

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDO POLI L-LÁCTICO DE BAJO PESO MOLECULAR
PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS**

SEBASTIÁN HOYOS TORRES

UNIVERSIDAD DEL VALLE

FACULTAD DE INGENIERÍAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE CALI

2012

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDO POLI L-LÁCTICO DE BAJO PESO MOLECULAR
PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS**

SEBASTIÁN HOYOS TORRES

Proyecto de grado presentado para optar al título de Ingeniero Químico

Directora: Ing. Marcela Vargas Fresneda

Codirector: Rubén J. Camargo Amado Ph. D.

UNIVERSIDAD DEL VALLE

FACULTAD DE INGENIERÍAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE CALI

2012

Nota de aceptación

Firma de la directora

Firma del evaluador

Firma del evaluador

Cali, diciembre 14 de 2012

RESUMEN

En este trabajo de grado se sintetizó ácido poli L-láctico (PLLA) de bajo peso molecular mediante polimerización por policondensación directa del ácido láctico sin utilizar catalizador ni solvente alguno. Para analizar el efecto del tiempo, la temperatura y la presión de síntesis se siguió un diseño de experimentos factorial (2^3), con el peso molecular como variable de respuesta. Este se calculó por viscosimetría capilar. La caracterización térmica, estructural y química se realizó mediante espectroscopía infrarroja (FTIR), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA). También se le determinó parcialmente la biocompatibilidad al polímero obtenido mediante ensayos en fluido corporal simulado (SBF – Simulated Body Fluid) con el fin de evaluar su posible aplicación como biomaterial.

PALABRAS CLAVE: ácido poli-L-Láctico (PLLA), policondensación directa, polímeros biodegradables, biocompatibilidad.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo general	2
2.2 Objetivos específicos	2
3. MARCO DE REFERENCIA	2
3.1 Antecedentes	2
3.2 Marco conceptual	4
3.2.1 Ácido Láctico	4
3.2.2 Ácido poliláctico (PLLA)	4
3.2.3 Métodos de síntesis de PLLA	6
3.3 Métodos de caracterización de PLLA	7
3.3.1 Determinación del peso molecular por viscosimetría capilar	7
3.3.2 Caracterización por espectroscopía infrarroja (FTIR)	10
3.3.3 Caracterización por termogravimetría (TGA)	11
3.3.4 Caracterización por calorimetría diferencial de barrido (DSC)	12
3.3.5 Ensayos en Fluido Corporal Simulado (SBF-Simulated Body Fluid)	15
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	18
4.1 Materiales	18
4.2 Síntesis del PLLA	19
4.3 Caracterización del PLLA	23
4.3.1 Peso molecular por viscosimetría capilar	23
4.3.2 Caracterización por espectroscopía infrarroja (FTIR)	25

4.3.3 Caracterización por termogravimetría (TGA)	25
4.3.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	26
4.3.5 Prueba cualitativa para determinar la temperatura de transición vítrea y de fusión.....	26
4.3.6 Ensayos en Fluido Corporal Simulado (SBF-Simulated Body Fluid).....	26
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	28
5.1 Síntesis y producción del PLLA	28
5.2 Peso molecular por viscosimetría capilar.....	28
5.3 Caracterización por espectroscopía infrarroja (FTIR).....	37
5.3.1 Ácido láctico	37
5.3.2 PLLA.....	38
5.4 Caracterización por termogravimetría (TGA)	42
5.5 Caracterización por calorimetría diferencial de barrido (DSC)	44
5.6 Prueba cualitativa para determinar la temperatura de transición vítrea y de fusión	47
5.7 Ensayos en Fluido Corporal Simulado (SBF-Simulated Body Fluid).....	47
5.7.1 Pérdida de peso.....	51
6. CONCLUSIONES	53
7. RECOMENDACIONES	54
8. BIBLIOGRAFÍA.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Degradación del PLLA en el organismo	5
Figura 2. Métodos de síntesis para obtener PLLA.....	6
Figura 3. Rectas correspondientes η_{inh} vs. c y η_{red} vs. c	9
Figura 4. Tipos de vibraciones moleculares	11
Figura 5. Esquema de una celda de DSC de flujo de calor	13
Figura 6. Montaje experimental utilizado para realizar la policondensación	20
Figura 7. Viscosímetro capilar tipo Ubbelohde.....	24
Figura 8. Incubador Heidolph tipo shaker con las muestras de PLLA sumergidas en la solución	27
Figura 9. PLLA sintetizado de bajo peso molecular	28
Figura 10. Superficie de respuesta del modelo simplificado	36
Figura 11. Espectro FTIR del ácido láctico.....	38
Figura 12. Espectro FTIR de la muestra PLLA 4	39
Figura 13. Espectro FTIR de la muestra PLLA 8	40
Figura 14. Espectro FTIR de la muestra PLLA 9h	40
Figura 15. Termograma de la muestra PLLA 4	42
Figura 16. Termograma de muestra PLLA 8.....	43
Figura 17. Curva DSC para la muestra PLLA 4	45
Figura 18. Curva DSC para la muestra PLLA 8	46
Figura 19. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF1	49
Figura 20. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF2	49
Figura 21. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF3	50
Figura 22. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF4	50
Figura 23. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF5	51
Figura 24. Gráfica que representa el porcentaje de peso disuelto en SBF en función del tiempo	52

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Reactivos con sus respectivas cantidades y pureza para la preparación del SBF (pH 7.4, 1 l).....	17
Tabla 2. Ficha técnica del ácido L-(+)-láctico de PANREAC Química S.A, Barcelona	19
Tabla 3. Polimerizaciones proyectadas con sus respectivas condiciones de operación	21
Tabla 4. Condiciones de operación en el punto central	22
Tabla 5. Condiciones de operación para la corrida adicional	22
Tabla 6. Valores de las constantes K y α	25
Tabla 7. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 1.....	29
Tabla 8. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 2.....	29
Tabla 9. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 3.....	30
Tabla 10. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 4.....	30
Tabla 11. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 5.....	31
Tabla 12. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 6.....	31
Tabla 13. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 7.....	32
Tabla 14. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 8.....	32
Tabla 15. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA punto central....	33
Tabla 16. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 9h.....	33
Tabla 17. Peso molecular viscoso (M_v) para cada muestra de polímero sintetizada.....	34
Tabla 18. Análisis de varianza (ANOVA) para el peso molecular. Suma de cuadrados tipo III	34
Tabla 19. Asignaciones de banda generales para el PLLA y el ácido láctico	41
Tabla 20. Propiedades de las muestras PLLA 4 y PLLA 8.....	46
Tabla 21. Variación del peso del PLLA durante la inmersión en SBF	52

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de biomateriales (biodegradables y bioabsorbibles) con las características necesarias para ayudar en el encapsulamiento de agentes biológicos (hormonas, fármacos, entre otros) y la recuperación de tejidos perjudicados por accidentes y/o enfermedades, ha sido, en los últimos años, uno de los mayores desafíos para los investigadores de áreas como la medicina e ingeniería.

Los biopolímeros ofrecen una muy buena alternativa a los materiales tradicionales biocompatibles (metálicos, cerámicas) y polímeros no biodegradables derivados del petróleo ⁽¹⁾.

Es así como la producción de polímeros biodegradables (sintetizados a partir de materiales naturales capaces de ser asimilados, descompuestos y/o metabolizados por el ambiente gracias a su naturaleza química) que sean amigables con el medio ambiente se ha estado expandiendo de forma sistemática. Se ha observado un marcado incremento en el interés científico e industrial en la investigación para la producción de plásticos biodegradables.

Al parecer, un polímero que puede satisfacer las necesidades actuales y remplazar la mayoría de los plásticos populares en el mercado es el ácido poli L-láctico (PLLA) el cual es un material de gran interés debido a su carácter biodegradable. Funciona bien en aplicaciones biomédicas como implantes, suturas, encapsulamiento de medicamentos y también tiene un uso potencial en diferentes artefactos e implementos. En los últimos años, debido a la creciente demanda de este tipo de polímero (es decir, poliésteres biodegradables con propiedades mecánicas aceptables) se ha dedicado mucha atención al estudio de su síntesis, morfología, al comportamiento térmico y mecánico y los mecanismos de degradación *in vivo* e *in vitro* ⁽²⁾.

Debido al gran interés que ha generado este polímero en los últimos años, la finalidad del presente proyecto se enfoca en la obtención de PLLA de bajo peso molecular mediante

policondensación directa de ácido L-láctico y su caracterización para ser utilizado en aplicaciones biomédicas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Sintetizar y caracterizar ácido poli L-láctico de bajo peso molecular mediante policondensación directa del monómero ácido L-láctico

2.2 Objetivos específicos

- Seleccionar y caracterizar los materiales y reactivos necesarios para efectuar la polimerización del ácido L-láctico.
- Identificar las variables de proceso más adecuadas para efectuar la polimerización por policondensación directa del ácido láctico con el fin de obtener el peso molecular recomendable para aplicaciones biomédicas.
- Realizar la caracterización térmica, estructural y química del ácido poli L-láctico obtenido mediante espectroscopia infrarroja (FTIR), calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y viscosimetría capilar.
- Determinar parcialmente la biocompatibilidad del polímero obtenido mediante ensayos en fluido corporal simulado (SBF – Simulated Body Fluid).

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Antecedentes

El PLA ha sido objeto de muchas investigaciones desde hace algo más de un siglo. En 1845, Pelouze condensó ácido láctico por medio de una destilación con agua para formar PLLA de bajo peso molecular y un dímero cíclico del ácido láctico llamado láctido⁽³⁾.

Cincuenta años más tarde, en 1894, Bischoff y Walden intentaron sin éxito la producción de PLLA a partir del láctido⁽⁴⁾.

En 1932, Wallace Carothers, científico en Dupont, produjo un producto de bajo peso molecular calentando el ácido láctico y sometiéndolo al vacío ⁽⁵⁾.

En 1954, después de otros refinamientos, Dupont patentó el proceso de Carothers. Debido a los altos costos de manufactura, este descubrimiento ha sido utilizado principalmente para la fabricación de suturas médicas, de implantes y como medio para dosificar medicamentos ⁽⁶⁾.

En el área de la medicina, el PLLA se utilizó por primera vez en 1966 cuando Kulkarni, et al, utilizaron placas y tornillos de PLLA para la fijación de fracturas con éxito en el 60 % de los casos. A tiempo presente se han realizado muchas investigaciones sobre la biocompatibilidad del ácido poliláctico, su desempeño en el campo farmacéutico y medico así como la posibilidad de remplazar en el área de la ortopedia a los metales utilizados tradicionalmente como dispositivos de fijación ósea.

En 1996 Mitsui Chemicals, Inc. comercializa PLA producido por policondensación. En 1997 Fiberweb (ahora BBA, Francia) introdujo la fusión-soplado de PLA y lo comercializó bajo la marca de fábrica DeposaTM. En 1997 también ocurre la formación de Cargill Dow LLC, una empresa conjunta 50-50 de Cargill Inc. y The Dow Chemical Company, para comercializar PLA bajo el nombre comercial NatureWorksTM. En 2003, Toyota desarrolló y produjo PLA para aplicaciones de automoción. En 2007 NatureWorks LLC y Teijin Limited forman una empresa conjunta 50-50 para comercializar IngeoTM basado en bioresinas termoplásticas. Además, Teijin también lanzo PLA resistente al calor bajo el nombre de BiofrontTM. En el 2008 PURAC comenzó a comercializar láctido sólido como monómero bajo el nombre de PURALACTTM mientras que Uhde Inventa Fischer 2008 y Bioplásticos Pyramide anunciaron la producción de PLA a gran escala en Guben, Alemania. En 2009 Petroquímicos Galactic y Total de Bélgica crearon una empresa conjunta, Futerro, con el fin de comenzar la producción de PLA y las empresas PURAC, Sulzer y Synbra anunciaron la producción de PLA a partir de láctido sólido para productos espumados ⁽⁷⁾.

3.2 Marco conceptual

3.2.1 Ácido Láctico

El ácido láctico (ácido α -hidroxi-propanoico) es un compuesto químico orgánico perteneciente a los hidroxiaácidos. Los Hidroxiaácidos se caracterizan por tener una mayor acidez que los ácidos que carecen de los grupos hidroxilo, ya que la presencia de grupos hidroxilo (sobre todo en la posición α) facilita considerablemente la disociación de grupos carboxilo. Es por esta razón que el ácido α -hidroxi-propanoico ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$) es 10 veces más fuerte que el ácido propanoico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$)⁽⁸⁾.

El ácido láctico contiene un átomo de carbono asimétrico, por lo que existen dos formas enantioméricas. Uno es el levógiro ácido D-(-)-láctico o d-ácido láctico; el otro es el dextrógiro ácido L-(+)-láctico o l-ácido láctico. La mezcla racémica (cantidades idénticas de estos isómeros) se llama D-L-ácido láctico. En la síntesis tecnológica de PLLA, el enantiómero L-(+)-ácido láctico es el más utilizado, el produce el poli-L-(+)-ácido láctico (PLLA) altamente cristalino.

El ácido L-(+)-láctico, principal materia prima para la producción de PLLA, es un recurso natural completamente renovable el cual se produce principalmente por rutas biotecnológicas a partir de azúcar de uva (glucosa), azúcar de caña (sacarosa), azúcar de la leche (lactosa) y del almidón que se encuentra presente en el trigo y el maíz, transformándose en moléculas de ácido láctico mediante el proceso de fermentación realizado por algunos microorganismos.

3.2.2 Ácido poliláctico (PLLA)

El PLLA es un polímero biodegradable constituido por moléculas de ácido láctico, con propiedades semejantes a otros polímeros derivados del petróleo como el Politereftalato de Etileno (PET).

Las aplicaciones médicas y farmacéuticas del PLLA constituyen actualmente uno de los campos de mayor interés en el desarrollo y producción de esta macromolécula debido a su utilización en dispositivos terapéuticos, cardiovasculares y ortopédicos.

El uso y producción de PLLA en los últimos años ha sido de notable importancia para desarrollar y diseñar productos farmacéuticos y biomédicos, ya que no genera reacciones tóxicas ni irritación sobre la piel y las mucosas del organismo, presenta biocompatibilidad con el sistema inmunitario de los seres humanos, su degradación en el cuerpo no produce contaminación ni infecciones y satisface los requerimientos mecánicos y de desempeño tales como la alta tenacidad y relativa flexibilidad ⁽⁹⁾.

Todas estas propiedades y características propias del PLLA, han despertado un gran interés a nivel mundial en lo que corresponde a su producción y caracterización.

Además de las aplicaciones biomédicas, este biopolímero se utiliza en la fabricación de botellas transparentes para bebidas frías, bandejas de envasado para alimentos, y otras numerosas aplicaciones más.

