

Manufacturing and characterization of a veterinary bone implant by additive manufacturing of a bone compound and biopolymer

Rojas M. Fabio A., Ph.D¹, Moreno R. Jaime A, Estudiante¹

¹Universidad de los Andes, Colombia, farojas@uniandes.edu.co, ja.moreno12@uniandes.edu.co

Abstract— The purpose of this study is the development of a manufacturing process for a veterinary implant using bone powder and polylactic acid. It is of special interest the additive manufacturing for its versatility in creating geometries, the selection of this technology is made according to the requirements of the material and the use of this in the national context. The method of selection, manufacture and characterization of the developed material is described.

Keywords— Poly Lactic Acid, Biocompatibility, Additive Manufacturing, Bone Powder, Veterinary.

Digital Object Identifier (DOI):
<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2019.1.1.50>
ISBN: 978-0-9993443-6-1 ISSN: 2414-6390

Manufactura y caracterización de un implante óseo veterinario mediante manufactura aditiva de un compuesto de hueso y biopolímero

Rojas M. Fabio A., Ph.D¹, Moreno R. Jaime A, Estudiante¹

¹Universidad de los Andes, Colombia, farojas@uniandes.edu.co, ja.moreno12@uniandes.edu.co

Abstract– *El propósito de este estudio es el desarrollo de un proceso de manufactura de un implante veterinario utilizando polvo de hueso y ácido poli láctico. Es de especial interés la manufactura aditiva por su versatilidad en creación de geometrías, se realiza la selección de esta tecnología según los requerimientos del material y el uso de esta en el contexto nacional. Se describe el método de selección, manufactura y caracterización del material desarrollado.*

Palabras clave– *Ácido Poli Láctico, Biocompatibilidad, Manufactura Aditiva, Polvo de Hueso, Veterinaria.*

I. INTRODUCCIÓN

El atropellamiento de animales es una situación común en Colombia, especialmente en caninos que viven en las calles. En ocasiones estos animales cuentan con la fortuna de recibir tratamiento veterinario en el cual se trata una alta probabilidad de sufrir una fractura, para la cual el tratamiento más indicado es la fijación interna, principalmente por la dificultad de usar de manera adecuada una fijación externa, sin generar daños en los tejidos blandos del brazo [1]. Para esto se usan placas de compresión dinámica generalmente colocada lateral o cranealmente, utilizando tornillos corticales combinados con tornillos de tracción para unir fragmentos aislados [2]. Una vez superada esta etapa y la primera parte de la recuperación del animal, en la cual el hueso ha sanado completamente, existen dos opciones: retirar el implante o dejarlo por el resto de la vida del animal. En ambos casos existen implicaciones relacionadas al procedimiento y al implante, siendo en el primero que en el sitio en el cual se ubicaron los implantes es necesario realizar un injerto de hueso o bien dejar el orificio causado por los tornillos, si se da esta condición existe una alta probabilidad de fractura en dicha zona debido a que existirá un concentrador de esfuerzos. Si se decide dejar el implante en el cuerpo del animal puede generar problemas ortopédicos especialmente dolores en la zona de la cirugía debido al material que usualmente es acero quirúrgico en estos casos. Por lo tanto, se convierte en una necesidad facilitar la regeneración o relleno de hueso con un procedimiento de bajo costo y saludable para el paciente.

Otro tipo de lesión común que sufren los animales es la rotura de ligamento cruzado anterior, lo cual es consecuencia de una inflamación de la rodilla, donde el animal sufre de cojera debido al cambio de ángulo de la rodilla tras la rotura del ligamento. Para la curación de esta lesión la técnica más avanzada es el avance de la tuberosidad tibial (TTA), en donde el perro se le cambia la biomecánica de la rodilla al cambiar los ángulos de la articulación, de modo que el animal puede apoyar la pata nuevamente. La cirugía consiste en realizar un corte en

la tuberosidad tibial y avanzarla mediante unos implantes de titanio. Con ello se consigue que el ligamento tibiorotuliano sea perpendicular a la línea que pasa por la meseta tibial [3].

De este modo, existe demanda en el campo veterinario para el desarrollo y producción de elementos clínicos para el tratamiento de fracturas, dado que los materiales y las técnicas existentes pueden resultar costosas, sobre todo en los casos ocurridos en los animales callejeros donde no existe una persona que se encargue del tratamiento del animal en la mayoría de los casos.

A. Antecedentes

El requisito primordial de un material a ser implantado es que sea biocompatible, de modo tal que no cause ninguna reacción adversa en el organismo. Se puede definir a la biocompatibilidad, como la capacidad de un material para no interferir ni degradar el medio biológico en el cual se encuentra. Los biomateriales existentes hoy en día, que muestran una performance clínica aceptable, son el resultado de la aplicación del método de prueba y error clínico, y no del diseño para el logro de una interacción preestablecida con el medio biológico. Esto se debe a que los mismos no fueron diseñados originalmente para el uso médico [4].

Los materiales más empleados en esta disciplina son las aleaciones metálicas, polímeros y cerámicos. Las aleaciones metálicas son las que han sido usadas históricamente para elaborar piezas tales como, prótesis de cadera y de rodilla, placas de fijación óseas e implantes dentales. Entre ellas se destacan los aceros inoxidable austeníticos ASTM F138 y ASTM F745, las aleaciones base cobalto tipo ASTM F75, la aleación de titanio Ti-6Al-4V y el Ti Grado 4. Estos materiales deben satisfacer propiedades intrínsecamente relacionadas, como biocompatibilidad, resistencia mecánica y principalmente, resistencia a la corrosión [4].

Los materiales cerámicos son de gran interés para el uso de reconstrucción ósea debido a su potencial bioactividad, la cual está fundamentada en la semejanza estructural que presentan con la fase mineral del hueso y la reacción bioquímica positiva que producen en la interfase cerámica-hueso. Las apatitas, y más específicamente la hidroxiapatita, aunque presentan alta fragilidad, poseen buenas propiedades físicas, como son la resistencia a la temperatura, a la corrosión, al desgaste, y una elevada dureza [5]. Por su parte, la alúmina y la zirconia, denominadas cerámicas bioinertes tienen aplicación en ortopedia por ser muy resistentes al desgaste. Se usan en prótesis articulares, en cementos óseos para el relleno de pequeños defectos, en materiales reabsorbibles para la

Digital Object Identifier (DOI):

<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2019.1.1.50>

ISBN: 978-0-9993443-6-1 ISSN: 2414-6390

estimulación de la regeneración ósea y en recubrimiento de implantes metálicos [6]. Las cerámicas biodegradables pueden clasificarse en cerámicas de fosfato de calcio y biovidrios [5].

