{R} \quad \text{Ecuación. 3.3}$$

Donde l es el espesor de la muestra, A el área transversal y R la impedancia del bulbo.

Posteriormente es graficado el $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ (donde σ está en S/m y T en K) sobre el que se analiza el comportamiento de la conductividad respecto el aumento de temperatura. A partir del

segmento recto de las gráficas de cada una de las concentraciones se halla la energía de activación del proceso al ajustar la Ecuación. 1.2 de Arrhenius y obtener el valor de la pendiente de la recta. El modelo Arrhenius fue seleccionado sobre el modelo VTF por su buena aproximación al ajuste de resultados y simplicidad. La tangente de pérdida normalizado $\text{Tan } \delta / (\text{Tan } \delta)_{\text{max}}$ se calcula con el objetivo de analizar la ubicación del pico de tangente de pérdidas respecto a la frecuencia, la cual relaciona la frecuencia donde se da la mayor conductividad iónica (Ecuación. 3.4).

$$\text{Tan } \delta = \frac{Z''}{Z'} \quad \text{Ecuación. 3.4}$$

Finalmente, se realiza un ajuste del circuito equivalente a los resultados de impedancia con el software Z view para determinar la resistencia asociada a cada ion y sus energías de activación.

3.3.6 CARACTERIZACIÓN CITOTÓXICA

Las pruebas de citotoxicidad de las muestras se realizaron como prestación de servicio en el Laboratorio de Terapia Celular y Biobanco de la IPS Universitaria de la Universidad de Antioquia. Para el estudio se utilizó la norma “*International Organization for Standardization*” (ISO) 10993: “*Biological Evaluation of Medical Devices, Part 5 – Anexo C*”. Las muestras fueron esterilizadas con etanol al 70% (3 inmersiones de 30 segundos seguidos por lavados con Lactato de Ringer) y sumergidas en la sustancia extractora (cMEM-RF). cMEM-RF es la sigla de Minimal Essential Medium -MEM-, sin Rojo Fenol -RF-, sin glutamina, suplementado al 10% con Suero Bovino Fetal y al 5% con Penicilina/Estreptomicina. Los extractos preparados se incubaron con las monocapas de células L929 a 37 °C, CO₂ 5%, durante 24 h. Después de este periodo se determinó la viabilidad celular por medio de la técnica de punto final MTT.

4. CAPÍTULO CUATRO: RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los resultados y análisis se dividen en cuatro partes, en la primera parte se refiere a los resultados de caracterización de las membranas por evaporación lenta de disolvente o *solvent casting* (SC) para los sistemas PCL-Ag y PCL-Mg. Dado que no se encuentran en literatura el estudio de estos sistemas, los resultados obtenidos en esta etapa constituyen la base de partida para comprender la dinámica de los iones a través de la policaprolactona. Para cada sistema se encuentran los gráficos XRD, DSC y de espectroscopia de impedancia.

En la segunda etapa se presentan los resultados de caracterización para los andamios construidos por la técnica de electrohilado. Los gráficos XRD, DSC, micrografías SEM, propiedades mecánicas, espectroscopia de impedancia, y de citotoxicidad son mostrados para cada sistema.

En la Sección 4.3 partiendo de una misma concentración se comparan las diferentes propiedades obtenidas de cada membrana cuando estas son construidas por la técnica de evaporación lenta y por electrohilado y en la Sección 4.4 partiendo igualmente de una misma concentración, se comparan las propiedades obtenidas al cambiar el tipo de sal.

Por último, este capítulo concluye con la confrontación entre las propiedades del hueso reportadas en la literatura con las mejores propiedades encontradas en los andamios para finalmente elegir el material y características del andamio con mayor potencial de aplicación en la ingeniería de tejidos óseos.

4.1 MEMBRANAS OBTENDIDAS POR EVAPORACIÓN LENTA DE DISOLVENTE

4.1.1 SISTEMA PCL-Ag-SC

Las membranas construidas fueron de aproximadamente 6cm de diámetro, de las cuales fueron extraídas partes de 1cm de diámetro para cada prueba. El espesor promedio de las membranas fue

de $(0,81\pm 0,03)$ mm y fue realizada una inspección visual para verificar características de superficie lisa sin imperfecciones notorias. El color de las muestras fue similar al del polímero puro (blanco). Sin embargo, por las propiedades fotosensibles que adquirió el polímero al tener iones de plata se torna de color café cuando es expuesta a la luz, como se muestra en la Figura 4.1.

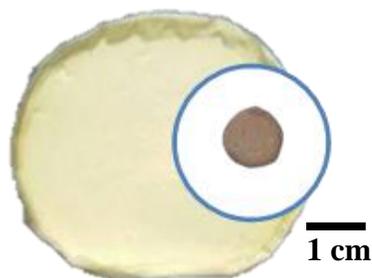


Figura 4.1. Membrana obtenida (blanca) y muestra expuesta a la luz (café). Fotografías.

4.1.1.1 Análisis XRD

La Figura 4.2 presenta los difractogramas XRD del polímero puro y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal. Para el PCL puro se observan los picos característicos típicos del PCL en 2θ $21,5^\circ$ y $23,8^\circ$ correspondientes a los planos (110) y (200) debido a su estructura semi-cristalina [83-85]. El pico observado cerca de $19,3^\circ$ puede asociarse al tiempo que toma la evaporación lenta del disolvente dejando que las cadenas poliméricas se reorganicen. Adicionalmente, se logró la formación de los complejos polímero-sal, dado que, los picos característicos del AgNO_3 (Figura 3.2-a) están ausentes en la Figura 4.2 [6, 9, 86].

Para todas las concentraciones de AgNO_3 en el polímero se evidenció una disminución significativa de los picos de la policaprolactona, lo que indica la disminución de la fase cristalina ante la presencia de esta sal; de igual forma se evidencia que cuanto mayor es la concentración de la sal es menor la intensidad de los picos, reflejando la coexistencia de la fase amorfa y cristalina, supeditada a una mayor fase amorfa cuanto mayor formación de los complejos polímero-sal exista. Un pequeño desplazamiento hacia ángulos mayores de los picos principales y la aparición del pico en $2\theta=29,9^\circ$ pueden asociarse al cambio de las coordenadas de las moléculas del PCL con la presencia de los iones Ag^+ y NO_3^- cuando forman el complejo con el polímero [83].

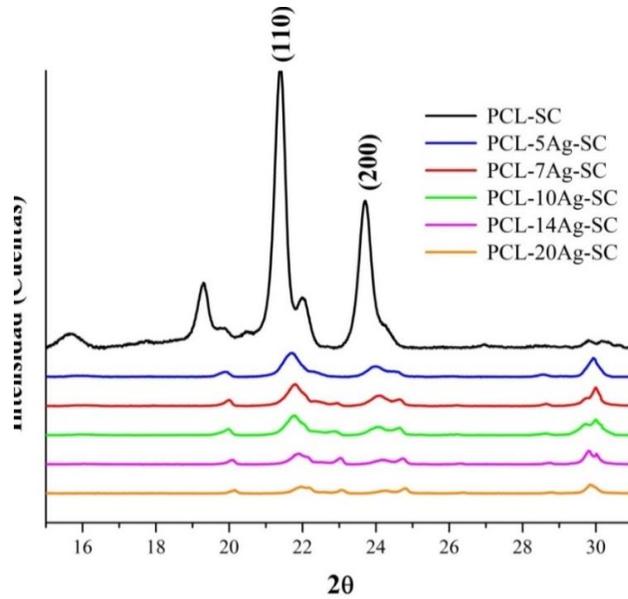


Figura 4.2. Difractogramas XRD del polímero puro y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal

4.1.1.2 Análisis DSC

La Figura 4.3 presenta los termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal. De las curvas DSC se obtienen los picos endotérmicos correspondientes a la temperatura de fusión o de reblandecimiento de las muestras evaluadas. Los cambios en la temperatura de reblandecimiento del sistema respecto al polímero puro son muy leves y puede generarse debido a la reorganización de las cadenas poliméricas por la presencia de los iones de la sal. Las temperaturas de reblandecimiento se encontraron en el rango de 62-65°C para las membranas con las diferentes adiciones de esta sal.

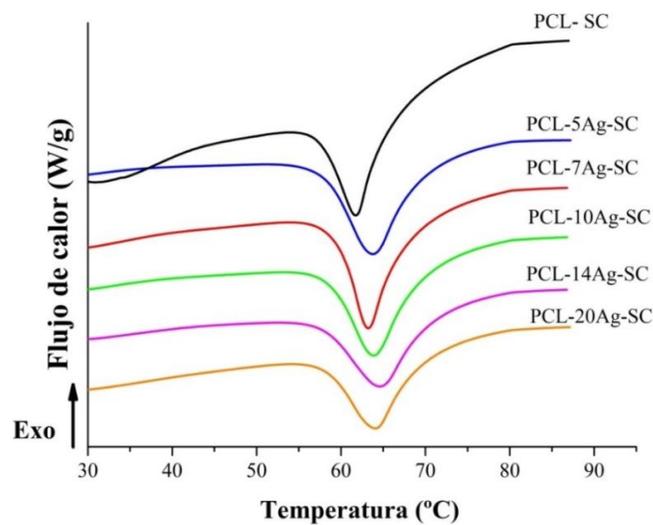


Figura 4.3. Termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal

Con el termograma de la Figura 4.3 y mediante el software Universal Analysis fueron determinadas las entalpías de reblandecimiento (ΔH_f) y con esta, el porcentaje de cristalinidad relativa $\% \chi$ a partir de la Ecuación. 3.1. En la Tabla 4.1 se reportan: las entalpías de reblandecimiento (ΔH_f), temperaturas de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-SC y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal. De la tabla se observa como al incrementar la concentración de sal disminuye ΔH_f y $\% \chi$ indicando un incremento de la fase amorfa del sistema polimérico, tal como se observó en los resultados de XRD.

Tabla 4.1. Entalpías de reblandecimiento (ΔH_f), temperaturas de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-SC y del sistema PCL-Ag-SC con diferentes contenidos de sal

Muestra	ΔH_f [J/g]	T_m [°C]	χ [%]
PCL-SC	98,70	61,99	100,0
PCL-5Ag-SC	96,17	63,93	97,4
PCL-7Ag-SC	93,78	63,34	95,0
PCL-10Ag-SC	94,07	64,10	95,3
PCL-14Ag-SC	78,09	64,94	79,1
PCL-20Ag-SC	73,90	64,33	74,9

4.1.1.3 Conductividad iónica

Previo a la evaluación de conductividad iónica, las membranas poliméricas fueron humedecidas con agua desionizada para simular la humedad del hueso. Es importante mencionar que la policaprolactona se caracteriza por ser un polímero hidrófobo [24]. Sin embargo, cuando se humedeció el polímero-sal con agua desionizada se notó un aumento en su peso. Esto puede deberse a que los iones de la sal de plata que se encuentran formando un complejo con el polímero pueden ser solvatados por las moléculas de agua, permitiendo que el polímero almacene agua en su estructura en algún porcentaje.

En la Figura 4.4 se muestra el esquema del ion de plata con un radio iónico de 125pm rodeado de cuatro moléculas de agua. De acuerdo a lo reportado en la literatura un ion de plata tiene la capacidad de coordinar hasta cuatro moléculas de agua en configuración tetraédrica, su entalpia de hidratación (ΔH_{hid}) es de - 473 kJ/mol (reacción exotérmica) y una tasa de cambio del agua mayor a $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ que está relacionada con el tiempo de permanencia de las moléculas de agua en el complejo [87-90]. De esta forma es posible explicar la acumulación de agua en las muestras.

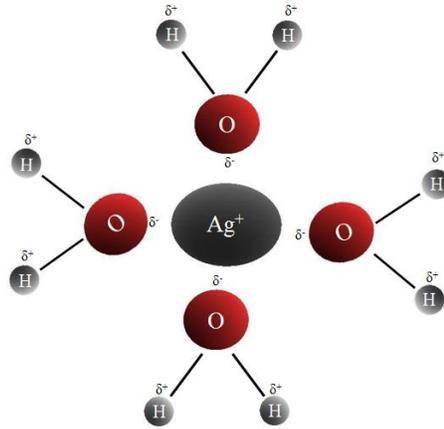


Figura 4.4. Esquema de hidratación del ion plata. Elaboración propia

La Figura 4.5 presenta los resultados Z' vs Z'' de las pruebas de impedancia eléctrica para las muestras evaluadas a 24°C y 36°C (temperatura corporal). La figura está compuesta por dos semicírculos, uno asociado a las interacciones en el bulto y el otro (incompleto) a la interface de la superficie electrodo-electrolito. Cuando se aumentó la concentración de sal en las membranas se obtuvo una disminución en la resistencia del bulto para las dos temperaturas mostradas, lo que indica un aumento de la conductividad iónica del sistema. Por ejemplo, se obtuvo una disminución de 1000Ω en la resistencia del bulto entre las concentraciones de 14% a 20% con 36°C.

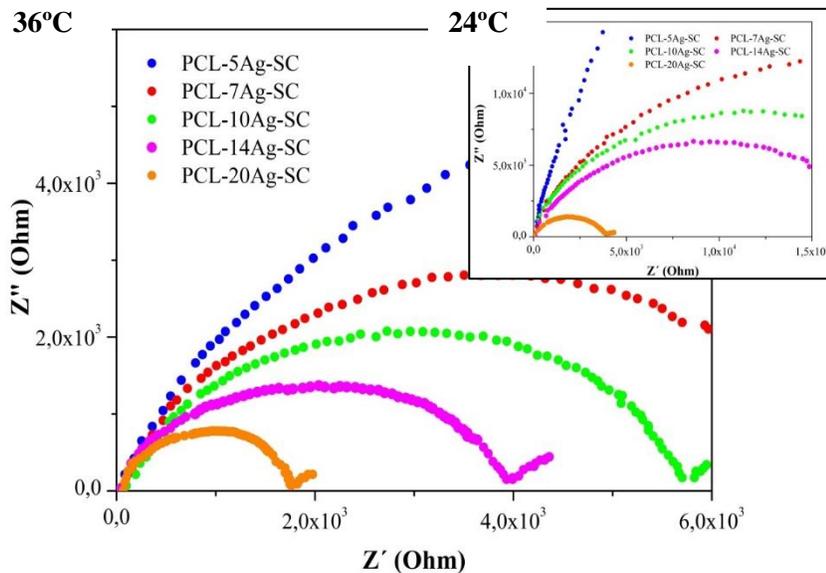


Figura 4.5. Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria Z'' de las muestras evaluadas a 24 y 36°C del sistema PCL-Ag-SC

La conductividad iónica se calculó con la resistencia del bulto (punto de intersección con el eje x) y la Ecuación. 3.3; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** De acuerdo a la Figura 4.6-a). Se evidencia una disminución en la inclinación de la línea recta a concentraciones más altas, esto es posible explicarlo considerando que la movilidad de los iones puede verse limitada por la

presencia de ellos mismos. Para el rango de temperatura de 39 a 48°C no se evidenció un aumento o disminución de la conductividad, esto puede ocurrir por dos efectos que pueden ser compensatorios. El primero es la pérdida de agua por evaporación para las altas temperaturas lo cual debería disminuir los valores de conductividad, pero esta disminución es compensada ante el aumento de temperatura, que conlleva a aumentar la conductividad, provocando un comportamiento estable para el rango de 39 a 48°C.

El comportamiento de la conductividad entre 24 y 39°C sigue el comportamiento ideal de Arrhenius para determinar la energía de activación, mientras que para los valores de temperatura superiores no se cumple este comportamiento, dado esto y por simplicidad se decidió ajustar a la Ecuación. 1.2 para el rango de temperatura entre 24 y 39°C. En la Figura 4.6 se observa el comportamiento de la energía de activación y la conductividad, ambas variando en relación a la concentración de sal de plata. En la energía de activación se observa un salto descendente al pasar de la concentración de 5 a 7% y posteriormente al aumentar la concentración hasta 20% no se observan cambios significativos, esto parece ser debido a disminuciones en las fuerzas de interacción interna al aumento de concentración de sal. En relación a la conductividad se encuentran tres situaciones: 1) el paso de concentración de 5% a 7% presenta un crecimiento rápido de conductividad, esto debe estar asociado a la disminución en la energía de activación efecto que permite una mayor movilidad de iones; 2) para el rango entre 7 y 14% el aumento en la conductividad es leve y 3) para la mayor concentración (20%) la conductividad aumenta significativamente, esto debido a su bajo porcentaje de cristalinidad relativa tal como se encontró en el análisis térmico, Tabla 4.1 y por tanto aumentó la fase amorfa, en la cual las cadenas poliméricas tienen más flexibilidad, resultando en mayor facilidad de movimientos para los segmentos poliméricos y mejorando así la conductividad [30].

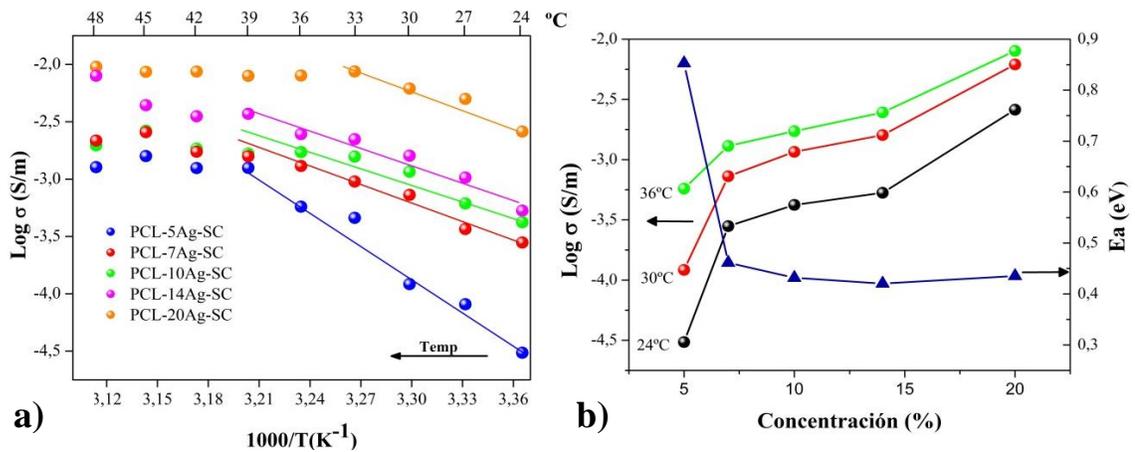


Figura 4.6. a) $\text{Log } (\sigma)$ vs $1000/T$ y **b)** $\text{Log } (\sigma)$ vs concentración - E_a vs concentración del sistema PCL-Ag-SC

En las Figura 4.7 y Figura 4.8 se encuentran las gráficas de tangente de pérdidas dieléctricas normalizada a diferentes concentraciones y temperaturas. Para todas las gráficas se evidencia un pico máximo de tangente de pérdidas, el cual separa las frecuencias donde se tienen lugar los efectos de polarización en el electrodo (bajas frecuencias) y los efectos en el bulbo (altas

frecuencias), es decir, existen dos regiones de dinámica molecular [64]. El aumento de temperatura no se encontró como factor significativo para la tangente de pérdidas como se presenta Figura 4.7 donde el desplazamiento de los picos es despreciable. Para todos los casos, al aumentar la concentración de esta sal, se tiene un desplazamiento del pico hacia la zona de mayor frecuencia, debido al aumento en su fase amorfa, dado que cuando un polímero es más amorfo sus cadenas poliméricas vibran con mayor facilidad presentándose mayor conductividad lo cual ya ha sido demostrado experimentalmente [30].

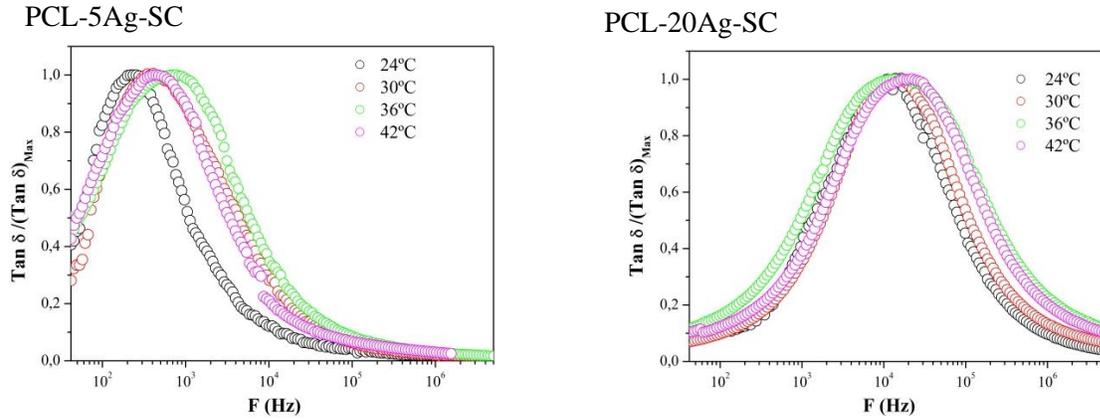


Figura 4.7. Tangente de pérdidas normalizado para las concentraciones 5 y 20% a diferentes temperaturas

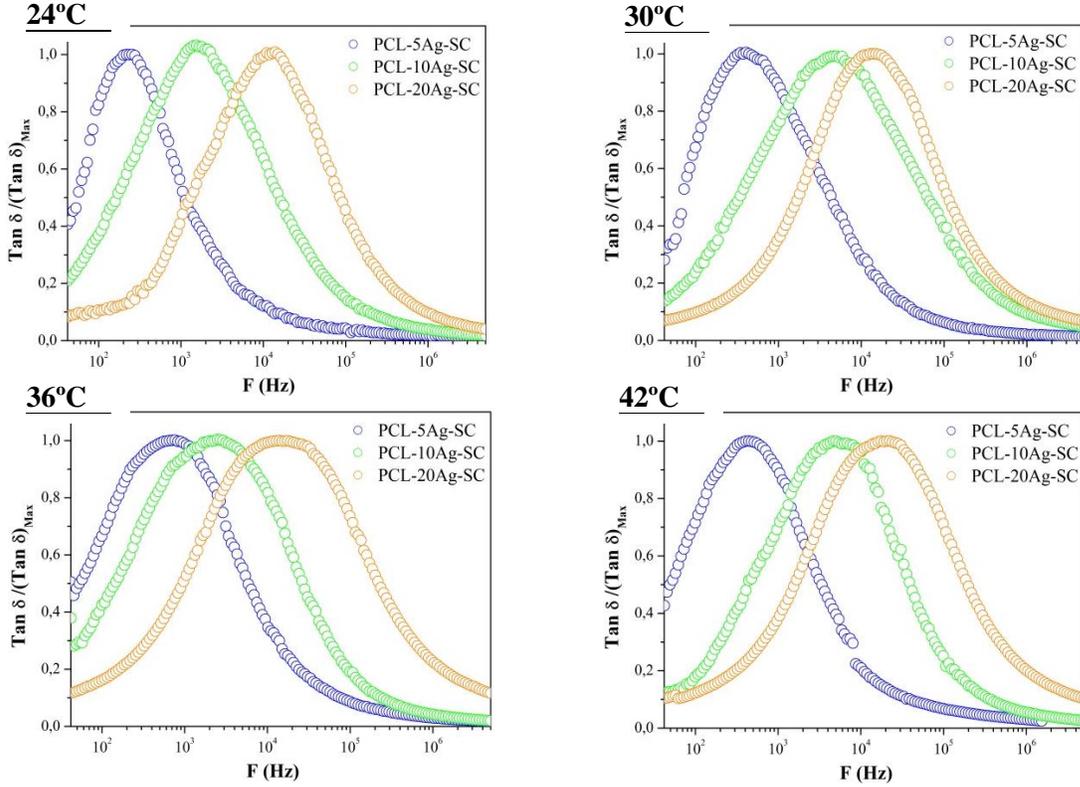


Figura 4.8. Tangente de pérdidas normalizado para las temperaturas de 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Ag-SC

Los análisis de impedancia, energía de activación y tangente de pérdida realizados, representan el comportamiento eléctrico del bulto. Sin embargo, la impedancia eléctrica de la membrana suele ser representada por las resistencias que sean asociadas a cada ion para determinar las energías de activación de cada una de ellas.

De esta forma, los resultados de impedancia del bulto tal como se muestra en la Figura 4.5, están representados en un gran semicírculo, cuya característica de alargado denota que lo componen más de un semicírculo y con esto más de una impedancia. De esta manera se realizó el ajuste del circuito equivalente integrado por dos componentes una relativa a la resistencia del ion plata y la otra a la resistencia del ion nitrato. En la Figura 4.9 se presenta un esquema de los dos componentes encontrados para la impedancia de la membrana con una concentración PCL-5Ag-SC a 36°C, la línea negra en semicírculo representa el ajuste realizado.

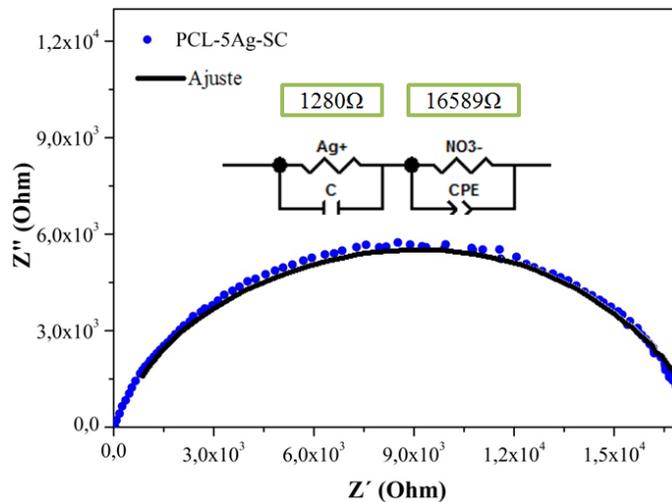


Figura 4.9. Circuito equivalente empleado para ajustes. Ejemplo de ajuste a muestra PCL-5Ag-SC a 36°C

Las conductividades de cada ion (Ag^+ y NO_3^-) fueron calculadas con las resistencias obtenidas por el ajuste del circuito equivalente. Estas fueron calculadas para cada concentración y cada temperatura entre 24 y 48°C (ver ANEXO 2). La Figura 4.10 presenta el comportamiento de la conductividad en relación a la temperatura para ambos iones en las diferentes concentraciones. Para el ion Ag^+ la temperatura se observa como un factor influyente en la conductividad, en comparación al ion NO_3^- , esto puede estar relacionado con que el tamaño del ion nitrato es mayor y se limita su movilidad a través del polímero.

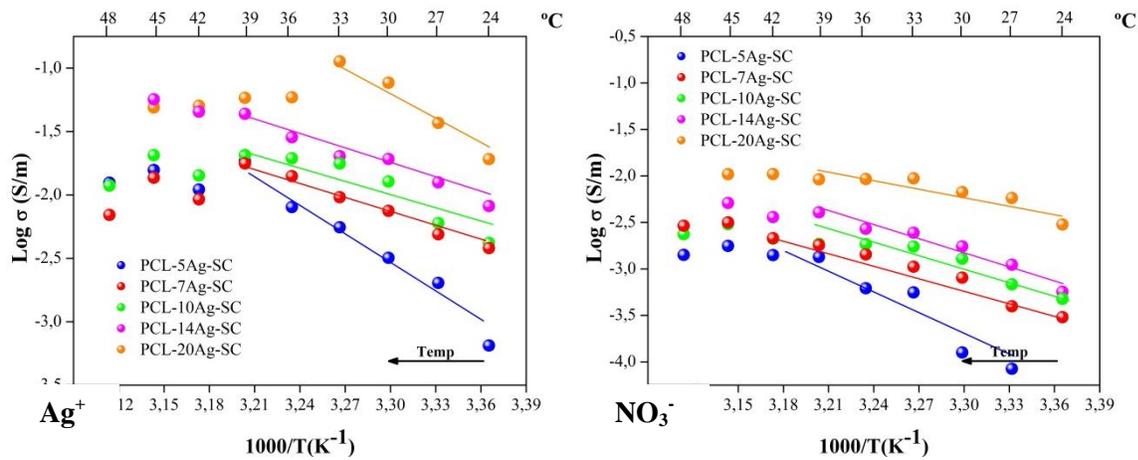


Figura 4.10. $\text{Log } (\sigma)$ vs $1000/T$ de los iones Ag^+ y NO_3^- del sistema PCL-Ag-SC

Para el cálculo de la energía de activación de cada ion, también son considerados solo los puntos que conforman la línea. La Figura 4.11 presenta el comportamiento de la energía de activación para ambos iones respecto a la concentración. El comportamiento para ambos es similar en cuatro de las cinco concentraciones. En la concentración más alta (20%) la energía de activación para el ion de plata aumenta significativamente, lo que puede estar relacionado con el aumento de fuerzas electrostáticas.

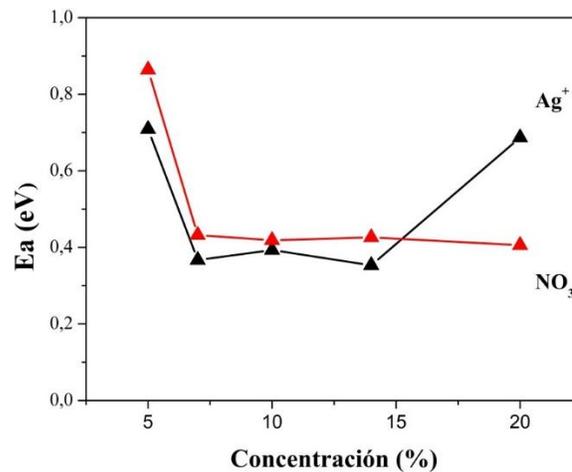


Figura 4.11. Energías de activación para los iones Ag^+ y NO_3^- vs la concentración para el sistema PCL-Ag-SC

4.1.2 SISTEMA PCL-Mg-SC

Tal como en el sistema anterior, las membranas construidas fueron de aproximadamente 6cm de diámetro y extraídas partes de 1 cm de diámetro para las diferentes pruebas. El color de la

membrana fue blanco y el espesor de $(0,64 \pm 0,02)$ mm. Al aumentar la concentración de sal de magnesio se presentaron defectos en la membrana como se muestra en la Figura 4.12. Los poros pueden estar asociados a la presencia de agua en la sal, dado que el agua no es un solvente para el polímero al mezclar: polímero, acetona y sal (con agua), el agua no se integra con el polímero de donde al dejar secar la membrana, se evapora el agua dejando marca en la membrana.

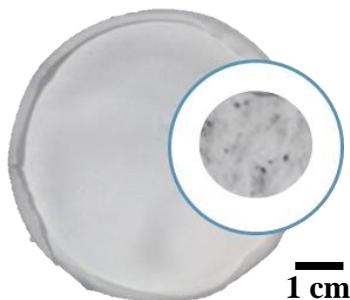


Figura 4.12. Membrana obtenida y defectos porosos del sistema PCL-Mg-SC. Fotografías.

4.1.2.1 Análisis XRD

La Figura 4.2 presenta los difractogramas XRD del polímero puro y del sistema PCL-Mg-SC con diferentes contenidos de sal. Al igual que el sistema anterior se presentan los picos característicos de la policaprolactona correspondientes a los planos (110) y (200). Sin embargo el efecto de la sal de magnesio en la intensidad de los picos no es tan significativo como se evidenció cuando el polímero fue mezclado con la sal de plata (este análisis se detalla en la Sección 4.4). Por otra parte es evidente la ausencia de los picos de la sal de magnesio (Figura 3.2-b) lo que indica que el complejo polímero-sal fue formado.

Puede observarse también que para la concentración de 5% se favorece la intensidad del pico correspondiente al plano (110) mientras disminuye para el pico en el plano (200). Para las concentraciones de esta sal a 7% y 10%, no se presentaron diferencias significativas en la intensidad de los picos en comparación con el polímero puro. Sin embargo, para concentraciones mayores 14% y 20% se percibe una disminución en los picos indicando una reducción en la cristalinidad de la muestra. Se puede sugerir que concentraciones bajas de sal pueden pasar desapercibidas en la estructura formada por las cadenas poliméricas de la policaprolactona y concentraciones más altas generan entonces una redistribución de la estructura ocasionado una disminución en la cristalinidad de esta.

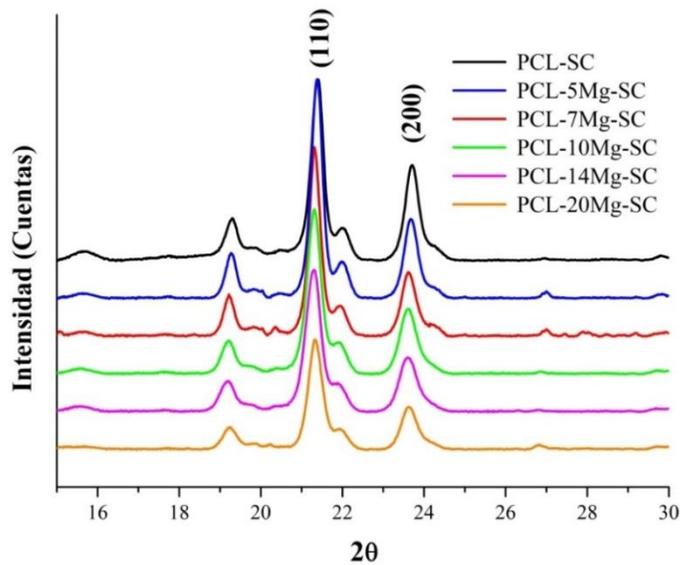


Figura 4.13. Difractogramas DRX del polímero puro y del sistema PCL-Mg-SC con diferentes contenidos de sal

4.1.2.2 Análisis DSC

La Figura 4.14 presenta los termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Mg-SC con diferentes contenidos de sal. Aunque los cambios en las temperaturas de reblandecimiento son pocos con respecto al polímero puro, se observa un comportamiento particular para la muestra PCL-14Mg-SC el cual puede estar asociado a una reorganización de los iones de forma especial que aumenta la temperatura a la cual el polímero se reblandece, es decir, existe una mayor energía asociada a alguna fase de la estructura interna y por tanto necesitaría mayor energía térmica para destruir dicha fase, esta particularidad se ve reflejada en resultados posteriores.

