

UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA  
**ESCUELA DE INGENIERÍAS INDUSTRIALES**

**DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE  
ANDAMIAJES DE FOSFATO CÁLCICO  
BIFÁSICO (BCP) PARA INGENIERÍA DE  
TEJIDO ÓSEO MEDIANTE MOLDEO  
ROBOTIZADO**

TRABAJO PRESENTADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
MÁSTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

POR

**CLAUDIA ISABEL PAREDES SÁNCHEZ**

BADAJOS, JUNIO DE 2015

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

Autor:

CLAUDIA ISABEL PAREDES SÁNCHEZ

Directores:

PEDRO MIRANDA GONZÁLEZ

FIDEL HUGO PERERA MARTÍNEZ

Tribunal de evaluación:

ANTONIA PAJARES VICENTE

ESTÍBALIZ SÁNCHEZ GONZÁLEZ

ÓSCAR BORRERO LÓPEZ

---

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
1.1	Estructura y propiedades de los tejidos calcificados.....	5
1.2	Características de los materiales empleados en el estudio.....	6
1.3	Moldeo robotizado.....	7
1.4	Referencias.....	9
<b>2</b>	<b>MÉTODO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>10</b>
2.1	Diseño de la estructura de los andamiajes mediante modelado CAD.....	10
2.2	Preparación y elaboración de las tintas.....	11
2.3	Impresión de los andamiajes mediante moldeo robotizado.....	14
2.4	Secado y sinterizado.....	15
2.5	Determinación de dimensiones y densidad de barras individuales.....	16
2.6	Resistencia a flexión de barras cilíndricas.....	17
2.7	Sinterizado de los andamiajes.....	19
2.8	Determinación de la porosidad de los andamiajes.....	20
2.9	Resistencia a compresión de los andamiajes.....	21
2.10	Referencias.....	22
<b>3</b>	<b>RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>23</b>
3.1	Elaboración de las tintas e impresión de andamiajes.....	23
3.1.1	Optimización de la temperatura (o proceso) de sinterización.....	24
3.1.2	Resistencia a flexión de barras individuales.....	27
3.2	Caracterización de andamiajes.....	29
3.2.1	Porosidad de los andamiajes.....	29
3.2.2	Resistencia a compresión de los andamiajes.....	31
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>41</b>

## 1 INTRODUCCIÓN

El hueso natural es un órgano formado por tejido vivo vascularizado, con una estructura muy compleja, que está sometido a un proceso continuo de regeneración y remodelación muy dependiente del estado tensional en el que se encuentre. Estas extraordinarias propiedades le permiten adaptar su forma, tamaño y estructura a las solicitaciones mecánicas que soporta, e incluso realizar reparaciones de zonas dañadas, pequeñas fisuras, siempre que la separación entre los bordes del defecto no alcance un valor superior a unos 5 mm.

El aumento de esperanza de vida observado en la población de los países desarrollados debido a la mejora de la calidad de vida y a los logros alcanzados por la medicina, lleva asociado un aumento de incidencias de patologías del sistema esquelético. Como ejemplo se puede citar la osteoporosis, enfermedad que tiene como consecuencia la pérdida de densidad ósea, lo que implica un aumento de probabilidad de sufrir fracturas. En casos como éste, donde los defectos óseos son graves, el hueso no es capaz de regenerarse por sí mismo siendo necesario someterse a intervenciones quirúrgicas para dar solución al problema.

Una forma muy extendida de reparar las lesiones graves es el empleo de prótesis. Los materiales empleados en la fabricación de dichas prótesis son diversos: materiales metálicos que tienen muy buen comportamiento mecánico; polímeros, ideales para la sustitución de tejidos blandos; y cerámicos, que son muy inertes en contacto con los fluidos corporales y muy resistentes. En la Figura 1.1 se pueden comparar las características mecánicas de los distintos materiales existentes así como las del tejido óseo.

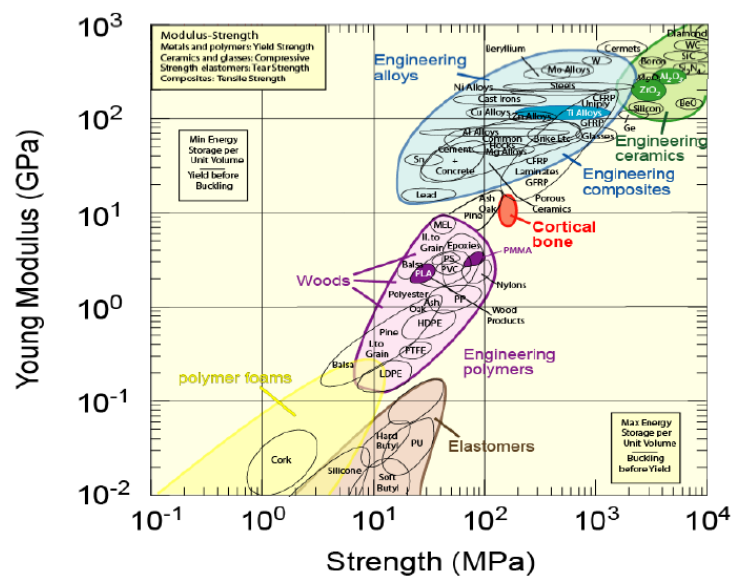


Figura 1. 1 Diagrama de Ashby (módulo de Young - Resistencia a fractura).

Mediante el empleo de prótesis e implantes se pretende restablecer la funcionalidad del hueso, debiendo asegurar que al estar en contacto con el medio biológico, el implante, mantenga sus propiedades y cumpla la función para la que ha sido diseñado, y a la vez el garantizar que no perjudique al medio biológico.

Además no representan una solución definitiva, al cabo de un tiempo, y debido a las cargas a las que están sometidos acaban fallando siendo necesario realizar una nueva intervención. Su coste plantea un problema, así como su incapacidad de remodelación. Sumado todo esto a que, como se veía en la Figura 1.1, ninguno de los materiales empleados en la fabricación de prótesis e implantes tiene las mismas características que el tejido óseo, se plantea una pregunta: ¿es su empleo lo más conveniente?

Otra forma de actuación frente a lesiones del tejido óseo es el empleo de injertos, bien sean aloinjertos (procedentes de donante humano), autoinjertos (procedentes del mismo paciente) o xenoinjertos (de procedencia animal). Según sus características es posible diferenciarlos en injertos osteoconductivos u osteoinductivos, se diferencian en que los primeros son simplemente un andamio donde se produce el crecimiento celular mientras que los segundos además estimulan a las células osteoprogenitoras para la formación de nuevo hueso. Pero esta solución a su vez plantea otros problemas, como son la escasez de donantes y el riesgo de transmisión de enfermedades, todo esto sin mencionar, al igual que anteriormente, su elevado coste.

Por todo esto, se plantea la necesidad de desarrollar nuevos implantes capaces de resolver los problemas que presentan los empleados convencionalmente. Los espectaculares avances conseguidos en los últimos años en el campo de la ingeniería de tejido óseo han propiciado la aparición de prometedoras líneas de investigación en este sentido. La mencionada disciplina se basa principalmente en el uso de tres elementos (Figura 1.2): un cultivo celular, un sustrato donde las células puedan proliferar y proteínas u otro tipo de biomoléculas (como factores de crecimiento) que aseguren dicha proliferación. Su propuesta es que la mejor forma de reparar daños en el hueso y de realizar su reemplazamiento es el empleo de tejido nuevo sano.

De los tres elementos en los que se basa la ingeniería de tejido, la ingeniería de materiales se encarga del desarrollo del sustrato. Se trata de matrices tridimensionales ó andamiajes (scaffolds en inglés) bio-absorbibles, que actúan como soporte y vehículo celular. Proporcionan un ambiente y arquitectura adecuada para la proliferación celular y actúan como reservorio de agua y nutrientes.

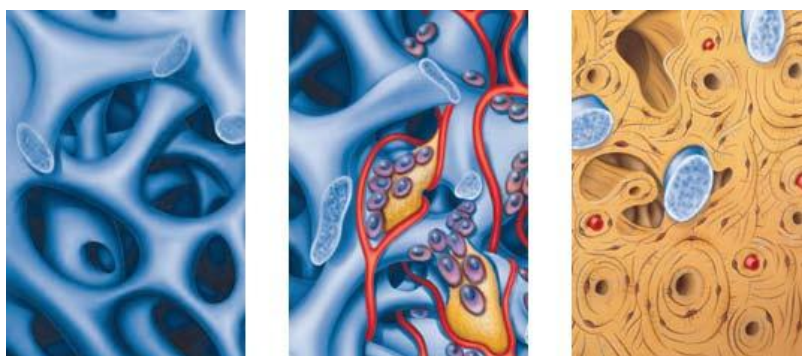
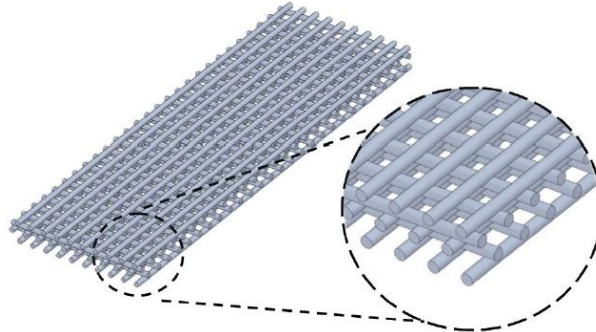


Figura 1. 2 Matriz tridimensional porosa para sustitución ósea y crecimiento del tejido óseo.

Hoy en día, los andamiajes son fabricados con las técnicas más novedosas. Se realizan mediante la adición de capas de material, formadas por filamentos, hasta obtener un objeto poroso y tridimensional con una forma externa y una arquitectura de poros adecuada (Figura 1.3).



**Figura 1. 3 Esquema de una matriz tridimensional o Scaffold.**

Ya que permanecen en contacto con los tejidos vivos, las estructuras deben cumplir una serie de requisitos [1]:

- 1 Biocompatibilidad. No deben generar rechazo ni daño al tejido receptor y ser resistentes a la corrosión en ambiente fisiológico.
- 2 Osteoconductividad. El material empleado debe ser osteoconductor.
- 3 Biodegradabilidad. Los materiales empleados deben ser reabsorbidos gradualmente por el organismo de forma que la tasa de resorción sea similar a la de formación ósea, para que cuando la lesión esté regenerada la matriz haya desaparecido. Y que, a su vez, tenga una vida media suficiente para realizar su tarea, no debiendo desaparecer hasta que exista nuevo tejido óseo.
- 4 Porosidad adecuada (Figura 3). Debe presentar una red macroporosa interconectada, con un tamaño de poro igual o superior a 100 micras, tal que permita la penetración celular, el crecimiento del tejido y la formación de la vascularización.
- 5 Bioadherencia. El andamiaje debe promover la adhesión celular, o crecimiento de hueso en contacto con dicha estructura, que está relacionada con las propiedades de la superficie tanto químicas (capacidad de la célula para adherirse al material) como topográficas.
- 6 Biofuncionalidad. Debe cumplir con una serie de requisitos desde el punto de vista de las propiedades mecánicas, teniendo en cuenta que la sollicitación mecánica a la que va a estar sometido puede variar según el lugar donde se coloque el implante, de forma que permita al hueso cumplir sus funciones normales.
- 7 Integridad mecánica. Debe poseer unas propiedades mecánicas adecuadas para soportar cargas a las que esté el tejido sometido y es necesario que dicha integridad

mecánica de la prótesis sea suficiente en todo momento permitiendo al hueso realizar sus funciones, de modo que no se produzcan roturas o aflojamientos del implante durante el proceso de regeneración del hueso.

El objetivo de este proyecto es la fabricación y caracterización mecánica de estructuras biocerámicas mediante moldeo robotizado, una técnica de manufacturación aditiva incluida dentro de las técnicas de prototipado rápido con forma libre (SFF, en inglés Solid Free Form). El material empleado en la realización de dicho estudio es el fosfato de calcio bifásico (BCP, del inglés Biphasic Calcium Phosphate), que consiste en una combinación de hidroxiapatita (HAp) y  $\beta$ -fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP). Concretamente, se han estudiado cuatro composiciones diferentes variando los porcentajes de estos dos materiales: desde el 80%, 60%, 40% y 20% de HAp, completando el resto con  $\beta$ -TCP. Se fabricaron andamiajes con cada composición que, posteriormente, fueron sinterizados y ensayados mecánicamente mediante ensayos de compresión.

### 1.1 Estructura y propiedades de los tejidos calcificados

El hueso se organiza en una compleja estructura jerárquica tal como se aprecia en la Figura 1.4. A nivel microestructural la unidad básica del tejido óseo son las osteonas. Están formadas por unas laminillas concéntricas a unos canales en los que se sitúan los vasos sanguíneos y nervios que irrigan e inervan a las células que componen el tejido compacto. Reciben el nombre de Canales de Havers y están comunicados entre sí. Mirando con más detalle se observa la red de fibras de colágeno. Y a nivel molecular se distinguen los elementos puros, el tropocolágeno y los cristales de apatita  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ . El colágeno dota al hueso de resistencia a tracción y flexibilidad, mientras que la hidroxiapatita aporta dureza y resistencia a cargas compresivas.

A nivel macroestructural distinguimos entre hueso compacto o cortical, es un hueso denso que no presenta cavidades visibles que aparece en la zona más externa de los mismos y ocupa el 80% del volumen total de hueso. Y hueso esponjoso o trabecular, un hueso más poroso que muestra numerosas cavidades intercomunicadas. Es menos duro y más dúctil y tiene una gran capacidad para distribuir presiones y amortiguar cargas [2].

Su comportamiento mecánico, como se vio en la Figura 1.1, es peculiar. Tiene propiedades mecánicas variadas. No solo existen diferencias en cuanto a comportamiento entre individuos sino también en distintos huesos de un mismo individuo según el tipo de solicitaciones a las que deba responder normalmente. Este comportamiento es posible debido a la combinación de su fase orgánica e inorgánica. Así por ejemplo el módulo de Young de las fibras de colágeno es típicamente de 6 GPa y el de la apatita es de 80 GPa, presentando el hueso cortical un valor intermedio comprendido entre 11 y 21 GPa [3]. El tejido óseo tiene una resistencia a fractura de entre 90-125 MPa y una tenacidad de entre 2-12 MPaVm. La combinación de propiedades mecánicas no solo depende de la combinación de sus fases sino también de la unión entre los cristales de hidroxiapatita y las fibras de colágeno.

