



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Obtención de Scaffolds Compuestos Polímero-Cerámico por Estereolitografía de Mascara (MSLA) con Propiedades Magnéticas y Potencial Aplicación en Regeneración Ósea**

**Yeison Alejandro Orozco Osorio**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencia, Escuela de Física  
Medellín, Colombia  
2024



# **Obtención de Scaffolds Compuestos Polímero-Cerámico por Estereolitografía de Mascara (MSLA) con Propiedades Magnéticas y Potencial Aplicación en Regeneración Ósea**

**Yeison Alejandro Orozco Osorio**

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Ingeniería Física**

Directora:

Doctora Claudia Patricia García García

Línea de Investigación:

Biomateriales

Grupo de Investigación:

Materiales Cerámicos y Vitreos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Escuela de Física

Medellín, Colombia

2024



*(Dedicatoria o lema)*

*No necesitamos entender por qué razón se forma un arcoíris, un arco de niebla o un arco de cristal para poder apreciar su belleza, sin embargo, comprender la física de estos nos da un nuevo par de ojos (A esto lo llamo la belleza del conocimiento).*

*Walter*

*Lewin*

## **Agradecimientos**

Agradezco principalmente al proyecto que hizo posible la realización de este trabajo, proyecto titulado “Desarrollo y evaluación in vitro de un prototipo de scaffold de matriz polimérica con adición de partículas magnéticas, funcionalizado con proteínas morfogenéticas BMP-2 producido por manufactura aditiva para regeneración ósea.” Código Hermes 53992. SEGUNDA CONVOCATORIA CONJUNTA DE PROYECTOS DE I+D+i EN EL MARCO DE LA AGENDA REGIONAL DE I+D -> I

Agradezco también la constante dedicación, enseñanzas, acompañamiento y los consejos de mi directora de Tesis Claudia García sin la cual no hubiese sido posible nada de lo aquí realizado.

Agradezco también a mi Esposa, Alejandra Betancur Palacio, por su apoyo emocional e incondicional, y su ayuda con la revisión constante del presente documento, y para superar el sin fin de obstáculos que el camino creo para mí.

Por ultimo y no menos importante, a todos los docentes y amigos que participaron con opiniones, recomendaciones y apoyo durante el desarrollo de esta tesis, tales como Wilmer Saldarriaga, Román Castañeda, Miguel Ángel Ledesma, entre muchos otros a los cuales admiro y respeto.

## Resumen

### **Obtención de Scaffolds Compuestos Polímero-Cerámico por Estereolitografía de Mascara (MSLA) con Propiedades Magnéticas y Potencial Aplicación en Regeneración Ósea.**

Este estudio exploró el diseño, fabricación y evaluación de scaffolds que incorporan propiedades esenciales para la regeneración ósea, incluyendo biocompatibilidad, geometría macroporosa, resistencia mecánica y capacidad de respuesta magnética. Mediante el uso de la geometría de superficies mínimas triplemente periódicas (TPMS), resinas fotopolimerizables acrílicas, óxidos de hierro sintetizados y la impresión por máscara de estereolitografía (MSLA), se diseñaron scaffolds con características geométricas precisas. Las propiedades mecánicas se mejoraron mediante el curado de resina, mientras que las partículas de magnetita, obtenidas de nanopartículas sintetizadas, se integraron para conferir propiedades magnéticas. Estos scaffolds exhibieron un equilibrio óptimo entre rigidez, porosidad y capacidad de respuesta magnética. Se obtuvieron scaffolds de resina con óxidos de hierro sintetizados con una resistencia máxima a la compresión entre 4.8 MPa y 9.2 MPa, módulo de Young entre 58 MPa y 174 MPa. Se midieron propiedades magnéticas para los scaffolds sintéticos, como coercitividad magnética de 293 Oe, remanencia magnética entre 11.3 emu/g y 12.3 emu/g, y saturación magnética entre 29.4 emu/g y 37.1 emu/g. Se midió la viscosidad de las mezclas utilizadas para imprimir los scaffolds entre 350 mPa-s y 380 mPa-s, valores adecuados para una impresión 3D correcta, y se obtuvieron medidas del ángulo de contacto entre 90° y 110°. Las mejores propiedades entre los scaffolds fabricados fueron exhibidas por aquellos con un porcentaje en peso del 1%. La evaluación de la biocompatibilidad de los scaffolds sugirió su potencial para futuros ensayos clínicos, respaldado por su capacidad para mantener la viabilidad celular.

**Palabras clave:** Scaffolds, Síntesis de materiales, Propiedades magnéticas, Manufactura aditiva, Regeneración ósea.

## Abstract

### **Obtaining Polymer-Ceramic Composite Scaffolds by Masked Stereolithography (MSLA) with Magnetic Properties and Potential Application in Bone Regeneration.**

This study explored the design, fabrication, and evaluation of scaffolds that incorporate essential properties for bone regeneration, including biocompatibility, macroporous geometry, mechanical strength, and magnetic responsiveness. Using triply periodic minimal surfaces (TPMS) geometry, acrylic photopolymerizable resins, synthesized iron oxides, and masked stereolithography (MSLA) printing, scaffolds with precise geometric characteristics were designed. Mechanical properties were enhanced through resin curing, while magnetite particles obtained from synthesized nanoparticles were integrated to confer magnetic properties. These scaffolds exhibited an optimal balance between stiffness, porosity, and magnetic responsiveness. Resin scaffolds with synthesized iron oxides achieved maximum compressive strength between 4.8 MPa and 9.2 MPa, Young's modulus between 58 MPa and 174 MPa. Magnetic properties were measured for the synthetic scaffolds, including magnetic coercivity of 293 Oe, magnetic remanence between 11.3 emu/g and 12.3 emu/g, and magnetic saturation between 29.4 emu/g and 37.1 emu/g. The viscosity of the mixtures used for printing the scaffolds was measured between 350 mPa-s and 380 mPa-s, values suitable for proper 3D printing, and contact angle measurements were obtained between 90° and 110°. The best properties among the manufactured scaffolds were exhibited by those with a 1% weight percentage. The biocompatibility evaluation of the scaffolds suggested their potential for future clinical trials, supported by their ability to maintain cell viability.

**Keywords:** Scaffolds, Material Synthesis, Magnetic properties, Additive manufacturing, Bone regeneration.

# Contenido

	Pág.
<b>Resumen.....</b>	<b>VII</b>
<b>Lista de figuras.....</b>	<b>XI</b>
<b>Lista de tablas.....</b>	<b>XIV</b>
<b>Lista de Símbolos y abreviaturas.....</b>	<b>XV</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Planteamiento del problema, justificación y objetivos .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Marco teórico y estado del arte.....</b>	<b>9</b>
2.1 Anatomía, fisiología del tejido y regeneración óseos.....	9
2.2 Diseño de biomateriales. ....	14
2.3 Biomateriales poliméricos en regeneración ósea. ....	14
2.4 Resinas acrílicas como biomateriales.....	16
2.5 Diseño de scaffolds. ....	17
2.6 Óxidos de hierro.....	19
2.7 Síntesis de materiales magnéticos. Combustión en solución. ....	22
2.7.1 Precursores o agentes oxidantes.....	24
2.7.2 Combustibles o agentes reductores. ....	25
2.7.3 Parámetro $\Phi$ de combustión o relación combustible/oxidante.....	25
2.7.4 pH.....	26
2.8 Propiedades magnéticas y sus efectos en el tejido óseo.....	26
2.9 Manufactura aditiva. ....	28
2.9.1 Proceso de producción de piezas por medio de la manufactura aditiva. ....	30
2.10 Estereolitografía y sus tipos. ....	31
2.11 Parámetros importantes en la estereolitografía. ....	32
2.12 Reología, mezclas y suspensiones.....	34
<b>3. Metodología .....</b>	<b>36</b>
3.1 Obtención y caracterización de las partículas magnéticas. ....	36
3.2 Caracterización térmica de la resina.....	37
3.3 Preparación y caracterización de suspensiones.....	38
3.4 Proceso de obtención de scaffolds magnéticos. ....	38

3.5	Caracterización magnética de partículas, mezclas y scaffolds.....	41
3.6	Caracterización mecánica. ....	41
3.7	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). ....	41
3.8	Pruebas de mojabilidad (ángulo de contacto). ....	41
3.9	Pruebas de estabilidad y degradación. ....	42
3.10	Caracterización biológica (viabilidad celular). ....	42
<b>4.</b>	<b>Resultados y Discusión .....</b>	<b>44</b>
4.1	Obtención de las partículas magnéticas .....	44
4.2	Caracterización estructural de las partículas obtenidas.....	46
4.3	Morfología y características físicas de las partículas de magnetita obtenidas. ....	48
4.4	Distribución de tamaño de partícula .....	49
4.5	Caracterización de las partículas magnéticas.....	51
4.6	Caracterización de la resina. ....	52
4.7	Impresión de scaffolds magnéticos. ....	55
4.8	Caracterización magnética de los scaffolds .....	61
4.9	Caracterización mecánica de los scaffolds obtenidos. ....	65
4.10	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). ....	68
4.11	Pruebas de mojabilidad (ángulo de contacto). ....	69
4.12	Pruebas de estabilidad y degradación. ....	71
4.13	Caracterización biológica (viabilidad celular). ....	72
<b>5.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>74</b>
5.1	Conclusiones.....	74
<b>6.</b>	<b>Productividad académica (artículos y ponencias).....</b>	<b>77</b>
<b>A.</b>	<b>Métodos de caracterización de biomateriales para regeneración ósea. ....</b>	<b>79</b>
	<b>Bibliografía.....</b>	<b>101</b>

## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 2-1:</b> Esquema de una estructura ósea: 1: Hueso cortical, 2: Hueso trabecular, 3: Sistema de Havers, 4: Vaso sanguíneo, 5: Canal de Havers, 6: Canal de Volkmann, 7: Periostio, 8: Revestimiento óseo, 9: Vasos del periostio, 10: Osteoclastos, 11: Osteoblastos, 12: Osteocitos. Tomado de [77].	10
<b>Figura 2-2:</b> Superficie TPMS giroide extendida a la izquierda y celda unidad a la derecha. Tomado y adaptado de [160].	19
<b>Figura 2-3:</b> Ordenamiento de los momentos magnéticos dependiendo de las propiedades magnéticas de los materiales. A. Ordenamiento magnético promedio de un material Paramagnético. B. Ordenamiento magnético promedio de un material Ferromagnético. Tomado y modificado de [163].	20
<b>Figura 2-4:</b> Curva de histéresis emitida en una prueba de VSM. A. Parámetros relevantes de la curva de histéresis de un material magnético. B. Curva de histéresis característica de un material paramagnético. C. Curva de histéresis característica de un material ferromagnético. Tomado, modificado y traducido de [164].	22
<b>Figura 2-5:</b> Pasos de la reacción de combustión. Tomado, adaptado y traducido de [165].	24
<b>Figura 2-6:</b> Esquema gráfico del proceso de impresión 3D para FDM. Tomado y adaptado de [193].	31
<b>Figura 2-7:</b> Diferentes tecnologías de formación de objetos por impresión 3D de estereolitografía. Tomado y traducido de [197].	32
<b>Figura 3-1:</b> Probetas de calibración utilizadas. A) Modelos 3D de las probetas de medición generales. B) Modelos 3D de la probeta final utilizada para calibrar la calidad de impresión 3D. C) Modelo 3D de la probeta de calibración para el proceso de fotocurado. D) Imagen real de la probeta de calibración del fotocurado en el nivel de encaje adecuado.	39
<b>Figura 4-1:</b> Óxidos de hierro obtenidos por combustión en solución. A) Sistema de combustión en el momento de la reacción y formación de la llama. B). Obtención de óxidos de hierro después de la reacción. C). Óxidos de hierro después del proceso de recuperación y maceración. D). Comparación visual entre los óxidos de hierro obtenidos con atmosfera reductora (izquierda) y con una oxidante (derecha).	45
<b>Figura 4-2:</b> Difractogramas de rayos x para los óxidos de hierro sintetizados por combustión en solución. Se pueden observar la relación entre los picos de magnetita y hematita en las respectivas curvas obtenidas.	46

<b>Figura 4-3:</b> Fotomicrografías electrónicas del material sintetizado. A) y B) Fotomicrografías FESEM de los óxidos de hierro sintetizados. C) Fotomicrografías TEM. D) Fotomicrografías SEM. ....	49
<b>Figura 4-4:</b> Histograma de la distribución de tamaño de partícula realizado por conteo de 14 fotomicrografías TEM. ....	50
<b>Figura 4-5:</b> Curva de histéresis magnética obtenida por VSM para las partículas magnéticas de óxidos de hierro sintetizadas. ....	52
<b>Figura 4-6:</b> Curvas calorimetría diferencial de barrido y termogravimétrica de la resina utilizada. En rojo el seguimiento en masa de la muestra sometida a calentamiento y en azul la calorimetría diferencial. Exotérmico hacia arriba. ....	53
<b>Figura 4-7:</b> Caracterización reológica de la resina y las mezclas fabricadas. A) Curvas de esfuerzo de cizalla-tasa de cizalladura. B) Curvas de viscosidad. C) Curva de estabilidad de la viscosidad en el tiempo para la suspensión con 5% p/V de magnetita. ....	55
<b>Figura 4-8:</b> Fotografías de las diferentes vistas de los scaffolds generados comparados con los modelos tridimensionales generados por CAD. A) Scaffolds de resina pura. B) Scaffolds de RMS1. C) Scaffolds de RMS5. D) CAD utilizado para el proceso de impresión. ....	56
<b>Figura 4-9:</b> Fotografías de la respuesta ante un imán de los scaffolds impresos y sus dimensiones generales. A) y B) scaffolds unidos al imán de neodimio por medio de la fuerza magnética ejercida sobre ellos. C) y D) fotografías de los scaffolds. ....	58
<b>Figura 4-10:</b> Fotomicrografías SEM de los scaffolds fabricados por MSLA. A) y B) Fotomicrografías SEM de scaffold R. C) y D) Fotomicrografía SEM de scaffold RMS1. E) y F) Fotomicrografías SEM de scaffold RMS5. ....	60
<b>Figura 4-11:</b> Fotomicrografías SEM y su respectivo mapa colorimétrico a partir de EDS para el átomo de hierro. A) Scaffold RP. B) Scaffold RMS1. C) Scaffold RMS5. ....	61
<b>Figura 4-12:</b> Curvas de histéresis magnética obtenidas por VSM para los Scaffolds obtenidos por MSLA impresas a partir de óxidos de hierro sintetizados. Se realiza un Zoom en la parte central para verificar el comportamiento magnético de las muestras para valores pequeños de magnetización. ....	63
<b>Figura 4-13.</b> Resistencia máxima a la compresión de los scaffolds obtenidos por MSLA. A) Datos expresados por medio de diagramas de cajas B) Curvas promedio obtenidas en los ensayos mecánicos. ....	67
<b>Figura 4-14:</b> Espectros FTIR de las diferentes mezclas obtenidas a partir de los óxidos de hierro sintetizados. ....	69
<b>Figura 4-15:</b> Ángulo de contacto de los diferentes scaffolds obtenidos por MSLA. Se añaden fotos de algunas de las pruebas. Las fotos corresponden a los scaffolds en el mismo orden que los boxplots graficados. ....	71
<b>Figura 4-16:</b> Prueba de degradación de los scaffolds obtenidos por MSLA a 1, 7, 14 y 21 días de ensayo. Se añade al final un guion con el número de días de ensayo. ....	72
<b>Figura 4-17:</b> Ensayo de viabilidad celular por MTT para los diferentes scaffolds obtenidos a partir de MSLA realizado en la línea celular L929 de fibroblastos de ratón (finalizadas con -L) y en la línea celular MG-63 de osteosarcoma humano (finalizados con -MG). ....	73

<b>Figura A-6-1:</b> Esquema gráfico de la ley de Bragg y el funcionamiento de la difracción de Rayos X. Traducido y adaptado de [230].	80
<b>Figura A-6-2:</b> Parámetro fundamental para la determinación de parámetros de red por método de rietveld. Tomado de [234].	82
<b>Figura A-6-3:</b> Esquema de funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido. Tomado y adaptado de [238].	84
<b>Figura A-6-4:</b> Esquema de funcionamiento de un microscopio electrónico de transmisión. Tomado y adaptado de [242].	85
<b>Figura A-6-5:</b> Esquema de funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM). Tomado, adaptado y traducido de [245].	87
<b>Figura A-6-6:</b> Esquema de funcionamiento de análisis por energía dispersiva de rayos X (EDX). Tomado, adaptado y traducido de [250].	88
<b>Figura A-6-7:</b> Esquema de funcionamiento de la microscopía óptica convencional. Tomado y adaptado de [253].	89
<b>Figura A-6-8:</b> Esquema de funcionamiento de un espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). Tomado y adaptado de [255].	91
<b>Figura A-6-9:</b> Esquema de funcionamiento del análisis DSC. Tomado y adaptado de [259].	92
<b>Figura A-6-10:</b> Esquema general de un equipo de termogravimetría (TGA). Tomado y adaptado de [262].	93
<b>Figura A-6-11:</b> Esquema de configuraciones que se utilizan en un reómetro para caracterizar reologicamente diferentes tipos de muestras. Tomado, adaptado y traducido de [265].	94
<b>Figura A-6-12:</b> Esquema de funcionamiento de un magnetómetro de muestra vibrante a la izquierda. A la derecha las relaciones físicas que controlan su funcionamiento. Tomado, adaptado y traducido de [268].	96
<b>Figura A-6-13:</b> Esquema de una máquina universal de propiedades mecánicas en la cual se realiza un ensayo a compresión. Tomado, adaptado y traducido de [271].	97
<b>Figura A-6-14:</b> Esquema del análisis de los ensayos de mojabilidad y ángulo de contacto. Tomado, adaptado y traducido de [272].	98
<b>Figura A-6-15:</b> Esquema de funcionamiento del ensayo de viabilidad celular por MTT. Tomado y adaptado de [274].	100

## Lista de tablas

	Pág.
<b>Tabla 2-1:</b> Listado de propiedades mecánicas de diferentes huesos trabeculares del cuerpo humano. Las condiciones de obtención de las propiedades varían en cada caso y según la referencia citada. Tomado, adaptado y traducido de [82].	13
<b>Tabla 3-1:</b> Nomenclatura general de muestras realizadas.	38
<b>Tabla 4-1:</b> Parámetros de red y posiciones atómicas para la hematita sintetizada.	47
<b>Tabla 4-2:</b> Parámetros de red y posiciones atómicas para la magnetita sintetizada.	47
<b>Tabla 4-3:</b> Cuantificación de fases por refinamiento Rietveld para cada una de las muestras sintetizadas.	48
<b>Tabla 4-4:</b> Percentiles 10%, 50% y 90% de la distribución de tamaño de partícula de los óxidos de hierro sintetizados.	50
<b>Tabla 4-5:</b> Datos de contracción volumétrica para los scaffolds fabricados.	57
<b>Tabla 4-6:</b> Comparación de concentraciones antes y después de la prueba de determinación de hierro.	62
<b>Tabla 4-7:</b> Parámetros magnéticos de los scaffolds obtenidos por MSLA y de las muestras magnéticas puras. Estos datos se obtienen a partir de las curvas de histéresis de la <b>Figura 4-13</b> ...	63
<b>Tabla 4-8:</b> Resumen de propiedades mecánicas para los diferentes scaffolds obtenidos por estereolitografía de máscara MSLA.	66
<b>Tabla 4-9:</b> Asignación de picos del espectro FTIR [220].	69

## Lista de Símbolos y abreviaturas

### Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término	Unidad SI
$dl$	Diferencial de profundidad de penetración	m
$dt$	Diferencial de tiempo	s
$r$	Radio capilar	m
$M_f$	Masa final para el ensayo de degradación	kg
$M_i$	Masa inicial para el ensayo de degradación	kg
$d$	Distancia interplanar de la red	m
$n$	Orden de difracción	[-]

### Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término	Unidad SI
$\phi$	Relación combustible oxidante en combustión en solución	[-]
$\theta$	Ángulo de contacto de la resina	[rad]
$v$	Velocidad de penetración	m/s
$\eta$	Viscosidad	mPa*s
$\gamma$	Tensión superficial	J/m <sup>2</sup>
$\theta$	Ángulo de incidencia de rayos x	[rad]
$\lambda$	Longitud de onda de rayos x	m

### Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>TPMS</i>	Superficies minimales triplemente periódicas
<i>3D</i>	Tridimensional
<i>SLA</i>	Estereolitografía
<i>DLP</i>	Proyección Digital por Luz
<i>LCD</i>	Display de Cristal Liquido
<i>MSLA</i>	Estereolitografía por Mascara

<b>Abreviatura</b>	<b>Término</b>
<i>LED</i>	Diodo Emisor de Luz
<i>ALP</i>	Fosfatasa Alcalina
<i>OCN</i>	Osteocalcina
<i>SMF</i>	Campos Magnéticos Estáticos
<i>SEMF</i>	Campos Electromagnéticos Estáticos
<i>PMF</i>	Campos Magnéticos Pulsados
<i>PEMF</i>	Campos Electromagnéticos Pulsados
<i>p38</i>	Vía de Señalización p38 MPA quinasa
<i>JNK</i>	Vía de Señalización de la quinasa c-Jun N-Terminal
<i>MAPK</i>	Vía de Quinasas Activadas por Mitógenos
<i>NF-KB</i>	Vía de Factor Nuclear Kappa B
<i>hMSC</i>	Células Madre Mesenquimales Humanas
<i>PDLSCs</i>	Células Madre Derivadas de Ligamento Periodontal
<i>BMP-2</i>	Proteína Morfogenética Ósea 2
<i>Smad</i>	Proteína Madre de Maduración de Drosophila
<i>Runx-2</i>	Factor de Transcripción Runx-2
<i>PCL</i>	Policaprolactona
<i>BSP</i>	Proteína de Unión a la Matriz Ósea
<i>COL1A1</i>	Colágeno Tipo I alfa 1
<i>CNC</i>	Control Numérico Computarizado
<i>PLA</i>	Ácido Poliláctico
<i>VSM</i>	Magnetometría de Muestra Vibrante
<i>SCS</i>	Síntesis por Combustión en Solución
<i>UV</i>	Ultravioleta
<i>PLLA</i>	Poli(L-Lactida) o Acido Poliláctico L

<b>Abreviatura</b>	<b>Término</b>
<i>PGA</i>	Ácido Poliglicólico
<i>FDM</i>	Extrusión de Filamento Fundido
<i>DIW</i>	Escritura por Tinta Directa
<i>SLS</i>	Sinterización por Laser Selectivo
<i>SLM</i>	Fusión por Laser Selectivo
<i>MR</i>	Tipo de Resina Utilizada
<i>LOL</i>	Longitud de Onda de la Luz
<i>PL</i>	Potencia de la Fuente de Luz
<i>VE</i>	Velocidad de Elevación de la Plataforma
<i>EC</i>	Espesor de Capa
<i>TE</i>	Tiempo de Exposición
<i>TR</i>	Temperatura de la Resina
<i>PP</i>	Post-Procesamiento
<i>LP</i>	Lavado de Piezas
<i>CP</i>	Curado de las Piezas
<i>ASP</i>	Acabado Superficial de las Piezas
<i>ICQ</i>	Inspección y Control de Calidad
<i>RANKL</i>	Ligando del receptor activador del factor nuclear Kappa-B
<i>OPG</i>	Proteína Osteoprotegerinas
<i>BMPs</i>	Proteínas Morfogenéticas Oseas
<i>TGF<math>\beta</math></i>	Factor de Crecimiento Transformante Beta
<i>VEGF</i>	Factor de Crecimiento Vascular Endotelial
<i>PDEF</i>	Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas
<i>DRX</i>	Difracción de Rayos X
<i>SEM</i>	Microscopia Electrónica de Barrido
<i>FESEM</i>	Microscopia Electrónica de Barrido por Emisión de Campo

---

<b>Abreviatura</b>	<b>Término</b>
<i>TEM</i>	Microscopía Electrónica de Transmisión
<i>DTP</i>	Distribución de Tamaño de Partícula
<i>TGA</i>	Termogravimetría
<i>DSC</i>	Calorimetría Diferencial
<i>RP</i>	Resina Pura
<i>RMS1</i>	Resina con 1% de óxidos de hierro en peso
<i>RMS5</i>	Resina con 5% de óxidos de hierro en peso
<i>FTIR</i>	Espectroscopia de Infrarrojo con Transformadas de Fourier
<i>PBS</i>	Solución Búfer Fosfato
<i>L929</i>	Línea Celular Derivada de Fibroblastos de Ratón
<i>MG-63</i>	Línea Celular Derivada de Osteosarcoma Humano
<i>RM</i>	Materiales de Referencia
<i>CAD</i>	Diseño Asistido por Computador
<i>EDS</i>	Espectroscopia de Dispersión de Energía
<i>FWHM</i>	Anchura media de pico
<i>EDX</i>	Análisis por Energía Dispersiva de Rayos X

# Introducción

El sistema óseo está encargado de realizar algunas de las funciones más esenciales del cuerpo humano tales como sostener la estructura del mismo, proteger los órganos internos, facilitar el movimiento general, almacenar minerales importantes, generar nuevas células sanguíneas, regular el metabolismo, servir de respaldo a los tejidos blandos y ser partícipe en la termorregulación [1]. Sin embargo, estas funciones se ven afectadas por diversas situaciones tales como accidentes y enfermedades congénitas que pueden provocar fracturas, dislocaciones y otros trastornos óseos, lo que reduce la calidad de vida al alterar la capacidad de las personas para llevar a cabo sus actividades diarias de manera óptima. Por lo tanto, es fundamental abordar estos problemas de salud ósea mediante tratamientos adecuados y medidas preventivas para garantizar el bienestar y la funcionalidad de las personas afectadas [2].

Actualmente, están surgiendo nuevas estrategias orientadas hacia la regeneración del hueso, con el objetivo final de restaurar completamente el tejido óseo dañado [3]. Entre estas, se encuentran estrategias tales como la modificación genética de células por medio de las terapias génicas [4], el uso de células madre [5–7], uso de biorreactores para la generación de nuevo tejido [8], modificaciones moleculares [9], materiales biocompatibles y bioactivos, entre otras. En numerosas opciones dentro de estas innovaciones, se emplean scaffolds (en inglés conocidos como scaffolds), que son estructuras con formas específicas de poros interconectados. Estos scaffolds sostienen las células para que puedan crecer y mejoran la circulación de nutrientes y la transferencia de oxígeno, con el propósito de imitar las características del tejido durante el proceso de regeneración [10, 11]. Algunas de las formas geométricas que suelen utilizarse en la fabricación de scaffolds son las superficies minimales triplemente periódicas (TPMS), las cuales son estructuras fundamentadas en funciones sinusoidales que se repiten regularmente en las tres dimensiones [12]. Estas resultan apropiadas para crear scaffolds destinados a la regeneración ósea, dado que ofrecen la relación ideal entre la rigidez y la porosidad necesaria para promover el desarrollo celular [13].

Para obtener scaffolds se han explorado diferentes metodologías [14] tales como la lixiviación porógena [15–18], fabricación por espuma de gas [19–21], secado en frío [22–25], electrohilado en solución [26–29], electroescritura por fundido [30–32] y manufactura aditiva [33–36]. La fabricación aditiva sobresale por sus beneficios, que incluyen la capacidad de personalización y precisión en el diseño, la posibilidad de crear geometrías complejas, la utilización de una amplia gama de materiales, el control de la porosidad como un factor crucial en la regeneración ósea, la optimización de la densidad y la reducción del desperdicio de material, así como la capacidad de diseñar e integrar implantes, entre otras ventajas significativas [37–43].

Entre las varias técnicas de fabricación aditiva, la impresión 3D mediante resina fotopolimerizable se destaca como una de las tecnologías relevantes en el ámbito biomédico, particularmente en odontología. Esto se debe a las propiedades biocompatibles y mecánicas que poseen ciertas resinas utilizadas [44, 45]. Dentro de esta familia de técnicas se encuentran algunas variantes tales como la estereolitografía clásica (SLA), que emplea un láser como fuente de luz y un arreglo de espejos para direccionarla; la estereolitografía por proyección de luz (DLP), que utiliza una fuente de luz proyectada en una pantalla LCD para formar una máscara; y la estereolitografía por máscara (MSLA), donde se utilizan múltiples fuentes de luz LED que se proyectan mediante una pantalla LCD para crear diferentes imágenes con el fin de generar sólidos. La estereolitografía se fundamenta en la fotopolimerización, una reacción química en estado líquido que ocurre cuando se expone una resina fotopolimerizable a la luz con una longitud de onda específica haciendo que las cadenas de monómeros se unan y formen un polímero sólido [46].

En la actualidad, se han utilizado diversos compuestos inorgánicos como materiales de relleno con el fin de conferirle a la resina propiedades distintas a las propias [47], entre ellos, el dióxido de zirconio ( $ZrO_2$ ) ha demostrado efectos significativos en la mejora de propiedades mecánicas y en la proliferación de diversas líneas de osteoblastos. En el mismo sentido, el carbonato de calcio ( $CaCO_3$ ) ha mostrado influencia en la expresión génica celular, incluyendo genes como el ALP (fosfatasa alcalina), OCN (osteocalcina) y Runx-2, todos ellos vinculados a la producción de enzimas y procesos de mineralización en las células óseas [48–50]; Titanato de Calcio ( $CaTiO_3$ ), con el cual se han logrado mejoras significativas en la diferenciación celular de células madres en células óseas [51]; alúmina ( $Al_2O_3$ ), mejorando así las propiedades mecánicas a compresión de los Scaffolds obtenidos [49]. Además de los mencionados, los fosfatos de calcio en general,

incluyendo los fosfatos bifásicos, que son una combinación de hidroxiapatita y fosfatos tricálcicos, también se han destacado en la investigación en el área. Estos materiales han demostrado mejoras en propiedades mecánicas, así como en la proliferación y diferenciación celular. Sin embargo, se ha observado que estas mejoras dependen de las fases utilizadas, las concentraciones y las técnicas de fabricación empleadas [52–55].