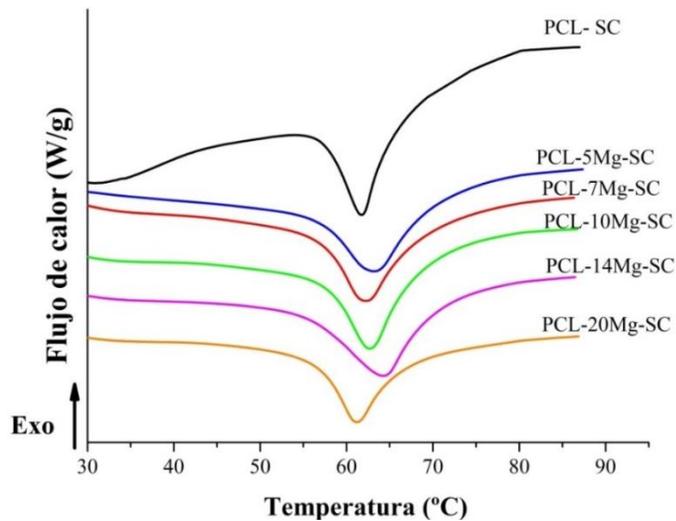


Figura 4.14. Termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Mg-SC con diferentes contenidos de sal

La Tabla 4.2 reporta las entalpías de reblandecimiento y la cristalinidad relativa para el sistema PCL-SC y para diferentes concentraciones de esta sal. En la concentración de 5% se encuentra un pequeño aumento de la cristalinidad (tal cual se mostró en la sección anterior). Por su parte la cristalinidad de la muestra de 20% se reduce considerablemente en comparación a las demás concentraciones, confirmando el comportamiento descrito previamente.

Tabla 4.2. Entalpia de reblandecimiento (ΔH_f), temperatura de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-SC y el sistema PCL-Mg-SC con diferentes contenidos de sal

Muestra	ΔH_f [J/g]	T_m [°C]	χ [%]
PCL-SC	98,70	61,99	100,0
PCL-5Mg-SC	99,21	63,55	100,5
PCL-7Mg-SC	90,19	62,52	91,4
PCL-10Mg-SC	90,58	62,96	91,8
PCL-14Mg-SC	91,03	64,53	92,2
PCL-20Mg-SC	71,20	61,28	72,1

4.1.2.3 Conductividad iónica

La membrana PCL-Mg-SC fue igualmente humedecida como lo fue la PCL-Ag-SC, encontrando que también la PCL-Mg-SC se hidrató gracias a la solvatación del ion magnesio por las moléculas de agua. La Figura 4.15 muestra el ion magnesio rodeado por moléculas de agua, este ion tiene un radio de 72 pm y por su pequeño tamaño y carga (+2) tiene la capacidad de coordinar hasta 6 moléculas de agua en configuración octaédrica en la primera capa de hidratación y puede formar una segunda capa de hidratación con hasta 20 moléculas de agua. [87, 89 ,91] La tasa de cambio de agua está alrededor de $5,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ y su entalpia de hidratación es de (ΔH_{hid}) es de - 1921 kJ/mol [90].

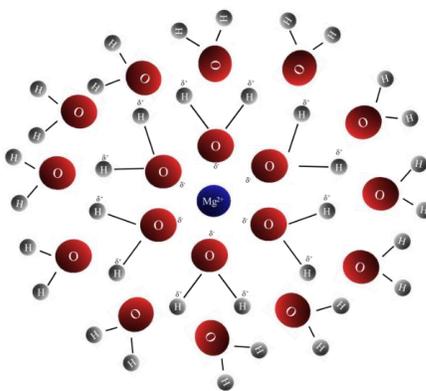


Figura 4.15. Esquema de hidratación del ion magnesio. Elaboración propia

La Figura 4.16 presenta los resultados de las pruebas de impedancia para 24 y 36°C. Al igual que en el sistema anterior se observa una disminución en la resistencia del bulbo para ambas temperaturas ante el aumento de la concentración, tal como se evidencia en la Figura 4.16-a).

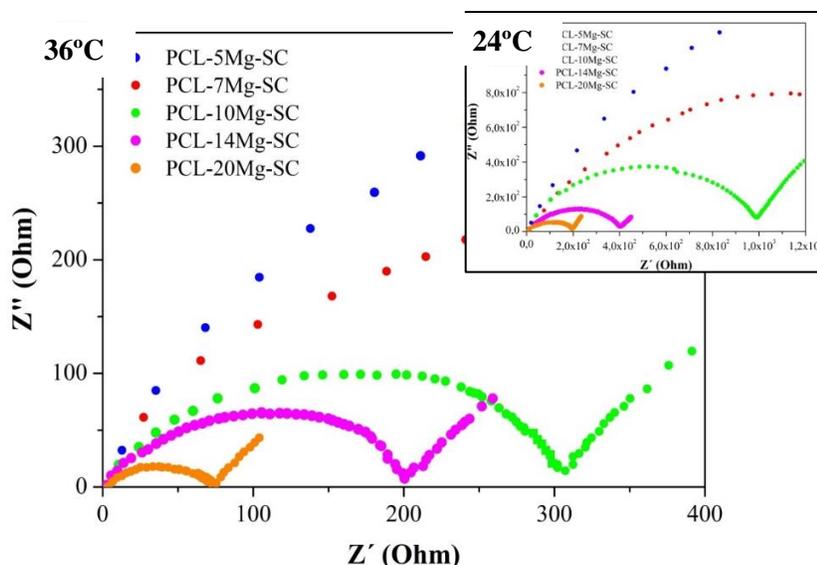


Figura 4.16. Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria Z'' de las muestras evaluadas a 24 y 36°C del sistema PCL-Mg-SC

Al graficar $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ para todas las concentraciones se apreció un aumento de la conductividad con el aumento de la temperatura, pero no es muy significativo, tal como se observó en la gráfica anterior. Para este sistema la conductividad está más favorecida por la concentraciones de iones presentes que por la energía que se le puede entregar.

Para las temperaturas superiores a 36°C, la conductividad disminuye en todas las concentraciones, lo que se debe probablemente a la liberación de agua desde la membrana (fundamental para la conducción). Cuando se realizó la humectación de la membrana en agua desionizada se espera alcanzar un 30% en peso, desconociendo si el agua pertenece a la primera o segunda capa de hidratación de los iones de magnesio. Es probable que la disminución en la conductividad se deba a la pérdida de la segunda capa de hidratación ya que ésta se encuentra más alejada del ion y puede perderse fácilmente. Entre 45 y 48°C puede observarse una zona de estabilidad allí al parecer se presentan los dos efectos compensatorios, es decir, el aumento de temperatura equilibra la pérdida de conducción por disminución del agua. El comportamiento lineal obtenido sobre la membrana de 14% no presenta un crecimiento tan pronunciado como el resto de las concentraciones, esto puede estar relacionado con la particularidad observada en los resultados DSC para esta misma concentración, en los que la temperatura de reblandecimiento aumentó para esta concentración. Es decir que la organización en particular de las cadenas poliméricas en este contenido de sal está impidiendo la flexibilidad de los segmentos poliméricos para moverse, afectando así la conductividad y la temperatura de reblandecimiento.

En la Figura 4.17 se reportan la conductividad y la energía de activación vs la concentración. En ella se presenta un comportamiento aproximadamente lineal entre la concentración y la conductividad. Por su parte, la energía de activación se presenta alta para bajas concentraciones y disminuye para las dos concentraciones mayores, con un pico inferior en la concentración de 14%. Esto nos indica que el aumento de la conductividad está más asociado a la concentración de los

iones que el cambio en las energías de activación, si la conductividad estuviera favorecida por la energía de activación se observaría un aumento apreciable de la misma a partir de la concentración de 14% donde disminuye abruptamente.

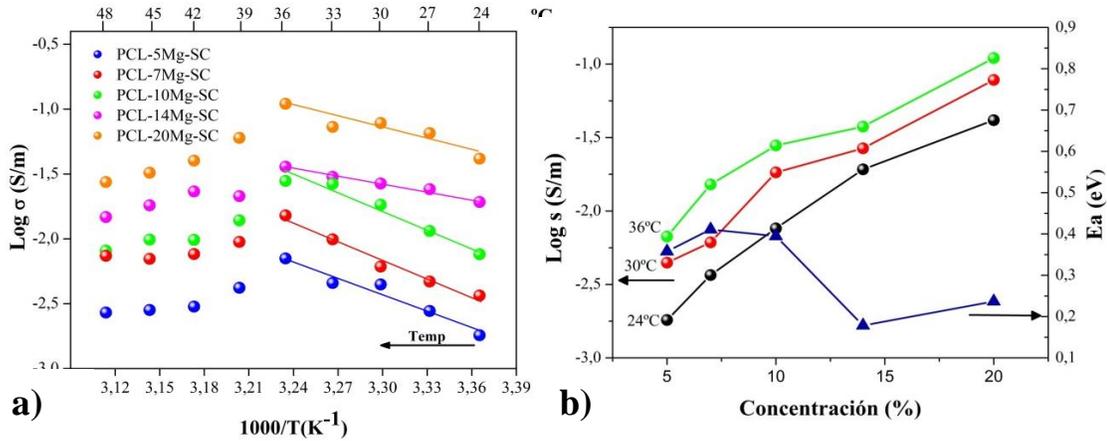


Figura 4.17. a) $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ y b) $\text{Log}(\sigma)$ vs concentración - E_a vs concentración del sistema PCL-Mg-SC

Las Figura 4.18 y Figura 4.19 muestran la tangente de pérdidas normalizado para las concentraciones 5 y 20% a diferentes temperaturas y a 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Mg-SC respectivamente. En ellas se observa como con el aumento de concentración se produce un desplazamiento del pico de tangente de pérdidas a frecuencias más altas para las temperaturas de 24, 30 y 36°C, esto debido a que los iones y segmentos poliméricos puede vibrar fácilmente. Sin embargo, para la temperatura de 42°C la pérdida de agua genera que los picos se desplacen hacia la izquierda ya que los iones no tienen la misma facilidad para moverse. Por otra parte, el desplazamiento de los picos hacia la derecha con el aumento de temperaturas para las muestras de 5 y 20% no es muy significativo, lo que indica el sistema no requiere energía térmica para ser activado.

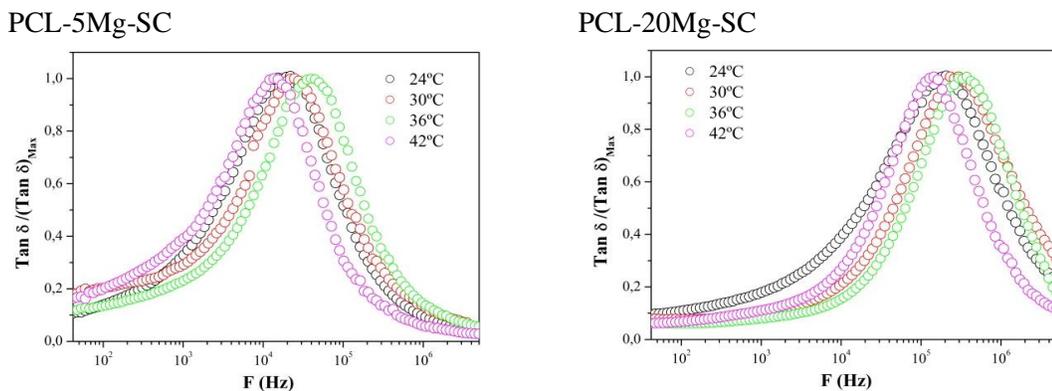


Figura 4.18. Tangente de pérdidas normalizado para las concentraciones 5 y 20% a diferentes temperaturas

Este sistema fue igualmente ajustado a un circuito equivalente que identifique la resistencia de cada ion. En este caso, se empleó el mismo circuito del sistema PCL-Ag-SC para las temperaturas de 24 a 30°C, y para las temperaturas por encima se empleó el circuito mostrado en la Figura 4.20. El no ajuste del circuito pudo estar relacionado con la pérdida de agua en las temperaturas mayores. Razón por la cual la constante de fase CPE fue reemplazada por una capacitancia pura, en el rango de temperatura por encima de 30°C.

Es importante destacar que la resistencia del ion NO_3^- mostrados en la Figura 4.20, no es tan grande como en la Figura 4.9 en comparación al catión acompañante, debe considerarse que a comparación del sistema anterior por cada catión de magnesio hay dos aniones de nitrato y puede estar disminuyendo la resistencia asociada a este ion.

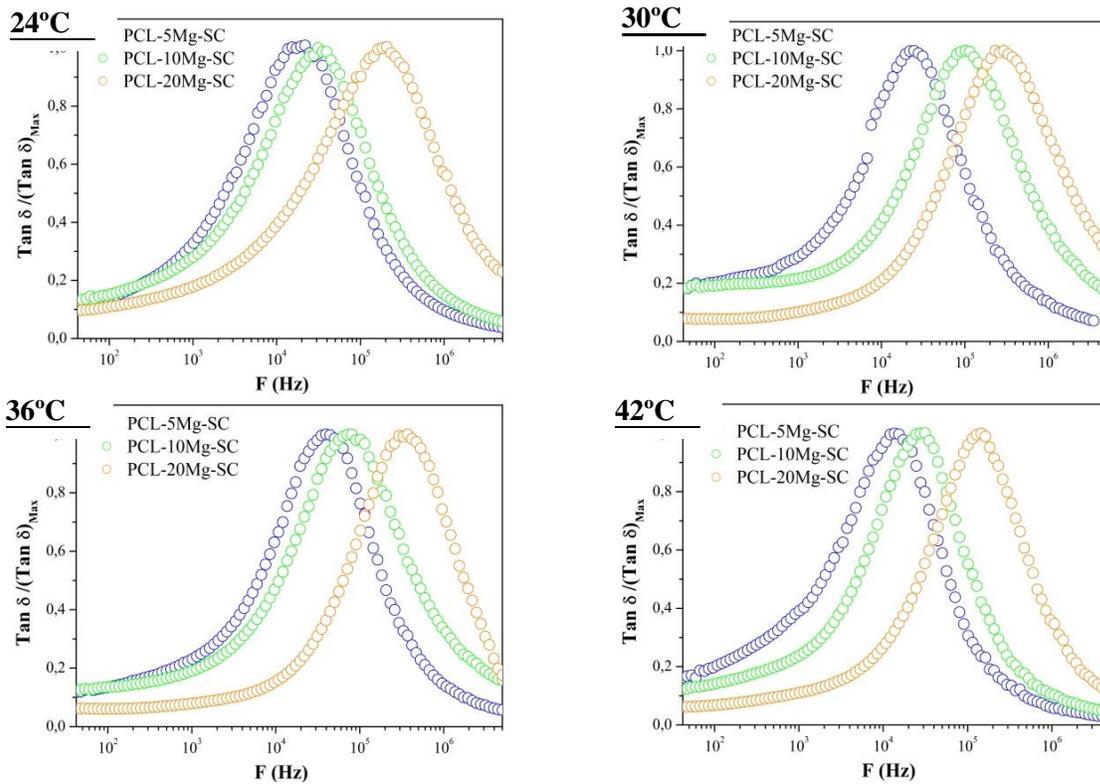


Figura 4.19. Tangente de pérdidas normalizado para las temperaturas de 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Mg-SC

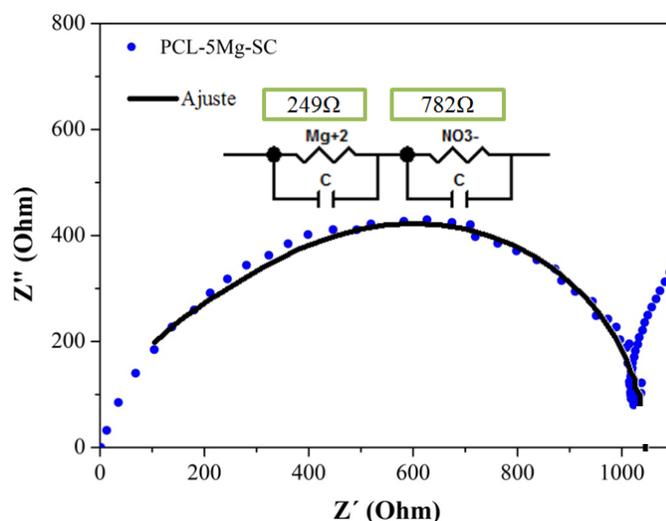


Figura 4.20. Circuito equivalente empleado para ajuste a temperaturas superior a 36°C. Ejemplo de ajuste a muestra PCL-5Mg-SC a 36°C

La Figura 4.21 muestra el incremento de la conductividad al aumentar la concentración. Este comportamiento se evidencia hasta los 36°C donde comienza a decaer (por la pérdida de agua descrita anteriormente). En la gráfica representativa del ion Mg^{+2} (a) se observa una mayor pendiente de la recta en comparación con el comportamiento del bulto, mostrando que el ion es más sensible al cambio de temperatura y además presenta valores más altos de conductividad en comparación al ion de nitrato.

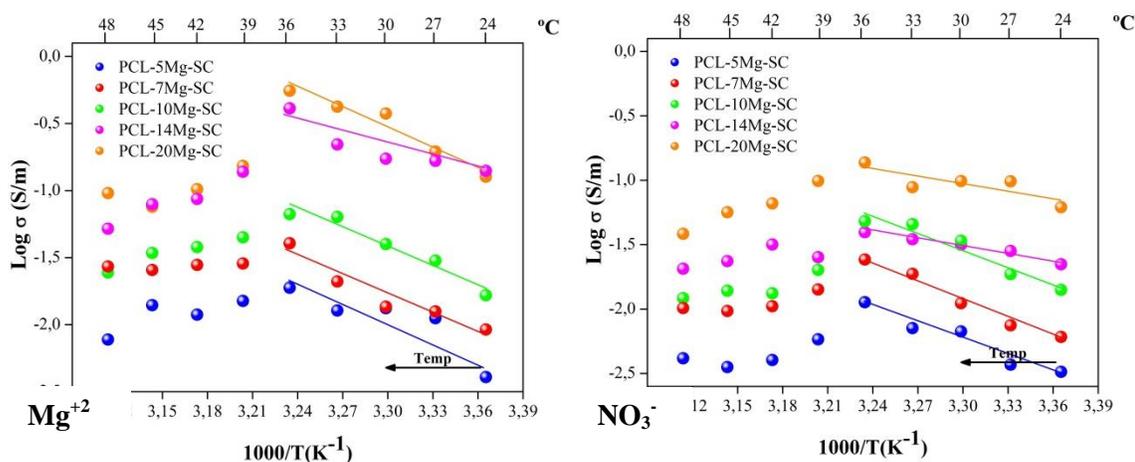


Figura 4.21. Log (σ) vs $1000/T$ de los iones Mg^{+2} (a) y NO_3^- (b) del sistema PCL-Mg-SC

En la Figura 4.22 se muestran las energías de activación para cada ion. Igual que en los casos anteriores el comportamiento es similar para ambos iones hasta la concentración de 14%, que posteriormente aumenta a 20% para el ion Mg lo cual puede estar relacionado con los complejos formados y la pérdida significativa de cristalinidad.

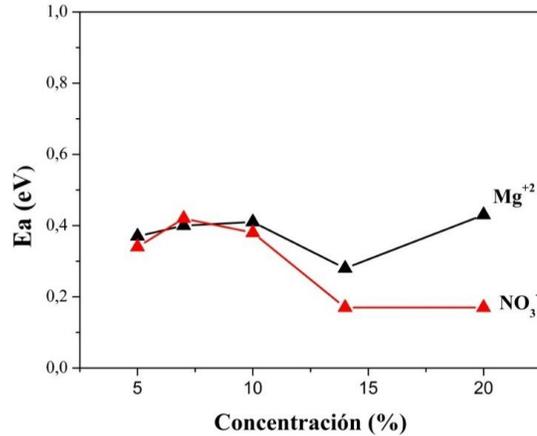


Figura 4.22. Energías de activación para los iones Mg^{+2} y NO_3^- vs la concentración para el sistema PCL-Mg-SC

4.2 MEMBRANAS OBTENDIDAS POR ELECTROHILADO

4.2.1 SISTEMA PCL-Ag-EL

La

Figura 4.23 muestra una membrana electrohilada aun en el colector de aluminio. La dimensión utilizada de la membrana fue de 6 cm de diámetro, sobre la cual se recortan diferentes secciones para realizar las pruebas. Visualmente las muestras son lisas sin imperfecciones, con espesor de $(0,16 \pm 0,01)$ mm. En la

Figura 4.23 se puede observar una de las muestras usadas para las pruebas mecánicas, cuya parte inferior fue expuesta a la luz, tomando coloración café, comportamiento similar a las membranas del sistema PCL-Ag-SC. El andamio de PCL-20Ag-EL no logró obtenerse, pues esta concentración no permitió obtener el cono de Taylor estable (esto será explicado más adelante).

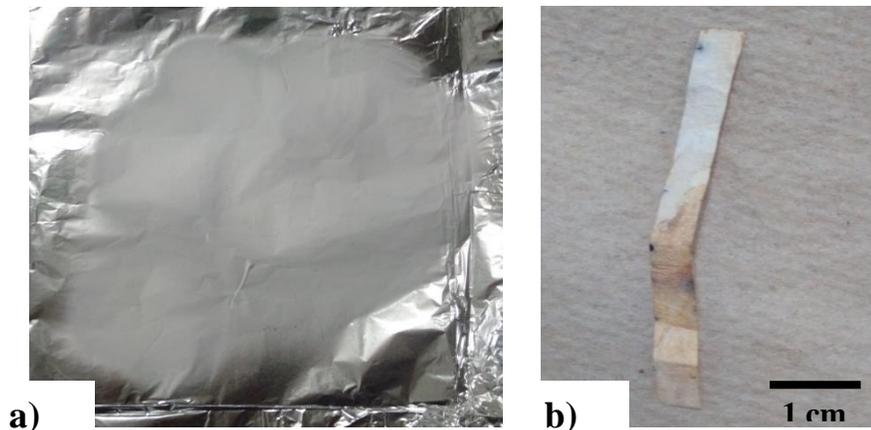


Figura 4.23. a) Membrana electrohilada en el colector de aluminio y b) Muestra empleada para pruebas mecánicas. Fotografías

4.2.1.1 Análisis XRD

La Figura 4.24 presenta los difractogramas XRD del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal. En los andamios con la sal se encuentran pequeños picos (no encontrados en el polímero puro) en 2θ 19,6°; 24,25°; 28,26°y 29,65° estos picos son característicos de la sal AgNO_3 al compararlos con los picos que se muestra en la Figura 3.2-a).

La aparición de los picos de la sal indica la no formación de los complejos polímero-sal, es decir, cierta cantidad de sal añadida se encuentra formando el complejo con el polímero y otra parte no. Dado que este efecto no se observó en la membrana sin hilar, puede asociarse que la no formación del complejo depende de la técnica y no de la presencia de la sal. Debido a que la técnica de electrohilado genera una alta diferencia de voltaje entre la punta y el colector, este campo eléctrico podría ser el causante de romper los complejos formados por la repulsión de cargas. Sin embargo, esta hipótesis debería ser comprobada ante otras condiciones de campo eléctrico.

Por otro lado, se aprecia una leve disminución en las intensidades de los picos en (110) y (200) para los andamios de 5% y un poco más significativa los de 10 y 14%. En el andamio de 7% se presenta un aumento en la intensidad de los picos respecto a la concentración anterior, lo que indica un aumento de la fase cristalina. Estos comportamientos se deben a la evaporación del solvente y la presencia de sal en el proceso de electrohilado, lo cual se explicará en la Sección 4.2.1.3.

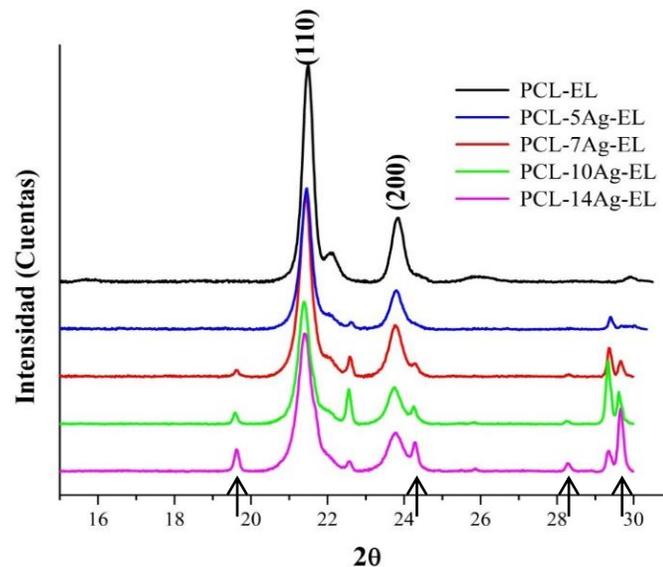


Figura 4.24. Difractogramas XRD del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal

4.2.1.2 Análisis DSC

La Figura 4.25 muestra los termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal. Los resultados presentan un segundo pico endotérmico cerca de 62°C, el cual es más evidente a mayor concentración de sal y que se puede asociar a la formación de una fase cristalina que aumentó la temperatura de reblandecimiento por el cambio generado en la estructura al adicionar AgNO₃ y la técnica empleada [8]

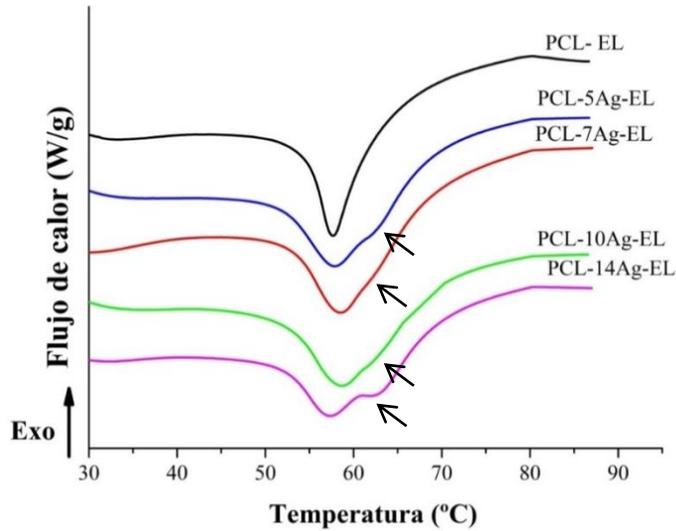


Figura 4.25. Termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal

En la Tabla 4.3 se presentan la entalpia de reblandecimiento (ΔH_f), temperatura de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-EL y el sistema PCL-Ag-EL. En el porcentaje de cristalinidad se encuentran valores superiores al 100% debido a la presencia de otras fases favorecidas por la adición de sal y por la sal que no formó complejo con el polímero (como se mostró en la Figura 4.24). Es importante también resaltar que el electrohilado para el polímero con sal modificó el proceso de evaporación del disolvente al formar los hilos, modificando la cristalinidad y organización de la estructura en los andamios, esto se explicará más afondo en la siguiente sección.

Para la concentración de 7% (igual que en los resultados XRD) se obtiene la mayor entalpia de reblandecimiento en comparación a las otras concentraciones, es decir, que se requiere mayor energía para debilitar las fuerzas intermoleculares. Esta característica se verá reflejada en las propiedades mecánicas y de conducción iónica en las Secciones 4.2.1.4 y 4.2.1.5

Tabla 4.3. Entalpia de reblandecimiento (ΔH_f), temperatura de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-EL y el sistema PCL-Ag-EL con diferentes contenidos de sal

Muestra	ΔH_f [J/g]	T_m [°C]	χ [%]
PCL-EL	57,90	57,90	100,0

PCL-5Ag-EL	62,26	58,59	107,5
PCL-7Ag-EL	67,05	59,28	115,8
PCL-10Ag-EL	63,22	59,30	109,2
PCL-14Ag-EL	61,02	57,44	105,4

4.2.1.3 Análisis morfológico

La Figura 4.26 muestra las micrográficas SEM del polímero puro electrohilado. En ellas se puede apreciar la formación de gotas e hilos, es decir, bajo los parámetros de operación establecidos se obtiene electrohilado y electro spray [32]. Debido a que el polímero se encuentra tan diluido, a baja concentración el andamio hilado presenta este tipo de comportamiento [80], aunque no es común encontrar trabajos relacionados con el electrohilado de PCL con acetona como único disolvente debido a su volatilidad y moderada solubilidad del polímero.

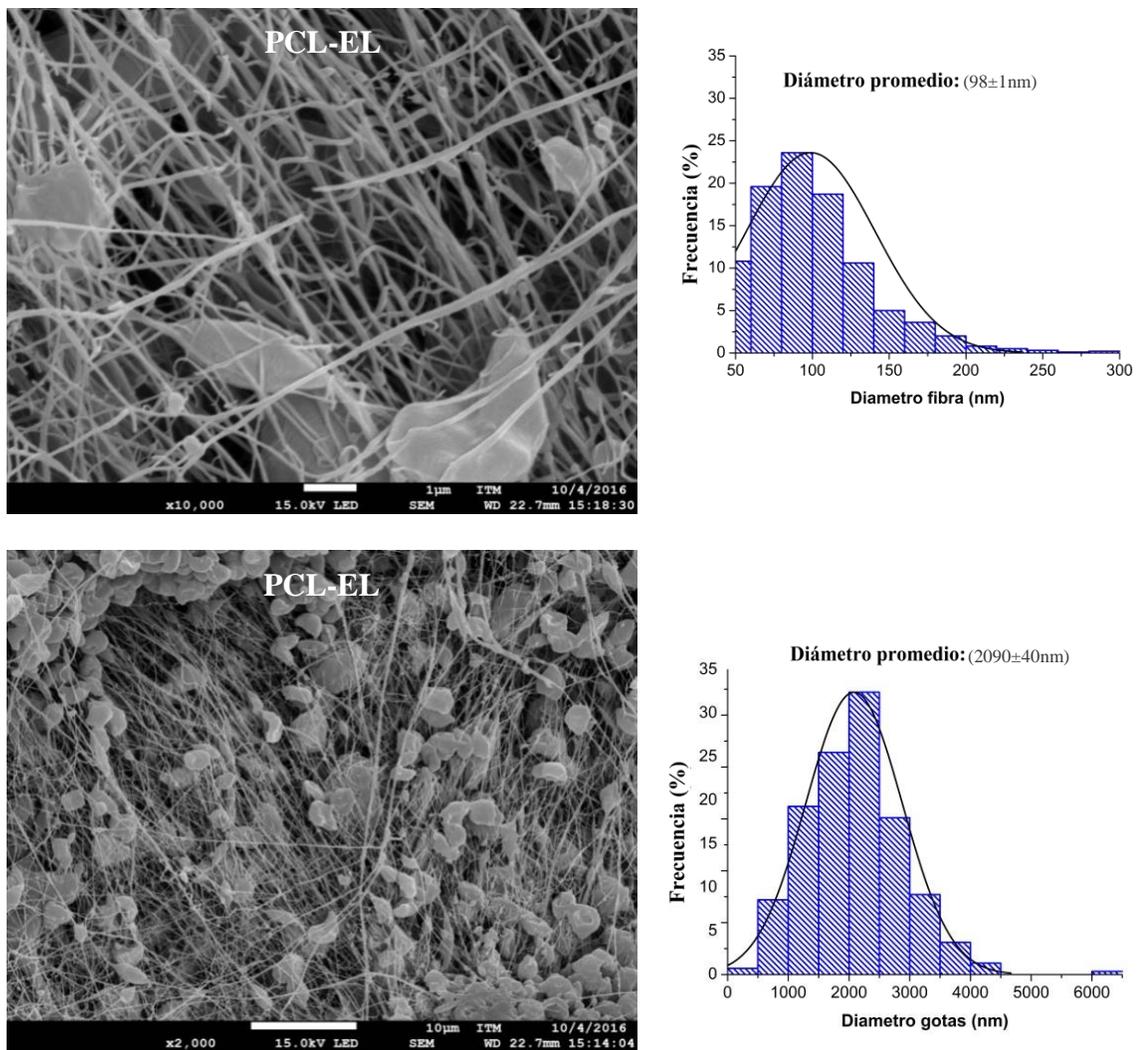


Figura 4.26. Micrográficas SEM e histogramas de la muestra PCL-EL

La Tabla 4.4 presenta algunos reportes de diámetros obtenidos del electrohilado del PCL con diferentes disolventes. En general los diámetros obtenidos son mayores de 200nm y hasta 3 μ m de diámetro siendo los últimos de gran tamaño para lo esperado por la técnica de electrohilado. Esto es debido a que la mayoría de reactivos que disuelven el polímero son volátiles generando un aumento en la concentración en la punta del chorro por la evaporación rápida del disolvente ocasionando diámetros mayores [92].