En el organismo, se degrada fácilmente en agua y dióxido de carbono por acción microbiana y enzimática de acuerdo a lo presentado en la Figura 1 ⁽¹⁰⁾:

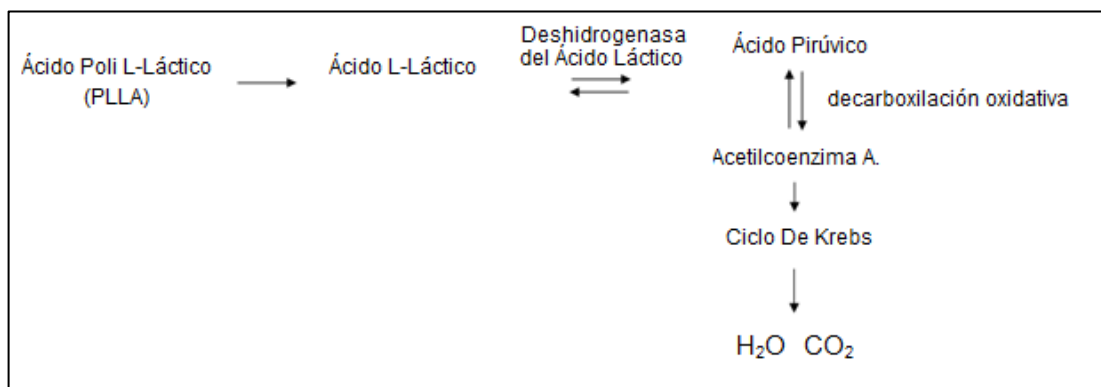


Figura 1. Degradación del PLLA en el organismo

3.3 Métodos de caracterización de PLLA

3.3.1 Determinación del peso molecular por viscosimetría capilar

Los compuestos poliméricos a menudo están formados por una mezcla de cadenas de distintas longitudes y tamaños por lo que el peso molecular proporciona siempre un valor promedio y no uno absoluto. De ahí la existencia de distintos promedios para expresar el peso molecular de una muestra, tales como el peso molecular promedio en número (M_n), el peso molecular promedio en peso (M_w) y el peso molecular promedio viscosimétrico (M_v). En los polímeros polidispersos, los cuales están formados por cadenas de distinta longitud, los valores de estos distintos pesos promedio difieren, mientras que en los polímeros monodispersos, los cuales tienen cadenas de longitud uniforme los distintos pesos moleculares promedio coincidirían ($M_n = M_w = M_v$).

La Viscosimetría Capilar es una de las técnicas de caracterización de polímeros más populares debido a su sencillez de manejo, la simplicidad de sus análisis de resultados y sobre todo, por la valiosa información que proporciona.

En el caso concreto de disoluciones poliméricas, la viscosidad es bastante elevada ya que, debido al gran tamaño de las partículas disueltas, éstas experimentan gran resistencia al movimiento. La viscosidad de un polímero en disolución depende de la naturaleza del polímero y del disolvente, de la distribución de pesos moleculares, de la concentración y de la temperatura. En estos casos la viscosidad del fluido se puede relacionar con el tiempo de flujo t , requerido para que un volumen determinado de disolución pase a través de un capilar por efecto de la gravedad. Esta relación puede obtenerse a partir de la ecuación de Hagen-Poiseuille⁽¹²⁾.

$$\eta = \frac{\pi R^4 g h_m}{8 V L} \rho t \quad (1)$$

En la Ecuación 1, V es el volumen del líquido que fluye durante el tiempo de flujo t a través de un capilar de longitud L y radio R bajo la influencia de la aceleración de la gravedad g .

La altura promedio de la columna del líquido en el viscosímetro durante la medición se denota como h_m .

En el caso de disoluciones, es frecuente medir la viscosidad por comparación de la viscosidad de la disolución con la del disolvente puro. Los parámetros resultantes son la viscosidad relativa (η_r) y la viscosidad específica (η_{sp}), definidas mediante las ecuaciones 2 y 3:

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} \sim \frac{t}{t_0} \quad (2)$$

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad (3)$$

En las ecuaciones 2 y 3, η y η_0 son, respectivamente, las viscosidades de la disolución y la del disolvente puro, t es el tiempo de paso de la disolución por un capilar y t_0 el tiempo de paso del disolvente puro por el mismo capilar.

Teniendo los valores de η_r y η_{sp} , es posible calcular otros dos parámetros los cuales se relacionan con la concentración c de acuerdo a las ecuaciones 4 y 5:

$$\eta_{inh} = \frac{\ln(\eta_r)}{c} = \frac{\ln(\frac{\eta}{\eta_0})}{c} = \frac{\ln(\frac{t}{t_0})}{c} \quad (4)$$

$$\eta_{red} = \eta_{sp} \cdot \frac{1}{c} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \cdot \frac{1}{c} = \frac{t - t_0}{t_0} \cdot \frac{1}{c} \quad (5)$$

Las Ecuaciones 4 y 5 permiten calcular los parámetros conocidos como viscosidad inherente (η_{inh}) y viscosidad reducida (η_{red}). Las formas de las curvas η_{inh} vs. c y η_{red} vs. c se aproximan a dos líneas rectas (Figura 3) que, extrapoladas a concentración nula, coinciden en el parámetro $[\eta]$. Este parámetro se conoce como viscosidad intrínseca y está directamente relacionado con el peso molecular del polímero en disolución.

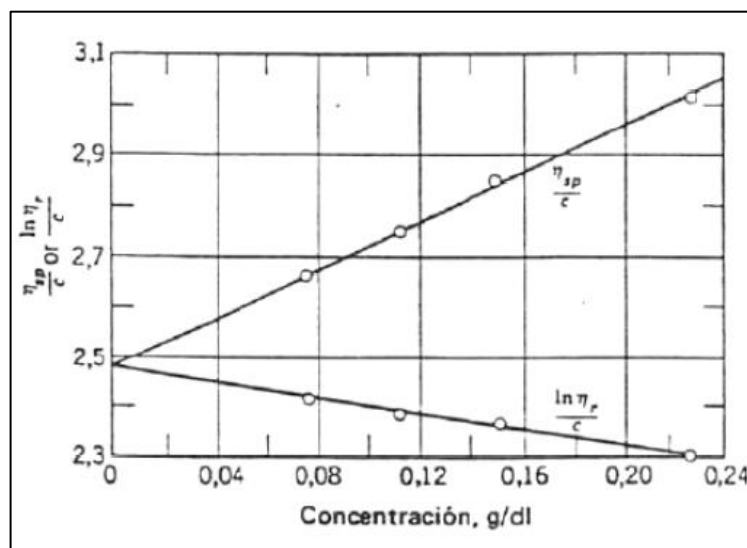


Figura 3. Rectas correspondientes η_{inh} vs. c y η_{red} vs. c

Una vez conocida la viscosidad intrínseca del sistema polímero-disolvente, puede determinarse el peso molecular promedio viscoso del polímero mediante la ecuación:

$$[\eta] = K \cdot (M_v)^\alpha \quad (6)$$

La Ecuación 6 corresponde a la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada Donde K y α son las denominadas constantes Mark-Houwink y dependen del polímero, del disolvente y de la temperatura. Su valor puede obtenerse en algunos casos a partir de la bibliografía disponible⁽¹³⁾.

En la viscosimetría de polímeros disueltos se tiene que la presencia de soluto en un líquido afecta la viscosidad de este ya que modifica las fuerzas moleculares del medio, donde el soluto es una sustancia macromolecular cuya viscosidad es mucho más elevada que la del líquido, entonces se tiene un aumento de viscosidad muy grande aun a concentraciones bajas. Este aumento de viscosidad se debe al peso molecular del polímero disuelto, de cómo está conformada la cadena y de las interacciones con el disolvente, por lo que el cálculo de viscosidades de disoluciones macromoleculares es una técnica muy útil en la caracterización de polímeros.

3.3.2 Caracterización por espectroscopía infrarroja (FTIR)

La caracterización por espectroscopia de absorción de infrarrojo analiza la interacción de los niveles de energía vibracionales de los enlaces covalentes con la radiación infrarroja. Esta técnica de caracterización detecta los enlaces covalentes de las moléculas, por lo que es muy útil en la química orgánica y de polímeros. Además, es sensible a la presencia o ausencia de grupos funcionales, permitiendo determinar la composición química de la muestra a analizar. Cuando la radiación infrarroja atraviesa una sustancia, parte de esta radiación se transmite, mientras que el resto es absorbida en distinto grado en función de la sustancia y la longitud de onda de la radiación.

La absorción de la radiación infrarroja origina que las moléculas de la muestra pasen desde su estado normal, a temperatura ambiente, a uno o varios estados excitados de energía más elevada, provocando cambios vibracionales y rotacionales en las moléculas. Al ser la energía asociada a estos cambios de la misma naturaleza que la radiación infrarroja, es posible hacer el estudio en esta región espectral.

Específicamente, la espectroscopia infrarroja permite identificar especies químicas a través de la determinación de la frecuencia (número de ondas) a que los distintos grupos funcionales presentan bandas de absorción en el espectro Infrarrojo.

En una molécula pueden distinguirse dos tipos básicos de vibraciones como se representa en la Figura 4: de tensión y de flexión. Una vibración de tensión supone un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje de enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: de tijereteo, de balanceo, de aleteo y de torsión. Cualquier cambio en la amplitud de estas vibraciones da a lugar a un pico de absorción del espectro⁽¹⁴⁾.

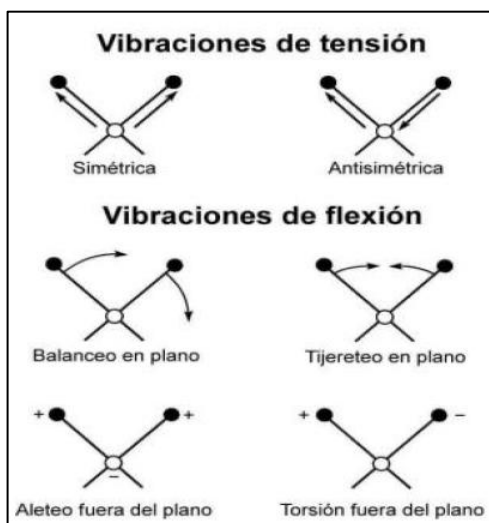


Figura 4. Tipos de vibraciones moleculares ⁽¹⁴⁾

La metodología utilizada para la realización de la espectroscopía infrarroja depende del tipo de muestra analizada. Con muestras líquidas, el espectro se obtiene colocando el líquido entre dos ventanas transparentes de una sal que no absorba el infrarrojo (normalmente, NaCl). En el caso de que las muestras sean sólidas, el espectro puede hacerse en disolución, con un disolvente que absorba poco en el IR, o bien en dispersión sólida en bromuro de potasio (KBr) ⁽¹⁴⁾.

3.3.3 Caracterización por termogravimetría (TGA)

Los análisis termogravimétricos se realizan en una termobalanza, que consta de una balanza electrónica que está colocada en el interior de un horno. Está acoplada a un sistema de control por microprocesador y una estación de procesamiento de datos. Un programador de temperaturas permite controlar la temperatura del horno, con la finalidad de registrar tanto la temperatura a la que está sometida la muestra como las variaciones que sufre la misma. La operación se lleva a cabo bajo atmósfera de nitrógeno.

En un análisis termogravimétrico se registra continuamente la masa de una muestra, colocada en una atmósfera controlada, en función de la temperatura o del tiempo.

La representación de la masa o porcentaje de masa en función del tiempo se denomina termograma o curva de descomposición térmica.

La información que proporcionan los métodos termogravimétricos es más limitada que la que se obtiene con otros métodos térmicos (DSC, DTA), ya que en este método una variación de la temperatura tiene que causar un cambio en la masa del analito. Por tanto, los métodos termogravimétricos están limitados en su mayor parte a las reacciones de descomposición y de oxidación y a procesos tales como la vaporización, la sublimación y la desorción⁽¹⁵⁾.

Las aplicaciones más importantes de los métodos termogravimétricos se encuentran en el estudio de polímeros. Los termogramas proporcionan información sobre los mecanismos de descomposición de diversas preparaciones poliméricas. Además, los patrones de descomposición son característicos de cada tipo de polímero y, en algunos casos, pueden ser utilizados con finalidades de identificación.

En el caso de los polímeros, el análisis de TGA representa una forma fácil y rápida de estudiar su estabilidad térmica y puede ser utilizado para conocer las posibilidades de transformación por encima de la temperatura de fusión del polímero.

3.3.4 Caracterización por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría de barrido diferencial es una técnica térmica en la que se miden las diferencias en la cantidad de calor aportado a una sustancia y a una referencia en función de la temperatura de la muestra cuando las dos están sometidas a un programa de temperatura controlado. La diferencia básica entre la calorimetría de barrido diferencial (DSC) y el análisis térmico diferencial (DTA) estriba en que el primero es un método calorimétrico en el que se miden diferencias de energía. Por el contrario, en el análisis térmico diferencial, se registran diferencias de temperatura. Los programas de temperatura para los dos métodos son similares. La calorimetría de barrido diferencial ha sido hasta ahora el método más ampliamente utilizado de todos los métodos térmicos.

El instrumento en el cual se realizan estos análisis térmicos es conocido como calorímetro diferencial de barrido, el cual opera con una purga de nitrógeno y consta de dos celdas. En una de ellas se coloca una cápsula cerrada de aluminio con el material a ensayar, y en la otra una cápsula igual, pero vacía, que sirve como referencia. En la Figura 5 se muestra un esquema del instrumento.

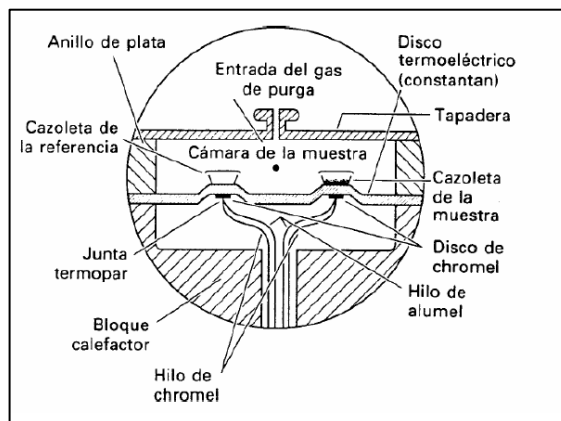


Figura 5. Esquema de una celda de DSC de flujo de calor ⁽¹⁵⁾

La temperatura se varía a una velocidad determinada y el flujo de calor se mide como una función de la temperatura teniendo en cuenta que, en todo momento, se debe mantener la igualdad de temperaturas entre la celda con la muestra y la celda de referencia. Cuando la muestra experimenta una transición, los calefactores suministran la energía adicional al material para mantener el equilibrio térmico entre muestra y referencia, siendo esto lo que se registra. De esta manera, el termograma obtenido muestra el flujo de calor o entalpía frente al tiempo. Como la velocidad de calentamiento o enfriamiento es constante, el termograma equivale a una representación del flujo de calor frente a la temperatura.

En el caso de los materiales poliméricos, las transiciones térmicas más importantes que pueden aparecer en un termograma son la temperatura de transición vítrea (T_g), la temperatura de fusión (T_m) y la temperatura de cristalización (T_c).

Una calorimetría suele constar de 3 barridos:

- 1. Primer calentamiento:** realizado normalmente a una velocidad de 20 °C/min. En él se obtiene información acerca de la fusión de la muestra. Ésta se manifiesta en un pico endotérmico con subida más o menos gradual y regular según la naturaleza e historia térmica de la muestra, y bajada brusca hasta recobrar la línea base. Si esta línea se mantiene tras la fusión, puede decirse que el material es estable para ser procesado por fusión. Lo contrario es indicio de descomposición y debe estudiarse con más detalle, por ejemplo, mediante análisis termogravimétricos. A veces pueden aparecer varios picos de fusión o bien un pico muy ancho. Esto ocurre cuando el material no es homogéneo, de manera que cada uno de los sistemas poliméricos que lo constituyen funde a una temperatura diferente.
- 2. Enfriamiento lento de la muestra:** iniciado inmediatamente después de la fusión, su velocidad es de 10 °C/min. Permite estudiar la cristalización del fundido. En este caso se observa un pico exotérmico correspondiente a la cristalización del material, cuya posición y área indican el subenfriamiento necesario y la cristalización alcanzada para esta velocidad de enfriamiento.
- 3. Segundo calentamiento:** Su velocidad suele ser de 20 °C/min. Permite determinar la temperatura de transición vítrea del material (T_g). Sin embargo, en algunas ocasiones, la velocidad del enfriamiento previo no es suficiente como para obtener el polímero amorfo, por lo que, en esos casos, la T_g es difícil de observar. En los polímeros amorfos la T_g aparece como un cambio abrupto de la línea base, mientras que en los muy cristalinos es difícil de observar debido a la baja proporción de parte amorfa en el polímero.