También es posible promover la regeneración ósea mediante la manipulación de fenómenos fisicoquímicos que influyen en el crecimiento y la diferenciación celular, utilizando mecanismos energéticos, biológicos o químicos. Se ha investigado el uso de campos electromagnéticos de diversas naturalezas con el fin de generar efectos positivos en los ciclos celulares de diferentes tipos de células. Se ha comprobado que, en ciertas condiciones, los campos magnéticos pueden mejorar la proliferación y diferenciación celular al activar la expresión de genes asociados a la regeneración celular, específicamente en la regeneración ósea [56–61]

La investigación actual en este campo se ha enfocado principalmente en dos variantes de campos magnéticos: Campos magnéticos y electromagnéticos estáticos (SMF, SEMF), que mantienen una magnitud igual durante la interacción; y campos electromagnéticos pulsados o alternos (PMF, PEMF). Se han empleado campos magnéticos con magnitudes entre 10 mT y 200 mT en el caso de los SMF (0 Hz de frecuencia), logrando mejoras notables en la osteogénesis de diversas líneas celulares, como osteoblastos humanos, células de ligamento periodontal y cementoblastos, cuando se aplican directamente sobre los cultivos celulares [56–61]. En este contexto, se han identificado diversos mecanismos de interacción, que incluyen la expresión de genes relacionados con la regeneración celular, como componentes de las vías de señalización Wnt/ $\beta$ -catenin, p38, JNK, MAPK y NF- $\kappa$ B.

Estos genes pueden actuar como señalizadores celulares que desencadenan este tipo de procesos regenerativos. En el mismo sentido, mediante el uso de campos electromagnéticos pulsados, se han realizado investigaciones utilizando amplitudes con magnitudes menores. Se han aplicado campos directamente sobre cultivos celulares con magnitudes entre 1 mT y 10 mT, variando las frecuencias entre 15 Hz y 200 Hz. Este tipo de campos ha tenido un impacto notable en la expresión de genes implicados en la producción de proteínas en líneas celulares como hMSC y PDLSCs.

En la actualidad, se cuenta con una amplia variedad de materiales que muestran comportamiento magnético, siendo las partículas de óxidos de hierro y otros metales especialmente destacados. Las

nanopartículas pueden ser sintetizadas mediante diversas rutas de síntesis. En particular, las nanopartículas de magnetita (óxidos de hierro), combinadas con fosfato de gadolinio (GdPO<sub>4</sub>), se han empleado en matrices de quitosano (CS) para crear scaffolds destinados a la regeneración celular de tejido óseo. Se ha observado que estas estructuras tienen un impacto significativo en la expresión de genes relacionados con vías de señalización como BMP-2, Smad y RUNX-2, lo que favorece una mejor regeneración ósea [62].

En otra línea de investigación, se han combinado nano fibras de carbono y nanopartículas de óxido de hierro con matrices poliméricas como el PCL. Esta combinación busca mejorar la resistencia mecánica a la compresión de scaffolds con actividad magnética, logrando materiales que pueden soportar hasta 25 MPa [63]. Se han realizado procesos de sinterización de mezclas de hidroxiapatita con partículas magnéticas utilizando moldes para producir scaffolds con cierta actividad magnética. Sin embargo, se ha observado que los efectos de la temperatura pueden disminuir las propiedades adquiridas inicialmente [64].

En otro enfoque, se han creado mezclas de magnetita con policaprolactona (PCL) para fabricar scaffolds con porosidades de hasta un 60% y resistencias a la compresión de 13-16 MPa. Esta combinación ha demostrado efectos beneficiosos en la expresión de genes clave como RUNX-2, OCN, BSP, BMP-2 y COL1A1, lo que sugiere una estrategia prometedora para mejorar la regeneración ósea [65]. Otro tipo de estrategias como la creación de biocementos y dispersiones se han utilizado para lograr matrices poliméricas en forma de scaffolds con propiedades magnéticas [66, 67].

A pesar de la amplia investigación sobre el efecto de los campos magnéticos en el crecimiento celular de las líneas celulares relacionadas con la regeneración ósea, hasta la fecha no existen estudios sobre el diseño de un material que genere el campo magnético necesario por sí mismo para afectar la proliferación y diferenciación celular. Todos los avances actuales en este ámbito se basan en el uso de campos magnéticos externos en ensayos *in vitro* sobre células. En este trabajo, se busca integrar en un solo material algunas de las propiedades más importantes para su uso en el proceso de regeneración ósea, como la biocompatibilidad, una geometría macroporosa con poros interconectados para facilitar el transporte de nutrientes, propiedades mecánicas y propiedades magnéticas que favorezcan la proliferación de células óseas. La geometría deseada se logrará

mediante el diseño de una estructura TPMS giroide, aprovechando la precisión ofrecida por la técnica de impresión por estereolitografía por MSLA. Las propiedades mecánicas se mejorarán mediante procesos de curado y solidificación de la resina. Por último, las propiedades magnéticas se lograrán incorporando partículas de magnetita sintetizadas mediante la técnica de autocombustión en los scaffolds.

## **1. Planteamiento del problema, justificación y objetivos**

En toda la historia de la humanidad han existido diferentes tipos de enfermedades que han limitado la actividad normal del ser humano afectando uno o más sistemas dentro del cuerpo. Existen enfermedades y traumatismos pulmonares, neuronales, hormonales, óseas, entre muchas otras. Cada una de estas enfermedades ha tenido un enfoque de investigación debido a que es necesario batallar contra ellas para evitar grandes pérdidas en la productividad de cada persona. Por ejemplo, cada año en Colombia se reportan más de 72.000 fracturas (vertebras, muñecas, cadera, dentales, etc.) lo cual hace que haya una gran necesidad de atención médica para este tipo de traumatismos [68]. La investigación en este campo se ha enfocado principalmente en encontrar materiales adecuados para reemplazar de forma parcial o total las partes perdidas del hueso, de forma que el material no afecte de manera negativa el crecimiento normal de las células óseas que trabajan en el proceso de regeneración ósea [69]. Debido a la complejidad de los procesos biológicos que actúan en la regeneración ósea, existen diferentes maneras de acercarse a la solución adecuada en cuanto a los materiales a usar para este propósito. Los polímeros son unos de los materiales con mayor uso en la actualidad en la investigación de materiales biocompatibles para la regeneración ósea y los implantes de injertos óseos debido a su amplia gama de propiedades mecánicas, de biocompatibilidad, humectabilidad, flexibilidad, entre otros [70]. Para una adecuada implementación de estos materiales en los procesos de regeneración ósea es importante tener en cuenta aspectos tales como las posibles infecciones, problemas de compatibilidad, afectaciones a la actividad normal de las células, entre otras, por lo cual no solamente basta tener materiales biocompatibles, también es importante empezar a conferirles propiedades bioactivas que permitan al material interactuar de manera continua con el entorno biológico con el objetivo de evitar las infecciones, mejorar la actividad enzimática o proliferativa de las células [71]. Uno de los más grandes retos que tiene el diseño de nuevos materiales es que todas las propiedades deben ser compatibles con el tejido nativo, además de la búsqueda de nuevas propiedades y características que ayuden a dicho tejido a crecer de manera óptima y no atenten contra su funcionamiento normal. De esta manera, se han aplicado campos magnéticos externos para afectar de manera

positiva los cultivos de líneas celulares relacionadas con regeneración ósea [72], sin embargo, no se reporta en la literatura ningún material con propiedades magnéticas intrínsecas que permita obtener el mismo resultado sobre el crecimiento celular.

Los métodos de fabricación de estos materiales son importantes, debido a que no basta con encontrar y diseñar un material adecuado, sino que hay que darle forma para que pueda utilizarse de manera óptima. Debido a la porosidad natural de los tejidos óseos, es importante que se planteen diseños geométricos con poros interconectados importantes para el transporte de nutrientes dentro del tejido [73]. Estos diseños son posibles actualmente gracias a las tecnologías de impresión 3D y manufactura aditiva en general, debido al control numérico por computador (CNC), que permite obtener superficies complejas geométricamente como las superficies triplemente periódicas (TPMS). Por estas razones, no solamente hay que diseñar materiales que puedan utilizarse en la regeneración ósea, sino que también puedan ser utilizados con alguna tecnología de manufactura aditiva con materiales como los polímeros o las resinas fotopolimerizables, los cuales se pueden cargar con otro tipo de materiales de relleno para cambiar las propiedades. En este caso, se puede plantear la adición de rellenos magnéticos que permitan fabricar implantes con propiedades magnéticas que alteren la proliferación celular.

En el presente trabajo, se plantea el desarrollo de Scaffolds (Scaffolds) con propiedades magnéticas, de base polimérica (Resina), con relleno de óxidos de hierro a través de la técnica de estereolitografía de máscara (MSLA), utilizando diseños basados en TPMS, para su potencial aplicación en ingeniería de tejidos y técnicas de regeneración de tejidos óseos.

La investigación alrededor de materiales que puedan ser usados como rellenos en el área de regeneración y reparación ósea es muy importante para un país como Colombia, en el cual se tiene incidencia de enfermedades que comprometen este aspecto de la medicina. La impresión 3D es una tecnología actual, asequible y modificable, que podría ser una alternativa para construir dispositivos implantables de bajo costo y alcanzable para el sistema de salud colombiano, con la ventaja adicional de la personalización que esto puede conllevar. La impresión 3D es una de las pruebas de que el desarrollo tecnológico cada día avanza a pasos más grandes, y que la innovación que traen estos avances tecnológicos para la vida diaria del ser humano tiene el potencial de generar nuevas aplicaciones y materiales para su uso cotidiano. Para la ciencia, la ingeniería y la investigación es muy importante estar a la vanguardia de estos desarrollos tecnológicos e innovaciones. El desarrollo de nuevos materiales, aplicaciones y procesos que involucren estas tecnologías, hará que dichas tecnologías avancen también y mejoren a la par, lo cual crea un

círculo de desarrollo mutuo que es importante mantener. Ahora bien, estas tecnologías hasta el momento están diseñadas para el trabajo con materiales específicos, sin embargo, al generar nuevos materiales, con otros componentes, partículas añadidas, propiedades diferentes, entre otros, se logra que la tecnología también avance con el fin de poder procesar estos nuevos materiales y mejorar aún más su manufactura.

Con este trabajo se pretende lograr obtener una mezcla compuesta de resina-cerámico con óxidos de hierro que pueda ser procesada por medio de estereolitografía de máscara (MSLA) así como encontrar los parámetros adecuados de fabricación de scaffolds de esta mezcla, con posible aplicación para ingeniería de tejidos y técnicas de regeneración de tejidos óseos.

**Objetivo general:** Desarrollar scaffolds compuestos polímero-cerámico con geometría giroide y propiedades magnéticas a partir de estereolitografía (MSLA) para su posible uso en regeneración ósea.

**Objetivos específicos:**

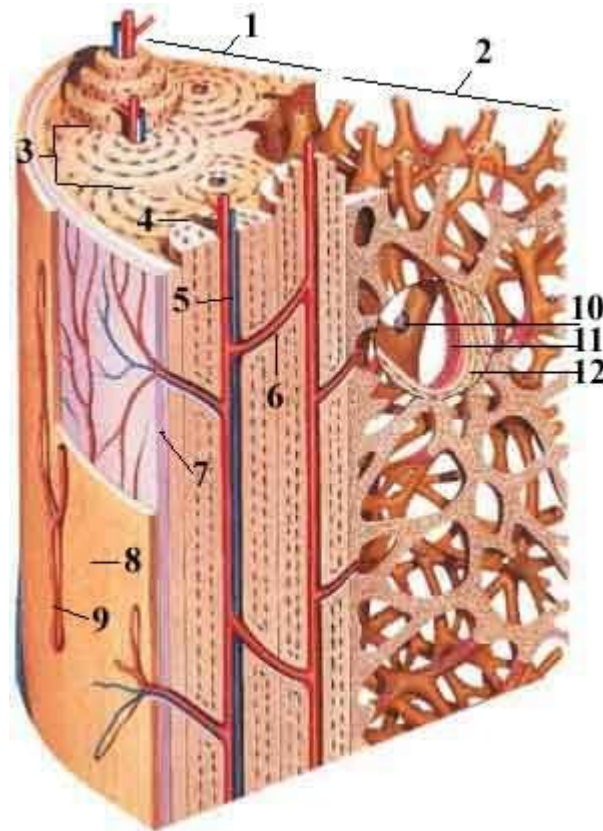
- **OE1.** Aplicar la ruta de combustión en solución para obtener nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro.
- **OE2.** Relacionar las propiedades morfológicas, magnéticas y químicas de los óxidos de hierro obtenidos, con su capacidad para conferir propiedades magnéticas a los scaffolds.
- **OE3.** Diseñar un protocolo para la dispersión de los óxidos de hierro en resina biocompatible a diferentes concentraciones.
- **OE4.** Manipular las herramientas de diseño adecuadas para obtener el código que permita obtener la forma geométrica giroide a partir de la impresión por MSLA.
- **OE5.** Optimizar los parámetros de impresión y postcurado necesarios para obtener scaffolds compuestos polímero-cerámico mediante la técnica de MSLA.
- **OE6.** Evaluar la aplicabilidad de los Scaffolds obtenidos para su utilización en regeneración ósea a la luz de sus propiedades.

## **2. Marco teórico y estado del arte.**

### **2.1 Anatomía, fisiología del tejido y regeneración óseos.**

El tejido óseo cumple diversas funciones vitales en el organismo humano, como proporcionar soporte a los músculos, permitir el movimiento y la locomoción, proteger órganos vitales, albergar médula ósea y regular la homeostasis mineral y funciones endocrinas, como la tolerancia a la glucosa, la sensibilidad a la insulina y los comportamientos cognitivos. Los huesos se clasifican en cuatro tipos según su forma: largos, cortos, planos e irregulares. A nivel macroscópico, el tejido óseo se organiza en hueso esponjoso (o trabecular) y hueso cortical (o compacto), siendo el hueso cortical predominante, constituyendo alrededor del 80% del esqueleto, mientras que el hueso trabecular representa el 20% restante [74]. El hueso cortical es una capa densa que rodea el espacio medular, mientras que el hueso trabecular está formado por placas y barras internas que crean una estructura más porosa y flexible. Una representación gráfica de la composición del hueso se encuentra en la **Figura 2-1**. A nivel microscópico, el hueso cortical presenta unidades estructurales llamadas osteonas, cilindros paralelos al eje longitudinal del hueso, mientras que el hueso trabecular se organiza en trabéculas dispuestas en dirección a las cargas mecánicas. El tejido óseo está compuesto principalmente por colágeno tipo I, mineral de hidroxapatita, proteínas no colágenas y agua, y contiene diversos tipos celulares, como células madre mesenquimales, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos, cada uno con funciones específicas en la formación, mantenimiento y remodelación del hueso [74–76]. Los osteoblastos son responsables de la formación ósea, derivados de células madre mesenquimales, mientras que los osteoclastos son células gigantes encargadas de la resorción ósea, influenciadas por factores reguladores como RANKL y OPG [74]. En conjunto, el tejido óseo exhibe una dinámica continua de remodelación, demostrando su capacidad de regeneración constante y su importancia vital en las funciones esqueléticas y metabólicas del cuerpo humano [74].

**Figura 2-1:** Esquema de una estructura ósea: 1: Hueso cortical, 2: Hueso trabecular, 3: Sistema de Havers, 4: Vaso sanguíneo, 5: Canal de Havers, 6: Canal de Volkmann, 7: Periostio, 8: Revestimiento óseo, 9: Vasos del periostio, 10: Osteoclastos, 11: Osteoblastos, 12: Osteocitos. Tomado de [77].



La regeneración ósea es un proceso fundamental y sofisticado que ocurre de manera natural durante la curación de fracturas y en el continuo remodelado del hueso a lo largo de la vida adulta. Sin embargo, existen condiciones médicas complejas que demandan una regeneración ósea significativa, como en la reconstrucción del esqueleto para abordar grandes defectos óseos provocados por traumatismos, infecciones, resecciones tumorales o anomalías estructurales. También se enfrentan desafíos cuando el proceso regenerativo se ve comprometido, como en casos de necrosis avascular, pseudoartrosis atróficas u osteoporosis [74].

En respuesta a estas situaciones clínicas, se utilizan diversas estrategias para mejorar y potenciar la regeneración ósea. Estas incluyen métodos estándar como los injertos óseos autólogos, los injertos vascularizados de peroné libre, la implantación de aloinjertos, así como el uso de factores de

crecimiento, scaffolds osteoconductores, células osteoprogenitoras y osteogénesis por distracción. Además, se están investigando estrategias locales avanzadas en ingeniería de tejidos y terapia génica, junto con mejoras sistémicas para impulsar la reparación ósea [74–76, 78].

El objetivo es superar las limitaciones de los enfoques actuales y desarrollar sustitutos de injertos óseos que imiten de manera óptima las propiedades biomecánicas del hueso natural. Esta investigación también se dirige hacia la aceleración del proceso de regeneración y el abordaje de condiciones sistémicas como trastornos esqueléticos y osteoporosis. Este campo de estudio está en constante evolución, especialmente con los avances rápidos en biomateriales, nanomedicina y terapias regenerativas. Se anticipa que estos progresos llevarán a soluciones más efectivas y personalizadas para la regeneración ósea en el contexto clínico, mejorando significativamente el tratamiento de pacientes con diversas afecciones ortopédicas y óseas [76].

La regeneración ósea se enfrenta a diversas limitaciones en la actualidad que afectan su efectividad y aplicación en la práctica clínica. Una de las principales restricciones es la ausencia de sustitutos óseos sintéticos que puedan replicar completamente las propiedades biológicas y mecánicas del hueso original. Aunque se han desarrollado varios enfoques como el uso de biomateriales y factores de crecimiento, estos métodos aún no han alcanzado un nivel adecuado de eficacia y seguridad en todos los casos clínicos. Otro desafío importante es la capacidad de estos tratamientos para abordar defectos óseos complejos, especialmente en pacientes con condiciones médicas específicas como osteoporosis o enfermedades autoinmunes. Por último, la variabilidad en las respuestas biológicas de los pacientes a los tratamientos de regeneración ósea puede influir en los resultados clínicos, lo que destaca la necesidad de investigaciones adicionales y el desarrollo de enfoques más personalizados en este campo. En conjunto, estas limitaciones subrayan la importancia de continuar avanzando en la investigación y el desarrollo de terapias innovadoras que puedan superar los desafíos actuales y mejorar los resultados en la regeneración ósea [78].

Los scaffolds utilizados en ingeniería de tejidos para guiar la regeneración ósea, pueden ser mejorados funcionalmente para optimizar sus propiedades. Por ejemplo, recubrir implantes de magnesio con cerámicas bioactivas reduce la liberación de iones de magnesio en el plasma sanguíneo, disminuyendo la tasa de corrosión y mejorando la formación ósea nueva [79]. Un recubrimiento de hidroxapatita biomimética asistida por polidopamina en una aleación de titanio mejora la osteointegración del scaffold y promueve la regeneración ósea en defectos condilares [78]. Además, la incorporación de hierro/manganeso amplifica la promoción osteogénica en scaffolds mineralizados intrafibrilares de colágeno-HA [79]. Para promover la angiogénesis, se han

centrado en la funcionalización de los scaffolds mediante la entrega de moléculas angiogénicas, como iones metálicos y factores de crecimiento. La adición de cobre a scaffolds de vidrio bioactivo mejora la angiogénesis y osteogénesis [79]. El uso de factores de crecimiento como BMPs, TGF $\beta$ , VEGF y PDGF mediante sistemas de entrega local también se perfila como promesa para mejorar la regeneración ósea [79]. Estos enfoques demuestran la importancia de desarrollar tratamientos innovadores para superar las limitaciones actuales en la regeneración ósea. Al diseñar materiales para aplicaciones en regeneración ósea, es crucial considerar una amplia gama de propiedades fundamentales para garantizar su adecuado desempeño y seguridad en el entorno biológico. La biocompatibilidad del material es de suma importancia, ya que asegura que el material sea bien aceptado por el organismo humano sin provocar respuestas inmunológicas adversas ni toxicidad. La porosidad es otro aspecto esencial a tener en cuenta, dado que el material debe imitar las propiedades naturales del hueso, como su capacidad para permitir el intercambio de iones, nutrientes y factores de crecimiento con las células del tejido óseo circundante. Esto ocurre principalmente con huesos trabeculares, los cuales poseen porosidades entre el 55% y 80% del volumen total [80, 81]. Además de la biocompatibilidad y la porosidad, las propiedades mecánicas son críticas para el funcionamiento óptimo del material en aplicaciones de regeneración ósea. Estas propiedades incluyen la resistencia a la compresión, flexión y tensión, el módulo de Young, la dureza y otras características que determinan la capacidad del material para soportar cargas mecánicas y mantener la integridad estructural en el entorno óseo. Algunas de estas propiedades se pueden encontrar en la **Tabla 2-1**. Otras propiedades importantes a considerar en el diseño de materiales para regeneración ósea incluyen la degradabilidad controlada del material, que permite que el implante se degrade gradualmente con el tiempo a medida que el hueso regenerado asume su función; la capacidad de promover la adhesión y proliferación celular, facilitando así la formación de nuevo tejido óseo; y la capacidad de proporcionar soporte temporal o estructural mientras se promueve la remodelación y regeneración del hueso.

**Tabla 2-1:** Listado de propiedades mecánicas de diferentes huesos trabeculares del cuerpo humano. Las condiciones de obtención de las propiedades varían en cada caso y según la referencia citada. Tomado, adaptado y traducido de [82].

Tipo de Hueso	Máximo esfuerzo a compresión (MPa)	Módulo de Young (MPa)	Falla mecánica (lb)	Referencia
Tibia proximal	1.8-63.6	-	-	[83]
	0.2-6.7	-	-	[84]
	1.5-6.7	10-500	-	[85]
	1-13	8-457	-	[86]
	13.8-116.4	4-430	-	[87]
	0.52-11	5-552	-	[88]
Fémur distal	-	413-1516	-	[89]
	2.25-66.2	-	-	[83]
	0.98-22.5	-	-	[90]
	0.56-18.6	7.6-800	-	[88]
Fémur Proximal	-	-	105-382	[91]
	0.21-14.82	-	-	[92]
	0.15-13.5	20.68-965	-	[93]
	120-310	344.7	-	[94]
	0.45-15.6	1000-9800	-	[95]
	2.1-16.2	49-572	-	[88]
Cuerpos Vertebrales	0.34-7.72	-	-	[96]
	0.39-5.98	-	-	[97]
	4.13	-	-	[98]
	0.3-7	1.1-139	-	[84]
	0.06-15	10-428	-	[99]
	-	158-378	-	[100]
	-	15-30	-	[101]
Rótula	-	121.3-580	-	[102]
Tibia distal y astrágalo	5-65	-	-	[87]

Hueso del talón (calcáneo)	0.34-10.34	-	-	[96]
Húmero y radio distal	0.03-6.3	1.1-448	-	[88]
Cresta Iliaca	0.12-8.2	5-282	-	[99]

## 2.2 Diseño de biomateriales.

El diseño de biomateriales es un campo dinámico que desempeña un papel esencial en la búsqueda de soluciones novedosas para diversas problemáticas en el área de la biomedicina. Estos materiales, específicamente concebidos para interactuar de manera segura y eficaz con sistemas biológicos, ofrecen un amplio espectro de oportunidades en áreas como la regeneración de tejido, la ingeniería de órganos y la liberación controlada de fármacos. Al fusionar conocimientos en ciencia de materiales, biología, ingeniería y medicina, se persigue la creación de biomateriales que no solo sean compatibles con el cuerpo humano, sino que también fomenten procesos biológicos favorables, contribuyan a la curación y mejoren la calidad de vida de los pacientes. Un material biocompatible es aquel material que no interactúa de forma negativa con el comportamiento normal del cuerpo humano, o como lo define Anderson “Un material biocompatible es aquel material que puede cumplir un papel determinado en una aplicación específica sin una respuesta negativa por parte del huésped” [103]. Sabiendo esto, se han desarrollado y clasificado diversos tipos de materiales biocompatibles a lo largo de la historia [104–108], entre los que se encuentran algunos polímeros, como el ácido poliláctico (PLA), la policaprolactona (PCL), algunas resinas acrílicas, entre otros [109–111]; materiales cerámicos como compuestos basados en calcio-fosforo (Ca-P), tales como los fosfatos de calcio, la hidroxiapatita [112–115]; metales y aleaciones, como los aceros inoxidables, aleaciones de titanio, cobre, cobalto, magnesio, entre otros [116–120]; y algunos materiales compuestos [121–124].

## 2.3 Biomateriales poliméricos en regeneración ósea.

Algunas de las propiedades que deben ser tenidas en cuenta en el diseño de un biomaterial para la regeneración ósea son la biocompatibilidad, que permite que el material interactúe sin provocar reacciones adversas en el cuerpo, como inflamación o toxicidad; la osteoconductividad, que

permite proporcionar un entorno favorable para el crecimiento de nuevas células óseas; la osteoinductividad, que permite tener la capacidad de inducir la diferenciación de células madre a células óseas; la porosidad, permitiendo la infiltración de células y vasos sanguíneos para promover procesos celulares importantes; la resistencia mecánica, con el fin de soportar las cargas y generar la estabilidad necesaria para el cuerpo; entre muchas otras. Sin embargo, la característica principal y fundamental que deben cumplir los materiales utilizados en esta área es que deben ser materiales biocompatibles. Algunos de los materiales más estudiados y utilizados en el área suelen ser de naturaleza polimérica. Algunos de ellos se listan a continuación: el colágeno, siendo una de las proteínas estructurales más importantes en los tejidos humanos, ha sido altamente estudiado debido a sus propiedades de degradación, biocompatibilidad y funciones biomiméticas. Se ha producido principalmente en forma de hidrogeles por algunas técnicas de impresión por inyectado [125, 126]. Alginato de sodio debido a su alta disponibilidad, buena biocompatibilidad y biodegradabilidad, es un polisacárido extraído de algas marinas, se suele combinar con otras sustancias químicas biocompatibles para formar geles que se imprimen con tecnologías de inyección [127–130]. Quitosano, es un material orgánico utilizado principalmente para mejorar la diferenciación celular de células óseas, es un material en el cual las células óseas se pueden fijar muy bien, se ha utilizado de diferentes maneras, pero una de las principales ha sido en combinación con otros materiales para formar filamentos que se imprimen por medio de tecnologías de extrusión [131–133]. Fibroína, es una macromolécula de fibrina con propiedades excepcionales, se ha utilizado en combinación con gelatinas para formar hidrogeles que son impresos principalmente por tecnologías de inyección [134–137]. Ácido hialurónico, debido a que puede ser unido con diferentes marcadores celulares que controlan la expresión de diferentes proteínas que interfieren en la proliferación y diferenciación de células óseas. [138–141]. Polieterecetona es un material clínico aceptado por la organización de medicamentos y comida de estados unidos utilizado de manera amplia en el seguimiento postoperatorio de lesiones óseas debido a que permite el control de muchos parámetros médicos debido que es penetrable para muchos tipos de radiación, por ejemplo, se puede ver a través de él con rayos X, se utiliza principalmente en combinación con la hidroxiapatita en fabricaciones por filamento fundido [142–145]. Acido poliláctico (PLA) debido a que es el material por excelencia de la impresión 3D por filamento fundido en la tecnología de extrusión, cuenta con propiedades biocompatibles, mecánicas y de degradación adecuadas para servir de soporte al crecimiento celular, la deficiencia que tiene es que no posee por sí solo mecanismos que permitan mejorar el crecimiento celular, por lo que se suele combinar con otros materiales que ayudan a mejorar este aspecto [146–149].

Policaprolactona (PCL), siendo un material con todas las ventajas del PLA pero que cuenta adicionalmente con una baja temperatura de fusión, por lo que se usa principalmente en combinación con agentes biológicos que no pueden ser expuestos a altas temperaturas como extractos naturales, medicinas u otras, se suelen fabricar filamentos para tecnología de extrusión [150, 151]. Resinas fotopolimerizables de las cuales existen muchas opciones biocompatibles, con buenas características mecánicas y debido a que se pueden incorporar otros materiales en su fase líquida, suele ser una opción utilizada para la realización de suspensiones que luego se solidifican y forman un material conjunto con propiedades mejoradas [152], se utiliza la tecnología de impresión 3D basada en estereolitografía; y finalmente, poliamidas, copolímeros de PLA y ácido glucolítico, polímeros conductivos, entre otros.

## **2.4 Resinas acrílicas como biomateriales.**

La historia de la humanidad ha estado acompañada por el descubrimiento y posterior desarrollo de nuevos materiales, siendo estos mismos los que han determinado el transcurso de cada época, recordando así importantes eras de la humanidad, como la edad del hierro, la edad del acero, entre otras. Cada que se ha descubierto un nuevo material, la humanidad se ha enfocado en desarrollarlo y explotarlo en todos los ámbitos posibles. En una época como la actual, en la que la super resistencia de bacterias y la gran cantidad de enfermedades es una problemática mundial, se hace necesario el desarrollo y descubrimiento de materiales biocompatibles adecuados para la utilización de diferentes equipos, medicina o tecnología.

Las resinas acrílicas, por su parte, han sido muy utilizadas en el área de la odontología y la salud dental desde hace algunos años [153], por lo que no es desacertado plantear su uso dentro de ambientes biocompatibles. Estas, como su nombre bien lo detalla, son compuestos químicos poliméricos conformados principalmente de monómeros de acrilato derivados de ácido acrílico [154] los cuales deben cumplir algunos requisitos mínimos para poder ser utilizados en cada una de las aplicaciones.