Los polímeros también tienen presencia en el área de los implantes óseos. Como consecuencia de la preocupación por el desarrollo sostenible, se ha impulsado el avance en el estudio de los materiales con base en biopolímeros, ya sean obtenidos por síntesis química, o como producto del metabolismo de organismos vivos. Si bien los polímeros sintéticos ofrecen ventajas sobre los derivados naturales puesto que pueden ser diseñados en función de las propiedades requeridas (([7]); ([8]); [9])), los polímeros naturales cubren un segmento importante de la investigación, en razón a ventajas tales como la biocompatibilidad, la facilidad de obtención, el bajo costo y la factibilidad de modificarlos químicamente [5]. Es de resaltar la realización de estudios para la incorporación de polímeros naturales en polímeros sintéticos, con el fin de aumentar su degradabilidad y biocompatibilidad [7]. Entre los biopolímeros naturales y sintéticos con aplicaciones potenciales en implantes se encuentran: polisacáridos, poliésteres de origen microbiano o polihidroxicanoatos, poliésteres del ácido láctico, policaprolactona, poliésteres alifáticos, copoliésteres aromáticos y poliesteramidas [5].

Existen también avances en la tecnología de implantes para diversas aplicaciones médicas de tejidos y huesos que combinan un biopolímero y un cerámico, en este caso es de especial interés la combinación hecha entre ácido poli láctico (PLA) e hidroxiapatita o calcio, este tema sirve de base de conocimiento para el desarrollo de un biomaterial producto de PLA y polvo de hueso, en estos materiales se observa como conclusión general una gran aceptación basado en resultados de uso de este material, por ejemplo, el autor Toshihiro Kasuga ha trabajado en diversos artículos en los cuales se evalúan diferentes métodos de síntesis y producción de un material de PLA/HA, también para la reparación ósea existen adelantos en el desarrollo de cemento de PLA/fosfato de calcio [10].

El PLA y su copolímero PLGA (polilactida-co-glicolida) son compatibles con el tejido vivo. Sin embargo, esto se limita al estereoisómero L de PLA porque los cuerpos de los mamíferos solo producen una enzima que descompone esta. PLA y PLGA se utilizan para fabricar tornillos, pasadores, andamios, etc., para proporcionar una estructura temporal para el crecimiento del tejido, que finalmente se rompe después de un cierto período [11]. La cirugía ortopédica a menudo utiliza PLA y copolímeros para fabricar huesos y articulaciones artificiales. El PLA se ha utilizado para hacer suturas quirúrgicas durante décadas. En resumen, el PLA es un material importante para aplicaciones quirúrgicas biomédicas [11]. Comercialmente es posible encontrar los siguientes implantes de este material: Zimmer (anclaje de sutura Bio-statak® y tapón de cemento óseo), Ethicon (sutura Vicryl y malla Vicryl) y Sulzer (tornillo Sysorb®).

B. Materiales

Polvo de hueso: El hueso, para su estudio, se puede considerar tanto un tejido como una estructura, ya que desempeña dos funciones básicas: control del metabolismo de calcio, fósforo y magnesio (función fisiológica) y soporte del organismo y protección de órganos (función mecánica) [12]. La composición del hueso y su material biológico lo convierte en un xenoinjerto con propiedades de regeneración ósea que puede actuar por osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción.

Ácido Poli Láctico: El PLA es un biopolímero termoplástico utilizado para la producción de hilo para sutura, implantes, cápsulas para la liberación lenta de fármacos, prótesis, producción de envases y empaques para alimentos. El PLA es utilizado en la creación de matrices para regeneración guiada de tejidos como piel, cartílagos, huesos, estructuras cardiovasculares, intestino, tejido urinario entre otros [13].

El peso molecular del material polímero influye directamente en las propiedades mecánicas y de absorción del PLA y, por lo tanto, es crítico dependiendo del uso final. El material polimérico de alto peso molecular es necesario para aplicaciones como placas óseas o la fijación interna temporal de huesos rotos o dañados. Por ser bioabsorbible, se ha demostrado que el PLA que incluye otros polímeros biodegradables es ventajoso sobre los polímeros convencionales en el caso de sistemas de liberación controlada parenteral [14].

Las propiedades mecánicas y la tasa de degradación hidrolítica de los materiales basados en PLA se pueden manipular variando las estructuras moleculares y altamente ordenadas, los rellenos y la morfología del material.

II. FABRICACIÓN DEL MATERIAL

A. Selección del proceso de manufactura

Una vez identificadas las tecnologías disponibles en el contexto nacional se selecciona la metodología que permita obtener un material que cumpla con las características de biocompatibilidad requeridas, de este modo se descarta la estereolitografía puesto que esta tecnología trabaja mediante foto curado de resinas y entre estas no fue posible identificar una que sea biocompatible en la actualidad. Ahora bien, la selección entre modelado por deposición fundida (FDM) y sinterizado selectivo por láser (SLS) se realizó por los requerimientos técnicos de la máquina. Por una parte, en FDM es necesario fabricar el filamento de impresión con el PLA y el polvo de hueso para así poder realizar el proceso de manufactura, en SLS es necesario tener el material en polvos, ambas materias primas se podían obtener así que el proceso de selección se deriva en otros parámetros tales como temperatura de trabajo y costos. La temperatura de trabajo es muy importante en este proceso debido a las propiedades que el polvo de hueso puede perder en altas temperaturas, de este modo se realizó un cálculo de transferencia de calor para sistemas concentrados, realizando la suposición del polvo de hueso como un objeto completamente esférico, con el cual se pudiera predecir el tiempo para el que el polvo de hueso llegará

a una temperatura de 60°C, a partir de una fuente de 200°C, temperatura en la cual el hueso puede perder propiedades debido a la temperatura, de este modo se obtuvo lo siguiente:

$$\frac{T(t) - T_{\infty}}{T_i - T_{\infty}} = e^{-bt} \quad (1)$$

$$b = \frac{hA_s}{\rho V C_p} \quad (2)$$

Siendo: $h=0.2 \text{ W}^\circ\text{C}/\text{m}^2$, $\rho=1850 \text{ kg}/\text{m}^3$, $C_p=1312.4 \text{ J}/\text{kgK}$

Los resultados obtenidos de tiempo máximo de contacto del hueso con la fuente de alta temperatura son:

TABLA I
TIEMPO MÁXIMO DE CONTACTO PARA EL POLVO DE HUESO EN
DIFERENTES TAMAÑOS

Diámetro	Tiempo
μm	Minutos
250	3,18
120	1,52
60	0,76

Una vez conocido el tiempo de contacto posible entre el hueso y una fuente de alta temperatura se establece que ambas máquinas son aptas para el trabajo de la materia prima, de este modo el factor de selección fue el costo de manufacturar en una de estas máquinas. En el caso de SLS se tiene una tecnología relativamente nueva en el país utilizada en procesos estándares de manufactura de polvos e incluso polvos metálicos, que funciona con un láser que funde el material depositado en forma de polvo, de este modo esta tecnología resulta más costosa en horas de trabajo además de la dificultad de experimentar en una máquina de estas debido al costo de sus repuestos que el método de FDM, motivo por el cual se seleccionó trabajar con este proceso de manufactura, en este caso se requiere la manufactura de un filamento compuesto del polvo de hueso y el PLA, este proceso se describe más adelante.