A partir de los datos obtenidos en la calorimetría puede estimarse el grado de cristalinidad (χ_c) de la muestra analizada. Este parámetro se determina usando como referencia el calor de fusión del material totalmente cristalino ⁽¹⁶⁾. Si se acepta que la fusión del polímero se debe únicamente a las zonas cristalinas, puede considerarse que el grado de cristalinidad puede expresarse como el cociente entre el calor de fusión de la muestra, H_f , y el calor de fusión del polímero si fuera totalmente cristalino, H_{fc} :

$$\chi_c = \frac{H_f}{H_{fc}} \quad (7)$$

La Ecuación 7 relaciona el calor de fusión de la muestra, H_f , el cual es un dato obtenido en la calorimetría que corresponde al área del pico de fusión del tercer barrido y el calor de fusión del polímero cristalino, H_{fc} , que puede estimarse si se conoce su fórmula química mediante las denominadas contribuciones de grupo. Se considera que cada uno de los grupos que forma el polímero contribuye con un determinado calor de fusión. Para obtener el calor de fusión total sólo hay que sumar los calores de fusión que aporta cada uno de los grupos.

La entalpia de fusión (H_{fc}) del PLLA 100 % cristalino es de 93.7 J/g ⁽¹⁷⁾

3.3.5 Ensayos en Fluido Corporal Simulado (SBF-Simulated Body Fluid)

El SBF se trata de una solución que contiene concentraciones de iones casi iguales a las del plasma sanguíneo humano. Ha demostrado ser un medio eficaz, económico y sencillo de realizar para evaluar la biomineralización in vitro de un material por medio de la formación de una capa de apatita precipitada en la superficie de la muestra cuando se lo sumerge en SBF con el fin de determinar cuál de estas mezclas de materiales presentó una mejor respuesta a la oseointegración en presencia de fluidos del cuerpo humano.

Se puede afirmar entonces que si un material es capaz de formar apatita en su superficie al ser sumergido en SBF, podrá crear enlaces directos con el hueso a través de esta capa

de apatita que se forma en su superficie *in vivo*, siempre y cuando el material no contenga ninguna sustancia que induzca reacciones de toxicidad o de anticuerpos⁽¹⁸⁾.

Se concluye entonces, que este método puede ser usado para obtener información sobre la bioactividad de materiales antes de proceder a pruebas en animales, y que de esta manera, se puede reducir la cantidad de animales evitando el sacrificio innecesario de estos. De este modo pueden desarrollar nuevos materiales bioactivos de manera más efectiva y económica.

Para la preparación del fluido corporal simulado (SBF) se utilizó el protocolo publicado por T. Kokubo y colaboradores⁽¹⁹⁾, cuyos pasos se detallan a continuación:

1. Se lavan todos los elementos que serán usados en la preparación del SBF con 1M HCl, detergente neutro y agua destilada. Los elementos que deben incluirse son los siguientes: un agitador magnético, una placa de Petri, un beaker de plástico de 1000 ml, una botella de plástico de 1000 ml, un matraz aforado de 1000 ml, una espátula, un termómetro, una pipeta desechable para ajustar el pH, un embudo de plástico. Se utilizará un baño térmico para ajustar la temperatura y un equipo de medición de pH para ajustar su valor.
2. Se añade aproximadamente 700 ml de agua pura destilada dentro del beaker de plástico de 1000 ml y se agita por medio de un agitador magnético mientras se calienta hasta 36,5°C.
3. Se añaden los reactivos dentro del recipiente de plástico con agua pura destilada, siguiendo el orden mostrado en la Tabla 1 y esperando a que cada reactivo haya disuelto completamente antes de agregar el siguiente.

Tabla 1. Reactivos con sus respectivas cantidades y pureza para la preparación del SBF (pH 7.4, 1 l)

Reactivo	% de pureza requerido	Cantidad
NaCl	>99,5	8,036 g
NaHCO ₃	>99,5	0,352 g
KCl	>99,5	0,225 g
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	>99,0	0,23 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	>98,0	0,311 g
HCl (1.0M)	---	40 cm ³
CaCl ₂	>95,0	0,293 g
Na ₂ SO ₄	>99,0	0,072 g
TRIS	>99,9	6,063 g
HCl (1.0 M)	---	Cantidad apropiada para ajustar el pH

4. Se ajusta el pH a 7,4 agregando HCl-1.0 M. la solución se mantiene agitada mediante un agitador magnético.
5. Se traspasa la solución del beaker de plástico de 1000 ml al matraz aforado de vidrio de 1000 ml. Se debe lavar el beaker de plástico, el termómetro, la placa de Petri y el medidor de pH con agua destilada y agregarla luego a la solución con los reactivos.
6. Se deja enfriar la solución hasta alcanzar la temperatura del ambiente (20 °C). Se ajusta el volumen total a 1000 ml añadiendo agua destilada.
7. Se traspasa la solución a la botella de plástico de 1000 ml tapándola. Para su almacenamiento, la solución se debe mantener a 4°C.

Cálculo del volumen de SBF necesario

La relación para el cálculo del volumen del SBF necesario es:

$$V = A / 10 \quad (8)$$

En la Ecuación, V es el volumen del medio necesario por muestra en ml y A es el área superficial aparente de una muestra en mm^2 . A fue calculada por medio de la siguiente relación:

$$A = 2 \times \pi \times r^2 + 2 \times \pi \times r \times l \quad (9)$$

En la Ecuación 9, r es el radio del cilindro o disco y l es el largo.

Se utilizó un volumen 1.5 veces mayor que el calculado teóricamente para asegurar la formación de la capa bioactiva.

Esta solución es estable hasta 8 semanas, pero si se detecta la presencia de algún tipo de precipitado de alguna de las sales disueltas, debe ser desechada y debe prepararse una nueva solución.

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

4.1 Materiales

Para realizar la síntesis de cada una de las muestras de PLLA se emplearon los siguientes reactivos:

- Ácido L-(+)-láctico de PANREAC Química S.A, Barcelona, como solución acuosa al 88%-92% en volumen de pureza, fue utilizado como monómero.
- Acetona
- Agua destilada

Caracterización del ácido láctico

En la Tabla 2 se muestran los datos contenidos en la ficha técnica del ácido L-(+)-láctico empleado:

Tabla 2. Ficha técnica del ácido L-(+)-láctico de PANREAC Química S.A, Barcelona

Composición/información de los componentes	Propiedades físicas y químicas
CAS [79-33-4] Denominación: Ácido L(+)-Láctico Número CE (EINECS): 201-196-2 Fórmula: $C_3H_6O_3$ Peso molecular = 90.08 g/mol Grado de pureza: 88-92%	Aspecto: Líquido transparente e incoloro Olor: Casi Inodoro pH~2.8 Punto de ebullición: 122°C Punto de fusión: 18 °C Punto de inflamación: 110 °C Densidad (20/4): 1.209 g/cm ³ Solubilidad: miscible con agua

4.2 Síntesis del PLLA

El método de polimerización seleccionado para sintetizar las muestras poliméricas fue el de policondensación directa y no se utilizó ningún tipo de disolventes ni catalizadores externos ya que el monómero actúa como su propio catalizador. Las polimerizaciones fueron realizadas en el montaje experimental mostrado en la Figura 6.



Figura 6. Montaje experimental utilizado para realizar la policondensación

Este montaje es similar al que se realiza para una destilación sencilla. Consiste de un balón (1) el cual actúa como reactor, donde se depositan el ácido láctico y un agitador magnético; una columna de vidrio (2); un condensador que utiliza agua fría como líquido refrigerante (3); un balón para recoger el subproducto de la policondensación (4); una bomba de vacío (5) con su respectivo manómetro (6); una plancha de calentamiento con agitación (7), trampas, mangueras y aislantes. La temperatura de reacción se estableció mediante el ajuste de una manta térmica (8) equipada con un controlador de temperatura (9) y un termopar metálico.

Las pruebas se realizaron siguiendo un diseño de experimentos. Las condiciones de operación, se definieron en base a procesos de policondensación publicados en la literatura y corridas preliminares realizadas ^(5,6).

El diseño experimental utilizado es un diseño factorial de tres factores, cada uno con dos niveles (2^3) con punto central, como se detalla en las Tablas 3 y 4:

- Variables independientes o factores de entrada: Los factores de entrada del diseño experimental definido son:

A. Tiempo del proceso: Los niveles de éste factor son los siguientes:

1. 6 h
2. 8 h

B. Temperatura del proceso: Los niveles para este factor son:

1. 160 °C
2. 180 °C

C. Presión (absoluta) del proceso: Los niveles para este factor son:

1. 6 pulg. Hg
2. 9 pulg. Hg

- Variable de respuesta o factor de salida: El único factor de salida del diseño experimental será el peso molecular de las muestras sintetizadas.

Con el manejo de las tres variables y dos niveles de trabajo por cada una se obtuvo una matriz de 2x2x2, como se muestra a continuación en la Tabla 3:

Tabla 3. Polimerizaciones proyectadas con sus respectivas condiciones de operación

Muestra	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Presión (pulg. Hg)
PLLA 1	6	160	6
PLLA 2		180	
PLLA 3	8	160	
PLLA 4		180	
PLLA 5	6	160	9
PLLA 6		180	
PLLA 7	8	160	
PLLA 8		180	

Tabla 4. Condiciones de operación en el punto central

Muestra	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Presión (pulg. Hg)
PLLA 9	7	170	7.5
PLLA 10			
PLLA 11			

Las muestras sintetizadas de acuerdo a las condiciones del punto central se realizaron con el fin de evaluar la reproducibilidad del diseño de experimentos.

El orden de los experimentos ha sido completamente aleatorizado. Esto aportará protección contra el efecto de variables ocultas.

Adicional a las corridas del diseño de experimentos, se realizó una última prueba con el fin de evaluar la influencia que tiene el tiempo sobre el peso molecular. Las condiciones de operación de esta prueba se detallan a continuación en la Tabla 5:

Tabla 5. Condiciones de operación para la corrida adicional

Muestra	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Presión (pulg. Hg)
PLLA 9h	9	170	7.5

Filtración del PLLA sintetizado

Posterior a la etapa de policondensación, y cuando la temperatura del balón se iguala a la del ambiente, es necesario extraer el PLLA del reactor.

La extracción del PLLA del reactor se logró disolviéndolo en acetona con agitación continua. Posteriormente, la disolución de PLLA y acetona se adiciona lentamente en agua destilada bajo agitación vigorosa. Finalmente, el precipitado se extrae por filtración al vacío y se preserva de la humedad.

4.3 Caracterización del PLLA

4.3.1 Peso molecular por viscosimetría capilar

El peso molecular de las muestras sintetizadas se determinó utilizando un viscosímetro capilar de tipo Ubbelohde OC para muestras diluidas tal como se muestra en la Figura 7, un cronometro, una pera de succión, una pipeta graduada, el soporte que sostuvo el viscosímetro durante el ensayo y un baño térmico estático en donde se pudiera sumergir el viscosímetro con el fin de reducir al mínimo las oscilaciones de temperatura, puesto que la viscosidad varía mucho con este parámetro.

Los polímeros sintetizados fueron disueltos en cloroformo a concentraciones que van desde 0.0063 hasta 0.01 g/dl. Para medir el tiempo de caída de las soluciones poliméricas, se utilizó un cronómetro. El manejo del viscosímetro se realizó siguiendo la norma ASTM D 446.



Figura 7. Viscosímetro capilar tipo Ubbelhode

Este viscosímetro consta de 3 ramas (1, 2, 3) y un reservorio (7). Cada rama tiene su propia utilidad: la más ancha (1) sirve para introducir la disolución polimérica; la rama (2) pone la base del capilar en contacto con la atmósfera igualando la presión exterior de los extremos del capilar y la rama (3) contiene el capilar por donde se succiona la muestra. Para conseguir que el líquido ascienda por el capilar, se tapa la rama (2) mientras se succiona por la rama (3). Una vez la disolución ha alcanzado el bulbo superior (4), se destapa la rama (2) para que el líquido empiece a descender por efecto de la gravedad.

Con el cronómetro, primero se midió el tiempo que tarda el cloroformo puro en recorrer la distancia comprendida entre los niveles (5) y (6). Posteriormente, se registra el tiempo que tardan las disoluciones poliméricas a distintas concentraciones. Las determinaciones

se realizaron disolviendo 0.1 g del polímero en 10 ml de cloroformo. De esta forma, la concentración inicial de la disolución era 0.01 g/ml. A fin de obtener una buena regresión, se fue diluyendo la solución anterior. Para ello se añadieron sucesivamente 1 ml, 1 ml, 2 ml y 2 ml de cloroformo de manera que las concentraciones respectivas eran 0.0091, 0.0083, 0.0071 y 0.0063 g/ml. Para cada punto se hicieron 2 medidas del tiempo necesario para que la disolución pasara del nivel superior al inferior y se tomó el promedio de las 2 medidas.

Finalmente, los resultados se trasladaron al programa Visfit 2.0 con el fin de calcular la viscosidad intrínseca. El peso molecular viscosimétrico se calculó por medio de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada tal como se especificó en el marco teórico. Los valores tabulados en la literatura⁽²⁰⁾ para las constantes K y α , usando cloroformo como disolvente bajo condiciones de 25 °C, se muestran en la Tabla 6:

Tabla 6. Valores de las constantes K y α

K (ml/g)	α
7.4×10^{-3}	0.87

4.3.2 Caracterización por espectroscopía infrarroja (FTIR)

Los espectros infrarrojos de los polímeros se registraron utilizando un espectrofotómetro marca Jasco mediante la técnica de pastilla de KBr para las muestras de PLLA y para el Ácido Láctico se utilizó un espectrofotómetro marca SHIMADZU mediante la técnica de película líquida. Por transmisión, se registró el espectro en un intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} .

4.3.3 Caracterización por termogravimetría (TGA)

Los termogramas se realizaron en una termobalanza TA INSTRUMENTS TGA 2050 V5.2B, usando muestras de PLLA sólido (desde 4.12-17.42 mg) con atmósfera de nitrógeno y en el intervalo de 25-450 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min.

4.3.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los análisis de DSC se realizaron en un equipo DSC TA INSTRUMENTS Q100 V9.0 Build 275, bajo atmósfera de nitrógeno. Se utilizaron muestras de PLLA sólidas se encapsularon en aluminio, se sellaron y se registró el peso el cual estuvo entre 4.9-8.6 mg. Inicialmente se realizó una etapa de calentamiento desde -20 °C hasta 200 °C utilizando una velocidad de calentamiento de 20 °C/min. Posteriormente, se hizo un enfriamiento rápido hasta -40 °C a una velocidad de 10 °C/min. Finalmente, se ejecutó un segundo calentamiento desde la temperatura alcanzada en la etapa anterior hasta 200 °C a una velocidad de 20 °C/min.

4.3.5 Prueba cualitativa para determinar la temperatura de transición vítrea y de fusión

Esta prueba de caracterización, la cual es de carácter cualitativo, se realizó con el fin de corroborar la temperatura de fusión registrada en los análisis DSC y observar si se presentaban cambios de color en el material o degradación térmica.