Por ejemplo, para aplicarlos en regeneración ósea, scaffolds de soporte para crecimiento de células óseas, algunas de las propiedades más importantes del material serán sus propiedades mecánicas, biocompatibles, con buen diseño en transferencia de masa (transporte de metabolitos al alcance de todas las células) y propiedades de degradación adecuadas para la liberación de componentes activos importantes [155, 156]. Dentro de las resinas acrílicas se cuentan aquellas que son

fotopolimerizables, lo cual significa que participan de una reacción de fotopolimerización. La reacción de fotopolimerización sucede cuando la luz incide sobre las resinas, estas pueden absorber directamente la energía proveniente de la luz, la cual participa en la rotura y creación de enlaces químicos entre los monómeros que terminarán en la unión de cadenas pasando de monómeros a polímeros. Sin embargo, en la mayoría de estos casos es necesario un componente adicional que absorba la energía por la resina y luego la transfiera a los enlaces de los monómeros. Este componente es el fotoiniciador, el cual es una molécula química altamente energética, comúnmente compuestos de anillos aromáticos, y sensible a la interacción con luz de longitud de onda en la cual su absorción energética es máxima. Estas longitudes de onda varían dependiendo del fotoiniciador utilizado, sin embargo, en promedio oscilan alrededor de 405 nm. Algunos ejemplos de fotoiniciadores son Ivocerin, que actúa en una longitud de onda de 408 nm, NDP2, en los 417 nm, entre otros [157]. Las resinas fotopolimerizables de composición acrílica se pueden utilizar en conjunto con las técnicas de impresión 3D, para lograr un método de manufactura bastante eficaz, relativamente de bajo costo y con una amplia gama de posibilidades para la fabricación de diferentes tipos de elementos basados en este material.

## **2.5 Diseño de scaffolds.**

Un scaffold es una estructura geométrica específica pensada para servir de soporte a algo más. También conocidos como scaffolds por su traducción del inglés, pueden relacionarse con los scaffolds utilizados en construcción de edificios, que justamente tienen como objetivo soportar la estructura del edificio mientras los demás materiales son depositados para su construcción. En el área de la regeneración ósea, un scaffold es un material estructural de soporte que permite que las células óseas se depositen sobre él, comiencen a captar nutrientes del entorno y a proliferarse y diferenciarse formando hueso en los alrededores. Esta aplicación condiciona de manera directa las propiedades que deben tener los materiales utilizados como scaffolds en el área de regeneración ósea. Ellos deben exhibir biocompatibilidad, es decir, deben ser materiales que no afecten de manera negativa las funciones normales de las células óseas y que en muchos de los casos ayuden a mejorar el crecimiento celular. Así mismo, en cuanto a su comportamiento mecánico, deben poseer propiedades necesarias para soportar el peso que se depositará en la formación del hueso nuevo y además deben soportar los esfuerzos a los que normalmente esté sometido el hueso a reemplazar. Deben cumplir ciertos parámetros de diseño, debido a que las células deben tener acceso continuo a nutrientes para poder crecer de manera adecuada, por lo que el diseño de los

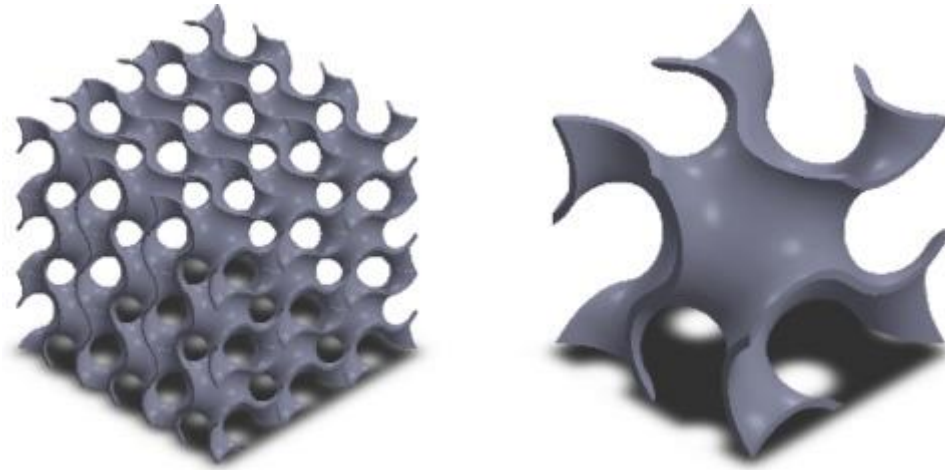
scaffolds debe favorecer dicha accesibilidad por medio de inclusión de un volumen de poros adecuado y que además se encuentren interconectados [52].

Las TPMS (Superficies minimales triplemente periódicas) son estructuras geométricas tridimensionales que exhiben propiedades matemáticas y topológicas únicas. Estas superficies se caracterizan por ser porosas y altamente interconectadas, lo que las hace ideales para aplicaciones en ingeniería de tejidos y regeneración ósea. Las superficies TPMS permiten replicar la complejidad y la porosidad específica de las estructuras óseas, principalmente de los huesos trabeculares, pudiendo así fabricar scaffolds impresos con esta propiedad. Al imprimir scaffolds inspirados en las geometrías de las TPMS, y teniendo en cuenta otras variables importantes en el proceso, se puede lograr un control preciso sobre la estructura porosa del material, pudiendo así optimizar las propiedades mecánicas y biológicas necesarias para favorecer la regeneración y la integración ósea. Esta estrategia de diseño basada en las TPMS ofrece nuevas perspectivas en la ingeniería de tejidos, permitiendo el desarrollo de implantes personalizados y eficaces para la reparación de defectos óseos. Una de las TPMS más estudiadas en este ámbito es la llamada giroide, la cual es una superficie basada en la combinación de curvas basadas en senos y cosenos que ha demostrado resultados prometedores en el área de regeneración ósea, promoviendo la proliferación y adhesión celular por encima de otras estructuras debido a sus superficies curvas e interconectadas, porosidad más abundante, además de exhibir propiedades mecánicas mejoradas [158]. Se han realizado comprobaciones experimentales que demuestran que estas superficies poseen una similitud mayor a la estructura trabecular del hueso y por ende es más propicia para regeneración de hueso trabecular y mejores propiedades mecánicas [159]. Esta superficie puede expresarse matemáticamente mediante la ecuación 2.1:

$$\sin(x) \cos(y) + \sin(y) \cos(z) + \sin(z) \cos(x) = 0 \quad \text{Ecuación 2.1}$$

La **Figura 2-2** exhibe las características geométricas de la TPMS giroide.

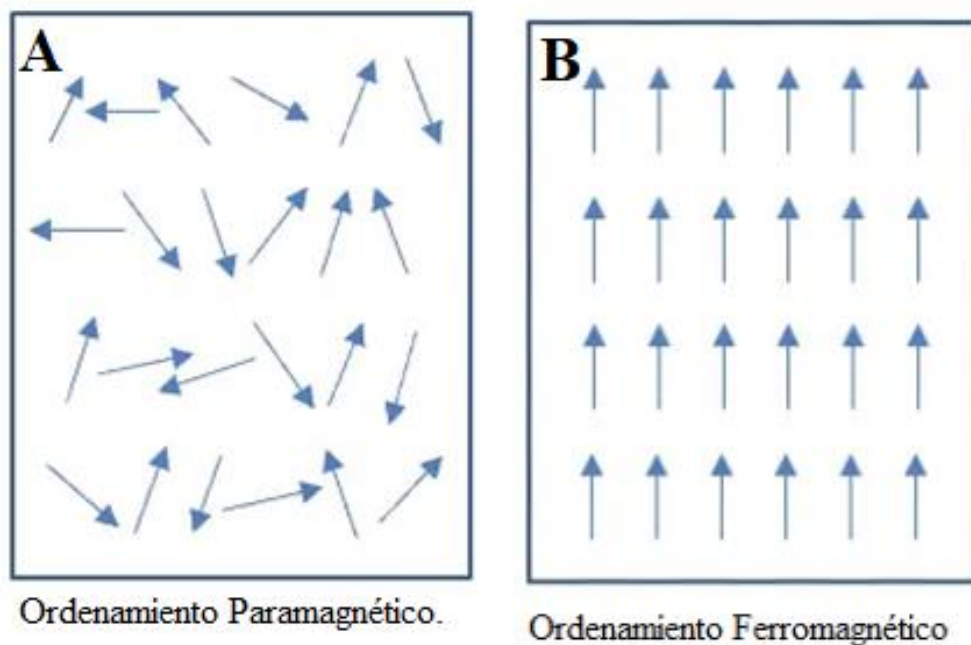
**Figura 2-2:** Superficie TPMS giroide extendida a la izquierda y celda unidad a la derecha. Tomado y adaptado de [160]



## 2.6 Óxidos de hierro.

Los óxidos de hierro son los materiales magnéticos que despiertan mayor interés para la presente investigación. Mezclas de óxido de hierro compuestas principalmente de magnetita, hematita y maghemita presentan propiedades magnéticas evidentes que dependen de su composición. En los materiales magnéticos pueden presentarse algunos comportamientos: diamagnéticos, ferromagnéticos, antiferromagnéticos, ferrimagnéticos, paramagnéticos, superparamagnéticos, entre otros. Los óxidos de hierro magnetita y hematita oscilan entre comportamientos ferromagnéticos y paramagnéticos dependiendo de su relación composicional [161]. Estos comportamientos se definen principalmente como la propiedad de un material para tener sus momentos magnéticos alineados por secciones específicas y por ende almacenar campo magnético. Un material ferromagnético es aquel que tiene sus momentos magnéticos alineados por secciones específicas, mientras que un material paramagnético es aquel capaz de alinearse con un campo magnético externo [162]. Una representación gráfica que suele utilizarse para describir el funcionamiento de los espines magnéticos es el uso de flechas que indican la dirección del campo magnético local en la muestra. A partir de esto pueden entenderse las propiedades magnéticas como se observa en la **Figura 2-3**.

**Figura 2-3:** Ordenamiento de los momentos magnéticos dependiendo de las propiedades magnéticas de los materiales. A. Ordenamiento magnético promedio de un material Paramagnético. B. Ordenamiento magnético promedio de un material Ferromagnético. Tomado y modificado de [163].

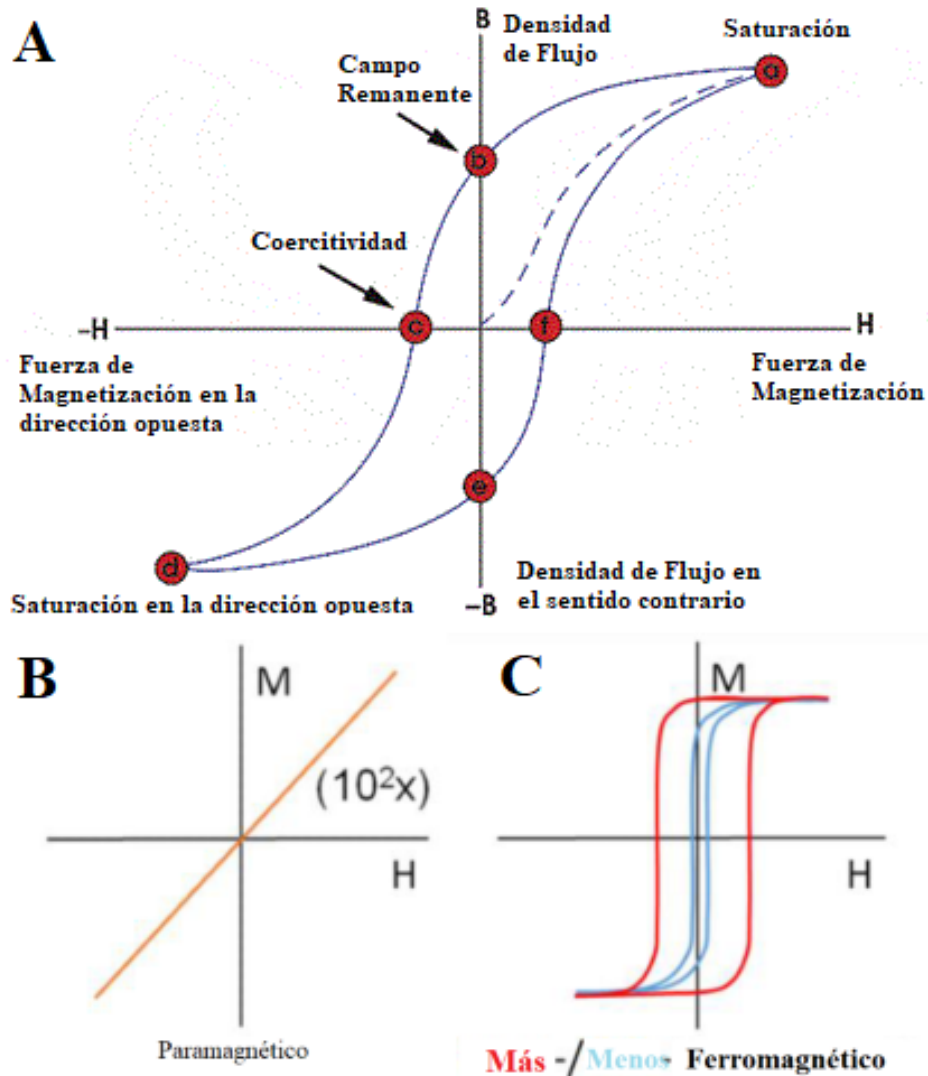


El ordenamiento de los momentos magnéticos solamente son una herramienta didáctica para el entendimiento del fenómeno, no es la manera en la que se suelen caracterizar los materiales magnéticos. Para esta caracterización es importante entender algunas propiedades naturales de los materiales magnéticos tales como la coercitividad, la remanencia y la saturación. La coercitividad se define como el campo magnético al que se debe exponer el material una vez saturado para llevar la magnetización a un valor de cero nuevamente. Es decir, el campo magnético necesario para retirar la magnetización del material. La remanencia es el estado de magnetización que adquiere el material una vez el campo externo se hace cero, manteniendo así una orientación específica de sus espines magnéticos. La saturación es el campo magnético máximo que es capaz de alcanzar el material en cuestión. Para el análisis de cada uno de estos parámetros se obtienen curvas de fuerza de magnetización versus densidad de flujo, llamadas curvas de histéresis, utilizando una técnica de caracterización llamada magnetometría de muestra vibrante, o VSM por sus siglas en inglés. La aplicación de dicha técnica implica una sujeción de la muestra a un soporte elástico que permite

---

que se mueva libremente en dirección vertical. Se aplica una corriente alterna al soporte, lo que provoca que la muestra vibre a una frecuencia específica. Esta vibración es esencial para obtener mediciones precisas y reproducibles. Se aplica un campo magnético externo a la muestra utilizando un electroimán. Este campo puede ser variable en intensidad y dirección. Durante la medición, el campo magnético se aumenta o disminuye gradualmente, y su dirección puede invertirse según sea necesario para obtener información completa sobre las propiedades magnéticas de la muestra. A medida que se aplica el campo magnético, la muestra responde produciendo un flujo de magnetización. Este flujo de magnetización es detectado por un sensor en la bobina electromagnética y se registra como un cambio en la tensión eléctrica o en la corriente inducida en la bobina. Como resultado del ensayo se obtiene una gráfica de la fuerza de magnetización contra el flujo magnético medido. Un ejemplo de cada uno de estos parámetros se muestra en la **Figura 2-4A**. Dependiendo de los valores obtenidos se puede caracterizar el tipo de comportamiento magnético del material utilizado principalmente en dos categorías, materiales paramagnéticos (cuya saturación, remanencia y coercitividad son nulas, lo que hace que el material pase por el origen como una línea recta como se puede observar en la **Figura 2-4B**) y ferromagnéticos (cuyos valores de saturación, remanencia y coercitividad varían según el material, como se puede observar en la **Figura 2-4C**).

**Figura 2-4:** Curva de histéresis emitida en una prueba de VSM. A. Parámetros relevantes de la curva de histéresis de un material magnético. B. Curva de histéresis característica de un material paramagnético. C. Curva de histéresis característica de un material ferromagnético. Tomado, modificado y traducido de [164].

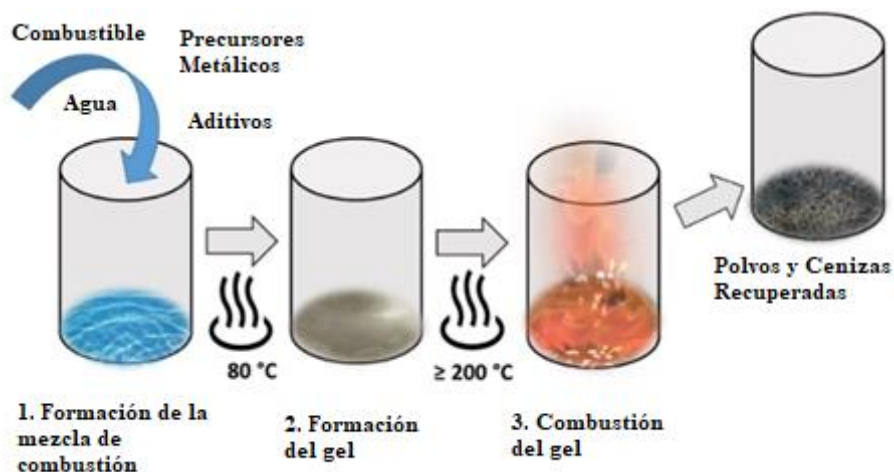


## 2.7 Síntesis de materiales magnéticos. Combustión en solución.

Uno de los retos más importantes a enfrentar cuando se buscan nuevos materiales o se planean obtener materiales ya conocidos es la metodología para obtenerlos. Existen diferentes formas de obtener materiales. Se pueden mencionar entre otros, la explotación directa y posterior beneficio

característico de los procesos de minería; procesos físicos, como la fotopolimerización UV, ablación laser, mecanizado, mezcla; procesos químicos o rutas de síntesis como rutas hidrotermales, coprecipitaciones, combustión; y obtención biológica utilizando organismos que producen materiales específicos.

Una de las rutas más estudiadas actualmente y más prometedoras para la obtención de nuevos materiales es la ruta de combustión en solución (SCS), cuyos pasos se resumen en la **Figura 2-5**. Esta ruta ha demostrado ser más sustentable, amigable con el medio ambiente, económica, sencilla procedimentalmente, rápida, precisa y reproducible [165]. Consiste principalmente en una reacción exotérmica de tipo óxido-reducción que involucra diversos elementos característicos: Precursores o agentes oxidantes, uno o varios combustibles que participan en la reacción como agentes reductores, un comburente como el oxígeno molecular, un solvente en el cual la reacción ocurre, comúnmente el agua, y agentes especiales que pueden añadirse a la reacción para modificar parámetros como el pH de la solución, la solubilidad de los precursores, entre otros. La ruta de síntesis se resume en cuatro pasos fundamentales: mezcla de todos los reactivos (agentes reductores, oxidantes y solventes), etapa de suministro de energía y evaporación del solvente; posterior formación de gel (etapa gel) y por último la combustión. Los parámetros físicos y de energía necesarios para llevar a cabo esta reacción son muy simples: agitación para mantener la homogeneidad de la solución, calor para asegurar que haya una formación de gel gracias a la evaporación del solvente, y un recipiente que pueda soportar las temperaturas alcanzadas por la combustión. Por este método se han obtenido por ejemplo algunos óxidos de hierro como la magnetita y la hematita, principales materiales de este estudio.

**Figura 2-5:** Pasos de la reacción de combustión. Tomado, adaptado y traducido de [165].

A continuación, se detallarán las características de cada uno de los componentes de la síntesis.

### 2.7.1 Precursores o agentes oxidantes.

Los precursores más comunes utilizados en las rutas de combustión en solución son sales de cationes metálicos e iones nitrato hidratados que se ajustan a la fórmula  $Me^{+e}_1(NO_3)^{-1}_e * xH_2O$ . Algunos ejemplos de estas sales son el nitrato de plata  $Ag(NO_3)$ , el nitrato de magnesio  $Mg(NO_3)_2$ , entre otros. Las sales de nitrato generan gases como dióxido de carbono  $CO_2$ , dióxido de nitrógeno  $NO_2$  y vapor de agua  $H_2O$ , las cuales son compatibles con los combustibles que se usan en las reacciones y los procesos de oxido-reducción que se ocasionan en él. Además, los iones de nitrato al ser aniones tienen un poder oxidante mayor, son más solubles en agua y su temperatura de degradación es mucho menor, por lo cual hacen que la reacción ocurra en menor tiempo. Sin embargo, estos precursores también pueden tener poder reductor o ser neutros, siendo estos menos deseables [166]. Los precursores se pueden clasificar desde varias perspectivas. De acuerdo con el rol del metal catiónico en función del anión que lo acompaña en: aniones oxidantes, reductores o neutros; de acuerdo con el origen del metal en: comerciales, naturales o derivados de desechos; de acuerdo con la solubilidad, en solubles e insolubles; de acuerdo con su habilidad para participar como agente estructurante junto al combustible, en específicos y no específicos y por último, de acuerdo con el estado de oxidación del metal, en: cationes con el mismo estado de oxidación que el producto, o cationes con diferente estado de oxidación [165].

### 2.7.2 Combustibles o agentes reductores.

Toda sustancia orgánica que pueda reaccionar con un agente oxidante por medio de una reacción de combustión, puede considerarse un combustible [165]. Generalmente son compuestos con contenido de carbono, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno, que al degradarse forman gases  $CO_2$ ,  $NO_2$  y vapor de agua. Entre algunos de los más utilizados se encuentran la glicina, el ácido 6-aminoexanoico, el ácido cítrico, entre otros. El papel fundamental del combustible es participar como un molde microestructural, dando así los parámetros principales de la formación geométrica de las partículas obtenidas; actuar como agente quelante y modular la temperatura de la reacción. Los combustibles se pueden clasificar de diferentes maneras: de acuerdo con el grupo funcional, se clasifican en: carboxílicos, hidroxilados, aminos o diversos; de acuerdo con el origen del combustible, se clasifican en: comerciales, naturales o derivados de desechos; de acuerdo con la solubilidad, se clasifican en: solubles e insolubles; de acuerdo con su pureza, se clasifican en combustibles puros o combustibles combinados; de acuerdo con sus unidades constituyentes, se clasifican en: moleculares o poliméricos; de acuerdo con su capacidad para la organización: moldes microestructurales normales o especiales y por último, de acuerdo con su poder de reducción, se pueden clasificar en bajos o altos [165].

### 2.7.3 Parámetro $\Phi$ de combustión o relación combustible/oxidante.

Es una relación estequiométrica entre los combustibles y los precursores. Es el parámetro más importante en la ruta de combustión. Está definido como sigue en la ecuación 2.2:

$$\Phi = \frac{(-1) \sum (\text{Coeficientes elementos reductores} * \text{valencias})}{\sum (\text{Coeficientes elementos oxidantes} * \text{valencias})} \quad \text{Ecuación 2.2}$$

La gran ventaja de este parámetro es que permite calcular, sin necesidad de conocer la estequiometría de la reacción completa, la cantidad de combustible que se debe utilizar. Para un  $\Phi$  igual a 1, la relación será estequiométrica. Sin embargo, no siempre es deseable que el combustible esté en relación estequiométrica dentro de la reacción. A veces se desea que la generación de gases, o la energía entregada al sistema se pueda variar, y esto se logra cambiando la relación de combustible añadido a la reacción. Dependiendo de esto se pueden obtener efectos muy

interesantes sobre los materiales obtenidos, Deganello define cinco categorías para tomar esta decisión:

- **Reacción de combustión con deficiencia extrema de combustible:** Se presenta llama muy escasa, principalmente con presencia de gases. Se recomienda cuando la estabilidad térmica del producto es baja. Sin embargo, no es recomendable debido a la formación de gases tóxicos ( $NO_x$ ). Se define para  $\Phi \ll 1$ .
- **Reacción de combustión con deficiencia de combustible:** Se obtienen polvos más porosos con agregados suaves y propiedades mejores. Se define para  $\Phi < 1$ .
- **Reacción de combustión estequiométrica:** Se da de manera auto propagante de manera violenta, la flama tarda unos 3-5 segundos y las temperaturas pueden alcanzar valores de  $1800^\circ\text{C}$  o más. Se forman aglomerados duros. Se define para  $\Phi = 1$ .
- **Reacción de combustión con exceso de combustible:** Es similar a la estequiométrica, reduce la violencia de la reacción, por lo que es recomendable para algunos precursores. Se define para  $\Phi > 1$ .
- **Reacción de combustión con exceso extremo de combustible:** Se da una descomposición del gel sin llama. Los productos obtenidos necesitan ser calcinados después de la reacción debido a impurezas de carbono. No es recomendable debido a formación de gases tóxicos ( $CO$ ) en los gases generados. Se define para  $\Phi \gg 1$

#### 2.7.4 pH.

Existen otros parámetros importantes que pueden afectar la reacción de combustión, entre los que se encuentra el efecto del pH. Este efecto es primordial debido a que el grado de disociación de los iones constituyentes depende principalmente de este parámetro. Es importante ajustar el pH de la solución de tal forma que las sales utilizadas y los combustibles sean completamente solubles.

## 2.8 Propiedades magnéticas y sus efectos en el tejido óseo.

Las propiedades magnéticas de los materiales desempeñan un papel fundamental en la regeneración ósea, donde la coercitividad, el campo remanente y la saturación del campo magnético son aspectos estratégicos [66]. Estos atributos influyen en la capacidad de los biomateriales magnéticos para mantener su magnetización en presencia de campos externos, lo que

garantiza la estabilidad de los implantes magnéticos. Asimismo, la coercitividad, medida de la resistencia de un material a la desmagnetización, afecta la capacidad del implante para mantener su magnetización, mientras que el campo remanente, que es la magnetización residual, puede contribuir a la retención de factores de crecimiento en el sitio de la lesión [64]. Por otro lado, la magnetización alcanzable por el material, puede influir en la capacidad del biomaterial para generar fuerzas de tracción y compresión en el tejido circundante, favoreciendo así la consolidación ósea y la integración del implante [63] debido a que entre mayor sea la saturación del material, mayor fuerza magnética se podrá alcanzar sobre el tejido óseo. En conjunto, estas propiedades magnéticas ofrecen un marco sólido para el diseño y la optimización de biomateriales magnéticos con aplicaciones específicas en la regeneración ósea, lo que abre nuevas posibilidades para el desarrollo de tratamientos más efectivos y personalizados para lesiones óseas y trastornos relacionados [64–67]. Además, la incorporación de propiedades magnéticas en biomateriales permite influir positivamente en los procesos biológicos, como la migración, proliferación y diferenciación celular, lo que puede ser especialmente beneficioso en la reparación de fracturas y la regeneración de tejido óseo dañado [167]. Por ejemplo, se ha demostrado que con nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro como la magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) en matrices de PLLA/PGA con saturación magnética de 6 emu/g y coercitividad y remanencia casi nula (propiedad superparamagnética), además de presencia de imanes para magnetizar las muestras, se logró hasta el doble de actividad enzimática de ALP, marcador importante para la regeneración ósea [168]. Por otro lado, con la utilización de magnetita con saturación de aproximadamente 70 emu/g y PCL, se han logrado deposiciones de calcio de hasta 5 veces más que en PCL puro, indicando así que la presencia de la magnetita afecta los mecanismos de deposición de calcio que están directamente relacionados con la regeneración ósea y la proliferación celular [169]. Los campos magnéticos externos aplicados del orden de decenas hasta centenas de militeslas (mT) pueden modular la actividad celular y promover la diferenciación hacia células osteogénicas, contribuyendo así al proceso de curación [168, 169]. Adicionalmente, los biomateriales magnéticos actúan como vehículos para la entrega controlada de factores de crecimiento y agentes terapéuticos, lo que permite una liberación localizada y precisa de estos compuestos en el sitio de la lesión, optimizando su eficacia y reduciendo los efectos secundarios no deseados [167, 170, 171]. Además, la interacción entre los biomateriales y los campos magnéticos externos tanto estáticos como pulsados mejora la integración y estabilidad de los implantes óseos, facilitando su colocación precisa y mejorando su fijación inicial en el sitio de la lesión. En resumen, la combinación de propiedades magnéticas y su influencia en los procesos biológicos proporciona un enfoque

innovador y prometedor para mejorar la regeneración ósea, abriendo nuevas perspectivas en la medicina regenerativa y ofreciendo la posibilidad de desarrollar tratamientos más efectivos y personalizados para la reparación de tejidos óseos dañados [172, 173]. La comparación entre los efectos de campos magnéticos externos e internos en las células revela diferencias significativas en sus respuestas biológicas y sus aplicaciones potenciales en medicina regenerativa. Por otro lado, la introducción de materiales magnéticos directamente en las células permite una manipulación más precisa y controlada de su entorno intracelular, lo que puede influir en procesos biológicos más específicos, como la señalización intracelular y la expresión génica. Sin embargo, esta técnica plantea desafíos adicionales, como la necesidad de garantizar la biocompatibilidad y la entrega efectiva de los materiales magnéticos a las células objetivo, por lo cual no existen muchos estudios relacionados a este tipo de aplicación. En conjunto, ambas estrategias ofrecen herramientas poderosas para la manipulación y el direccionamiento de procesos celulares con aplicaciones potenciales en medicina regenerativa, aunque cada una presenta ventajas y consideraciones únicas que deben tenerse en cuenta en su aplicación práctica [56, 167, 170, 173].

## **2.9 Manufactura aditiva.**

La manufactura aditiva, también conocida como impresión 3D, es un proceso revolucionario en la fabricación que se centra en la construcción de objetos tridimensionales mediante la adición sucesiva de material. A diferencia de las técnicas sustractivas tradicionales, como el torneado o el fresado, donde el material se elimina de un bloque sólido para crear la forma deseada, la manufactura aditiva construye objetos capa por capa a partir de modelos digitales, lo que permite una mayor libertad de diseño y la capacidad de crear geometrías complejas con menos desperdicio de material. Los parámetros de diseño en la manufactura aditiva son críticos para garantizar la calidad y la integridad de las piezas impresas. Estos parámetros incluyen la resolución de capa (espesor de cada capa depositada), la densidad y el tipo de material utilizado, la orientación de las capas para optimizar la resistencia y la apariencia de la pieza, así como otros factores relacionados con la precisión dimensional y la calidad superficial. Las tecnologías de impresión 3D que más se están utilizando en la actualidad son principalmente tres: extrusión de filamento fundido (FDM); tecnologías de curado de resinas incluyendo la estereolitografía (SLA), el procesamiento digital de luz (DLP) y estereolitografía por matriz (MSLA); y tecnologías de inyección de pastas y geles. También se cuentan con algunas técnicas adicionales no tan conocidas, pero también utilizadas en el ámbito investigativo las cuales son: escritura por tinta directa (DIW); sinterización por láser

selectivo (SLS); fusión selectiva por láser (SLM). Todas estas tecnologías tienen sus elementos diferenciadores, ventajas y desventajas. La razón para elegir una técnica u otra se podrá basar principalmente en los materiales seleccionados (polímeros termoplásticos, mezclas de polímeros con cerámicos, polímeros foto curables), la morfología del material (filamento, pasta, líquido o polvo), la precisión necesaria para la aplicación en cuestión, las estrategias de dispersión de los materiales añadidos, entre otros.