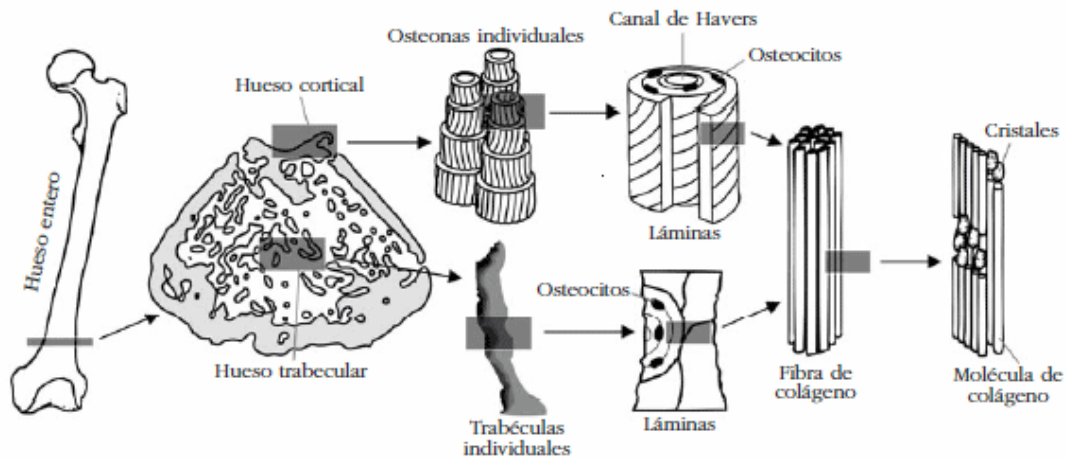


Figura 1. 4 Organización del tejido óseo.

## 1.2 Características de los materiales empleados en el estudio

Tanto la hidroxiapatita como el fosfato tricálcico son cerámicas de fosfato de calcio. Los cerámicos son materiales muy interesantes para la realización de andamiajes, ya que cumplen con los requisitos citados al comienzo del apartado. A pesar de su alta fragilidad presentan ventajas frente a otros materiales en cuanto a comportamiento biológico ya que mantienen sus propiedades al estar en contacto con fluidos fisiológicos y no sufren cambios químicos notables en largos periodos de tiempo. Su gran dureza los hace también muy resistentes a la fricción y el desgaste.

Ambos materiales, debido a sus buenas propiedades biológicas, han sido ampliamente empleados como sustitutos y rellenos óseos [4]. La hidroxiapatita sintética es un fosfato de calcio muy interesante para esta aplicación debido a su similitud con la fase inorgánica del hueso. El término hidroxiapatita se aplica en general a fosfatos cálcicos con relaciones Ca/P de 1.67.

La hidroxiapatita sintética se considera una opción para la sustitución ósea ya que, aunque difiere de la apatita natural en estequiometría, composición, cristalinidad, propiedades físicas y mecánicas, ha demostrado ser biológicamente equivalente, dado que induce básicamente la misma respuesta celular [5]. Se trata de un material biocompatible, osteoconductor y bioactivo, ya que puede formar uniones químicas fuertes con el tejido óseo y permite formación de hueso nuevo.

Su capacidad de disolución en contacto con los fluidos corporales es muy baja. Y en cuanto a propiedades mecánicas su módulo de Young se encuentra entre 80-110 GPa, su densidad es de  $3.156 \text{ g/cm}^3$ , tiene una tenacidad de 0.7-1.2 MPa√m y una resistencia a compresión de entre 400-900 Mpa [6].

Por otro lado, el fosfato tricálcico (TCP) lo podemos encontrar en varias fases, de entre ellas, la que nos interesa ( $\beta$ -TCP) es estable a temperatura ambiente, produciéndose su transformación a  $\alpha$ -TCP al alcanzar una temperatura mayor a  $1120^\circ\text{C}$  -  $1170^\circ\text{C}$ .



El fosfato tricálcico no es un componente natural del hueso, y además, presenta unas velocidades de solubilidad mucho mayores en el organismo que la HAp. Esta velocidad de absorción además no coincide con la velocidad a la que se produce la formación de hueso, planteando un problema en su aplicación como material puro. Es importante que la velocidad de degradación del sustituto óseo sea adecuada, ya que una tasa de degradación lenta puede resultar en la persistencia de material extraño en el cuerpo y una muy rápida no asegura la integridad mecánica de la prótesis el tiempo suficiente para cumplir su objetivo.

Teniendo en cuenta que la HAp tiene una velocidad de degradación muy lenta en contacto con los fluidos corporales, y que el  $\beta$ -TCP tiene una velocidad de disolución demasiado rápida para que se formen las uniones óseas al desaparecer, resulta de especial interés utilizar una mezcla de ambos materiales. Permitiendo dicha mezcla ajustar la velocidad de degradación de los implantes. De modo que mientras los tejidos óseos crecen en los huecos dejados por el  $\beta$ -TCP al desaparecer, la HAp garantiza la consistencia del componente.

Por tanto, la fabricación de implantes óseos bioactivos mediante moldeo robotizado, y utilizando como material de fabricación una mezcla adecuada de HAp y  $\beta$ -TCP, resulta en un material osteoconductor, que permite su vascularización y anclaje de las células siendo, además, su capacidad para formar un enlace directo fuerte con el hueso huésped su principal atractivo, a diferencia de otros materiales que forman una interfase fibrosa [7]. Como se ha explicado anteriormente, un implante fabricado de este modo es bioactivo, haciendo posible la absorción del mismo por parte del organismo a la vez que se restablece el tejido. La velocidad de reabsorción de este tipo de implantes dependerá del la ratio HA/  $\beta$ -TCP, siendo menor cuanto mayor es el ratio [4].

### 1.3 Moldeo robotizado

El Moldeo Robotizado (Robocasting) es una técnica de manufacturación aditiva, basada en la extrusión de tintas a base de agua consistentes en una suspensión coloidal de polvos cerámicos y cuyo esquema de funcionamiento se presenta en la Figura 1.5.

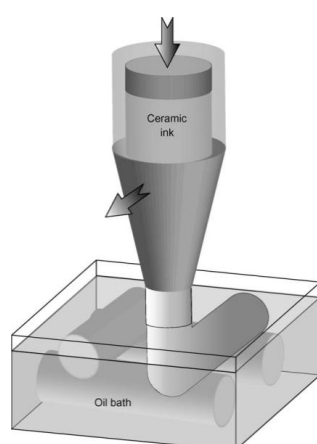


Figura 1. 5 Imagen esquemática de la técnica.

Esta técnica logra realizar implantes cerámicos sin necesidad de mecanizado, lo que supone una gran ventaja. Al extruir la tinta a través de una punta consigue obtener estructuras tridimensionales con la forma deseada a partir de un diseño CAD. Las piezas finales consisten en

un mallado formado por barras de material extruido y dispuestas según el diseño cuyo diámetro coincide con el de la punta, obteniéndose el mallado mediante una superposición de capas. Estas capas se disponen de forma que entre barra y barra existe un espacio, obteniendo así una red porosa con la arquitectura deseada. El resultado obtenido son estructuras tridimensionales con una macroporosidad controlada (Figura 1.6) [8].

El diámetro de la boquilla de extrusión corresponde con el diámetro de las barras de material extruidas. Está relacionada con la altura de cada capa y se mantiene constante durante toda la impresión. Es posible controlar la resistencia mecánica del andamiaje simplemente variando dicho parámetro. Además, con una disposición adecuada de las barras y las capas se puede dotar a la estructura de cierta resistencia mecánica, a pesar de la mencionada porosidad.

Como se puede ver también en el esquema que se muestra en la Figura 1.5, la impresión se lleva a cabo dentro de un baño de aceite, para evitar un secado no uniforme de la pieza durante el proceso de ensamblaje y por tanto no se produzca la contracción de la estructura de una forma irregular.

Por último, es interesante mencionar que esta técnica permite la fabricación de implantes cerámicos bioactivos a partir de imágenes médicas, tal como puede observarse en la Figura 1.6. De esta forma es posible obtener andamiajes personalizados para cada paciente, con una forma externa que encaja a la perfección en la zona dañada sin necesidad de mecanizado [9], restableciendo la continuidad del hueso y permitiendo la regeneración del tejido dañado.

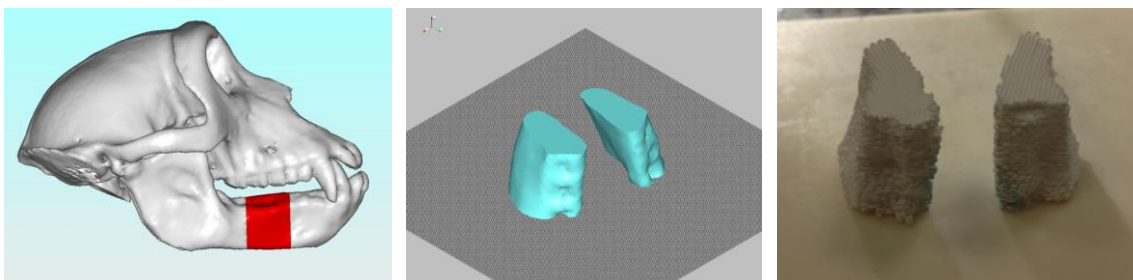


Figura 1. 6 Obtención de scaffold a partir de imagen de resonancia magnética.

## 1.4 Referencias

- [1] C. Estrada, A. C. Paz, L. E. López. *Ingeniería de tejido óseo: consideraciones básicas*. Revista EIA, ISSN 1794-1237 Número 5 p. 93-100. Junio 2006.
- [2] <http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/70329/fichero/2+-+Biolog%EDa+%F3sea.pdf>, 6/04/2015.
- [3] [http://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/bones/bone\\_mechanical.php](http://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/bones/bone_mechanical.php), 6/04/2015.
- [4] R. Z. Legeros, S. LIN, R. Rohanizadeh, D. Mijares, J. P. Legeros. *Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications*. Journal of Material Science: materials in medicine 14 (2003).
- [5] Imaizumi H., Sakurai M., Kashimoto O., Kikawa T., Suzuki O. *Comparative Study on Osteoconductivity by Synthetic Octacalcium Phosphate and Sintered Hydroxyapatite in Rabbit Bone Marrow*. Calcified Tissue International, 78 (1) 45-54 (2006).
- [6] J. S. Al-Sanabani, A. A. Madfa, F. A. Al-Sanabani. *Application of Calcium Phosphate Materials in Dentistry*. International Journal of Biomaterials Volume 2013 (2013).
- [7] G. Daculsi, O. Laboux, O. Malard, P. Weiss. *Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics*. Journal of Material Science: materials in medicine 14 (2003).
- [8] Villora J. M., Callejas P., Barba M. F. *Métodos de síntesis y comportamiento térmico del hidroxiapatito*. Boletín de la sociedad Española de Cerámica y Vidrio, 41 (5) 443-50 (2002).
- [9] P. Miranda, E. Saiz, K. Gryn, A. P. Tomsia. *Sintering and robocasting of  $\beta$ -tricalcium phosphate scaffolds for orthopaedic applications*. Acta Biomaterialia 2 (2006).

## 2 MÉTODO EXPERIMENTAL

En este capítulo se trata el proceso de fabricación de andamiajes, describiendo los materiales y el equipo empleado para su obtención hasta llegar a la caracterización mecánica de los mismos.

En sus distintos apartados se detalla la obtención del diseño de los andamiajes, la elaboración de las tintas empleadas en la impresión, el proceso de impresión en sí, la obtención de la temperatura de sinterizado y los ensayos mecánicos realizados.

### 2.1 Diseño de la estructura de los andamiajes mediante modelado CAD

Como se explica en la introducción, la estructura de los andamiajes consiste en una red poros que a su vez puede adoptar distintas formas externas, según las necesidades. Para ayudar a conseguir el diseño de la estructura se emplea el programa RoboCAD, proporcionado por el fabricante del equipo mediante el que se realiza el moldeo robotizado y del que se hablará con detalle en siguientes apartados. El software proporciona el diseño final en 3D y una simulación del mismo.

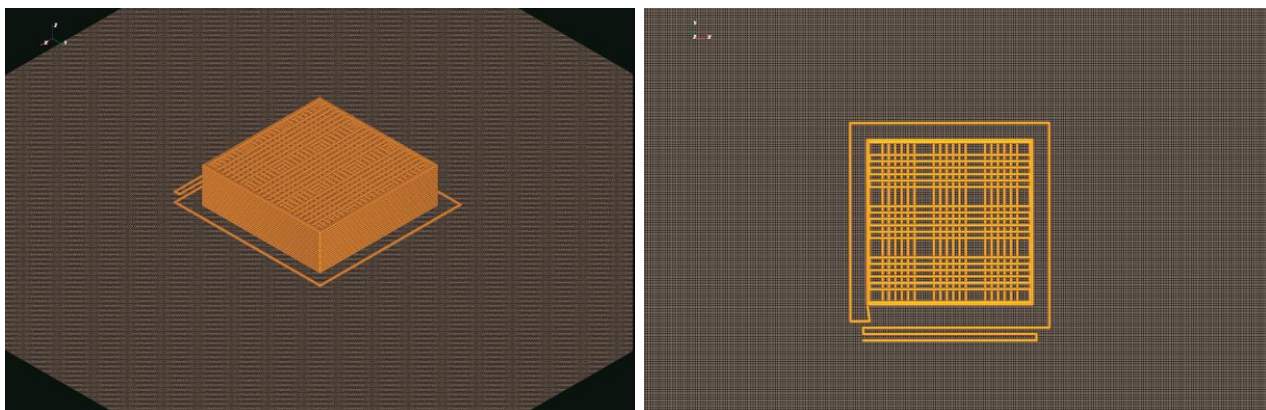


Figura 2. 1 Diseño empleado en la obtención de scaffolds. Imagen del software.

El diseño realizado se trata de una red tridimensional con base rectangular, creada mediante la superposición de capas de cilindros paralelos unos a otros, siendo cada capa colocada sobre la anterior con sus barras en dirección perpendicular.