Tabla 4.4. Diámetros de fibras de PCL por electrohilado reportados en la literatura

Concentración PCL	Solvente	Diámetro promedio	REF.
10% w/v	Ácido acético glacial	112nm	[93]
10% w/v	Cloruro de metileno / dimetilformamida (4/1)	603nm	[93]
10% w/v	Ácido fórmico y acetona	100nm	[93]
10 wt %	Cloroformo	400 a 200 nm	[94]
12,5% w/v	Cloroformo	1,5 a 6 μ m	[95]
12 wt %	Cloroformo	200 a500 nm	[96]
20 wt %	Ácido acético	1 μ a 2 m	[93]
8% w/v	Cloroformo	3,10 μ m	[97]

En las Figura 4.27 y Figura 4.28 se observan las micrografías SEM y los histogramas de los andamios 5, 7, 10 y 14% en contenido de sal de plata, en estos no se presentaron gotas en el hilado y los diámetros de las fibras aumentaron en promedio de 98 nm a 200 nm con la adición de esta sal. Según la literatura la adición de sal tiene dos efectos sobre el proceso de electrohilado, primero al aumentar el número de iones en la solución resulta en un aumento en la densidad de carga superficial y en la fuerza electrostática generada por el campo eléctrico y segundo aumenta la conductividad de la solución polimérica que en muchos reportes significa una disminución en el diámetro de la fibra [98-100]. Sin embargo, para el caso de los andamios evaluados la adición de sal favoreció el aumento del diámetro de las fibras y no su reducción. Este efecto también fue encontrado por muchos autores que sugieren que el aumento en el tamaño de las fibras se debe al mismo incremento de la fuerza electrostática que aumenta el flujo de masa hacia el hilo [98, 101, 102]. Las inestabilidades generadas por la adición de sal por los efectos antes mencionados no permitieron obtener el andamio PCL-20Ag- EL de forma homogénea Para comprender más los efectos de la sal es necesario realizar pruebas de viscosidad, tensión superficial y conductividad de las soluciones con diferentes concentraciones de sal no abordados en este trabajo de investigación.

Otra particularidad en los andamios es la aparición de fibras ramificadas (como lo muestra la flecha naranja en la Figura 4.28) y el cambio de diámetro en una sola fibra (flecha azul de la misma figura). Debido a los cambios que puede ocasionar la presencia de sal en la tensión superficial y fuerzas eléctricas, generan un chorro inestable. Para que el chorro pueda reducir su carga local por unidad de área, expulsa un chorro más pequeño de la superficie del chorro primario obteniendo dos fibras de un diámetro menor [103]. Una fibra puede presentar diferentes diámetros debido a la inestabilidad en el chorro generado por el flujo de masa y por aumento de las fuerzas electrostáticas como se explicó anteriormente [98,101].

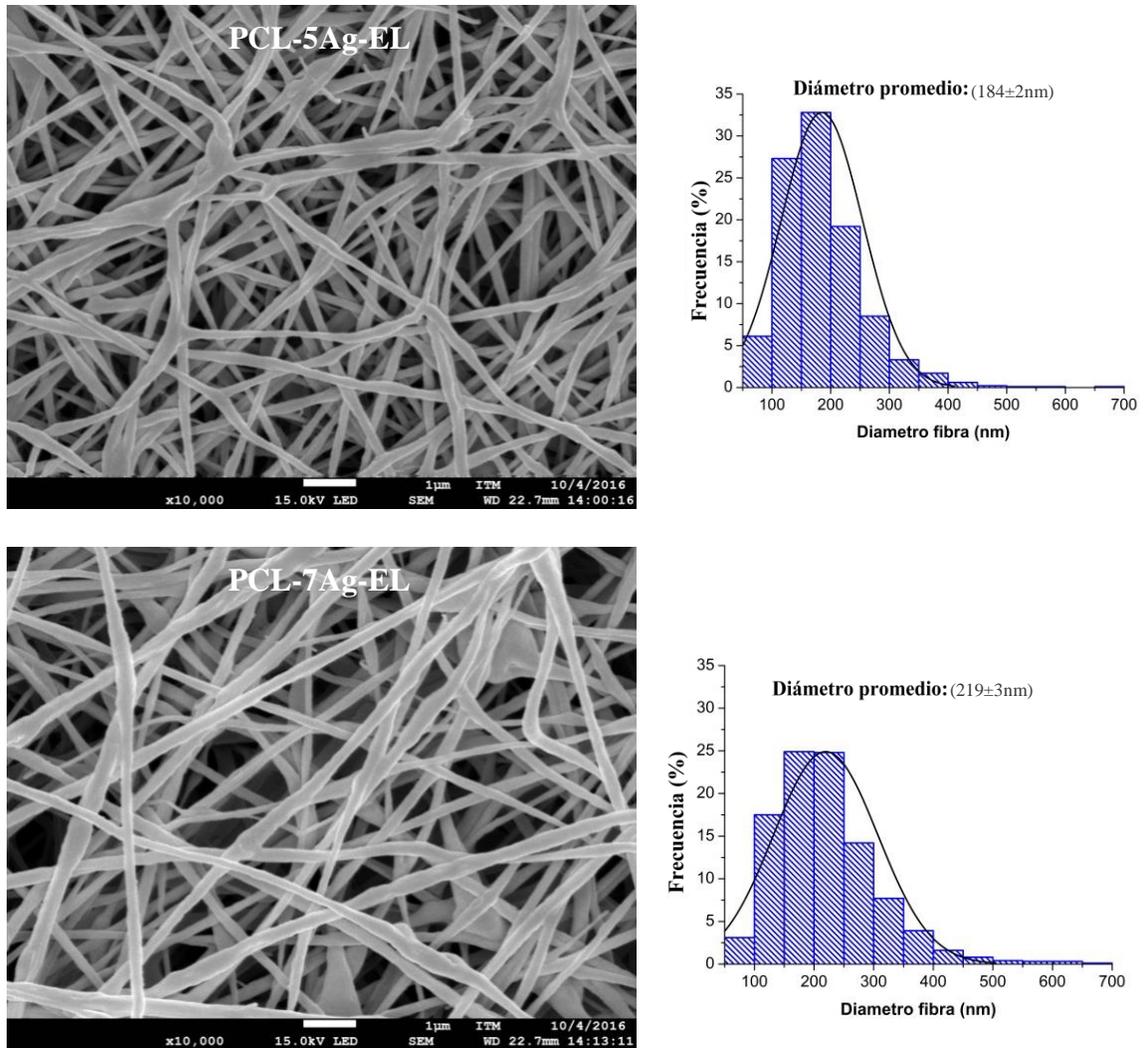


Figura 4.27. Micrografías SEM e histogramas de la muestra PCL-5Ag-EL y PCL-7Ag-EL

Entre los andamios a 5 y 7% de esta sal (ver Figura 4.27) se presenta un aumento del diámetro de fibra promedio que puede estar relacionado con las fuerzas electrostáticas que favorecieron el aumento de diámetro como un aumento en la viscosidad. Para la concentración de 10% el diámetro de fibra es muy similar al de 7%, quizás por un equilibrio de efectos relacionados con el aumento de la conductividad (que genera fibras más pequeñas) y el aumento de la fuerza electrostática interna (que produce fibras más grandes). Por último, para la muestra de 14% se obtuvo una leve disminución del tamaño del diámetro asociado al favorecimiento de la conductividad de la solución a tener mayor presencia de iones.

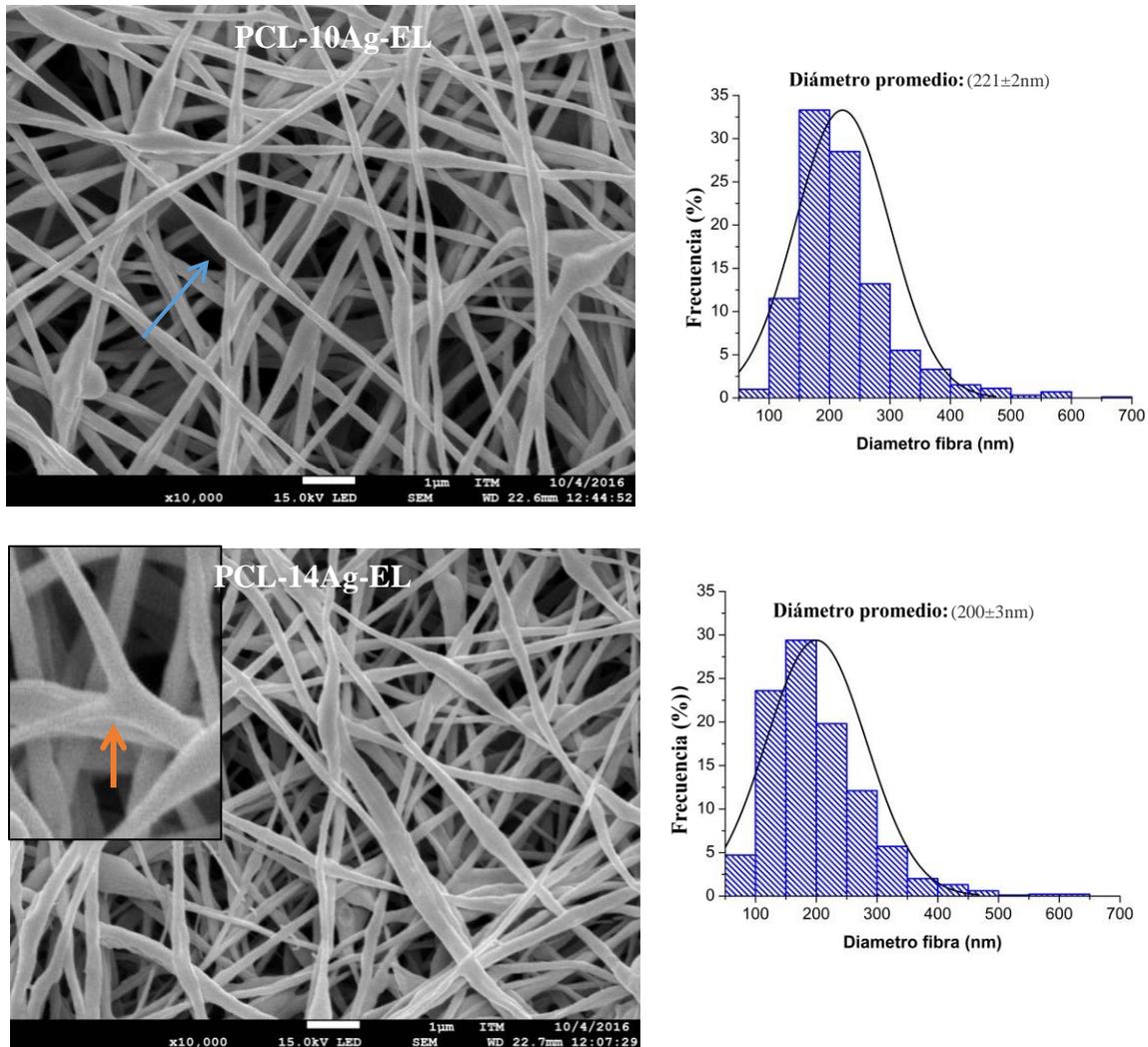


Figura 4.28. Micrografías SEM e histogramas de la muestra PCL-10Ag-EL y PCL-14Ag-EL

4.2.1.4 Propiedades mecánicas

Una de las desventajas de la técnica de electrohilado es la pérdida de propiedades mecánicas debido a la estructura porosa que se obtiene de las películas (aunque al mismo tiempo beneficia el intercambio de nutrientes para fases biológicas). Por ejemplo una película de PCL de 80kDa extruido puede tener un módulo de Young de 190 ± 6 MPa [104], en comparación el mismo material electrohilado con diferentes solventes puede tener de 2,9 a 15,19 MPa, [97,105,106] lo que demuestra una significativa disminución en esta propiedad.

La Figura 4.29 muestra las propiedades mecánicas obtenidas para los andamios electrohilados con adición AgNO_3 . La gráfica esfuerzo vs deformación muestra un comportamiento elástico con posterior deformación sin formación de cuello ya que no se observó reducción del área transversal antes de la rotura.

En comparación con el polímero puro los andamios con contenido de sal presentan mejores módulos de Young y esfuerzo final, esto debido a que el polímero puro presenta hilos muy delgados y gotas generando alta porosidad y poca homogeneidad, que incide directamente en esta propiedad. Al observar los valores obtenidos entre $13,1 \pm 1,6$ MPa y $28,2 \pm 5,9$ MPa con los reportados en la literatura, es evidente la mejora de esta propiedad con la adición de sal al polímero. Esto se debe a las interacciones electrostáticas generadas entre iones y las cadenas poliméricas que vuelven los andamios más rígidos. Sin embargo, los valores de deformación a la rotura alrededor de 15% son significativamente bajos en comparación a los reportados que llegan a sobrepasar el 100% de deformación [105,106] o hasta más de 500% [97] debido a la misma presencia de sales y a las interacciones electrostáticas que limitan el estiramiento de las cadenas poliméricas.

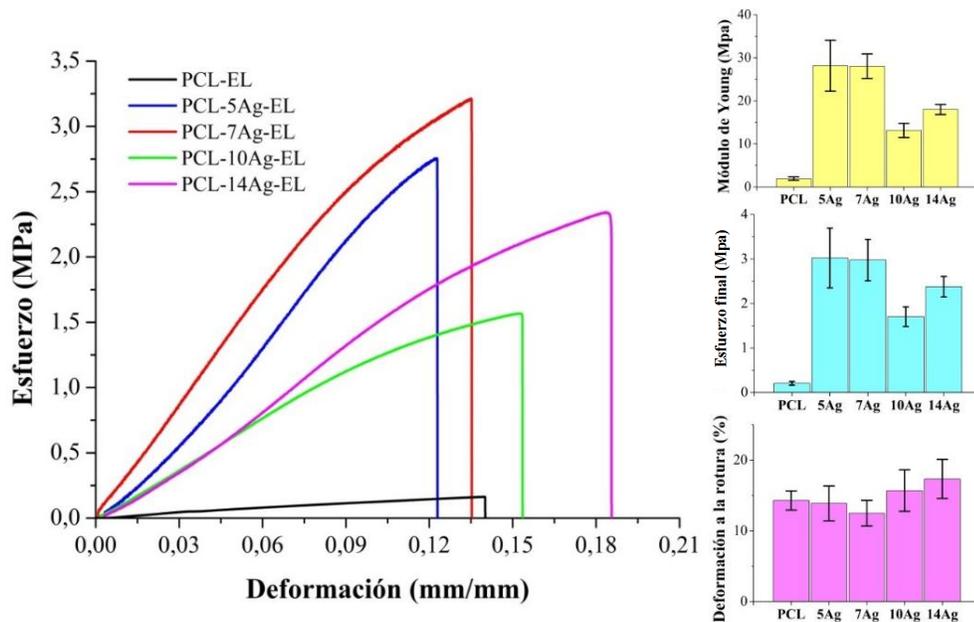


Figura 4.29. Propiedades mecánicas del polímero puro y del sistema PCL-Ag-EL

Para comparar los resultados respecto a las diferentes concentración es importante mencionar que las propiedades mecánicas de los andamios electrohilados dependen de las propiedades de las fibras individuales y de la unión entre ellas [107]. Adicionalmente la policaprolactona es un polímero semicristalino y sus fases amorfa y cristalina son quienes condicionan propiedades mecánicas.

La muestra 7% presenta mayor módulo de Young en comparación con las concentraciones de 10 y 14%. Considerando los resultados obtenidos en el XRD y DSC, esta fue quien presento mayor grado de cristalinidad. El empaquetamiento de cadenas moleculares y la formación de enlaces moleculares mejoran las propiedades mecánicas del material. Para las muestra de 10 y 14% por el contrario disminuyó el módulo de Young y aumentó la deformación a la rotura. Estos presentaron menor cristalinidad relativa en comparación al 7%, al presentar mayor fase amorfa indican que mayor cantidad de cadenas poliméricas se encuentran desalineadas, durante el proceso de

deformación estas cadenas empiezan a alinearse y a alargarse permitiendo mayor porcentaje de deformación [39,108]

4.2.1.5 Conductividad iónica

La Figura 4.30 muestra la Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria Z'' de los andamios evaluados a 24 y 36°C para el sistema PCL-Ag-EL. Para este caso a diferencia de los anteriores, la disminución de la resistencia del bulto no se debió al aumento de concentración (iones móviles), ya que para ambas temperaturas la concentración más resistiva fue a 7% y la menor a 10%.

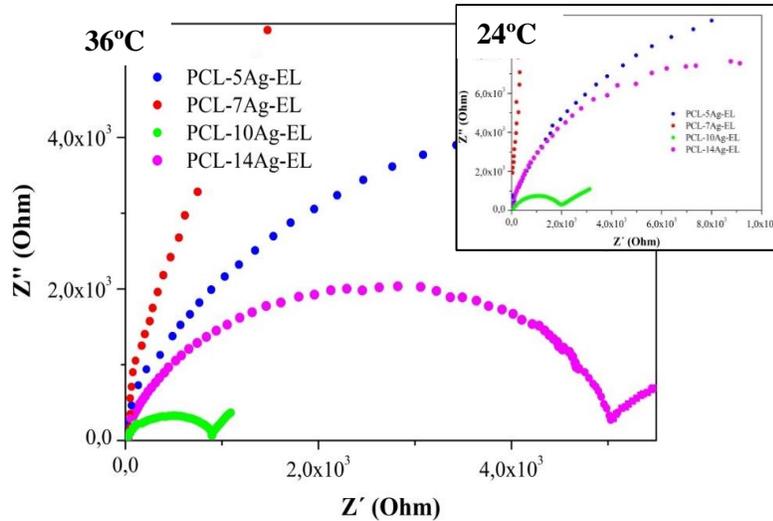


Figura 4.30. Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria Z'' de las muestras evaluadas a 24 y 36°C del sistema PCL-Ag-EL

En la Figura 4.31 gráfica el $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$, en la cual se muestra el aumento de la conductividad con respecto a la temperatura para cada concentración. En especial se puede apreciar que el efecto de la temperatura para la concentración de 7% es más significativo que para las otras contracciones.

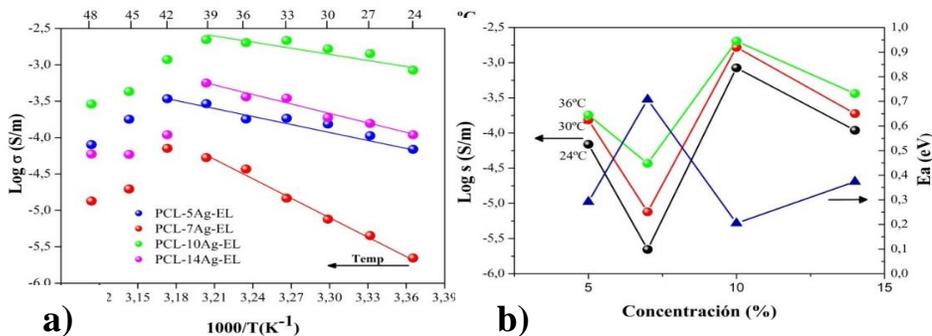


Figura 4.31. a) $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ y b) $\text{Log}(\sigma)$ vs concentración - E_a vs concentración del sistema PCL-Ag-EL

A partir de 39°C es evidente la disminución de la conductividad asociada a la pérdida de agua por evaporación como ya se había mencionado en las secciones anteriores. La Figura 4.31 presenta el cambio de la conductividad y la energía de activación con respecto a la concentración para 24, 30 y 36°C. A 7% se obtuvo menor conductividad que está relacionada con los resultados de cristalinidad y propiedades mecánicas. La adición de 7% de sal al polímero aumentó el grado de cristalinidad del andamio electrohilado limitando la movilidad de los iones y de los segmentos poliméricos, además permitió la formación de fuerzas intermoleculares que favoreció las propiedades mecánicas. Por el efecto de las fuerzas intermoleculares es necesario entregar más energías para romper los complejos formados y así el ion pueda moverse más libremente, por esto requiere mayor energía de activación como se muestra en la Figura 4.31. Por otra parte, para la concentración de 10% se obtuvo mayor conductividad y menor energía de activación. El aumento de la fase amorfa que se evidenció en los resultados anteriores permite explicar el aumento de conductividad debido a la facilidad de iones y de los segmentos poliméricos para moverse en esta fase, además la pérdida de propiedades mecánicas en comparación a las concentraciones menores, se asocia a la disminución de las fuerzas electrostáticas de donde también disminuye la energía de activación asociada al rompimiento de los complejos polímero-sal.

Para 14% se tuvo una disminución de la conductividad y a pesar de perder aún más cristalinidad en comparación con 10%, la cantidad de iones puede limitar la movilidad de ellos considerando también que la movilidad de iones se presenta a través de las fibras y por el volumen libre generado por la porosidad del electrohilado, tener diámetro de fibras pequeño puede limitar la libre movilidad de iones cuando se aumenta la cantidad de los mismos.

El pico de tangente de pérdidas normalizada en las Figura 4.32y Figura 4.33para la concentración de 10% se encuentra a frecuencias más altas que las otras concentraciones, dada la facilidad de movilidad de los iones y segmentos poliméricos que permiten vibrar a mayores frecuencias en comparación por ejemplo con la concentración de 7% que se encuentra en frecuencias más bajas. Sin embargo, para esta concentración es más evidente el aumento de frecuencia por el aumento de temperatura por los motivos explicados previamente. Para las concentraciones de 5 y 14% la fase cristalina y la cantidad de iones respectivamente limitan las vibraciones de segmentos poliméricos e iones a mayores frecuencias.

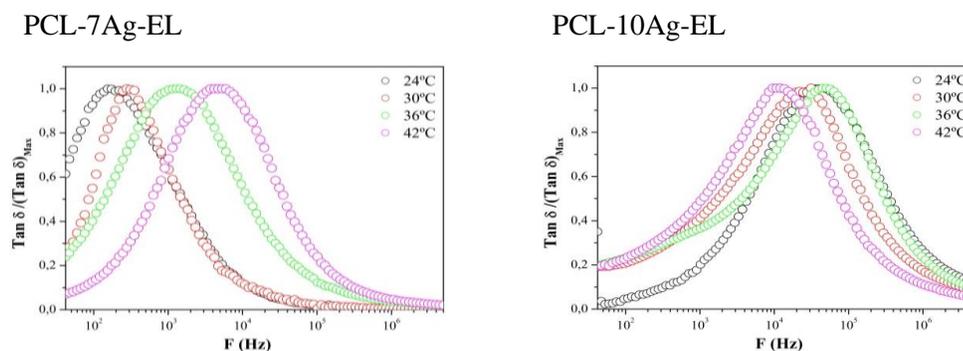


Figura 4.32. Tangente de pérdidas normalizado para las concentraciones 7 y 10% a diferentes temperaturas

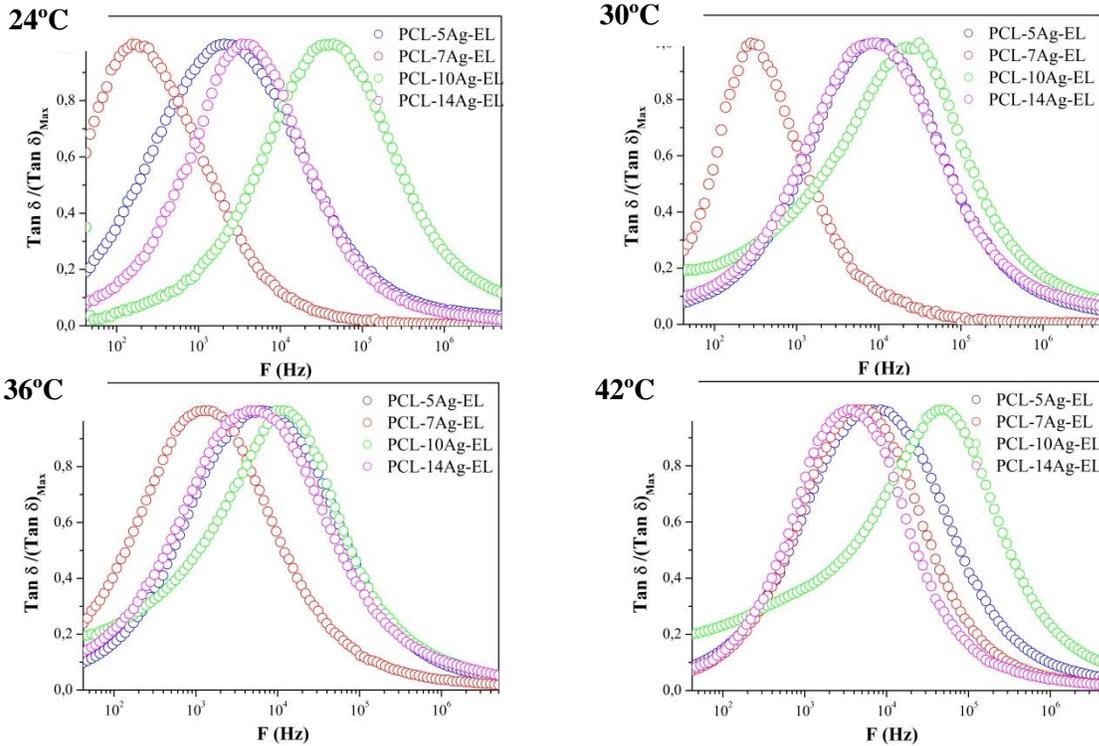


Figura 4.33. Tangente de pérdidas normalizado para las temperaturas de 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Ag-EL

La Figura 4.34 muestra el circuito equivalente empleado para los ajustes a diferentes temperaturas. En particular el uso del CPE se asocia a la nanoestructura de los andamios que pueden afectar la capacitancia interna.

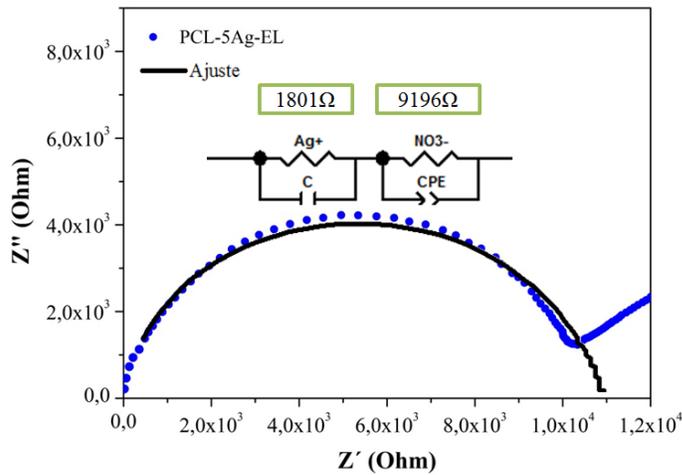


Figura 4.34. Circuito equivalente empleado para ajustes. Ejemplo de ajuste a muestra PCL-5Ag-EL a 36°C

En la Figura 4.35 se muestran el $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ para cada ion. El comportamiento es similar al mostrado en la Figura 4.31 para ambos iones (aumento de la conductividad con respecto a la temperatura hasta 39°C donde luego de la cual disminuye). Se puede apreciar que las conductividades de los iones en cada concentración no difieren tanto en comparación al del sistema PCL-Ag-SC, esto puede estar relacionado a que la movilidad de ambos está limitada por la fibra (diámetro y dirección de esta) mientras no fue así en las membranas por evaporación lenta de disolvente. Por otra parte, se observa mayor inclinación en las rectas del ion de plata es decir que la temperatura favoreció su movilidad mientras para el ion de nitrato por su tamaño que le impide moverse, no fue tan favorecida.

El comportamiento de la energía de activación de ambos iones es similar al mostrado en la Figura 4.31 para la energía de activación del bulto. Es evidente que la concentración no afecta la energía asociada a cada ion en particular al contrario a lo mostrado para el sistema PCL-Ag-SC.

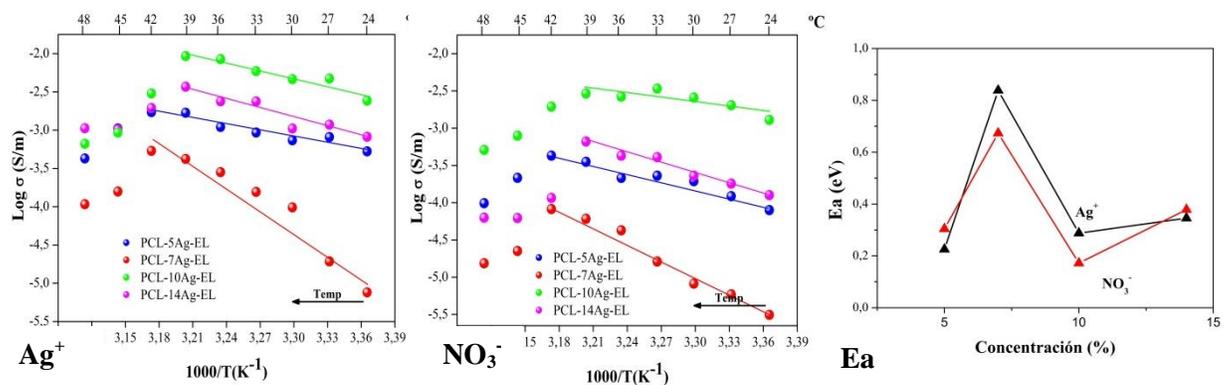


Figura 4.35. $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ de los iones Ag^+ y NO_3^- del sistema PCL-Ag-EL y energías de activación

4.2.1.6 Citotoxicidad

La Figura 4.36 reporta los resultados de citotoxicidad de los andamios electrohilados del polímero puro con 5 y 10% de esta sal. Respecto al control negativo los extractos de polímero puro no mostraron disminución en la viabilidad celular, resultado esperado debido a la biocompatibilidad del polímero y la baja citotoxicidad de la acetona en comparación a otros disolventes empleados para electrohilar. [24,80] Para las membranas con AgNO_3 los extractos de la concentración de 5% no presentaron disminución de viabilidad celular. Sin embargo, para el extracto a 100% con el andamio a 10% de esta sal disminuyó la viabilidad celular por debajo de 50% indicando que el andamio es tóxico. Para el extracto de 50% como la solución está diluida no presentó citotoxicidad. Se debe recordar que según los resultados de XRD de la Figura 4.24, para los andamios a 10% se encontraron picos de esta sal que no formaron complejos con el polímero, es decir, que cuando se sumergió el andamio en la solución extractora, dichas sales pasaron a la solución empleada para las pruebas citotóxicas obteniéndose un extracto con alto contenido de iones plata. A pesar que el nitrato de plata o iones de plata son empleados en medicina por sus propiedades antimicrobianas, el alto contenido de estos puede ser altamente tóxico [78].

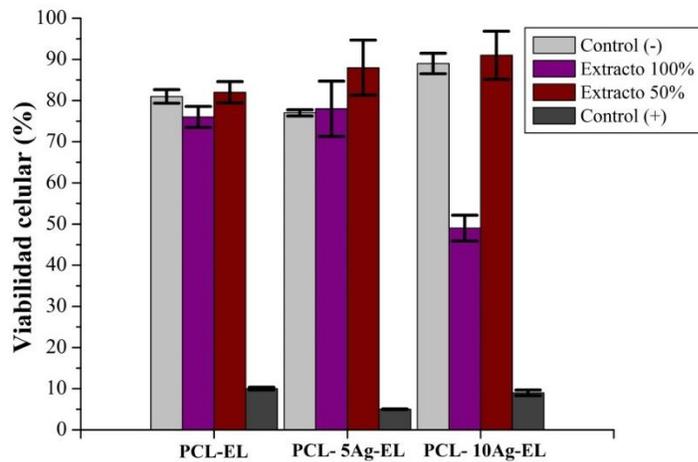


Figura 4.36. Viabilidad celular del polímero puro electrohilado y del sistema PCL-Ag-EL al 5 y 10% del contenido de sal

4.2.2 SISTEMA PCL-Mg-EL

Al igual que en la sección anterior se empleó una membrana 6cmd de diámetro de la cual se tomaron diferentes secciones para realizar todas las pruebas. En las Figura 4.37 y b) se pueden observar una de las muestras empleadas para pruebas mecánicas luego de su ejecución y muestras de 1cm de diámetros utilizadas en las pruebas eléctricas respectivamente. Bajo una inspección visual las muestras son de color blanco de características lisas y sin imperfecciones. El espesor de las muestras obtenidas fue de $(0,27 \pm 0,02)$ mm.