B. Obtención y tratamiento de la materia prima

El hueso utilizado durante la realización de este proyecto fue de origen bovino, este era hueso de tibia y fémur debido a las características mecánicas y geométricas de esta parte del animal. Una vez se separa el tuétano y los residuos de carne más grandes se procede a realizar un proceso de limpieza que consta de tres etapas, la primera es una limpieza en jabón industrial con el fin de desengrasar y limpiar de fluidos el hueso, el hueso es dejado en esta mezcla de agua y jabón por un período de 24 horas, la cantidad de jabón depende de la cantidad de huesos que se estén manipulando. Al cabo de ese tiempo se procede a la segunda etapa de limpieza, la cual consta de un enjuague del jabón en agua limpia, con esto se procede a seguir limpiando el hueso con herramientas tales como cuchillo y grata. Una vez se realiza una segunda limpieza se espera haber eliminado los residuos de tejidos por completo, sin embargo, se sumerge nuevamente el hueso en la mezcla de agua y jabón por otras 24 horas. La tercera etapa consiste en una limpieza final del hueso

en un enjuague con agua limpia, posterior a esto se sumerge el hueso en alcohol etílico al 96 % en un recipiente cerrado, este paso se realiza por un periodo no mayor a 24 horas. Una vez limpio el hueso se guarda el hueso en agua fría, preferiblemente refrigerada si no es posible realizar el proceso de liofilización inmediatamente. Esto con el fin de evitar la degradación del hueso.

Una vez limpio el hueso se procede a realizar los cortes del mismo, esto es principalmente para facilitar la liofilización, pues en este proceso es más eficaz trabajar con piezas más pequeñas que con un hueso completo, sin embargo, el corte del hueso deber realizarse en unas zonas específicas, que generalmente se realiza en uno de los tercios en los cuales se divide el hueso, estos son las secciones proximal, medio y distal, evitando en lo posible el hueso poroso que se encuentra generalmente en las regiones externas de las secciones proximal y distal. En este caso como el objetivo es desarrollar polvo de hueso las geometrías del corte del hueso no son significativas.

Una vez limpio y seccionado el hueso se procede a realizar el proceso de liofilización, en el cual se tiene como objetivo separar el agua (u otro solvente) de una disolución mediante congelación y posterior sublimación del hielo a presión reducida. La liofilización es el proceso más suave para secar productos y es el mejor método para secar compuestos orgánicos o inorgánicos sin alterar su composición cualitativa o cuantitativa. El proceso de liofilización se realiza a vacío y a baja temperatura y así, por ejemplo, es posible evitar la desnaturalización de las proteínas [15]. Posteriormente debido a que la liofilización no extrajo toda la materia orgánica, especialmente grasa, se sumergió el hueso en peróxido de hidrogeno al 50 por 18 horas, este proceso elimino por completo los residuos de grasa.

C. Fabricación del polvo de hueso

Para fabricar el polvo de hueso es necesario realizar dos etapas, en la primera se obtiene principalmente un polvo grueso pues es una pre molienda, después se realiza un proceso de pulverización en el molino de alta energía, ambas metodologías se describen a continuación:

Pre molienda: Para obtener el hueso en polvo es necesario triturarlo, sin embargo, es de gran importancia evitar el contacto del hueso con fuentes contaminadas de materiales previos como lo puede ser un molino de cuchillas o alguna trituradora convencional usada. Ante la dificultad de encontrar un molino limpio de residuos materiales se decidió utilizar una metodología antes trabajada en la línea de proyectos LATEMM, en donde se embebe el hueso en un molde con caramelo, esperando que este cristalice y de este modo sea mecanizable. Para la realización del caramelo es de gran importancia el control de la temperatura de este, puesto que de esta depende la cristalización del material y su posterior facilidad de mecanizado, en la mezcla se incluye azúcar, glucosa y agua. Al momento de la solidificación el material se desmolda y se ubica en el torno, para esta aplicación se desarrolló un molde con un eje central con el objetivo de evitar

la fractura del caramelo en caras exteriores debido a los esfuerzos de corte, se presenta a continuación:



Fig. 1 Mecanizado probeta caramelo y polvo de hueso.

Una vez se obtiene la viruta de caramelo y hueso se procede a obtener el polvo de hueso, para esto se realiza un proceso de separación por filtrado en donde el caramelo se disuelve utilizando agua caliente, con esto el polvo de hueso se puede separar utilizando un tamiz para retirar el agua. Posteriormente para el secado se sumerge el hueso en alcohol por 6 horas y finalmente se ubica en un recipiente que permita el secado de este en condiciones naturales. Este proceso toma alrededor de 3 días debido a la necesidad de obtener un polvo de hueso completamente seco.

Molienda: Una vez obtenido el polvo de hueso inicial se procede a obtener un tamaño de partícula menor a $200 \mu\text{m}$ para poder realizar el proceso de manufactura aditiva, por este motivo se utilizó el molino de alta energía ubicado en el laboratorio de polvos del departamento de ingeniería mecánica de la Universidad, en este se depositaba alrededor de 20 a 30 gramos de polvo de hueso seco en cada cilindro de molido, el tiempo de molienda seleccionado para obtener el tamaño seleccionado y evitar sobrecalentamiento en la máquina es de 2:30 minutos.

D. Fabricación del filamento

Para fabricar el filamento de material compuesto de PLA y polvo de hueso se realizó una prueba en el mezclador interno Brabender en el laboratorio de procesamiento de polímeros de la Universidad de los Andes con el fin de identificar el torque de mezcla en tres diferentes tipos de PLA y polvo de hueso, la mezcla seleccionada fue de 80% PLA y 20% Polvo de Hueso en proporción de peso debido a la evidencia existente en proyectos previos de que esta es la mezcla con la cual se obtienen mejores propiedades mecánicas. Por otra parte, los PLA utilizados son PLA Grethsell, PLA Ingeo2003D y PLA/PHA, los resultados de esta prueba se presentan más adelante.

