

## DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS Y TÉRMICAS DEL POLI(3-HIDROXIBUTIRATO-CO-3-HIDROXIHEXANOATO) CON NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA PARA SU USO EN REGENERACIÓN ÓSEA.

Juan Ivorra-Martínez<sup>1</sup>, Teodomiro Boronat Vitoria<sup>1</sup>, Luis Quiles-Carrillo<sup>1</sup>, Sergio Torres-Giner<sup>2</sup>, José A. Covas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Tecnología de Materiales (ITM) Universitat Politècnica de Valencia (UPV), Plaza Ferrandiz y Carbonell 03801 Alcoy, España. [juaivmar@doctor.upv.es](mailto:juaivmar@doctor.upv.es)

<sup>2</sup>Novel Materials and Nanotechnology Group, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch 7, 46980 Paterna, España

<sup>3</sup>Institute for Polymer and Composites, Universidade do Minho, 4804-533 Guimarães, Portugal

**Resumen:** En el presente estudio se estudian las propiedades mecánicas y térmicas del poli(3-hidroxitirato-co-3-hidroxihexanoato) [P(3HB-co-3HHx)] reforzado con diferentes cantidades de nanopartículas de hidroxiapatita (nHA). La mezcla de los materiales se realizó mediante un proceso de extrusión seguido de un proceso de inyección.

**Palabras clave:** P(3HB-co-3HHx); nHA; nanocomposites; propiedades mecánicas; reconstrucción ósea

### 1. INTRODUCCIÓN.

Uno de los materiales más habituales utilizados en las cirugías ortopédicas es el titanio debido a su alta biocompatibilidad. Los materiales metálicos empleados en ortopedia tienen módulos entre 110-210 GPa mientras que los huesos tienen un módulo entre 8-25 GPa [1-2]. La utilización de polímeros en medicina tiene un alto interés desde el siglo XIX con los primeros con el uso del celuloide en intervenciones craneales [2]. El creciente interés de los biopolímeros durante los últimos tiempos, hace que los polihidroxialcanoatos hayan ganado atención para la fabricación de dispositivos médicos, debido principalmente a la capacidad de bioabsorción en el cuerpo humano del dispositivo [3-4]. Uno de los polihidroxialcanoatos con mayor interés es el P(3HB-co-3HHx), se trata de un copolímero del PHB el cual incorpora hidroxihexanoato (3HHx), se rompe así la alta cristalinidad del PHB mejorando su procesabilidad y otorgando una mayor ductilidad [5-6].

La introducción nanopartículas osteoconductoras tiene un alto interés en el proceso de regeneración ósea debido a que permite fomentar la formación del hueso durante el periodo de reconstrucción ósea. Un buen ejemplo de ello son las biocerámicas como la hidroxiapatita (HA) existen diferentes referencias bibliográficas que aseguran que se pueden acelerar el proceso de recuperación del paciente a la vez que se mejoran las propiedades mecánicas del material [7-8].

### 2. MATERIALES Y EXPERIMENTAL.

El P(3HB-co-3HHx) utilizado es de Ercros S.A (Barcelona, España) bajo la referencia ErcrosBio PH110. En cuanto a la hidroxiapatita se suministra en

forma de nanopartículas por Sigma-Aldrich S.A. (Madrid, España) con la referencia comercial 677418.

En el experimental propuesto se proponen diferentes muestras en las cuales se incrementa la cantidad de hidroxiapatita presente en la estructura para determinar su efecto en las propiedades mecánicas y térmicas. Se considera también el polímero virgen como punto de referencia.

**Tabla 1.** Composición de las diferentes muestras propuestas.

Muestra	P3HB-co-3HHx (%peso)	nHA (%peso)
P3HB-co-3HHx	100	0
P3HB-co-3HHx + 2,5 nHA	97,5	2,5
P3HB-co-3HHx + 5 nHA	95	5
P3HB-co-3HHx + 10 nHA	90	10
P3HB-co-3HHx + 20 nHA	80	20

Para el procesado de las muestras, con los materiales premezclados se realiza un proceso de extrusión con una extrusora de doble husillo co-rotante y un perfil de temperaturas entre 110°C y 140°C. Las probetas se obtienen mediante un proceso de inyección con la inyectora Meteor 270/75 de Mateu & Solé (Barcelona, España) con un perfil de temperaturas entre 115°C y 130°C.