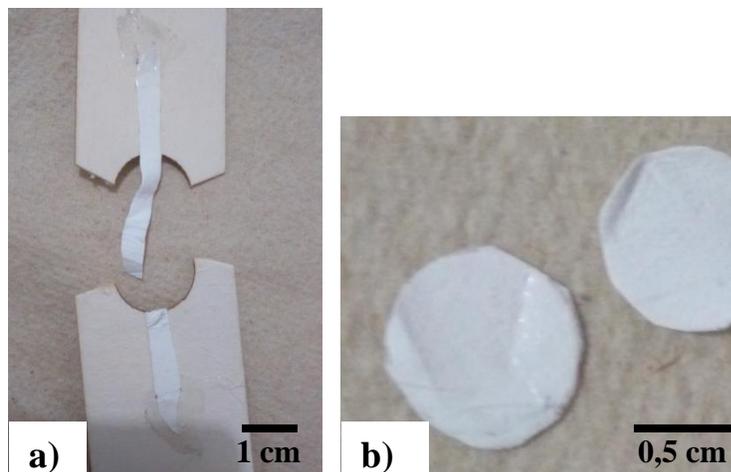


Figura 4.37. Muestra utilizadas para pruebas mecánicas b) muestras empleadas para pruebas eléctricas. Fotografías

Como se indicó previamente, la adición de sal ocasiona cambios en la conductividad, viscosidad y tensión superficial de la solución que se pretende hilar. Debido a los cambios generados en la solución de la muestra PCL-20-Mg-EL no fue posible hilar con los mismos parámetros descritos en la metodología (esto será explicado en las secciones posteriores). En la Figura 4.38 se muestra el resultado de hilar esta solución. Su apariencia, textura y resistencia mecánica percibidas al tacto son similares al algodón. En la Figura 4.38 se puede observar la punta del sistema de electrohilado con una gota sólida aun sin iniciar el proceso de hilado. En el siguiente link se encuentra un video en el cual se muestra la formación de este andamio https://www.youtube.com/watch?v=y01xj_aWhl4&feature=youtu.be.

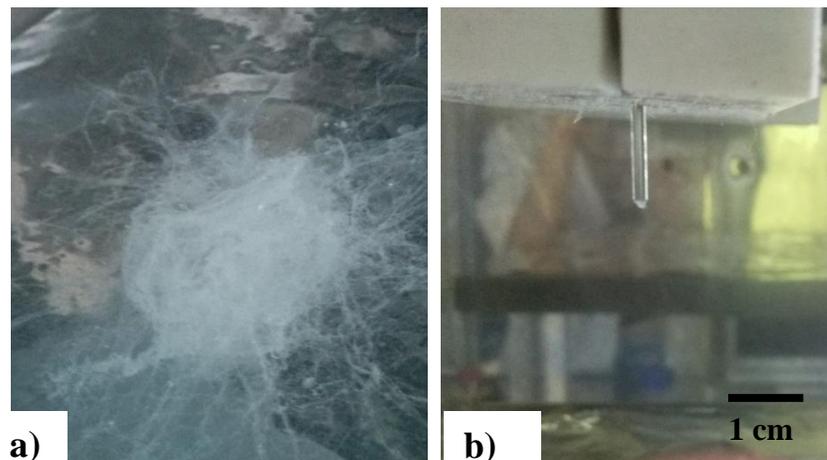


Figura 4.38. a) Muestra PCL-20Mg-El y b) Gota de la solución solidificada en la punta del sistema de electrohilado. Fotografías

4.2.2.1 Análisis XRD

La Figura 4.39 presenta los difractogramas XRD del polímero puro y del sistema PCL-Mg-EL con diferentes contenidos de sal. Se evidencia un aumento en la intensidad de los picos para la concentración de 5% de sal respecto al polímero puro, sin embargo como se indicó en la sección anterior el polímero puro mostró una morfología de electrohilado y electrospray que impide una comparación. Comparar sirve como referencia para analizar los cambios respecto al comportamiento de los andamios con las otras concentraciones.

Se aprecia es una notoria disminución de intensidad de los picos característicos de la policaprolactona para los andamios de 7,10 y 14% de contenido de sal. Por otra parte es evidente la ausencia de los picos de la sal de magnesio lo que indica que el complejo polímero-sal fue formado.

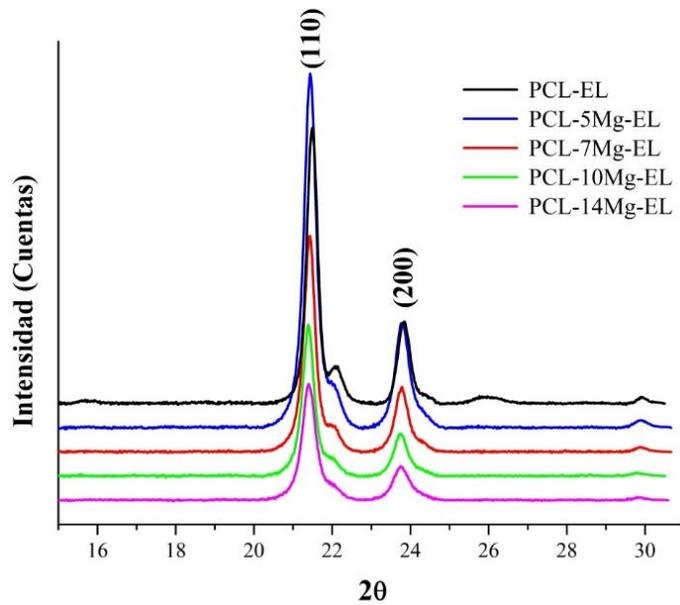


Figura 4.39. Difractogramas DRX del polímero puro y del sistema PCL-Mg-EL con diferentes contenidos de sal

4.2.2.2 Análisis DSC

La Figura 4.40 muestra los termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Mg-EL con diferentes contenidos de sal los picos endotérmicos para todas las muestras. En particular cuando se aumenta la concentración de sal es evidente la aparición de otro pico de reblandecimiento alrededor de 62-63°C asociado a la formación de otra fase.

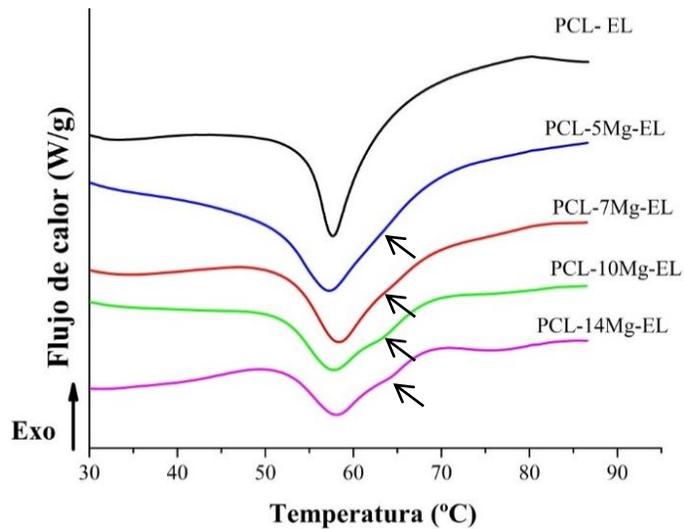


Figura 4.40. Termogramas DSC del polímero puro y del sistema PCL-Mg-EL con diferentes contenidos de sal

En la Tabla 4.5 se presenta la entalpia de reblandecimiento (ΔH_f), temperatura de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-EL y el sistema PCL-Mg-EL. El porcentaje de cristalinidad relativa presentó una disminución al aumento de la concentración de sal lo que confirma los resultados de XRD con la disminución en la intensidad de los picos. El efecto de la adición de sal sobre la cristalinidad de estos andamios es mayor en comparación a los otros sistemas y puede estar relacionado con la evaporación rápida del disolvente y la ubicación de las cadenas poliméricas en fibras las cuales pueden desalinearse fácilmente por la presencia de iones.

Tabla 4.5. Entalpia de reblandecimiento (ΔH_f), temperatura de reblandecimiento (T_m) y cristalinidad relativa (χ) del PCL-EL y el sistema PCL-Mg-EL con diferentes contenidos de sal

Muestra	ΔH_f [J/g]	T_m [°C]	χ [%]
PCL-EL	57,90	57,90	100,0
PCL-5Mg-EL	60,99	57,84	105,3
PCL-7Mg-EL	57,64	58,73	99,6
PCL-10Mg-EL	40,52	58,07	70,0
PCL-14Mg-EL	28,38	58,38	49,02

4.2.2.3 Análisis morfológico

En las Figura 4.41 y Figura 4.42 se observan las micrografías SEM y los histogramas de los andamios 5, 7, 10 y 14% en contenido de sal de magnesio. Al igual que en la sección anterior no se presentan gotas y los diámetros de las fibras aumentaron en comparación al polímero puro (Figura 4.26). El aumento de diámetro, como se explicó anteriormente, es producto de los efectos de la sal en la densidad de carga, fuerza electrostática y flujo de masa hacia el hilo. Sin embargo, se presenta un efecto adicional al emplear nitrato de magnesio por su carácter higroscópico. Debido al carácter higroscópico de la sal y la carga superficial, las moléculas de agua del medio pueden ser atraídas y absorbidas en la superficie del chorro. Como el agua es miscible en la acetona pero no disuelve la PCL ocasiona la precipitación del polímero en la solución. Por lo anterior, se generan zonas ricas en polímero que contribuyen al aumento del diámetro de la fibra [92, 109]. Para la concentración de 20% el efecto del agua es más significativo generando mayor precipitación del polímero obteniéndose diámetros de fibras de tamaño visible como se mostró en la Figura 4.38.

Por otra parte, también se presentan cambios en el diámetro en una sola fibra (como lo muestra flecha en la Figura 4.41) en mayor proporción a lo observado en el sistema anterior. La absorción de agua no solo contribuye a la precipitación del polímero en ciertas regiones, sino también al aumento de la tensión superficial del chorro que prevalece sobre el campo eléctrico generando estos cambios de diámetro [92].

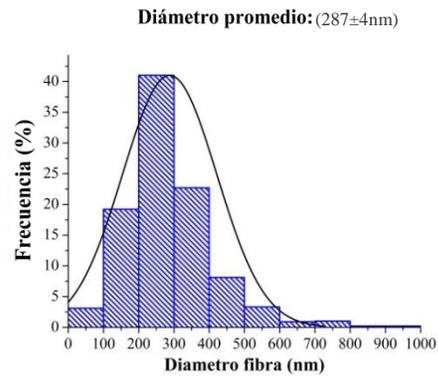
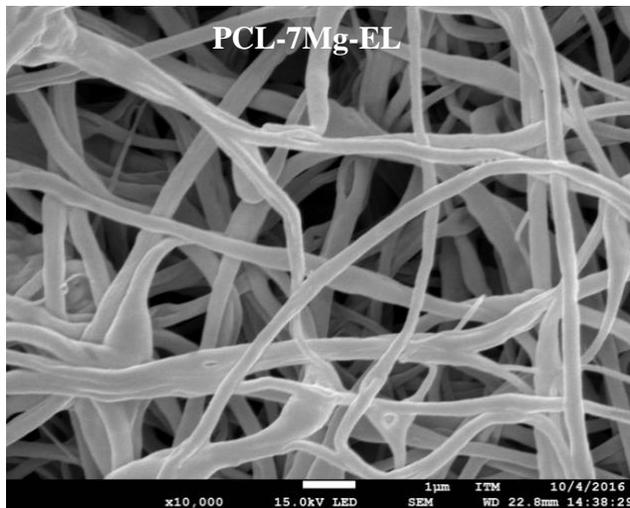
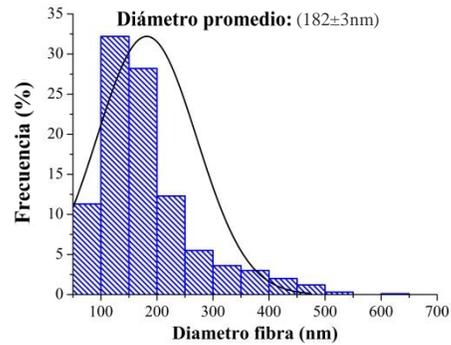
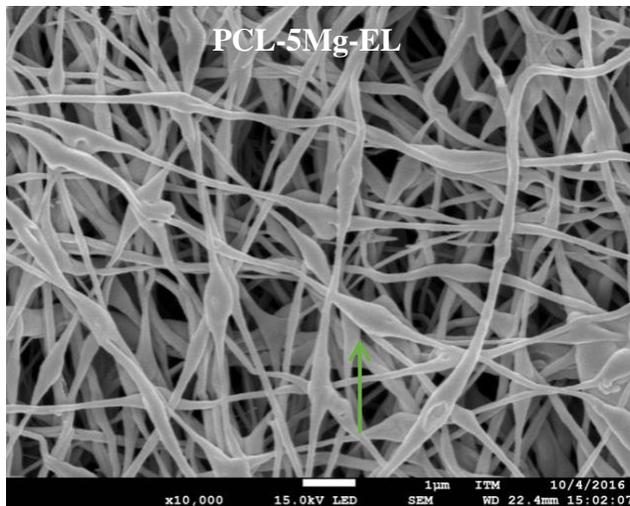


Figura 4.41. Micrográficas SEM e histogramas de la muestra PCL-5Mg-EL y PCL-7Mg-EL

A diferencia del sistema anterior estos andamios presentan huecos en las fibras (como lo muestra la flecha de la Figura 4.42). El proceso de evaporación del disolvente del chorro se da desde la superficie hacia el interior o núcleo, si se presenta la absorción de agua en la superficie, las moléculas del disolvente que se difunde desde el núcleo hacia el exterior se encuentran obstaculizadas por una capa de líquido menos volátil generando una piel protectora en la fibra. Finalmente cuando la presión interna por la evaporación del disolvente sobrepasa la tensión superficial generada por la piel, se rompe dejando los huecos observados en las fibras [92, 103] [109, 110].

En la Figura 4.41 se presentan las micrográficas SEM y los histogramas de las muestras 5 y 7% entre ellos es evidente el aumento de diámetro de la fibra generado por los efectos mencionados anteriormente. Para las concentraciones de 10 y 14 % en la Figura 4.42 se presenta una

disminución del tamaño del diámetro de la fibra en comparación a la concentración anterior debido a los efectos del aumento de la conductividad de la solución al aumento de concentración de sal. Para profundizar en el análisis es necesario realizar medidas de conductividad, viscosidad y tensión superficial de las soluciones y validar o no las hipótesis.

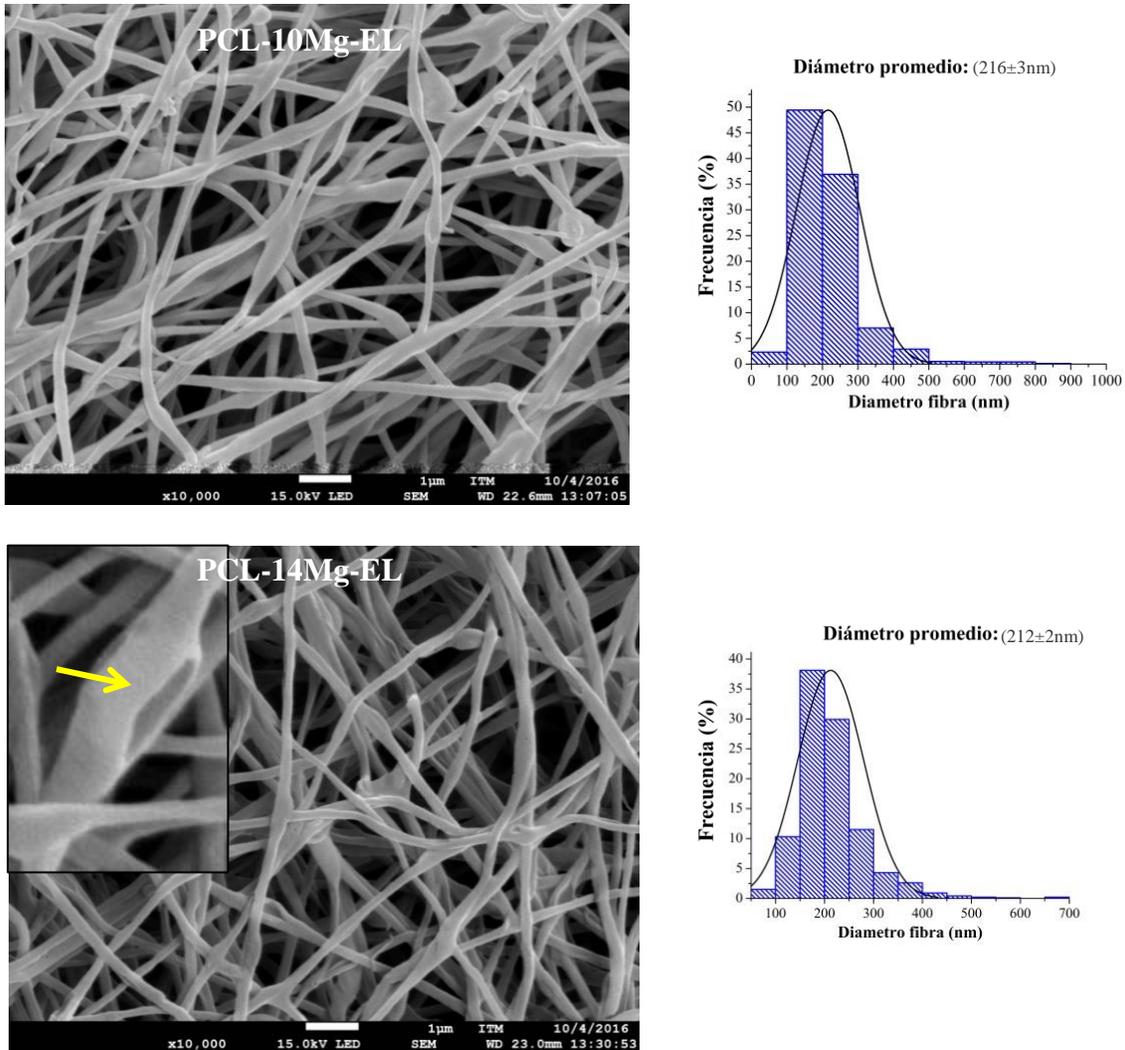


Figura 4.42. Micrografías SEM e histogramas de la muestra PCL-10Mg-EL y PCL-14Mg-EL

4.2.2.4 Propiedades mecánicas

La Figura 4.43 muestra las propiedades mecánicas obtenidas por las muestras electrohiladas con adición $Mg(NO_3)_2$. Al igual que el sistema anterior las muestras presentan un comportamiento elástico con posterior deformación sin formación de cuello. En general, los valores del módulo de Young de los andamios se encuentran alrededor 13MPa por encima de algunos trabajos reportados. [97, 106] En comparación con el polímero puro los andamios presentan mejor módulo de Young y esfuerzo final. La deformación a la rotura es menor en las concentraciones más altas.

Las concentraciones de 5 y 7% presentan mejores propiedades mecánicas en comparación a las otras concentraciones, lo cual se vio reflejado en la entalpias de reblandecimiento mayores que indica mayores fuerzas intermoleculares que favorecen las propiedades. Para las concentraciones de 10 y 14% es evidente una disminución del módulo de Young en relación a las concentraciones más bajas. En particular el andamio al 14% presentó mayores cantidades de huecos en fibras lo que debilita aún más su resistencia a la tensión. Aunque para estas concentraciones aumentó la fase amorfa no presentó favorecimiento en la deformación a la rotura como se presentó en el sistema PCL-Ag-EL. Debido a la absorción de agua, por supuesto favorecida por el aumento de concentración de sal, se forma una piel en las fibras que impide la liberación de disolvente del núcleo. Cuando las fibras entran en contacto entre sí es necesario ese solvente residual para que funcione como soldador entre fibras, la capa de piel formada por el no disolvente evita la unión efectiva de las fibras afectando sus propiedades mecánicas [98,107].

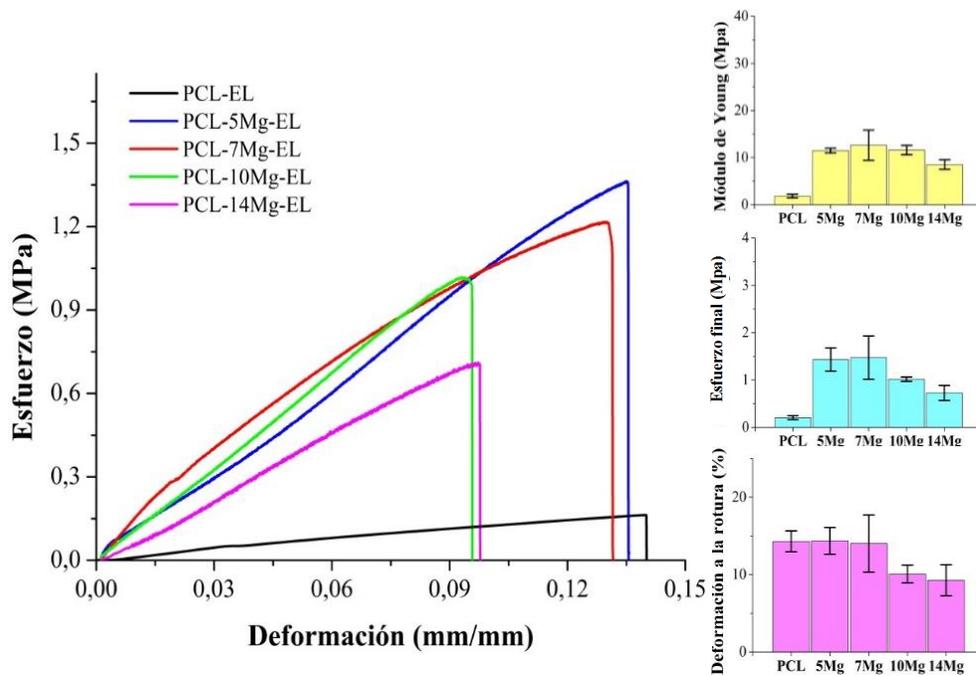


Figura 4.43. Propiedades mecánicas del polímero puro y del sistema PCL-Mg-EL

4.2.2.5 Conducción iónica

La Figura 4.44 muestra la Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria Z'' de los andamios evaluados a 24 y 36°C para el sistema PCL-Mg-EL. Para este caso es evidente que la concentración no favorece la conductividad ya que la muestra que presenta mayor resistencia es la de 14% mientras la menor resistencia fue para la menor concentración 5%, esto aplica para ambas temperaturas.

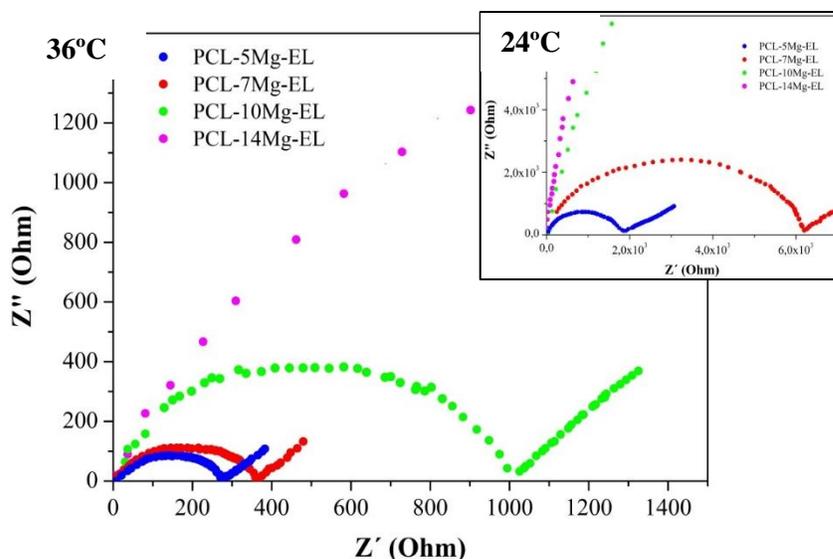


Figura 4.44. Impedancia real Z' vs Impedancia imaginaria de las muestras evaluadas a 24 y 36°C del sistema PCL-Mg-EL

La Figura 4.45-a) muestra el efecto de la temperatura en la conductividad de las membranas electrohiladas. Se evidencia un aumento de la conductividad hasta 42°C y posterior disminución por pérdida de agua en temperaturas mayores. Se aprecia un comportamiento similar para las muestras de 5 y 7% en todo el rango de temperaturas mientras que para las concentraciones de 10 y 14% el comportamiento similar se presenta entre 24 a 30°C. A mayores temperaturas la concentración de 14% no presenta un aumento de conductividad significativo.

Aunque se presenta una disminución en la cristalinidad de las muestras con el aumento de la concentración de sal, al parecer, la misma concentración es quien ocasiona la disminución de la conductividad debido a la obstaculización de los iones al moverse dentro de las fibras. La concentración de 7%, sin embargo, no presentó disminución de la conductividad como se esperaba según la hipótesis planteada anteriormente y de lo contrario mantuvo una conductividad similar a la del 5%, aunque presentó un aumento del diámetro de la fibra, es decir, el diámetro de la fibra también juega un papel importante en la conductividad ya que a mayor diámetro mayor espacio para vibrar. Se espera que la movilidad de los iones dentro de las fibras sea en dirección radial ya que estas son depositadas horizontalmente de forma aleatoria y la disposición de los electrodos en la pruebas de impedancia también es horizontal.

Para las concentraciones de 10 y 14% a 24, 30 y 36°C la conductividad es menor en comparación a las concentraciones más bajas. Esta característica puede asociarse a la dificultad para moverse los iones por obstaculización de los mismos. Estos presentaron menor diámetro comparado con la concentración de 7%.

El andamio con concentración del 14% presenta un comportamiento particular de la conductividad al aumento de la temperatura, por lo cual, se debe realizar un estudio más profundo para encontrar las posibles causas de este comportamiento.

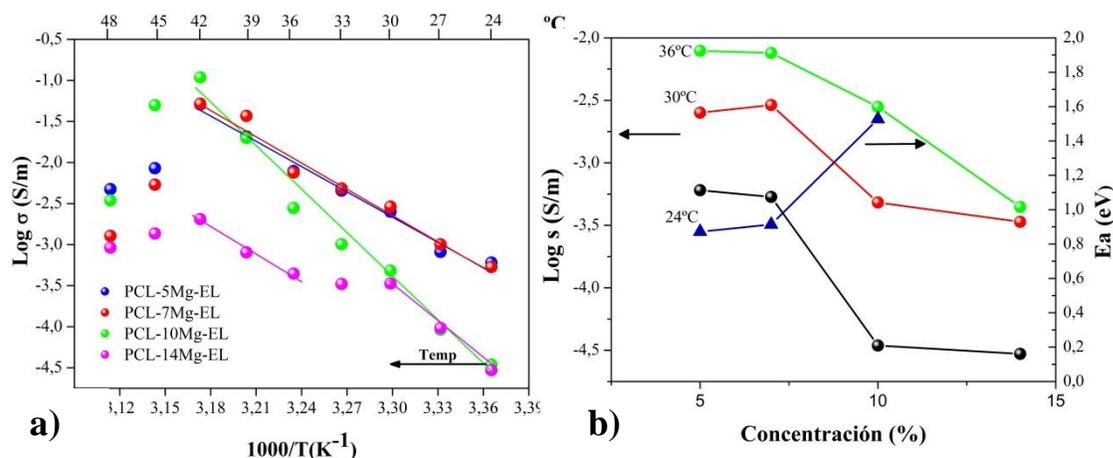


Figura 4.45. a) $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ y **b)** $\text{Log}(\sigma)$ vs concentración - E_a vs concentración del sistema PCL-Mg-EL²

Las Figura 4.46 y Figura 4.47 presentan las tangentes de pérdidas para las diferentes muestras electrohiladas. Al igual que los sistemas anteriores se aprecia el desplazamiento del pico de pérdidas a mayores frecuencias con el aumento de la temperatura. Mientras el desplazamiento de los picos para las muestras de 5 y 7% es constante, para la muestra de 10% se aprecia un desplazamiento significativo a 42°C, en el cual el pico no se alcanza a observar totalmente debido a que en la prueba de impedancia no se forma el semicírculo completamente (ver ANEXO 2), sin embargo es debido a que requiere mayor energía para alcanzar frecuencias de vibración más altas tal cual se aprecia en la Figura 5.45 la cual tiene la mayor energía de activación. Para las concentraciones de 5 y 7% en cambio los iones y segmentos poliméricos pueden vibrar fácilmente.

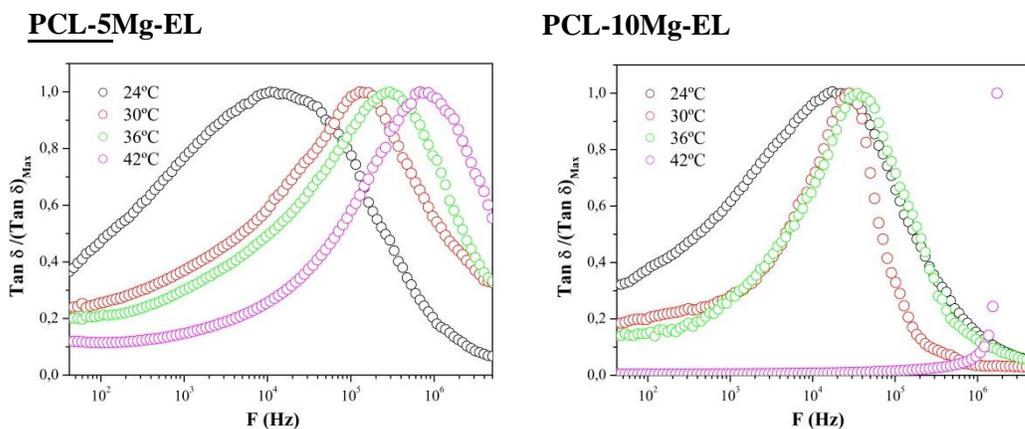


Figura 4.46. Tangente de pérdidas normalizado para las concentraciones 7 y 10% a diferentes temperaturas

² Debido al comportamiento particular para la concentración de 14% no se calcula la energía de activación

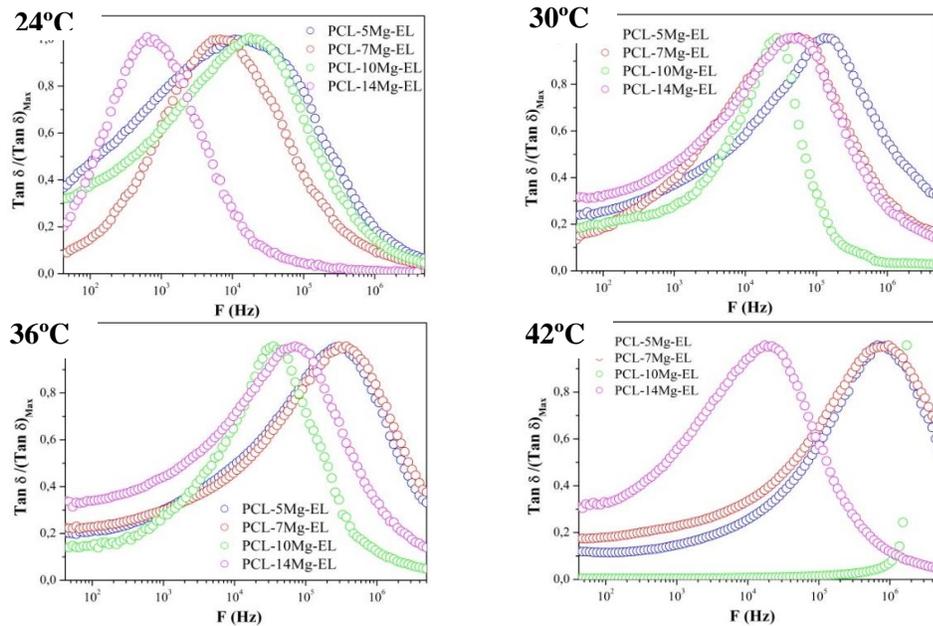


Figura 4.47. Tangente de perdidas normalizado para las temperaturas de 24, 30, 36 y 42°C a diferentes concentraciones del sistema PCL-Mg-EL

Las resistencias asociadas a cada ion se hallaron realizando los ajustes respectivos al circuito equivalente. La Figura 4.48 muestra un ejemplo de ello. Se puede apreciar que la diferencia de las resistencias del ion de magnesio y de nitrato continúa siendo similar a lo expuesto en la Sección 4.1.2.3. En este caso, sin embargo, se utiliza un CPE debido a la nanoestructura de las membranas electrohiladas.

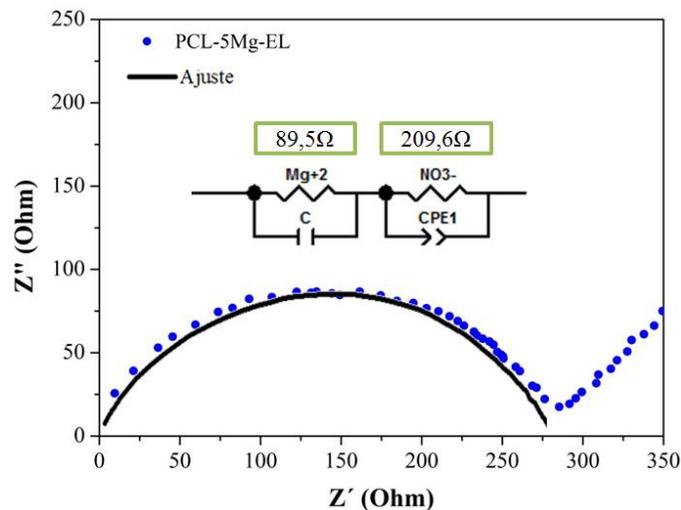


Figura 4.48. Circuito equivalente empleado para ajustes. Ejemplo de ajuste a muestra PCL-5Mg-EL a 36°C

En la Figura 4.49 se muestran el $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ para cada ion. El comportamiento de la conductividad respecto a la temperatura para los iones magnesio y nitrato son similares a las expuestas en la Figura 4.45. En la gráfica no se encuentran reportados algunos valores de conductividad debido a que los semicírculos no se formaron totalmente hasta la frecuencia evaluada y por tanto no se pueden realizar los ajustes al circuito equivalente. Sin embargo es posible observar la tendencia. Por otra parte la energía de activación es mayor para la concentración de 10% para ambos iones por los motivos expuesto previamente.