En las técnicas por FDM se suelen utilizar materiales termoplásticos en forma de filamentos. Sin embargo, esta tecnología tiene poca precisión debido a las limitaciones de las boquillas utilizadas para hacer fluir los filamentos construidos. Se pueden añadir materiales de relleno por medio de disolución con solventes o mezcla por fusión (fundir el polímero, añadiendo el material en su estado líquido). Es una tecnología simple de utilizar, se puede realizar producción a gran escala, es de bajo costo y es la tecnología de uso más común dentro de las tecnologías de manufactura aditiva, por lo que el conocimiento existente es una ventaja indudable. Sin embargo, suele necesitar la inclusión de soportes en los procesos de fabricación, las boquillas pueden presentar atascos y los tamaños de poros están limitados por la precisión de la maquina [174–178]. Por su parte, las técnicas de estereolitografía (SLA, MSLA y DLP) utilizan polímeros fotopolimerizables en estado líquido, también conocidos como resinas, y son tecnologías de alta precisión con acabados suaves, lisos, calidades altas, posibilidad de fabricación de piezas complejas y con la ventaja de que, en el proceso, al llevarse a cabo con luz UV, la mayor parte de microorganismos presentes serán esterilizados. Se pueden utilizar técnicas de mezclado tales como sonicación o cizalla para añadir material particulado a las resinas líquidas. La mayor desventaja de esta tecnología son los extensivos posttratamientos necesarios para asegurar un foto-curado preciso para cada pieza obtenida, y la inestabilidad de las resinas para ser almacenadas de manera indefinida [176, 179–183]. En el caso de utilizar materiales en polvo como materia prima, las tecnologías más recomendadas son la SLS y la SLM que utilizan metodologías de mezclado por fusión para añadir otros materiales particulados a la materia prima. Se suelen obtener las mejores propiedades mecánicas, densidades y no se necesitan soportes para la impresión, sin embargo se alcanzan temperaturas muy altas que pueden degradar muchos de los compuestos que se desean utilizar en diversas investigaciones [176], [184–188]. Por último, si se desea trabajar con biotintas o geles lo más recomendable es trabajar con tecnologías DIW [176].

### **2.9.1 Proceso de producción de piezas por medio de la manufactura aditiva.**

En el ámbito de la manufactura aditiva, se siguen una serie de pasos esenciales para la fabricación de una pieza específica como se puede observar en la **Figura 2-6**. El primer paso implica la creación o la obtención de un modelo digital tridimensional que servirá como base para la construcción de la pieza. Si se busca un objeto ya diseñado, existen plataformas especializadas en distribuir archivos de este tipo, como Thingiverse®, Cults3D®, yepi®, entre otras. Estos modelos digitales suelen presentarse en uno de dos formatos principales: el formato .obj, que contiene información detallada y geométrica del objeto, pero requiere un proceso adicional de corte (slicing) antes de la impresión; y el formato .stl, que almacena el objeto "cortado" por capas y está listo para la impresión directa [189, 190].

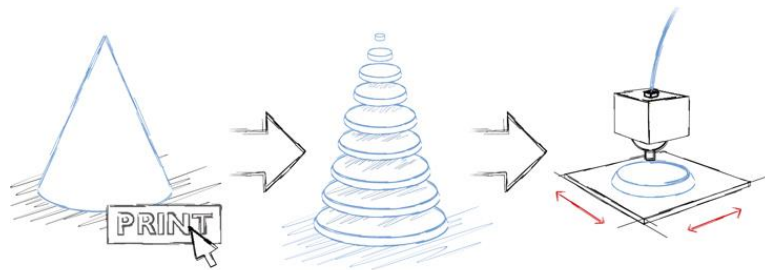
Si se necesita diseñar el objeto desde cero, se utilizan programas de modelado 3D como Sketchup®, Inventor®, Solid Edge®, Fusión 360®, Blender®, entre otros. Una vez diseñado, el archivo se exporta en formato .stl para la preparación de la impresión 3D.

Una vez se cuenta con el modelo listo para imprimir, se emplean programas de procesamiento específicos para la impresión 3D, como Cura®, PrusaSlicer®, Chitubox®, entre otros. Estos programas permiten ajustar parámetros críticos para cada técnica de manufactura aditiva, como velocidades de impresión, precisión, tiempo de procesamiento y calidad. La configuración de estos parámetros es crucial antes de iniciar la impresión [191, 192].

Tras completar esta fase de preparación, el software genera un archivo .gcode que contiene las instrucciones detalladas que la impresora 3D seguirá durante el proceso de impresión. Luego, se procede a preparar los materiales necesarios y a configurar la máquina de impresión de acuerdo con la tecnología específica a utilizar.

Finalmente, se inicia el proceso de impresión 3D, durante el cual la máquina construye la pieza capa por capa según las instrucciones del archivo .gcode. Una vez impresas, las piezas se recolectan y se someten a procesos de post-procesamiento para obtener el acabado y la calidad deseados. Este proceso completo garantiza la fabricación precisa y eficiente de objetos tridimensionales mediante la manufactura aditiva [189, 190].

**Figura 2-6:** Esquema gráfico del proceso de impresión 3D para FDM. Tomado y adaptado de [193]

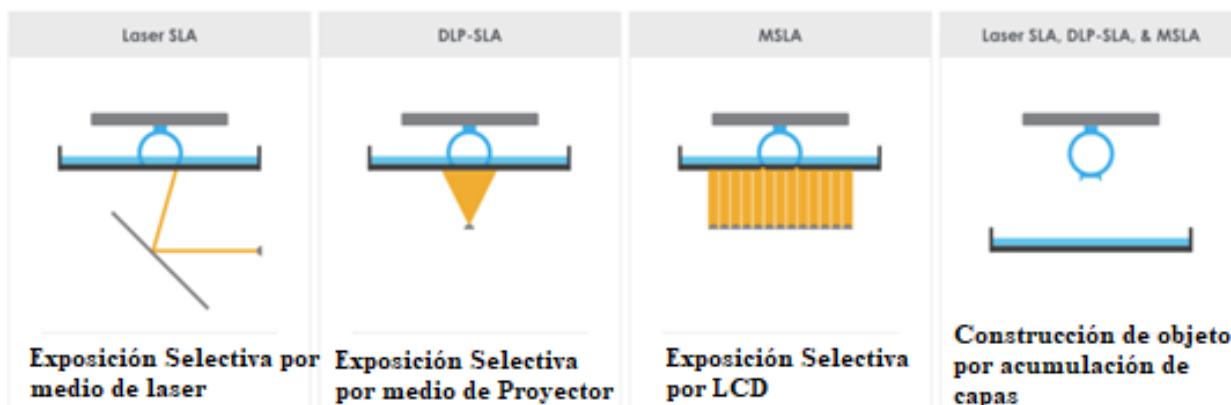


## 2.10 Estereolitografía y sus tipos.

La estereolitografía tiene principalmente tres componentes fundamentales: un material fotopolimerizable como las resinas, una fuente de luz ultravioleta que puede ser un láser estático o móvil, una fuente de luz redirigida por medio de un espejo móvil o una pantalla LCD y un sistema de control numérico de posicionamiento [194]. En el caso de la tecnología MSLA se parte de una pantalla LCD en la cual se solidifica cada capa usando “máscaras” (imágenes compuestas de zonas de luz, y zonas de oscuridad) de una precisión específica, solidificando así solo una parte del volumen total, utilizando un arreglo matricial de LEDs [195]. Otra variante muy utilizada es la tecnología DLP, la cual genera también máscaras, pero la fuente de luz no es una matriz de LEDs, sino una única fuente de luz, la cual se proyecta sobre una pantalla por medio de espejos. La diferencia entre cada una de estas técnicas, las cuales serán las principales utilizadas en este proyecto, se muestran en la **Figura 2-7** [194]. La impresión 3D de resina posibilita la opción de incluir partículas en los cuerpos impresos puesto que se parte de una resina líquida, en la cual se puede dispersar el material particulado. El sistema de formación de capas funciona con un sistema de posicionamiento por CNC de un solo eje (en este caso eje z) en el cual la plataforma de manera inicial se ubica a una altura de capa definida, normalmente de 50  $\mu\text{m}$  por encima de la pantalla y la resina, la cual está contenida en un recipiente de teflón que permite el paso de la luz hacia la resina [196]. De esta manera, la pantalla se enciende con la máscara programada, solidificando así solamente la resina en esa área, y haciendo que se pegue de la plataforma de impresión 3D. Una vez terminado el tiempo de exposición de la luz, la plataforma se alza, y se reubica en la posición de la siguiente capa, encendiendo de nuevo la máscara de luz con la siguiente capa hasta finalizar el modelo. En este proceso de impresión los parámetros más importantes son el número de capas que tendrán mayor tiempo de exposición, a las cuales se puede llamar capas de adhesión, la altura de cada capa, el tiempo de exposición para las capas de adhesión y el tiempo de exposición para el

resto de las capas. Así mismo son importantes las velocidades de movimiento de la maquina en el eje z.

**Figura 2-7:** Diferentes tecnologías de formación de objetos por impresión 3D de estereolitografía. Tomado y traducido de [197].



## 2.11 Parámetros importantes en la estereolitografía.

Para garantizar resultados óptimos en el proceso de estereolitografía, es crucial comprender y controlar una serie de parámetros clave [198]. En este contexto, se identifican varios factores fundamentales que influyen en la calidad, precisión y eficiencia de la impresión. El tipo de resina utilizada (MR) desempeña un papel fundamental en el proceso, al igual que la longitud de onda de la luz (LOL) y la potencia de la fuente de luz (PL), que afectan la velocidad de curado y la calidad superficial de las piezas impresas [198]. La viscosidad y la reactividad química de la resina también son aspectos importantes para considerar, ya que influyen en la fluidez del material y en su capacidad para polimerizarse de manera eficiente. Además, la selección adecuada de aditivos, como fotoiniciadores y pigmentos, puede mejorar las propiedades mecánicas y estéticas de las piezas impresas. La velocidad de elevación (VE) y el espesor de capa (EC) son determinantes en la adhesión entre capas y la precisión dimensional de las piezas. Una velocidad de elevación demasiado rápida puede afectar la calidad de la superficie, mientras que un espesor de capa inadecuado puede resultar en una falta de detalle o en problemas de adherencia entre capas. La orientación de las piezas en la plataforma de construcción también puede influir en la calidad y resistencia de estas, así como en el tiempo de impresión [198]. El tiempo de exposición (TE) de cada capa de resina a la luz ultravioleta o láser es crucial para la polimerización y la resistencia

final de las piezas. Un tiempo de exposición insuficiente puede resultar en piezas mal curadas, mientras que un tiempo excesivo puede provocar deformaciones o fragilidad. La temperatura a la cual se mantiene la resina (TR) durante el proceso de impresión afecta su viscosidad y fluidez, así como la velocidad de polimerización. Un control preciso de la temperatura es esencial para garantizar resultados consistentes y evitar problemas como el exceso de resina o la formación de burbujas. Además de los parámetros mencionados, otros aspectos como la humedad y la temperatura ambiente pueden afectar el proceso de impresión y la calidad de las piezas. La humedad ambiental puede causar problemas de adherencia entre capas o incluso afectar la reactividad química de la resina. Por otro lado, la temperatura ambiente puede influir en la viscosidad de la resina y en la velocidad de curado [198]. El postprocesamiento (PP), que incluye el lavado, el curado y el acabado de las piezas impresas, es esencial para mejorar su resistencia y apariencia final. El lavado adecuado de las piezas para eliminar los residuos de resina no polimerizada es crucial para evitar la fragilidad y garantizar una curación completa. El curado mediante exposición a luz ultravioleta o calor es necesario para mejorar la resistencia y estabilidad dimensional de las piezas impresas. Finalmente, el acabado superficial mediante lijado, pulido o recubrimientos protectores puede mejorar la apariencia estética y la durabilidad de las piezas.

La etapa de postprocesado en la impresión 3D por resina o estereolitografía es un componente crucial para garantizar la calidad, la resistencia y la apariencia final de las piezas impresas [199]. Durante esta fase, varios parámetros deben ser considerados meticulosamente para lograr resultados óptimos. En primer lugar, el lavado de las piezas impresas (LP) es fundamental para eliminar los residuos de resina no polimerizada, lo que puede afectar negativamente la resistencia y la estabilidad dimensional de las piezas. La duración y la metodología del lavado deben ser cuidadosamente ajustadas para garantizar una limpieza completa sin comprometer la integridad de las piezas. Posteriormente, el curado de las piezas (CP) es esencial para mejorar su resistencia mecánica y su estabilidad dimensional. Este proceso implica la exposición de las piezas a luz ultravioleta o calor controlado, lo que promueve una polimerización completa y uniforme de la resina. La duración y la intensidad del curado deben ser ajustadas de acuerdo con las especificaciones del material utilizado y las características deseadas de las piezas. Además, el acabado superficial de las piezas (ASP) es una etapa crucial para mejorar su apariencia estética y su funcionalidad. Esto puede incluir técnicas como lijado, pulido, pintura o recubrimientos protectores, que pueden ayudar a suavizar imperfecciones, eliminar líneas de impresión visibles y proporcionar protección contra factores ambientales. La selección adecuada de métodos y materiales de acabado es fundamental para lograr los resultados deseados. Finalmente, la

inspección y el control de calidad (ICQ) son pasos esenciales para verificar la precisión dimensional, la integridad estructural y la conformidad con los requisitos de diseño de las piezas impresas. Esto puede implicar la utilización de herramientas de medición, inspección visual y pruebas de rendimiento para garantizar que las piezas cumplan con los estándares establecidos. En resumen, la etapa de postprocesado en la impresión 3D por resina o estereolitografía requiere una atención meticulosa a una variedad de parámetros para garantizar resultados de alta calidad y funcionales, contribuyendo así al éxito de la fabricación aditiva en una amplia gama de aplicaciones industriales y comerciales.

## **2.12 Reología, mezclas y suspensiones.**

Los fluidos se dividen comúnmente en dos categorías principales: newtonianos y no newtonianos. Mientras que los fluidos newtonianos, como el agua y el aceite, siguen la ley de viscosidad de Newton y mantienen una viscosidad constante independientemente de las fuerzas aplicadas o las condiciones externas, los fluidos no newtonianos, como ciertos fluidos poliméricos y orgánicos, muestran una viscosidad que varía en respuesta a la fuerza aplicada o la velocidad de deformación. [200] Estos últimos pueden clasificarse en subtipos como fluidos pseudoplásticos y dilatantes, entre otros. Sin embargo, vale la pena destacar que, a pesar de que las resinas comúnmente se clasifican como fluidos no newtonianos, es posible modificar sus propiedades y hacerlas más similares a las de un fluido newtoniano [201]. Esto es particularmente relevante en el contexto de la manufactura aditiva, donde la impresión 3D con fluidos no newtonianos presenta una serie de complicaciones. Por ejemplo, el control del flujo durante el proceso de impresión puede ser difícil, lo que puede resultar en una deposición inconsistente del material y, en última instancia, afectar la calidad y la precisión de la impresión final. Además, pueden surgir complicaciones durante el curado, ya que algunos líquidos no newtonianos pueden experimentar cambios de viscosidad cuando se exponen a ciertas condiciones como la luz, lo que puede provocar problemas de solidificación impredecibles. Por otro lado, existe la posibilidad de obstrucciones en el sistema de impresión, ya que los fluidos más viscosos pueden causar atascos en la plataforma diseñada para manejar fluidos con una viscosidad diferente. Por lo tanto, se requiere un ajuste cuidadoso de cada parámetro de impresión utilizado para garantizar un proceso fluido y preciso [202]. Existen diferentes formas de modificar las propiedades generales de un material realizando mezclas controladas con otros materiales de propiedades distintas. Es posible modificar el material final buscando mejorar las propiedades mecánicas, ópticas, eléctricas, magnéticas con el fin de realizar

aplicaciones específicas para cada una de estas propiedades. Una de las aplicaciones más trabajadas actualmente es la modificación de resinas fotopolimerizables por medio de rellenos que permitan disminuir la contracción natural debida a los cambios de distancia atómica de los monómeros libres al interconectarse. En este caso se han utilizado cristales de sulfato de calcio en forma de filamentos para estabilizar mecánicamente la contracción de las resinas fotopolimerizables [203]. Por otro lado, se ha buscado mejorar las propiedades mecánicas generales de las resinas utilizando rellenos de circona con el fin de obtener materiales más resistentes a la compresión y con módulos de Young específicos para cada aplicación [204]. Uno de los factores que más influye sobre la calidad de la impresión 3D por estereolitografía ha sido la afectación a la viscosidad al agregar ciertas mezclas. Por esto ha sido de vital importancia estudiar y controlar parámetros como cantidad de relleno utilizado, tipo de partícula, forma de partícula entre otros [205]. La adición de nanotubos de carbono en conjunto con aleaciones particuladas de plata y cobre han logrado crear estructuras impresas por estereolitografía con resinas fotopolimerizables que poseen propiedades de conductividad eléctrica [206]. El proceso de dispersión de partículas (sólidos) en líquidos se da principalmente en tres pasos: Adición de la fase sólida o mojado, dispersión por medio de un mecanismo de mezcla y estabilización de la suspensión obtenida. La velocidad de penetración de la fase sólida se puede expresar, bajo condiciones simplificadas, por la ecuación 2.3 (Ecuación de Washburn [207]).

$$v = \frac{dl}{dt} = \frac{r}{2l\eta} * \gamma \cos \Theta \quad \text{Ecuación 2.3}$$

En donde  $v$  es la velocidad de penetración,  $l$  es la profundidad de penetración,  $t$  el tiempo,  $r$  el radio capilar,  $\eta$  la viscosidad del líquido utilizado,  $\gamma$  la tensión superficial de la fase líquida, y  $\Theta$  el ángulo de contacto. Como se puede observar, la influencia de la viscosidad es fundamental al evaluar la estabilidad de la dispersión, puesto que a medida que la viscosidad aumenta, es más fácil mantener las partículas en suspensión, puesto que la velocidad de penetración del líquido en las partículas será menor [208]. Sin embargo, también hay que tener en cuenta que la viscosidad puede ser también no adecuada para el proceso de impresión 3D, por lo que es necesario encontrar un punto óptimo para la viscosidad, que por un lado mantenga las partículas en suspensión sin detrimento de la capacidad de impresión.

### 3. Metodología

#### 3.1 Obtención y caracterización de las partículas magnéticas.

Las partículas de óxido de hierro sintetizadas se produjeron mediante síntesis por combustión en solución, utilizando nitrato de hierro nonahidratado ( $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ , de la empresa Merck) como precursor de hierro y ácido 6-aminohexanoico ( $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ , de la empresa J.T. Baker) como combustible. Se realizó un diseño de experimentos para encontrar el mejor parámetro de síntesis con el fin de maximizar la cantidad de magnetita obtenida. Para esto, se disolvió una mezcla de nitrato de hierro nonahidratado y ácido 6-aminohexanoico en agua destilada, utilizando parámetros  $\phi_{1.3}$ ,  $\phi_1$ ,  $\phi_{0.9}$  y  $\phi_{0.7}$ . (que representa una relación entre las moles de agentes oxidantes y reductores en una reacción de combustión y sus valencias estequiométricas) con una relación molar de 1.96:1 entre el precursor de hierro y el combustible para el caso de  $\phi_{0.9}$ . El sistema se sometió a una agitación constante de 300 rpm y se calentó a una temperatura de 80°C-100°C utilizando dos metodologías de síntesis. Una que permite el ingreso de oxígeno al sistema y otra utilizando un embudo para limitar el intercambio gaseoso y generar una atmósfera reductora, hasta que el agua se evaporó por completo, lo que resultó en la formación de un gel. Una vez formado el gel, se retiró el agitador magnético y se aumentó la temperatura a 160°C-180°C, lo que provocó la formación de llama y la combustión del proceso. Posteriormente, el sistema se dejó enfriar y se recuperó el polvo obtenido para su posterior maceración y almacenamiento. Las muestras sintetizadas se analizaron mediante difracción de rayos X, utilizando un difractómetro de rayos X (DRX) Malvern-PANalytical modelo Empyrean 2012, equipado con un detector Pixel 3D y una fuente de Co ( $\lambda = 1.790307 \text{ \AA}$ ) operando a 40 kV y 40 mA. Se empleó un goniómetro Omega/2 theta y se configuró la plataforma para Reflexión Transmisión Spinner girando a 4 rpm. El paso utilizado en el análisis fue de 0,05°, con un tiempo por paso de 50 segundos. Se examinaron los difractogramas para identificar las fases cristalinas presentes en la muestra, y se llevó a cabo un refinamiento Rietveld para la cuantificación de las fases. Los datos de los parámetros de red de cada fase identificada se obtuvieron a partir de la base de datos materialsproject [209].

La morfología y características texturales de las partículas sintetizadas se evaluaron mediante diferentes técnicas de microscopía electrónica. Se utilizó microscopía electrónica de barrido en alto vacío (SEM) con un equipo JEOL JSM 6490 LV, microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM) con un equipo Dual Beam FIB-FESEM Thermo Fisher Scientific modelo Sios 2 LoVac, y microscopía electrónica de transmisión (TEM) con un equipo Tecnai F20 Super Twin TMP de FEI. Las muestras fueron fijadas en una cinta de grafito y recubiertas superficialmente con oro utilizando un equipo DENTON VACUUM Desk IV. Además, se realizó un análisis elemental utilizando microsonda de rayos X-EDX con un equipo INCA PentaFETx3 de Oxford Instruments.

Se determinó la distribución del tamaño de partícula del material magnético sintetizado utilizando 13 micrografías de microscopía electrónica de transmisión (TEM), donde se contabilizaron un total de 760 partículas. A partir de estos datos, se generó un histograma de distribución de frecuencia. Los valores de los percentiles del 10%, 50% y 90% se calcularon para las mediciones del diámetro de las partículas (DTP).

### **3.2 Caracterización térmica de la resina.**

Para la fabricación de los scaffolds se empleó una resina acrílica comercial biocompatible (Resina Portux Print 3D Model - New Stetic). La resina comercial se sometió a análisis térmico mediante termogravimetría (TGA) y calorimetría diferencial (DSC) utilizando un equipo TA Instruments Discovery 550 bajo atmósfera de aire. Las condiciones experimentales incluyeron una rampa de calentamiento de 10°C/min hasta alcanzar los 1000°C. Posteriormente, se graficaron y analizaron las curvas obtenidas utilizando el software TRIOS de TA Instruments.

### 3.3 Preparación y caracterización de suspensiones

Se prepararon mezclas de resina con material magnético en concentraciones del 1% y 5% en peso. La preparación de las mezclas se llevó a cabo con un homogeneizador Heidolph DIAX 900 con un mezclador 18G 596-1800-00, operando a 8000 rpm. El proceso de mezclado consistió en ciclos de 1 minuto de agitación seguidos de 30 segundos de pausa, repitiéndose esta secuencia durante un total de 3 minutos de mezclado. Se tuvo especial cuidado para evitar la formación de burbujas y el calentamiento de la muestra durante el proceso. En cuanto a la nomenclatura utilizada en el documento para referirse a las muestras preparadas, estas serán identificadas como se muestra en la **Tabla 3-1**.

**Tabla 3-1:** Nomenclatura general de muestras realizadas.

Nomenclatura	Material
RP	Material asociado a la resina pura
RMS1	Material asociado a la mezcla de resina con 1% p/p de óxidos de hierro sintetizados
RMS5	Material asociado a la mezcla de resina con 5% p/p de óxidos de hierro sintetizados

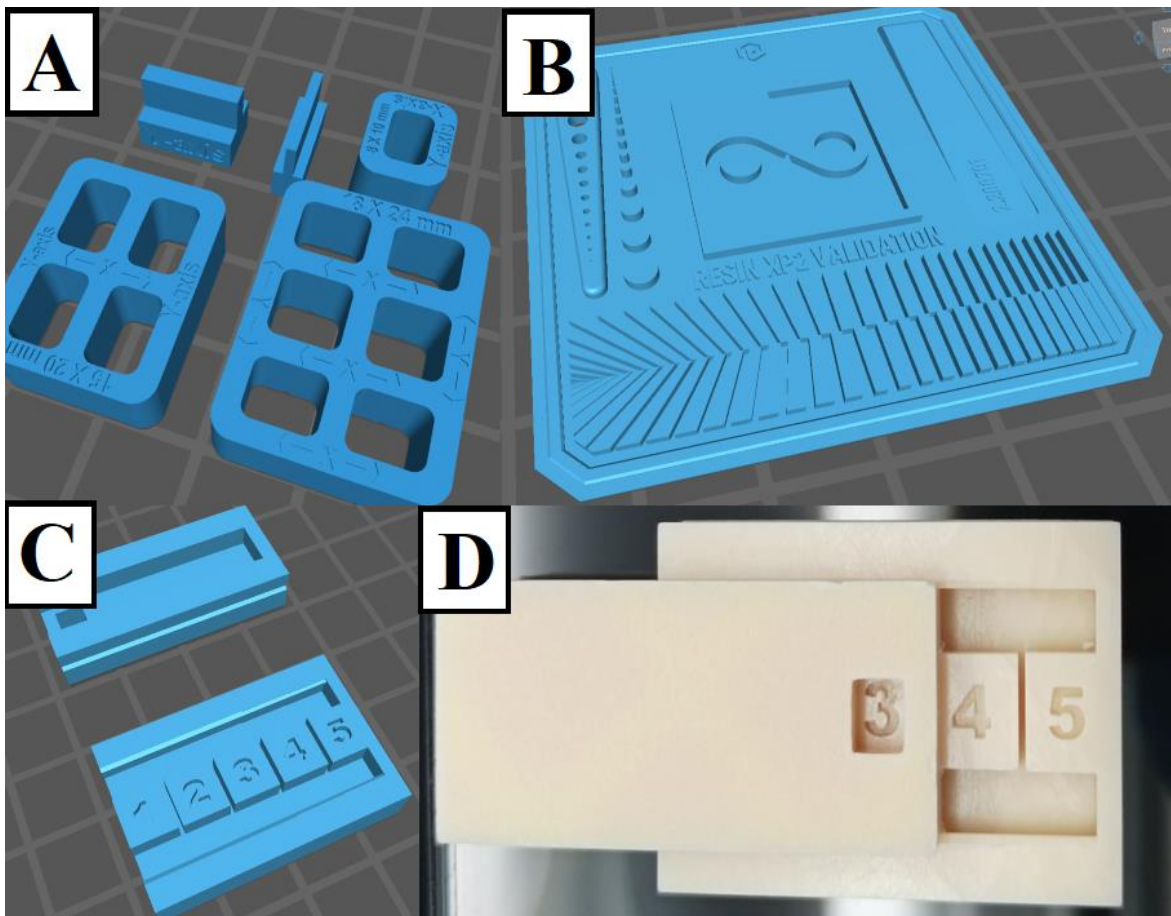
Para evaluar la estabilidad de las suspensiones obtenidas, se empleó un reómetro rotacional RHEOTEST®RN con configuración de cilindros concéntricos, utilizando el rotor H1. Se llevaron a cabo barridos de tasa de cizalladura vs Esfuerzo de cizalla para la resina pura y las mezclas RMS1 y RMS5, abarcando valores de tasas de cizalladura desde 0 hasta 100 s<sup>-1</sup> durante un periodo de 60 segundos. Además, se realizaron pruebas de estabilidad determinando el valor de viscosidad a lo largo de 60 minutos, manteniendo una tasa de cizallamiento constante de 100 s<sup>-1</sup>

### 3.4 Proceso de obtención de scaffolds magnéticos.

En este estudio, se llevó a cabo la determinación de los parámetros de impresión utilizando un diseño de probeta de encaje para evaluar el tiempo óptimo de impresión. Se consideraron dos tipos de tiempos de exposición para la resina: el tiempo de exposición general, que corresponde al período en el que la resina está expuesta a la luz durante la mayor parte de la impresión, y el tiempo de exposición de la primera capa, que se refiere al tiempo de exposición de solo las

primeras capas para garantizar una adhesión adecuada. Se seleccionaron 4 puntos experimentales y se imprimieron probetas para verificar el encaje adecuado siguiendo un procedimiento específico. En la **Figura 3-1** se pueden observar los modelos utilizados para calibración. Las probetas diseñadas para optimizar el proceso de impresión 3D contienen medidas estándar que luego se confirman con el uso de calibradores (**Figura 3-1A** con medidas mostradas en la figura, **Figura 3-1B**, con un tamaño de 10 cm x 10 cm y **Figura 3-1C** con un tamaño general de 8 cm x 6 cm para la probeta grande y 8 cm x 4 cm para la probeta de encaje). Las probetas diseñadas para optimizar el proceso de curado contienen 5 niveles de encaje, siendo el nivel 3 el ideal. Con este procedimiento se encontraron los parámetros fundamentales de impresión 3D (**Figura 3-1D**).

**Figura 3-1:** Probetas de calibración utilizadas. A) Modelos 3D de las probetas de medición generales. B) Modelos 3D de la probeta final utilizada para calibrar la calidad de impresión 3D. C) Modelo 3D de la probeta de calibración para el proceso de fotocurado. D) Imagen real de la probeta de calibración del fotocurado en el nivel de encaje adecuado.