Previamente a la determinación de las propiedades mecánicas, se depositaron las probetas inyectadas durante 14 días a temperatura se realiza mediante diferentes ensayos. Un ensayo de tracción (ISO 572-2:2012) realizado con una máquina universal de ensayos

ELIB-50 de Ibertest S.A. (Madrid, España) con una velocidad de 5 mm/min. Las propiedades a flexión (ISO 178-1:2011) se realizaron con el mismo equipo y la misma velocidad. El efecto en la tenacidad del material se analiza mediante un ensayo Charpy (ISO 179-1:2010) con un péndulo de 1J de Metrotec S.A. (San Sebastián, España) y entalla normalizada. La dureza (ISO 868:2003) de los diferentes materiales se determina mediante un durómetro 673-D de J. Bot Instruments (Barcelona, España).

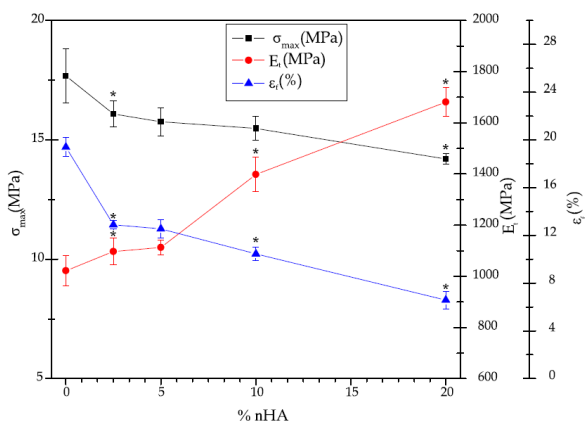
Las propiedades térmicas del material se determinaron mediante un ensayo de calorimetría diferencial de barrido (DSC) con el equipo Q200 de TA Instruments (New Castle, Estados Unidos), para ello se utiliza una atmósfera inerte de nitrógeno y un perfil entre -50°C y 200°C a 10°C/min con dos calentamientos y un enfriamiento intermedio. El ensayo termogravimétrico (TGA) se realizó con el equipo TGA 100 de Linseis Messegeräte GmbH (Selb, Alemania) en condiciones de atmósfera inerte y un perfil de temperaturas hasta 700°C a 20°C/min.

Finalmente se realizó un estudio mediante microscopia Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM) para determinar el efecto de la hidroxiapatita en la estructura interna. Para ello se realizó un ataque selectivo con ácido clorhídrico (HCl) durante 12 horas en el cual se elimina la nHA para determinar su dispersión dentro de la matriz polimérica.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Tras realizar la caracterización mecánica de los diferentes materiales propuestos se obtienen los siguientes resultados.

En cuanto a las propiedades resultantes en el ensayo de tracción se pueden observar en la **Figura 1**. Se aprecia una clara tendencia del material a incrementar su rigidez en función de la cantidad de nHA que se incorpora.



**Figura 1.** Evolución del comportamiento a tracción en función de la cantidad de nHA. Tensión máxima ( $\sigma_{max}$ ), Módulo de Young ( $E_f$ ) y Alargamiento de rotura ( $\epsilon_f$ ).

También se puede apreciar una tendencia en la tensión de rotura del material, cuanto mayor es la cantidad de nanopartículas la tensión de rotura disminuye con lo cual se intuye que estas actúan como pequeños

concentradores de tensión [10]. Como consecuencia de ambas modificaciones en el material, se produce una reducción de la capacidad de deformación antes de la rotura.