Como se puede observar en la Figura 2.1, con el diseño realizado se obtienen 9 probetas para ensayos de compresión al imprimir una sola pieza. Consta de un doble anillo externo que facilita la impresión de las piezas. Además está formado por la repetición de cuatro capas diferentes, con las que se consigue evitar movimientos bruscos durante la impresión. Más detalladamente, el diseño tiene las siguientes características:

- 1 El diámetro de cada cilindro es  $410\ \mu\text{m}$ , coincidiendo con la punta empleada en la impresión. Cada andamiaje consta de 6 barras por 6 barras en las que la distancia entre los puntos medios de dos barras consecutivas coincide con dos veces el diámetro de las mismas ( $2 \times 410\ \mu\text{m}$ ).

- 2 El número total de capas es 20 y la separación entre ellas 320  $\mu\text{m}$ , por tanto la altura del andamiaje es de 6.011 mm (20 capas x 320  $\mu\text{m}$ ). Al ser el diámetro de cada barra 410  $\mu\text{m}$  y la distancia de capas 320  $\mu\text{m}$ , existe un solapamiento entre capas del 22%.
- 3 Se deja una separación entre andamiajes para facilitar la obtención de cada uno de ellos tras el sinterizado, ya que después de este proceso deben ser separadas. De esta forma se obtienen andamiajes con unas dimensiones de 4.510 x 4.510 x 6.011 mm.

## 2.2 Preparación y elaboración de las tintas

Se fabrican tintas a base de agua, que consisten en una suspensión estable de polvo cerámico. Se parte de polvos comerciales de Hidroxiapatita (Captal S, Plasma Biotall Limited) de 3.65  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula (Figura 2.3.a) y de  $\beta$ -fosfato tricálcico (Whitlockite OD, Plasma Biotall Limited) de 0.443  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula (Figura 2.3.b).

Para conseguir la textura y estabilidad que se requiere para una impresión correcta, es necesario añadir una serie de componentes, al ir añadiéndolos es necesario asegurar la homogenización de la mezcla, por lo que los elementos se añaden en un recipiente que contiene perlas de circonia y además se utiliza una mezcladora (*THINKY ARE-250*) al agregar estos elementos. La mezcladora permite modificar el tiempo y las revoluciones de trabajo según las características de la tinta. Es necesario, también, el uso de una balanza para asegurar la dosificación correcta de los componentes, la empleada ha sido la *CB Complet de COBOS*. Ambos elementos aparecen en la Figura 2.2.



Figura 2. 2 Equipo empleado.

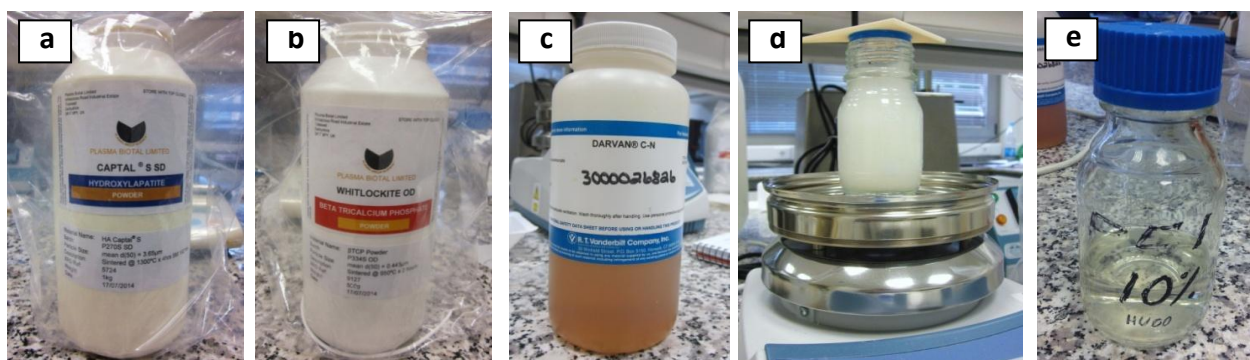
Las tintas deben elaborarse con una concentración de polvo que debe ser la máxima factible, para que el encogimiento que se produce durante un proceso de sinterizado posterior sea el mínimo posible. Para conseguir una tinta estable con un alto porcentaje en sólido es necesaria la adición de un dispersante (Darvan C-N, R.T. Vanderbilt Company, Norwalk) (Figura 2.3.c) que se trata de un polielectrolito catiónico consistente en polimetacrilato de amonio. Actúa cubriendo la superficie de las partículas de polvo cerámico y hace que las mismas, al cargarlas todas positivamente, se repelan.

Deben tener también unas propiedades viscoelásticas adecuadas para fluir a través de la punta durante la impresión, ser capaz de retener su forma a la salida de la boquilla extrusora y soportar su propio peso durante el proceso de ensamblaje. Si la textura es demasiado fluida, la tinta sale

por la boquilla de forma incontrolada incluso sin realizar presión, si es demasiado espesa, obstruye la boquilla. Al aplicar un agente viscoso se consigue formar una red de partículas débilmente ligadas [1], el viscosificante empleado ha sido hidroxipropil metilcelulosa (Methocel F4M, Dow Chemical Company, Midland) al 5% (Figura 2.3.d), con el objetivo de aumentar la viscosidad de las suspensión.

Por último se añade un floculante, un polielectrolito aniónico (Polietilenimina PEI, Sigma-Aldrich, St. Louis, EE UU) (Figura 2.3.e). Este agente es responsable de la aglutinación de las partículas en suspensión de la mezcla. Se emplea una disolución al 10 % para poder trabajar con medidas más cómodas. La adición del floculante es un paso clave, existe un punto óptimo que al sobrepasarlo se produce la floculación de las partículas obteniendo el resultado contrario al requerido.

Para comprobar que la tinta es capaz de soportar su propio peso durante la deposición del material, antes de cargar la tinta en la jeringuilla de extrusión, se rellena una cierta cantidad sobre una jeringuilla normal y se coloca la punta con la que se va a imprimir, comprobando al realizar presión que la tinta sale correctamente sin interrumpirse. Todos los componentes citados son mostrados a continuación.



**Figura 2.3 Material empleado: polvos de HAp (a), polvos de  $\beta$ -TCP (b), dispersante (c), viscosificante (d) y floculante (e).**

El contenido en sólido de las tintas es del 40 %. Para conocer la cantidad a añadir necesaria de cada componente se desarrollan los siguientes cálculos:

- 1 Volumen total ( $V_t$ ): Se ha tomado un volumen de tinta total, para todas las medidas, de 15 ml.
- 2 La tinta contiene un 40% en volumen de sólido ( $V_s$ ), tanto HAp como de beta-TCP. Al realizar mezclas el volumen de HAp y TCP empleados debe tenerse en cuenta, para obtener un 40% en volumen entre los dos sólidos.

$$V_s = \frac{40}{100} V_T \text{ (ml)} \quad (1)$$

- 3 Para conocer la cantidad de sólido ( $m_s$ ) a emplear (masa) necesitamos el valor de la densidad, para la hidroxiapatita el valor se corresponde con 3.156 g/ml y para el beta-TCP es de 3.07 g/ml.



$$m_s = m_{HAP} + m_{TCP} \quad (2)$$

$$m_{HAP} = V_{HAP} \cdot d_{HAP} \text{ (g)} ; m_{TCP} = V_{TCP} \cdot d_{TCP} \text{ (g)} \quad (3)$$

- 4 Volumen de líquidos: Será el volumen total de la tinta restándole el volumen ocupado por el sólido.

$$V_T - V_{HAP} - V_{TCP} = V_L \text{ (ml)} \quad (4)$$

- 5 Masa de Viscosificante: Por cada ml de líquido se emplean 7 mg de viscosificante. Además, como el viscosificante empleado es Methocel al 5%, se tendrá en cuenta en los cálculos para obtener finalmente gramos:

$$m_{METH} = 7 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \cdot V_L \text{ (mg)} \rightarrow m_{METH 5\%} = \frac{m_{METH}}{0.05} \text{ (g)} \quad (5)$$

- 6 Masa de dispersante ( $m_{DC}$ ): La cantidad de dispersante empleada varía según el tipo de material sólido utilizado, ya que su finalidad es la de recubrir todas las partículas. La cantidad para dispersar correctamente tintas puras de HAp es de un 1.5% en peso y para el TCP de un 2.5%. porque el tamaño de partícula es menor y por tanto tiene mayor superficie específica. Por tanto la cantidad de dispersante empleada se calcula finalmente como:

$$m_{DC} = m_{HAP} \cdot 0.015 + m_{TCP} \cdot 0.025 \text{ (g)} \quad (6)$$

- 7 Masa de floculante: Se emplea un 0.05% en volumen de PEI puro respecto al volumen total de líquidos, al ser esta cantidad tan pequeña se diluye el floculante a un 10% en agua. La densidad del PEI se considera de 1 g/ml, obteniendo su masa de la siguiente forma:

$$V_{PEI 10\%} = 0.05V_L \text{ (ml)} \rightarrow m_{PEI 10\%} = V_{PEI 10\%} \text{ (g)} \quad (7)$$

- 8 Masa de agua: Para obtener el valor de la cantidad de agua a incluir se resta a la masa total de líquidos ( $m_L$ ) las cantidades de viscosificante, dispersante y floculantes antes calculadas:

$$m_{H2O} = m_L - m_{METH 5\%} - m_{DC} - m_{PEI 10\%} \text{ (g)} \quad (8)$$

Una vez añadidos y mezclados todos los ingrediente la tinta está lista para imprimir con ella siendo el siguiente paso la preparación del equipo de moldeo robotizado para ejecutar la impresión de las piezas.

### 2.3 Impresión de los andamiajes mediante moldeo robotizado

El equipo empleado para la fabricación de los andamiajes (Aerotech A3200), es una máquina de moldeo robotizado que a partir del documento de RoboCAD realiza los movimientos necesarios en los tres ejes del espacio consiguiendo reproducir la pieza modelada.

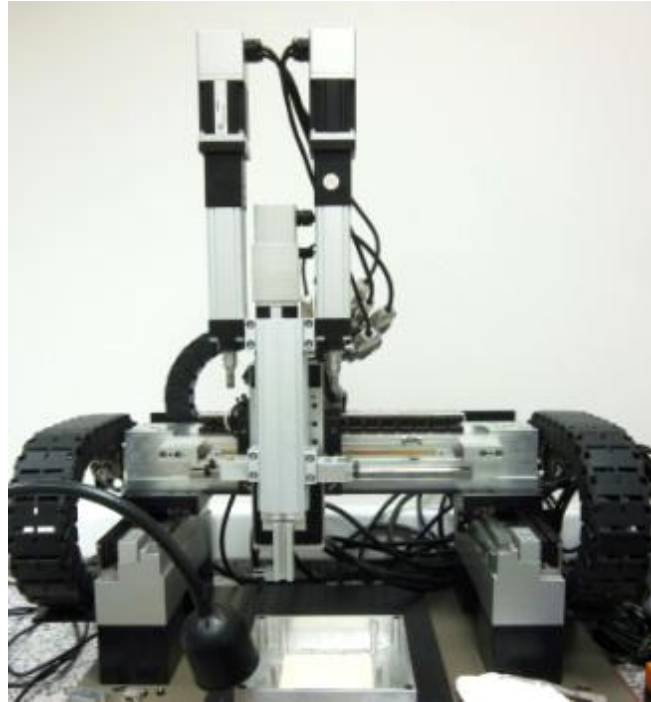


Figura 2. 4 Equipo de moldeo robotizado (Aerotech A3200)

El equipo (Figura 2.4) consta en una bancada con dos guías laterales sobre las que un puente perpendicular a ellas se desplaza en una dirección. A su vez, el puente tiene otra guía que permite a la torre moverse en otra de las direcciones. Dos émbolos van incorporados en la torre. Al imprimir solo con una tinta se emplea solo uno de ellos. El desplazamiento del émbolo es el responsable de la impresión, ya que al moverse desplaza el pistón de la jeringuilla haciendo que la tinta salga. Justamente en el medio, va colocada una bandeja sobre la que se deposita la tinta.

Primeramente se procede a la carga de la tinta en una jeringa de impresión (Figura 2.5.a) mediante una espátula. Es muy importante eliminar el aire que hay en el interior, pues la burbuja que se encuentre en la boquilla durante la impresión cortará el proceso. La forma de reducir el número de burbujas es golpear la base de la jeringuilla haciendo que el aire vaya a la parte superior vacía. Con ayuda del pistón que va después enroscado sobre el émbolo del sistema, se puede realizar este proceso varias veces. Una vez retirado el aire, se monta en el equipo (Figura 2.5.b). Va recubierta con una funda metálica, y la tinta llega a la boquilla a través de una extensión de plástico más fina.





Figura 2. 5 Jeringuilla preparada para montaje en el sistema. Montaje de la misma sobre el equipo.

Después se ejecuta el diseño creado en RoboCAD. Al imprimir se puede ajustar la velocidad a la que se desplaza la torre. La fuerza que el pistón realiza sobre el émbolo es la máquina la que se adecúa automáticamente, para alcanzar la presión de impresión adecuada.

Las tintas se depositan a través de puntas de 410  $\mu\text{m}$  sobre una placa cerámica que está sumergida en un baño de aceite de parafina para que el secado de la tinta sea uniforme, como se comentó en el apartado 1.3. La placa va fijada en la base de aluminio. Por último, se coloca la punta en el lugar donde debe comenzar la impresión, a una distancia muy próxima a la placa. La impresión comienza con un *lead in*, ya que al principio el equipo ajusta la presión con la que se inyecta la tinta y sale gran cantidad. Este *lead in*, debe tenerse en cuenta al realizar el diseño de la pieza.

## 2.4 Secado y sinterizado

Las probetas hasta este punto son muy frágiles debido al débil enlace entre partículas, para que adquieran resistencia mecánica es necesario que se produzca cierta densificación. Para lo que se lleva a cabo un proceso de sinterizado.

El proceso consiste en calentar el material a alta temperatura pero siempre inferior a la temperatura de fusión de la mezcla, durante tiempo suficiente como para que las partículas se unan. Para conocer que temperatura es la adecuada para realizar la sinterización de los andamiajes, se estudian el proceso para 1100  $^{\circ}\text{C}$ , 1200  $^{\circ}\text{C}$  y 1300  $^{\circ}\text{C}$ , sobre barras de composición 50 HAp - 50  $\beta$ -TCP, y se analizan los resultados mediante la realización de ensayos de flexión.