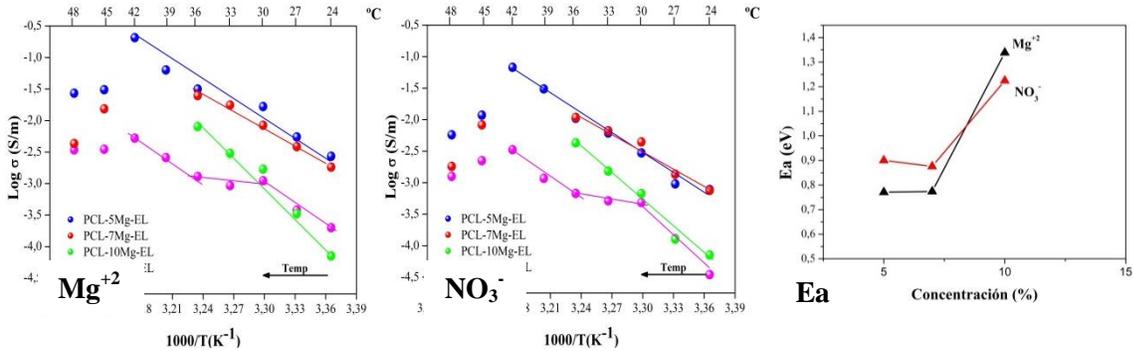


Figura 4.49. $\text{Log}(\sigma)$ vs $1000/T$ de los iones Mg^{+2} y NO_3^- del sistema PCL-Mg-ELY y energías de activación

4.2.2.6 Citotoxicidad

La Figura 4.50 reporta los resultados de citotoxicidad de los andamios electrohilados del polímero puro con 5 y 10% de esta sal. Similar al sistema anterior la muestra con concentración 10% presentó toxicidad tanto para el extracto de 100% como para el de 50%.

Aunque los iones de magnesio tiene gran relevancia en las funciones bioquímicas de las células, indispensable para el funcionamiento del núcleo, estabilidad física, actuador como cofactor para enzimas de ácido ribonucleico y papel esencial en las funciones mitocondriales, entre otras funciones [79], el ion de nitrato no. Aunque el nitrato es relativamente no-toxico por procesos metabólicos puede formar nitrito el cual por su propiedades es capaz de oxidar la hemoglobina a metahemoglobina impidiendo desempeñar el papel de transporte de oxígeno ocasionando hipoxia que compromete la función de los tejidos [111]. Debido a que por cada ion de magnesio hay dos de nitrato en comparación al sistema anterior pudo generar mayor toxicidad.

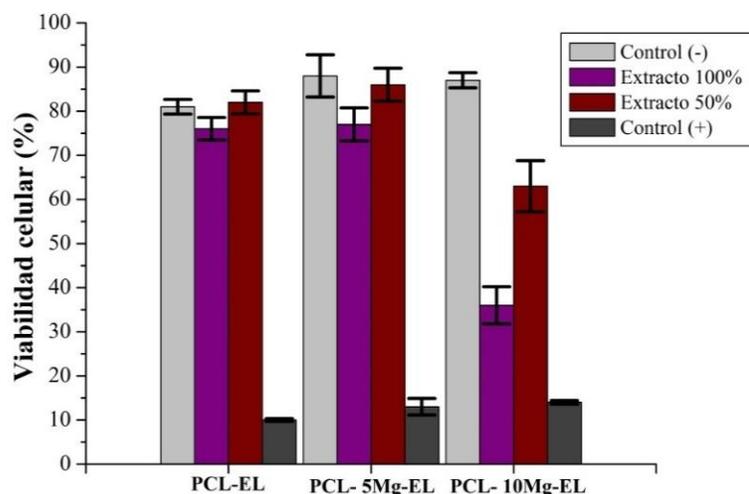


Figura 4.50. Viabilidad celular del polímero puro electrohilado y del sistema PCL-Mg-EL al 5 y 10% del contenido de sal

4.3 EFECTO DE LAS TÉCNICAS EN LAS PROPIEDADES DE LAS MEMBRANAS

La Figura 4.51 presenta el efecto de las técnicas de evaporación lenta de disolvente y electrohilado en la obtención de las membranas para el polímero puro y los sistemas PCL-Ag y PCL-Mg, para los resultados XRD y DSC. El análisis a continuación se realiza sobre las muestras a 5% de ambas sales con el objetivo de observar las diferencias encontradas entre las técnicas.

En relación a la técnica XRD, la diferencia más notoria es la aparición de un pico cerca de 2θ : $19,5^\circ$ (Flecha negra en la Figura 4.51) que se presenta solo en la técnica de evaporación lenta de disolvente tanto para el polímero puro como para el polímero con sal de plata y de magnesio. En la Sección 4.2.1.1 se asoció este pico a la reorganización de las cadenas poliméricas durante el tiempo en que tarda el disolvente en eliminarse. Un ensayo preliminar mostró que no se formó este pico cuando se obligó la rápida evaporación del disolvente usando una bomba de vacío en un desecador³ (ver ANEXO 3). Esto confirma la aparición del pico por la evaporación lenta del disolvente y la reorganización de las cadenas. Por otra parte los reportes de XRD de la policaprolactona no presentan este pico [83-85]. Sin embargo, no se encontró un reporte específicamente para la acetona como único disolvente empleado.

En relación a la cristalinidad, tanto en el polímero puro como en éste combinado con sal de magnesio, se mostró una disminución significativa de la intensidad de los picos al emplear la técnica de electrohilado, esto puede estar relacionado con la evaporación instantánea del disolvente

³ Este método no fue utilizado debido a que se formaban los cristales de las sales. (ver ANEXO 3)

en ésta técnica. En particular para la sal de plata no se observó este efecto, probablemente debido al efecto del campo eléctrico sobre los complejos polímero-sal.

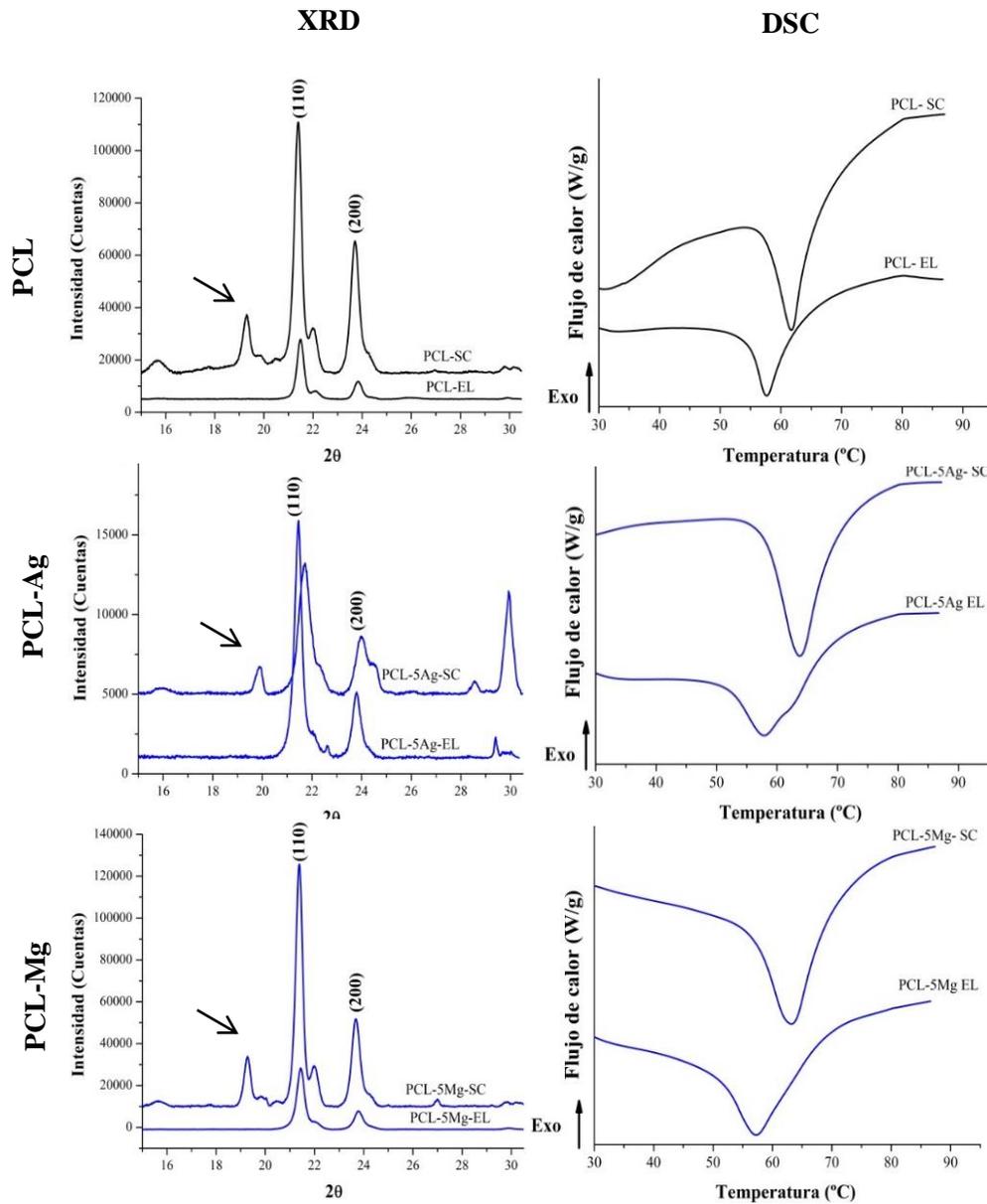


Figura 4.51 Efecto de las técnicas de elaboración de membranas en los resultados XRD y DSC para el polímero puro y los sistemas PCL-Ag y PCL-Mg

Con respecto a los resultados DSC estos presentan un evidente desplazamiento del pico de reblandecimiento a menor temperatura cuando se usa la técnica de electrohilado tanto para el polímero puro como con la presencia de las sales, esto ha sido reportado en literatura y es asociado a la técnica [112]. En la Tabla 4.6 se muestran las entalpías de reblandecimiento de algunas muestras, donde es notorio que las membranas elaboradas por evaporación lenta de disolvente

presentan mayor entalpia que las electrohiladas, debido posiblemente a la pérdida de enlaces intermoleculares ante la disposición de las cadenas polimérica en fibras individuales.

Tabla 4.6. Efecto del tipo de las en las entalpias de reblandecimiento

Muestra	$\Delta H_f [J/g]$
PCL-5Ag-SC	96,17
PCL-5Mg-SC	99,21
PCL-5Ag-EL	62,26
PCL-5Mg-EL	60,99

En la Figura 4.52 se muestran algunos resultados de conductividad para ambas sales. En la figura se muestra mayor conductividad en la membrana de plata no hilada, mientras que para el magnesio se encuentra mejor conductividad en la hilada. Con la técnica de electrohilado se da una disminución abrupta de la conductividad en comparación a la técnica de evaporación lenta de disolvente a temperaturas altas y es debido a que la pérdida de agua es favorecida por la estructura porosa de la membrana. Aunque para la sal de magnesio la técnica de electrohilado mejoró la conductividad no fue así para la sal de plata, de donde no es posible generalizar una relación entre la técnica con la conductividad.

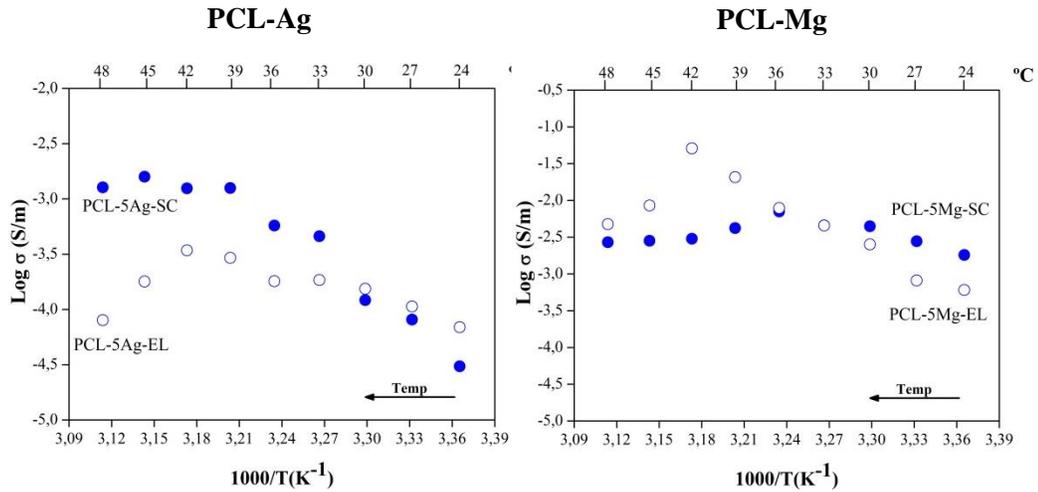


Figura 4.52. Efecto de la técnica de elaboración de membranas en la conductividad iónica entre los sistemas PCL-Ag y PCL-Mg

4.4 EFECTO DE LAS SALES EN LAS PROPIEDADES DE LAS MEMBRANAS

La Figura 4.53 muestra el efecto del tipo de sal en los resultados XRD para la a técnica de elaboración lenta de disolvente y la técnica de electrohilado. Es evidente que la adición de $AgNO_3$

disminuyó notablemente las intensidades de los picos en ambas técnicas más que la adición de Mg^{+2} . También se presenta el corrimiento de los picos para la adición de plata. Comparando los radios iónicos del ion Ag^+ y el ion Mg^{+2} el primero es mucho más grande y puede por esto generar mayor desorden al ubicarse entre las cadenas poliméricas.

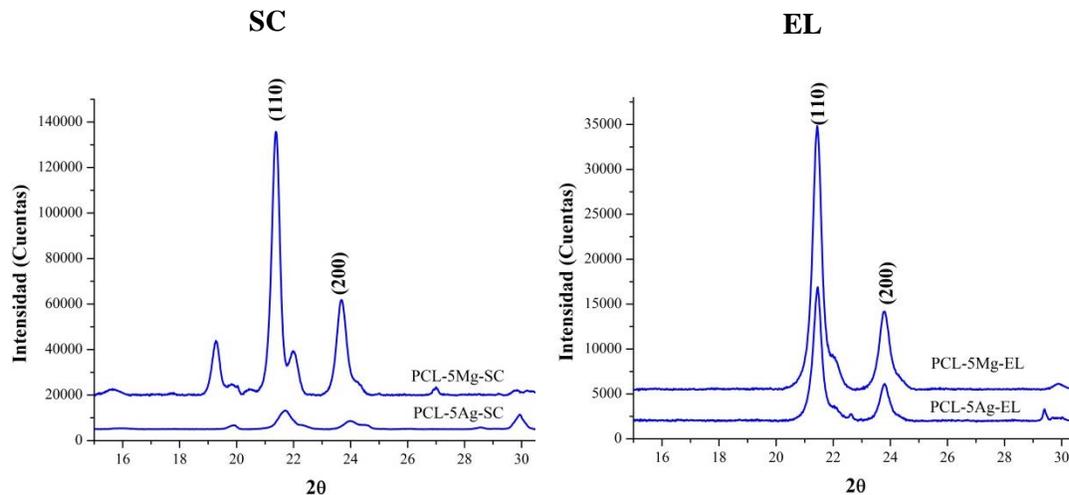


Figura 4.53. Efecto del tipo de sal en los resultados XRD para la a técnica de elaboración lenta de disolvente y la técnica de electrohilado.

Para los andamios electrohilados con sal de plata se sugirió en Sección 4.2.1.1 que el campo eléctrico ejercido ocasionó el rompimiento de complejos y por tanto la aparición de los picos de la sal en los XRD, mientras no ocurre esto para las sales de magnesio. Los iones de magnesio con carga (+2) son más pequeños mientras los iones de plata con carga (+1) son más grandes, por tanto, si se considera de forma cualitativa la ley de Columb a mayor carga y menor tamaño la fuerza de atracción es mayor, entonces la fuerza de atracción con los oxígenos del grupo éster es mayor para el ion de magnesio y el campo eléctrico ejercido no fue suficiente para romper el complejo. Sin embargo, es necesario realizar ensayos para validar la hipótesis.

En la Figura 4.54 se muestra un esquema de formación de los complejos polímero- Ag^+ y polímero- Mg^{+2} considerando los radios atómicos del carbono, oxígeno e hidrogeno (77, 66 y 25 pm respectivamente) y los radios iónicos de la plata y del magnesio (125 y 72pm respectivamente) con el objetivo de mostrar de manera ilustrativa los tamaños de radios involucrados en los sistemas evaluados [113,114].

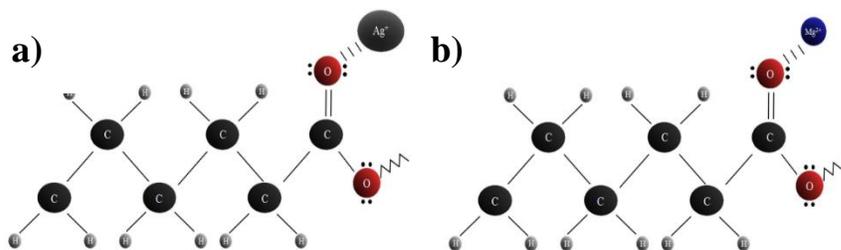


Figura 4.54. Esquema de formación de complejos para a) PCL-Ag y b) PCL-Mg. Elaboración propia.

La Figura 4.55 muestra las micrografías SEM para las sales a 5 y 10% con diferentes aumentos. Ambas sales (en concentraciones bajas) mostraron un electrohilado uniforme. Sin embargo, por los efectos de absorción de agua antes explicados las fibras de las membranas con sal de magnesio presentaron mayores cambios en los diámetros en comparación con la sal de plata. A 10% el efecto de la absorción de agua fue más significativo generando defectos más grandes en los andamios.

En la Figura 4.56 se muestra el efecto del tipo de sal sobre las propiedades mecánicas de los andamios electrohilados. Para la plata a 5% se encontraron mejores propiedades mecánicas. Al aumentar la concentración de sal fue evidente la formación de defectos en las fibras que ocasionaron la disminución de estas propiedades. Los andamios con sal de magnesio presentaron menores resistencias mecánicas debido a los efectos en las fibras que se perciben desde las concentraciones más bajas y a los problemas de unión entre las fibras en el proceso de secado por la absorción de agua.

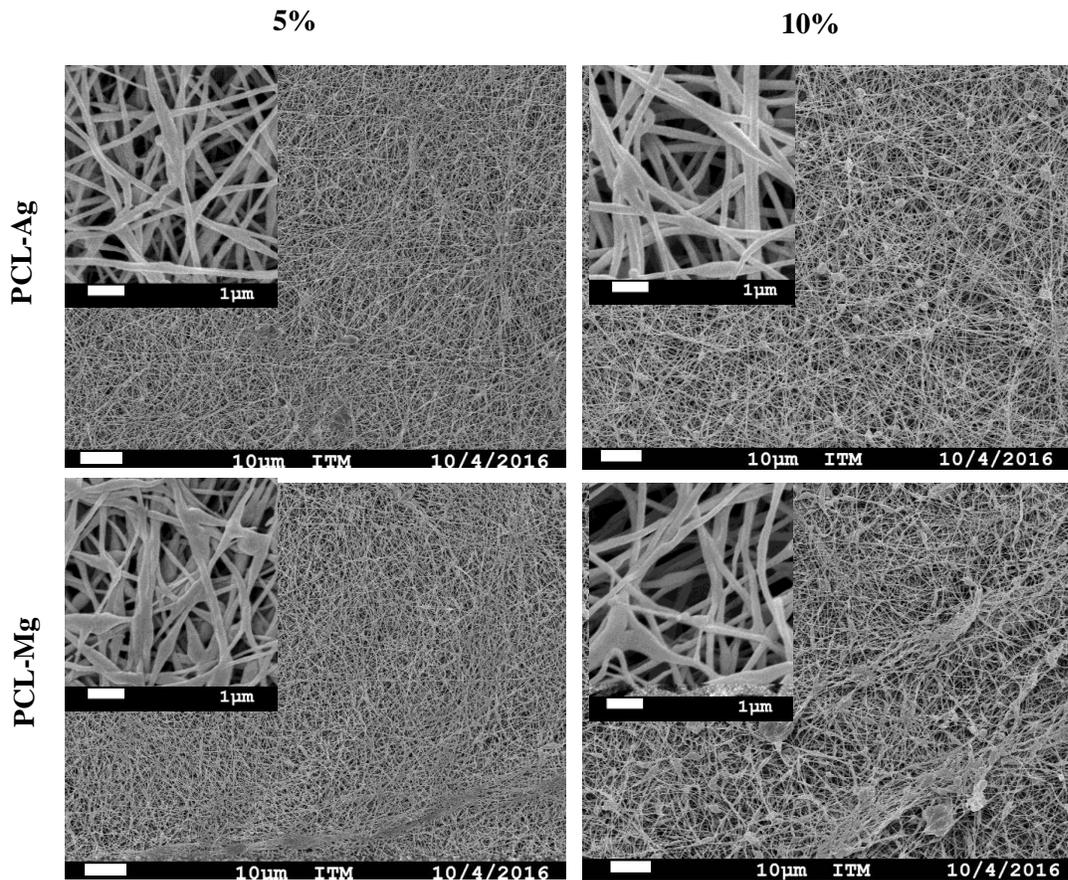


Figura 4.55. Efecto del tipo de sal en la morfología de las membranas electrohiladas, para 5 y 10%

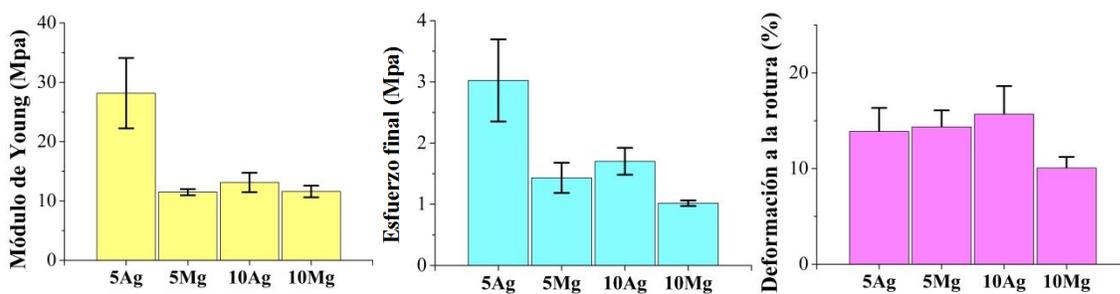


Figura 4.56. Efecto del tipo de sal en las propiedades mecánicas de los andamios electrohilados

La Figura 4.57 presenta el efecto del tipo de sal en la conductividad iónica al usar la técnica de elaboración lenta de disolvente y de electrohilado. La mayor conductividad fue encontrada para el polímero con iones de magnesio en sus diferentes concentraciones y para las dos técnicas usadas.

Lo que puede estar relacionado con el tamaño y la carga este ion ya que es muy pequeño y por tanto de fácil movimiento en comparación al ion de plata.

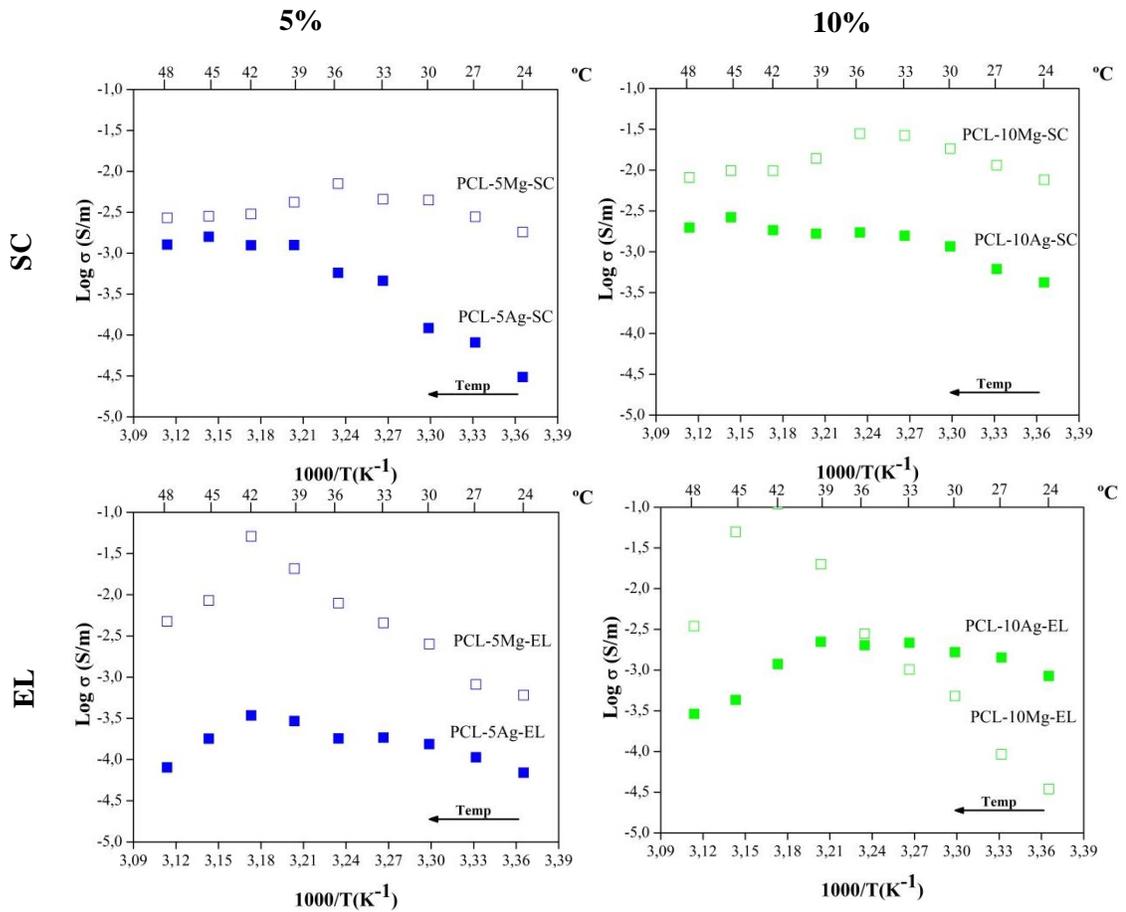


Figura 4.57. Efecto del tipo de sal en la conductividad iónica para la a técnica de elaboración lenta de disolvente y la técnica de electrohilado

4.5 COMPARACIÓN DE LAS PROPIEDADES DEL TEJIDO ÓSEO Y LAS MEMBRANAS OBTENIDAS POR ELECTROHILADO

En esta sección se realiza la comparación entre las propiedades del hueso con las propiedades encontradas para los andamios electrohilados del polímero puro, a 5 y 10% con AgNO_3 y a 5 y 10% con $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

El hueso está formado por dos fases, una mineral y una orgánica. La mineral corresponde a un 60-70% del tejido óseo y es reconocida cristalográficamente como mineral apatita, específicamente hidroxiapatita impura de baja cristalinidad, el 30-40% del tejido restante es el componente orgánico con un 90% de colágeno [5,12]. Ninguna de las componentes es comparable con la

composición de los andamios electrohilados. Sin embargo, el Mg^{+2} se encuentra presente en la sangre y tiene gran relevancia en las funciones bioquímicas de las células [79], y es este catión el principal ion de los andamios PCL-Mg-EL. Por su parte el ion de plata no se encuentra en ningún componente del hueso ni del cuerpo, pero sus propiedades antimicrobianas [77] lo han proyectado a ser empleado en el diseño de biomateriales que impidan la formación de la biopelícula, limitando así la aparición de infecciones [115,116].

Con respecto a la estabilidad térmica, según los resultados obtenidos en las pruebas DSC, todos los andamios tienen temperatura de reblandecimiento por encima de los 57 °C, por lo cual pueden ser empleados para uso corporal cuya temperatura es entre 36-39°C.

Morfológicamente, el hueso presenta dos tipos de estructuras la cortical y la trabecular. La trabecular tiene una porosidad de 50-95% y la cortical de 5-10% [5]. Aunque en las micrografías SEM fue posible observar la obtención de una estructura porosa en todas las membranas es necesario realizar otras pruebas para conocer el porcentaje de porosidad. Sin embargo, el hecho de contar con material poroso facilitaría el intercambio de nutrientes celulares necesarios para cualquier tipo de tejido. El tamaño de los poros en el hueso se divide en tres niveles (~10µm) para los canales de Volkmann, (~0,1µm) para el paso de fluidos y (20-60nm) de espacio entre los cristallitos de la hidroxiapatita [5]. En todos los andamios se encontraron los espacios entre fibras menores a 1 µm.

En cuanto a las propiedades mecánicas, en el hueso difieren según el tipo de estructura. La estructura cortical es muy resistente con módulos de Young de hasta 17000 MPa longitudinalmente y 11500 MPa transversalmente, mientras para el hueso trabecular los valores varían entre 10 a 2000 MPa dependiendo del sitio anatómico y la edad [117]. Los módulos de Young obtenidos para las membranas se encuentran reportados en la Tabla 4.7, aunque no son comparables con el del hueso cortical, los obtenidos por las membranas con sal fueron superiores a los reportados para el hueso trabecular. Los valores de esfuerzo final (resistencia previa a la ruptura) para el hueso cortical son de 133 MPa longitudinal y 51 MPa transversal y para el trabecular entre 0,5 a 100 MPa dependiendo de densidad aparente [117]. Al igual que la propiedad anterior los valores de esfuerzo final para los andamios con sal son comprables con los del hueso trabecular. Por último, el porcentaje de deformación para el hueso cortical no supera el 2% mientras para el trabecular se acerca al 10% similar a los obtenidos de los andamios con sal [117].

En conclusión, las propiedades mecánicas encontradas en los andamios con contenido de sal, sea de magnesio o de plata son comparables con las propiedades mecánicas del hueso trabecular.

Tabla 4.7. Propiedades mecánicas y eléctricas de las muestras electrohiladas

<i>Muestra</i>	<i>Módulo de Young [MPa]</i>	<i>Esfuerzo final [MPa]</i>	<i>Deformación a la rotura [%]</i>	<i>Conductividad [S/m]</i>
PCL-EL	1,92 ±0,39	0,20 ±0,04	14,29 ±1,36	-
PCL-5Ag-EL	28,1 5±5,93	3,02 ±1,43	13,88 ±2,46	1,8x10 ⁻⁴
PCL-10Ag-EL	13,11 ±1,63	1,70 ±0,22	15,69 ±2,93	2,02x10 ⁻³
PCL-5Mg-EL	11,47 ±0,51	1,43 ±0,25	14,36 ±1,72	7,88x10 ⁻³
PCL-10Mg-EL	11,59 ±0,98	1,02 ±0,05	10,07 ±1,14	2,80x10 ⁻³

En cuanto a las propiedades eléctricas del hueso húmedo, la estructura cortical tiene valores de conductividad de $1,82 \times 10^{-3}$ - $6,67 \times 10^{-3}$ S/m y la estructura trabecular de 0,1-0,5 S/m [5]. La membrana con plata a 5% tiene una conductividad inferior a la del hueso en general, mientras a 10% se encontró en el intervalo de la conductividad del hueso cortical. Para los andamios con magnesio, la concentración a 5% presentó conductividad superior a las del hueso cortical y cercana al intervalo del hueso trabecular, a 10% se encontró en el intervalo de conductividad del hueso cortical.

Por último, las pruebas citotóxicas mostraron toxicidad para ambas sales cuando el contenido de sal fue a 10%.

La Tabla 4.8 reporta de forma cualitativa el análisis realizado en esta sección. Con el símbolo 😊 se indica que el resultado obtenido para el andamio cumple con las características del hueso o se encuentra entre los intervalos de la propiedad evaluada, el símbolo 😐 indica que aunque no se cumple las características o no se encuentra en el intervalo, el resultado se acerca a ello y 😞 señala que no se cumple la característica y se encuentra muy lejano al intervalo.