Los resultados obtenidos cuando se someten los diferentes materiales a un esfuerzo de flexión se pueden ver en la **Tabla 2**. En este caso, no se aprecia una diferencia significativa en cuanto a la tensión de rotura. Al igual que sucede con el módulo de Young, se produce un incremento en función de la cantidad de hidroxiapatita dentro de la estructura polimérica.

**Tabla 2.** Resultados del ensayo de flexión del sistema P3HB-co-3HHx/HA .

Referencia	$\sigma_f$ (MPa)	$E_f$ (MPa)
P3HB-co-3HHx	24,1±1,9	735,3±23,5
P3HB-co-3HHx + 2,5 nHA	25,6±1,0	744.1±26,3
P3HB-co-3HHx + 5 nHA	26,4±2,3	813,2±36,7
P3HB-co-3HHx + 10 nHA	26,7±0,5	919,8±38,6
P3HB-co-3HHx + 20 nHA	26,9±1,9	1182,5±38,3

El efecto en la dureza del material y en la tenacidad ante un impacto se puede apreciar en la **Tabla 3**. La introducción de hidroxiapatita dentro del P3HB-co-3HHx permite incrementar la dureza del material. El motivo principal para ello es que se introduce una biocerámica la cuales se caracterizan por una alta dureza, así como la reducción de la capacidad de movimiento de las cadenas poliméricas al introducir nanopartículas en su interior [11-12]. En cuanto la tenacidad a la fractura, la reducción de la capacidad de deformación, así como la naturaleza frágil de las biocerámicas reducen la capacidad de absorción de energía ante un impacto [13-14].

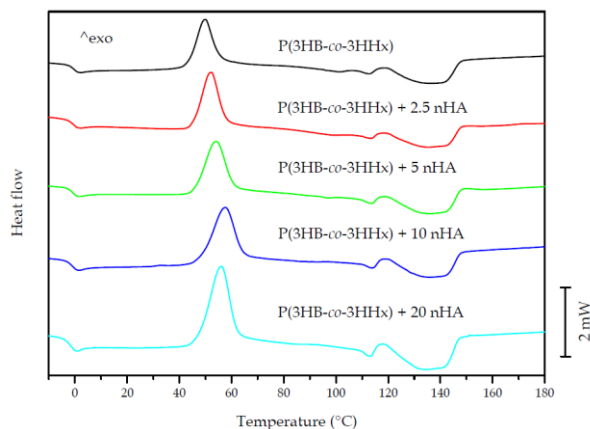
**Tabla 3.** Resultados del ensayo de dureza e impacto Charpy.

Referencia	H Shore D	$a_{cN}$ (kJ/m <sup>2</sup> )
P3HB-co-3HHx	64,2±0,8	5,1±0,3
P3HB-co-3HHx + 2,5 nHA	64,0±0,5	3,5±0,2
P3HB-co-3HHx + 5 nHA	65,2±0,8	2,6±0,2
P3HB-co-3HHx + 10 nHA	65,8±0,7	2,2±0,2
P3HB-co-3HHx + 20 nHA	69,4±0,5	1,7±0,2

Tras analizar el comportamiento mecánico, se busca determinar el efecto que tiene introducir en la matriz polimérica partículas de nHA. En la **Figura 2**, se muestra el flujo de energía para los diferentes materiales a lo largo del segundo ciclo de calentamiento y en la **Tabla 4** se muestran los datos de las entalpías. Se puede apreciar que cuando se introduce nHA dentro de la matriz polimérica se fomenta la cristalización del mismo y por lo tanto el grado de cristalinidad aumenta debido a que esta actúa como agente nucleante [15]. Esta tendencia se rompe a partir del 10% de nHA, en la cual se produce una saturación de la estructura que dificulta el proceso de cristalización.