Las observaciones fueron determinadas por control visual directo de una caja Petri de vidrio que contenía un poco del PLLA sintetizado y la cual se colocó en una plancha de calentamiento capaz de elevar la temperatura a una velocidad lenta hasta 200 °C. El valor de esta variable fue medido mediante un termómetro láser.

4.3.6 Ensayos en Fluido Corporal Simulado (SBF-Simulated Body Fluid)

Cada muestra de polímero seleccionada para realizar el ensayo fue introducida en un recipiente de polietileno en cuyo contenido estaba la solución. El tiempo de inmersión fue de 2 semanas tomando en cuenta lo reportado por T. Kokubo y colaboradores, las cuales indican que después de este tiempo, no se observan cambios importantes en el espesor de la capa de hidroxiapatita formada. Cada 2 días se sacaba una muestra de la solución y se les realizó caracterización por espectroscopia infrarroja (FTIR) mediante la técnica de pastilla de KBr, con el fin de analizar la estructura de cada muestra después de haber estado sumergida en la solución y detectar si los grupos funcionales de la hidroxiapatita se

habían depositado sobre las muestras. Además, se les midió el peso en una balanza analítica con el fin de determinar si el PLLA sufre degradación y se diluye en el SBF.

La temperatura se mantuvo en un rango de 36.5-40 °C, similar a la del cuerpo humano, utilizando un incubador Heidolph tipo shaker y a una velocidad de agitación constante de 45 rpm tal como se muestra en la Figura 8. El incubador funciona por convección natural a temperaturas ajustables desde 5 a 80 °C.



Figura 8. Incubador Heidolph tipo shaker con las muestras de PLLA sumergidas en la solución

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 Síntesis y producción del PLLA

En general, las muestras de PLLA obtenidas tuvieron apariencia de material granulado o goma, de color blanco y otras translúcidas, sin marcas de degradación térmica y libre de impurezas tal y como lo muestra la Figura 9.



Figura 9. PLLA sintetizado de bajo peso molecular

Es muy importante resaltar que la reacción de polimerización debe de ser llevada a cabo bajo un buen control de las variables, sobre todo de la temperatura y la presión, ya que los cambios bruscos en estas variables pueden generar degradación térmica en el material.

5.2 Peso molecular por viscosimetría capilar

Los datos experimentales y resultados obtenidos para cada muestra de polímero se presentan en las Tablas 7 a 16. Se utilizó el programa VISFIT 2.0 para el procesamiento de las mediciones realizadas y el cálculo de la viscosidad intrínseca.

Tabla 7. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 1

----- VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martinez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003) -----							
Title: PLLA1/Cloroformo/25°C Name of output graphics file:PLLA1-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm3): 0.010000 Volume of initial solution (cm3): 10.000 Flow time of initial solution (s): 139.89							
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL
0.00	139.89	0.010000	1.0679	6.79	6.77	6.57	6.55
1.00	139.08	0.009091	1.0617	6.78	6.77	6.58	6.57
1.00	138.36	0.008333	1.0562	6.74	6.77	6.56	6.58
2.00	137.29	0.007143	1.0480	6.72	6.76	6.57	6.61
2.00	136.57	0.006250	1.0425	6.80	6.76	6.66	6.62
Common Intercept = 6.74 Slope (Y) = 2.97E+00 Slope (Z) = -1.91E+01 Intrinsic viscosity: 6.74 cm ³ /g Huggins const. k _H : 0.065 Kraemer const. k _K : 0.420 Sum of constants k _H +k _K : 0.485							

Tabla 8. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 2

----- VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martinez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003) -----							
Title: PLLA2/Cloroformo/25°C Name of output graphics file:PLLA2-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm3): 0.010000 Volume of initial solution (cm3): 10.000 Flow time of initial solution (s): 140.54							
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL
0.00	140.54	0.010000	1.0728	7.28	7.27	7.03	7.02
1.00	139.67	0.009091	1.0662	7.28	7.26	7.05	7.03
1.00	138.89	0.008333	1.0602	7.23	7.25	7.02	7.04
2.00	137.73	0.007143	1.0514	7.19	7.24	7.01	7.06
2.00	136.95	0.006250	1.0454	7.27	7.23	7.11	7.07
Common Intercept = 7.15 Slope (Y) = 1.23E+01 Slope (Z) = -1.30E+01 Intrinsic viscosity: 7.15 cm ³ /g Huggins const. k _H : 0.241 Kraemer const. k _K : 0.254 Sum of constants k _H +k _K : 0.495							

Tabla 9. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 3

----- VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martinez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003) -----							
Title: PLLA3/Cloroformo/25°C Name of output graphics file: PLLA3-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm³): 0.010000 Volume of initial solution (cm³): 10.000 Flow time of initial solution (s): 143.93							
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL
0.00	143.93	0.010000	1.0987	9.87	9.85	9.41	9.39
1.00	142.74	0.009091	1.0896	9.86	9.83	9.44	9.42
1.00	141.68	0.008333	1.0815	9.78	9.82	9.40	9.44
2.00	140.10	0.007143	1.0695	9.73	9.80	9.40	9.47
2.00	139.06	0.006250	1.0615	9.84	9.78	9.55	9.49
Common Intercept = 9.66 Slope (Y) = 1.94E+01 slope (Z) = -2.63E+01 Intrinsic viscosity: 9.66 cm³/g Huggins const. k_H: 0.208 Kraemer const. k_K: 0.282 Sum of constants k_H+k_K: 0.490							

Tabla 10. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 4

----- VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martinez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003) -----							
Title: PLLA4/Cloroformo/25°C Name of output graphics file: PLLA4-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm³): 0.010000 Volume of initial solution (cm³): 10.000 Flow time of initial solution (s): 145.38							
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL
0.00	145.38	0.010000	1.1098	10.98	10.96	10.42	10.40
1.00	144.05	0.009091	1.0996	10.96	10.93	10.45	10.42
1.00	142.87	0.008333	1.0906	10.87	10.91	10.41	10.44
2.00	141.11	0.007143	1.0772	10.80	10.87	10.41	10.47
2.00	139.93	0.006250	1.0682	10.91	10.84	10.55	10.49
Common Intercept = 10.65 Slope (Y) = 3.09E+01 slope (Z) = -2.53E+01 Intrinsic viscosity: 10.65 cm³/g Huggins const. k_H: 0.272 Kraemer const. k_K: 0.223 Sum of constants k_H+k_K: 0.495							

Tabla 11. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 5

VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martínez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003)							
Title: PLLA5/Cloroformo/25°C Name of output graphics file:PLLA5-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm3): 0.010000 Volume of initial solution (cm3): 10.000 Flow time of initial solution (s): 140.56							
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL
0.00	140.56	0.010000	1.0730	7.30	7.28	7.04	7.03
1.00	139.69	0.009091	1.0663	7.30	7.28	7.07	7.05
1.00	138.91	0.008333	1.0604	7.25	7.28	7.04	7.07
2.00	137.76	0.007143	1.0516	7.22	7.28	7.04	7.10
2.00	137.00	0.006250	1.0458	7.33	7.28	7.17	7.12
Common Intercept = 7.27 Slope (Y) = 1.12E+00 slope (Z) = -2.43E+01 Intrinsic viscosity: 7.27 cm ³ /g Huggins const. k _H : 0.021 kraemer const. k _K : 0.460 Sum of constants k _H +k _K : 0.481							

Tabla 12. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 6

VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martínez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003)							
Title: PLLA6/Cloroformo/25°C Name of output graphics file:PLLA6-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm3): 0.010000 Volume of initial solution (cm3): 10.000 Flow time of initial solution (s): 141.07							
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL
0.00	141.07	0.010000	1.0769	7.69	7.67	7.41	7.39
1.00	140.15	0.009091	1.0698	7.68	7.66	7.43	7.41
1.00	139.33	0.008333	1.0636	7.63	7.66	7.40	7.42
2.00	138.10	0.007143	1.0542	7.59	7.64	7.39	7.44
2.00	137.29	0.006250	1.0480	7.68	7.63	7.50	7.46
Common Intercept = 7.56 Slope (Y) = 1.10E+01 slope (Z) = -1.71E+01 Intrinsic viscosity: 7.56 cm ³ /g Huggins const. k _H : 0.192 kraemer const. k _K : 0.300 Sum of constants k _H +k _K : 0.491							

Tabla 13. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 7

----- VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martínez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003) -----								
Title: PLLA7/Cloroformo/25°C Name of output graphics file: PLLA7-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm³): 0.010000 Volume of initial solution (cm³): 10.000 Flow time of initial solution (s): 142.42								
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL	
0.00	142.42	0.010000	1.0872	8.72	8.70	8.36	8.34	
1.00	141.36	0.009091	1.0791	8.70	8.68	8.37	8.35	
1.00	140.42	0.008333	1.0719	8.63	8.66	8.33	8.36	
2.00	139.02	0.007143	1.0612	8.57	8.63	8.32	8.38	
2.00	138.10	0.006250	1.0542	8.67	8.61	8.44	8.39	
Common Intercept = 8.47 Slope (Y) = 2.28E+01 slope (Z) = -1.30E+01 Intrinsic viscosity: 8.47 cm³/g Huggins const. k_H: 0.318 Kraemer const. k_K: 0.181 Sum of constants k_H+k_K: 0.499								

Tabla 14. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 8

----- VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martínez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003) -----								
Title: PLLA8/Cloroformo/25°C Name of output graphics file: PLLA8-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm³): 0.010000 Volume of initial solution (cm³): 10.000 Flow time of initial solution (s): 146.00								
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL	
0.00	146.00	0.010000	1.1145	11.45	11.43	10.84	10.82	
1.00	144.60	0.009091	1.1038	11.42	11.40	10.87	10.85	
1.00	143.38	0.008333	1.0945	11.34	11.37	10.84	10.87	
2.00	141.53	0.007143	1.0804	11.25	11.34	10.82	10.90	
2.00	140.32	0.006250	1.0711	11.38	11.31	11.00	10.93	
Common Intercept = 11.11 Slope (Y) = 3.18E+01 slope (Z) = -2.91E+01 Intrinsic viscosity: 11.11 cm³/g Huggins const. k_H: 0.257 Kraemer const. k_K: 0.236 Sum of constants k_H+k_K: 0.493								

Tabla 15. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA punto central

VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martínez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003)								
Title: PLLAPC/Cloroformo/25°C Name of output graphics file: PLLAPC-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm3): 0.010000 Volume of initial solution (cm3): 10.000 Flow time of initial solution (s): 141.54								
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL	
0.00	141.54	0.010000	1.0805	8.05	8.04	7.74	7.73	
1.00	140.59	0.009091	1.0732	8.05	8.03	7.77	7.75	
1.00	139.73	0.008333	1.0666	8.00	8.03	7.74	7.77	
2.00	138.46	0.007143	1.0569	7.97	8.02	7.75	7.80	
2.00	137.60	0.006250	1.0504	8.06	8.02	7.86	7.82	
Common Intercept = 7.98 Slope (Y) = 5.26E+00 Slope (Z) = -2.56E+01 Intrinsic viscosity: 7.98 cm³/g Huggins const. k_H: 0.083 Kraemer const. k_K: 0.401 Sum of constants k_H+k_K: 0.484								

Tabla 16. Datos correspondientes a la viscosimetría de la muestra PLLA 9h

VISFIT, version 2.0 M.C. Lopez Martínez, F.G, Díaz Baños, A. Ortega and J. García de la Torre "Multiple Linear Least-Squares Fits with a Common Intercept: Determination of the intrinsic viscosity of macromolecules in solution" Journal of Chemical Education 80, 1036-1038 (2003)								
Title: PLLA9h/Cloroformo/25°C Name of output graphics file: PLLA9h-gra.txt Flow time for solvent (s): 131.00 Concentration of initial solution (g/cm3): 0.010000 Volume of initial solution (cm3): 10.000 Flow time of initial solution (s): 146.10								
V Add	time	conc	etarel	Y	YCAL	Z	ZCAL	
0.00	146.10	0.010000	1.1153	11.53	11.51	10.91	10.89	
1.00	144.71	0.009091	1.1047	11.51	11.49	10.95	10.93	
1.00	143.48	0.008333	1.0953	11.43	11.47	10.92	10.96	
2.00	141.64	0.007143	1.0812	11.37	11.44	10.93	11.00	
2.00	140.41	0.006250	1.0718	11.49	11.42	11.10	11.04	
Common Intercept = 11.28 Slope (Y) = 2.23E+01 Slope (Z) = -3.95E+01 Intrinsic viscosity: 11.28 cm³/g Huggins const. k_H: 0.175 Kraemer const. k_K: 0.311 Sum of constants k_H+k_K: 0.486								

En la Tabla 17 se muestran los pesos moleculares de las muestras de polímero sintetizadas calculados a partir de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (Ecuación 6).

Tabla 17. Peso molecular viscoso (M_v) para cada muestra de polímero sintetizada

Muestra	Viscosidad intrínseca (ml/g)	Peso molecular viscoso, M_v (g/mol)
PLLA 1	6.74	2521.4
PLLA 2	7.15	2698.48
PLLA 3	9.66	3813.44
PLLA 4	10.65	4266
PLLA 5	7.27	2750.61
PLLA 6	7.56	2877.09
PLLA 7	8.47	3278.62
PLLA 8	11.11	4478.46
PLLA PC	7.98	3061.57
PLLA 9h	11.28	4557.32

Con los valores del peso molecular (PM) de cada muestra, se elaboró una ANOVA correspondiente a la Tabla 18 utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XV, con el fin de determinar qué factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la variable de respuesta que en este caso es el PM.

Tabla 18. Análisis de varianza (ANOVA) para el peso molecular. Suma de cuadrados tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tiempo	3.11119E6	1	3.11119E6	28.65	0.0059
B:Temperatura	478222	1	478222	4.40	0.1038
C:Presión	912.926	1	912.926	0.01	0.9313
RESIDUOS	434313	4	108578		
TOTAL (CORREGIDO)	4.02464E6	7			

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede asegurar que el peso molecular viscoso aumenta a medida que el tiempo de polimerización incrementa, ya que el PM de los polímeros sintetizados con un tiempo de 8 h fueron mayor a la de los obtenidos con un tiempo de reacción de 6 h. El aumento de la temperatura de la reacción es un aspecto que permite favorecer la cinética de la polimerización y al peso molecular, tal como se aprecia en los resultados experimentales. Los polímeros que se sintetizaron a 180 °C tuvieron un mayor peso molecular en comparación con los que se obtuvieron a 160 °C. Hay que tener en cuenta también que la temperatura no puede sobrepasar los 200 °C ya que después de este valor el material comienza a sufrir degradación térmica y cambios de color si no hay una atmosfera inerte presente. Los valores-P de la ANOVA prueban la significancia estadística de estos dos factores (tiempo y temperatura) puesto que estos son menores o iguales a 0.1, lo que indica que existe una relación estadísticamente significativa entre estas variables y el peso molecular con un nivel de confianza del 90%. Además, se comprobó que el diseño de experimentos es reproducible ya que el peso molecular de la muestra sintetizada en el punto central fue un valor intermedio en relación con las muestras del diseño de experimentos, mientras que el valor de la masa molecular de la muestra PLLA 9h fue más alto que las demás muestras del diseño evidenciando así la influencia significativa que tiene el tiempo sobre el peso molecular.