Tabla 4.8. Comparación de las propiedades obtenidas por las membranas respecto a las propiedades del hueso

Propiedad comparada con el hueso	Membrana electrohilada				
	PCL-EL	PCL-5Ag-EL	PCL-10Ag-EL	PCL-5Mg-EL	PCL-10Mg-EL
Composición	😞	😞	😞	😐	😐
Temperatura corporal	😊	😊	😊	😊	😊
Morfología	😐	😐	😐	😐	😐
Mecánicas	😞	😊*	😊*	😊*	😊*
Eléctricas	😞	😞	😊+	😊+ y 😐*	😊+
Citotoxicidad	😊	😊	😞	😊	😞

* Comprable con el hueso trabecular

+ Comparable con el hueso cortical

De la comparación en la tabla anterior, se deduce que el andamio PCL-5Mg-EL es el que presentó mayor similitud con las propiedades del hueso reportadas en la literatura, en especial con el hueso trabecular y por tanto tiene potencial para ser aplicado en la ingeniería de tejidos óseos.

5. CAPÍTULO CINCO: CONCLUSIONES

En este trabajo se logró obtener dos sistemas biopoliméricos basados en policaprolactona con las sales nitrato Ag y Mg, con los que se logró aumentar las características de conductividad iónica del polímero puro. Para evaluar las características de estos nuevos materiales se realizaron pruebas de caracterización sobre dos formas diferentes, una con membranas obtenidas por evaporación lenta y la otra con andamios construidos por la técnica de electrohilado; esto para las dos sales del estudio a diferentes concentraciones. En las membranas por evaporación lenta ante la adición de AgNO_3 se encontró disminución en la cristalinidad ante aumentos en la concentración de esta sal, resultados observados en las pruebas XRD y confirmados en la disminución de entalpia de reblandecimiento y la cristalinidad relativa que arrojaron las curvas DSC. Para el caso de las membranas de con sal de magnesio la cristalinidad disminuyó al aumentar esta sal, mas no de una forma tan significativa como fue para el caso de la plata, esto debido a que el tamaño del radio iónico del magnesio es significativamente más pequeño; en este sistema también se vio afectada la conductividad iónica por la pérdida de agua en altas temperaturas, esto dada la liberación de agua de la segunda capa de hidratación. Para ambas sales, las concentraciones a 20% de la sal mostraron mayor conductividad iónica en comparación con las otras concentraciones, asociado posiblemente al aumento de cargas móviles.

Para ambos sistemas PCL-Ag y PCL-Mg el contenido de sal jugó un papel muy importante en el cambio de propiedades tanto estructural como de conducción iónica para la técnica de evaporación lenta de disolvente. Los resultados permitieron conocer la dinámica de estos sistemas aun no reportados en la literatura para posterior modificación con la técnica de electrohilado

Morfológicamente, al adicionar las sales en el polímero, la estabilidad del cono de Taylor se vio afectada y con ella los diámetros de las nanofibras obteniéndose diámetros de (~ 200nm) en comparación con el polímero puro (~98nm), esto fue para ambas sales en todas las concentraciones del estudio. Al aumentar la concentración de sales se generaron también cambios y defectos en el diámetro de las fibras (como fibras ramificadas y diámetros variables en una misma fibra). A nivel estructural, los andamios de PCL-Ag no presentaron disminución de los picos de intensidad (técnica XRD), mientras estos fueron reducidos significativamente en la evaporación lenta; indicando la no formación de complejos posiblemente por las fuerzas del campo eléctrico aplicado en la técnica de electrohilado. En cuanto a las propiedades mecánicas, estas se vieron afectadas por los cambios en la estructura cristalina y amorfa y por los defectos en las fibras. La concentración a

7% obtuvo las mejores propiedades mecánicas y la de 10% disminuyó su resistencia mecánica, pero obtuvo las mejores propiedades eléctricas. La morfología de los andamios PCL-Mg se vio afectada dada la propiedad higroscópica de esta sal y la no solubilidad del polímero en agua, que representó efectos relacionados con diámetros variables y huecos en fibras que finalmente perjudicaron las propiedades mecánicas de las membranas en comparación a las membranas obtenidas con el sistema PCL-Ag. En cuanto a las propiedades eléctricas para la sal Ag fue evidente la disminución de la conductividad ante el aumento de la concentración, esto asociado al impedimento de vibraciones de los iones y segmentos poliméricos por obstaculización de los mismos iones y por el diámetro de las fibras. La concentración a PCL-10Ag fue la que obtuvo mejores propiedades eléctricas asociadas a la disminución del grado de cristalinidad, tamaño de la fibra y cantidad de cargas móviles. Por otra parte, la concentración PCL-5Mg fue la que presentó mayor conductividad y mejores propiedades mecánicas en comparación a las demás concentraciones de Mg. Las diferentes muestras con nitrato de magnesio presentaron mejores propiedades eléctricas en comparación a la sal de plata y se cree que está relacionado con el tamaño pequeño de este ion en el que se le facilita la movilidad.

Entre la técnica de evaporación lenta de disolvente y la técnica de electrohilado se presentó una diferencia notoria en los resultados XRD con la aparición de un pico cerca de 2θ 19,5°, el cual se cree es debido al tiempo de evaporación que toma el disolvente en la primera técnica, permitiendo una reorganización de las cadenas poliméricas. En ambas técnicas la adición de nitrato de plata generó mayor disminución en la intensidad de los picos XRD asociada al tamaño de este ion en comparación a los iones de magnesio.

Finalmente, uno de los biomateriales más populares para el uso en ingeniería de tejidos óseos son los fosfatos de calcio, cuya principal ventaja es la composición fosfato-calcio muy cercana a la del hueso. Sin embargo, estos materiales han mostrado poca resistencia a la tracción y alta susceptibilidad a la fractura. Por el lado de los polímeros se han explorado materiales conductores tales como polipirrol, polianilina y politiofeno, los cuales presentan conductividades del orden de 200 a 10000 S/m (superiores a las obtenidas con los sistemas conductores iónicos propuestos en este estudio), pero con la desventaja de no biodegradabilidad (desventaja que no presentan los andamios aquí obtenidos debido al uso de la policaprolactona como polímero base). También han sido explorados diversos materiales poliméricos modificados, principalmente con nanotubos de carbono para uso en hueso, la adición de los nanotubos ha logrado mejorar no solo la conductividad del material sino también sus propiedades mecánicas. Sin embargo, la desventaja latente en estos materiales sigue siendo la posible toxicidad asociada a los nanotubos de carbono, aún explorada. En este trabajo se logró obtener diferentes sistemas poliméricos de conducción iónica, del mejor andamio construido (PCL-5Mg-EL) que tiene como ventajas una composición, aunque no similar al hueso, con contenido de iones de magnesio que juegan un papel importante en los procesos metabólicos del cuerpo; cuenta con una temperatura de reblandecimiento superior a la temperatura corporal y en su morfología presenta la ventaja de su porosidad para el intercambio de nutrientes; en cuanto a las propiedades mecánicas estas se encontraron similares a las del hueso trabecular y las propiedades eléctricas fueron similares a las del hueso trabecular y cortical, adicionalmente no presentó señales de citotoxicidad.

6. ANEXOS

ANEXO 1: Propiedades térmicas de las diferentes muestras obtenidas a partir del software Universal Analysis V4.1

PCL-SC

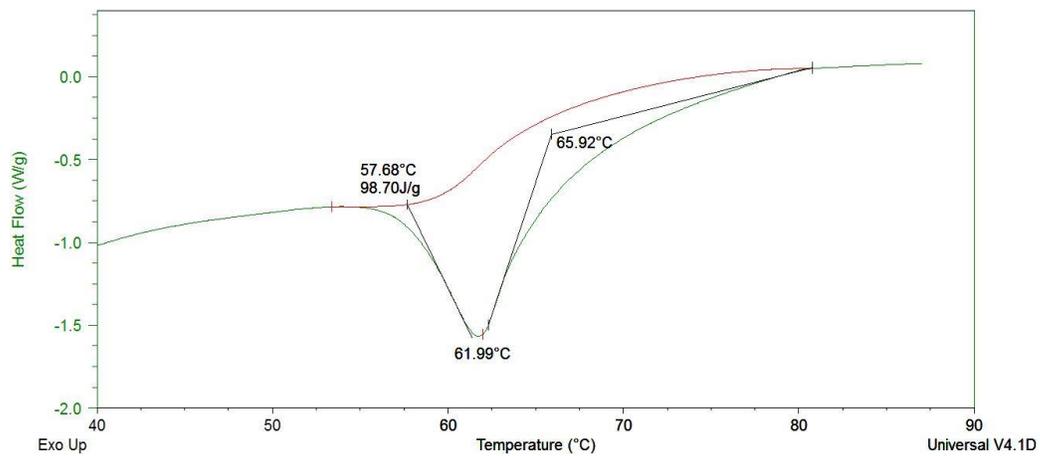


Figura 6.1. Propiedades térmicas de la muestra PCL-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

PCL-Ag-SC

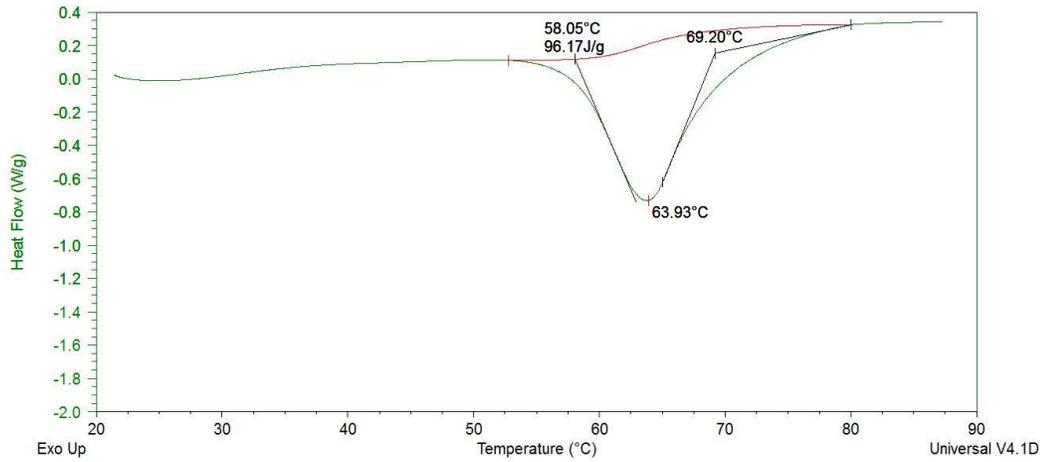


Figura 6.2. Propiedades térmicas de la muestra PCL-5Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

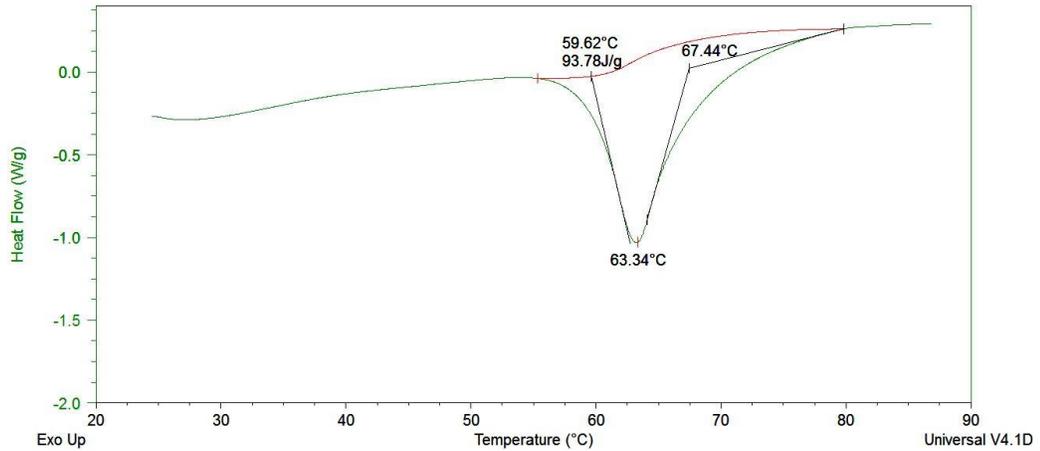


Figura 6.3. Propiedades térmicas de la muestra PCL-7Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

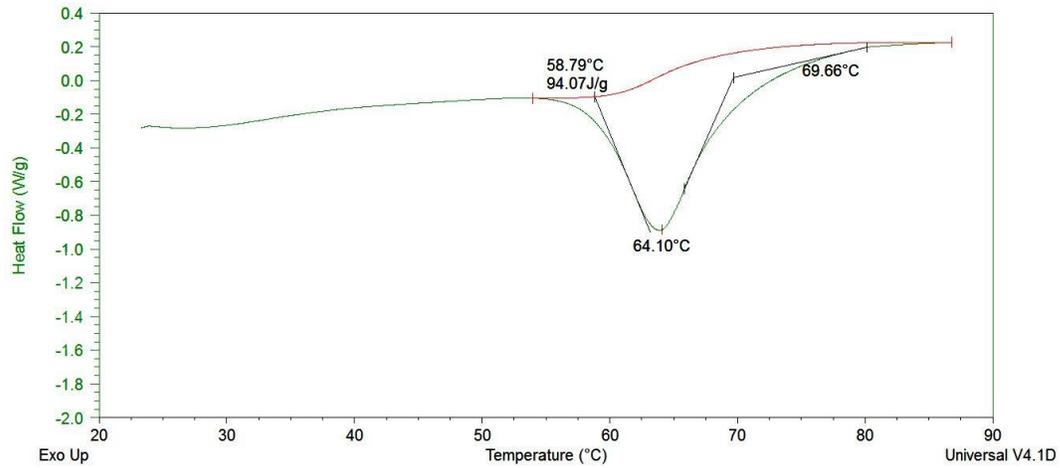


Figura 6.4. Propiedades térmicas de la muestra PCL-10Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

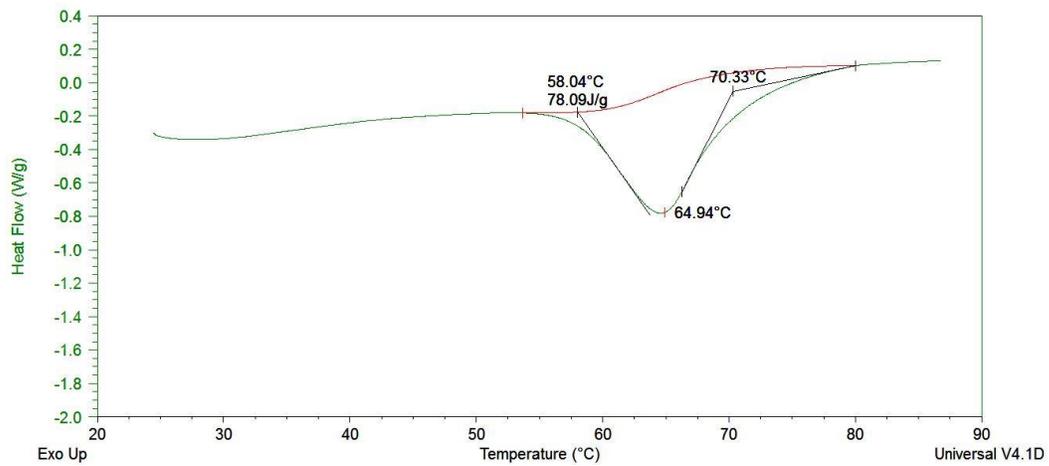


Figura 6.5. Propiedades térmicas de la muestra PCL-14Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

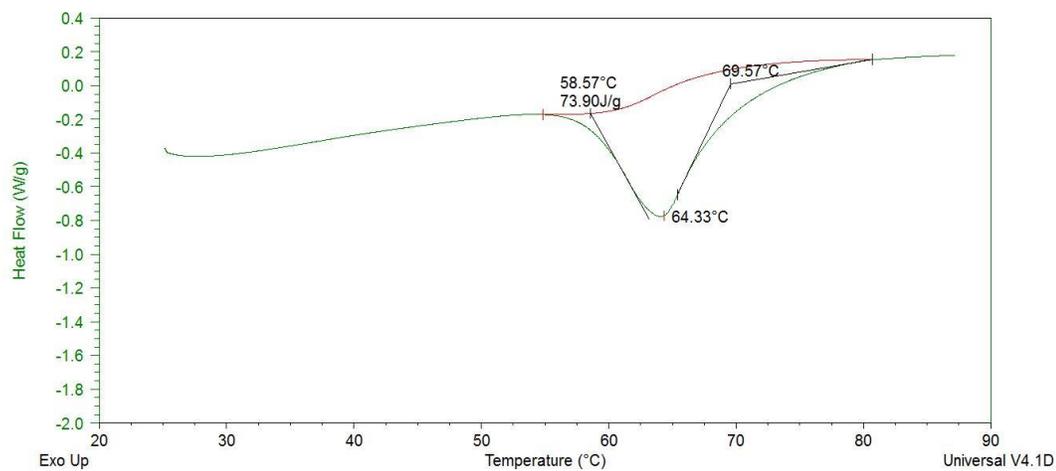


Figura 6.6. Propiedades térmicas de la muestra PCL-20Ag-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

PCL-Mg-SC

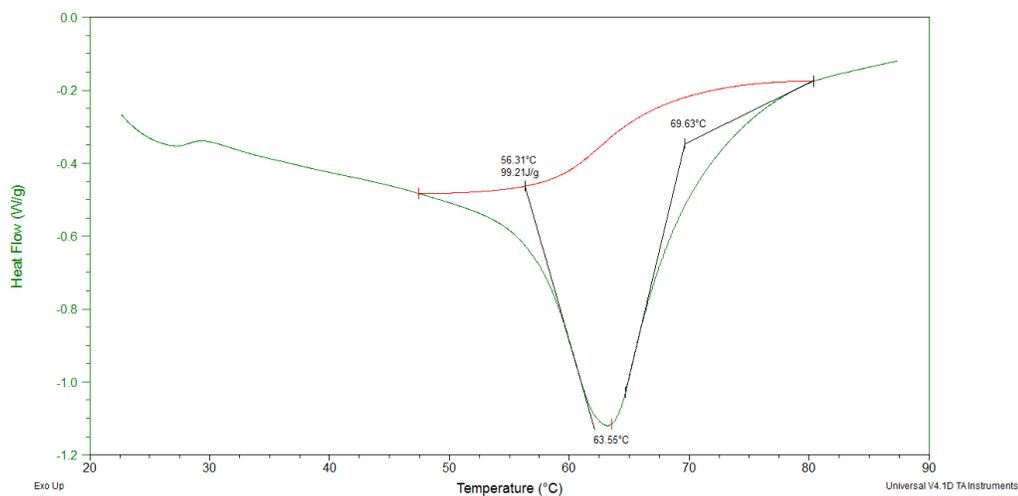


Figura 6.7. Propiedades térmicas de la muestra PCL-5Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

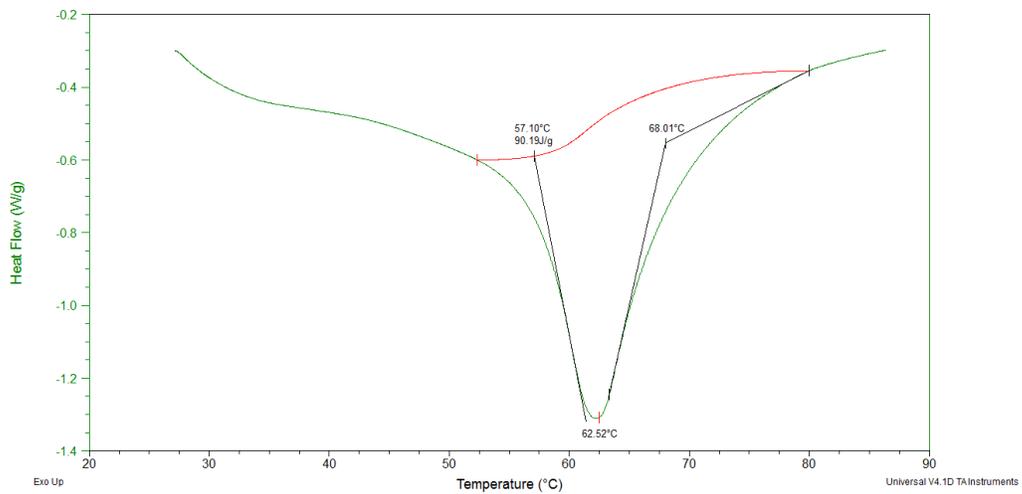


Figura 6.8. Propiedades térmicas de la muestra PCL-7Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

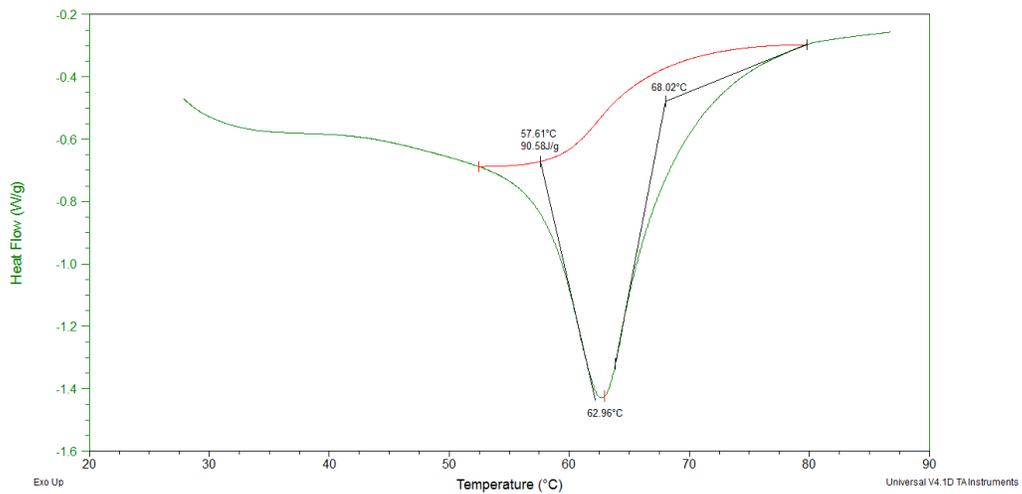


Figura 6.9. Propiedades térmicas de la muestra PCL-10Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

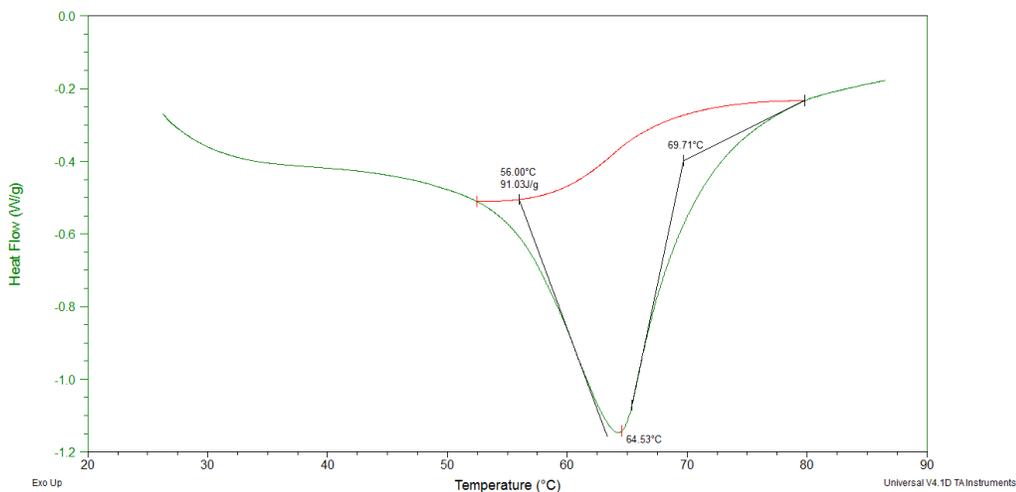


Figura 6.10. Propiedades térmicas de la muestra PCL-14Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

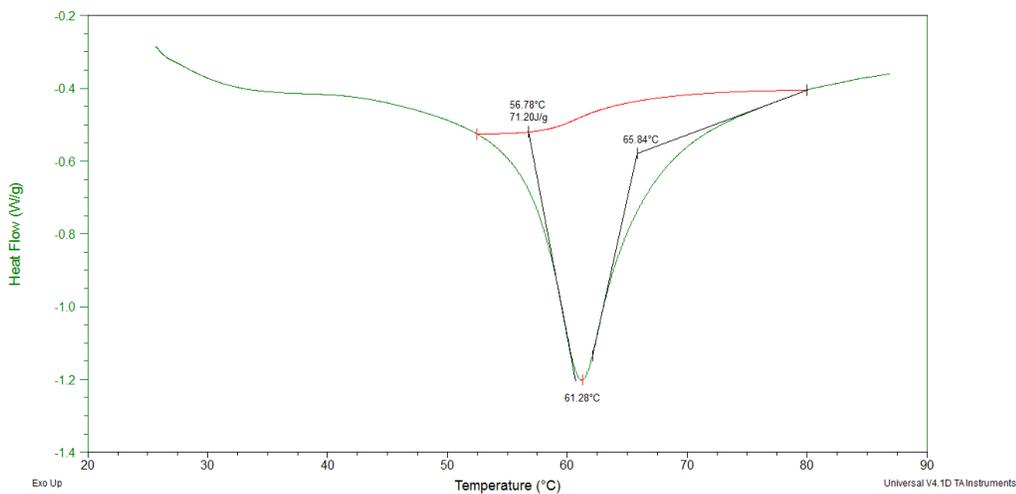


Figura 6.11. Propiedades térmicas de la muestra PCL-20Mg-SC obtenidas a partir del software Universal Analysis

PCL-EL

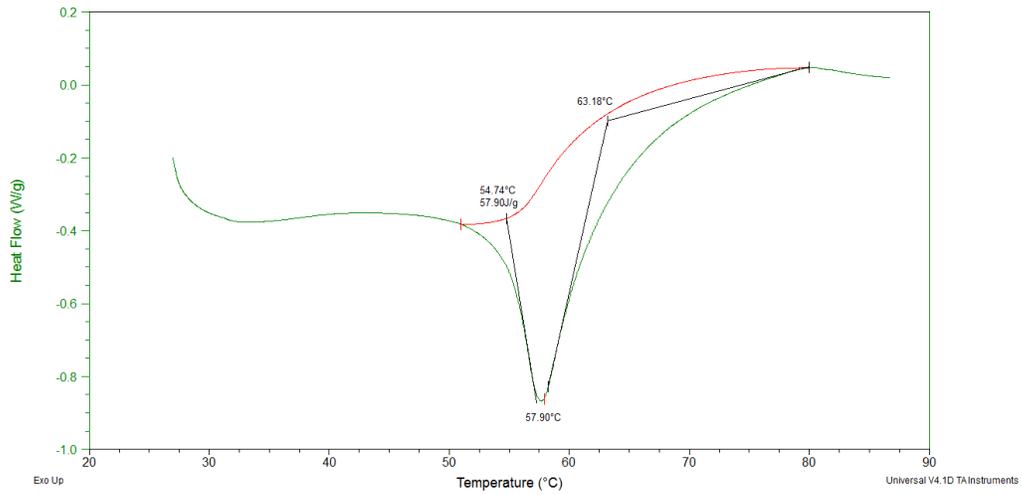


Figura 6.12. Propiedades térmicas de la muestra PCL-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

PCL-Ag-EL

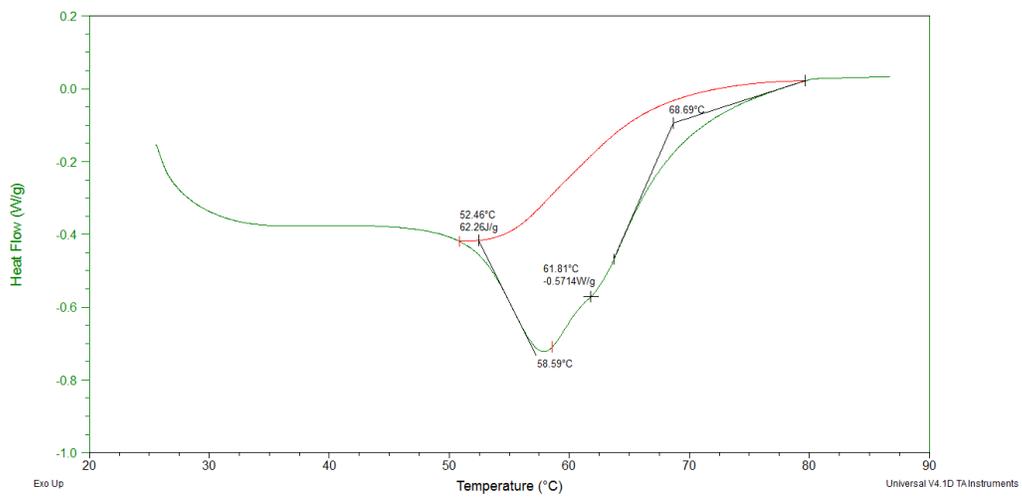


Figura 6.13. Propiedades térmicas de la muestra PCL-5Ag-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

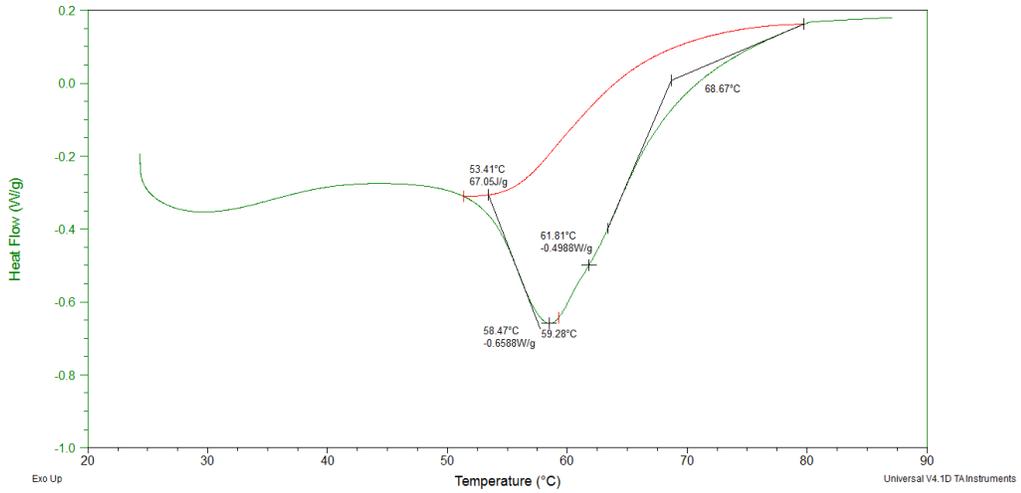


Figura 6.14. Propiedades térmicas de la muestra PCL-7Ag-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

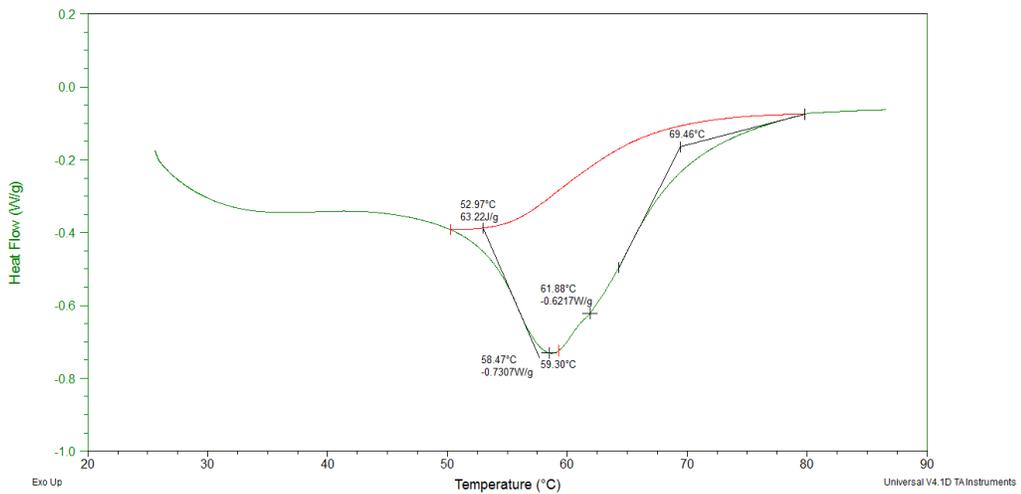


Figura 6.15. Propiedades térmicas de la muestra PCL-10Ag-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

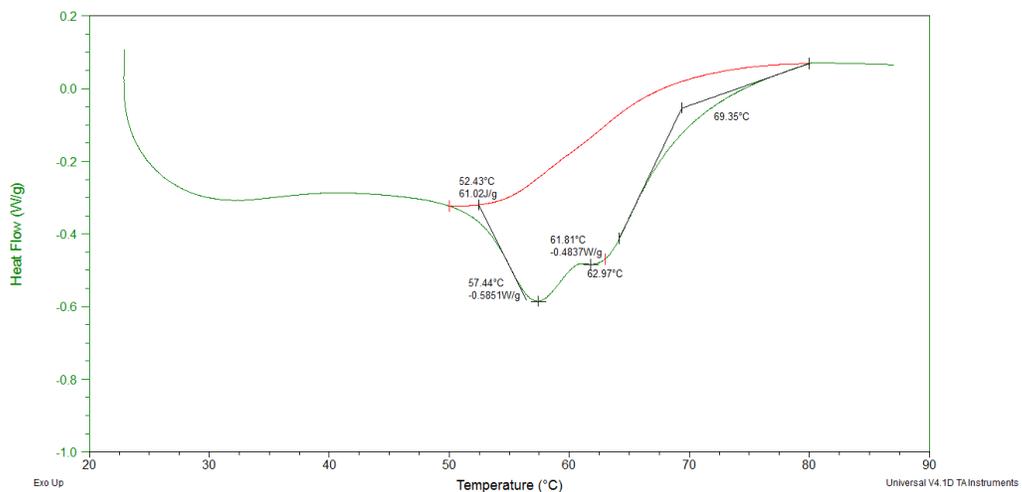


Figura 6.16. Propiedades térmicas de la muestra PCL-14Ag-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