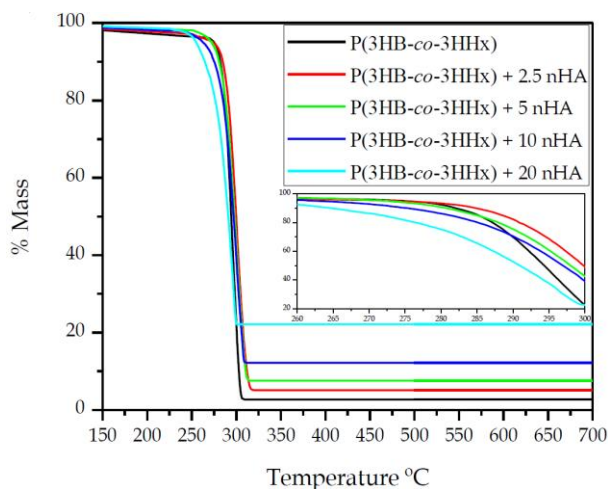
**Tabla 4.** Entalpías resultantes del segundo ciclo DSC para el sistema P3HB-co-3HHx/HA. Entalpía de cristalización en frío ( $\Delta H_{cc}$ ), entalpía de fusión ( $\Delta H_m$ ) y grado de cristalinidad ( $X_c$ ).

Referencia	$\Delta H_{cc}$ (J/g)	$\Delta H_m$ (J/g)	$X_c$ (%)
P3HB-co-3HHx	20,7	31,2	21,4
P3HB-co-3HHx + 2,5 nHA	29,8	35,0	24,3
P3HB-co-3HHx + 5 nHA	31,8	40,1	28,9
P3HB-co-3HHx + 10 nHA	29,0	32,5	24,7
P3HB-co-3HHx + 20 nHA	25,9	29,0	24,8



**Figura 2.** Termogramas del segundo ciclo de calentamiento sistema P3HB-co-3HHx/HA

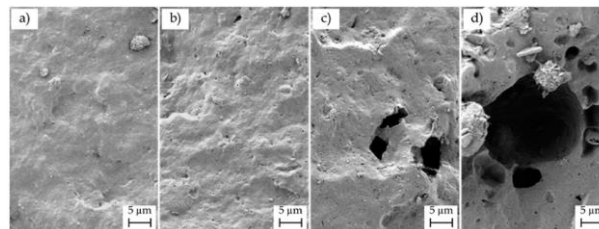
Para determinar la temperatura de degradación y los residuos generados tras la degradación térmica. En cuanto a los residuos, son proporcionales a la cantidad de nHA dentro de la estructura. Los materiales cerámicos se degradan a una temperatura superior a la aplicada en el ciclo [16]. Pequeñas cantidades de hidroxiapatita fomentan ligeramente la estabilidad térmica del polímero retrasando la temperatura de inicio de la pérdida de masa, lo cual podría estar relacionado con el incremento en el grado de cristalinidad [17].



**Figura 3.** Curvas de pérdida de masa del sistema P3HB-co-3HHx/HA

Para comprobar la dispersión de la hidroxiapatita se analizó mediante microscopía la estructura tras un

ataque selectivo en el cual se elimina la hidroxiapatita tal y como se puede apreciar en la **Figura 4**. Se puede ver que a partir del 10% de hidroxiapatita se forman orificios asociados a la formación de aglomerados de hidroxiapatita. Esto justifica los resultados previos en relacionados con de la caracterización térmica.



**Figura 4.** Imágenes FESEM, a) P3HB-co-3HHx + 2,5 nHA, b) P3HB-co-3HHx + 5 nHA, c) P3HB-co-3HHx + 10 nHA y d) P3HB-co-3HHx + 20 nHA

#### 4.- CONCLUSIONES.

Con la utilización del P(3HB-co-3HHx), se han conseguido materiales con un módulo entre 1-1,7 GPa, lo cual supone un módulo más similar al del hueso humano cuyos valores habituales oscilan entre 8-25 GPa respecto a los metales habitualmente utilizados. Además, la incorporación de cantidades de hasta el 10% de nHA ha permitido incrementar la estabilidad térmica. Los resultados muestran que los materiales obtenidos se pueden utilizar en aplicaciones en las cuales las cargas empleadas son bajas. Se deja abierta así la puerta a explorar la posibilidad de incorporar antibióticos u otro tipo de medicación para su liberación controlada dentro del cuerpo humano.