El sinterizado de barras se lleva a cabo en un horno convencional (CHESA, España). La mayor temperatura de sinterización empleada es 1300 $^{\circ}\text{C}$ , ya que a partir de ella aparecen fisuras debidas a la transformación de la fase  $\beta$  a  $\alpha$  del TCP [2], comprometiendo el resultado.

El ciclo de sinterizado empleado consta de una primera rampa de 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta alcanzar los 400  $^{\circ}\text{C}$  donde se estaciona durante una hora con lo que se consigue eliminar los orgánicos presentes en la tinta. A continuación, sigue otra rampa hasta alcanzar los 1100  $^{\circ}\text{C}$ , 1200  $^{\circ}\text{C}$  o 1300

°C a una velocidad de 3°C/min, manteniéndose la temperatura de nuevo durante una hora. Por último, se vuelve a la temperatura ambiente a una velocidad de 10 °C/min. En la Figura 2.6 se muestra como ejemplo el ciclo de 1300 °C.

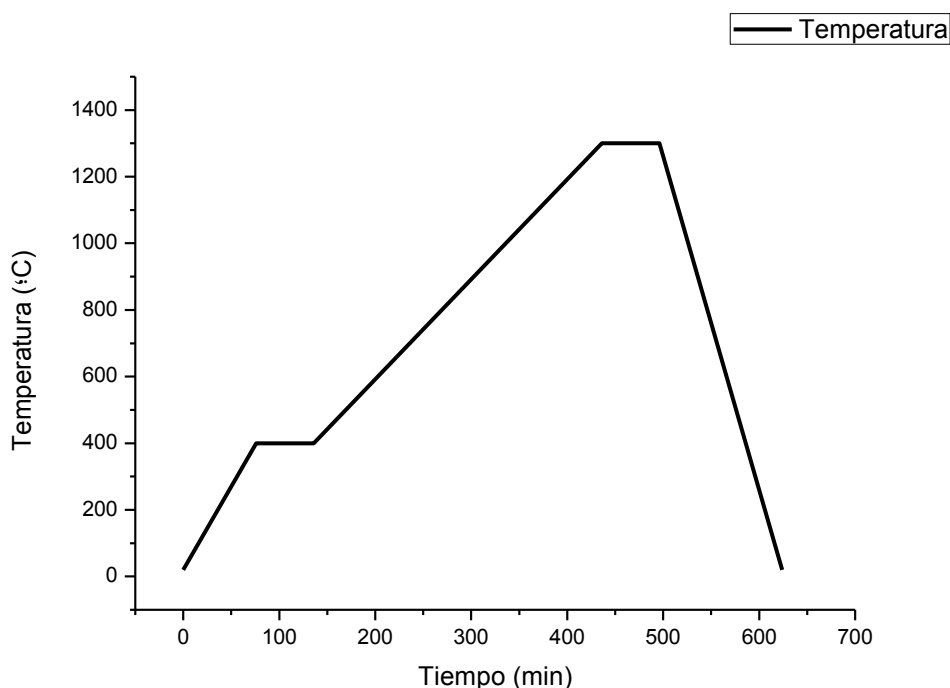


Figura 2. 6 Ciclo de sinterización a 1300°C.

### 2.5 Determinación de dimensiones y densidad de barras individuales

Una vez obtenidas las barras sinterizadas se realiza la medida de densidades, para lo que se tienen en cuenta la masa de las barras, su longitud y su diámetro. Para obtener una medida estadística se obtienen valores en cinco barras para cada condición de sinterizado, siendo el resultado final una media aritmética de todas las medidas.

Se mide la longitud en cada una de ellas utilizando un calibre y se obtiene su masa mediante una balanza de gran precisión. Utilizando microscopía óptica se mide el diámetro de las barras después de cada proceso de sinterización. Las micrografías fueron tomadas con aumento X20 enfocando los bordes de las mismas con la mayor precisión posible. La Figura 2.7 muestra las medidas realizadas sobre una de las barras.

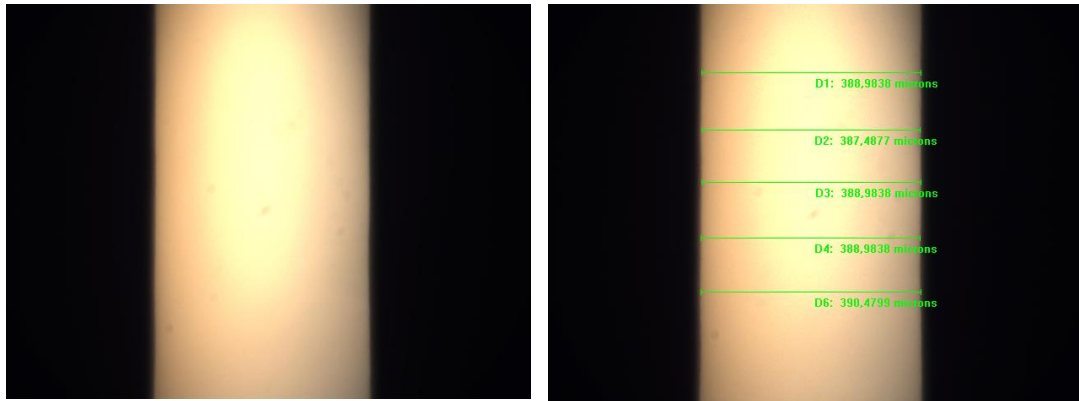


Figura 2. 7 Micrografía obtenida mediante microscopía óptica y correspondiente medida de diámetros.

El diámetro de la punta empleada para la impresión de las barras es 410  $\mu\text{m}$  (igual que la empleada en la impresión de los andamiajes) a partir de dicho valor y de los diámetros medios medidos se calcula el diámetro relativo.

$$\Phi_{\text{relativo}} = \frac{\Phi_{\text{medio}}}{\Phi_{\text{teórico}}} \times 100 \quad (9)$$

En el caso de la densidad también se puede mostrar la densidad relativa de la misma forma que con el diámetro. La densidad teórica de la hidroxiapatita tiene un valor de 3,16  $\text{g}/\text{cm}^3$  y la del  $\beta$ -TCP 3.07  $\text{g}/\text{cm}^3$ . A partir de dichos valores y de las densidades calculadas se obtiene la densidad relativa mediante la expresión (10) y aplicando la regla de las mezclas.

$$d_{\text{relativa}} = \frac{d_{\text{media}}}{d_{\text{teórica}}} \times 100 \quad (10)$$

## 2.6 Resistencia a flexión de barras cilíndricas

En este apartado se presentan el procedimiento seguido para la realización de los ensayos de flexión sobre las barras sinterizadas y se comparan los resultados.

La resistencia a flexión viene dada por el valor del radio de las barras y la fuerza máxima que resisten antes de romper. Para obtener la tensión de rotura de las barras, se realiza un ensayo de flexión en tres puntos (Figura 2.8.a) utilizando una máquina de ensayos universal (Shimadzu, Japón) (Figura 2.8.b).

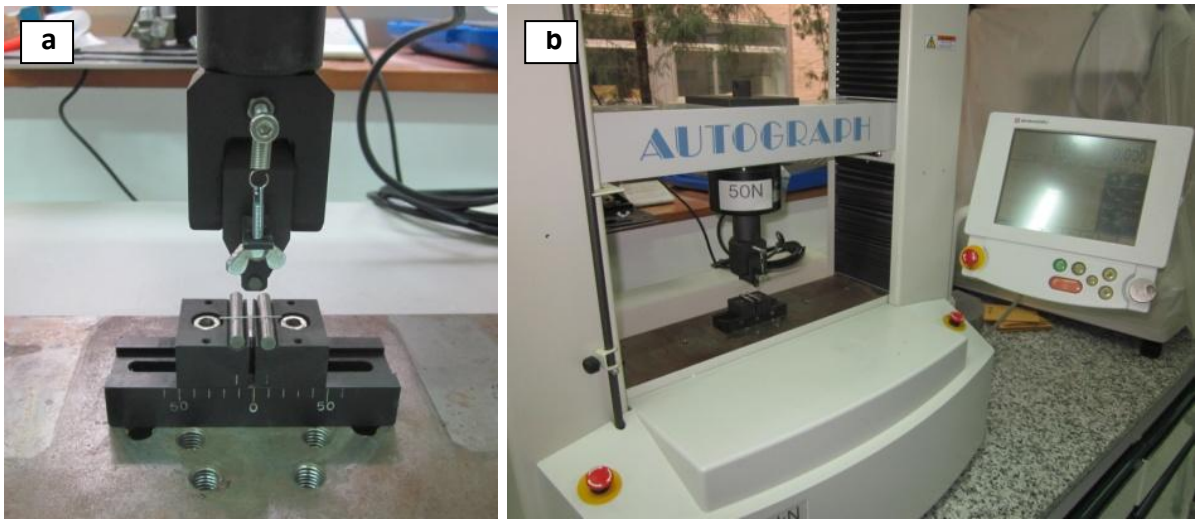


Figura 2. 8 Máquina de ensayo

El programa proporciona curvas de Fuerza – Desplazamiento. Como ejemplo se muestra el ensayo de una de las muestras en la Figura 2.9. En este caso la barra rompe al llegar a los 0,078 N. A partir de dicho valor máximo se obtiene el valor de la resistencia a flexión en tres puntos.

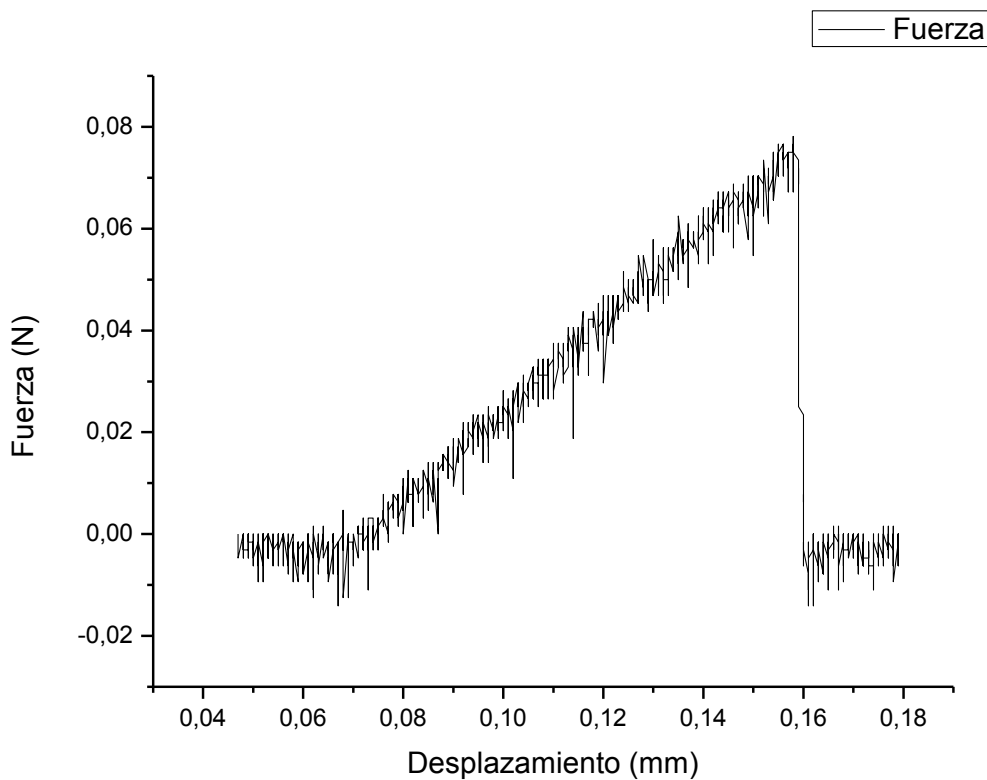


Figura 2. 9 Ensayo de flexión en 3 puntos. Curva Fuerza-Desplazamiento.

El ensayo se realiza sobre 25 barras para cada una de las temperaturas de sinterización. En este punto se pueda ya calcular la resistencia máxima a flexión. Se obtiene a partir de la carga máxima (F), la distancia entre los puntos de apoyo más alejados (L) y el radio medio de las barras (r):

$$\sigma_f = FL/\pi r^3 \quad (11)$$

Es importante tener en cuenta que en los cerámicos existe una dispersión considerable de defectos haciendo que la resistencia a fractura tenga valores muy dispersos a su vez, lo que significa que piezas de un mismo material cerámico pueden fallar a distintos valores de fuerza aplicada. Para poner más claramente en manifiesto las diferencias de resistencias y debido al carácter estadístico de la ruptura de las barras se realiza un análisis de Weibull. Dicho análisis representa la probabilidad de fallo frente a la máxima resistencia a flexión, comparando su valor para las tres temperaturas de sinterización.

La probabilidad de fallo viene definida por P, m es el módulo de Weibull (pendiente de la recta en la ecuación 13) y  $\sigma_0$  es el valor central de la distribución. La dispersión es menor a mayor pendiente, es decir a mayor pendiente más fiable es el comportamiento del material.

$$P = 1 - e^{-(\sigma/\sigma_0)^m} \quad (12)$$

$$\log \left[ \ln \left( \frac{1}{1-P} \right) \right] = m \cdot \log \sigma - m \cdot \log \sigma_0 \quad (13)$$

## 2.7 Sinterizado de los andamiajes

Una vez que los andamiajes fueron secados al aire se procede a realizar su sinterización. Para la sinterización de los andamiajes, el horno empleado fue un horno ascensor de Thermolab (Figura 2.10), y la temperatura fue la óptima determinada a partir del análisis de las propiedades de barras individuales: 1300 °C. El ciclo de sinterizado empleado fue el mismo que el presentado en el apartado 2.4.



Figura 2. 10 Horno Thermolab empleado en la sinterización de scaffolds.

Una vez terminada la sinterización se procede a la obtención de las probetas. Como se veía en apartados anteriores cada pieza impresa consistía en 9 probetas. Para realizar los ensayos se deben separar las piezas. Además, hay que tener en cuenta que para realizar los ensayos de compresión las superficies de apoyo deben ser planoparalelas. En la Figura 2.11 se muestran los resultados.