PCL-Mg-EL

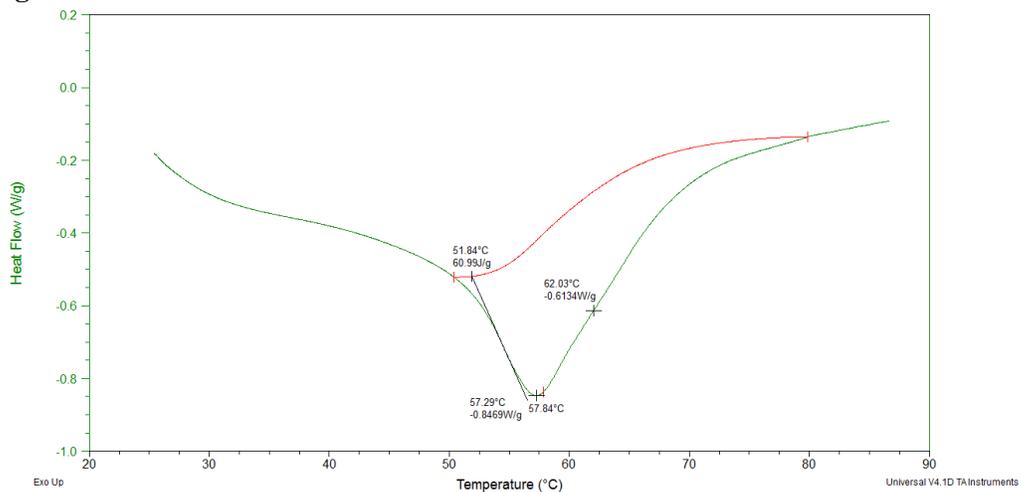


Figura 6.17. Propiedades térmicas de la muestra PCL-5Mg-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

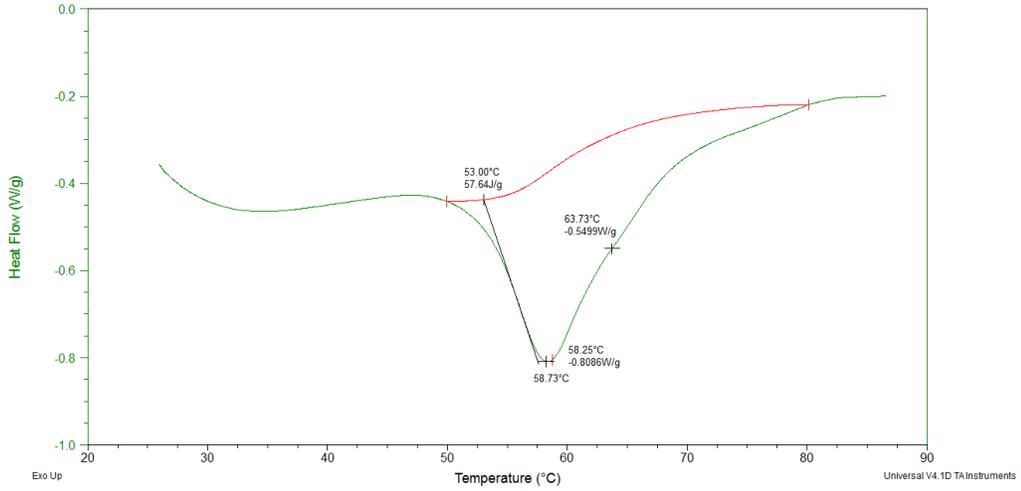


Figura 6.18. Propiedades térmicas de la muestra PCL-7Mg-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

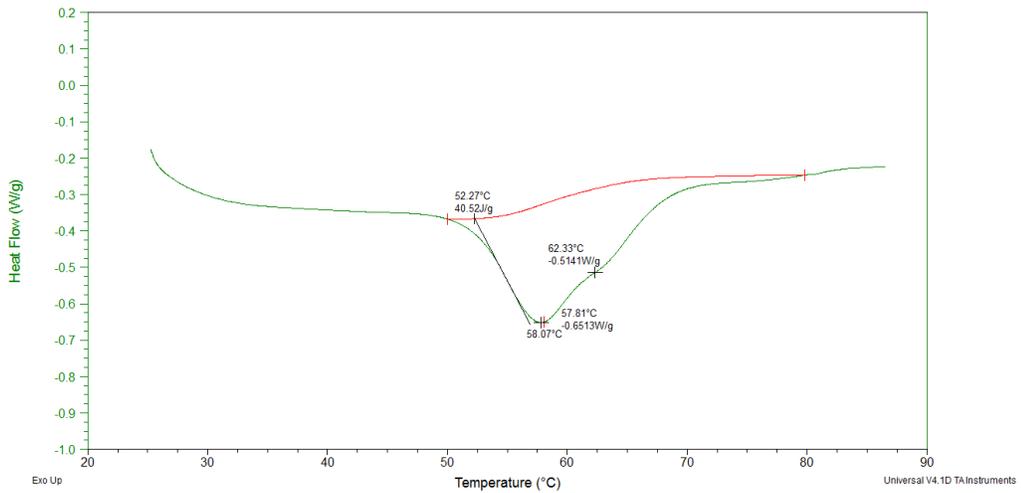


Figura 6.19. Propiedades térmicas de la muestra PCL-10Mg-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

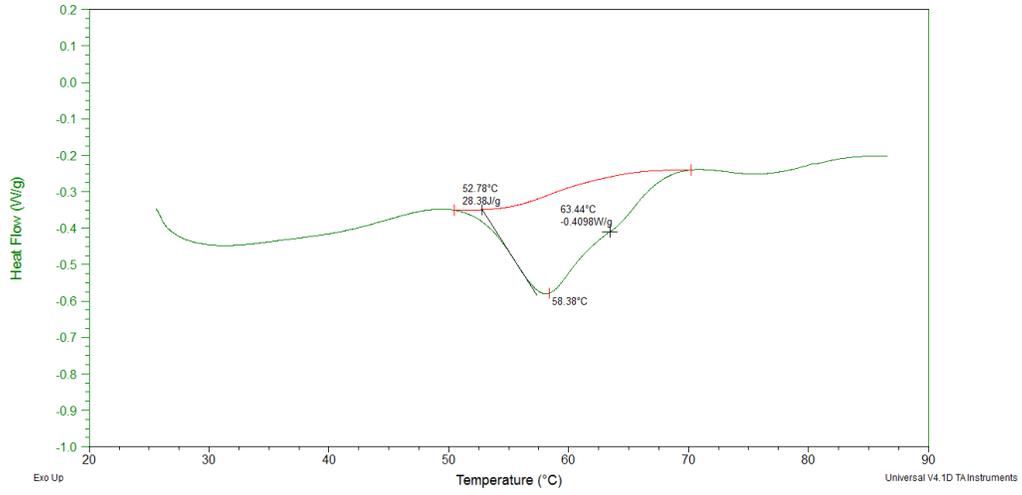


Figura 6.20. Propiedades térmicas de la muestra PCL-14Mg-EL obtenidas a partir del software Universal Analysis

ANEXO 2: Ajustes de los resultados de impedancia a los circuitos equivalentes para todos los sistemas evaluados

PCL-Ag-SC

Tabla 6.1. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-5Ag-SC

PCL-5Ag-SC						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi- cuadrado (X ²) [-]
24	15807	1,1432x10 ⁻¹⁰	317810	1,852 x10 ⁻¹⁰	0,85117	0,00324
27	5068	1,2512x10 ⁻¹⁰	121660	1,9761x10 ⁻¹⁰	0,90037	0,00794
30	3216	7,9469x10 ⁻¹¹	81360	2,258x10 ⁻¹⁰	0,83494	0,00084
33	1848	1,5982x10 ⁻¹⁰	18712	1,7818x10 ⁻¹⁰	0,9036	0,0018
36	1280	9,5886x10 ⁻¹¹	16589	2,0352x10 ⁻⁹	0,73257	0,00046
39	556,9	2,0868 x10 ⁻¹⁰	7629	4,0191x10 ⁻⁹	0,73751	0,00074
42	931,6	7,5598x10 ⁻¹¹	7294	7,6368x10 ⁻⁹	0,68681	0,00195
45	652,6	1,1557 x10 ⁻¹⁰	5809	4,3027 x10 ⁻⁹	0,73425	0,00097
48	821	8,9994 x10 ⁻¹¹	7253	2,9831 x10 ⁻⁹	0,74054	0,00143

Tabla 6.2. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-7Ag-SC

PCL-7Ag-SC						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi- cuadrado (X ²) [-]
24	2696	5,3535 x10 ⁻¹¹	33933	4,3769 x10 ⁻¹⁰	0,79454	0,00031
27	2097	7,2142 x10 ⁻¹¹	25885	5,9275 x10 ⁻¹⁰	0,79171	0,00719
30	1372	4,9919 x10 ⁻¹¹	12741	3,7595 x10 ⁻¹⁰	0,80941	0,00061
33	1070	6,5899 x10 ⁻¹¹	9714	5,2956 x10 ⁻¹⁰	0,80567	0,00052
36	731,2	6,9024 x10 ⁻¹¹	7162	8,5005 x10 ⁻¹⁰	0,79053	0,000584
39	1538	7,5988 x10 ⁻¹¹	6772	4,9566 x10 ⁻⁸	0,5638	0,00056
42	1112	6,9863 x10 ⁻¹¹	4805	4,291 x10 ⁻⁸	0,5957	0,00128
45	750,6	1,0344 x10 ⁻¹⁰	3245	6,3317 x10 ⁻⁸	0,59584	0,00127
48	1476	4,2205 x10 ⁻¹⁰	3527	4,5368 x10 ⁻⁹	0,75886	0,00360

Tabla 6.3. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-10Ag-SC

PCL-10Ag-SC						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi- cuadrado (X ²) [-]
24	2453	4,0556 x10 ⁻¹¹	21539	2,5846 x10 ⁻¹⁰	0,83437	0,000149
27	1712	5,8122 x10 ⁻¹¹	15030	3,7032 x10 ⁻¹⁰	0,83438	0,000149
30	805,4	1,4393 x10 ⁻¹⁰	7969	1,2156 x10 ⁻⁹	0,76639	0,001621
33	580,4	1,963 x10 ⁻¹⁰	5890	1,6119 x10 ⁻⁹	0,76757	0,001883
36	527,1	9,867 x10 ⁻¹¹	5569	1,527 x10 ⁻⁹	0,75671	0,000182
39	497,8	9,130 x10 ⁻¹¹	5535	1,1917 x10 ⁻⁹	0,77091	0,000263
42	721,6	6,0472 x10 ⁻¹¹	4860	1,15 x10 ⁻⁹	0,78151	0,000752

45	498,5	$9,1615 \times 10^{-11}$	3392	$1,9475 \times 10^{-9}$	0,77221	0,000631
48	866,8	$6,4375 \times 10^{-11}$	4341	$7,1762 \times 10^{-8}$	0,57058	0,000653

Tabla 6.4. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-14Ag-SC

PCL-14Ag-SC						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	1257	$1,3297 \times 10^{-10}$	18097	$9,4843 \times 10^{-10}$	0,75932	0,000250
27	816,6	$2,2677 \times 10^{-10}$	9245	$2,1076 \times 10^{-9}$	0,75203	0,000369
30	534,6	$3,0354 \times 10^{-10}$	5882	$5,8794 \times 10^{-9}$	0,71799	0,000443
33	508,1	$3,5752 \times 10^{-10}$	4194	$1,0596 \times 10^{-8}$	0,70392	0,0009683
36	360,3	$9,7623 \times 10^{-11}$	3799	$2,905 \times 10^{-9}$	0,73042	0,0005424
39	235,4	$1,615 \times 10^{-10}$	2528	$5,0582 \times 10^{-9}$	0,72186	0,0004632
42	226,3	$2,0356 \times 10^{-9}$	2517	$5,198 \times 10^{-9}$	0,72636	0,0026894
45	180,8	$2,5462 \times 10^{-9}$	2009	$6,5136 \times 10^{-9}$	0,72634	0,0026903
48	-	-	-	-	-	-

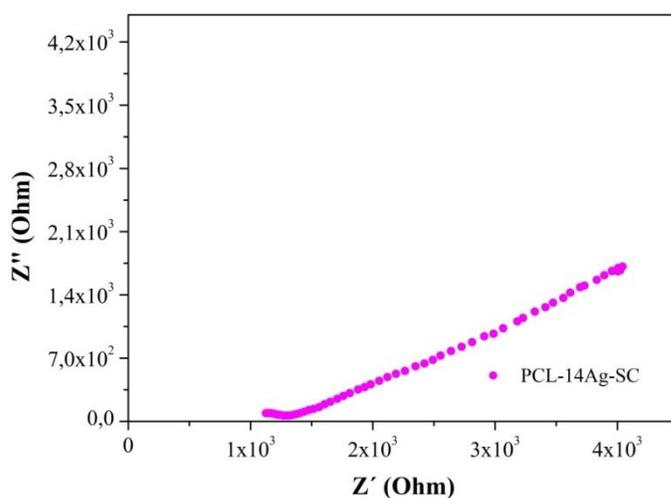


Figura 6.21. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-14Ag-SC a 48°C. (Sin la formación de semicírculo)

Tabla 6.5. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-20Ag-SC

PCL-20Ag-SC						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	535,9	$1,3192 \times 10^{-10}$	3416	$2,0862 \times 10^{-9}$	0,74352	0,0000461
27	277,6	$2,5389 \times 10^{-10}$	1773	$4,009 \times 10^{-9}$	0,7437	0,000046
30	133,9	$4,2106 \times 10^{-8}$	1531	$1,8245 \times 10^{-8}$	0,6407	0,000309
33	90,9	$6,1329 \times 10^{-10}$	1091	$2,472 \times 10^{-8}$	0,6274	0,0003094
36	174,5	$3,3894 \times 10^{-10}$	1110	$6,066 \times 10^{-8}$	0,59204	0,000494
39	176	$3,3635 \times 10^{-10}$	1117	$6,0786 \times 10^{-8}$	0,59159	0,000488
42	203,5	$2,9606 \times 10^{-10}$	981,6	$8,798 \times 10^{-8}$	0,59373	0,0005005

45	209,5	$2,7239 \times 10^{-10}$	983,4	$8,382 \times 10^{-8}$	0,59841	0,000642
48	-	-	-	-	-	-

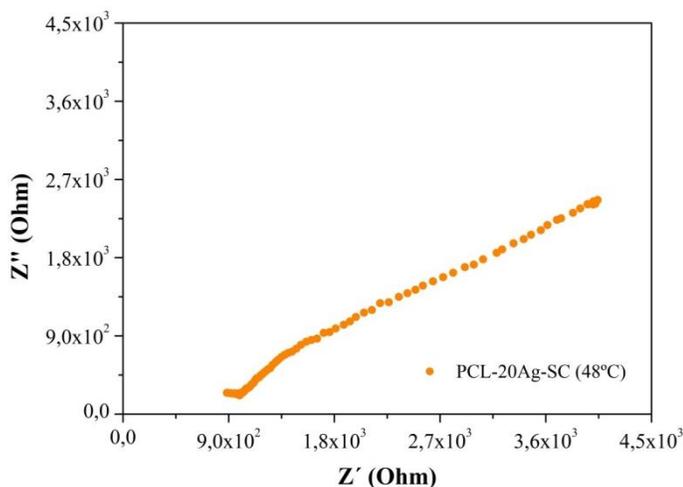


Figura 6.22. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-20Ag-SC a 48°C. (Sin la formación de semicírculo)

PCL-Mg-SC

Tabla 6.6. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-5Mg-SC

PCL-5Mg-SC						
Temperatura [°C]	R- Mg^{+2} [Ohm]	C [F]	R- NO_3^- [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X^2) [-]
24	2005	$5,5916 \times 10^{-11}$	2501	$1,9829 \times 10^{-8}$	0,63293	0,001153
27	729,6	$3,3726 \times 10^{-10}$	2198	$1,1192 \times 10^{-8}$	0,72645	0,003575
30	614,2	$1,8974 \times 10^{-10}$	1216	$3,9048 \times 10^{-8}$	0,64778	0,001329
33	638,8	$1,7512 \times 10^{-10}$	1145	$9,6535 \times 10^{-8}$	0,59364	0,001453
36	249,9	$9,3056 \times 10^{-11}$	782,9	$1,6608 \times 10^{-10}$	1	0,006385
39	556,7	$1,1378 \times 10^{-10}$	1174	$3,2318 \times 10^{-10}$	1	0,009849
42	514,3	$1,512 \times 10^{-10}$	2033	$1,901 \times 10^{-10}$	1	0,006149
45	678,3	$9,7058 \times 10^{-11}$	1847	$2,0755 \times 10^{-10}$	1	0,0077601
48	613,5	$1,2948 \times 10^{-10}$	1723	$2,2114 \times 10^{-10}$	1	0,005767

Tabla 6.7. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-7Mg-SC

PCL-7Mg-SC						
Temperatura [°C]	R- Mg^{+2} [Ohm]	C [F]	R- NO_3^- [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X^2) [-]
24	884,8	$1,8114 \times 10^{-10}$	1339	$4,8228 \times 10^{-8}$	0,60693	0,001246
27	649,4	$2,2926 \times 10^{-10}$	1088	$3,7524 \times 10^{-8}$	0,62678	0,000813
30	733,4	$1,3253 \times 10^{-10}$	598	$1,6911 \times 10^{-6}$	0,47228	0,0011694
33	433,7	$2,2687 \times 10^{-10}$	387,8	$2,8066 \times 10^{-6}$	0,45358	0,0016721
36	203,6	$7,4278 \times 10^{-11}$	333,6	$2,2623 \times 10^{-10}$	1	0,001039

39	285	$2,1342 \times 10^{-10}$	574,2	$3,6272 \times 10^{-10}$	1	0,001238
42	292,3	$1,6579 \times 10^{-10}$	774,6	$2,8742 \times 10^{-10}$	1	0,006807
45	318,5	$1,5216 \times 10^{-10}$	843,6	$2,6394 \times 10^{-10}$	1	0,006786
48	298	$1,476 \times 10^{-10}$	806,8	$2,3985 \times 10^{-10}$	1	0,005677

Tabla 6.8. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-10Mg-SC

PCL-10Mg-SC						
Temperatura [°C]	R- Mg ⁺² [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	491,4	$1,9155 \times 10^{-10}$	577,7	$2,4099 \times 10^{-7}$	0,56775	0,0009939
27	271,3	$4,129 \times 10^{-10}$	436,3	$1,0455 \times 10^{-6}$	0,4734	0,002559
30	204,1	$6,7823 \times 10^{-11}$	240,3	$4,2456 \times 10^{-10}$	1	0,002743
33	128,1	$7,857 \times 10^{-10}$	178,3	$7,7883 \times 10^{-11}$	1	0,002152
36	122,1	$7,7696 \times 10^{-11}$	169,3	$5,0101 \times 10^{-10}$	1	0,004387
39	181,5	$2,724 \times 10^{-10}$	404,9	$4,9996 \times 10^{-10}$	1	0,003312
42	214,9	$1,9269 \times 10^{-10}$	614,2	$3,0882 \times 10^{-10}$	1	0,005877
45	237,7	$1,4731 \times 10^{-10}$	586,2	$3,2858 \times 10^{-10}$	1	0,006481
48	332,2	$1,4233 \times 10^{-10}$	670,8	$3,4532 \times 10^{-10}$	1	0,008012

Tabla 6.9. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-14Mg-SC

PCL-14Mg-SC						
Temperatura [°C]	R- Mg ⁺² [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	56,02	$8,6122 \times 10^{-9}$	365,4	$2,3334 \times 10^{-7}$	0,64548	0,001349
27	48,89	$4,2436 \times 10^{-9}$	288,3	$9,8983 \times 10^{-8}$	0,70818	0,0032852
30	47,12	$2,4559 \times 10^{-9}$	257,7	$8,5103 \times 10^{-8}$	0,6708	0,0021992
33	36,88	$3,2929 \times 10^{-9}$	233,7	$8,4292 \times 10^{-8}$	0,70105	0,0037615
36	19,84	$3,8482 \times 10^{-9}$	206,2	$3,7316 \times 10^{-7}$	0,61849	0,0013031
39	58,94	$2,8042 \times 10^{-9}$	322,1	$1,044 \times 10^{-7}$	0,69691	0,003062
42	94,06	$3,631 \times 10^{-10}$	257	$7,7651 \times 10^{-10}$	1	0,0062988
45	103	$5,8816 \times 10^{-10}$	346,9	$9,0958 \times 10^{-10}$	1	0,0078232
48	156,8	$4,673 \times 10^{-10}$	396,3	$9,641 \times 10^{-10}$	1	0,0072476

Tabla 6.10. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-20Mg-SC

PCL-20Mg-SC						
Temperatura [°C]	R- Mg ⁺² [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	64,23	$1,155 \times 10^{-9}$	131,9	$4,8568 \times 10^{-11}$	1	0,00079043
27	41,63	$1,9767 \times 10^{-9}$	83,09	$5,6956 \times 10^{-11}$	1	0,0014972
30	21,69	$4,988 \times 10^{-9}$	82,58	$5,4505 \times 10^{-11}$	1	0,0027987
33	19,26	$4,8638 \times 10^{-9}$	92,57	$5,8466 \times 10^{-11}$	1	0,00056757
36	14,67	$4,667 \times 10^{-9}$	59,34	$2,3572 \times 10^{-11}$	1	0,0010034
39	53,3	$1,246 \times 10^{-9}$	82,46	$1,3619 \times 10^{-10}$	1	0,00091715
42	79,49	$3,2623 \times 10^{-11}$	123,4	$3,5593 \times 10^{-10}$	1	0,00046566

45	107,5	$1,4998 \times 10^{-10}$	144,3	$5,1068 \times 10^{-10}$	1	0,001123
48	84,98	$8,7091 \times 10^{-10}$	212,1	$1,8298 \times 10^{-9}$	1	0,0071545

PCL-Ag-EL

Tabla 6.11. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-5Ag-EL

PCL-5Ag-EL						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	3751	$1,2908 \times 10^{-10}$	24892	$6,167 \times 10^{-10}$	0,8265	0,00064769
27	2438	$1,985 \times 10^{-10}$	16206	$9,4659 \times 10^{-10}$	0,82653	0,00064848
30	2685	$5,8171 \times 10^{-11}$	10193	$1,1523 \times 10^{-9}$	0,77653	0,0016824
33	2127	$7,168 \times 10^{-11}$	8603	$1,3126 \times 10^{-9}$	0,77951	0,0013162
36	1801	$7,6446 \times 10^{-11}$	9196	$6,6815 \times 10^{-10}$	0,81909	0,0012176
39	1174	$1,2152 \times 10^{-10}$	5590	$1,1633 \times 10^{-9}$	0,81534	0,0015753
42	1151	$1,3445 \times 10^{-10}$	4627	$1,6395 \times 10^{-9}$	0,80538	0,0029546
45	1882	$7,4913 \times 10^{-11}$	9186	$6,9251 \times 10^{-10}$	0,81675	0,0014472
48	4639	$3,2202 \times 10^{-11}$	20110	$3,5096 \times 10^{-10}$	0,81	0,0022499

Tabla 6.12. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-7Ag-EL

PCL-7Ag-EL						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	260500	$3,1033 \times 10^{-11}$	633240	$7,3045 \times 10^{-11}$	0,95511	0,0097172
27	102740	$7,2602 \times 10^{-11}$	336940	$9,743 \times 10^{-11}$	0,96414	0,010067
30	20225	$1,6828 \times 10^{-10}$	241640	$7,2712 \times 10^{-11}$	0,95917	0,0067208
33	12699	$2,9289 \times 10^{-10}$	121800	$1,5197 \times 10^{-10}$	0,95771	0,005771
36	7001	$9,0676 \times 10^{-11}$	46494	$3,466 \times 10^{-10}$	0,86679	0,0031473
39	4704	$1,3191 \times 10^{-10}$	32517	$4,805 \times 10^{-10}$	0,86872	0,0028212
42	3689	$6,2621 \times 10^{-11}$	24108	$1,3294 \times 10^{-10}$	0,8967	0,003777
45	12536	$1,777 \times 10^{-11}$	87994	$3,4274 \times 10^{-11}$	0,89964	0,0040347
48	18363	$1,213 \times 10^{-11}$	128930	$2,3391 \times 10^{-11}$	0,8945	0,004047

Tabla 6.13. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-10Ag-EL

PCL-10Ag-EL						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	812,7	$1,0839 \times 10^{-10}$	1534	$1,3965 \times 10^{-7}$	0,55426	0,0005259
27	481,8	$1,8195 \times 10^{-10}$	974,2	$1,6607 \times 10^{-7}$	0,57011	0,0003836
30	427,3	$2,4745 \times 10^{-10}$	768,7	$2,9315 \times 10^{-7}$	0,56878	0,0030913
33	334,9	$3,1755 \times 10^{-10}$	582,7	$3,1236 \times 10^{-7}$	0,47779	0,0031409
36	233,7	$2,6167 \times 10^{-10}$	747,3	$1,7253 \times 10^{-8}$	0,73407	0,0005402
39	213,1	$2,8582 \times 10^{-10}$	677,7	$1,8826 \times 10^{-8}$	0,73487	0,00053751
42	655,5	$7,6823 \times 10^{-11}$	1019	$2,4643 \times 10^{-6}$	0,42229	0,0012299

45	2129	$2,4043 \times 10^{-11}$	2496	$8,2126 \times 10^{-7}$	0,42188	0,0024187
48	2985	$1,7163 \times 10^{-11}$	3872	$8,3039 \times 10^{-7}$	0,40329	0,0020902

Tabla 6.14. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-14Ag-EL

PCL-14Ag-EL						
Temperatura [°C]	R- Ag ⁺ [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	2415	$2,3464 \times 10^{-10}$	15662	$5,5344 \times 10^{-10}$	0,86297	0,0039446
27	1677	$3,3672 \times 10^{-10}$	10981	$7,8602 \times 10^{-10}$	0,86322	0,0039489
30	1881	$1,3147 \times 10^{-10}$	8603	$2,3831 \times 10^{-9}$	0,76966	0,0056479
33	833,7	$2,6727 \times 10^{-10}$	4856	$3,5095 \times 10^{-9}$	0,78209	0,0031534
36	829,6	$3,2007 \times 10^{-10}$	4630	$3,9543 \times 10^{-9}$	0,80502	0,0048024
39	535,5	$4,9541 \times 10^{-10}$	2991	$6,1181 \times 10^{-9}$	0,80504	0,0048099
42	1017	$3,386 \times 10^{-10}$	17084	$3,3395 \times 10^{-10}$	0,91994	0,0039139
45	1943	$1,8127 \times 10^{-10}$	31778	$1,8451 \times 10^{-10}$	0,91914	0,0036329
48	1870	$1,8416 \times 10^{-10}$	31436	$1,8161 \times 10^{-10}$	0,91989	0,0039167

PCL-Mg-EL

Tabla 6.15. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-5Mg-EL

PCL-5Mg-EL						
Temperatura [°C]	R- Mg ⁺² [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	1262	$1,0423 \times 10^{-10}$	4403	$7,9149 \times 10^{-6}$	0,40446	0,0024184
27	621,17	$1,0535 \times 10^{-10}$	3575	$1,6247 \times 10^{-6}$	0,42865	0,0023834
30	205	$3,320 \times 10^{-10}$	1153	$1,812 \times 10^{-6}$	0,58028	0,0029186
33	194,6	$4,6557 \times 10^{-10}$	556,8	$4,7938 \times 10^{-6}$	0,54279	0,00088874
36	89,5	$4,1265 \times 10^{-10}$	209,6	$1,6695 \times 10^{-6}$	0,50504	0,001758
39	53,86	$9,4004 \times 10^{-10}$	111,3	$3,2612 \times 10^{-6}$	0,6844	0,0010606
42	16,55	$2,9138 \times 10^{-9}$	50,55	$2,450 \times 10^{-7}$	0,51211	0,00080214
45	110,9	$3,984 \times 10^{-10}$	290,3	$1,0126 \times 10^{-7}$	0,7911	0,0016194
48	126,2	$6,348 \times 10^{-9}$	594,9	$1,2105 \times 10^{-7}$	0,81958	0,00054074

Tabla 6.16. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-7Mg-EL

PCL-7Mg-EL						
Temperatura [°C]	R- Mg ⁺² [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X ²) [-]
24	1877	$8,349 \times 10^{-11}$	4535	$2,302 \times 10^{-9}$	0,79094	0,0020024
27	887	$2,7078 \times 10^{-10}$	2515	$4,0706 \times 10^{-9}$	0,78258	0,015691
30	406,5	$2,6847 \times 10^{-10}$	773,4	$3,6118 \times 10^{-6}$	0,4133	0,0013655
33	194,4	$1,9687 \times 10^{-9}$	513,4	$2,425 \times 10^{-8}$	0,84958	0,0050052
36	137,6	$3,4332 \times 10^{-10}$	314,9	$3,937 \times 10^{-7}$	0,5489	0,001849
39	-	-	-	-	-	-

42	-	-	-	-	-	-
45	222,9	$4,0889 \times 10^{-10}$	413,4	$4,4441 \times 10^{-7}$	0,60717	0,60717
48	792,3	$1,4457 \times 10^{-10}$	1887	$5,480 \times 10^{-8}$	0,65969	0,0013144

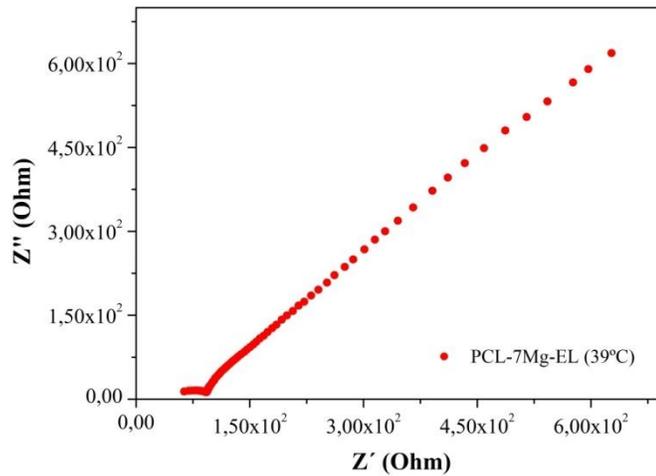


Figura 6.23. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-7Mg-EL a 39°C. (Sin la formación de semicírculo)

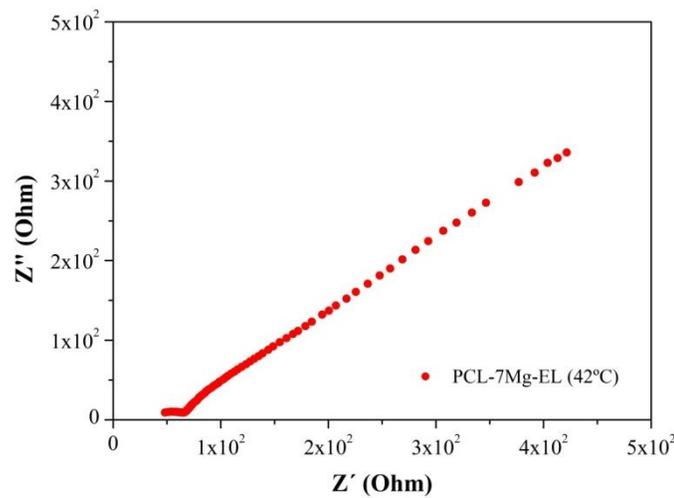


Figura 6.24. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-7Mg-EL a 42°C. (Sin la formación de semicírculo)

Tabla 6.17. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-10Mg-EL

PCL-10Mg-EL						
Temperatura [°C]	R- Mg^{+2} [Ohm]	C [F]	R- NO_3^- [Ohm]	CPE [F]	n	Chi-cuadrado (X^2) [-]
24	48157	$3,0211 \times 10^{-12}$	48096	$2,9924 \times 10^{-10}$	0,75162	0,0006566
27	10278	$9,7477 \times 10^{-12}$	26926	$4,243 \times 10^{-11}$	0,8933	0,00019926
30	2020	$2,8275 \times 10^{-10}$	5089	$4,5945 \times 10^{-7}$	0,52792	0,0020433
33	1137	$1,3162 \times 10^{-10}$	2238	$1,7072 \times 10^{-8}$	0,72998	0,0012047

36	425,9	$3,5943 \times 10^{-10}$	796,2	$6,5779 \times 10^{-8}$	0,71374	0,0012884
39	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-	-