La impresión de los scaffolds se llevó a cabo utilizando una impresora 3D de estereolitografía por máscara (MSLA), de marca Anycubic Photon M3. Se empleó como material de impresión una resina acrílica biocompatible (Resina Portux Print 3D Model - New Stetic), designada como "RP", así como las mezclas previamente preparadas RMS1 y RMS5. Se produjeron tres tipos de probetas: cilindros de 4 mm de diámetro con 5 mm de altura, pastillas de 3.5 mm de diámetro y 1 mm de altura, y scaffolds cilíndricos basados en una geometría TPMS Giroide de 10 mm de diámetro y 5 mm de altura. Todos los objetos fueron diseñados mediante la generación matemática de las mallas utilizando el software MathMod, la generación del grosor y la solidificación del objeto utilizando el software Blender y MeshMixer, y la generación de los archivos .stl en conjunto con el procesamiento de los parámetros de impresión y la generación del código G que después será leído por la impresora 3D, utilizando los software PrusaSlicer y Chitubox. Los parámetros de impresión utilizados variaron según el tipo de muestra. Para las probetas fabricadas con la resina R, se aplicaron 5 capas de base, con tiempos de espera entre capa y capa de 1 s. La exposición durante las primeras capas fue de 35 segundos, y la exposición general fue de 5 segundos. Para las probetas fabricadas con las mezclas RMS1 y RMS5, se ajustaron los tiempos de exposición a 48 segundos y 7 segundos, y 57 segundos y 8 segundos respectivamente, para las primeras capas y la exposición general. Una vez impresas, las probetas se lavaron durante 10 minutos en alcohol etílico al 96% y se sometieron a un proceso de curación en la máquina Wash&Cure (Anycubic) utilizando luz ultravioleta de 405 nm durante 60 minutos. Todos los parámetros de impresión se determinaron utilizando un diseño predeterminado para la calibración de tiempos de exposición en la impresión de resina.

Los scaffolds fueron caracterizados morfológica y topográficamente mediante diferentes técnicas de microscopía electrónica. Se utilizó microscopía electrónica de barrido en alto vacío (SEM) con un equipo JEOL JSM 6490 LV, microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM) con un equipo Dual Beam FIB-FESEM Thermo Fisher Scientific modelo Socrates 2 LoVac, y microscopía electrónica de transmisión (TEM) con un equipo Tecnai F20 Super Twin TMP de FEI. Las muestras fueron fijadas en una cinta de grafito y recubiertas superficialmente con oro utilizando un equipo DENTON VACUUM Desk IV. Además, se realizó un análisis elemental utilizando microsonda de rayos X-EDX con un equipo INCA PentaFETx3 de Oxford Instruments.

### **3.5 Caracterización magnética de partículas, mezclas y scaffolds.**

Para la caracterización magnética, se llevaron a cabo bucles de histéresis utilizando un magnetómetro de muestra vibrante (7400-S LakeShore 7400-S Series). Se emplearon pastillas de 4x5 mm (diámetro x largo) de magnetita pura  $M_0$ , resina RP, y las mezclas RMS1 y RMS5. De las curvas resultantes, se extrajeron parámetros como la magnetización de saturación ( $M_s$ ), la remanencia ( $M_r$ ) y la coercitividad ( $H_c$ ). Para este análisis, se normalizaron los datos utilizando la masa real magnética en las muestras, la cual se determinó mediante la evaporación de la resina en un horno a 650°C. Luego, se utilizó el residuo de cenizas resultante para calcular el peso original del material magnético presente en los scaffolds.

### **3.6 Caracterización mecánica.**

Con el fin de evaluar las propiedades mecánicas de los scaffolds impresos, se determinó la resistencia máxima a la compresión utilizando una Máquina Universal de ensayos INSTRON 3366, con una capacidad de 10 kN. Las pruebas se llevaron a cabo a una velocidad constante de 0.5 mm/min. Se emplearon cinco muestras de cada denominación, lo que resultó en un total de 30 pruebas realizadas.

### **3.7 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).**

Con el fin de verificar la estructura de la resina y los posibles mecanismos de unión de las partículas magnéticas con la resina, se realizó un análisis a los scaffolds obtenidos por medio de espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier FTIR en el equipo Thermo Scientific Nicolet Spectrometer IS50, realizando un barrido de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.8 Pruebas de mojabilidad (ángulo de contacto).**

Con el fin de evaluar y comprender cómo interactúa el material del scaffold con los fluidos como el agua y otros líquidos presentes en el entorno biológico, se evalúa la mojabilidad de los materiales diseñados, por medio de la medición del ángulo de contacto en un equipo DataPhysics OCA15, utilizando agua destilada con tamaño de gota de 0.5  $\mu\text{L}$ .

### 3.9 Pruebas de estabilidad y degradación.

Con el propósito de evaluar la capacidad del material del scaffold para degradarse o mantenerse inalterado dentro del entorno biológico, se evalúa la estabilidad de los scaffolds compuestos de resina y material magnético siguiendo la metodología descrita en la norma ASTM F1635, en periodos de tiempo de hasta 21 días. Se utilizó solución buffer de fosfato PBS (de la empresa Merck) como líquido de inmersión. Se seleccionaron tres muestras de cada condición y se tomaron medidas después de 1, 7, 14 y 21 días de inmersión en PBS. Cada muestra fue pesada y sumergida en una solución de PBS con un pH inicial de 7.44. Los materiales se colocaron en recipientes de polietileno en una incubadora a 37°C y se retiraron de la solución al finalizar cada período de evaluación. Las muestras se secaron en una estufa Binder a 30°C durante 15 minutos y se pesaron nuevamente, teniendo en cuenta el pH final. Para el reporte de los porcentajes de pérdida o ganancia de peso se utilizó la Ecuación 3.1.

$$\text{Cambio de masa (\%)} = \frac{M_f - M_i}{M_i} * 100\% \quad (3.1)$$

Donde  $M_i$  representa la masa inicial y  $M_f$  la masa final.

### 3.10 Caracterización biológica (viabilidad celular).

La evaluación del potencial citotóxico se realizó según el anexo C de la norma ISO 10993-5 [210], utilizando bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difeniltetrazolio (MTT) para determinar la viabilidad de la línea celular L929 derivada de fibroblastos de ratón (85011425, ECACC) y de la línea celular MG-63 derivada de osteosarcoma humano (86051601, ECACC), expuestas a extractos preparados a partir de scaffolds, según la norma ISO 10993-12 [211]. Los extractos se prepararon mediante la adición de los diferentes scaffolds y los materiales de referencia (RM) en medio DMEM (de la empresa Sigma-Aldrich) suplementado con suero bovino fetal (de la empresa Sigma) al 10% (v/v) y 1% (v/v) de penicilina/estreptomicina (de la empresa GIBCO) y se dejaron en agitación durante 24 horas a 37°C. Se sembraron  $10^4$  células/100 $\mu$ L<sub>(medio suplementado)</sub> en cada pozo durante 24 horas en condiciones estándar (37°C y 5% CO<sub>2</sub>). Luego, fueron expuestas las células a los extractos del material de referencia y de los scaffolds, y se incubaron durante 24 h. Posteriormente, se añadió a cada pozo 50  $\mu$ L de solución MTT (1mg/mL) y se incubó durante 2h.

Se disolvieron los cristales de formazán con 100  $\mu\text{L}$  de isopropanol ácido y se registró la absorbancia a 570 nm en el lector de microplacas Varioskan (de la empresa Thermo Scientific).

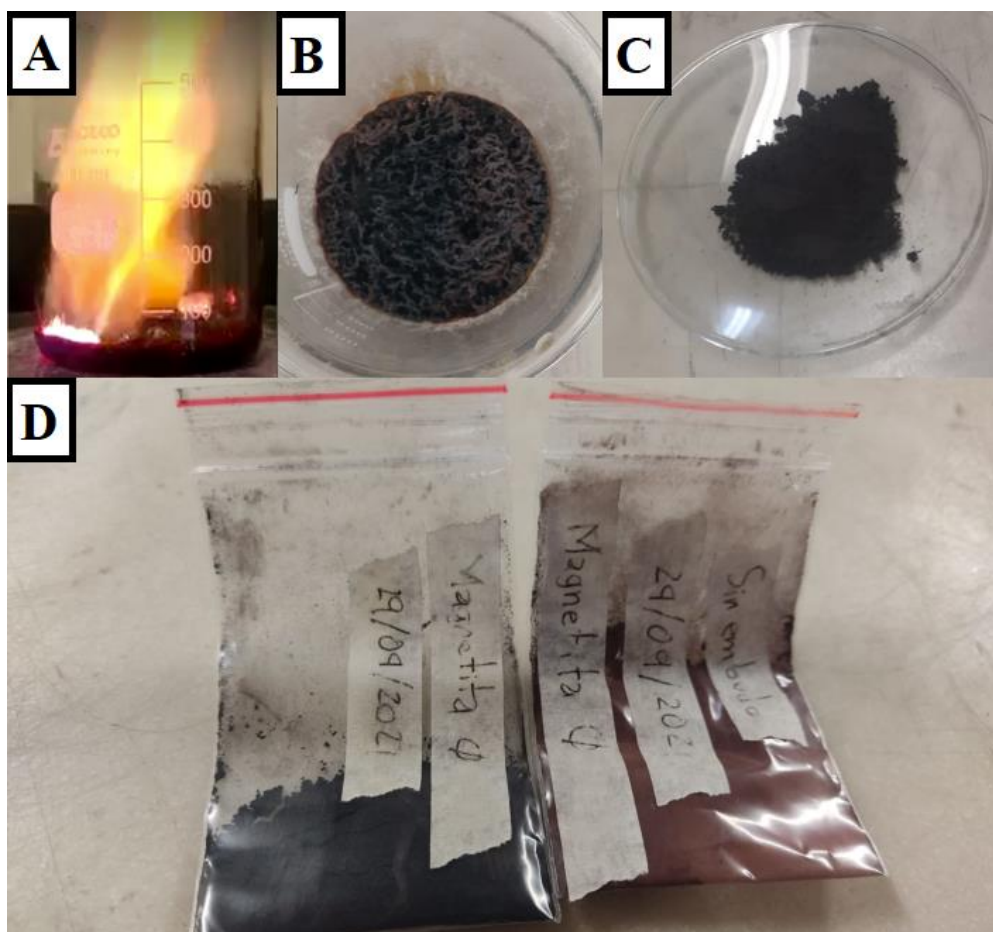
## 4. Resultados y Discusión

### 4.1 Obtención de las partículas magnéticas

En la **Figura 4-1**, se puede apreciar una serie de imágenes que ilustran el proceso de obtención de óxidos de hierro mediante el método de autocombustión. En la **Figura 4-1A**, se evidencia una reacción altamente exotérmica, destacando la formación de una llama y el avance del frente de esta reacción, que marca el inicio del proceso de obtención de óxidos de hierro a partir de precursores de hierro y oxígeno. En este paso, se solubilizan las sales de hierro, y gracias a la energía liberada por la combustión del combustible, se generan enlaces entre el hierro y el oxígeno, dando paso a la creación de óxidos de hierro. Esta reacción se va dando de manera progresiva en toda la superficie del recipiente generando un sólido. En la **Figura 4-1B**, capturada desde una perspectiva superior, se muestra el producto resultante una vez que la reacción ha concluido. Este material exhibe características porosas y quebradizas, con una tonalidad que oscila entre el negro y el marrón, indicando así la finalización de la reacción. En este paso es importante mantener el óxido de hierro en una atmósfera reductora o en bolsas de sello hermético debido a que la interacción con el oxígeno puede seguir oxidando los óxidos de hierro, dando lugar así a fases no deseadas en el proceso. Posteriormente, con el fin de quebrar los agregados formados naturalmente por la reacción de combustión, se somete este material al proceso de maceración, obteniendo un polvo fino con una textura uniforme, cuyo color varía entre el negro y el marrón dependiendo de las condiciones específicas de la reacción. Estos polvos están fotografiados en las **Figura 4-1C** y **Figura 4-1D**. Una diferencia notable entre ambas imágenes radica en la coloración de los polvos. En el extremo izquierdo de la **Figura 4-1D**, correspondiente a la mezcla sometida a condiciones de atmósfera reductora, se observa un polvo negro, fino y con una alta respuesta magnética. Mientras que, en el extremo derecho, correspondiente a la mezcla expuesta al intercambio gaseoso con el oxígeno, se obtiene un polvo de tonalidad marrón rojiza, de textura rugosa y con una respuesta magnética menor. Esta variación en la coloración sugiere una mayor presencia de magnetita en la muestra de la izquierda en comparación con la de la derecha. Esto se fundamenta en que la magnetita exhibe una coloración negra, mientras que la tonalidad marrón rojiza se asocia principalmente con la hematita, la cual tiene una magnetización total menor. En consecuencia, se

desestima por completo el uso de una atmósfera rica en oxígeno en la síntesis de óxidos de hierro cuando el objetivo es la producción de magnetita. Por ende, se procedió a caracterizar las muestras sintetizadas bajo condiciones de atmósfera limitada en oxígeno para los distintos valores de  $\phi$  establecidos en la metodología. Todas las condiciones de síntesis condujeron a la obtención de polvos negros, finos y con una alta respuesta magnética comparada con los valores de otros óxidos de hierro sintetizados encontrados en la literatura [212].

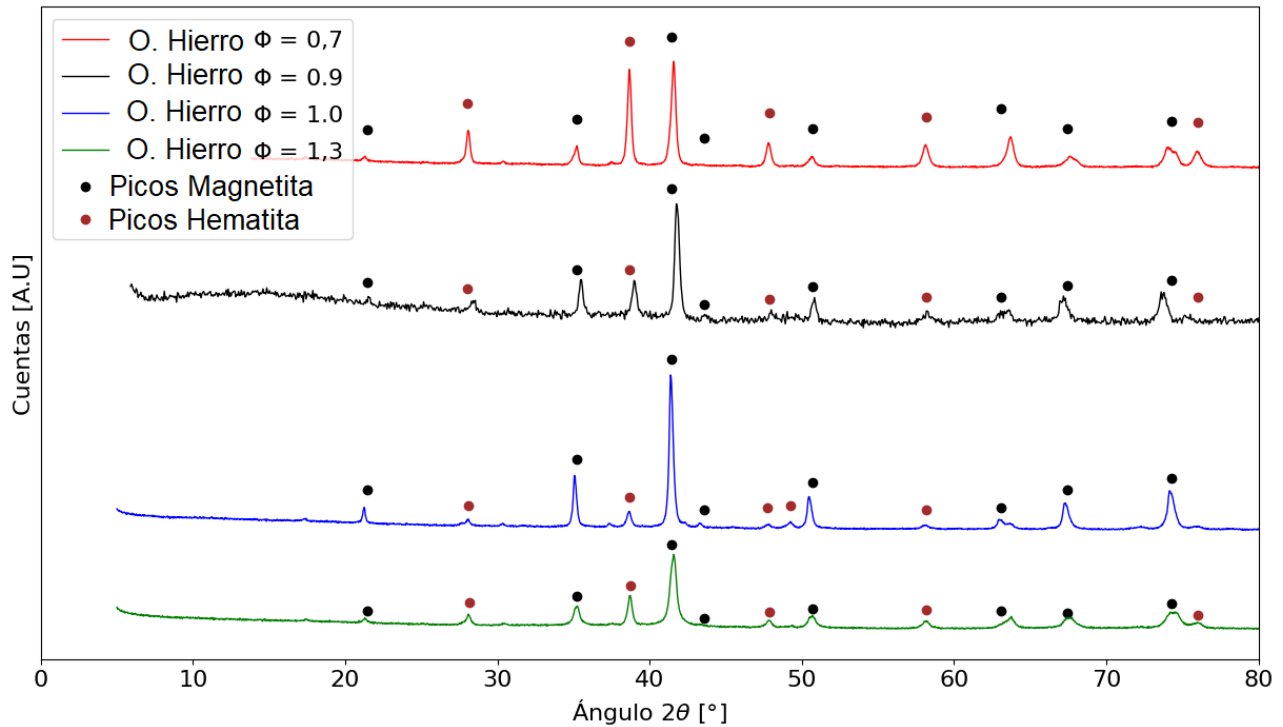
**Figura 4-1:** Óxidos de hierro obtenidos por combustión en solución. A) Sistema de combustión en el momento de la reacción y formación de la llama. B). Obtención de óxidos de hierro después de la reacción. C). Óxidos de hierro después del proceso de recuperación y maceración. D). Comparación visual entre los óxidos de hierro obtenidos con atmosfera reductora (izquierda) y con una oxidante (derecha).



## 4.2 Caracterización estructural de las partículas obtenidas

En la **Figura 4-2** se pueden observar los difractogramas de rayos x para los óxidos de hierro sintetizados. Las muestras sintetizadas constan de dos fases cristalinas diferentes, identificadas como Magnetita (COD 96-900-5841) y Hematita (COD 96-101-1268). Se ve claramente que los picos principales de magnetita y hematita están presentes en todas las curvas obtenidas. Sin embargo, las intensidades de los picos, la separación entre los mismos y otros parámetros importantes propios de la interpretación de la difracción de rayos x varía de muestra a muestra. Para evaluar estas diferencias se planteó un análisis por refinamiento Rietveld para encontrar algunos parámetros fundamentales de la red de cada material obtenido y calcular así la proporción presente en cada una de las muestras. Estos parámetros pueden verse en la **Tabla 4-1** y **Tabla 4-2**.

**Figura 4-2:** Difractogramas de rayos x para los óxidos de hierro sintetizados por combustión en solución. Se pueden observar la relación entre los picos de magnetita y hematita en las respectivas curvas obtenidas.



**Tabla 4-1:** Parámetros de red y posiciones atómicas para la hematita sintetizada.

Parámetros de Red HEMATITA Grupo espacial: 167 (R-3c), Ortorrónica					
a (Å)	b (Å)	c (Å)	$\alpha$ (°)	$\beta$ (°)	$\gamma$ (°)
5.09	5.09	13.77	90	90	120
Posiciones Atómicas					
Elemento	Wyckoff	x	y	Z	
Fe (Hierro)	12c	1/3	2/3	0.5	
O (Oxígeno)	18e	0.694599	0.694599	3/4	

**Tabla 4-2:** Parámetros de red y posiciones atómicas para la magnetita sintetizada.

Parámetros de Red MAGNETITA Grupo espacial: 227 (Fd-3m), Cúbica.					
a (Å)	b (Å)	c (Å)	$\alpha$ (°)	$\beta$ (°)	$\gamma$ (°)
8.44	8.44	8.44	90	90	90
Posiciones Atómicas					
Elemento	Wyckoff	x	y	z	
Fe (Hierro)	8a	1/2	0	1/2	
Fe (Hierro)	16d	7/8	7/8	5/8	
O (Oxígeno)	32e	0.13135	0.86865	0.13135	

La **Tabla 4-3** resume los resultados de la cuantificación de las fases presentes extractados del refinamiento Rietveld realizado a los difractogramas de rayos X. Como se puede observar una relación del parámetro  $\phi$  de 0,9 es la que da como resultado una mayor cantidad de la fase magnetita.

En la información constatada en cada una de las fases encontradas en el difractograma de rayos x, el refinamiento Rietveld realizado y utilizando los parámetros dados por los espacios de grupo (167 – R-3c para la hematita y 227 – Fd-3m para la magnetita) se tienen valores para la magnetización total de cada una de las fases de 14.00  $\mu\text{B}/\text{f.u}$  y 10.00  $\mu\text{B}/\text{f.u}$  respectivamente [209]. Esto indica que la magnetita presenta una magnetización total mayor que la de la hematita, comportándose ambas como materiales ferromagnéticos. Es por tanto que se desea tener una mayor cantidad de magnetita en la muestra siendo la mejor opción aquella sintetizada con un parámetro  $\phi$  cercano a 0.9 como se observa en la **Tabla 4-3**.

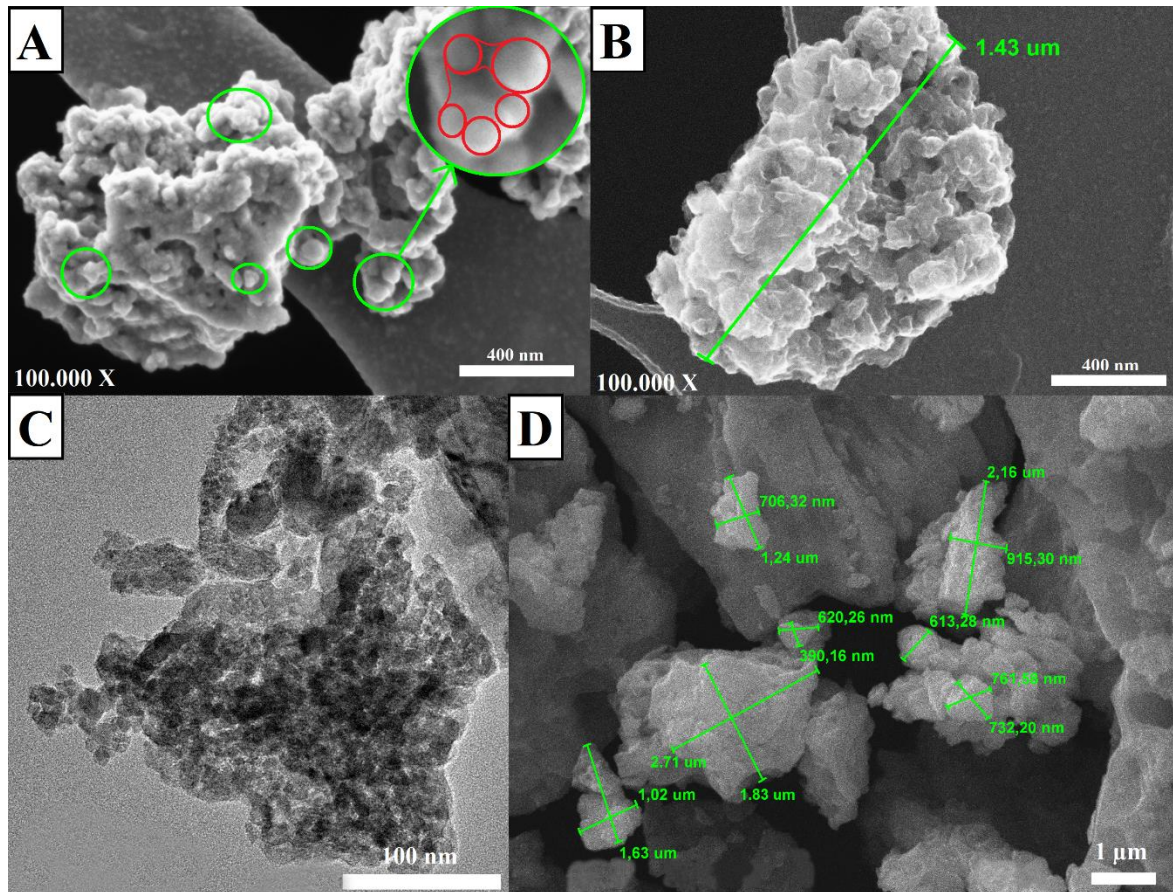
**Tabla 4-3:** Cuantificación de fases por refinamiento Rietveld para cada una de las muestras sintetizadas.

Parámetro $\phi$	Porcentaje de Magnetita (%)	Porcentaje de Hematita (%)
0.7	43.2	56.8
0.9	62.3	37.7
1	54.4	45.6
1.3	36.3	63.7

### 4.3 Morfología y características físicas de las partículas de magnetita obtenidas.

Una vez confirmada la presencia de las fases deseadas en el material sintetizado, se procede a la caracterización morfológica de las partículas. La **Figura 4-3** exhibe algunas fotomicrografías de las partículas sintetizadas por combustión en solución tomadas tanto con el microscopio electrónico de barrido como de transmisión. Las fotografías revelan que la morfología de las partículas obtenidas son irregulares, se presentan altamente agregadas y con cuellos de sinterización conformados en el proceso de síntesis utilizado [166]. En las fotomicrografías tomadas con el microscopio electrónico de transmisión TEM se puede observar claramente que los agregados están conformados por partículas más pequeñas, de tamaños del orden de los nanómetros, que se agregan, en algunos casos mediados por los cuellos de sinterización incipientes. Es posible que procesos simples de molienda o desagregación mecánicos, tengan como resultado una individualización de las partículas de tamaño nanométrico. Los aglomerados detectados alcanzan una longitud máxima de 2.71 micras. Estos agregados están compuestos por partículas que se encuentran en el rango de los nanómetros, siendo la mayoría de ellas inferiores a 100 nm. Este fenómeno se confirma mediante el análisis estadístico de conteo de partículas realizado durante la determinación del tamaño de estas.

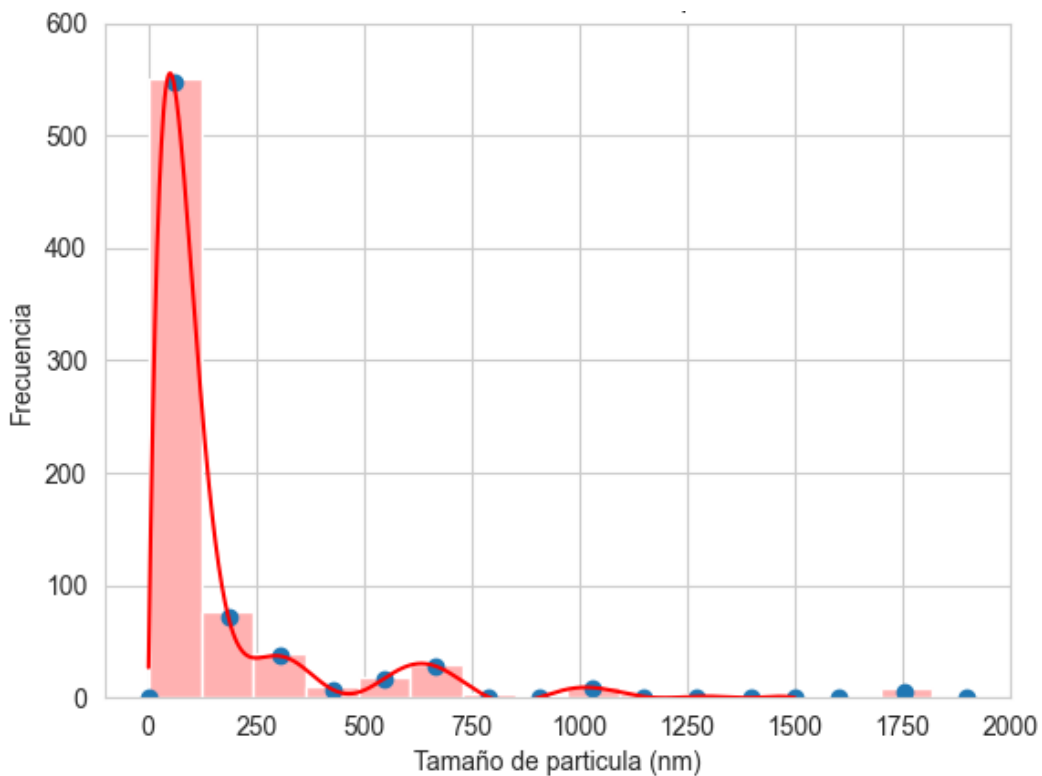
**Figura 4-3:** Fotomicrografías electrónicas del material sintetizado. A) y B) Fotomicrografías FESEM de los óxidos de hierro sintetizados. C) Fotomicrografías TEM. D) Fotomicrografías SEM.



#### 4.4 Distribución de tamaño de partícula

La **Figura 4-4** presenta los resultados estadísticos de las medidas de los tamaños de partículas realizados en 760 partículas en las fotografías TEM. Las partículas sintetizadas presentan una distribución trimodal, con tres picos característicos centrados en medias de 57 nm, 300 nm y 660 nm. La mayor cantidad de partículas (el 90%) se encuentra por debajo de los 215 nm, mientras que la mitad de las partículas se ubican por debajo de los 87 nm como se indica en la **Tabla 4-4**. Las partículas más grandes observadas no superan una medida de 2  $\mu\text{m}$  con una frecuencia de ocurrencia muy baja.

**Figura 4-4:** Histograma de la distribución de tamaño de partícula realizado por conteo de 14 fotomicrografías TEM.



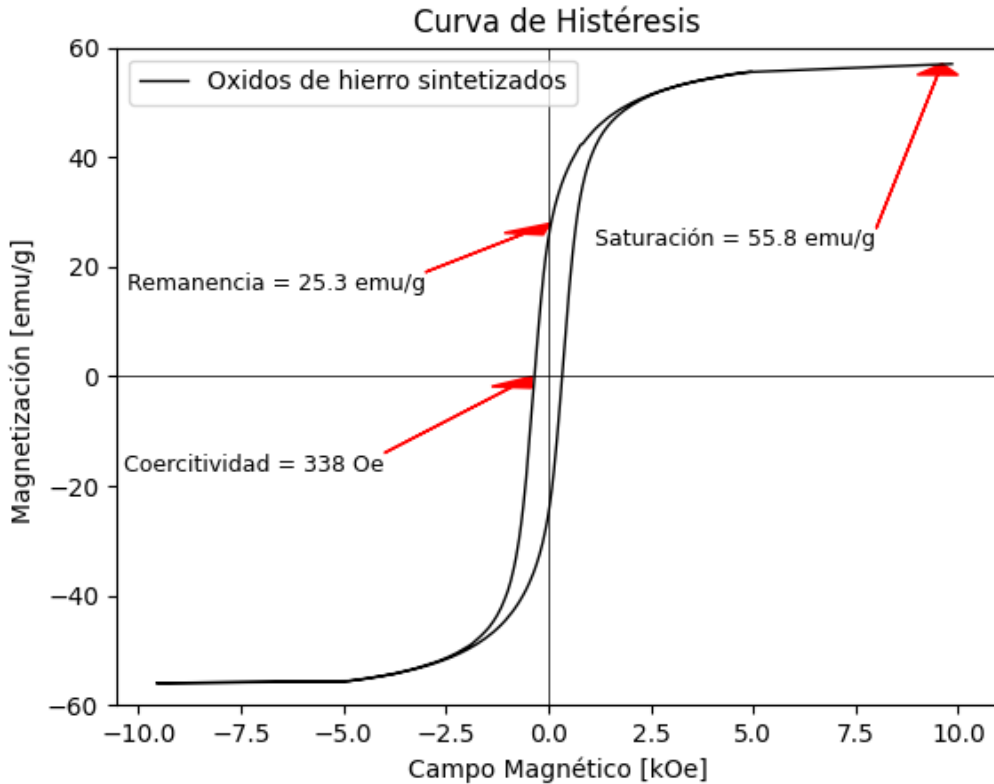
**Tabla 4-4:** Percentiles 10%, 50% y 90% de la distribución de tamaño de partícula de los óxidos de hierro sintetizados.