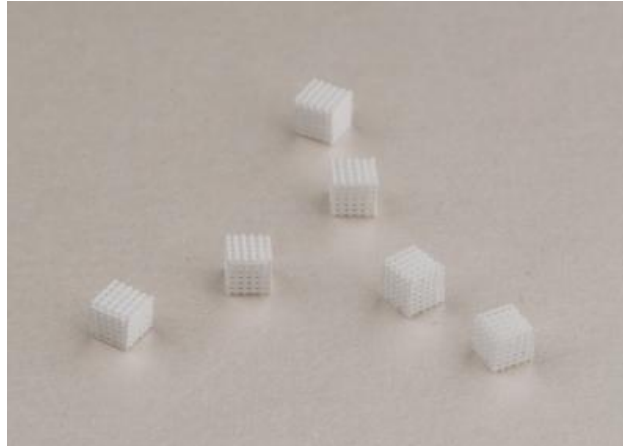


Figura 2.11 Andamiajes obtenidos tras la sinterización y corte.

Con el objetivo de comprobar la calidad de la tinta fabricada y el diseño empleado se midió la resistencia a fractura, así como también se obtuvo la porosidad de las mismas.

## 2.8 Determinación de la porosidad de los andamiajes

Para obtener la porosidad se han tomado valores de masa y volumen del mismo número de probetas de cada composición para el cálculo de la densidad. El volumen se ha obtenido a partir de las dimensiones de las probetas utilizando un calibre, así como se emplea una balanza para la obtención de la masa. A partir de los valores de densidad es posible conocer el valor de la porosidad que presentan las muestras. Se define la porosidad como el volumen de espacios vacíos en el volumen total y se relaciona con la densidad de la siguiente manera, aplicando la regla de las mezclas para cada composición.

$$P = \left( 1 - \frac{d_{\text{aparente}}}{d_{\text{teórica}}} \right) \times 100 \quad (13)$$

Por otra parte, la porosidad total está compuesta por una porosidad macrométrica y otra micrométrica. La primera se corresponde con el espacio libre entre barritas y su valor es aproximadamente el 50% del volumen total de la pieza—estimado a partir de consideraciones geométricas [3], y la microporosidad es una consecuencia de los huecos existentes entre los granos de material que no se han cerrado totalmente tras la sinterización, su tamaño y proporción dependen de las condiciones de sinterización (temperatura y tiempo) [4] y su valor referido al volumen total del andamio se corresponde con el valor de la porosidad total menos el 50% correspondiente a la macroporosidad, Figura 2.12.

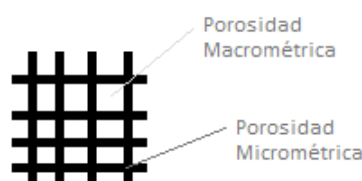


Figura 2.12 Porosidad macro y micrométrica

## 2.9 Resistencia a compresión de los andamiajes

La resistencia a compresión ha sido determinada empleando la máquina de ensayos universal "Autograph AG-IS" de Shimadzu (Figura 2.13.a) mediante ensayos de compresión uniaxial (Figura 2.13.b), con una célula de carga de 5 kN y una velocidad de travesía de 6 mm/min. Realizando todos los ensayos en dirección perpendicular al plano de impresión.

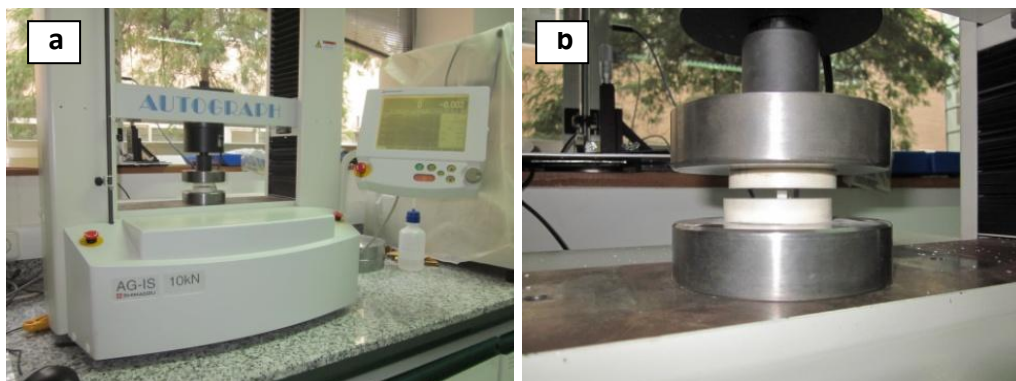


Figura 2. 13 Máquina de ensayo universal

Durante los ensayos se registra la Fuerza aplicada sobre la probeta frente al desplazamiento. El mismo programa proporciona las curvas de Fuerza – Desplazamiento registradas, además de los valores registrados en cada instante.

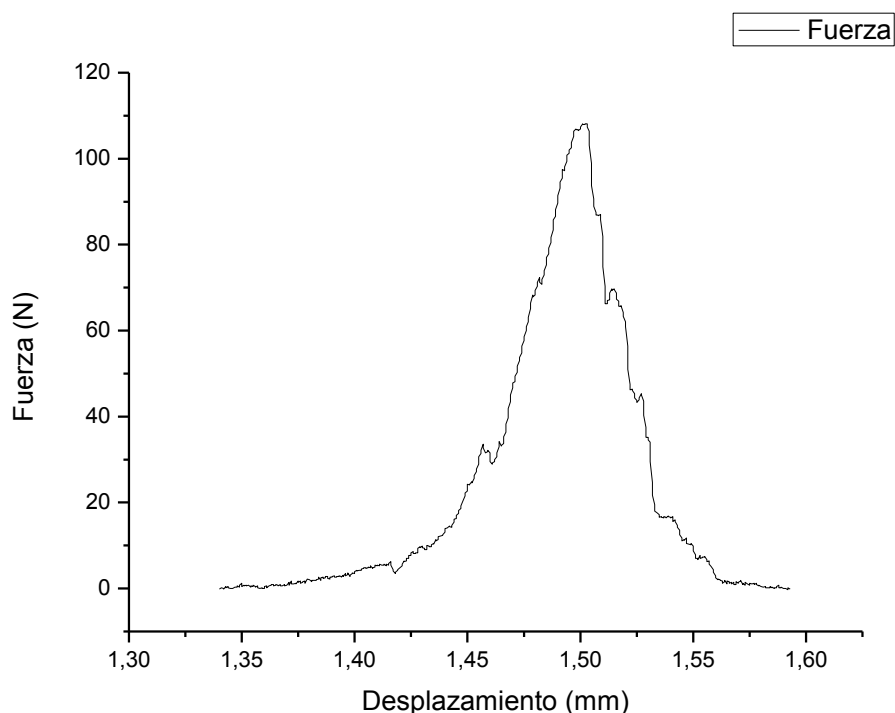


Figura 2. 14 Curva Fuerza - Desplazamiento proporcionada por el programa.



Por último, para obtener el valor de la tensión de rotura se determina el valor de la carga máxima que soporta la probeta (valor máximo en la curva de la Figura 2.14) dividido por la sección de las probetas (expresión 14). Para obtener un valor estadístico fiable se realizan ensayos sobre 25 andamiajes, para realizar de nuevo un análisis de Weibull, esta vez comparando las distintas composiciones.

$$\text{Tensión} = \frac{\text{Fuerza máxima soportada}}{\text{Área de la base}} \quad (14)$$

## 2.10 Referencias

- [1] J.E. Smay, J. Cesarano III y J.A. Lewis, "Colloidal inks for directed assembly 3-D of periodic structures", *Langmuir* 18 (2002), pp. 5429-5437.
- [2] F.J. Martínez-Vázquez, F.H. Perera, P. Miranda, A. Pajares, F. Guiberteau. *Efecto de la temperatura y el tiempo de sinterización en la resistencia a fractura, crecimiento de grano y densificación del beta-fosfato tricálcico*. XI Congreso Nacional de Propiedades Mecánicas de Sólidos (2008).
- [3] S. Eqtessadi et al. / *Journal of the European Ceramic Society* 34 (2014) 107–118.
- [4] R. Z. Legeros, S. LIN, R. Rohanizadeh, D. Mijares, J. P. Legeros. *Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications*. *Journal of Material Science: materials in medicine* 14 (2003).



### 3 RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se exponen los resultados obtenidos en la preparación de las tintas, en el estudio de la optimización de la temperatura de sinterización, y en la elaboración y caracterización mecánica de los andamiajes.

#### 3.1 Elaboración de las tintas e impresión de andamiajes

En la Tabla 3.1 se indica para cada mezcla realizada la cantidad de componente empleado.

Tabla 3. 1 Composición de las mezclas

	80HAp 20TCP 40%	60HAp 40TCP 40%	40HAp 60TCP 40%	20HAp 80TCP 40%	20HAp 80TCP 37%
$V_T$	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml
$V_{HAp}$	4.8 ml	3.6 ml	2.4 ml	1.2 ml	1.11 ml
$V_{TCP}$	1.2 ml	2.4 ml	3.6 ml	4.8 ml	4.44 ml
$m_{HAp}$	15.15 g	11.36 g	7.57 g	3.79 g	3.50 g
$m_{TCP}$	3.79 g	7.57 g	11.36 g	15.15 g	14.01 g
$V_L$	9 ml	9 ml	9 ml	9 ml	9.45 ml
$m_{METH}$	1.26 g	1.26 g	1.26 g	1.26 g	1.42 g
$m_{DC}$	0.322 g	0.36 g	0.40 g	0.43 g	0.40 g
$m_{PEI}$	0.45 g	0.45 g	0.45 g	0.45 g	0.47 g
$m_{H2O}$	6.97 g	6.93 g	6.89 g	6.86 g	7.16 g

Las tintas de 80 HAp - 20 TCP, 60 HAp - 40 TCP y 40 HAp - 60 TCP presentan buenas características para la fabricación de andamiajes. Tienen una textura adecuada que les permite fluir a través de la punta teniendo las barras que componen las probetas forma cilíndrica. Durante la impresión se comporta de forma correcta, sin atascos importantes. En el caso de la mezcla de 20 HAp - 80 TCP, ha sido necesario bajar el contenido en sólido ya que el dispersante no es suficiente para cubrir la superficie específica de los granos de TCP. Al subir la cantidad de dispersante cambiarían las propiedades por lo que se opta, para mantener la proporción, por pasar del 40% de contenido en sólido al 37%. En la Figura 3.1 se muestran imágenes durante la fabricación de la tinta, donde se puede observar la textura conseguida y el resultado de la impresión.



Figura 3. 1 Mezcla al terminar de añadir todos los componentes. Consistencia final.

### 3.1.1 Optimización de la temperatura (o proceso) de sinterización

Las medidas de diámetro obtenidas mediante microscopía electrónica se muestran en la Tabla 3.2, Tabla 3.3 y Tabla 3.4 para 1100 °C, 1200 °C y 1300°C respectivamente.

**Tabla 3. 2 Diámetro barras (micras) a T = 1100 °C**

BARRA 1		BARRA 2		BARRA 3		BARRA 4		BARRA 5	
384,49	388,98	383	384,49	388,98	388,98	375,52	375,52	374,02	374,02
384,5	387,49	383	384,49	387,49	388,98	374,02	378,51	372,53	374,02
385,99	388,98	383	385,99	388,89	385,99	372,53	378,51	372,53	369,53
385,99	388,98	384,49	383	388,89	387,49	374,02	375,52	372,53	366,54
385,99	391,98	381,5	384,49	390,48	388,98	372,53	375,52	369,53	366,54

**Tabla 3. 3 Diámetro barras (micras) a T = 1200 °C**

BARRA 1		BARRA 2		BARRA 3		BARRA 4		BARRA 5	
388,98	383	357,57	356,07	357,57	357,58	360,56	354,57	359,06	365,06
386	381,5	357,57	354,57	357,56	357,56	359,07	354,59	360,56	362,05
385,99	386	359,06	356,07	357,56	357,56	359,07	354,37	362,05	363,56
385,99	383	356,07	354,57	354,57	356,07	360,57	354,59	360,56	365,06
385,99	383	357,57	356,07	356,07	356,07	360,56	351,58	359,06	363,55

**Tabla 3. 4 Diámetro barras (micras) a T = 1300 °C**

BARRA 1		BARRA 2		BARRA 3		BARRA 4		BARRA 5	
333,63	333,63	326,15	323,15	326,15	327,66	333,63	335,12	330,64	344,1
333,63	335,13	324,65	324,65	326,15	324,65	333,65	335,14	330,65	341,11
333,63	336,62	326,15	324,65	326,15	326,15	332,13	336,62	329,14	339,64
335,12	335,12	324,65	321,66	321,66	326,15	330,64	333,63	335,15	345,6
333,63	336,62	326,15	320,16	323,16	326,16	330,65	330,65	335,13	342,61

Los valores medios de los diámetros medidos con su desviación estándar además de su variación relativa con respecto a la punta de extrusión aparecen en la Tabla 3.5. También, en la Figura 3.2 se ilustra el valor medio del diámetro en cada caso, donde se puede observar claramente que su valor disminuye al aumentar la temperatura de sinterización. Se observa una contracción de entre el 7 y el 19 %. Dicha contracción es debida a la densificación que se produce durante el sinterizado de las barras.

Tabla 3. 5 Valor media de diámetros y su desviación estándar

TEMPERATURA (°C)	DIÁMETRO MEDIO (μm)	DIÁMETRO RELATIVO (%)
1100	382 ± 8	93 ± 2
1200	363 ± 12	89 ± 3
1300	331 ± 6	81 ± 1

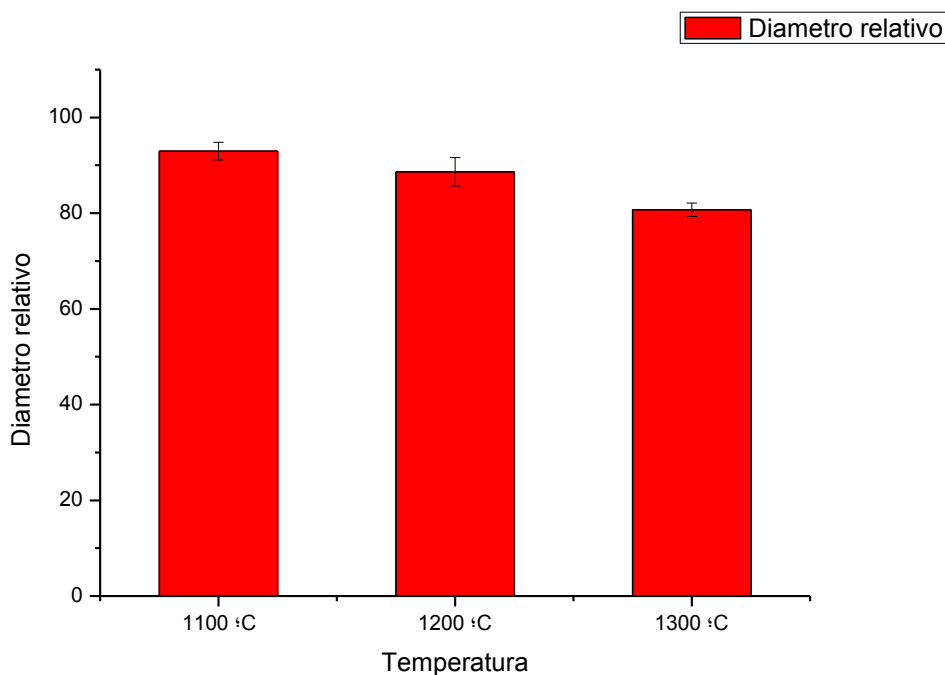


Figura 3. 2 Comparación de diámetros para las tres temperaturas de sinterización.