Con la ANOVA también se pudo establecer que el factor que menos significancia estadística tuvo con el peso molecular fue la presión. Lo anterior no quiere decir que la presión no sea trascendental en la polimerización, ya que es de vital importancia que el proceso se lleve a cabo en condiciones de vacío para que la reacción se pueda desarrollar. Es posible que la presión no sea tan determinante estadísticamente, ya que el intervalo entre los dos niveles sea insuficiente para hacer que esta variable sea significativa en la variación del peso molecular. Seguramente, si el intervalo entre los dos niveles es más grande, la presión sería más significativa en el análisis estadístico.

Con el programa STATGRAPHICS Centurion XV también se ajustó un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre el peso molecular y las 3 variables independientes. La relación del modelo ajustado es:

$$\text{Peso molecular} = -5239.64 + 623.617 \cdot \text{Tiempo} + 24.4495 \cdot \text{Temperatura} + 7.12167 \cdot \text{Presión} \quad (10)$$

El término correspondiente a la presión en la Ecuación 10 puede simplificarse ya que esta variable no es estadísticamente significativa, por lo cual se reduce a

$$\text{Peso molecular} = -5239.64 + 623.617 \cdot \text{Tiempo} + 24.4495 \cdot \text{Temperatura} \quad (11)$$

La Figura 10 muestra la representación de la Ecuación 11 en una superficie de respuesta

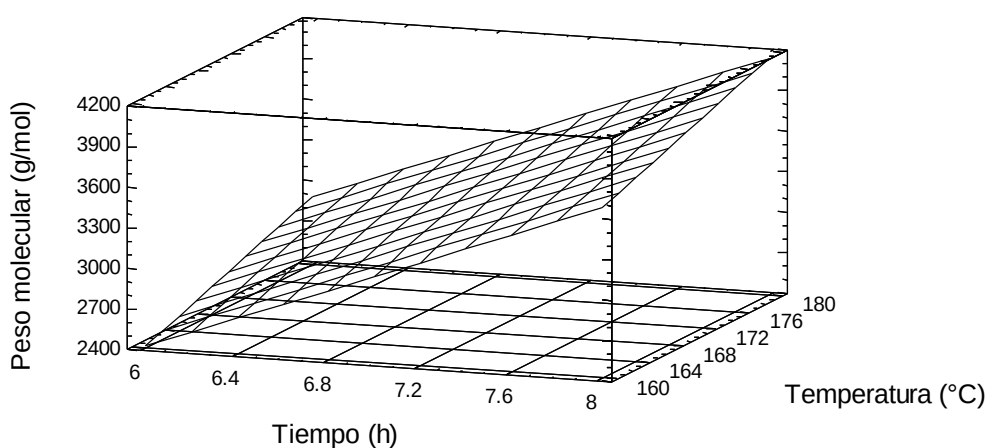


Figura 10. Superficie de respuesta del modelo simplificado

Con los resultados obtenidos experimentalmente y la superficie de respuesta se observa que las condiciones óptimas en la reacción de polimerización de acuerdo al diseño propuesto son las correspondientes a la muestra PLLA 8 la cual obtuvo el mayor peso molecular.

La polimerización realizada por policondensación directa es fuertemente dependiente de la eliminación eficiente y constante del agua que se produce como subproducto de la reacción de polimerización. Debido al aumento de la viscosidad durante la polimerización,

es difícil remover totalmente el agua en la policondensación directa, dando como resultado polímeros de bajo peso molecular, característica que también se presentó en esta investigación.

En general, las muestras que presentaron un peso molecular superior a 3000 g/mol, son aceptables para su utilización en aplicaciones biomédicas tales como la liberación controlada de fármacos.

5.3 Caracterización por espectroscopía infrarroja (FTIR)

5.3.1 Ácido láctico

El análisis por FTIR del monómero de partida se realizó en un espectrofotómetro de marca SHIMADZU por la técnica de *película líquida*.

En la Figura 11 se observa el espectro obtenido del ácido láctico, en el cual se pueden identificar bandas de elevada intensidad a 3402 y 2991 cm^{-1} correspondientes a la tensión del enlace OH y a la tensión asimétrica del CH_3 respectivamente, seguido de una banda a 2943 cm^{-1} propia de la tensión simétrica del CH_3 . A 1734 y 1129 cm^{-1} se ubican dos bandas muy intensas pertenecientes a la tensión de los enlaces C=O y C-O respectivamente. También se encuentra una banda con menor intensidad a 1218 cm^{-1} para la tensión asimétrica del enlace COC (ver Tabla 19).

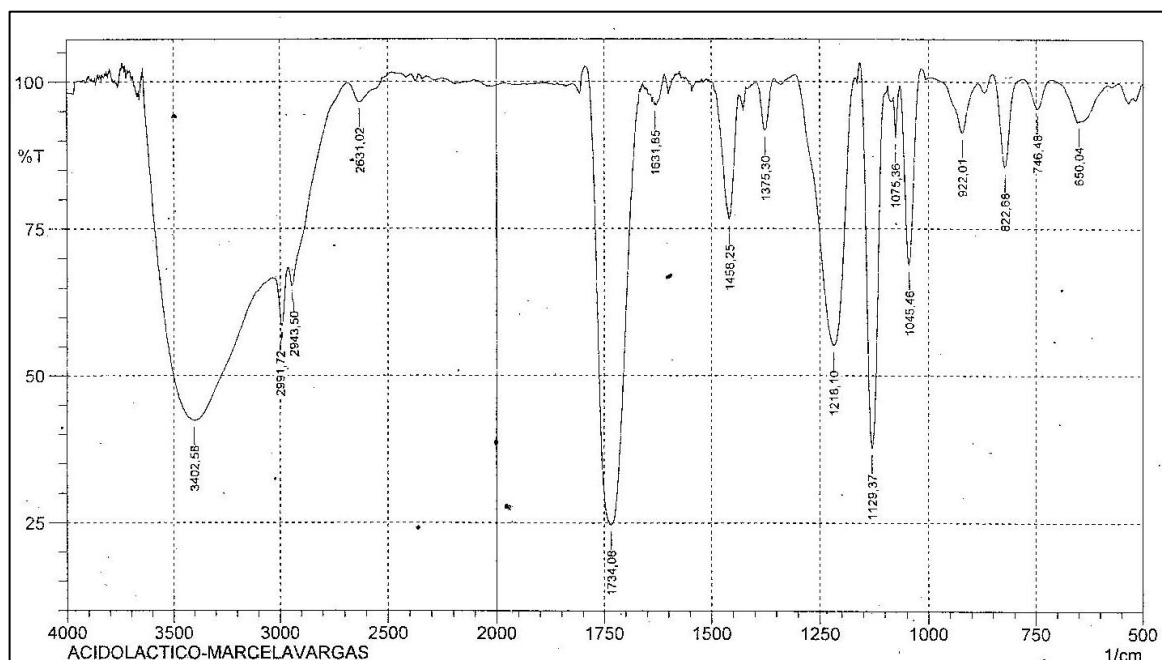


Figura 11. Espectro FTIR del ácido láctico

5.3.2 PLLA

De acuerdo con la interpretación de los espectros mostrados en las Figuras 12, 13 y 14 correspondientes a las muestras poliméricas PLLA 4, PLLA 8 Y PLLA 9h respectivamente, se pueden observar tres fuertes bandas, una de esas alrededor de 1760 cm^{-1} la cual corresponde a la vibración de tensión del enlace carbonilo $\text{C}=\text{O}$, otra banda a 1225 cm^{-1} para la vibración de tensión asimétrica del enlace COC y la banda alrededor de 1090 cm^{-1} muestra la tensión simétrica del enlace COC . Estas dos últimas bandas pertenecen a las vibraciones características del grupo éster, lo que da indicios de la formación de algún dímero en las muestras obtenidas.

La presencia de una banda fuerte a 3571 cm^{-1} permitió identificar la presencia de grupos hidroxilo (OH) terminales, lo cual es un indicador de que se ha formado un polímero de bajo peso molecular, característica deseada del producto final en este proyecto.

Además, se observan 2 bandas a 2997 cm^{-1} y 2946 cm^{-1} las cuales corresponden a la tensión de los grupos CH_3 asimétrico y CH_3 simétrico respectivamente. La banda a 1455

cm^{-1} corresponde a la vibración de flexión o deformación del enlace CH_3 . Alrededor de 1383 cm^{-1} se encuentra la banda que representa la deformación (vibración de flexión) de tijera del enlace CH_3 . Por último, alrededor de 1046 cm^{-1} se identifica la vibración de tensión el enlace C-CH_3 .

La Tabla 19 muestra las asignaciones de banda generales para el PLLA y el ácido láctico.

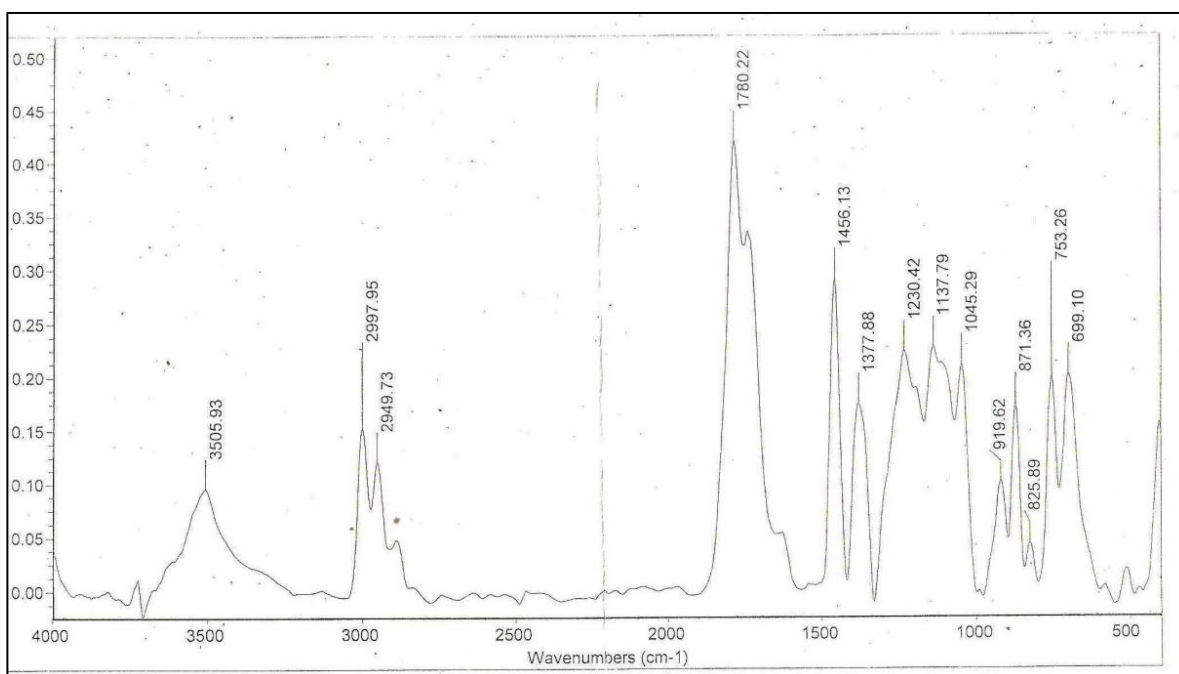


Figura 12. Espectro FTIR de la muestra PLLA 4

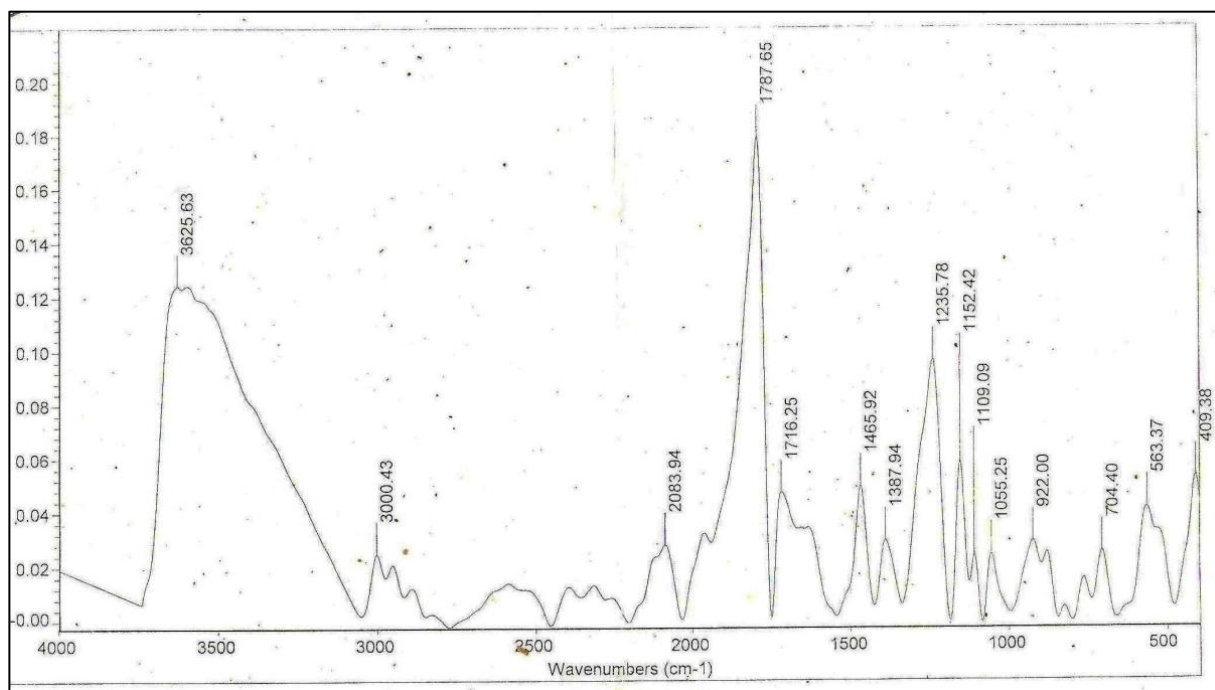


Figura 13. Espectro FTIR de la muestra PLLA 8

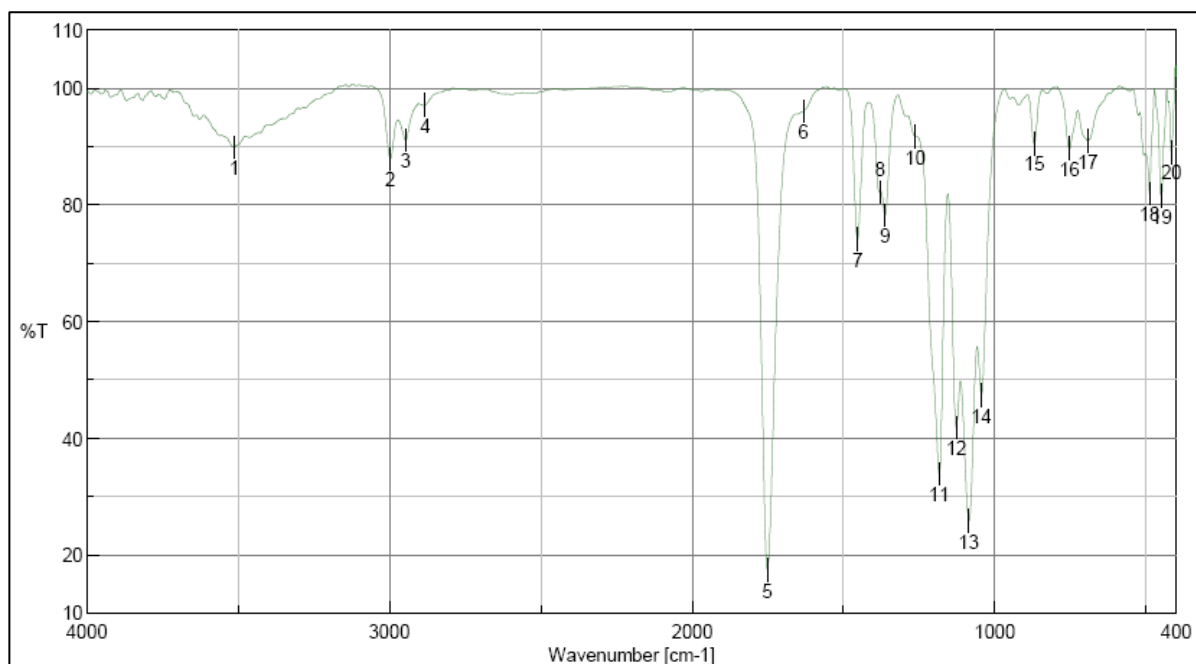


Figura 14. Espectro FTIR de la muestra PLLA 9h

Tabla 19. Asignaciones de banda generales para el PLLA y el ácido láctico

Bandas IR (cm^{-1})						Asignación
Ácido láctico	Intensidad	PLLA 4	PLLA 8	PLLA 9h	Intensidad	
3402.58	Fuerte	3505.93	3625.63	3512	Media	νOH
2991.72	Fuerte	2997.95	3000.43	2996.84	Media	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$
2943.5	Fuerte	2949.73	2948	2946.7	Media	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$
2631.02	Baja	2877	2882	2881.13	Baja	νCH
1734.08	Muy fuerte	1780	1787.65	1751.05	Muy fuerte	$\nu(\text{C}=\text{O})$
1458.25	Media	1456.13	1465.92	1453.1	Fuerte	$\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$
1375.3	Media	1377.88	1387.94	1378.85	Fuerte	$\delta_{\text{s}}\text{CH}_3$
1218.1	Fuerte	1230.42	1235.78	1262.18	Fuerte	$\nu_{\text{as}}\text{C}-\text{O}-\text{C}$
1075.36	Media	1097.41	1109.09	1085.73	Fuerte	$\nu_{\text{s}}\text{C}-\text{O}-\text{C}$
1045.46	Media	1045.29	1055.25	1044.26	Fuerte	$\nu\text{C}-\text{CH}_3$
822.68	Media	871.36	873	869.74	Media	$\nu\text{C}-\text{COO}$
746.48	Baja	753.26	756	753.07	Media	$\delta\text{C}=\text{O}$