Percentil	Tamaño de los óxidos de hierro sintetizados [nm]
D (0.1)	25
D (0.5)	87
D (0.9)	215

## 4.5 Caracterización de las partículas magnéticas

En la **Figura 4-5** se puede observar la curva de histéresis magnética para las partículas de óxidos de hierro sintetizados. De esta curva se obtienen los parámetros de coercitividad (338 Oe), remanencia (25.3 emu/g) y saturación (55.8 emu/g) los cuales son bastante deseables según los ensayos encontrados en la literatura [168] en donde han trabajado con valores de saturación de alrededor de 6 emu/g con resultados satisfactorios. Estos parámetros permiten categorizar las partículas como materiales magnéticos blandos, ferromagnéticos/ferrimagnéticos con una alta saturación. Recientes investigaciones han revelado avances significativos en el campo de la regeneración ósea mediante el uso de nanopartículas magnéticas de óxidos de hierro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) incorporadas en matrices de (PLLA/PGA). Estas nanopartículas exhiben una saturación magnética de 6 emu/g y presentan una coercitividad y remanencia prácticamente nulas, lo que las caracteriza como superparamagnéticas. La magnetización de las muestras con imanes ha demostrado incrementar hasta el doble la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina (ALP), un marcador crucial en la regeneración ósea [168]. El uso de magnetita con una saturación magnética de aproximadamente 70 emu/g, combinada con poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL), ha resultado en una deposición de calcio hasta 5 veces mayor que en muestras de PCL puro. Este fenómeno indica un efecto significativo de la presencia de magnetita en los mecanismos de deposición de calcio, los cuales están estrechamente relacionados con la regeneración ósea y la proliferación celular [169], lo cual lo convierte en un material prometedor para ser utilizado en este tipo de aplicaciones.

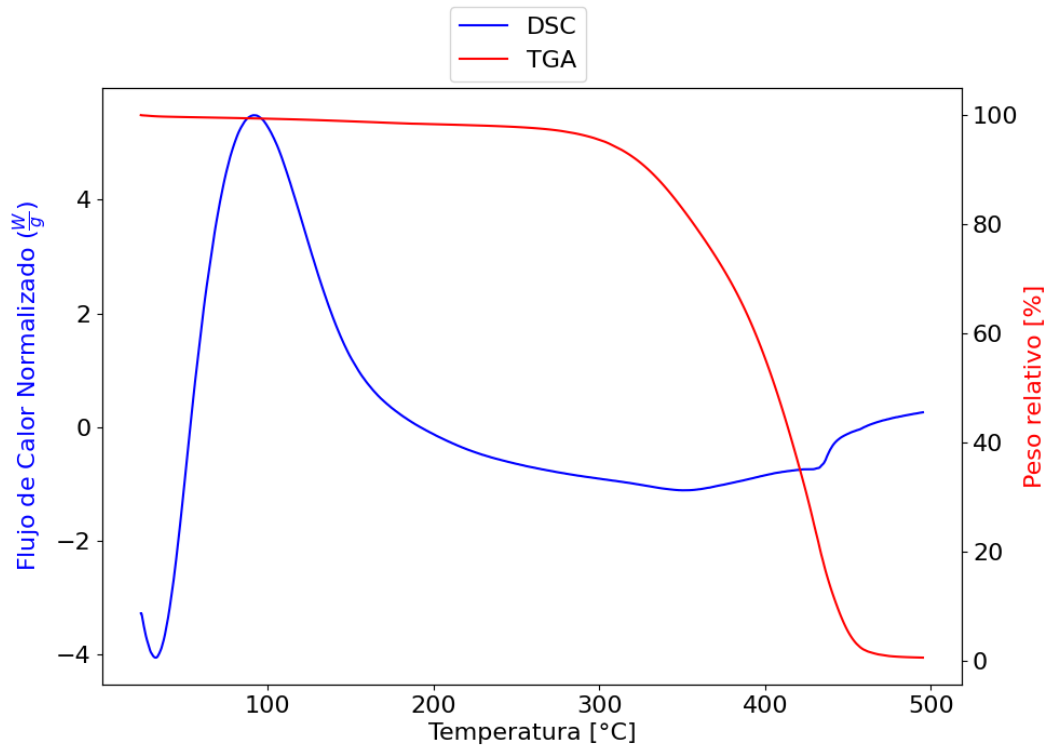
**Figura 4-5:** Curva de histéresis magnética obtenida por VSM para las partículas magnéticas de óxidos de hierro sintetizadas.



## 4.6 Caracterización de la resina.

En la **Figura 4-6** se muestran las curvas correspondientes a la caracterización térmica de la resina. En la primera región se revela un proceso de polimerización, comprendido entre los 90 °C y los 150 °C, seguido de un punto de evaporación que se evidencia alrededor de los 350 °C [213]. A medida que la temperatura alcanza los 450 °C, la mayor parte de la resina se ha evaporado completamente, lo que conduce a una disminución significativa en la masa medida, llegando a un porcentaje inferior al 1%. Este comportamiento ha sido reportado en otros trabajos para resinas acrílicas, en las cuales los procesos exotérmicos de polimerización comienzan alrededor de los primeros 100°C [213, 214] y alrededor de los 400°C - 450°C los polímeros son completamente evaporados llegando a valores mínimos de su masa en las curvas termogravimétricas [215].

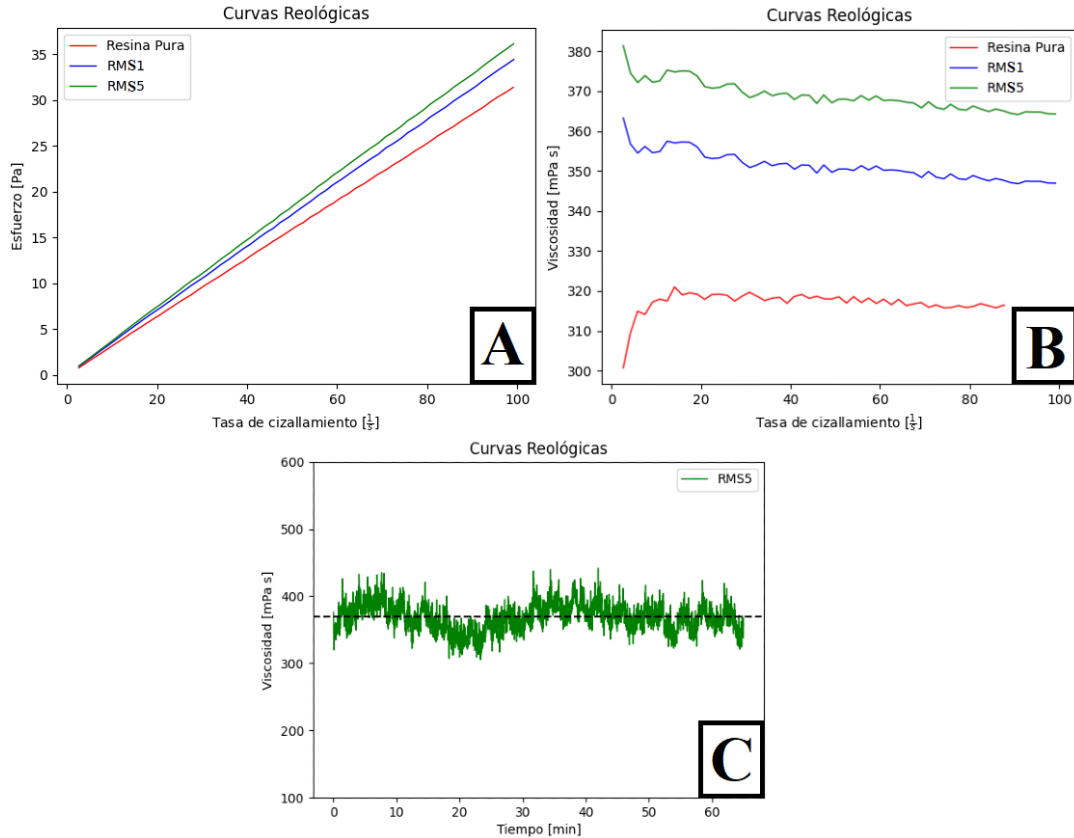
**Figura 4-6:** Curvas calorimetría diferencial de barrido y termogravimétrica de la resina utilizada. En rojo el seguimiento en masa de la muestra sometida a calentamiento y en azul la calorimetría diferencial. Exotérmico hacia arriba.



La **Figura 4-7** presenta las curvas resultantes del análisis reológico de la resina pura y las mezclas de resina con 1 y 5 % p/p de partículas de óxidos de hierro sintetizados. Dichas medidas son importantes dado que en la técnica de impresión 3D por estereolitografía, la viscosidad de la resina y las mezclas utilizadas juega un papel muy importante en la correcta impresión de las piezas. En el caso presente, con el empleo de una Anycubic Photon M3, el fabricante establece que los rangos de viscosidad del material de impresión adecuados para el correcto funcionamiento de la máquina se sitúan entre 150 mPa·s y 500 mPa·s [216]. Se puede observar de la **Figura 4-7A** que las tres suspensiones formadas tienen un comportamiento lineal en el rango de la prueba realizada, indicando que en dicho rango, tanto la resina pura como las suspensiones de resina con óxidos de hierro se comportan como fluidos newtonianos. Sus viscosidades permanecen relativamente constantes, formando una línea recta que parte del origen. Se observa también que la viscosidad aumenta a medida que el porcentaje de partículas en la mezcla aumenta. Esta característica es deseable, puesto que los fluidos newtonianos presentan propiedades predecibles y no exhiben comportamientos irregulares que puedan afectar el proceso de impresión 3D. Uno de los

principales problemas de la creación de suspensiones es que al añadir material particulado a un fluido, existe una alta posibilidad de que éste cambie sus propiedades reológicas y pase a ser un fluido no newtoniano, lo cual imparte una complejidad mayor al trabajo con la resina. Un fluido newtoniano puede ser completamente caracterizado a través de su viscosidad. Este hallazgo puede ser confirmado con el resultado mostrado en la **Figura 4-7B** en donde se muestra la gráfica de la viscosidad de cada suspensión en función de la tasa de cizalladura. Se puede ver que las viscosidades permanecen relativamente constantes con una leve tendencia a decaer, lo cual es natural en las suspensiones, puesto que aplicar una tasa de cizalladura mayor, las partículas se van a incorporar mejor a la mezcla, estabilizando así una medida general de viscosidad [205]. En la **Figura 4-7C** se muestra un ensayo de estabilidad realizado sobre la mezcla de resina y partículas de óxidos de hierro más cargada (RMS5). Se puede observar que en este caso, la resina se mantiene relativamente estable hasta por una hora, período típico de duración de cada impresión, indicando así una estabilidad de la mezcla, suficiente y adecuada para el proceso de impresión.

**Figura 4-7:** Caracterización reológica de la resina y las mezclas fabricadas. A) Curvas de esfuerzo de cizalla-tasa de cizalladura. B) Curvas de viscosidad. C) Curva de estabilidad de la viscosidad en el tiempo para la suspensión con 5% p/V de magnetita.

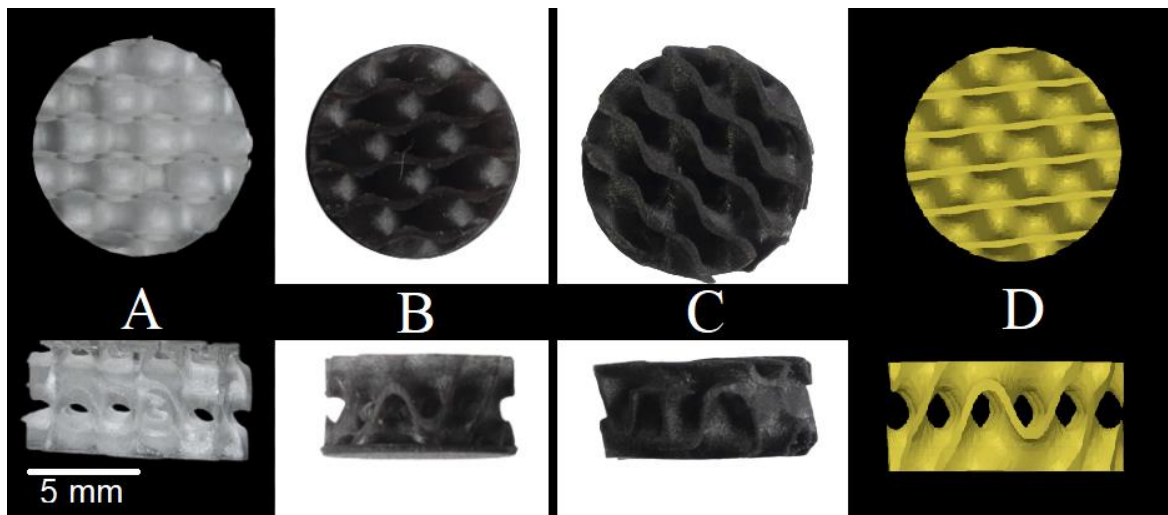


## 4.7 Impresión de scaffolds magnéticos.

Se imprimieron las probetas diseñadas para el proceso de calibración de los parámetros de impresión. Se inició con 15 segundos de exposición, pero las probetas no encajaron satisfactoriamente, lo que llevó a reducir el tiempo de exposición a 10 segundos. Posteriormente, con 8 segundos de exposición, se logró un encaje adecuado en el nivel 1, y finalmente, con 4 segundos de exposición, se alcanzó el nivel 3 de encaje como se observa en la **Figura 3-1D**. Los parámetros finales de impresión establecidos fueron: 5 capas de la base, tiempo de espera de 1 segundo, tiempo de exposición general de 4 segundos y tiempo de exposición de las primeras capas de 35 segundos para la resina pura. Una vez determinados estos parámetros de impresión se realizó el mismo procedimiento para cada una de las muestras obteniendo los parámetros de

impresión utilizados en general durante el resto del trabajo. Los scaffolds obtenidos para cada tipo de mezcla se pueden observar en la **Figura 4-8**. Las características morfológicas, como el número de agujeros y la curvatura de las paredes, fueron similares a los modelos CAD, con la única distinción en sus propiedades ópticas. Los scaffolds derivados de resina pura (RP) exhiben una translucidez notable, presentando un tono blanco distintivo que refleja el resultado del proceso de fotocurado característico de la resina. Los scaffolds obtenidos mediante la incorporación de óxidos de hierro sintetizados a la resina (RMS) adquieren una tonalidad negra, revelando claramente la presencia de magnetita, lo cual indica una adecuada integración de las partículas en la matriz de la resina.

**Figura 4-8:** Fotografías de las diferentes vistas de los scaffolds generados comparados con los modelos tridimensionales generados por CAD. A) Scaffolds de resina pura. B) Scaffolds de RMS1. C) Scaffolds de RMS5. D) CAD utilizado para el proceso de impresión



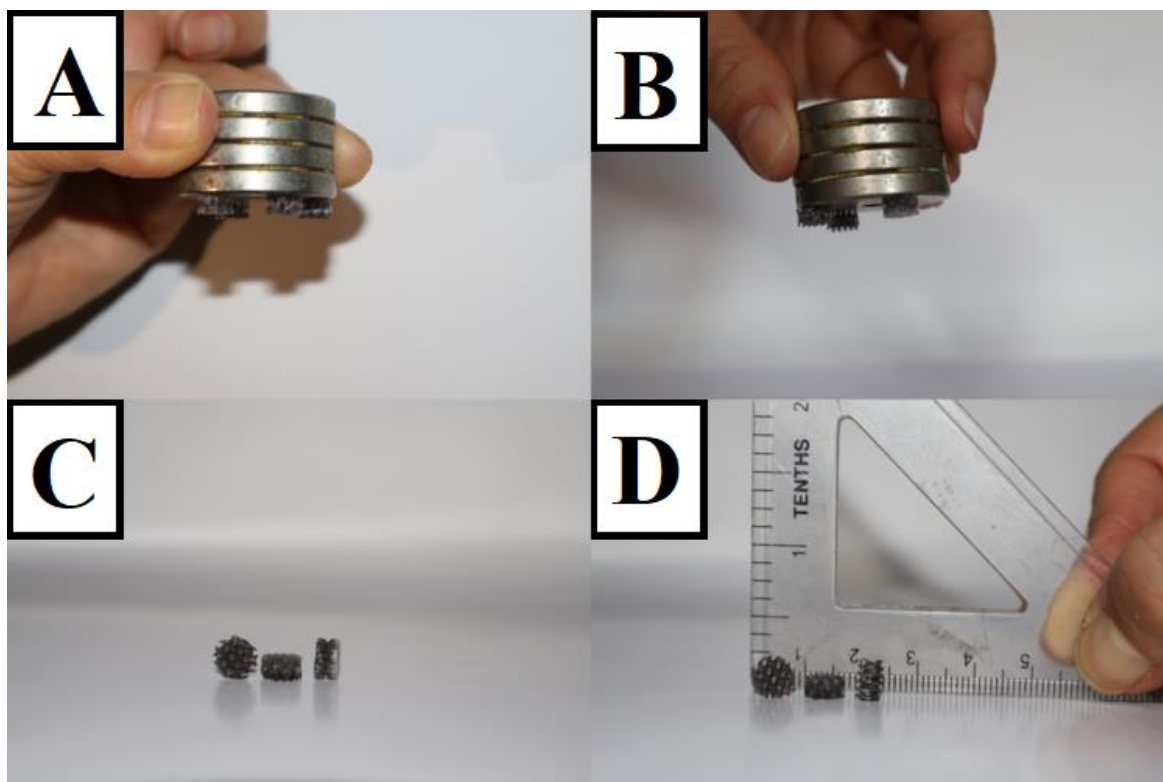
El proceso de curado de la resina puede someter a los scaffolds a una contracción natural de sus dimensiones. La contracción volumétrica puede deberse a varios factores, como la pérdida de solvente, la polimerización del material y los cambios en la estructura molecular durante el curado. Los valores que se han encontrado en esta contracción volumétrica ha sido desde el 0% hasta máximo valores del 10% en muchos de los casos [217]. En el caso de los scaffolds fabricados, se generaron contracciones de alrededor de  $3.5\% \pm 1.1\%$  en general y no hubo diferencias estadísticas significativas entre los scaffolds puros, los RMS1 y los RMS5 como se muestra en la **Tabla 4-5**.

**Tabla 4-5:** Datos de contracción volumétrica para los scaffolds fabricados.

	Contracción Volumétrica (%)	Desviación de la Contracción Volumétrica (%)
RP	3.54	1.46
RMS1	3.29	0.94
RMS5	3.58	0.97

Durante el proceso de observación experimental, se tuvo la oportunidad de examinar de forma directa las características magnéticas inherentes de los scaffolds. Este análisis reveló una interesante respuesta cuando se introdujo un imán potente de neodimio de grado N45 en las proximidades de los scaffolds. De manera instantánea, se pudo apreciar cómo estos materiales reaccionaron, mostrando una clara tendencia a ser atraídos por la fuerza magnética ejercida por el imán. Este fenómeno se documenta visualmente con las fotografías incluidas en la **Figura 4-9**.

**Figura 4-9:** Fotografías de la respuesta ante un imán de los scaffolds impresos y sus dimensiones generales. A) y B) scaffolds unidos al imán de neodimio por medio de la fuerza magnética ejercida sobre ellos. C) y D) fotografías de los scaffolds.

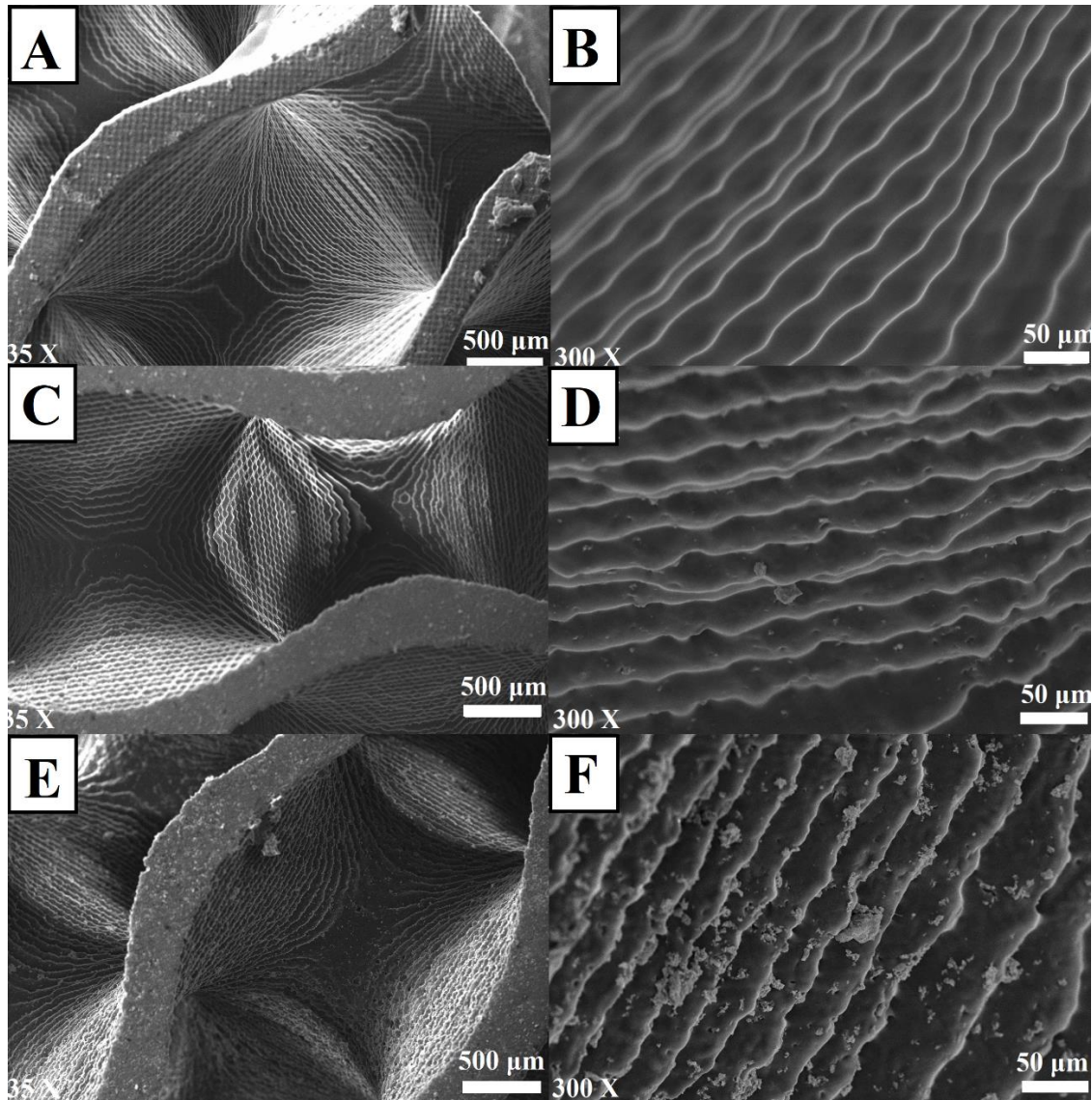


La **Figura 4-10** exhibe las fotomicrografías de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo de los scaffolds obtenidos con la resina pura y con las mezclas del 1 y 5% de partículas. Se aprecia claramente la correcta disposición de las capas en los modelos impresos en 3D, así como la efectiva integración de las partículas de óxidos de hierro en los scaffolds con partículas. Las **Figura 4-10A** y **Figura 4-10B** exhiben un scaffold fabricado exclusivamente con resina, mostrando una geometría sinusoidal con capas uniformes y regulares. El grosor de las paredes del scaffold es de alrededor de 0.6 mm, mientras que las capas tienen un espesor aproximado de 50  $\mu\text{m}$ . En las **Figura 4-10C-F** se muestran los scaffolds con diferentes porcentajes de magnetita, evidenciando la presencia de partículas en la superficie, siendo más notoria la presencia de estas en el caso de los scaffolds con un 5% de magnetita (RMS5). Se observa un incremento en la rugosidad de las paredes y las capas de los scaffolds a medida que aumenta la concentración de partículas de magnetita, en comparación con los scaffolds control (RP). Este aumento en la rugosidad podría atribuirse a la interferencia de las partículas con la trayectoria óptica de la luz,

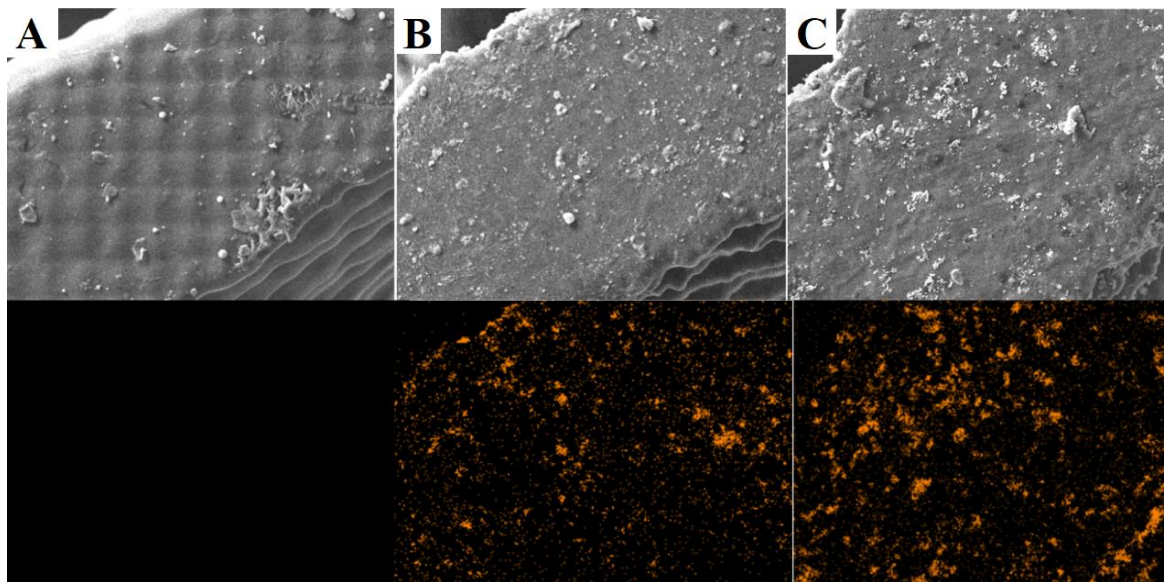
posiblemente mediante procesos de dispersión, cuya distribución en la mezcla es completamente aleatoria y dependiente de la concentración de partículas. Es importante aclarar, que si bien la porosidad macroscópica se pudo observar mediante las imágenes SEM, existe la posibilidad de que las paredes de los scaffolds presenten microporosidades entre capa y capa y alrededor de las partículas que faciliten el anclaje de las células a las paredes de los scaffolds y permitan también la incorporación de nutrientes entre otros. Los resultados revelaron que no hubo diferencias significativas en la contracción entre los scaffolds sin y con partículas como se observó en la **Tabla 4-5**. Esto sugiere que la presencia de partículas no influye en la geometría de los scaffolds, ya que no se observaron modificaciones significativas en comparación con el archivo CAD. Este hallazgo indica que la incorporación de partículas no altera la estructura o la forma de los scaffolds, lo que sugiere una buena integridad geométrica y una alta fidelidad de impresión.

La detección de átomos de hierro en la superficie pudo ser verificada mediante análisis por EDS, como se muestra en detalle en la **Figura 4-11**, donde la presencia de estos átomos se resalta con el color naranja. Específicamente, en la **Figura 4-11C**, se aprecia una concentración más significativa de hierro en comparación con las figuras previas, lo que confirma la presencia más abundante de partículas de óxido de hierro en estos scaffolds. Este hallazgo refuerza la idea de una correcta incorporación y distribución de las partículas de hierro en la estructura de los scaffolds, lo que podría tener implicaciones importantes en cuanto a sus propiedades y aplicaciones futuras.

**Figura 4-10:** Fotomicrografías SEM de los scaffolds fabricados por MSLA. A) y B) Fotomicrografías SEM de scaffold R. C) y D) Fotomicrografía SEM de scaffold RMS1. E) y F) Fotomicrografías SEM de scaffold RMS5.



**Figura 4-11:** Fotomicrografías SEM y su respectivo mapa colorimétrico a partir de EDS para el átomo de hierro. A) Scaffold RP. B) Scaffold RMS1. C) Scaffold RMS5.