A continuación se presentan en la Tabla 3.6 los datos tomados para el cálculo de la densidad.

Tabla 3. 6 Datos de longitud y masa para cada temperatura

T = 1100 °C		T = 1200 °C		T = 1300 °C	
L (mm)	m (g)	L (mm)	m (g)	L (mm)	m (g)
31,91	0,0056	33,31	0,0064	35,04	0,0064
28,52	0,0045	32,51	0,0051	32,5	0,0056
27,54	0,0048	28,78	0,0046	34,01	0,0057
41,92	0,007	29,03	0,0049	26,22	0,0045
38,48	0,006	26,86	0,0043	25,43	0,0048

Como resultado las densidades calculadas para las cinco barras son, para cada temperatura, las mostradas en Tabla 3.7.

Tabla 3. 7 Densidad de las barras

DENSIDADES (g/cm <sup>3</sup> )		
T = 1100 °C	T = 1200 °C	T = 1300 °C
1,48933487	1,65088598	2,07623181
1,36422699	1,57143691	2,08728806
1,47018106	1,59839853	2,01526217
1,51012852	1,68669312	1,96840944
1,4409818	1,55495438	2,11141225

Los valores medios de densidad con su desviación estándar se representan en la Tabla 3.8 y en la Figura 3.3. Se observa que la densidad, efectivamente, aumenta al aumentar la temperatura de sinterizado. La mayor densidad relativa conseguida es de un 65% (Tabla 8), a 1300 °C, la máxima temperatura de sinterización analizada.

Tabla 3. 8 Densidad media y desviación estándar

TEMPERATURA (°C)	DENSIDAD (g/cm <sup>3</sup> )	DENSIDAD RELATIVA (%)
1100	1,4 ± 0,1	47 ± 2
1200	1,6 ± 0,1	52 ± 2
1300	2 ± 0,1	66 ± 2

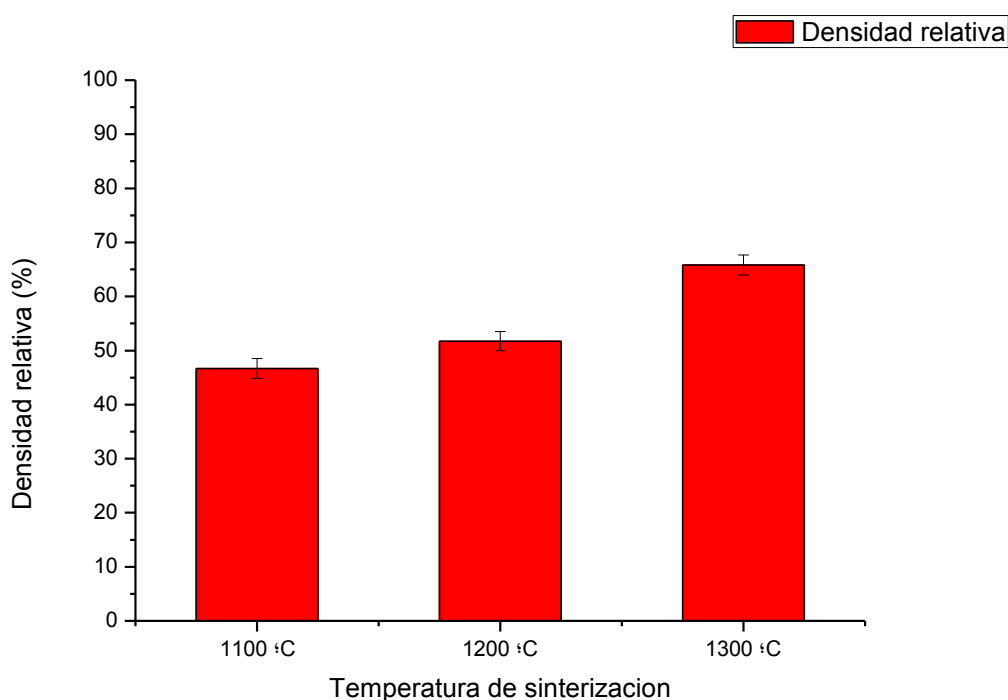


Figura 3. 3 Densidad relativa de barras para las tres temperaturas de sinterización.

### 3.1.2 Resistencia a flexión de barras individuales

Los valores máximos resultantes en el ensayo de flexión en tres puntos para los 25 ensayos en cada temperatura se muestran en la Tabla 3.9. Estos valores indican que la temperatura a la cual se obtienen mejores resultados es a 1300°, ya que a dicha temperatura las resistencias a flexión soportadas son las mayores a pesar de que, como se veía anteriormente, los radios de las barras son menores.

**Tabla 3. 9 Carga máxima soportada (N)**

F (N)			Resistencia (MPa)		
T = 1100 °C	T = 1200 °C	T = 1300 °C	T = 1100 °C	T = 1200 °C	T = 1300 °C
0,031	0,048	0,086	13,65	24,334	57,855
0,033	0,048	0,061	14,53	24,334	41,036
0,03	0,039	0,064	13,21	19,771	43,055
0,031	0,042	0,105	13,65	21,292	70,636
0,03	0,034	0,07	13,21	17,236	47,091
0,031	0,041	0,07	13,65	20,785	47,091
0,036	0,047	0,069	15,85	23,827	46,418
0,036	0,045	0,106	15,85	22,813	71,309
0,03	0,041	0,07	13,21	20,785	47,091
0,028	0,047	0,064	12,33	23,827	43,055
0,038	0,039	0,061	16,73	19,771	41,036
0,039	0,039	0,078	17,17	19,771	52,473
0,028	0,042	0,061	12,33	21,292	41,036
0,031	0,042	0,073	13,65	21,292	49,109
0,03	0,045	0,067	13,21	22,813	45,073
0,034	0,038	0,07	14,97	19,264	47,091
0,03	0,048	0,067	13,21	24,334	45,073
0,033	0,047	0,078	14,53	23,827	52,473
0,033	0,044	0,066	14,53	22,306	44,4
0,031	0,047	0,072	13,65	23,827	48,436
0,028	0,048	0,077	12,33	24,334	51,8
0,044	0,05	0,08	19,37	25,348	53,818
0,033	0,045	0,07	14,53	22,813	47,091
0,039	0,059	0,078	17,17	29,91	52,473
0,039	0,039	0,073	17,17	19,771	49,109

En la Figura 3.4 se muestra el diagrama de Weibull con los resultados de resistencia a compresión de las muestras. Los símbolos se corresponden con los valores medidos y las líneas son el ajuste realizado usando la función de probabilidad de Weibull. A la vista de estos resultados, se decide emplear una temperatura de sinterización de 1300° para el estudio de las propiedades de los andamiajes.

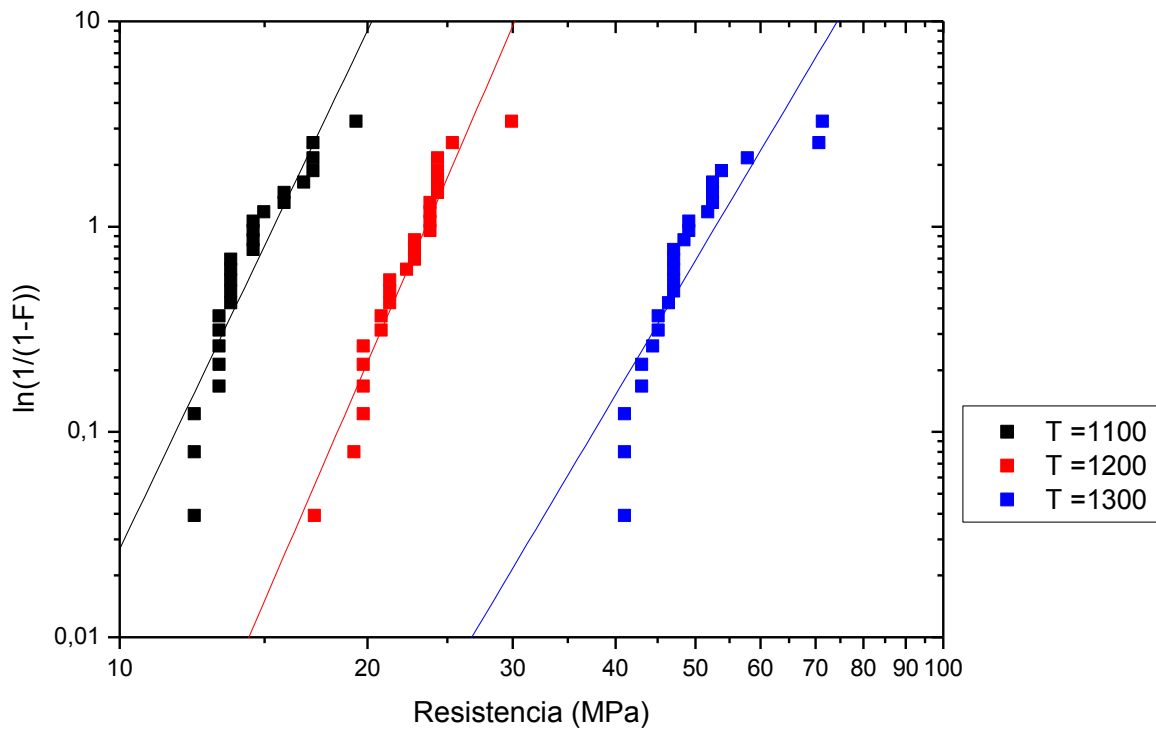


Figura 3. 4 Análisis de Weibull

## 3.2 Caracterización de andamiajes

Los resultados de la caracterización microestructural y mecánica de los andamiajes fabricados se resumen a continuación.

### 3.2.1 Porosidad de los andamiajes

En primer lugar se analiza la densificación que se ha producido en los andamiajes, ya que buena parte de las propiedades mecánicas va a depender de este resultado. En la Tabla 3.10 aparecen las características resumidas de los andamiajes para las cuatro mezclas diferentes. La masa y las dimensiones medidas permiten el cálculo de la densidad final de las probetas.

**Tabla 3. 10 Resumen de características de las probetas**

MEZCLAS	VOLUMEN	MASA
80 TCP 20 HAp	0,041 ± 0,002	0,043 ± 0,001
60 TCP 40 HAp	0,038 ± 0,009	0,037 ± 0,008
40TCP 60 HAp	0,024 ± 0,002	0,023 ± 0,003
20 TCP 80 HAp	0,037 ± 0,004	0,035 ± 0,004

La densidad aparente se calcula a partir de los valores de masa y volumen mostrados en la Tabla 3.10. Obteniendo en cada caso una densidad con valores prácticamente constantes para todas las composiciones de alrededor de 1 g/cm<sup>3</sup> (Tabla 3.11).

**Tabla 3. 11 Valores de densidad absoluta**

MEZCLAS	DENSIDAD ABSOLUTA
*100 TCP 0 HAp	1,10 ± 0,08
80 TCP 20 HAp	1,04 ± 0,02
60 TCP 40 HAp	0,96 ± 0,02
40 TCP 60 HAp	0,95 ± 0,02
20 TCP 80 HAp	0,98 ± 0,07
*0 TCP 100 HAp	0,90 ± 0,02

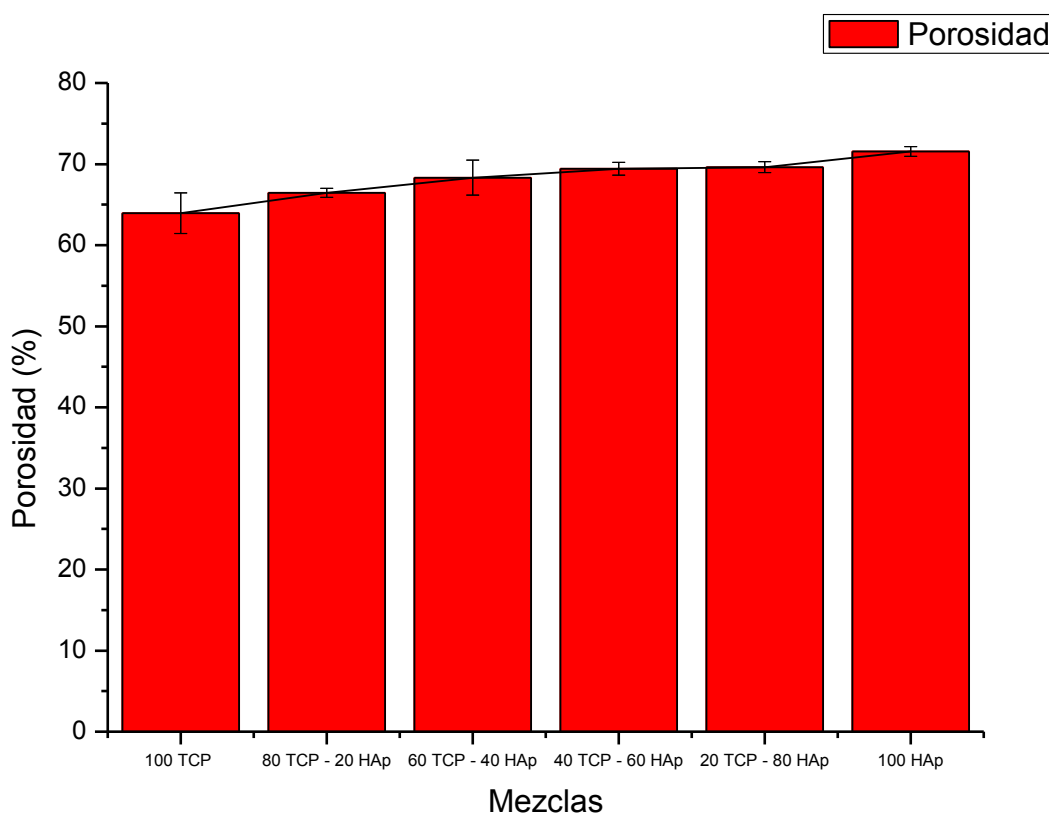
\* Valores obtenidos por Fco. Javier González González en su Proyecto Fin de Grado *Fabricación y caracterización mecánica de estructuras porosas de fosfatos cálcicos*.