#### 5.- REFERENCIAS

- [1] Mugnai, R.; Tarallo, L.; Capra, F.; Catani, F. Biomechanical comparison between stainless steel, titanium and carbon-fiber reinforced polyetheretherketone volar locking plates for distal radius fractures. *Orthop. Traumatol. Surg. Res.* **2018**, 104, 877–882.
- [2] Heimbach, B.; Tonyali, B.; Zhang, D.; Wei, M. High performance resorbable composites for load-bearing bone fixation devices. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2018**, 81, 1–9.
- [3] Khader, B.A. and M.R. Towler, Materials and techniques used in cranioplasty fixation: A review. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, **2016**. 66: p. 315-322.
- [4] Singh, A.K.; Mallick, N. Biological system as reactor for the production of biodegradable thermoplastics, polyhydroxyalkanoates. In *Industrial Biotechnology: Sustainable Production and Bioresource Utilization*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, **2016**; pp. 281–323.

- [5] Rodriguez-Contreras, A. Recent advances in the use of polyhydroxyalkanoates in biomedicine. *Bioengineering* **2019**, 6, 82.
- [6] Li, J., et al., Mechanical, Thermal, and Barrier Properties of PHBH/Cellulose Biocomposite Films Prepared by the Solution Casting Method. *BioResources*, **2018**. 14(1): p. 1219-1228.
- [7] Qin, Q., W. Takarada, and T. Kikutani, Fiber structure development of PHBH through stress-induced crystallization in high-speed melt spinning process. *Journal of Fiber Science and Technology*, **2017**. 73(2): p. 49-60.
- [8] GrØNdahl, L.; Jack, K.S. 5—Composite materials for bone repair. In *Biomedical Composites*; Ambrosio, L., Ed.; Woodhead Publishing: Sawston, UK, **2010**; pp. 101–126.
- [9] Wypych, G. *Functional Fillers: Chemical Composition, Morphology, Performance, Applications*; ChemTec Publishing: Scarborough, ON, Canada, **2018**.
- [10] Lopresti, F., et al., Effect of hydroxyapatite concentration and size on morpho-mechanical properties of PLA-based randomly oriented and aligned electrospun nanofibrous mats. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, **2020**. 101: p. 103449.
- [11] Fouad, H., R. Elleithy, and O.Y. Alothman, Thermo-mechanical, wear and fracture behavior of high-density polyethylene/hydroxyapatite nano composite for biomedical applications: effect of accelerated ageing. *Journal of Materials Science & Technology*, **2013**. 29(6): p. 573-581.
- [12] Akindoyo, J.O., et al., Effects of surface modification on dispersion, mechanical, thermal and dynamic mechanical properties of injection molded PLA-hydroxyapatite composites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, **2017**. 103: p. 96-105.
- [13] Verma, N., S. Zafar, and M. Talha, Influence of nano-hydroxyapatite on mechanical behavior of microwave processed polycaprolactone composite foams. *Materials Research Express*, **2019**. 6(8): p. 085336.
- [14] Haq, R.H.A., et al. Impact test and bioactivity properties of polycaprolactone (PCL) by addition of nano-montmorillonite (MMT) and hydroxyapatite (HA). in *Applied Mechanics and Materials*. **2014**. Trans Tech Publ.
- [15] Wypych, G., *Handbook of nucleating agents*. **2016**: Elsevier
- [16] Pandele, A.M., et al., Synthesis and Characterization of PLA-Micro-structured Hydroxyapatite Composite Films. *Materials*, **2020**. 13(2): p. 274.
- [17] Apalangya, V.A., et al., Eggshell based nano-engineered hydroxyapatite and poly (lactic) acid electrospun fibers as potential tissue scaffold. *International journal of biomaterials*, **2019**.