Una vez conocido el PLA que tiene un torque más bajo y de mejores características para el proceso de extrusión se selecciona para continuar con el proceso de manufactura, en este caso el PLA óptimo por propiedades y facilidad de extrusión es el de referencia Ingeo 2003D, con este se realizó la extrusión en la máquina Brabender doble tornillo del

laboratorio de procesamiento de polímeros de la Universidad, en esta ocasión se manufacturo un filamento con una proporción de 20% polvo de hueso y otro 5% polvo de hueso de proporción en masa para caracterizar las propiedades de la mezcla. La mezcla se realizó de forma manual en una caja cerrada herméticamente intentando combinar el polvo de hueso de la mejor forma posible con los pellets. Para la extrusión del filamento se utilizó el mismo perfil de temperatura para ambos casos en la extrusora doble tornillo, se presenta a continuación:

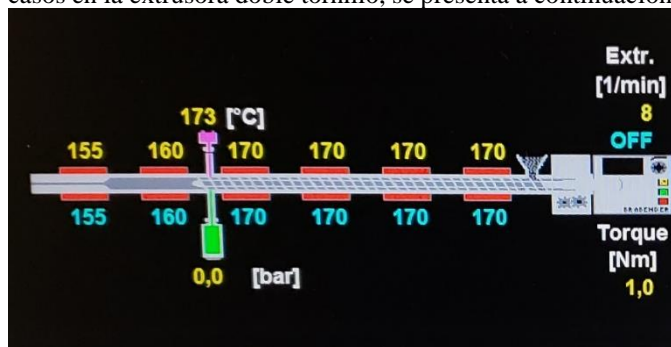


Fig. 2 Perfil de Temperatura para la fabricación del filamento

Se obtuvo un filamento de $1.6 \pm 0.15 \text{ mm}$ de diámetro con este proceso, el cual es consistente para la manufactura aditiva por modelado por deposición fundida. Se encontró que el color del filamento cambia según la proporción del polvo de hueso en la mezcla, de este modo se tiene que el PLA sin polvo de hueso es transparente y se torna de un color amarillo opaco a medida de aumentar la concentración.

E. Manufactura Aditiva

En este caso se utilizó una impresora Protolab 3D GigaBox de la empresa Innomaker, quienes permitieron la experimentación en dicha máquina para poder obtener el punto óptimo de trabajo o “sweet spot”, dado que es un material nuevo en la manufactura aditiva fue necesario iterar en los parámetros de temperatura y velocidad de extrusión para la impresión del material con las mejores características.

Inicialmente se utilizó una boquilla de extrusión de 0.6 mm con los parámetros comunes de extrusión del PLA, el cual es una temperatura de $200 \text{ }^\circ\text{C}$ a una velocidad de 30 mm/s , sin embargo se encontraron muchos fallos en la fluencia del material principalmente por estancamientos en la boquilla debido a dos factores principales, acumulación de polvo de hueso en un punto del filamento y fluencia del PLA, ante esto se decidió utilizar una boquilla de 1.0 mm de diámetro de extrusión para obtener un área mayor de deposición del material. Con la nueva boquilla se obtuvo una mejor fluencia, sin embargo, no la adecuada para realizar una impresión continua y correcta, en esta ocasión por falta de fluencia debida al PLA, para esto se decidió aumentar la temperatura de extrusión cada $5 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta encontrar un punto óptimo, teniendo en cuenta que a partir de los $220 \text{ }^\circ\text{C}$ el PLA se degrada. El proceso de ingeniería para encontrar el “sweet spot” del material para una concentración del 20% de polvo de hueso fue

de alrededor de 5 horas. Durante este tiempo se realizaron pruebas de impresión de geometrías sencillas, una vez impresa la mejor de estas en términos de calidad y densidad de llenado se definió el punto óptimo de trabajo.

Para el filamento de 5% de proporción de peso de polvo de hueso se realizó el mismo proceso, pero el punto de partida inicial para el proceso iterativo fue el “sweet spot” del filamento de 20% de polvo de hueso. Los parámetros de impresión se presentan más adelante en la sección de resultados.

Una vez identificado el “sweet spot” del material se procedió a la impresión de las probetas para las pruebas de caracterización del material. Se manufacturaron principalmente probetas rectangulares para las pruebas de flexión, dureza y rugosidad, y probetas toroidales para las pruebas de calidad de impresión. Para hacer esta impresión se requiere un archivo .stl que puede ser creado en el software Autodesk Inventor, con este archivo se procede a realizar la simulación de impresión del objeto y con este se define el tiempo de impresión del material.

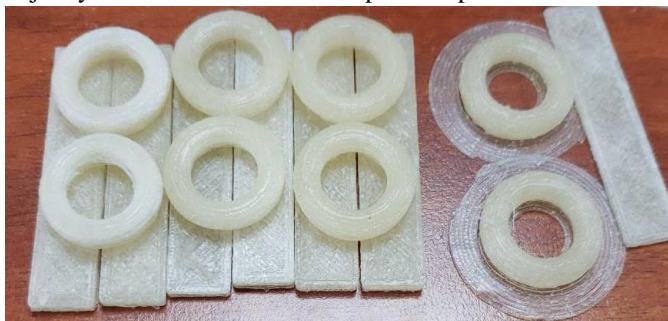


Fig. 3 Probetas manufacturadas

F. Mecanizado

Dadas las limitaciones de tolerancia del proceso de manufactura aditiva, debido al tamaño de la boquilla de extrusión se determinó experimentar en el material su capacidad de ser mecanizado para así obtener las dimensiones deseadas, de este modo se imprimieron unas probetas de prueba para dicho fin, estas consistieron en una caja de 23x23x12 mm y estas se mecanizaron en las dimensiones de los implantes de caja TTA.



Fig. 4 Material mecanizado

Tras esto, se comprobó que el material es mecanizable, lo cual incrementa ampliamente su rango de trabajo.

III. RESULTADOS

A. Caracterización del polvo de hueso

Tamaño de partícula: Para determinar el tamaño promedio de partícula se realizó una prueba en la maquina CILAS del departamento de Ingeniería Mecánica de la Universidad de los Andes, dicha máquina funciona por medio de un láser que contrasta una imagen en blanco con el polvo de hueso que va transportado en un medio líquido, usualmente agua destilada, con esto la máquina calcula el tamaño de grano de cada partícula que pasa por el haz de luz y finalmente por el software de la máquina realiza el análisis estadístico del mismo.

Los resultados para el tamaño de partícula de las muestras medidas fueron las siguientes:

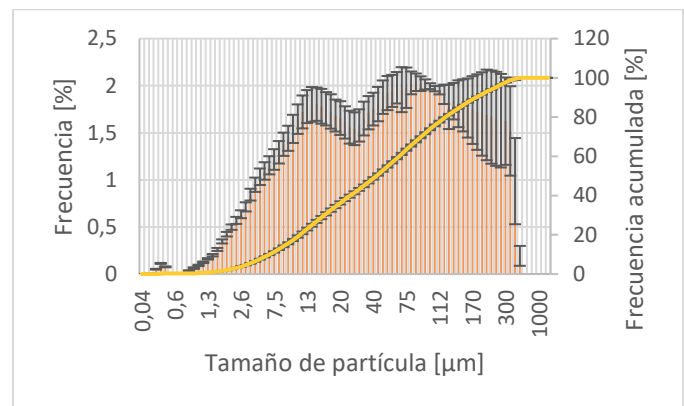


Fig. 5 Distribución del tamaño de partícula de polvo de hueso

La media obtenida en la prueba es de 96.20 μm con una desviación estándar de 14 μm .