Los valores de porosidad de los andamiajes calculados a partir de los valores de densidad aparecen recogidos en la Tabla 3.12.

**Tabla 3. 12 Porosidad de las muestras**

MEZCLAS	POROSIDAD
*100 TCP 0 HAp	63,94 ± 2,49
80 TCP 20 HAp	66,46 ± 0,55
60 TCP 40 HAp	68,32 ± 2,17
40 TCP 60 HAp	69,41 ± 0,79
20 TCP 80 HAp	69,63 ± 0,67
*0 TCP 100 HAp	71,56 ± 0,59

Estos valores se encuentran representados gráficamente en la Figura 3.5, y ponen de manifiesto que la composición de la mezcla no afecta significativamente a la porosidad final de la estructura.



**Figura 3. 5 Valores medios de Porosidad**

\* Valores obtenidos por Fco. Javier González González en su Proyecto Fin de Grado *Fabricación y caracterización mecánica de estructuras porosas de fosfatos cálcicos*.



Estos resultados muestran que las estructuras presentan, prácticamente, un 70% en volumen de poros, de los cuales un 50 % corresponde a la macroporosidad prediseñada en el modelo de robocasting, y el restante casi 20 % proviene de la microporosidad residual existente en las barras tras la sinterización. Esto implica que la densidad final de las barras cerámicas se acerca al 40 %, en buen acuerdo con los resultados de la sección 3.2.1. Esta porosidad tan elevada en las barras cerámicas, aunque perjudicial en términos de prestaciones mecánicas, puede resultar beneficiosa e incluso deseable para el anclaje y proliferación celulares y, en definitiva, para facilitar el proceso de regeneración tisular alrededor del andamiaje.

### 3.2.2 Resistencia a compresión de los andamiajes

El valor de la resistencia a compresión se obtiene, tal como se comentaba en el apartado 2.8, a partir de la superficie de apoyo de las probetas y la fuerza máxima que soporta la misma antes de romper, según la ecuación 13 mostrada en el apartado 2.9.

En cuanto a las fuerzas máximas, en la Figura 3.6, se muestra a modo de ejemplo la curva Fuerza – Desplazamiento correspondiente al ensayo de una de las probetas de la mezcla de 80 HAp – 20  $\beta$ -TCP, en este caso la probeta rompió al alcanzar los 108,125 N.

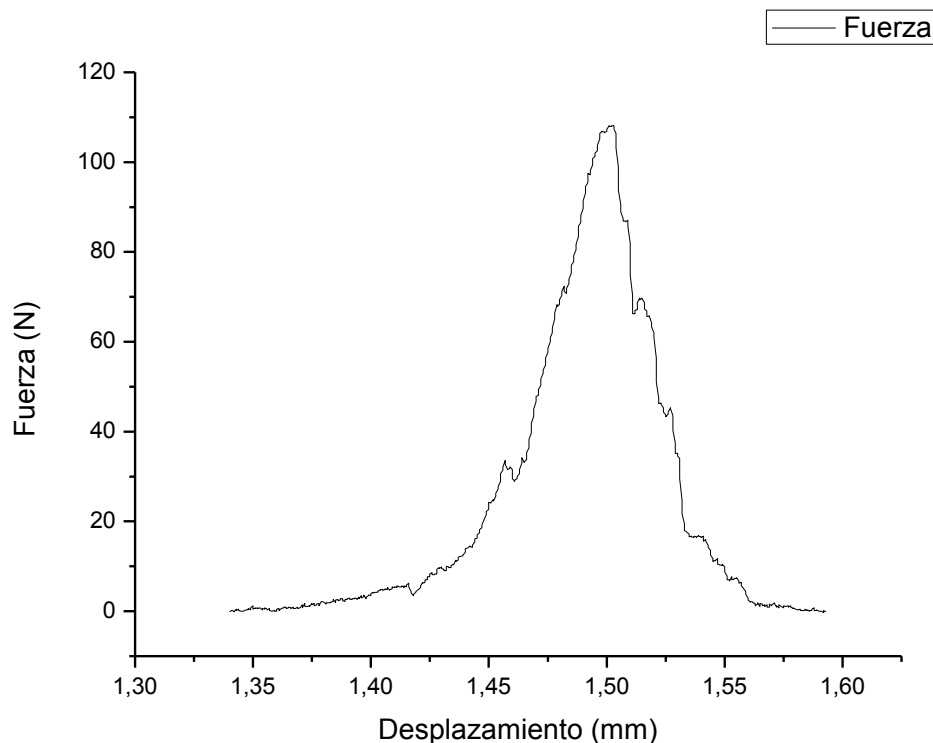


Figura 3. 6 Curva Fuerza - Desplazamiento para andamiaje de 80 HAp- 20 TCP

# DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE ANDAMIAJES DE FOSFATO CÁLCICO BIFÁSICO (BCP) PARA INGENIERÍA DE TEJIDO ÓSEO MEDIANTE MOLDEO ROBOTIZADO

Todos los valores de fuerzas máximas registradas se muestran en la Tabla 3.13.

Tabla 3. 13 Fuerza (N) máxima registrada

	80HAp20TCP	60HAp40TCP	40HAp60TCP	20HAp80TCP
1	80,469	40,469	76,719	84,063
2	82,813	48,594	76,875	85,313
3	83,125	52,344	77,188	85,469
4	83,281	52,969	77,344	86,406
5	87,969	53,125	77,656	88,438
6	89,375	54,688	78,125	90,469
7	89,844	58,281	82,969	92,344
8	93,281	58,438	83,594	93,75
9	96,563	61,094	85,313	95,469
10	101,25	76,563	85,781	95,938
11	101,563	79,531	86,719	98,438
12	102,344	90,156	93,438	99,219
13	102,656	90,156	94,375	100,625
14	104,844	96,406	97,813	101,563
15	107,813	101,563	98,594	102,813
16	108,125	107,188	100,156	108,281
17	108,75	111,719	100,156	110
18	116,875	124,375	102,969	114,844
19	117,5	133,281	103,438	117,5
20	118,281	137,5	103,75	124,375
21	134,531	143,281	109,375	134,688
22	147,813	143,594	119,375	137,656
23	149,688	157,031	120,156	140,938
24	166,094	175,469	132,188	141,563
25	168,906	184,531	173,906	151,563

## DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE ANDAMIAJES DE FOSFATO CÁLCICO BIFÁSICO (BCP) PARA INGENIERÍA DE TEJIDO ÓSEO MEDIANTE MOLDEO ROBOTIZADO

Finalmente los valores de tensión máxima que soporta el andamiaje antes de romper se muestran en la Tabla 3.14.

**Tabla 3. 14 Resistencia a compresión de los andamiajes (MPa)**

	<b>80HAp20TCP</b>	<b>60HAp40TCP</b>	<b>40HAp60TCP</b>	<b>20HAp80TCP</b>
1	6,11739	3,32396	6,00716	7,06195
2	6,29558	3,99132	6,01938	7,16696
3	6,3193	4,29933	6,04389	7,18007
4	6,33116	4,35066	6,0561	7,25878
5	6,68755	4,36347	6,08053	7,42949
6	6,79443	4,49185	6,11726	7,60011
7	6,83009	4,78697	6,49654	7,75762
8	7,09137	4,79986	6,54548	7,87574
9	7,34088	5,01802	6,68008	8,02015
10	7,69719	6,28858	6,71673	8,05954
11	7,72099	6,53236	6,79017	8,26956
12	7,78036	7,40505	7,31628	8,33517
13	7,80408	7,40505	7,38964	8,45329
14	7,97041	7,9184	7,65884	8,53209
15	8,19612	8,34198	7,72	8,6371
16	8,21984	8,80399	7,8423	9,09645
17	8,26735	9,17615	7,8423	9,24086
18	8,88503	10,21566	8,06256	9,6478
19	8,93254	10,94717	8,09929	9,87092
20	8,99192	11,2937	8,12372	10,44848
21	10,22727	11,76853	8,56416	11,31485
22	11,23699	11,79424	9,34717	11,56418
23	11,37953	12,8979	9,40832	11,8399
24	12,62674	14,41232	10,35044	11,8924
25	12,84051	15,15664	13,61699	12,73248

El análisis de Weibull con los resultados de tensión obtenidos, se muestra en la Figura 3.7.

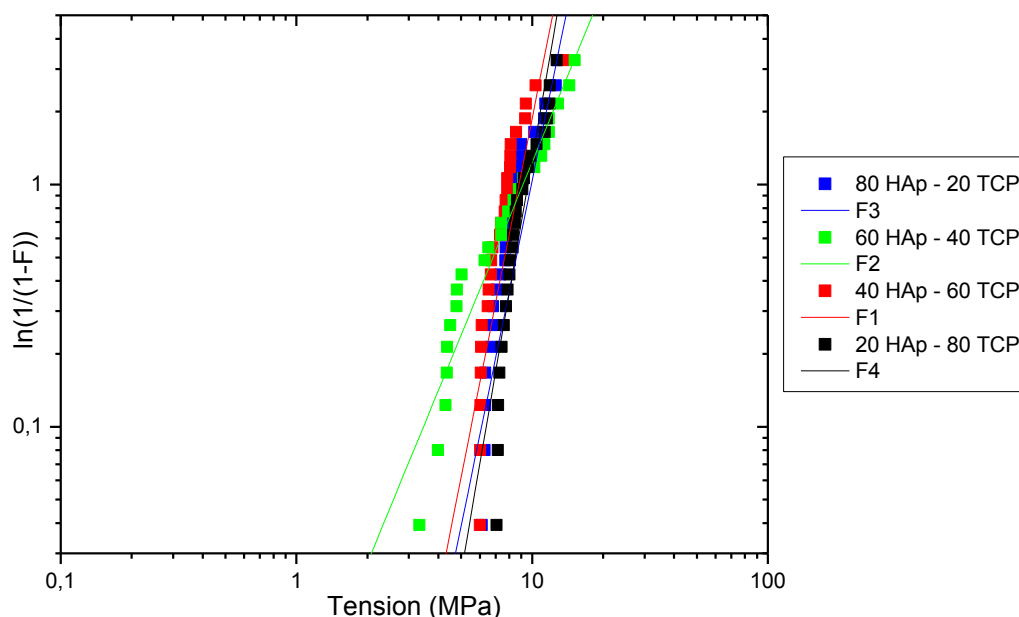


Figura 3. 7 Diagrama de Weibull

Como puede apreciarse, las distintas composiciones tienen un comportamiento muy similar. Al representar la resistencia a fractura frente a probabilidad de fallo los datos prácticamente se solapan. En efecto, los resultados de un test ANOVA realizado sobre las distintas muestras de datos confirman que la diferencia de medias, efectivamente, no es significativa. Por tanto, se puede concluir que la composición de la mezcla en tintas de HAp y  $\beta$ -TCP no afecta a la resistencia a compresión de los andamiajes resultantes. Esto se verifica también al representar los valores centrales de la distribución, que junto a los módulos de Weibull, se recogen en la Tabla 3.15 y las figuras 3.8 y 3.9, comparándolos con los resultados de otros trabajos\* en composiciones puras.

Tabla 3. 15 Valores de los parámetros del Análisis de Weibull para andamiajes de ambos compuestos.

TINTAS	m	$\sigma_0$ (MPa)
100 HAp*	7,16 ± 0,47	6,05 ± 0,28
80 HAp - 20 $\beta$ TCP	4,74 ± 0,44	9,12 ± 0,31
60 HAp - 40 $\beta$ TCP	2,37 ± 0,14	9,08 ± 0,20
40 HAp - 60 $\beta$ TCP	4,91 ± 0,56	8,33 ± 0,34
20 HAp - 80 $\beta$ TCP	5,65 ± 0,52	9,74 ± 0,35
100 $\beta$ TCP*	5,7 ± 0,51	5,87 ± 0,37

\*Valores obtenidos por Fco. Javier González González en su Proyecto Fin de Grado *Fabricación y caracterización mecánica de estructuras porosas de fosfatos cálcicos*.

Al comparar los resultados de este estudio con los obtenidos al realizar scaffolds con composiciones puras de HAp y  $\beta$ -TCP, se observa que los valores centrales de la distribución son mayores. Aparentemente, por tanto, la combinación de ambos fosfatos cálcicos, tiene un efecto beneficioso desde el punto de vista de las prestaciones mecánicas. No obstante, este resultado debe tomarse con precaución, puesto que al tratarse de distintos observadores, no se puede excluir la existencia de algún tipo de sesgo experimental.