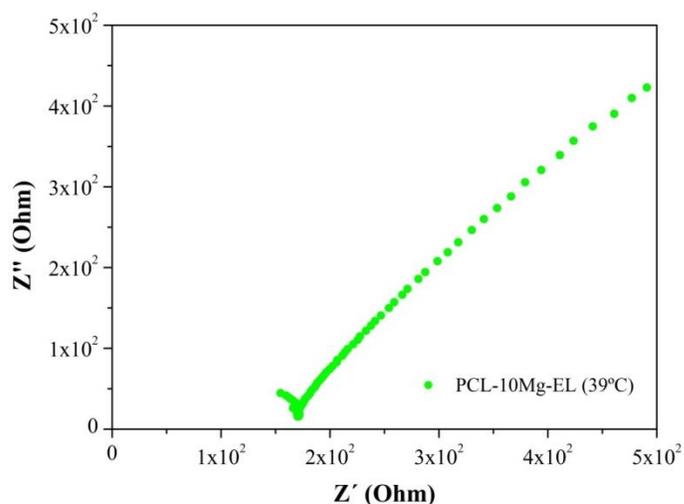


Figura 6.25. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-10Mg-EL a 39°C. (Sin la formación de semicírculo)

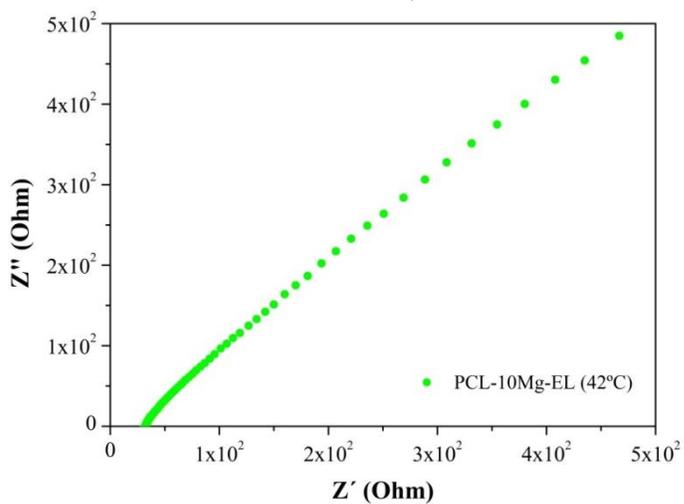


Figura 6.26. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-10Mg-EL a 42°C. (Sin la formación de semicírculo)

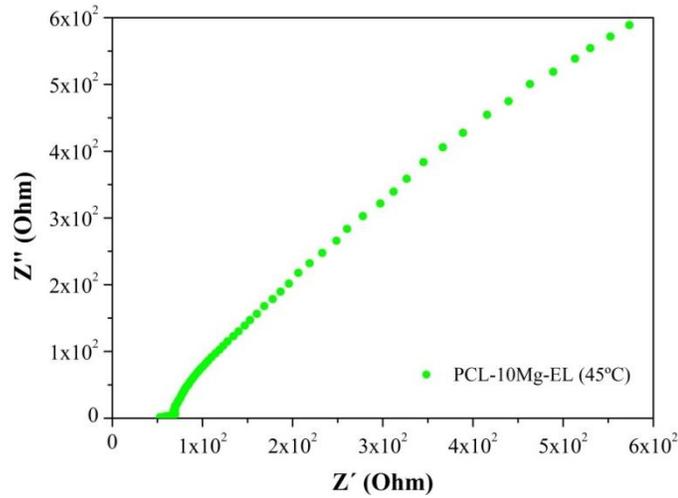


Figura 6.27. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-10Mg-EL a 45°C. (Sin la formación de semicírculo)

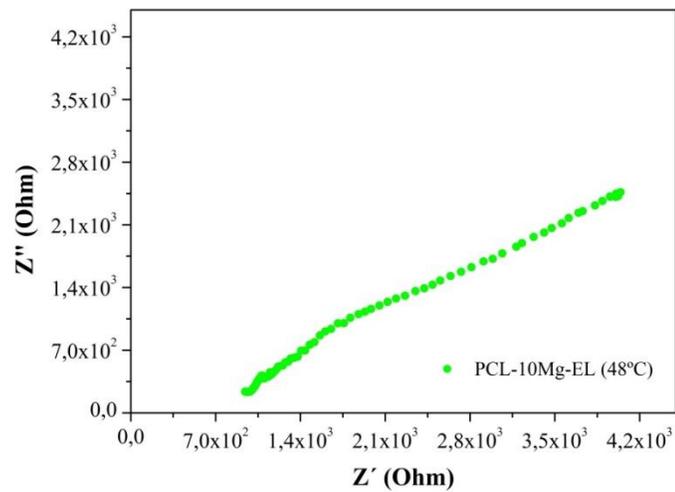


Figura 6.28. Grafica Z' vs Z'' para la muestra PCL-10Mg-EL a 48°C. (Sin la formación de semicírculo)

Tabla 6.18. Parámetros de los circuitos equivalentes de la muestra PCL-14Mg-EL

PCL-14Mg-EL						
Temperatura [°C]	R- Mg ⁺² [Ohm]	C [F]	R- NO ₃ ⁻ [Ohm]	CPE [F]	n	Chi- cuadrado (X ²) [-]
24	17145	1,8912 x10 ⁻¹⁰	98422	2,201 x10 ⁻¹⁰	0,88075	0,0043472
27	9020	2,1539 x10 ⁻⁹	26396	6,644 x10 ⁻⁹	0,74098	0,0054212
30	3083	6,054 x10 ⁻¹¹	7069	4,1529 x10 ⁻⁷	0,43581	0,00042901
33	3685	2,9129 x10 ⁻¹¹	6637	1,5649 x10 ⁻⁷	0,49581	0,00118
36	2638	4,0629 x10 ⁻¹¹	5073	3,133 x10 ⁻⁷	0,47762	0,0012401
39	1326	9,4893 x10 ⁻¹¹	2924	1,4399 x10 ⁻⁸	0,71661	0,001201
42	651,8	2,6289 x10 ⁻¹⁰	1025	3,7998 x10 ⁻⁸	0,7163	0,0011476
45	976,9	1,7564 x10 ⁻¹⁰	1532	2,5356 x10 ⁻⁸	0,71629	0,0011561
48	1000,9	4,4699 x10 ⁻¹⁰	2718	1,796 x10 ⁻⁷	0,66459	0,001608

ANEXO 3: Ensayo preliminar de evaporación de disolvente con bomba de vacío

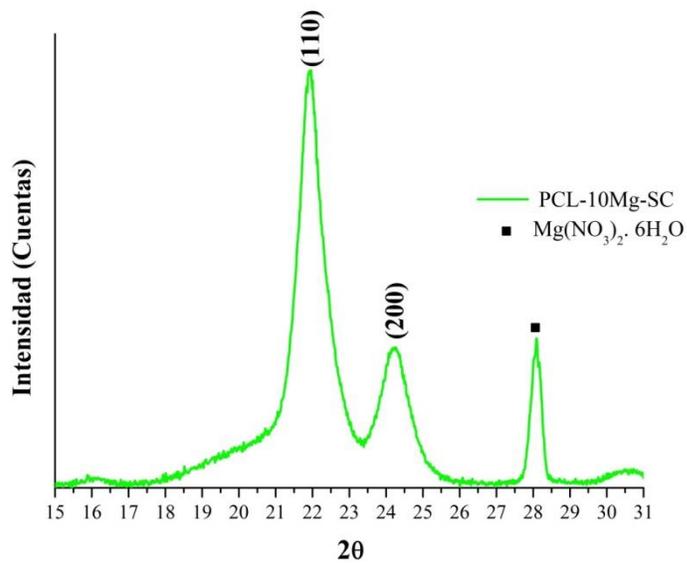


Figura 6.29. Difractograma XRD de la muestra PCL-10Mg-SC obtenida con bomba de vacío

7. REFERENCIAS

- [1] E. García-Gareta, M. J. Coathup y G. W. Blunn, «Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration,» *Bone*, 2015.
- [2] M. Böhner, «Bone Substitute Materials,» de *Reference Module in Biomedical Research, 3rd edition*, Switzerland, Elsevier, 2014, pp. 1-15.
- [3] M. Lyles, J. Hu, V. Varanasi, J. Hollinger y K. Athanasiou, «Bone tissue engineering,» de *Regenerative Engineering of Musculoskeletal Tissues and Interfaces*, Elsevier, 2015, p. 97–134.
- [4] U. Meyer, H. P. Wiesmann, J. Handschel y N. R. Kübler, «Bone Tissue Engineering,» de *Fundamentals of Tissue Engineering*, Berlin, Springer, 2009, pp. 211-232.
- [5] J. Behari, *Biophysical bone behavior: Principles and applications*, Singapore: John Wiley & Sons, 2009.
- [6] M. F. Shukur, F. Sonsudin, R. Yahya, Z. Ahmad, R. Ithnin y F. Z. Kadir, «Electrical Properties of Starch Based Silver Ion Conducting Solid Biopolymer Electrolyte,» *Advanced Materials Research*, vol. 701, pp. 120-124, 2013.
- [7] G. Hirankumar, S. Selvasekarapandian, M. S. Bhuvanewari, R. Baskaran y M. Vijayakumar, «Ag⁺ ion transport studies in a polyvinyl alcohol-based polymer electrolyte system,» *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 10, p. 193–197, 2006.
- [8] S. Chandra, S. Hashmi, M. Saleem y R. Agrawal, «Investigations on poly ethylene oxide based polymer electrolyte complexed with AgNO₃,» *Solid State Ionics*, Vols. 1 de 21-7, p. 67, 1993.
- [9] S. Sreepathi Rao, K. Satyanarayana Rao, M. Shareefuddin y U. Subba Rao, «Ionic conductivity and battery characteristic studies on PEO + AgNO₃ polymer electrolyte,» *Solid State Ionics*, vol. 67, pp. 331-334, 1994.
- [10] A. R. Polu y R. Kumar, «AC impedance and dielectric spectroscopic studies of Mg²⁺ ion conducting PVA–PEG blended polymer electrolytes,» *Bulletin of Materials Science*, vol. 34, n° 5, p. 1063–1067, 2011.
- [11] D. Ravindran y P. Vickraman, «XRD, Conductivity studies on PVA-PEG blend based Mg²⁺ ion conducting polymer electrolytes,» *International Journal of Science and Engineering Applications*, vol. 1, n° 1, pp. 72-74, 2012.
- [12] D. Lacroix y J. A. Planell, «Biomaterials: Processing, Characterization, and Applications,» de *Biomedical Materials*, New York, Springer, 2009, pp. 123-154.
- [13] T. Lemaire, E. Capiez-Lernout, J. Kaiser, S. Naili y V. Sansalone, «What is the importance of multiphysical phenomena in bone remodelling signals expression? A multiscale perspective,» *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 4, n° 6, p. 909–920, 2011.

- [14] H. P. Wiesmann y U. Meyer, «Biomaterials,» de *Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Berlin, Springer, 2009, pp. 455-518.
- [15] U. Meyer, «The History of Tissue Engineering and Regenerative Medicine in Perspective,» de *Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Berlin, Springer, 2009, pp. 5-12.
- [16] X. Tang, S. K. Thankappan, P. Lee, S. E. Fard, M. D. Harmon, K. Tran y X. Yu, «Polymeric Biomaterials in Tissue Engineering and Regenerative Medicine,» *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*, vol. Capítulo 21, pp. 351-371, 2014.
- [17] R. Langer y J. Vacanti, «Tissue engineering,» *Science*, vol. 260, nº 5110, p. 920, 1993.
- [18] C. T. Laurencin, A. M. A. Ambrosio, M. D. Borden y J. A. Cooper, «Tissue Engineering: Orthopedic Applications,» *Annual Reviews Biomedical Engineering*, vol. 01, pp. 19-46, 1999.
- [19] C. Laurencin, S. Kumbar, M. Deng y R. James, «Nano-structured scaffolds for regenerative engineering,» *Honorary Series in Translational Research in Biomaterials*, 2010.
- [20] T. J. Blokhuis, «Bioresorbable bone graft substitutes,» de *Bone Substitute Biomaterials*, Elsevier, 2014.
- [21] D. M. Yoon y J. P. Fisher, «Natural and Synthetic Polymeric Scaffolds,» de *Biomedical Materials*, New York, Springer, 2009, pp. 414-442..
- [22] R. Balint, N. J. Cassidy y S. H. Cartmell, «Electrical Stimulation: A Novel Tool for Tissue Engineering,» *Tissue engineering: Part B*, vol. 19, nº 1, pp. 48-57, 2013.
- [23] T. Srichana y A. J. Domb, «Polymeric Biomaterials,» de *Biomedical Materials*, New York, Springer, 2009, pp. 83-119.
- [24] E. Marchetti, O. May, J. Girard, H.-F. Hildebrand, H. Migaud y G. Pasquier, «Biomateriales en cirugía ortopédica,» *EMC Técnicas quirúrgicas en ortopedia y traumatología*, Vols. %1 de %244-012, 2010.
- [25] D. Williams, *Definitions of biomaterials*, Amsterdam: Elsevier, 1987.
- [26] D. F. Williams, «Biofunctionality and biocompatibility,» de *Materials Science and Technology*, New York, Wiley-VCH, 2006.
- [27] J. G. Hardy, J. Y. Lee y C. E. Schmidt, «Biomimetic conducting polymer-based tissue scaffolds,» *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 24, p. 847–854, 2013.
- [28] W. D. Callister, *Introducción a la Ciencia e Ingeniería de los Materiales*, Barcelona: Reverté S.A, 2002.
- [29] D. Santos y C. Sequeira, *Polymer Electrolytes Fundamentals and applications*, Abington: Elsevier Science, 2010.
- [30] M. A. Ratner y D. F. Shriver, «Ion Transport in Solvent-Free Polymers,» *Chemical Reviews*, vol. 88, nº 1, pp. 109-124, 1988.
- [31] B. Subia, J. Kundu y S. C. Kundu, «Biomaterial scaffold fabrication techniques for potential tissue engineering applications,» de *Tissue Engineering*, Croacia, InTech, 2010, pp. 141-158
- [32] F. J. Davis, S. D. Mohan y M. A. Ibraheem, «Chapter 1 Introduction,» de *Electrospinning Principles, Practice and Possibilities*, Marinha Grande, The Royal Society of Chemistry, 2015, pp. 1-21.
- [33] C. Suryanarayana y M. Grant-Norton, *X-Ray Diffraction. A Practical Approach*, New York: Springer, 1998.
- [34] M. V. Curia, *Estudio fisicoquímico y catalítico del sistema Mn-O-V*, La Plata: Universidad

- Nacional de la Plata , 2010.
- [35] G. W. H. Hohne, W. F. Hemminger y H.-J. Flammersheim, *Differential Scanning Calorimetry*, Berlin: Springer, 2003.
- [36] S. Suriñach, M. D. Baro, S. Bordas, N. Clavaguera y M. T. Clavaguera-Mora, «La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación a la Ciencia de Materiales,» *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, vol. 31, pp. 11-17, 1992.
- [37] J. R. Macdonald y W. B. Johnson, « Fundamentals of Impedance Spectroscopy,» de *Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications*, New Jersey, John Wiley & Sons, Inc, 2005, pp. 1-26.
- [38] Á. Avendaño Trocha, *Tesis de maestría: Estudio térmico y eléctrico del polímero electrolítico PEO/AgI+KI*, Cartagena de indias: Universidad de Cartagena, 2014.
- [39] R. C. Hibbeler, *Mecánica de materiales*, Naucalpan de Juárez: Pearson Educación de México, 2006.
- [40] S. Weschnitzer, «Introduction to Electron Microscopy Pergamon .,» Pergamon, 1970.
- [41] T. L. Riss, R. A. Moravec y A. L. Niles, «Cytotoxicity Testing: Measuring Viable Cells, Dead Cells, and Detecting Mechanism of Cell Death,» de *Mammalian Cell Viability: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, Springer, 2011, pp. 103-114.
- [42] X. Shi, Y. Wang, L. Ren, Y. Gong y D.-A. Wang, «Enhancing Alendronate Release from a Novel PLGA/Hydroxyapatite Microspheric System for Bone Repairing Applications,» *Pharmaceutical Research*, vol. 26, n° 2, pp. 422-430, 2009.
- [43] H. Woo, S. Majid y A. Arof, «Conduction and thermal properties of a proton conducting polymer electrolyte based on poly (ϵ -caprolactone),» *Solid State Ionics*, vol. 200 , p. 14–20, 2011 .
- [44] H. Yoshimoto, Y. Shin, H. Terai y J. Vacanti, « A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering,» *Biomaterials* , vol. 24 , n° 12, p. 2077–2082, 2003.
- [45] I. Armentano, M. Dottori, E. Fortunati, S. Mattioli y J. Kenny, «Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review,» *Polymer Degradation and Stability*, vol. 95, pp. 2126-2146, 2010 .
- [46] R. H. Funk, T. Monsees y N. Ozkucur, «Electromagnetic effects – From cell biology to medicine,» *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, vol. 43, p. 177–264, 2009.
- [47] M. Levin, «Large-scale biophysics: ion flows and regeneration,» *Trends in cell Biology*, vol. 17, n° 6, pp. 261-270, 2007.
- [48] Q. Yan, N. Tomita y Y. Ikada, «Effects of static magnetic field on bone formation of rat femurs,» *Medical Engineering & Physics*, vol. 20, p. 397–402, 1998.
- [49] P. R. Kuzyk y E. H. Schemitsch, «The science of electrical stimulation therapy for fracture healing,» *Indian Journal of Orthopaedics*, vol. 43, n° 2, p. 127–131, 2009.
- [50] I. Yasuda, «The classic: Fundamental aspects of fracture treatment,» *Clinical orthopaedics and related research*, vol. 124, pp. 5-8, 1977.
- [51] C. Brighton, J. Black, Z. Friedenber, J. L. Esterhai, L. J. Day y J. F. Connolly, «A multicenter study of the treatment of non-union with constant direct current,» *The Journal of bone anj joint surgery*, vol. 63, n° 1, pp. 2-13, 1981.
- [52] J. Black, *Electrical Stimulation: Its Role in Growth, Repair, and Remodeling of the Musculoskeletal System*, New York: Paeger, 1987.
- [53] C. Brighton, E. Okereke, S. Pollack y C. Clark, «In vitro bone-cell response to a capacitively coupled electrical field. The role of field strength, pulse pattern, and duty

- cycle.,» *Clinical orthopaedics and related research*, vol. 285, pp. 255-262, 1992.
- [54] S. B. Behrens, M. E. Deren y K. O. Monchik, «A Review of Bone Growth Stimulation for Fracture Treatment,» *Current Orthopaedic Practice*, vol. 24, n° 1, pp. 84-91, 2013.
- [55] G. Shi, Z. Zhang y M. Rouabhia, «The regulation of cell functions electrically using biodegradable polypyrrole–polylactide conductors,» *Biomaterials*, vol. 29, p. 3792, 2008.
- [56] J. Zhang, K. G. Neoh, X. Hu, E.-T. Kang y W. Wang, «Combined Effects of Direct Current Stimulation and Immobilized BMP-2 for Enhancement of Osteogenesis,» *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 110, n° 5, pp. 1466-1475, 2013.
- [57] W.-W. Hu, Y.-T. Hsu, Y.-C. Cheng, C. Li, R.-C. Ruaan, C.-C. Chien, C.-A. Chung y C.-W. Tsao, «Electrical stimulation to promote osteogenesis using conductive polypyrrole films,» *Materials Science and Engineering C*, vol. 37, n° 2014, p. 28–36, 2014.
- [58] H. Cui, Y. Wang, L. Cui, P. Zhang, X. Wang, Y. Wei y X. Chen, «In Vitro Studies on Regulation of Osteogenic Activities by Electrical Stimulus on Biodegradable Electroactive Polyelectrolyte Multilayers,» *Biomacromolecules*, vol. 15, p. 3146–3157, 2014.
- [59] R. Balint, N. J. Cassidy y S. H. Cartmell, «Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering,» *Acta Biomaterialia*, vol. 10, p. 2341–2353, 2014.
- [60] B. Guo, L. Glavas y A.-C. Albertsson, «Biodegradable and electrically conducting polymers for biomedical applications,» *Progress in Polymer Science*, vol. 38, p. 1263–1286, 2013.
- [61] T. H. Qazi, R. Rai y A. R. Boccaccini, «Tissue engineering of electrically responsive tissues using polyaniline based polymers: A review,» *Biomaterials*, vol. 35, pp. 9068-9086, 2014.
- [62] K. Sahithi, M. Swetha, K. Ramasamy, N. Srinivasan y N. Selvamurugan, «Polymeric composites containing carbon nanotubes for bone tissue engineering,» *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 46, p. 281–283, 2010.
- [63] S. Shao, S. Zhou, L. Li, J. Li, C. Luo, J. Wang, X. Li y J. Weng, «Osteoblast function on electrically conductive electrospun PLA/MWCNTs nanofibers,» *Biomaterials*, vol. 32, pp. 2821-2833, 2011.
- [64] M. Ravi, S. Song, K. Gub, J. Tang y Z. Zhang, «Electrical properties of biodegradable poly(-caprolactone): lithium thiocyanate complexed polymer electrolyte films,» *Materials Science and Engineering B*, vol. 195, p. 74–83, 2015.
- [65] Y. Sudhakar y M. Selvakumar, «Lithium perchlorate doped plasticized chitosan and starch blend as biodegradable polymer electrolyte for supercapacitors,» *Electrochimica Acta*, vol. 78, p. 398–405, 2012.
- [66] A. Pawlicka, R. Mattos, C. Tambelli, I. Silva, C. Magon y J. Donoso, «Magnetic resonance study of chitosan bio-membranes with proton conductivity properties,» *Journal of Membrane Science*, vol. 429, p. 190–196, 2013.
- [67] A. Shahini, M. Yazdimamaghani, K. J. Walker, M. A. Eastman, H. Hatami-Marbini, B. J. Smith, J. L. Ricci, S. V. Madihally, D. Vashae y L. Tayebi, «3D conductive nanocomposite scaffold for bone tissue engineering,» *International Journal of Nanomedicine*, vol. 9, p. 167–181, 2014.
- [68] H. Zhang, Q.-W. Fu, T.-W. Sun, F. Chen, C. Qi, J. Wu, Z.-Y. C. Q.-R. Qian y Y.-J. Zhu, «Amorphous Calcium Phosphate, Hydroxyapatite and Poly(D,L-Lactic Acid) Composite Nanofibers: Electrospinning Preparation, Mineralization and In Vivo Bone Defect Repair,» *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2015.
- [69] L. Ren, J. Wang, F.-Y. Yang, L. Wang, D. Wang, T.-X. Wang y M.-M. Tian, «Fabrication of gelatin–siloxane fibrous mats via sol–gel and electrospinning procedure and its

- application for bone tissue engineering,» *Materials Science and Engineering C*, vol. 30 , p. 437–444, 2010.
- [70] Y. Liu, H. Cui, X. Zhuang, Y. Wei y X. Chen, «Electrospinning of aniline pentamer-graft-gelatin/PLLA nanofibers for bone tissue engineering,» *Acta Biomaterialia*, vol. 10, p. 5074–5080, 2014.
- [71] W. A. Ribeiro-Neto, A. C. C. De Paula, T. M. M. Martins, A. M. Goes, L. Averous, G. Schlatter y R. E. Suman-Bretas, «Poly (butylene adipate-co-terephthalate)/hydroxyapatite composite structures for bone tissue recovery,» *Polymer Degradation and Stability*, vol. 120, pp. 61-69, 2015.
- [72] C. Bordes, V. Fréville, E. Ruffin, P. Marote, J. Gauvrit, S. Briancon y P. Lantéri, *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 383, p. 236–243, 2010.
- [73] C. Wen, *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, United Kingdom: Elsevier, 2015.
- [74] J. P. Davim, *Biomaterials and Medical Tribology: Research and Development*, Cambridge: Woodhead, 2013.
- [75] R. Vilar, *Laser Surface Modification of Biomaterials: Techniques and Applications*, Duxford: Woodhead Publishing, 2015.
- [76] J. B. Kendall, *Biomaterials Research Advances*, New York: Nova Science Publishers, 2007.
- [77] Ž. Radovanovića, B. Jokić, D. Veljović, S. Dimitrijević, V. Kojić, R. Petrović y D. Janačković, «Antimicrobial activity and biocompatibility of Ag⁺- and Cu²⁺-doped biphasic hydroxyapatite/ α -tricalcium phosphate obtained from hydrothermally synthesized Ag⁺- and Cu²⁺-doped hydroxyapatite,» *Applied Surface Science*, vol. 307, p. 513–519, 2014.
- [78] L. Fewtrell, *Silver: water disinfection and toxicity*, Spring , 2014.
- [79] K. Pasternak, J. Kocot y A. Horecka, «BIOCHEMISTRY OF MAGNESIUM,» *Journal of Elementology*, vol. 15, n° 3, p. 601–616, 2010.
- [80] L. A. Bosworth y S. Downes, «Acetone, a Sustainable Solvent for Electrospinning Poly(ϵ -Caprolactone) Fibres: Effect of Varying Parameters and Solution Concentrations on Fibre Diameter,» *Journal of Polymers and the Environment*, 2012.
- [81] P. Meyer, A. Rimsky y R. Chevalier, «Structure du nitrate d'argent a pression et temperature ordinaires. Exemple de cristal parfait,» *Acta Crystallographica B* , vol. 34, pp. 1457-1462, 1978.
- [82] V. Sirota, V. Selemenev, M. Kovaleva, I. Pavlenko, K. Mamunin, V. Dokalov y M. Prozorova, «Synthesis of Magnesium Oxide Nanopowder by Thermal Plasma Using Magnesium Nitrate Hexahydrate,» *Physics Research International* , vol. 5, pp. 1-4 , 2016.
- [83] W. Chin-San, «Analysis of Mechanical, Thermal, and Morphological Behavior of Polycaprolactone/Wood Flour Blends,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 94, p. 1000 –1006 , 2004.
- [84] M. S. Sumitha, K. T. Shalumon, V. N. Sreeja, R. Jayakumar, S. V. Nair y D. Menon, «Biocompatible and Antibacterial Nanofibrous Poly(ϵ -caprolactone)-Nanosilver Composite Scaffolds for Tissue Engineering Applications,» *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, vol. 49, p. 131–138, 2012.
- [85] B. H. Bittiger, R. H. Marchessault y W. D. Niegisch, «Crystal Structure of Poly- ϵ -caprolactone,» *Acta crystallographica*, vol. B26, pp. 1923-1927, 1970.
- [86] A. R. Polu, R. Kumar, V. Causin y R. Neppalli, «Conductivity, XRD, and FTIR Studies of

- New Mg²⁺-ion-conducting Solid Polymer Electrolytes: [PEG: Mg(CH₃COO)₂],» *Journal of the Korean Physical Society*, vol. 59, n° 1, pp. 114-118, 2011.
- [87] I. Persson, «Hydrated metal ions in aqueous solution: How regular are their structures?,» *Pure and Applied Chemistry*, vol. 82, n° 10, p. 1901–1917, 2010.
- [88] B. S. Fox, M. K. Beyer y V. E. Bondybey, «Coordination Chemistry of Silver Cations,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 124, pp. 13613-13623, 2002.
- [89] S. F. Lincoln, D. T. Richens y A. G. Sykes, «Metal Aqua Ions,» de *Comprehensive coordination chemistry II - From biology to nanotechnology*, McCleverty, 2004, pp. 515-555.
- [90] D. W. Smith, «Ionic hydration enthalpies,» *Journal of Chemical Education*, vol. 54, n° 9, pp. 540-542, 1977.
- [91] Y.-H. Zhang, M. Y. Choi y C. K. Chan, «Relating Hygroscopic Properties of Magnesium Nitrate to the Formation of Contact Ion Pairs,» *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 108, n° 10, pp. 1712-1718, 2004.
- [92] K. A. G. Katsogiannis, G. T. Vladislavjevic y S. Georgiadou, «Porous electrospun polycaprolactone (PCL) fibres by phase separation,» *European Polymer Journal*, vol. 69, p. 284–295, 2015.
- [93] A. G. Kanani y S. H. Bahrami, «Effect of Changing Solvents on Poly(ε-Caprolactone) Nanofibrous Webs Morphology,» *Journal of Nanomaterials*, pp. 1-10, 2011.
- [94] H. Yoshimoto, Y. Shin, H. Terai y J. Vacanti, «A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering,» *Biomaterials*, vol. 24, n° 12, pp. 2077-2082, 2003.
- [95] C. Vaz, S. van Tuijl, C. Bouten y F. Baaijens, «Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique.,» *Acta Biomaterialia*, vol. 1, n° 5, pp. 575-582, 2005.
- [96] G. Buschle-Diller, J. Cooper, Z. Xie, Y. Wu, J. Waldrup y X. Ren, «Release of antibiotics from electrospun bicomponent fibers,» *Cellulose*, vol. 14, n° 6, p. 553–562, 2004.
- [97] J. L. Ferreira, S. Gomes, C. Henriques, J. P. Borges y J. C. Silva, «Electrospinning Polycaprolactone Dissolved in Glacial Acetic Acid: Fiber Production, Nonwoven Characterization, and In Vitro Evaluation,» *Journal of Applied Polymer Science*, pp. 1-9, 2014.
- [98] K. Arayanarakul, N. Choktaweessap, D. Aht-ong, C. Meechaisue y P. Supaphol, «Effects of Poly(ethylene glycol), Inorganic Salt, Sodium Dodecyl Sulfate, and Solvent System on Electrospinning of Poly(ethylene oxide),» *Macromolecular Materials and Engineering*, vol. 2006, pp. 581-591, 2006.
- [99] A. Haider, S. Haider y I.-K. Kang, «A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology,» *Arabian Journal of Chemistry*, 2015.
- [100] X.-H. Qin, E.-L. Yang, N. Li y S.-Y. Wang, «Effect of Different Salts on Electrospinning of Polyacrylonitrile (PAN) Polymer Solution,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 103, p. 3865–3870, 2007.
- [101] L. Shahreen y G. G. Chase, «Effects of Electrospinning Solution Properties on Formation of Beads in TiO₂ Fibers with PdO Particles,» *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, vol. 10, n° 3, pp. 136-145, 2015.
- [102] P. Heikkilä y A. Harlin, «Electrospinning of polyacrylonitrile (PAN) solution: Effect of conductive additive and filler on the process,» *eXPRESS Polymer Letters*, vol. 3, n° 7, p. 437–445, 2009.

- [103] S. Koombhongse, W. Liu y D. H. Reneker, «Flat Polymer Ribbons and Other Shapes by Electrospinning,» *Journal of Polymer Science: Part B : Polymer Physics*, vol. 39, pp. 2598-2606, 2001.
- [104] L. Averous, L. Moro; P. Dole, y C. Fringant, «Properties of thermoplastic blends,» *Polymer*, vol. 41, p. 4157-4167., 2000.
- [105] H. Zhu, R. Li, X. Wu, K. Chen y J. Che, «Controllable fabrication and characterization of hydrophilic PCL/wool keratin nanonets by electronetting,» *European Polymer Journal*, vol. 86, pp. 154-161, 2017.
- [106] F. Croisier, A.-S. Duwez, C. Jérôme, A. Léonard, K. v. d. Werf, P. Dijkstra y M. Bennink, «Mechanical testing of electrospun PCL fibers,» *Acta Biomaterialia*, vol. 8, p. 218-224, 2012.
- [107] L. Huang, N.-N. Bui, S. S. Manickam y J. R. McCutcheon, «Controlling Electrospun Nanofiber Morphology and Mechanical Properties Using Humidity,» *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, vol. 49, p. 1734-1744, 2011.
- [108] F. B. Álvarez, «Universidad de Oviedo- Escuela de Minas,» [En línea]. Available: <http://www6.uniovi.es/usr/fblanco/Leccion14.ResistenciaPolimeros.pdf>. [Último acceso: 13 Enero 2017].
- [109] R. M. Nezarati, M. B. Eifert y E. Cosgriff-Hernandez, «Effects of Humidity and Solution Viscosity on Electrospun Fiber Morphology,» *Tissue engineering:Part C*, vol. 19, n° 10, pp. 810-819, 2013.
- [110] E. S. Medeiros, L. H. Mattoso, R. D. Offeman, D. F. Wood y W. J. Orts, «Effect of relative humidity on the morphology of electrospun polymer fibers.,» *Canadian Journal of Chemistry*, vol. 86, n° 6, pp. 590-599, 2008.
- [111] P. Santamaria, «Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation,» *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 86, p. 10-17, 2006.
- [112] X. Qin y D. Wu, «Effect of different solvents on poly(caprolactone) (PCL) electrospun nonwoven membranes,» *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 107, p. 1007-1013, 2012.
- [113] R. Chang, Química, McGraw-Hill, 2002.
- [114] A. Jiménez, «Universidad Autónoma de Madrid,» [En línea]. Available: <https://www.uam.es/docencia/elementos/spV21/conmarcos/graficos/radioionico/radioio.html>.
- [115] G. Islam, J. Tomlinso, T. Darton y R. Townsend, «Bone and joint infections,» *SURGERY*, vol. 31, pp. 187-192, 2013.
- [116] D. Campoccia, L. Lucio Montanaro y C. R. Arciola, «A review of the clinical implications of anti-infective biomaterials and infection-resistant surfaces,» *Biomaterials*, vol. 34, pp. 8018-8029, 2013.
- [117] T. M. Keaveny y W. C. Hayes, «Chapter 10. Mechanical properties of cortical and trabecular bone,» de *Bone*, Florida, CRC Press, 1993, pp. 285-344.