Factor de Forma: El factor de forma se define como la fracción entre el diámetro menor circunscrito en el grano y el diámetro mayor en el mismo, es importante conocerlo pues esta es una característica de interés al momento de ser implantado en un cuerpo pues dicho factor geométrico influye en la forma en la cual la célula del individuo recibe un cuerpo extraño. Para determinar el factor de forma se analizó el polvo mediante microscopía óptica, de este modo se obtuvieron fotografías que posteriormente serian analizadas mediante el software autodesk inventor, posteriormente se utilizó el software estadístico @Risk para determinar el promedio y su respectiva desviación estándar para una muestra de 52 datos.

La distribución que mejor se ajusta a los datos es una Gamma por medio de una prueba de Chi-Cuadrado, la media es de 0.49 $\mu\text{m}/\mu\text{m}$ con una desviación estándar de 0.16 $\mu\text{m}/\mu\text{m}$.

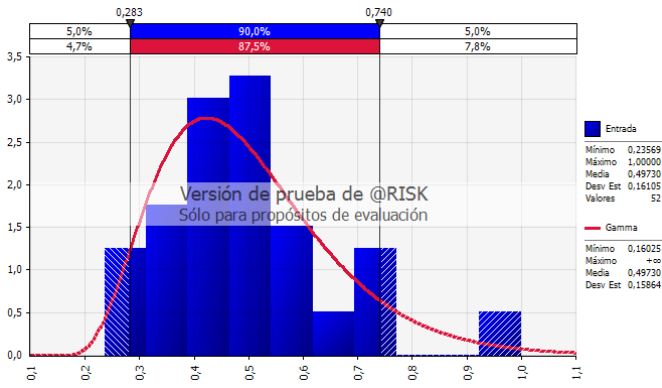


Fig. 6 Distribución del factor de forma para las partículas de polvo de hueso

B. Mezclador interno

Para la selección del PLA a extruir se realizó la prueba en el mezclador interno para evaluar el torque y que efectivamente se homogeneizara la mezcla del biopolímero y el polvo de hueso, para esto se utilizaron 30 gramos de mezcla en una proporción de 20% polvo de hueso y 80% PLA en peso, se evaluaron 3 tipos de PLA, los resultados obtenidos son los siguientes:

PLA Grethsell:

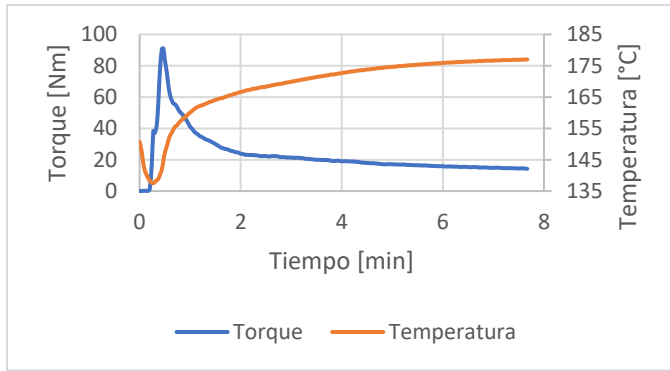


Fig. 7 Torque Vs. Tiempo PLA Grethsell

PLA/PHA Flexible:

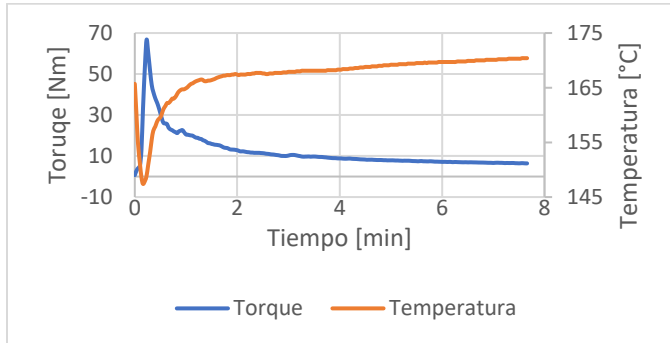


Fig. 8 Torque Vs. Tiempo PLA/PHA Flexible

PLA Ingeo 2003D:

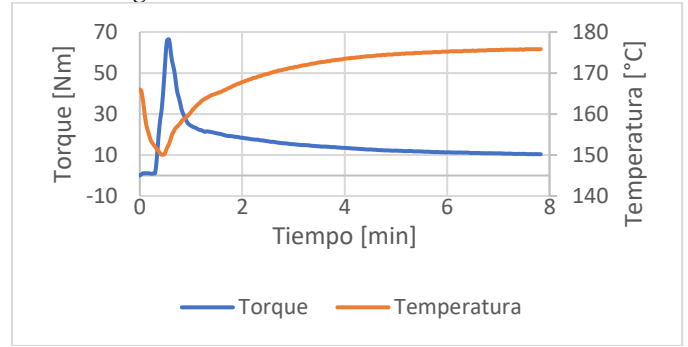


Fig. 9 Torque Vs. Tiempo PLA Ingeo 2003D

C. Parámetros de impresión

TABLA II
PARÁMETROS DE IMPRESIÓN

	20%	5%	PLA
Velocidad de impresión [mm/s]	50	50	30
Temperatura [°C]	210	200	190
Diámetro boquilla [mm]	0,8	0,8	0,4

D. Caracterización del material

Flexión: La prueba de flexión se llevó a cabo bajo la norma ASTM D790 para plásticos reforzados y no reforzados y materiales de aislamiento. La norma establece la utilización de 5 probetas con una relación de 16:1 de largo a espesor y un ancho de media pulgada, dichas probetas se manufacturaron por medio de manufactura aditiva utilizando una impresora 3D.

Se presenta una gráfica comparativa de los valores obtenidos de esfuerzo de flexión y modulo elástico de flexión:

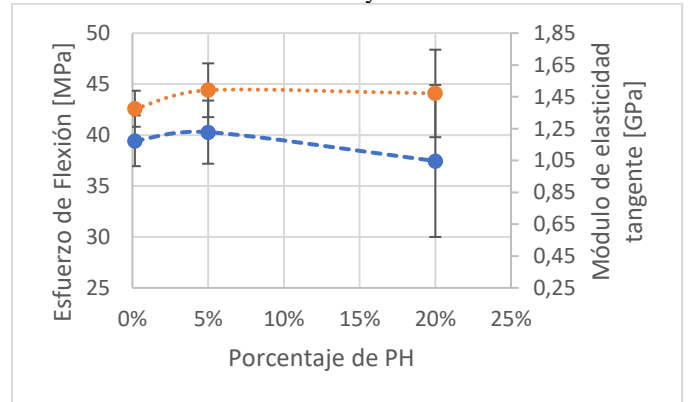


Fig. 10 Propiedades de flexión para diferentes proporciones de PH

Dureza: La prueba de dureza se llevó a cabo bajo la norma ASTM D2240, siendo medida la dureza Shore D ya que es la dureza propia de los materiales termoplásticos. La prueba se realizó con el durómetro Shore D del laboratorio de propiedades mecánicas de la Universidad de los Andes.