Si se comparan los espectros FTIR del ácido láctico y la muestra PLLA 9h (Figura 11 y Figura 14 respectivamente) se puede confirmar que la posición de las bandas para el monómero y el polímero son similares, sin embargo están desplazadas algunos cm^{-1} y su intensidad es comparativamente diferente. Considerando que no se usó solvente ni catalizador para la policondensación es de esperar Esto se debe a que no se utilizó disolventes ni agentes externos para la, por lo cual se espera que el espectro del PLLA sea muy parecido al del ácido láctico. La diferencia en los espectros radica en la intensidad de las bandas correspondientes a la tensión simétrica (1090 cm^{-1}) y asimétrica del enlace COC (1225 cm^{-1}). Estas son más intensas en el FTIR del PLLA y pertenecen a las vibraciones características del grupo éster los cuales permiten la unión entre las moléculas de monómero y finalmente formar el polímero. Además, la banda correspondiente al grupo OH es menos intensa en el PLLA, debido a que durante la polimerización los hidroxilos reaccionan con los hidrógenos formando agua en el momento en que una unidad monomérica se une con otra y la frecuencia de elongación del enlace $\text{C}=\text{O}$ en el monómero y el polímero es un indicio de que la polimerización tuvo lugar.

De acuerdo con la caracterización estructural de los polímeros analizados, se infiere la presencia de polímero de bajo peso molecular ya que se identificaron plenamente las bandas características para la formación de este compuesto. Todo esto se hace evidenciable de manera física al manipular el material obtenido que en general fue sólido, translúcido, sin marcas de degradación térmica y libre de impurezas.

5.4 Caracterización por termogravimetría (TGA)

Se realizó la caracterización por TGA a las muestras PLLA 4 Y PLLA 8 por ser las que presentaron mayor peso molecular del diseño experimental. Los termogramas obtenidos de las muestras, en donde se determinó la pérdida de masa en función de la temperatura, se muestran a continuación en las Figuras 15 y 16 respectivamente:

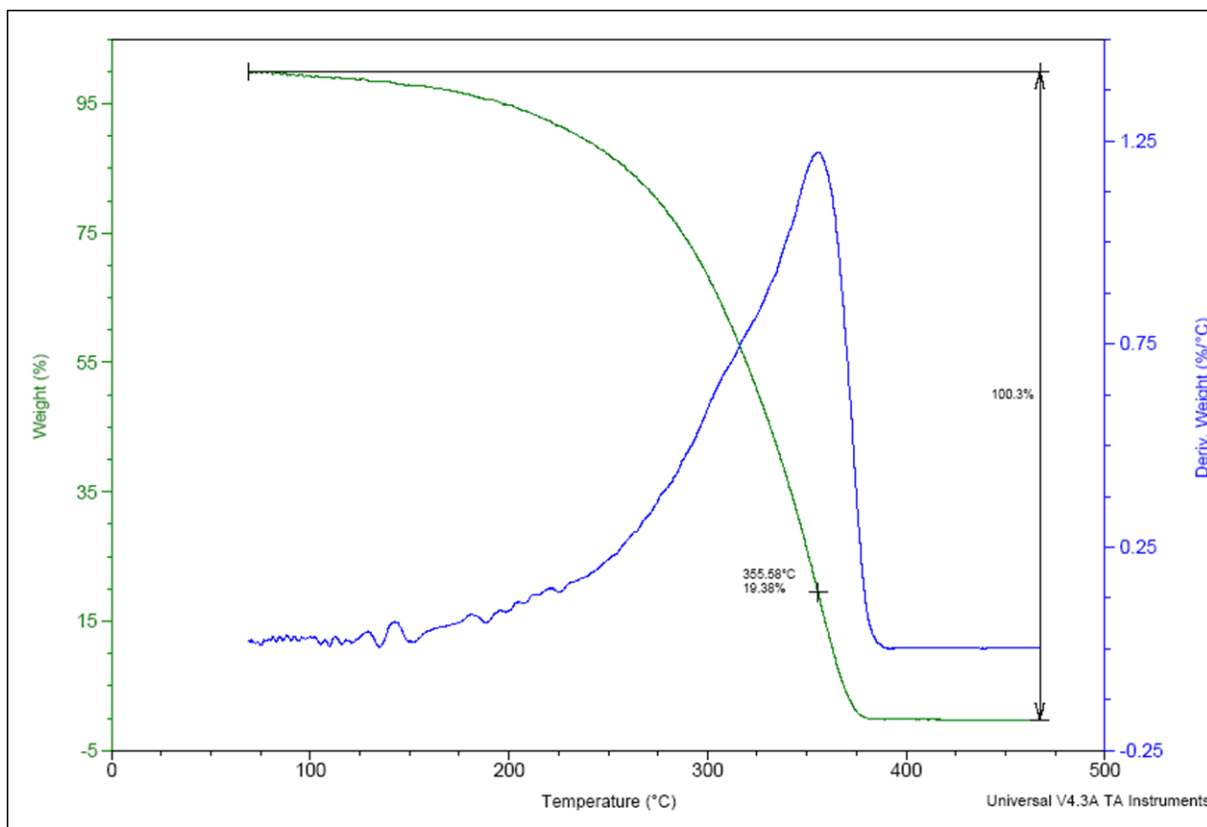


Figura 15. Termograma de la muestra PLLA 4

En el TGA para la muestra PLLA 4 se puede observar que a partir de aproximadamente 103 °C hay un aumento en la velocidad de degradación, lo que se debe a la desaparición de algunos compuestos presentes en el polímero que pueden ser agua, monómero sin reaccionar o láctido. La velocidad de degradación sigue aumentando a medida que la temperatura crece hasta alcanzar los 355.58 °C y una pérdida final de peso correspondiente al 80.62%.

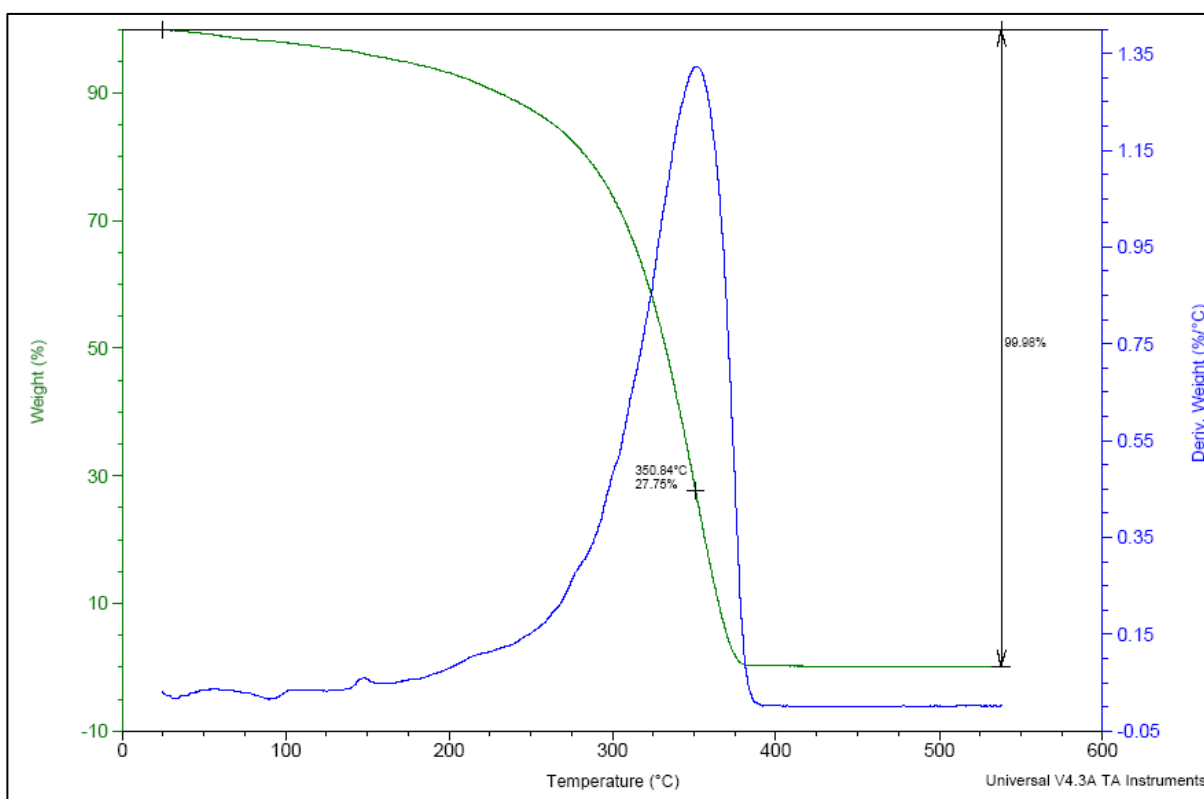


Figura 16. Termograma de muestra PLLA 8

En el TGA para la muestra PLLA 8, la cual alcanzó una pérdida de peso menor respecto a la muestra anterior, se observa que la velocidad de degradación de la muestra aumenta progresivamente a medida que la temperatura se hace mayor hasta alcanzar los 350.87 °C donde la pérdida de peso final corresponde al 72.25%.

En general, los diagramas de TGA muestran que los polímeros exhiben un notable decaimiento en la masa cuando son calentados. Esto sugiere que los PLLA's obtenidos

pertenecen al grupo de polímeros que son relativamente sensibles a la degradación térmica. La razón por la cual estos polímeros presentan una pobre estabilidad térmica probablemente sea debido a la hidrólisis por rastros de agua catalizados por monómeros hidrolizables (ácido láctico) debido a los bajos pesos moleculares de las muestras sintetizadas.

A partir de los resultados obtenidos, se puede afirmar que los polímeros presentaron una baja estabilidad térmica a altas temperaturas ($>100\text{ }^{\circ}\text{C}$) ya que desde el inicio del calentamiento comienzan a perder masa. La diferencia radica en la pérdida final de peso alcanzada por cada una de las muestras lo cual está directamente relacionado con el peso molecular de cada una de ellas, ya que la que registró una pérdida de peso menor presentó un peso molecular mayor (PLLA 8) y la muestra que registró una pérdida de peso mayor y una mayor degradación térmica (PLLA 4), presentó un menor peso molecular.

5.5 Caracterización por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los análisis DSC realizados a las muestras PLLA 4 y PLLA 8 presentan 2 picos o fases correspondientes a reacciones endotérmicas que ocurren en el material las cuales permiten establecer el valor de la temperatura de transición vítrea (T_g) y de la temperatura de fusión (T_m).

En la Figura 17 se presenta la curva DSC del primer y segundo calentamiento para la muestra PLLA 4. En la curva que representa al primer calentamiento se observa un pico endotérmico el cual corresponde al pico de fusión del polímero. Según el termograma DSC, la temperatura de fusión (T_m) para esta muestra es de $108.04\text{ }^{\circ}\text{C}$ y el valor correspondiente a H_f el cual es 3.165 J/g . También se puede identificar la temperatura de transición vítrea (T_g) del polímero en la curva que representa al segundo calentamiento de la muestra y cuyo valor es de $34.54\text{ }^{\circ}\text{C}$.

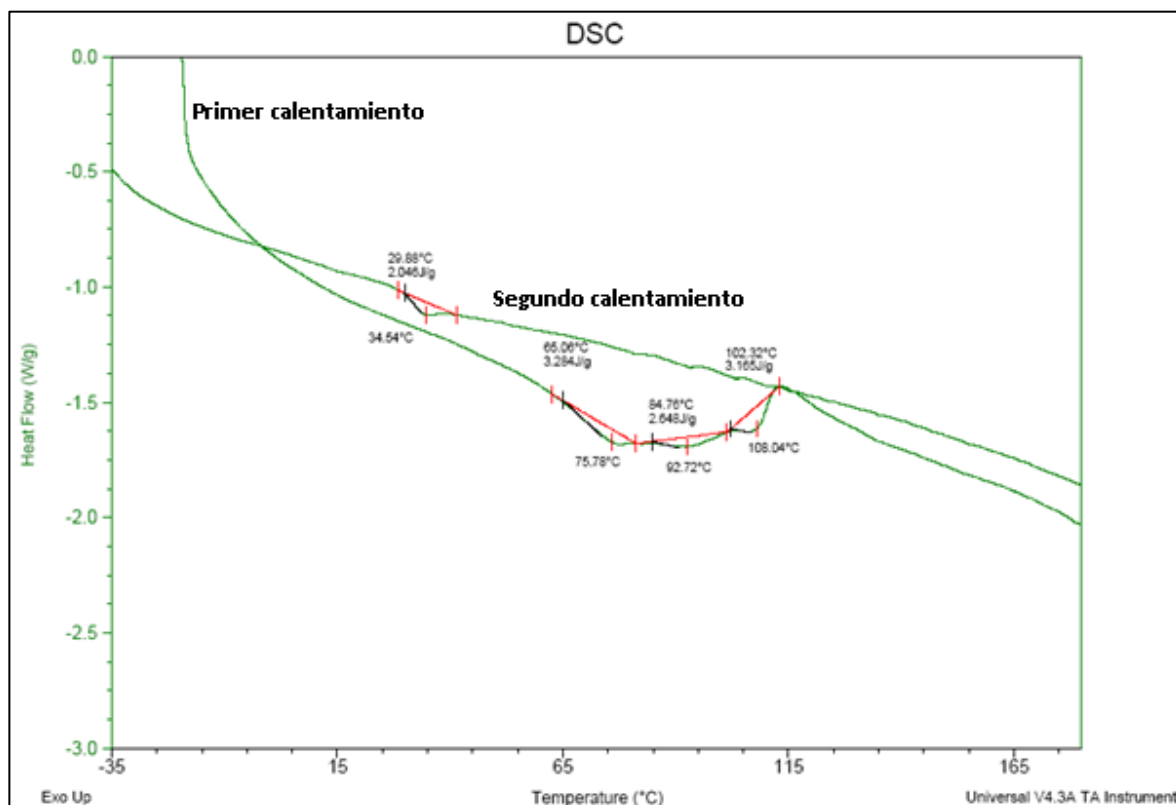


Figura 17. Curva DSC para la muestra PLLA 4

En la Figura 18 se presenta la curva DSC del primer y segundo calentamiento para la muestra PLLA 8. En la curva que representa al primer calentamiento, se observa un pico endotérmico el cual corresponde al pico de fusión del polímero. Según el termograma DSC, la temperatura de fusión (T_m) para esta muestra es de 117.83 °C y el valor correspondiente a H_f el cual es 45.27 J/g. También se puede identificar la temperatura de transición vítrea (T_g) del polímero en la curva que representa al segundo calentamiento de la muestra y cuyo valor es de 35.08 °C.