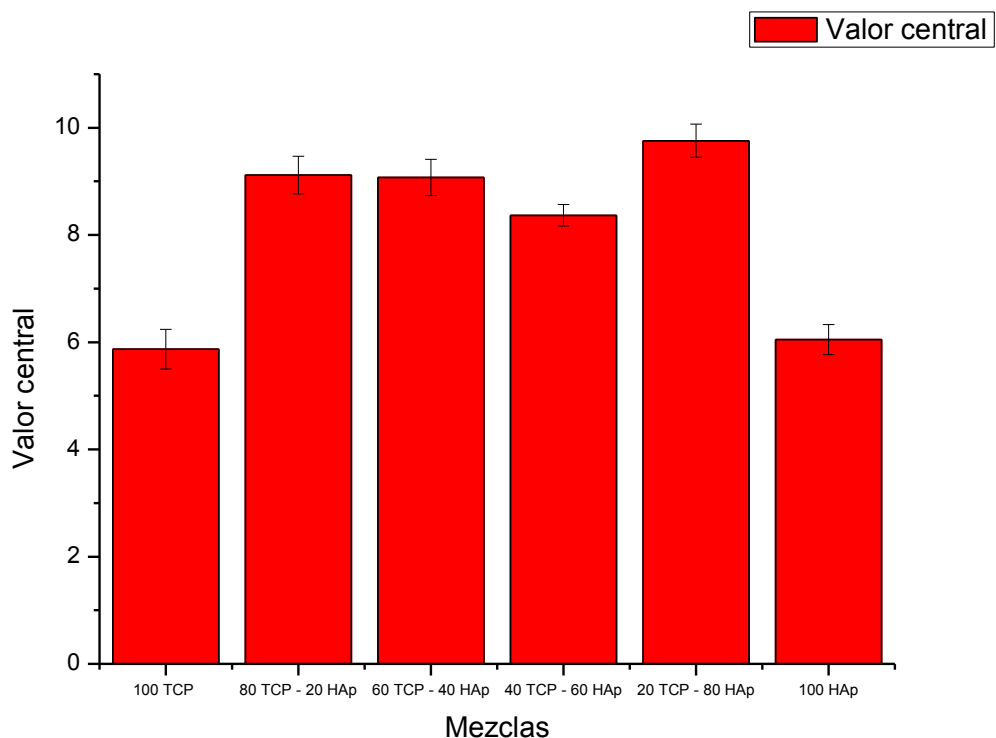


Figura 3. 8 Valor central de la distribución ( $\sigma_0$ ).

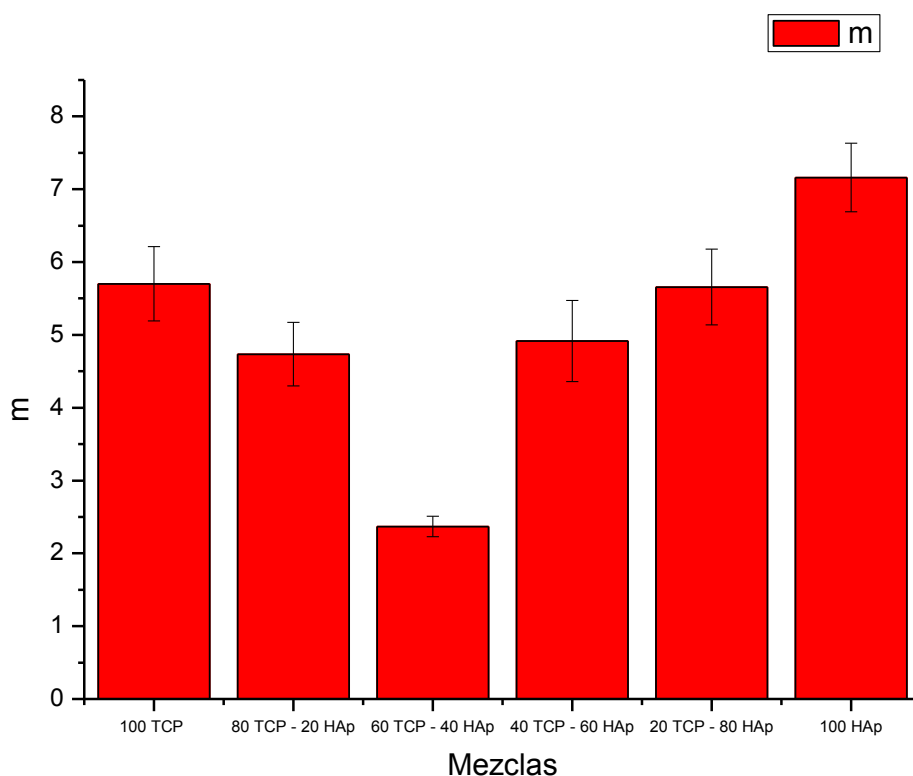


Figura 3. 9 Valores del módulo de Weibull (m).

Los valores de resistencia del hueso cortical no pueden compararse directamente con los valores obtenidos en este estudio, ya que la porosidad de los andamiajes es mucho mayor que la presente en el hueso cortical. La Figura 30 establece una relación de las propiedades del hueso en función de la densidad, permitiendo relacionar los valores de resistencia obtenidos en los andamiajes con el hueso a su misma densidad. Se observa que los valores obtenidos están incluidos muy cercanos a la región donde se encuentra el hueso. Este resultado corrobora la idoneidad de la técnica de robocasting para la fabricación de andamiajes de fosfato cálcico bifásico (BCP) con resistencia mecánica próxima a la del hueso. Por tanto, estas estructuras podrían utilizarse potencialmente en aplicaciones en la regeneración de tejido óseo en regiones del esqueleto sometidas a un cierto nivel de carga y no serían delicadas de manipular por los cirujanos durante la implantación. En esta misma gráfica también se puede observar que el comportamiento de los andamiajes obtenidos mediante moldeo robotizado es más similar al del hueso que el de andamiajes obtenidos por técnicas convencionales.

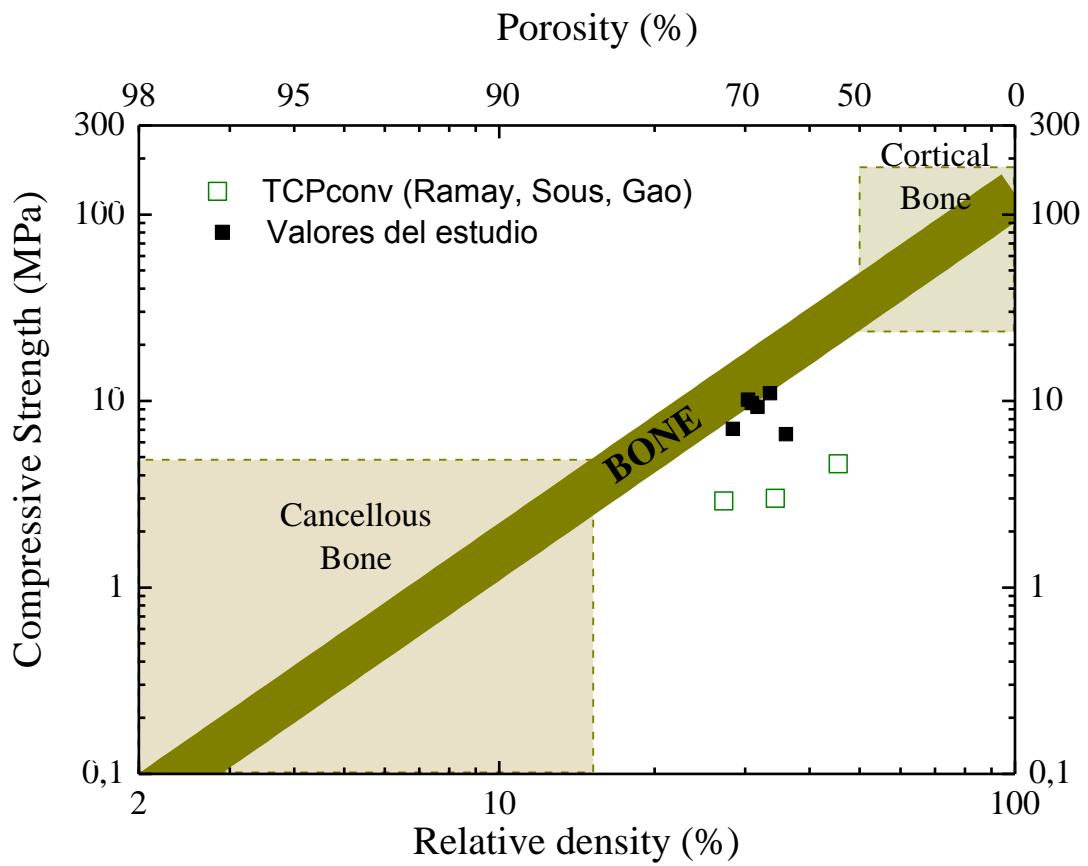


Figura 3. 10 Resistencia a compresión del hueso en función de la densidad.

## 4 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten extraer las siguientes conclusiones:

- 1 Es posible fabricar tintas de fosfato cálcico bifásico a partir de polvos de hidroxiapatita (Captal S, Plasma Biototal Limited) y  $\beta$ -fosfato tricálcico (Whitlockite OD, Plasma Biototal Limited ) de tamaño de partícula 3.65  $\mu\text{m}$  y 0.443  $\mu\text{m}$ , respectivamente, para todas las proporciones analizadas. La composición óptima de las tintas de robocasting es:
  - Contenido en polvo del 40 % en volumen, salvo en el caso de 20 HAp / 80  $\beta$ -TCP dónde 37 % fue el mayor contenido posible.
  - 1.5 % en peso de dispersante (Darvan C-N, R.T. Vanderbilt Company, Norwalk) en relación al contenido de hidroxiapatita y 2.5 % en peso en relación al contenido de fosfato tricálcico.
  - 0.05% en volumen de floculante (Polietilenimina PEI, Sigma-Aldrich, St. Louis, EE UU) respecto al volumen total de líquidos.
  - 7 mg/ml de viscosificante (Methocel F4M, Dow Chemical Company, Midland).
- 2 Ha sido posible fabricar andamiajes cerámicos mediante moldeo robotizado con las siguientes composiciones de tinta: 80 HAp / 20  $\beta$ -TCP, 60 HAp / 40  $\beta$ -TCP, 40 HAp / 60  $\beta$ -TCP, 20 HAp / 80  $\beta$ -TCP con macroporosidad y forma externa controladas.
- 3 La mejor temperatura de sinterización, dentro de las analizadas en este trabajo es de 1300 °C. Aún así, la sinterización de las barras cerámicas es tan sólo parcial, manteniéndose una microporosidad superior al 35 %, que puede ser beneficiosa desde el punto de vista de las propiedades biológicas (anclaje y proliferación celular y osteoconducción) del material.
- 4 El comportamiento mecánico de las cuatro composiciones estudiadas es muy similar, permitiendo concluir que, desde el punto de vista mecánico, se puede emplear indistintamente cualquiera de las composiciones de estos polvos de partida para la elaboración de tintas para robocasting, sin que por ello se afecte la resistencia a compresión de los andamiajes fabricados. Esto permite seleccionar la composición adecuada para los requisitos de degradación del implante sin ningún tipo de ligaduras.
- 5 En relación a su comportamiento con respecto el hueso cortical, los valores de resistencia a compresión exhibidos por los andamiajes de BCP fabricados se encuentran dentro del rango de valores exhibido por el hueso con esa misma porosidad (70 %), por lo que tienen potencial para su uso en aplicaciones de regeneración de tejido óseo en regiones del esqueleto sometidas a un cierto nivel de carga.



## 5 ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1 Diagrama de Ashby (módulo de Young - Resistencia a fractura).....	2
Figura 1. 2 Matriz tridimensional porosa para sustitución ósea y crecimiento del tejido óseo.....	3
Figura 1. 3 Esquema de una matriz tridimensional o Scaffold. ....	4
Figura 1. 4 Organización del tejido óseo.....	6
Figura 1. 5 Imagen esquemática de la técnica.....	7
Figura 1. 6 Obtención de scaffold a partir de imagen de resonancia magnética. ....	8
Figura 2. 1 Diseño empleado en la obtención de scaffolds. Imagen del software.....	10
Figura 2. 2 Equipo empleado. ....	11
Figura 2. 3 Material empleado: polvos de HAp (a), polvos de $\beta$ -TCP (b), dispersante (c), viscosificante (d) y floculante (e). ....	12
Figura 2. 4 Equipo de moldeo robotizado (Aerotech A3200) .....	14
Figura 2. 5 Jeringuilla preparada para montaje en el sistema. Montaje de la misma sobre el equipo. ....	15
Figura 2. 6 Ciclo de sinterización a 1300°C. ....	16
Figura 2. 7 Micrografía obtenida mediante microscopía óptica y correspondiente medida de diámetros.....	17
Figura 2. 8 Máquina de ensayo .....	18
Figura 2. 9 Ensayo de flexión en 3 puntos. Curva Fuerza-Desplazamiento. ....	18
Figura 2. 10 Horno Thermolab empleado en la sinterización de scaffolds. ....	19
Figura 2. 11 Andamiajes obtenidos tras la sinterización y corte. ....	20
Figura 2. 12 Porosidad macro y micrométrica .....	20
Figura 2. 13 Máquina de ensayo universal .....	21
Figura 2. 14 Curva Fuerza - Desplazamiento proporcionada por el programa.....	21
Figura 3. 1 Mezcla al terminar de añadir todos los componentes. Consistencia final. ....	23
Figura 3. 2 Comparación de diámetros para las tres temperaturas de sinterización.....	25
Figura 3. 3 Densidad relativa de barras para las tres temperaturas de sinterización. ....	26
Figura 3. 4 Análisis de Weibull .....	28
Figura 3. 5 Valores medios de Porosidad .....	30

Figura 3. 6 Curva Fuerza - Desplazamiento para andamiaje de 80 HAp- 20 TCP.....	31
Figura 3. 7 Diagrama de Weibull .....	34
Figura 3. 8 Valor central de la distribución ( $\sigma_0$ ).....	35
Figura 3. 9 Valores del módulo de Weibull (m). .....	36
Figura 3. 10 Resistencia a compresión del hueso en función de la densidad.....	37

## 6 ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3. 1 Composición de las mezclas .....	23
Tabla 3. 2 Diámetro barras (micras) a T = 1100 °C.....	24
Tabla 3. 3 Diámetro barras (micras) a T = 1200 °C.....	24
Tabla 3. 4 Diámetro barras (micras) a T = 1300 °C.....	24
Tabla 3. 5 Valor media de diámetros y su desviación estándar.....	25
Tabla 3. 6 Datos de longitud y masa para cada temperatura.....	25
Tabla 3. 7 Densidad de las barras.....	26
Tabla 3. 8 Densidad media y desviación estándar .....	26
Tabla 3. 9 Carga máxima soportada (N).....	27
Tabla 3. 10 Resumen de características de las probetas .....	29
Tabla 3. 11 Valores de densidad absoluta .....	29
Tabla 3. 12 Porosidad de las muestras.....	30
Tabla 3. 13 Fuerza (N) máxima registrada .....	32
Tabla 3. 14 Resistencia a compresión de los andamiajes (MPa) .....	33
Tabla 3. 15 Valores de los parámetros del Análisis de Weibull para andamiajes de ambos compuestos.....	34