Los resultados de las pruebas de dureza para los tres materiales evaluados son los siguientes:

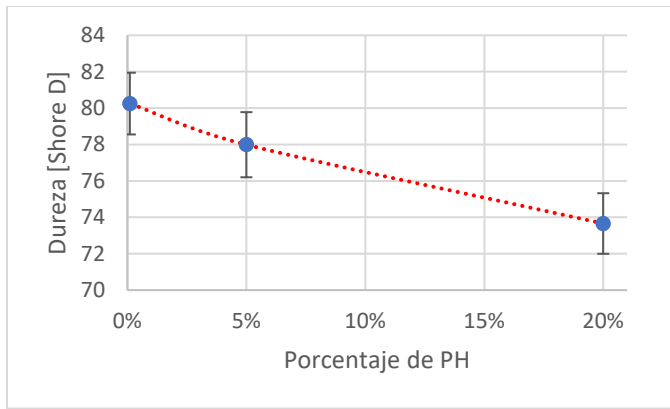


Fig. 11 Dureza Vs. Porcentaje de PH

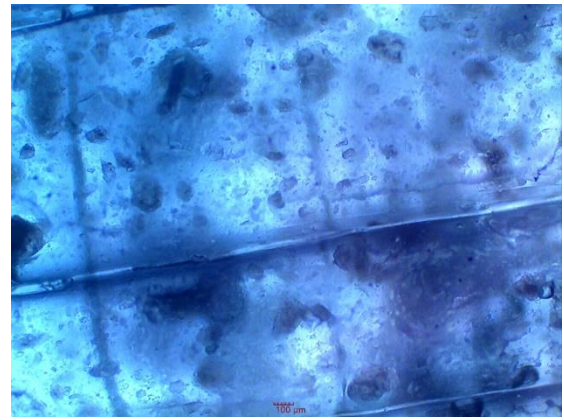


Fig. 12 Microscopia del material

Rugosidad: La prueba de rugosidad se llevó a cabo bajo la norma DIN 4768. Las mediciones se realizaron sobre las probetas utilizadas para las pruebas de flexión. Los resultados de las pruebas de rugosidad para los tres materiales probados son los siguientes:

TABLA III
RESULTADOS DE RUGOSIDAD

PLA	RUGOSIDAD [μm]		
	PLA - 5% HUESO	PLA - 20% HUESO	PLA - 20% HUESO MECANIZADO
	17,082	14,642	5,098
	18,624	10,843	6,83
	19,021	11,498	5,133
	18,672	13,481	6,185
Promedio	18,350	12,616	5,812
Desviación	0,863	1,756	0,846

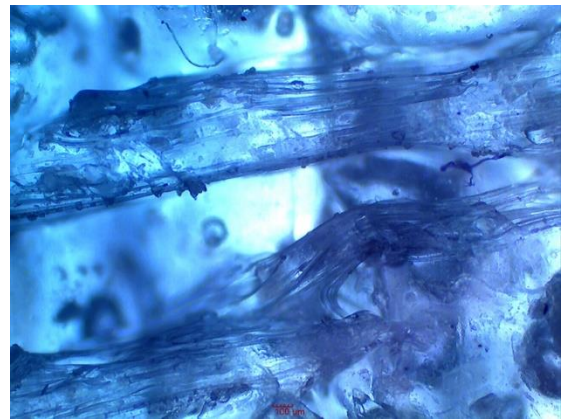


Fig. 13 Microscopia del material / Defectos de la manufactura

Calidad de impresión: La organización Internacional de Normalización (ISO) ha normalizado un sistema de tolerancias que estudia los dimensionamientos de hasta 500 mm. Este sistema utiliza unos códigos (letras y números) que definen la calidad de la tolerancia, así como su posición respecto de la línea de referencia. Las unidades empleadas son mm para las medidas nominales y μm para las tolerancias [16].

TABLA IV
CALIDAD ISO

Diámetro Exterior	Diámetro Interior	Espesor
980/i = 28,51	870/i = 56,51	1245/i = 235,59
Aproximación = 40i	Aproximación = 64i	Aproximación = 250 i
Calidad ISO: 9	Calidad ISO: 10	Calidad ISO: 13

Distribución de polvo de hueso en el material: Mediante el uso de microscopia óptica con un aumento de 40X se realiza la observación de las partículas de hueso en la base de material de PLA, esto con el fin de observar cómo se distribuyó el hueso en el material.

IV. MODELO ESTADÍSTICO

El análisis de experimento factorial se utilizará para describir el modelo estadístico, en este se investigan las combinaciones del experimento en los diferentes niveles de los factores, en este caso se trata de un experimento de un factor, en el cual se tiene la composición de polvo de hueso como único factor. El efecto de este factor es el cambio en los resultados obtenidos en la experimentación.

Para este análisis se realizará una prueba ANOVA o Análisis de Varianza sobre los resultados obtenidos concretamente en las propiedades de flexión, dureza y rugosidad. La hipótesis por resolver en todos los casos es:

- *La proporción de polvo de hueso presente en el compuesto cambia las propiedades del material*

La hipótesis nula y alternativa para los diferentes análisis de varianza son las siguientes:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

Se utiliza un nivel de significancia de $\alpha=5\%$

Flexión:

TABLA V
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA ESFUERZO DE FLEXIÓN

	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F-Ratio	F-5%
TOTAL	4882,58027	348,755734	-	-
TRATAMIENTO	21,0901594	10,5450797	0,44318881	3,98
RESIDUAL	285,523806	23,7936505	-	-

TABLA VI
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA MÓDULO DE ELASTICIDAD TANGENTE

	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F-Ratio	F-5%
TOTAL	6,77605948	0,48400425	-	-
TRATAMIENTO	0,03847867	0,01923933	0,49366491	3,98
RESIDUAL	0,46766949	0,03897246	-	-

Dureza:

TABLA VII
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA DUREZA

	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F-Ratio	F-5%
TOTAL	319,958667	11,0330575	-	-
TRATAMIENTO	118,792333	59,3961667	19,4684791	3,35
RESIDUAL	82,374	3,05088889	-	-

Rugosidad:

TABLA VIII
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA RUGOSIDAD

	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F-Ratio	F-5%
TOTAL	362,595321	24,1730214	-	-
TRATAMIENTO	418,561905	139,520635	60,3423876	3,49
RESIDUAL	27,7457968	2,31214973	-	-

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Tamaño de partícula: De acuerdo a los requerimientos presentados por el método de manufactura en donde un tamaño de partícula grande obstruye la boquilla de extrusión del material, es deseado obtener un tamaño de partícula menor a 200 μm , sin embargo, existe incertidumbre respecto a la reacción de una célula ante una partícula de dicho tamaño, ante esto se decidió trabajar en pro del método de manufactura para posteriormente evaluar el comportamiento del material en un medio celular y así refinar a futuro dicho procedimiento. De este modo al observar el tamaño medio de partícula de 96.20 μm con una desviación estándar de 14 μm se puede definir que es posible utilizar este polvo de hueso para la fabricación del filamento para impresión 3D por modelado por deposición

fundida, aun así es importante tener en cuenta que debido a la fabricación por extrusión del filamento pueden hacerse conglomerados de polvo de hueso que en un tamaño grande pueden afectar la impresión taponando una boquilla, por esto es necesario utilizar una boquilla de 0.8 mm, con esta se reducen las probabilidades de obstruir el proceso de manufactura aunque en detrimento de la calidad de la impresión.