## 4.8 Caracterización magnética de los scaffolds

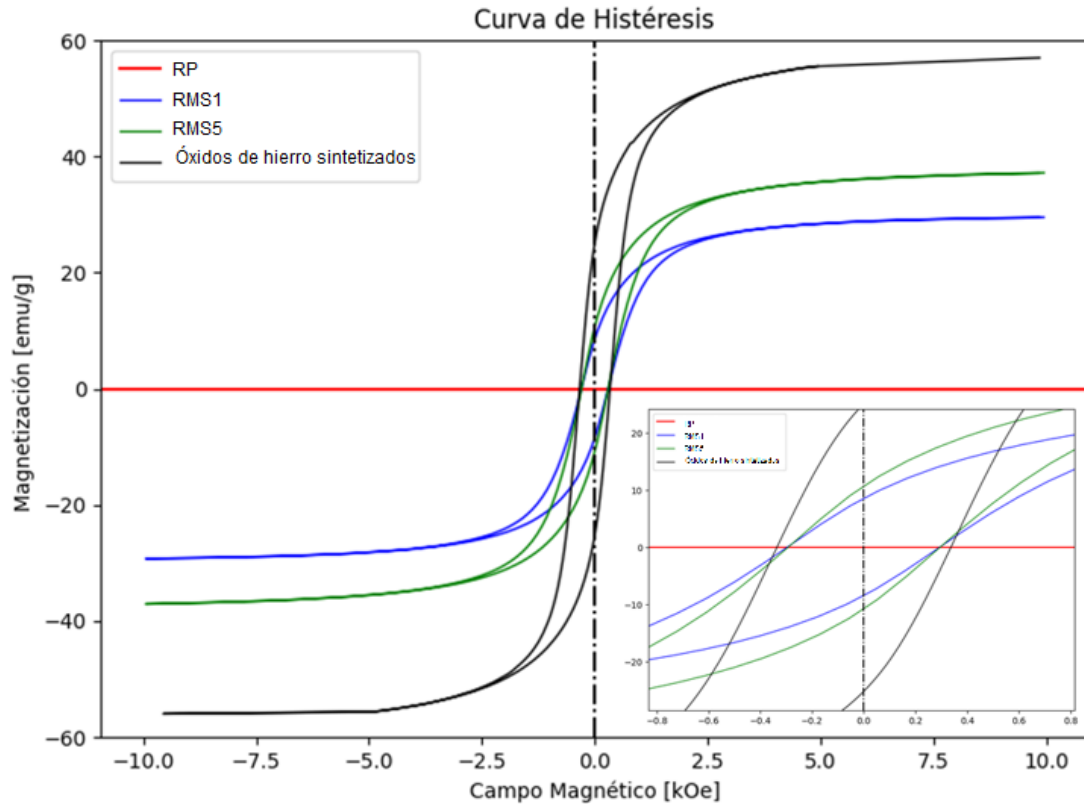
La **Figura 4-12** presenta las curvas de histéresis magnética de los scaffolds obtenidos mediante la utilización de resina pura y resina con partículas de óxidos de hierro sintetizados, a concentraciones del 1% y 5% en peso por peso. Como se detalló en la sección experimental, para garantizar una precisión óptima en la recopilación de información sobre las propiedades magnéticas, fue necesario determinar el contenido real de magnetita en cada tipo de scaffold y luego normalizar los datos. Esto se realizó mediante los análisis del comportamiento térmico de la resina. Este método se basa principalmente en la evaporación controlada de la resina, y la determinación del material inorgánico presente en las mezclas lo cual facilita la evaluación magnética de las muestras ya que para las curvas de magnetometría es necesario conocer el peso real del componente magnético de cada elemento. La **Tabla 4-6** complementa esta información al mostrar el contenido real de material magnético en cada tipo de scaffold. La **Figura 4-13** presenta las curvas de histéresis resultantes del análisis por VSM de los scaffolds obtenidos. La curvas representadas en la **Figura 4-12** permiten categorizar los materiales estudiados como materiales magnéticos blandos, excepto la resina pura, la cual no presentó ningún tipo de comportamiento magnético como era de esperarse. La **Tabla 4-7** proporciona los parámetros magnéticos derivados de las curvas, ofreciendo una comparación entre los diferentes materiales evaluados. Considerando los valores conocidos de magnetita pura, es posible anticipar la existencia de un efecto sinérgico

entre la magnetita y la hematita, lo que podría potenciar el efecto de magnetización observado en los scaffolds. Este análisis de las propiedades magnéticas proporciona una comprensión más completa de la influencia de la composición de los scaffolds en su comportamiento magnético, lo que puede ser crucial para su aplicación en diversas áreas, como la medicina regenerativa o la ingeniería de tejidos. El inserto de la **Figura 4-12** permite observar cómo la concentración de óxidos de hierro afecta claramente algunas de las propiedades magnéticas mientras que otras se mantienen estables. Por ejemplo, los valores de saturación y remanencia magnética claramente tienen un cambio drástico a medida que la concentración de óxidos de hierro aumenta. Sin embargo, la coercitividad no se ve afectada por esta concentración. Esto se debe a que la saturación y la remanencia son parámetros extrínsecos que dependen de la cantidad de materia en la muestra, mientras que la coercitividad es un parámetro intrínseco del material [163].

**Tabla 4-6:** Comparación de concentraciones antes y después de la prueba de determinación de hierro.

Material	Concentración teórica p/p	Concentración real p/p
RP	0%	0%
RMS1	1%	1.092% ± 0.023%
RMS5	5%	4.640% ± 0.042%

**Figura 4-12:** Curvas de histéresis magnética obtenidas por VSM para los Scaffolds obtenidos por MSLA impresas a partir de óxidos de hierro sintetizados. Se realiza un Zoom en la parte central para verificar el comportamiento magnético de las muestras para valores pequeños de magnetización.



**Tabla 4-7:** Parámetros magnéticos de los scaffolds obtenidos por MSLA y de las muestras magnéticas puras. Estos datos se obtienen a partir de las curvas de histéresis de la **Figura 4-12**.

Nomenclatura/ Muestra	Coercitividad (Oe)	Remanencia (emu/g)	Saturación (emu/g)
RP	0	0	0
RMS1	293	11.3	37.1
RMS5	293	12.3	29.4
Óxidos de hierro sintetizados	338	25.3	55.8

De acuerdo con los datos proporcionados en la **Tabla 4-7**, se observa que los scaffolds con una concentración del 5% de óxidos de hierro sintetizados alcanzan un nivel máximo de remanencia

equivalente al 48% del valor de la magnetita pura. Por otro lado, los scaffolds con una concentración del 1% de los mismos óxidos presentan valores de remanencia de hasta el 45% de los óxidos de hierro sintetizados puros. Esto sugiere que, para incrementar el porcentaje de remanencia, sería necesario aumentar la concentración de óxidos de hierro, lo que podría plantear desafíos durante el proceso de impresión 3D debido a los posibles aumentos en la viscosidad y la opacidad del material. Estos patrones de comportamiento son similares a los observados en relación con la saturación y la coercitividad en las muestras sintetizadas. Considerando que los campos magnéticos que han demostrado afectar positivamente la proliferación celular en ensayos celulares están por encima de los 10 emu/g [218], y dada la importancia de la remanencia, que refleja el campo magnético residual en los scaffolds después de la magnetización, aquellos fabricados con óxidos de hierro sintetizados pueden ser considerados prometedores para promover la proliferación celular y merecen ser evaluados en ensayos celulares. Varios efectos han sido reportados en células como resultado de la exposición a campos magnéticos, los cuales podrían esperarse con la presencia de nanopartículas magnéticas, incluyendo mejoras en la formación de hueso ectópico, aceleración de la condrogénesis y calcificación endocondral, así como un aumento en los niveles de marcadores genéticos relacionados con la formación de nuevo hueso, como OCN y P1NP, entre otros posibles efectos [218].

## 4.9 Caracterización mecánica de los scaffolds obtenidos.

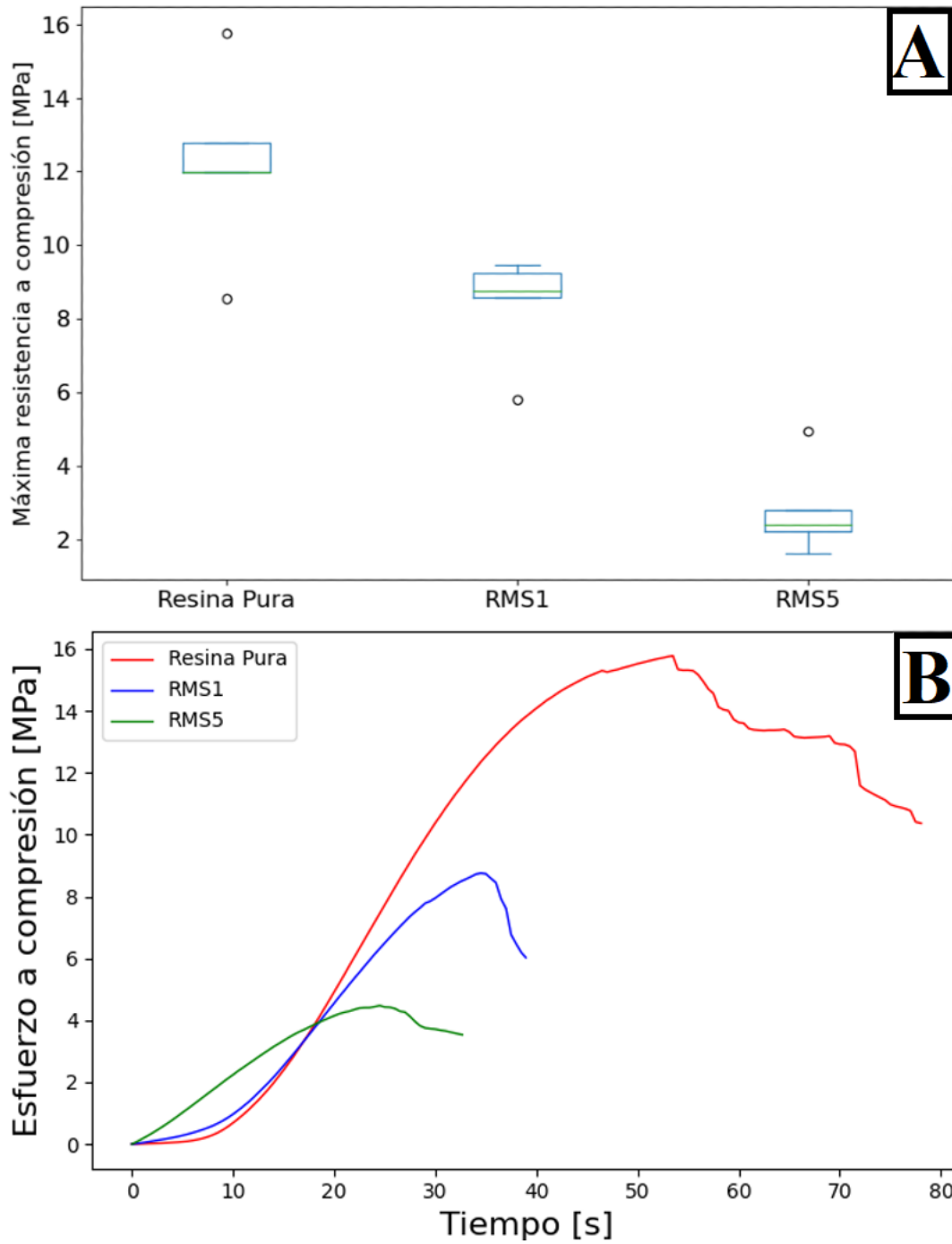
Dado que los scaffolds están destinados principalmente a aplicaciones en la regeneración ósea, es esencial evaluar sus propiedades mecánicas. En la **Figura 4-13**, se representa una curva típica resultante del ensayo de esfuerzo-deformación cuando las muestras se sometieron a fuerzas de compresión. Se observa una relación entre el esfuerzo máximo a la compresión de las muestras y la concentración de óxidos de hierro en los scaffolds. A medida que aumenta la proporción de óxidos de hierro, el esfuerzo máximo a compresión disminuye significativamente, al igual que el módulo de Young, lo que hace que los scaffolds con una concentración del 5% fallen mecánicamente con menores esfuerzos que aquellos con una concentración del 1%. Esta disminución en la resistencia puede atribuirse a las irregularidades presentes en las impresiones y la posible existencia de pequeños defectos alrededor de las partículas dentro de la estructura de la resina, creando áreas de concentración de esfuerzos que debilitan el scaffold y le otorgan una menor resistencia a la compresión. La resina acrílica, debido a su proceso de fotocurado, puede exhibir un comportamiento frágil. Durante el fotocurado, se produce una mayor reticulación de las cadenas poliméricas que conforman la resina [219]. Esta reticulación intensificada, combinada con la presencia de partículas en la resina, puede provocar la formación de pequeñas fracturas alrededor de estas partículas. Estas fracturas tienden a propagarse a lo largo de la matriz de la resina, resultando en una disminución de su resistencia máxima a la compresión [219].

Dado que los scaffolds muestran un deterioro en sus propiedades mecánicas con el aumento de la concentración de óxidos de hierro, y dado que las diferencias de las propiedades magnéticas entre las muestras con un 1% y un 5% de óxidos de hierro son relativamente pequeñas, no parece conveniente utilizar concentraciones mayores de óxidos de hierro en busca de una mayor magnetización. Los valores de resistencia máxima a la compresión obtenidos para los scaffolds con una concentración de hasta el 1% de óxidos de hierro son comparables en gran medida con los valores medidos para huesos trabeculares, que generalmente varían entre 1.5 MPa y 9.7 MPa, con módulos de Young entre 10 MPa y 1058 MPa [220]. La **Tabla 4-8** presenta un resumen de los parámetros obtenidos de las pruebas mecánicas para las tres muestras fabricadas, mostrando que todos los scaffolds exhiben propiedades mecánicas dentro del rango de valores reportados para huesos trabeculares [220].

**Tabla 4-8:** Resumen de propiedades mecánicas para los diferentes scaffolds obtenidos por estereolitografía de mascara MSLA.

Muestra	Resistencia máxima a compresión (MPa)	Desplazamiento Máximo (mm)	Módulo de Young (MPa)
RP	12.2 ± 1.2	0.32 ± 0.03	260.83 ± 40.41
RMS1	8.3 ± 0.6	0.23 ± 0.02	241.89 ± 40.21
RMS5	2.7 ± 0.5	0.21 ± 0.02	85.69 ± 38.39

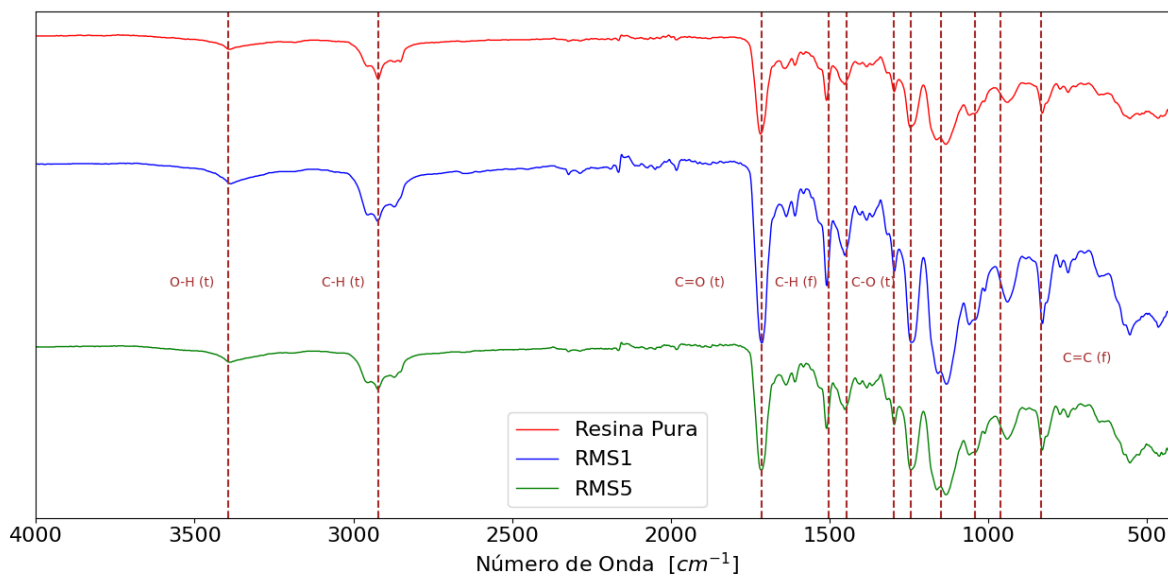
**Figura 4-13.** Resistencia máxima a la compresión de los scaffolds obtenidos por MSLA. A) Datos expresados por medio de diagramas de cajas B) Curvas promedio obtenidas en los ensayos mecánicos.



#### 4.10 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

Con el fin de verificar la estructura química de la resina y las formas de unión entre las partículas de óxidos de hierro y ésta se realizan ensayos FTIR. La **Figura 4-14** exhibe el espectro FTIR tanto de la muestra de resina como de las mezclas de resina con un 1% y un 5% de óxidos de hierro sintetizados. Dado que las resinas utilizadas en la impresión por estereolitografía son predominantemente acrílicas y metacrílicas, se pueden identificar los picos relacionados con las vibraciones de los enlaces químicos asociados a los grupos acrílicos. En la **Tabla 4-9** se detalla la asignación de cada pico a su correspondiente vibración de enlace químico, confirmando la presencia de estas moléculas en la resina analizada. Además, la naturaleza acrílica se confirma por el hecho de que el pico cercano a  $1250\text{ cm}^{-1}$  es simple, mientras que la presencia de metacrilato se manifestaría en un pico doble [221]. No se observan cambios significativos entre los espectros FTIR de la resina pura y las resinas mezcladas con óxidos de hierro en diferentes proporciones, lo que sugiere que no hay una unión química entre las moléculas de óxido de hierro y la resina acrílica. El mecanismo por el cual los óxidos de hierro se integran en la resina podría asociarse con procesos de interacción física. Las partículas magnéticas son rodeadas e inmovilizadas por la resina durante el proceso de fotocurado. Las diferencias entre las características mecánicas de la matriz y las partículas pueden generar contracciones que redunden en pequeños defectos alrededor de las partículas, los cuales disminuyen la resistencia mecánica del cuerpo híbrido obtenido.

**Figura 4-14:** Espectros FTIR de las diferentes mezclas obtenidas a partir de los óxidos de hierro sintetizados.



**Tabla 4-9:** Asignación de picos del espectro FTIR [221].

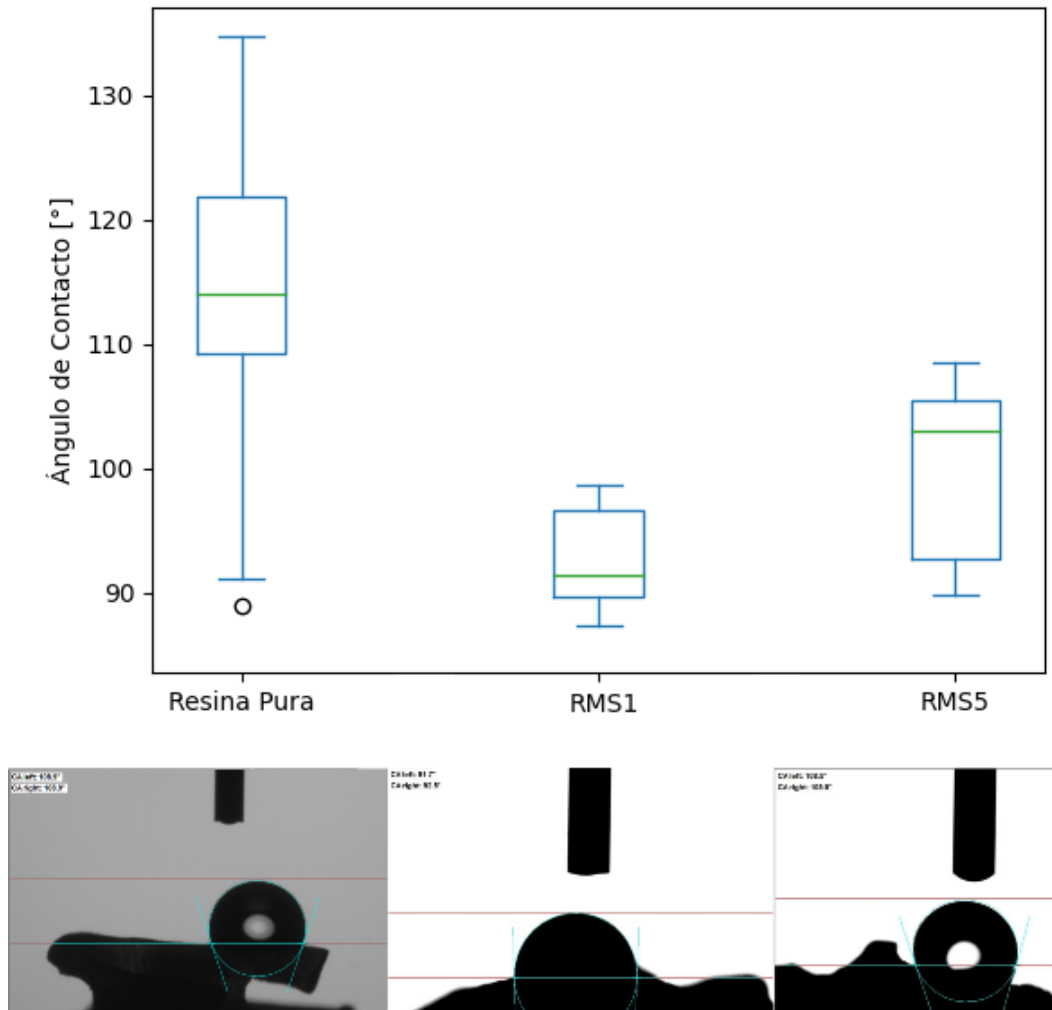
Número de onda ( $cm^{-1}$ )	Tipo de movimiento	Enlace
<b>3394</b>	Tensión	O - H
<b>2996-2838</b>	Tensión	C - H (alcanos)
<b>1713</b>	Tensión	C = O (cetonas)
<b>1446</b>	Flexión	C - H
<b>1297</b>	Tensión	C - O
<b>1245</b>	Tensión	C - O
<b>1148</b>	Tensión	C - O
<b>1043</b>	Tensión	C - O
<b>962</b>	Flexión	C = C
<b>833</b>	Flexión	C = C

#### 4.11 Pruebas de mojabilidad (ángulo de contacto).

En la **Figura 4-15** se presentan los resultados de las mediciones del ángulo de contacto para cada muestra. Se aprecia una disminución del ángulo de contacto al incorporar partículas de óxidos de hierro en la estructura de la resina, lo que conlleva a una reducción de la hidrofobicidad de las muestras. Este fenómeno coincide con los hallazgos de Singh et al. (2014), quienes, al adicionar magnetita a los scaffolds de policaprolactona (PCL), observaron un incremento en la mojabilidad [222]. Se considera que una muestra es hidrofóbica cuando sus ángulos de contacto superan los  $90^\circ$  [223]. La presencia de las partículas magnéticas aumenta la rugosidad y posiblemente genera

microdefectos alrededor de las partículas, en contacto con la resina, facilitando así la concentración de moléculas de agua en esos sitios. También es importante considerar la posible formación de enlaces de Van der Waals entre las partículas y la resina, los cuales podrían influir en la adhesión de las partículas a la matriz. Asimismo, la presencia de enlaces polares, como los enlaces con agua, podría tener un impacto significativo, ya que la resina puede contener cargas disponibles que facilitan la interacción con el agua u otros componentes. A pesar de que la presencia de partículas magnéticas reduce la hidrofobicidad de los scaffolds, estos siguen siendo clasificados como hidrofóbicos, lo que sugiere que se necesitan modificaciones superficiales adicionales, para mejorar el contacto con medios fisiológicos que, a su vez, favorezcan la adhesión celular [80].

**Figura 4-15:** Ángulo de contacto de los diferentes scaffolds obtenidos por MSLA. Se añaden fotos de algunas de las pruebas. Las fotos corresponden a los scaffolds en el mismo orden que los boxplots graficados.

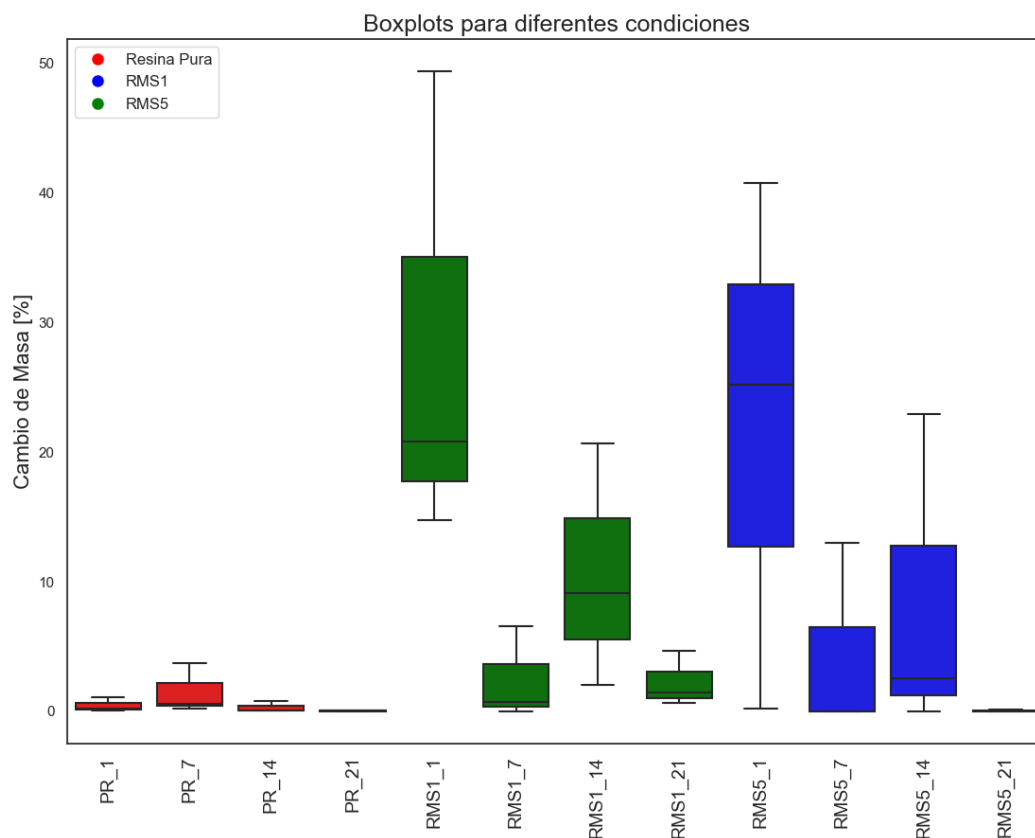


## 4.12 Pruebas de estabilidad y degradación.

Con el propósito de evaluar la capacidad del material del scaffold para degradarse de manera controlada y apropiada dentro del entorno biológico o en su defecto permanecer estable en el tiempo, se realizó la prueba de estabilidad y degradación de los scaffolds a un tiempo de 1, 7, 14 y 21 días siguiendo los lineamientos de la norma ASTM F 1635-95. Los scaffolds mantuvieron su integridad en todas las condiciones examinadas, y el pH se mantuvo constante y cercano al pH inicial del PBS utilizado, que fue de 7.4, lo que sugiere que el material es estable a lo largo del tiempo. Se puede apreciar en la **Figura 4-16** que algunas muestras experimentaron un aumento en

su masa, especialmente evidente en RMS1% y RMS 5% en el primer día de inmersión. Durante este período, comienza el intercambio iónico con el medio circundante, lo que puede resultar en una deposición inicial de las sales del PBS en la superficie, las cuales también pueden quedar retenidas en los poros del material. Este fenómeno también ha sido documentado por Negishi [224]. Sin embargo, la masa disminuye para períodos de inmersión más prolongados, ya que, a los 21 días, los porcentajes de aumento de peso son inferiores al 10%. El intercambio iónico con la solución de PBS también puede implicar la disolución de sales, lo que conduce a una fluctuación en los valores de masa hasta alcanzar la estabilización.

**Figura 4-16:** Prueba de degradación de los scaffolds obtenidos por MSLA a 1, 7, 14 y 21 días de ensayo. Se añade al final un guion con el número de días de ensayo.

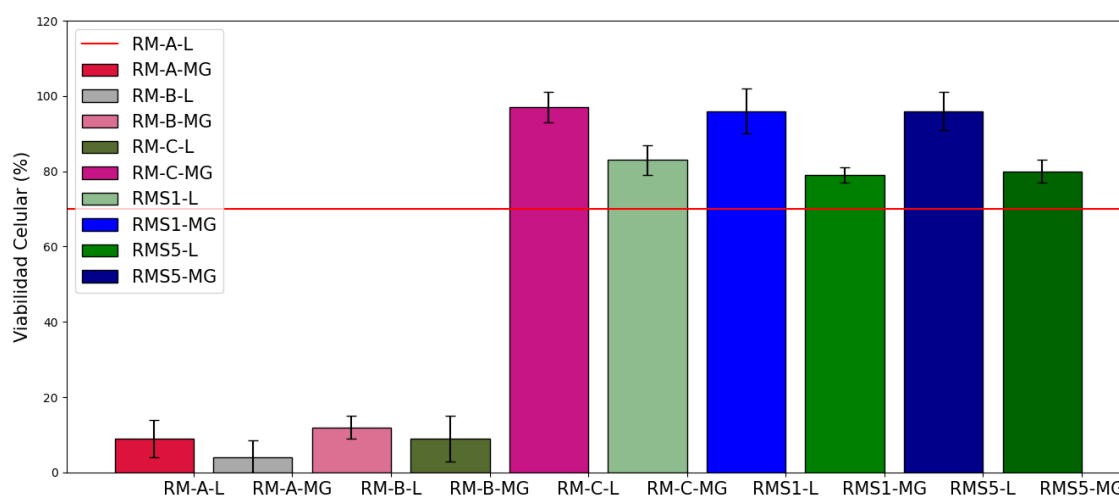


### 4.13 Caracterización biológica (viabilidad celular).

En la **Figura 4-17** se exhiben los resultados del ensayo de citotoxicidad llevado a cabo en las líneas celulares L929 y MG-63. Según los estándares establecidos por la norma ISO 10993-5, un

material se clasifica como citotóxico si la viabilidad celular disminuye por debajo del 70% en comparación con las células no tratadas [225]. Los materiales fabricados no presentan efectos citotóxicos, ya que la viabilidad celular supera el 70%. Aunque la magnetita y los óxidos de hierro en general no han demostrado tener efectos citotóxicos a concentraciones bajas (inferiores a 500  $\mu\text{g/mL}$ ), es importante considerar que los iones  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  son altamente reactivos y pueden inducir estrés oxidativo en las células. La citotoxicidad de estas partículas estará determinada por su estabilidad química [226]. Se ha observado que las partículas nanométricas, especialmente aquellas con diámetros inferiores a los 10 nm, presentan una alta citotoxicidad debido a su propensión a desintegrarse y liberar iones de hierro en el medio [226]. Es crucial mencionar que las partículas micrométricas interactúan físicamente con las células, dado que sus tamaños son comparables. Estas partículas pueden ejercer presión, causar daños y afectar los mecanismos celulares externos, siempre y cuando sus dimensiones sean comparables a las de las células [226]. Las pruebas de degradación han demostrado que el material, en lugar de ir perdiendo masa y posiblemente liberar partículas de óxidos de hierro al medio, va acumulando agua y sales realizando un intercambio iónico, facilitando así el transporte de nutrientes a las células. Este factor puede ratificar el comportamiento no citotóxico de los scaffolds evaluados y confirmar así su potencial utilización en la creación de implantes óseos.

**Figura 4-17:** Ensayo de viabilidad celular por MTT para los diferentes scaffolds obtenidos a partir de MSLA realizado en la línea celular L929 de fibroblastos de ratón (finalizadas con -L) y en la línea celular MG-63 de osteosarcoma humano (finalizados con -MG).