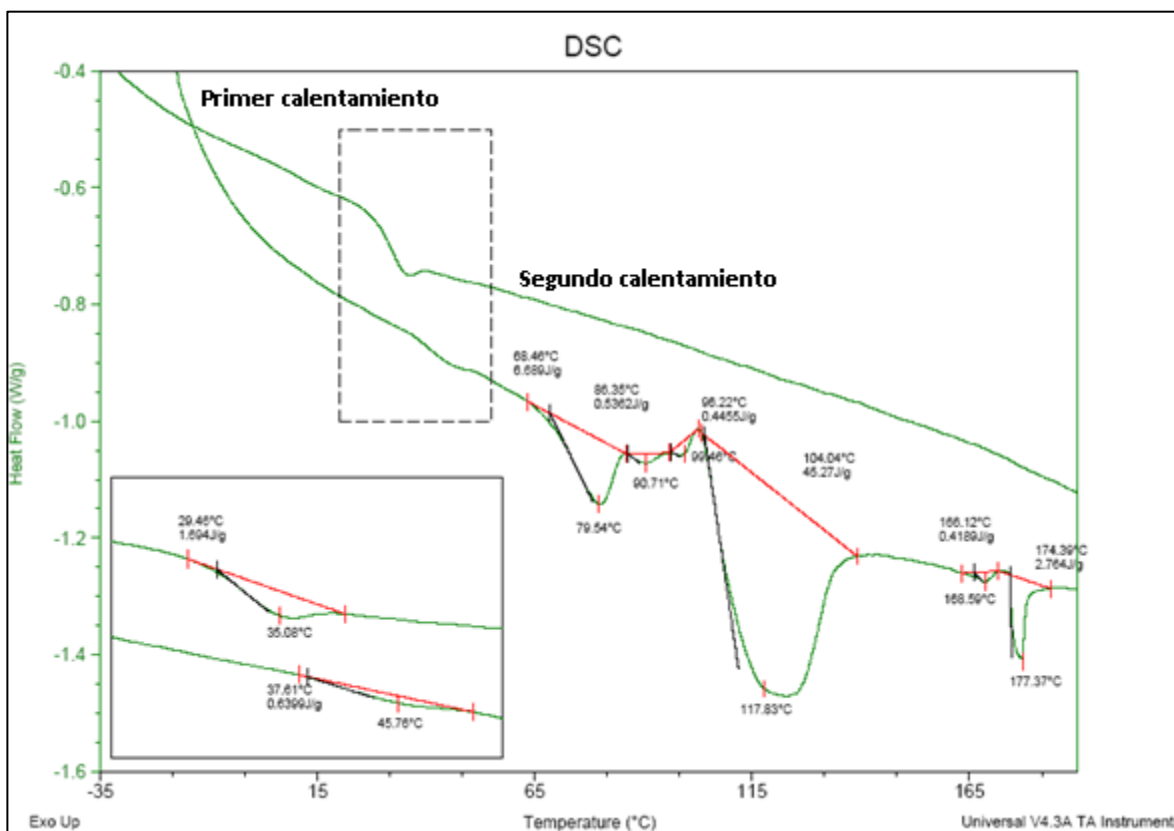


Figura 18. Curva DSC para la muestra PLLA 8

En la Tabla 20 se presentan las propiedades obtenidas de las muestras de polímero caracterizadas:

Tabla 20. Propiedades de las muestras PLLA 4 y PLLA 8

Muestra	T_m (°C)	T_g (°C)	H_f (J/g)	χ_c (%)
PLLA 4	108.04	34.54	3.165	3.38
PLLA 8	117.83	35.08	45.27	48.31

La temperatura de fusión de las muestras caracterizadas varía desde 108.04 °C para la muestra de menor peso molecular hasta 117.83 °C para la de mayor peso molecular. Esta temperatura está determinada por la intensidad de las fuerzas de Van der Waals que mantienen unidas las cadenas del polímero. Por esto, cuando el polímero tiene un mayor peso molecular, se tendrán mayores interacciones de este tipo, lo que conlleva a necesitar mayor energía para fundirlo.

La temperatura de transición vítrea para la zona amorfa de las muestras, también aumenta conforme aumenta el peso molecular, variando desde 34.54 °C para la muestra de menor peso molecular hasta 35.08 °C para la de mayor peso. El aumento del peso molecular significa una disminución en el número de cadenas cortas y por ende, una disminución en la concentración de terminales de cadenas las cuales le restan regularidad a la estructura, logrando de esta manera que el grado de compactación aumente lo que también favorece a la cristalinidad. Esto disminuye el volumen libre entre macromoléculas y la T_g aumenta.

El cálculo de los grados o porcentajes de cristalinidad de las muestras PLLA 4 y PLLA 8 utilizando la Ecuación 7 donde la entalpia de fusión (H_{fc}) del PLLA 100 % cristalino es de 93.7 J/g señaló que estos polímeros son semicristalinos en estado sólido formados por dos regiones claramente definidas. Una de estas regiones es amorfa y la otra es cristalina. Si se relaciona esta propiedad con el peso molecular, se puede decir que un aumento en la masa molar implica un aumento en la cristalinidad y viceversa.

5.6 Prueba cualitativa para determinar la temperatura de transición vítrea y de fusión

De acuerdo a lo observado en este análisis, se corroboró que la temperatura de transición vítrea y de fusión registrada en los análisis DSC y TGA fueron acordes a lo estudiado en esta prueba. Además, se observó que a medida que la temperatura iba aumentando, hubo desprendimiento de vapores por parte del polímero los cuales pueden ser agua y/o monómero sin reaccionar y que no ocurrió degradación térmica ni cambio de color en el polímero.

5.7 Ensayos en Fluido Corporal Simulado (SBF-Simulated Body Fluid)

Las Figuras 19, 20, 21, 22 y 23 muestran los espectros FTIR de cada muestra a diferentes tiempos de inmersión en SBF. Los tiempos de inmersión fueron de 2, 4, 7, 11 y 15 días para las muestras PLLA-SBF1, PLLA-SBF2, PLLA-SBF3, PLLA-SBF4 y PLLA-SBF5 respectivamente.

El volumen de SBF para cada muestra se calculó mediante las Ecuaciones 8 y 9, donde el radio de cada una fue de 10 mm mientras que el largo fue de 3 mm. El área calculada de cada muestra fue:

$$A = 2 \times \pi \times 10^2 + 2 \times \pi \times 10 \times 3$$

$$A = 816.81 \text{ mm}^2$$

$$V = (816.81 / 10) \times 1.5$$

$$V = 122.5 \text{ ml}$$

De acuerdo al volumen de SBF calculado necesario, cada muestra se sumergió en 122.5 ml de solución de fluido corporal simulado para poder llevar a cabo la prueba y cada muestra tuvo un peso inicial de 2.25 g.

Según los espectros FTIR de las muestras, además de observar las bandas características del PLLA descritas anteriormente en la Tabla 7, también se pueden identificar las vibraciones a 925, 690 y 510 cm^{-1} características de los grupos $(\text{PO}_4)^{-3}$ presentes en la hidroxiapatita. Es claro que mientras más tiempo haya estado la muestra sumergida en la solución, la intensidad de las bandas características de la hidroxiapatita se hace más fuerte confirmando así la deposición de este compuesto en las muestras. Los grupos OH terminales presentes en el PLLA tienen una carga negativa la cual puede ser capaz de atraer iones de calcio, los que a su vez atraerían a un grupo fosfato llegando a formar centros de nucleación y crecimiento de fosfatos de calcio. Además, si esta nucleación se lleva a cabo en concentraciones de iones de calcio y fosfato semejantes a las que presenta el plasma humano, se llevará a cabo el crecimiento de la capa bioactiva de hidroxiapatita.

Cabe destacar que la intensidad de las vibraciones de los grupos $(\text{PO}_4)^{-3}$ es media-baja, lo que indica que únicamente se produjeron depósitos puntuales de hidroxiapatita en las muestras de PLLA sumergidas. Lo anterior hace que el PLLA sintetizado cumpla con las características señaladas para ser usado potencialmente como biomaterial.