Factor de forma: El factor de forma sirve para caracterizar el polvo granular, al obtener los resultados de la media de 0.49 $\mu\text{m}/\mu\text{m}$ con una desviación estándar de 0.16 $\mu\text{m}/\mu\text{m}$ se puede determinar que se produjo un tipo de polvo de hueso alargado con una relación aproximada de 1:2 de ancho contra largo.

Mezclador interno: Para la selección del PLA a utilizar se observó en principio el que produjera el torque más bajo, esto para favorecer el proceso de extrusión del filamento, en este caso tanto el PLA/PHA y el PLA INGENIO 2003D tenían un torque similar tanto en su máximo como en su estabilización, de este modo la selección se realizó por las propiedades biodegradables encontradas en la literatura, por parte del PLA/PHA sus propiedades biomédicas no se encontraban por completo comprobadas, de momento dichas propiedades se encuentran en estudio, por tal motivo la selección primero en este caso sobre el PLA INGENIO 2003D puesto que en este caso si existe una base de estudios y experimentos que permiten tener antecedentes para su aplicación biomédica.

Parámetros de impresión: En la tabla II se observa que el parámetro de velocidad de impresión es igual para los dos materiales que tienen polvo de hueso, a diferencia del PLA comercial para impresión que comúnmente se imprime a una velocidad más baja debido a que también se imprime con una boquilla de menor diámetro de extrusión, esto se realiza debido a que es posible desarrollar impresiones de mayor calidad con dichos parámetros. En el caso del PLA compuesto con polvo de hueso se observó que la fluencia del material es más viscosa, motivo por el cual se aumentó la velocidad de impresión, sin embargo, se encuentra que la viscosidad disminuye a medida que también lo hace la proporción de polvo de hueso en la mezcla, por tal motivo la temperatura de impresión es mayor para el PLA con 20% polvo de hueso (210°C) seguido por el PLA con 5% polvo de hueso (200°C) y por último el PLA típico de impresión con (190°C). Este aumento de viscosidad se debe principalmente a que el polvo de hueso aumenta la fricción en el interior de la boquilla de extrusión, este fenómeno fue causante a su vez de la abrasión de la boquilla de extrusión, mencionado previamente en la sección de fabricación del material.

Flexión: Los resultados de flexión obtenidos, observados comparativamente en la figura 10, presentan unas propiedades muy buenas para un material biocompatible y alternativo a las soluciones estándar de reparación de lesiones óseas y de tejidos, si bien sigue siendo una resistencia menor a las aleaciones de titanio y acero quirúrgico, los cuales tienen un esfuerzo de ruptura promedio de 880 y 560 MPa respectivamente, se tiene una resistencia a la flexión buena para aplicaciones que no requieran grandes esfuerzos o sean de integridad estructural

para el hueso, de este modo el material de PLA con polvo de hueso se presenta como una solución a recuperación de lesiones como fractura de ligamento cruzado o unión de tendones.

Se puede observar que el material tiene un porcentaje de deformación cercano al 3%, esta propiedad elástica es conveniente para las aplicaciones médicas puesto que en ocasiones el médico requiere del moldeo del material en algún ángulo específico según el paciente, este es un procedimiento común en los implantes metálicos, poder contar con dicha capacidad permite al nuevo material competir en cuanto a utilidad con los materiales estándares de implantes.

Por otra parte, se observa que según el análisis estadístico del esfuerzo de flexión y el módulo de elasticidad tangente presentados en las tablas V y VI respectivamente, no hay evidencia estadística para determinar que dichos esfuerzos cambien según la proporción de polvo de hueso, sin embargo, sería necesario evaluar una nueva composición con mayor polvo de hueso para encontrar el punto en el cual si hay un cambio en la propiedad. También se propone cambiar el método de manufactura en la parte de mezclado de los pellets de PLA y polvo de hueso para homogeneizar más la mezcla y así evaluar si esto es causante de este fenómeno.

Dureza: En la figura 11 se puede observar los resultados comparativos de las durezas de cada material, en este se puede observar que es un material termoplástico duro, motivo por el cual la escala de dureza es la adecuada para su medición, en este caso se puede observar que la dureza disminuye a medida que aumenta la proporción de polvo de hueso en la mezcla, sin embargo, se puede determinar que la dureza es propia del material base del compuesto es decir del ácido poliláctico. En este caso, la dureza es mucho menor que la esperada en la aleación de titanio o acero típica de los implantes, estos son medidos en la escala Rockwell C y Rockwell B respectivamente.

En este caso es correcto afirmar, soportado por la estadística, que existe un cambio evidente en la propiedad de dureza conforme se aumenta la proporción de polvo de hueso, esto a partir de la prueba de análisis de varianza. En este caso existe una diferencia respecto a las propiedades de flexión.

Rugosidad: De acuerdo a los resultados de rugosidad presentados en la tabla III se puede definir que la calidad del acabado superficial obtenido a partir de la impresión 3D no es buena, en este caso el defecto de manufactura se da en mayor medida en el PLA típico de impresión 3D, seguido por el material con compuesto de 20% polvo de hueso y por último el compuesto con 5% de polvo de hueso, sin embargo, gracias a que el material es mecanizable es posible mejorar el acabado mediante estas técnicas, lo cual a pesar de suponer una etapa más en el proceso de manufactura representa una posibilidad de versatilidad en cuanto a obtención de geometrías complejas y precisas.

Calidad de impresión: De acuerdo con los resultados presentados en la tabla IV se observa que los diámetros interiores y exteriores son manufacturados con una calidad para objetos con ajuste y el espesor con una calidad basta no apta

para ajustar, sin embargo, la mecanización de este material permite obtener mejores calidades.

Distribución de polvo de hueso en el material: En la figura 12 se puede observar cómo se distribuye el polvo de hueso del material en una impresión correcta sin fallos, en la sección izquierda se puede visualizar el polvo de hueso que se presenta como las partículas opacas en el fondo claro que es el ácido poliláctico, con esta imagen se puede observar que existe una homogenización en la distribución de las partículas aunque en ocasiones se observan aglomeraciones, también se pueden observar dos líneas paralelas en el fondo y una perpendicular en el primer plano, con ellas se puede ver como se realizó la manufactura aditiva por capas. En la misma ilustración, sección derecha se puede observar de igual forma la distribución del polvo de hueso y una línea de separación de la capa, lo más notorio en esta imagen es la solidificación superficial del material que se observan como marcas de playa, de manera que parece que hubo una contracción del material durante el enfriamiento.

En la figura 13 se pueden observar fallos que ocurren durante la manufactura aditiva mediante moldeo por deposición fundida, en la sección izquierda se puede observar cómo se consolida superficialmente la capa de polímero pero en el fondo se observan grandes manchas opacas que no pueden ser pasadas por polvo de hueso, en este caso dichas partículas son inclusiones de aire que se forman durante la impresión, estas se deben principalmente a obstrucciones momentáneas del flujo de material de la boquilla durante la impresión, a pesar de poder observar las capas de la dirección de la capa manufacturada estas inclusiones de aire representan porosidad no deseada en el material. En la sección derecha se puede observar un defecto más profundo pues existe una separación muy grande en la cual no es posible visualizar las capas de la dirección de la capa manufacturada y también se observa un vacío de material. Estos defectos son nocivos en el proceso de manufactura, si el material que está diseñado para tener una densidad de relleno del 100% presenta porosidad no deseada como en estos casos puede suponer un concentrador de esfuerzos y en tal caso una oportunidad para presentarse una falla.

VII. CONCLUSIONES

Se desarrolló una metodología de manufactura alternativa para el desarrollo de implantes óseos, se encuentran pocas referencias de trabajos similares realizados, por este motivo se presenta una oportunidad de estudio para la implementación de este proceso de manufactura que tiene varios beneficios los cuales son principalmente la producción de objetos con geometrías complejas. La manufactura aditiva y en este caso el modelado por deposición fundida es un método de manufactura con mucho potencial para la aplicación del material desarrollado en el presente trabajo. Se concluye que fue posible desarrollar un biomaterial para un implante mediante fabricación aditiva para ser usado por un veterinario como soporte de generación de tejido óseo.

Se ha desarrollado un biomaterial que a partir de la información recopilada es funcional para ser utilizado en la recuperación de animales, a falta de pruebas de citotoxicidad se tiene un material que cumple con las propiedades mecánicas óptimas para su aplicación. A partir de la experimentación realizada se tiene un material que, si bien continúa siendo bastante inferior en propiedades mecánicas de resistencia con los materiales que se encuentran actualmente en el mercado, se presenta como una alternativa para el mejoramiento de la medicina veterinaria y a futuro, con una experimentación mayor, para la medicina humana.

Se observa que las propiedades de flexión no dependen de la proporción de polvo de hueso presente en la mezcla, al menos hasta una proporción del 20% de PH, sin embargo, las propiedades de dureza y rugosidad si dependen de dicha proporción. La calidad del producto manufacturado no depende de la proporción del polvo de hueso presente en la mezcla, esta depende principalmente de los parámetros de impresión de la máquina. A partir de la experimentación realizada en este trabajo se tiene que la proporción de polvo de hueso 20% y 80% PLA se tiene un material con propiedades mecánicas y biológicas óptimas para la aplicación de implantación, el deseo del implante es contar con la mayor similitud con los tejidos y estructuras óseas con las que va a tener contacto por eso es deseable tener la mayor cantidad de hueso posible en la mezcla.

REFERENCES

- [1] E. C. Santoscoy Mejía, Ortopedia, neurología y rehabilitación de pequeñas especies: Perros y gatos, Mexico D.F: El Manual Moderno, 2008.
- [2] D. A. Silva Pineda, «Injerto óseo cortical y esponjoso,» 2018. [En línea]. Available: <http://vepavalle.com/casos-clinicos/15/perros/injerto-oseo-cortical-y-esponjoso/>.
- [3] Vets Affinity, «Affinity-Petcare,» 13 Marzo 2017. [En línea]. Available: <https://www.affinity-petcare.com/vetsandclinics/tta-perros-resolucion-rotura-ligamento-cruzado>. [Último acceso: 9 Octubre 2018].
- [4] J. Grau, R. Gregorutti y C. Elsner, «Aleaciones Metálicas Usadas en Implantes Quirúrgicos,» *Ciencia y Tecnología de los Materiales*, pp. 53-58, 2013.
- [5] C. E. Plazas Bonilla y J. E. Perilla, «Pasado, presente y futuro cercano de los materiales para uso en implantes óseos biodegradables,» *Ingeniería e Investigación*, pp. 124-133, 2011.
- [6] M. E. Navarro Toro, Desarrollo y Caracterización de Materiales Biodegradables para Regeneración Ósea, Barcelona: Universitat Politècnica de Catalunya, 2005.
- [7] E. Armelin, Síntesis y Caracterización de Nuevas Poliesteramidas: Estudio de sus Propiedades, Barcelona: Universidad Politécnica de Cataluña, 2002.
- [8] J. C. Middleton y A. J. Tipton, «Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices,» *Biomaterials*, pp. 2335-2346, 2000.
- [9] S. M. Thombre y B. D. Sarwade, «Synthesis and Biodegradability of Polyaspartic Acid: A Critical Review,» *Journal of Macromolecular Science*, pp. 1299-1315, 2005.
- [10] L. Haiyan, L. Jiyan y Y. Jiandong, «Construction and properties of poly(lactic-co-glycolic acid)/calcium phosphate cement composite pellets with microspheres-in-pellet structure for bone repair,» *Ceramics International*, pp. 5587-5592, 2016.
- [11] L. Tin Sin, A. Razak Rahmat y W. Aizan, «Applications of Poly(lactic acid),» *Poly(lactic Acid)*, pp. 301-327, 2013.
- [12] D. Guede, P. González y J. Caeiro, «Biomecánica y hueso (I): Conceptos básicos y ensayos mecánicos clásicos,» *Revista de Osteoporosis y Metabolismo mineral*, pp. 43-50, 2013.
- [13] V. Piemonte, Poly(lactic Acid): Synthesis, Properties and Applications, New York: Nova Science Publishers, Inc., 2012.
- [14] L. Serna C, A. Rodríguez de S y F. Albán A, «Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones,» *Ingeniería y Competitividad*, pp. 16-26, 2003.
- [15] Grupo GIDOLQUIM, «Técnicas y Operaciones Avanzadas en el Laboratorio Químico,» 4 Abril 2014. [En línea]. Available: <http://www.ub.edu/taq/es/node/261>. [Último acceso: 25 Septiembre 2018].
- [16] Instituto Máquina Herramienta, «Tolerancias Dimensionales,» 2018. [En línea]. Available: <http://www.imh.eus/es/comunicacion/dokumentazio-irekia/manuales/proyecto-medicion-tridimensional-en-fabricacion-mecanica-con-equipos-portables/tolerancias-dimensionales>. [Último acceso: 8 Enero 2019].