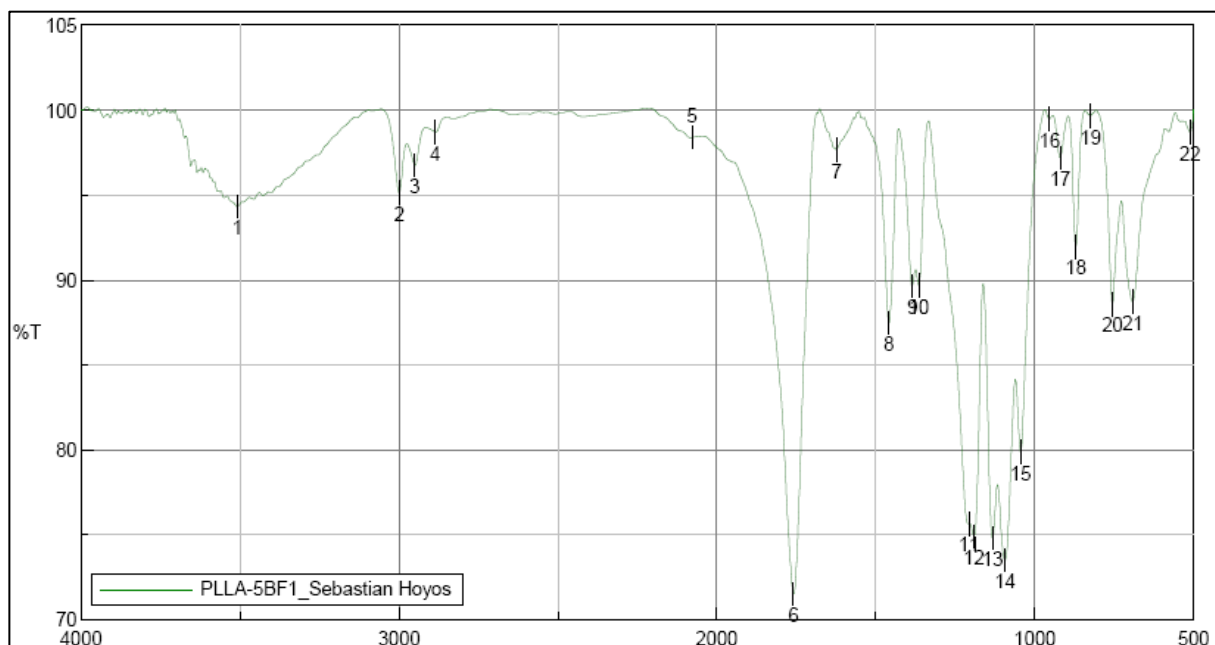


Figura 19. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF1

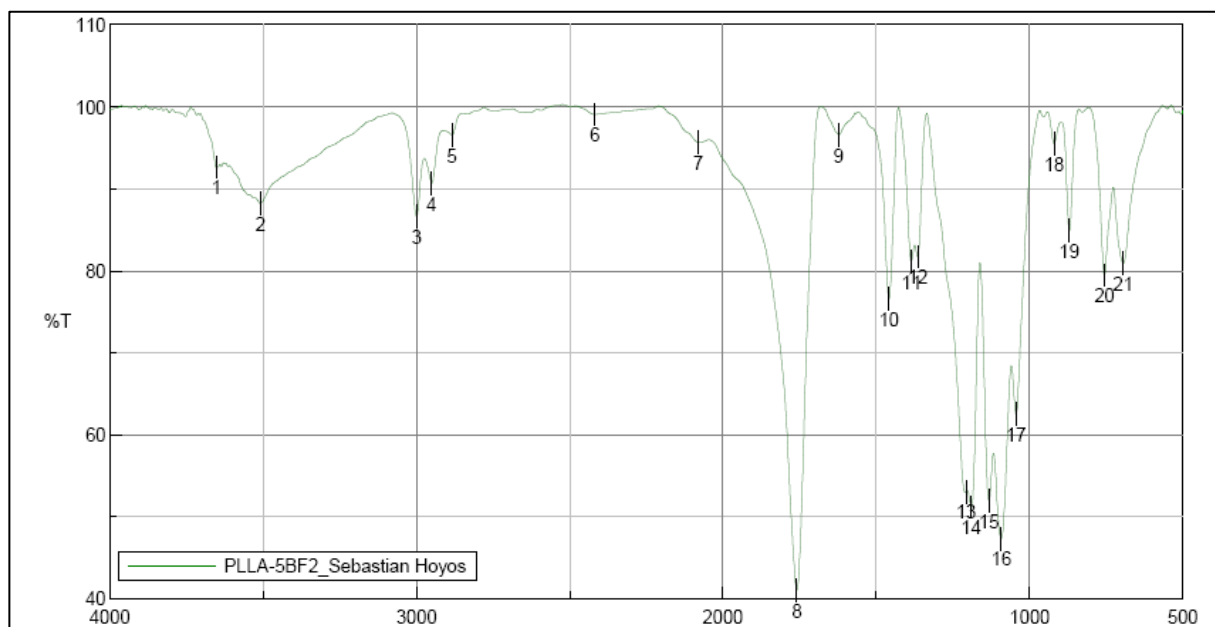


Figura 20. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF2

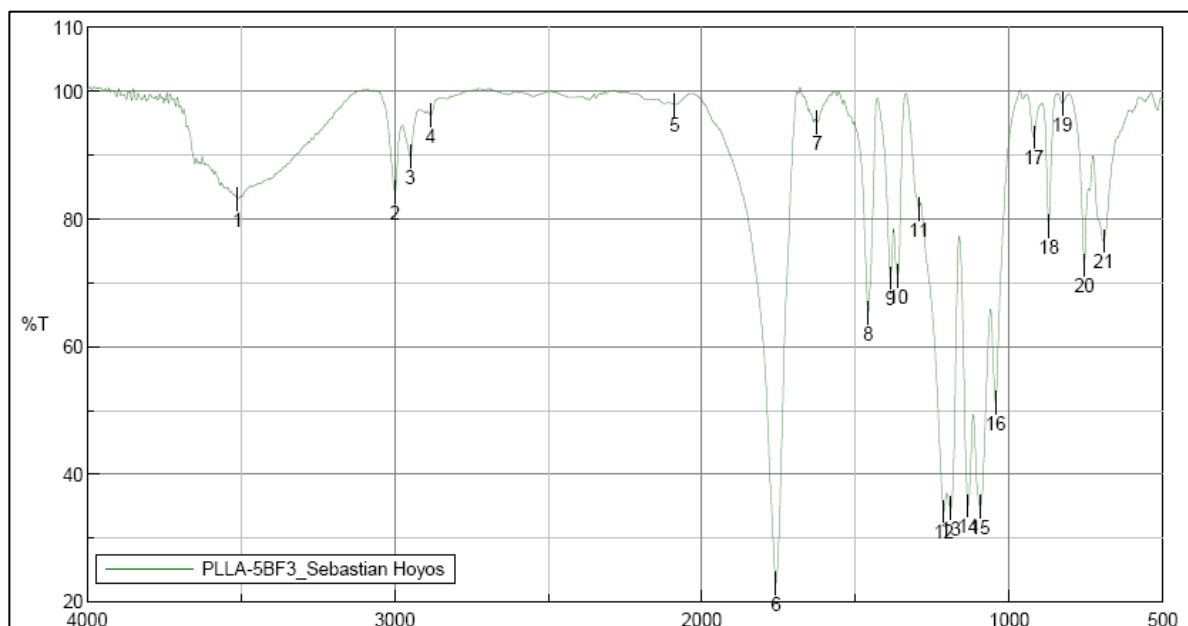


Figura 21. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF3

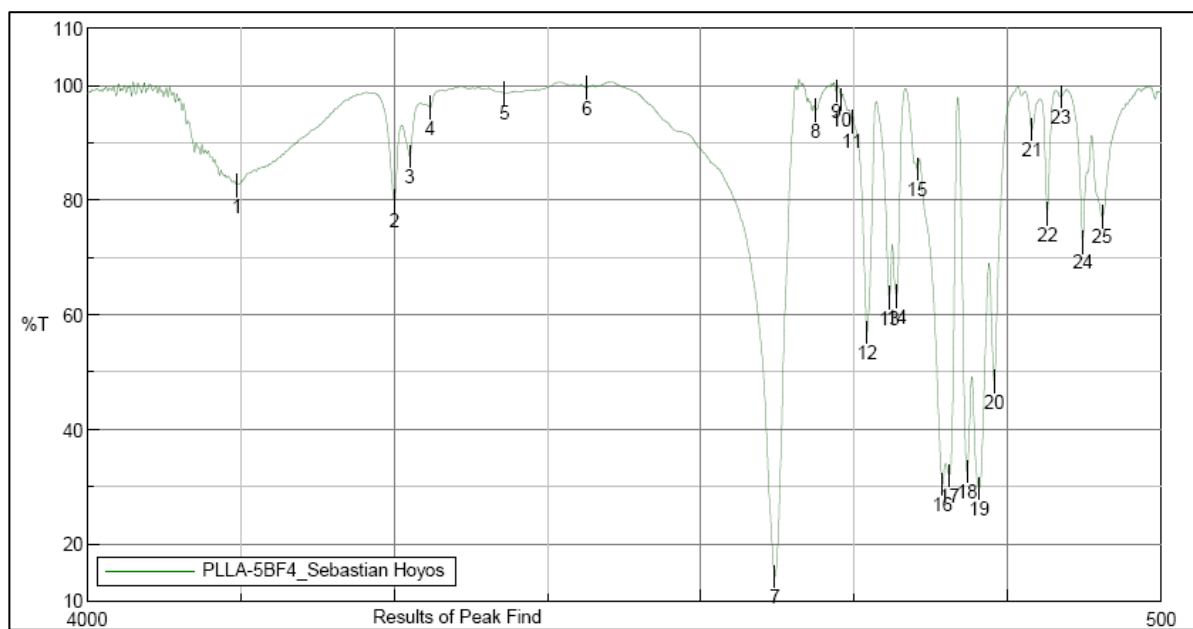


Figura 22. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF4

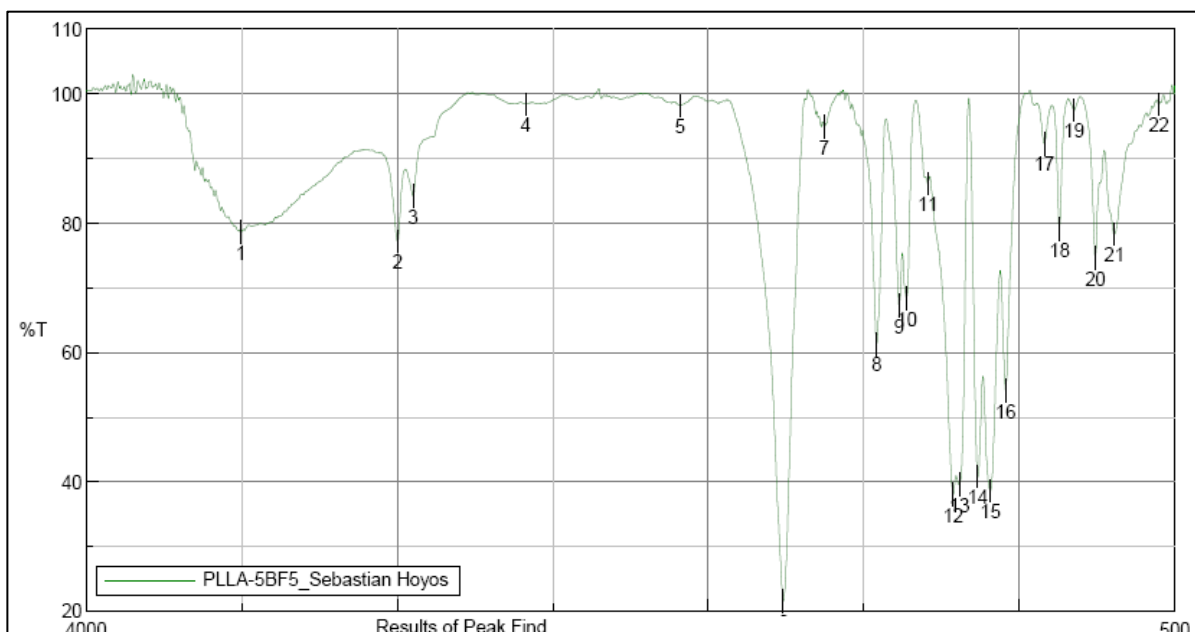


Figura 23. Espectro FTIR de la muestra PLLA-SBF5

5.7.1 Pérdida de peso

La Figura 24 y la Tabla 21 muestran la variación de peso del PLLA durante el período de incubación en el SBF. En dicha gráfica se observa que la variación del peso mantuvo una tendencia creciente y continua a lo largo del período estudiado. Se observó que después de 2 semanas de degradación, el material sufrió una pérdida de peso del 72.5%.

Lo anterior corrobora que el PLLA sintetizado posee biodegradabilidad, ya que cuando se sumerge en fluido corporal simulado se disuelve.

Tabla 21. Variación del peso del PLLA durante la inmersión en SBF

Muestra	Tiempo de inmersión (días)	Peso final (g)	Porcentaje de peso disuelto
PLLA-SBF1	2	1.73	23.11
PLLA-SBF2	4	1.56	31.67
PLLA-SBF3	7	0.9	60
PLLA-SBF4	11	0.7	68.89
PLLA-SBF5	15	0.62	72.44

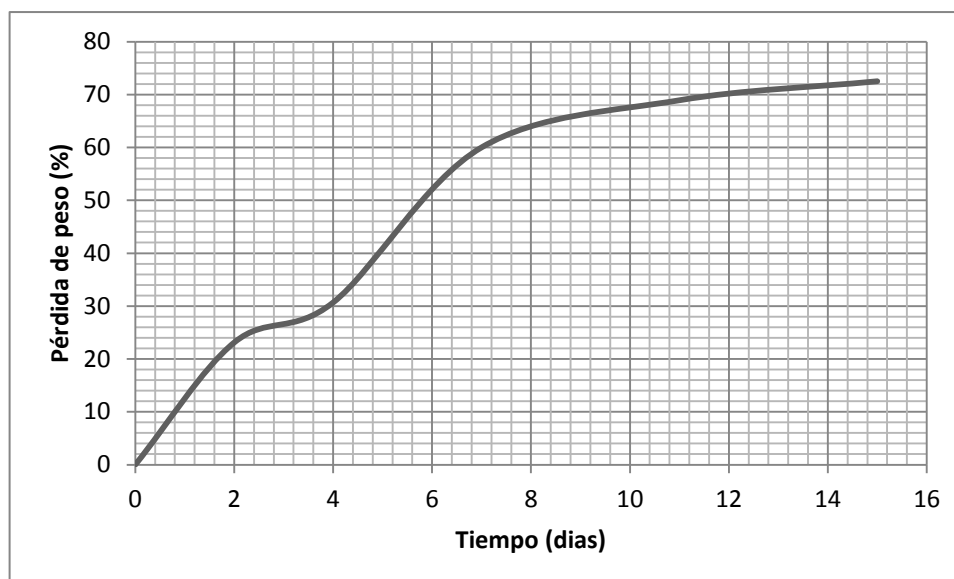


Figura 24. Gráfica que representa el porcentaje de peso disuelto en SBF en función del tiempo

De acuerdo a la Figura 24, se observa que la variación de peso del PLLA mantuvo una tendencia creciente y continua a lo largo del período estudiado. Se esperaría entonces que los polímeros sintetizados en esta investigación presentaran un comportamiento degradativo favorable en el cuerpo humano.

6. CONCLUSIONES

- Se comprobó experimentalmente y por medio de análisis estadísticos el efecto del tiempo, temperatura y presión en la reacción de policondensación directa sobre el peso molecular de cada muestra sintetizada, lo que finalmente indicó que las mejores condiciones de acuerdo al diseño propuesto son las correspondientes a la muestra PLLA 8 (8h, 180 °C, 9 pulg.Hg) la cual obtuvo el mayor peso molecular.
- De acuerdo a los análisis del experimento se comprueba estadísticamente que el factor tiempo resulta ser la variable más influyente sobre el peso molecular en razón a su valor-P (0.0059) el cual es menor que el de las otras variables analizadas.
- El peso molecular es una propiedad que está directamente relacionada con algunas otras propiedades analizadas tales como la temperatura de transición vítrea, temperatura de fusión y porcentaje de cristalinidad, las cuales incrementan a medida que la masa molar de la muestra es mayor.
- Mediante ensayos en SBF se confirmó que el PLLA sintetizado posee biodegradabilidad ya que cuando se sumerge en fluido corporal simulado se disuelve y por ende, se esperaría que presentara un comportamiento degradativo favorable en el cuerpo humano. También se evaluó la biomineralización del polímero corroborando que es posible depositar en su superficie hidroxapatita a partir de los iones presentes en el líquido corporal simulado convencional, y que, por tanto, estamos ante un material biocompatible con capacidad de oseointegración.
- Las muestras que presentaron un peso molecular superior a 3000 g/mol, son aceptables para su utilización en aplicaciones biomédicas tales como la liberación controlada de fármacos y recubrimientos de capas delgadas.

- Los polímeros sintetizados son químicamente puros ya que están libres de disolventes, catalizadores y agentes externos contaminantes. Además, no se detectó degradación térmica.

7. RECOMENDACIONES

- Sería conveniente tener en cuenta el uso de una atmosfera inerte en la reacción de policondensación con el fin de reducir las posibilidades de que ocurra degradación térmica durante el proceso.
- Aumentar el tiempo de polimerización con el fin de elevar el peso molecular de los polímeros.
- Realizar otros estudios *in vitro* más rigurosos con el PLLA los cuales permitan proporcionar información más detallada acerca de la biocompatibilidad y bioactividad del material.
- Realizar ensayos de caracterización más especializados y que garanticen unos resultados mucho más confiables y mayor conocimiento del material en estudio. Esto involucra la implementación de ensayos como Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) y Cromatografía de Permeación en Gel (GPC).
- Utilizar controladores de temperatura y presión ya que los cambios bruscos en estas variables pueden generar degradación térmica en el material.
- Realizar estudios de escalamiento del proceso a nivel industrial y estimar los costos de capital, manufactura y su viabilidad económica.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Lasprilla, A.J.R., et al. «Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review.» *Biotechnology Advances*, 2011: 1-2.
2. Proikakis, C.S., Tarantili, P.A., & Andreopoulus, A.G. «Synthesis and Characterization of Low Molecular Weight Polylactic Acid.» *Journal of elastomers and plastics* 34 (2002): 49-63.
3. Correa, J.P., & Betancourt, J. «Síntesis y caracterización de Ácido Poli (L-láctico) y su aplicación en dispositivos de fijación ósea.» Tesis de pregrado, Escuela de Ingeniería de materiales, Universidad del Valle, Cali, Colombia, 2010, 4-6.
4. Alcalde, J.C. «Síntesis de Ácido Poliláctico de bajo peso molecular para aplicación en biomateriales.» Tesis de pregrado, Escuela de Ingeniería de materiales, Universidad del Valle, Cali, Colombia, 2005, 3-5.
5. Solis, Y., & Betancur, C.A. «Producción de Ácido Poliláctico, mediante policondensación directa, y estudio de la posibilidad de su aplicación como matriz de relleno para regeneración ósea.» Tesis de pregrado, Escuela de Ingeniería de materiales, Universidad del Valle, Cali, Colombia, 2007, 5-10.
6. Avérous, L. «Polylactic Acid: Synthesis, Properties and Applications (Chapter 21).» En *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, de M.N., & Gandini, A. Belgacem, 433-434. Elsevier, 2008.
7. Auras, R., et al. *POLY(LACTIC ACID). Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2010.
8. Dutkiewicz, S., Grochowska-Łapienis, D., & Tomaszewski, W. «Synthesis of Poly (L-(+)-Lactic Acid) by Polycondensation Method in Solution.» *Fibres & Textiles in Eastern Europe* 11, nº 4 (2003): 66-70.

9. Rojas, M.G., Vallejo, B.M., & Perilla, J.E. «Los biopolímeros como materiales para el desarrollo de productos en aplicaciones farmacéuticas y de uso biomédico.» *Revista ingeniería e investigación* 28, nº 1 (2008): 57-71.
10. Avérous, L. «Polylactic Acid: Synthesis, Properties and Applications (Chapter 21).» En *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, de M.N., & Gandini, A. Belgacem. Elsevier, 2008.
11. Lasprilla, A.J.R., et al. «Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review.» *Biotechnology Advances*, 2011: 5.
12. Painter, P.C., & Coleman, M.M. *Fundamentals of polymer science: An introductory text*. Technomic Publishing Company, Inc, 1994.
13. Brandup, J., Immergut, E. H., & Grulke, E. A. *Polymer Handbook*. Wiley-Interscience, 1999.
14. Kister, G., Cassanas, G., & Vert, M. *Polymer*. 1998.
15. Skoog, D., et al. *Análisis instrumental*. México: McGraw-Hill Book Company, 1994.
16. Van Krevelen, D. W. *Properties of Polymers*. Elsevier , 1990.
17. Fisher, E. W., Sterzel, H. J., & Wegner, G. *Kolloid Z. Z. Polym*. 1973.
18. Pastor, Ester L. «Contribución al Estudio del Comportamiento de Silicio Poroso Nanoestructurado en Fluidos Corporales Simulados para el Desarrollo de Nuevos Materiales Biocompatibles y Biodegradables.» Tesis doctoral, Departamento de física aplicada, UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA, Valencia, España, 2008.
19. KOKUBO, T., & TAKADAMA, H. «How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?» *Biomaterials* 27 (2006): 2907–2915.
20. Kricheldorf, H. R., Lee, S.R. *Polymer*. 1995.