## **5. Conclusiones.**

### **5.1 Conclusiones.**

Se obtuvieron nanopartículas basadas en óxidos de hierro aplicando el método de combustión en solución con tamaños de partículas, fases y propiedades magnéticas adecuadas para su uso como relleno magnético de scaffolds híbridos. El 50% de las partículas se encuentran por debajo de los 87 nm de tamaño, las fases son principalmente magnetita y hematita, ambas no tóxicas para las células y propiedades de remanencia y saturación de 25.3 emu/g y 55.8 emu/g respectivamente, estando dentro del rango de los valores probados experimentalmente para favorecer el comportamiento biológico de muestras probadas en cultivos celulares con campos magnéticos externos (OE1, OE2).

Se logró diseñar un protocolo adecuado para la dispersión de los óxidos de hierro en la resina, fabricando así suspensiones hasta del 5% en peso de óxidos de hierro previamente sintetizados. Las suspensiones permanecen estables por al menos una hora, presentando un comportamiento newtoniano con valores de viscosidad variando entre los 350 mPa\*s y los 380 mPa\*s (OE3). Las mezclas realizadas, resultaron perfectamente utilizables en las máquinas de estereolitografía comerciales, lo cual se comprobó en la obtención satisfactoria de scaffolds de diferentes tamaños y formas (pastillas y cilindros) con geometría controlada (contracciones volumétricas de 3.5%, dentro de los rangos esperados), propiedades mecánicas adecuadas (resistencias máximas a compresión entre 2 MPa y 12 MPa, módulos de Young entre 80 MPa y 260 MPa) y notorias propiedades magnéticas (Remanencias de aproximadamente 11 emu/g y saturaciones de aproximadamente 35 emu/g). Esto fue posible debido a la manipulación de las herramientas de diseño adecuadas y la optimización de parámetros de impresión y postcurado (OE4, OE5).

Los scaffolds desarrollados a partir de la combinación de resina y óxidos de hierro sintetizados en su mínima proporción del 1%, exhiben un conjunto de propiedades magnéticas y mecánicas adecuadas que los posicionan como candidatos ideales para su implementación en procesos de regeneración ósea dentro del ámbito biomédico. La inclusión estratégica de partículas magnéticas

asegura la capacidad de respuesta a campos magnéticos, una característica esencial para potenciar la actividad magnética de los scaffolds en áreas específicas de tratamiento. Además, la integración eficaz de los óxidos de hierro en la matriz de resina confiere una estructura robusta y duradera, esencial para resistir las fuerzas biomecánicas durante el proceso de recuperación y facilitar así la regeneración ósea de manera efectiva y segura (OE6).

La evaluación de la biocompatibilidad de los scaffolds revela un potencial significativo para su aplicación en ensayos clínicos futuros. La ausencia de efectos citotóxicos notables en diversas líneas celulares, reflejo de una viabilidad celular adecuada, respalda la seguridad y la tolerabilidad de estos materiales en entornos biológicos. Este descubrimiento reviste importancia para avanzar en la investigación y desarrollo de terapias de regeneración ósea que se apoyen en la utilización de scaffolds magnéticos, abriendo así nuevas posibilidades en el campo de la medicina regenerativa (OE6).

Al concebir scaffolds para su implementación en aplicaciones biomédicas, es imperativo tener en cuenta un equilibrio armonioso entre las propiedades magnéticas, mecánicas y biológicas. Si bien la capacidad de respuesta magnética resulta fundamental para dirigir la migración y diferenciación celular en el sitio de la lesión, no se debe descuidar la resistencia mecánica del scaffold, ya que esto podría comprometer su integridad estructural y su capacidad para soportar cargas fisiológicas. Además, la biocompatibilidad emerge como un requisito esencial para garantizar una interacción favorable con el entorno biológico y promover una respuesta regenerativa óptima (OE6).



## 6. Productividad académica (artículos y ponencias).

En el marco de esta tesis de maestría se realizó la escritura de un artículo científico nombrado “Utilization of Additive Manufacturing Techniques for the Development of a Novel Material with Magnetic Properties for Potential Application in Enhanced Bone Regeneration” el cual se encuentra aceptado en la revista Small de Wiley.

También se desarrolló el artículo nombrado “Magnetic functionalization of scaffolds via magnetite microparticles extracted from alluvial mining wastes” El cual se encuentra sometido a la revista Journal of Non-Crystalline Solids

Además, se logró la publicación de los siguientes artículos:

- Orozco, Y., Betancur, A., Chavarriaga, E. et al. Influence of NaCl on Magnetic Properties of MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles Synthesized by Gel Combustion. Int. J Self-Propag. High-Temp. Synth. 32, 139–149 (2023). <https://doi.org/10.3103/S106138622302005X>
- Moreno, A.I.; Orozco, Y.; Ocampo, S.; Malagón, S.; Ossa, A.; Peláez-Vargas, A.; Paucar, C.; Lopera, A.; Garcia, C. Effects of Propolis Impregnation on Polylactic Acid (PLA) Scaffolds Loaded with Wollastonite Particles against Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, and Their Coculture for Potential Medical Devices. Polymers 2023, 15, 2629. <https://doi.org/10.3390/polym15122629>
- C. García et al., “Fabrication of polycaprolactone/calcium phosphates hybrid scaffolds impregnated with plant extracts using 3D printing for potential bone regeneration,” vol. 9, no. 2, pp. e13176–e13176, Feb. 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13176>.

Por otro lado, se realizaron las siguientes socializaciones de los resultados de la tesis en eventos científicos:

- VII Encuentro institucional de semilleros de investigación, organizado por la Universidad Francisco de Paula Santander Cúcuta y Seccional Ocaña, con la ponencia titulada como:

“OBTENCIÓN DE SCAFFOLDS COMPUESTOS POLÍMERO/PARTÍCULAS DE MAGNETITA POR MEDIO DE IMPRESIÓN 3D POR ESTEREOLITOGRAFÍA”.

- Segundo Seminario de Investigación de Materiales y Nanotecnología, organizado por la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, con la ponencia titulada como: “Obtención de scaffolds con partículas de magnetita sintetizadas por autocombustión”.
- II Congreso Internacional de Semilleros de Investigación e Innovación: “Desafío Semillero para el Desarrollo Sostenible” con la ponencia titulada como: “DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE SCAFFOLDS MAGNÉTICOS CON POTENCIAL APLICACIÓN EN REGENERACIÓN ÓSEA.”

## A. Métodos de caracterización de biomateriales para regeneración ósea.

En este anexo se expone un breve resumen de las técnicas de caracterización utilizadas en este trabajo de investigación con algunos detalles sobre su funcionamiento.

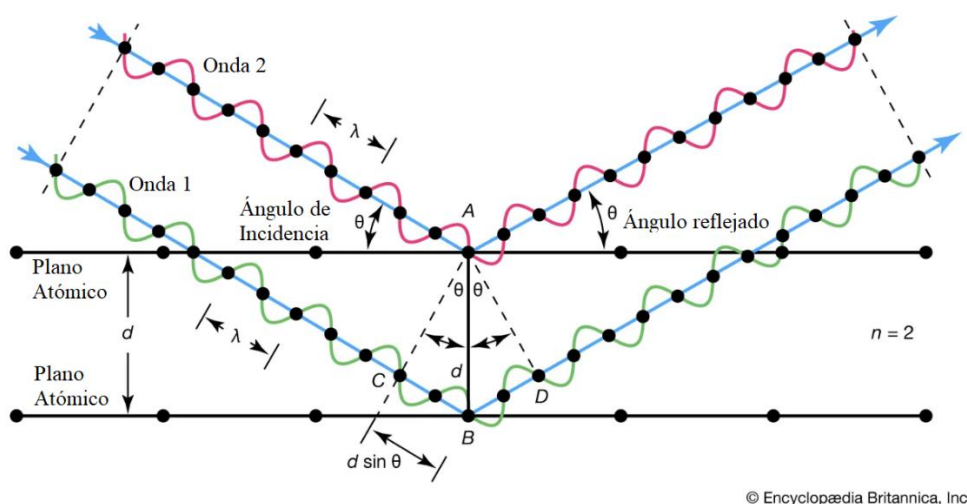
### 1. Difracción de rayos x.

La difracción de rayos X es una técnica fundamental en la caracterización de materiales cristalinos, desempeñando un papel indispensable en la revelación de la estructura cristalina de los mismos. Estos rayos, definidos como una forma de radiación electromagnética de alta energía ubicada entre los rayos gamma y la radiación ultravioleta en el espectro electromagnético, fueron identificados por primera vez por Wilhelm Conrad Röntgen en 1895 [227]. Al incidir sobre un material cristalino, los rayos X interactúan con los átomos dispuestos en una red ordenada, la cual actúa como una “matriz de espejos” que dispersan la radiación en diversas direcciones, fenómeno conocido como difracción. Esta interacción proporciona valiosa información sobre la disposición atómica en el material. El patrón de difracción resultante, manifestado como picos de intensidad en función del ángulo de incidencia de los rayos X, se rige por la ley de Bragg, la cual se puede observar en la Ecuación AI.1. Esta ley establece que la reflexión constructiva ocurre cuando la diferencia de camino óptico entre los rayos reflejados desde planos cristalinos adyacentes es un múltiplo entero de la longitud de onda de los rayos X incidentes. Mediante el análisis de estos picos de intensidad, se puede encontrar con precisión la estructura cristalina del material, incluyendo parámetros como la distancia interplanar y la simetría cristalina, lo que contribuye significativamente al entendimiento y diseño de materiales en diversos campos científicos y tecnológicos [228]. Un esquema aproximado de cómo funciona esta ley puede observarse en la **Figura A-6-1**.

$$2d \sin(\theta) = n\lambda \quad (\text{AI.1})$$

La realización exitosa de la difracción de rayos X implica considerar una serie de parámetros críticos que influyen en la calidad y precisión de los resultados obtenidos. Entre estos, la selección adecuada de la lámpara de rayos X es fundamental, ya que determina la longitud de onda de la radiación incidente, influyendo directamente en la resolución del patrón de difracción. Además, la distancia angular entre los picos de difracción adyacentes, llamada paso, es un parámetro crucial que determina la precisión de la información obtenida sobre la estructura cristalina del material. Una elección precisa de este es esencial para evitar superposiciones entre picos y garantizar una interpretación correcta de los resultados. Otro aspecto importante para considerar es la orientación del cristal en relación con la dirección de incidencia de los rayos X, ya que esta configuración afecta la intensidad y distribución de los picos de difracción observados. Además, es crucial mantener condiciones experimentales estables, como la temperatura y la humedad, para evitar posibles alteraciones en los datos [229].

**Figura A-6-1:** Esquema gráfico de la ley de Bragg y el funcionamiento de la difracción de Rayos X. Traducido y adaptado de [230].



© Encyclopædia Britannica, Inc.

## 2. Refinamiento Rietveld.

El refinamiento Rietveld es una técnica avanzada en cristalografía de polvos que se utiliza para determinar con precisión la estructura cristalina de materiales a partir de datos de difracción de rayos X la cual se basa en el ajuste de parámetros estructurales a los datos experimentales de difracción de rayos X para minimizar la diferencia entre los datos observados y los calculados por

medio de ajustes matemáticos [231]. En el proceso de refinamiento, se tienen en cuenta varios aspectos clave. En primer lugar, es esencial obtener una señal de difracción de alta calidad para un refinamiento Rietveld exitoso [232]. Esto implica preparar muestras de polvo de manera cuidadosa y homogénea, asegurándose de que los cristales estén bien dispersos y no aglomerados. Además, es fundamental utilizar un instrumento de difracción de rayos X de alta resolución con un detector sensible que pueda registrar con precisión la intensidad de la radiación difractada en función del ángulo de dispersión afectando así parámetros como el paso o incluso la lámpara de radiación utilizada. Para materiales magnéticos es importante utilizar una lámpara que no reaccione magnéticamente con la muestra, por ejemplo, lámparas de cobalto [233].

Para llevar a cabo el refinamiento Rietveld, se utilizan modelos matemáticos y algoritmos computacionales que ajustan los parámetros estructurales de un modelo cristalino a los datos experimentales. Los parámetros para refinar incluyen las posiciones atómicas dentro de la celda unitaria, los parámetros de red (longitudes de los lados y ángulos entre ellos), los factores de escala y los parámetros de perfil instrumental que tienen en cuenta el efecto de la forma y el tamaño de los cristales, así como otros efectos experimentales.

Además, durante el refinamiento Rietveld, se debe considerar la función de perfil de difracción y parámetros como la anchura media de pico (FWHM) como se muestra en la **Figura A-6-2**, que describe la forma y la anchura de los picos de difracción observados. Esta función puede incluir términos para el tamaño de cristal, la distorsión microestructural, y otros efectos que afectan la forma de los picos. Ajustar adecuadamente estos parámetros es crucial para obtener un modelo estructural preciso que se ajuste bien a los datos experimentales.

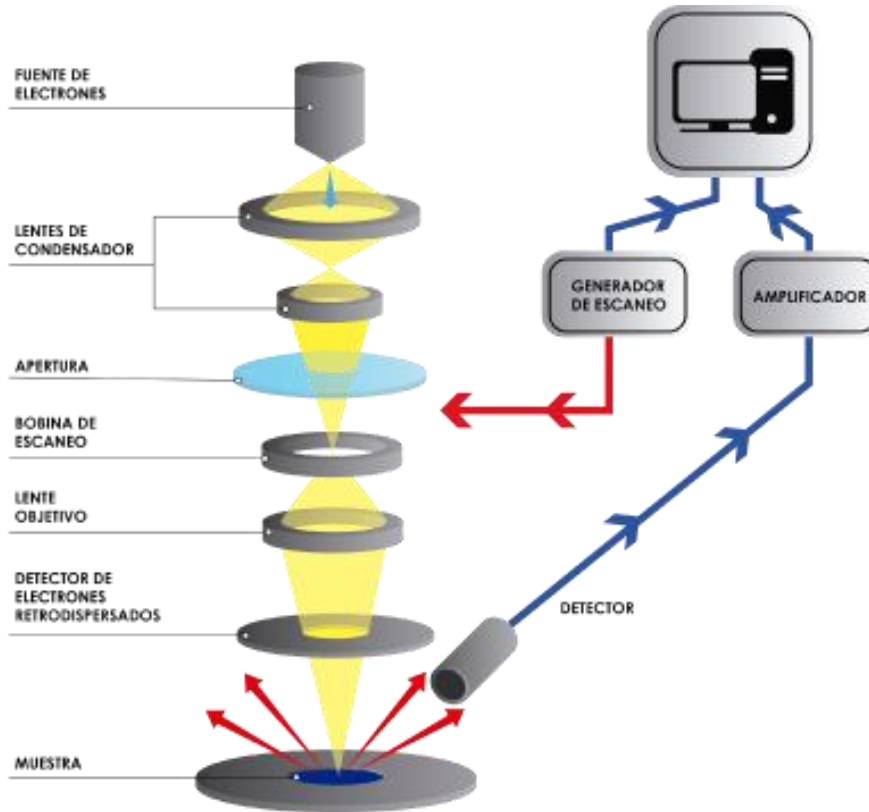


- Se soluciona la estructura utilizando los cálculos convencionales y formulas destinadas para el refinamiento o en su defecto un software especializado para ello. En este caso se utilizó X'pert Highscore.
- Con estos datos se refina la estructura y se calcula el error promedio verificando así un adecuado ajuste. Si el error sobrepasa los valores permitidos por la técnica se repiten los últimos pasos hasta refinar adecuadamente la información.

### 3. Microscopía electrónica de barrido.

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es una técnica sumamente valiosa y adaptable para la caracterización de materiales, gracias a su capacidad para ofrecer imágenes detalladas de la superficie y obtener información precisa sobre la composición elemental y la estructura morfológica de las muestras. En su operación, un haz de electrones se concentra y se orienta hacia la muestra, lo que da lugar a interacciones con los átomos superficiales y la generación de múltiples señales, incluyendo electrones secundarios, retrodispersados y de rayos X característicos. Un esquema de funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido se puede observar en la **Figura A-6-3**. Estas señales, a su vez, son detectadas y empleadas para construir una representación visual detallada de la muestra. El fundamento teórico radica en los principios de dispersión y emisión de electrones durante las interacciones entre los electrones del haz y los átomos del material. Las aplicaciones son amplias y abarcan desde el análisis de fracturas y la caracterización de nanopartículas, hasta la evaluación de materiales en ingeniería de superficies y la investigación en ciencias de materiales y biología celular. En términos de caracterización de materiales, la SEM se convierte en una herramienta esencial para observar la morfología superficial, identificar fases cristalinas, medir el tamaño y distribución de partículas, analizar la textura y rugosidad de la superficie, y mapear la composición elemental mediante el análisis de rayos X dispersados [235–237].

**Figura A-6-3.** Esquema de funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido. Tomado y adaptado de [238].

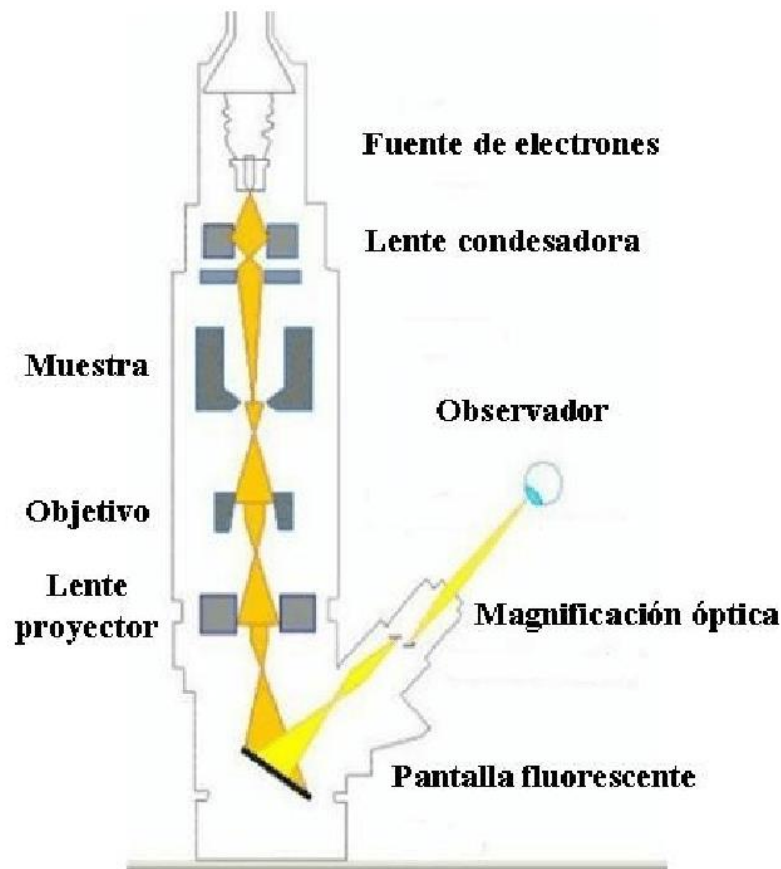


#### 4. Microscopía electrónica de transmisión.

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) se puede ver como una técnica con un potencial inmenso en la caracterización detallada de materiales, destacándose por su capacidad para ofrecer imágenes de alta resolución a nivel subatómico y proporcionar información crítica sobre la estructura cristalina, la morfología y la composición química de las muestras. En su funcionamiento, un haz de electrones altamente energéticos atraviesa una muestra ultradelgada, interactuando con los átomos del material y generando una variedad de señales, incluyendo electrones transmitidos, dispersados y de difracción. Estas señales son captadas por detectores especializados y utilizadas para construir una imagen detallada de la muestra. Un esquema del funcionamiento de un microscopio electrónico de transmisión puede ser observado en la **Figura A-6-4**. El fundamento teórico de la TEM se basa en los principios de interacción de los electrones con la materia y la formación de patrones de interferencia, lo cual permite la obtención de información estructural a escala nanométrica. Las aplicaciones de la TEM son diversas y abarcan

desde la caracterización de nanomateriales y estructuras de capas delgadas hasta el estudio de materiales biológicos y biomoleculares. En el ámbito de la caracterización de materiales, la TEM desempeña un papel crucial al permitir la observación directa de la estructura cristalina, la visualización de defectos y dislocaciones, la determinación de tamaños de nanopartículas y la identificación de fases cristalinas [239–242].

**Figura A-6-4:** Esquema de funcionamiento de un microscopio electrónico de transmisión. Tomado y adaptado de [242].

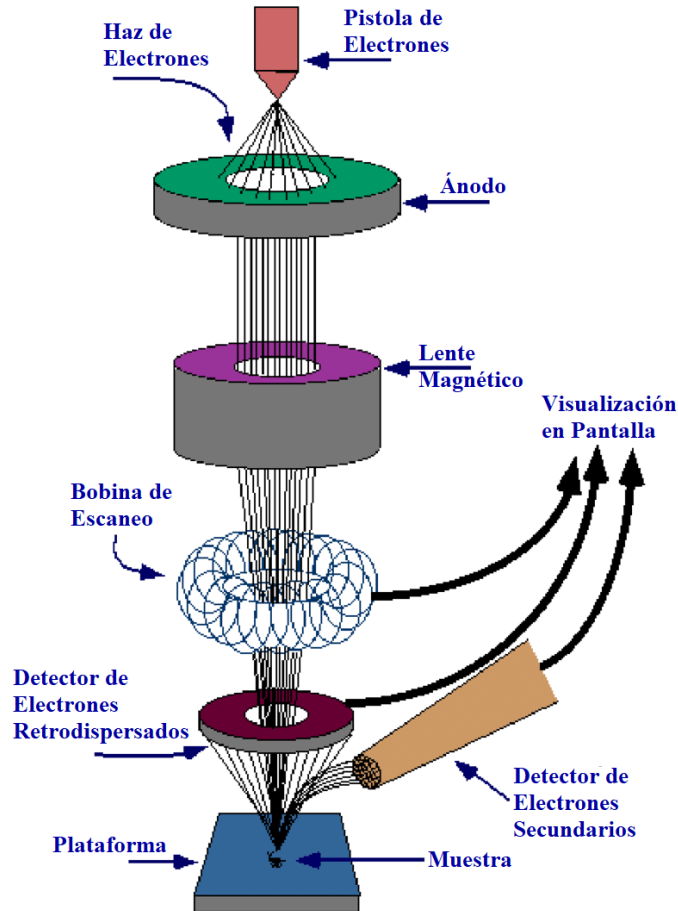


### 5. Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo FESEM.

La microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM) se destaca en el ámbito de la caracterización avanzada de materiales, ofreciendo una resolución excepcional y una profundidad de campo extendida que permite explorar y comprender con gran detalle las características morfológicas y estructurales de las muestras a escalas micro y nanométricas. Su principio de funcionamiento se basa en la generación y dirección de un haz de electrones altamente energéticos hacia la muestra mediante un conjunto de lentes electromagnéticas, lo que resulta en la obtención de imágenes de alta calidad y contraste. Desde una perspectiva teórica, la FESEM se fundamenta

en los procesos de interacción entre los electrones del haz y los átomos de la muestra, así como en la detección y análisis de las señales producidas durante estas interacciones, lo que proporciona una visión detallada de la estructura y composición de los materiales examinados. Las aplicaciones de la FESEM son extremadamente diversas, abarcando desde la caracterización de la morfología superficial de materiales inorgánicos y biológicos, hasta la observación de nanoestructuras y la evaluación de la calidad de recubrimientos y capas delgadas. Dentro del contexto de la caracterización de materiales, la FESEM desempeña un papel crucial al permitir la observación detallada de la topografía de la superficie, la identificación de estructuras a nanoescala, la determinación de tamaños y distribuciones de partículas, y la detección de defectos y anomalías, proporcionando así información valiosa para la comprensión y optimización de diversos materiales y dispositivos. En resumen, la microscopía electrónica de barrido de campo emerge como una herramienta esencial en la investigación y el desarrollo de materiales, brindando una capacidad sin igual para explorar y analizar muestras a nivel micro y nanométrico, y contribuyendo así al avance continuo en una amplia gama de disciplinas científicas y tecnológicas [243–247].

**Figura A-6-5:** Esquema de funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM). Tomado, adaptado y traducido de [245].

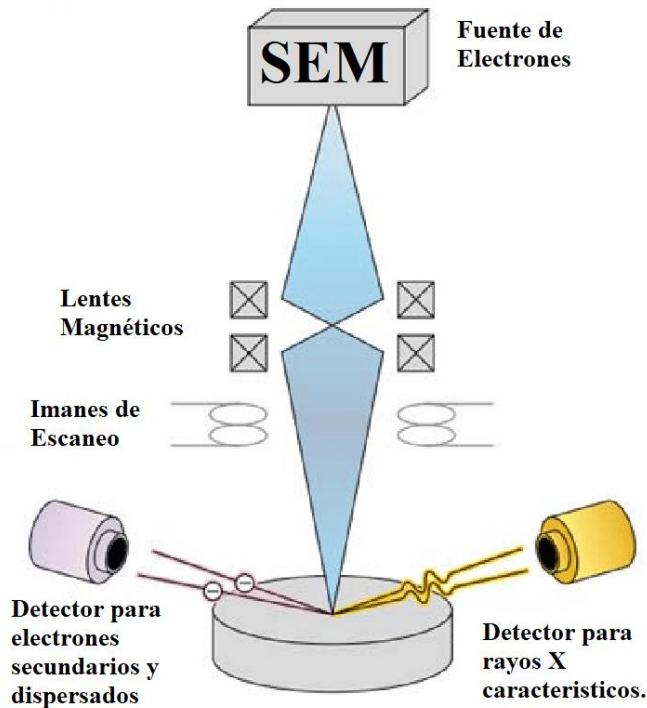


## 6. EDX.

La técnica de análisis por energía dispersiva de rayos X (EDX) se utiliza como una herramienta analítica de suma importancia en el campo de la caracterización de materiales, ofreciendo una capacidad sin igual para indagar en la composición elemental de muestras sólidas con un alto grado de detalle y precisión. Su funcionamiento se basa en el aprovechamiento de la interacción entre un haz de electrones de alta energía y la muestra bajo análisis en un entorno de microscopía electrónica de barrido (SEM). En este proceso, la excitación de los electrones de las capas internas de los átomos de la muestra conlleva a la emisión de rayos X característicos, cuya detección y análisis proporcionan valiosa información sobre los elementos presentes y su concentración en la muestra. Este enfoque teórico se sustenta en los principios fundamentales de la interacción de los electrones incidentes con la materia, así como en los procesos de emisión de rayos X asociados con

la relajación electrónica. Las aplicaciones del análisis EDX son diversas y abarcan desde la identificación elemental hasta la cuantificación precisa de la composición, así como el mapeo elemental de la distribución espacial en la muestra estudiada. En el contexto de la caracterización de materiales, el análisis EDX desempeña un rol esencial al proporcionar una comprensión detallada de la composición química, permitiendo la identificación de fases, la evaluación de la homogeneidad composicional y el análisis de la distribución de elementos a nivel microscópico. En síntesis, el análisis por energía dispersiva de rayos X emerge como una herramienta insustituible en la investigación y desarrollo de materiales, contribuyendo de manera significativa al avance científico y tecnológico en diversos campos de aplicación mediante su capacidad para sondear la composición elemental con precisión y profundidad [248–251].

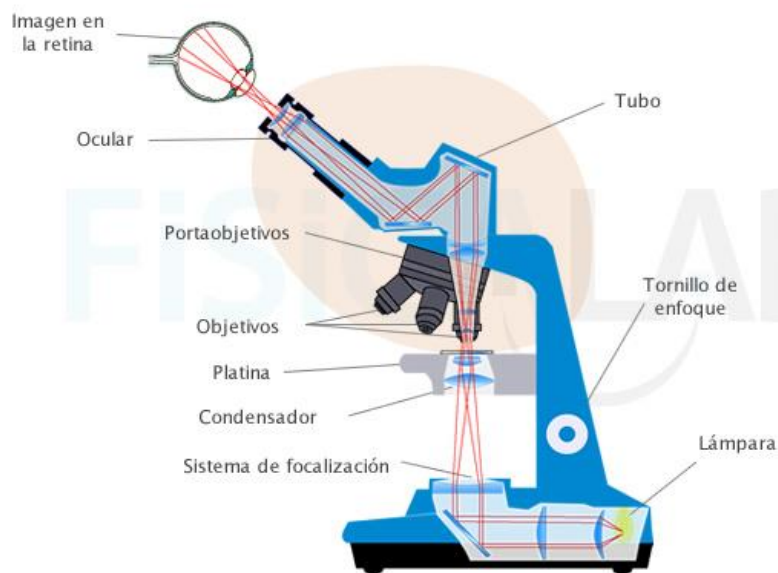
**Figura A-6-6:** Esquema de funcionamiento de análisis por energía dispersiva de rayos X (EDX).  
Tomado, adaptado y traducido de [250]



## 7. Microscopía óptica.

La microscopía óptica convencional, también conocida como microscopía de luz visible, se destaca como una técnica esencial en el vasto ámbito de la caracterización de materiales, ofreciendo una ventana de observación detallada a escalas microscópicas. Su funcionamiento se basa en la interacción de la luz visible con la muestra en estudio, lo que permite la generación de imágenes amplificadas que revelan aspectos morfológicos, estructurales y ópticos de los materiales examinados. Desde una perspectiva teórica, la microscopía óptica se apoya en los fundamentos de la óptica clásica, tales como la refracción, la dispersión y la difracción de la luz, así como en el diseño y funcionamiento de sistemas ópticos complejos que incluyen lentes y sistemas de iluminación adecuados. Las aplicaciones de la microscopía óptica son variadas y abarcan desde la observación de células vivas y tejidos biológicos hasta la inspección de materiales en campos como la metalurgia, la cerámica y la industria farmacéutica. En el contexto de la caracterización de materiales, la microscopía óptica desempeña un papel esencial al proporcionar una visión detallada de la morfología superficial, la estructura interna y las propiedades ópticas de las muestras, lo que permite la identificación de características cruciales y la evaluación de la calidad y el rendimiento de los materiales en estudio. En conclusión, la microscopía óptica convencional se presenta como una herramienta indispensable en la investigación y el desarrollo de materiales, brindando una visión amplia y accesible que contribuye significativamente al progreso científico y tecnológico en una amplia gama de disciplinas y aplicaciones [252].

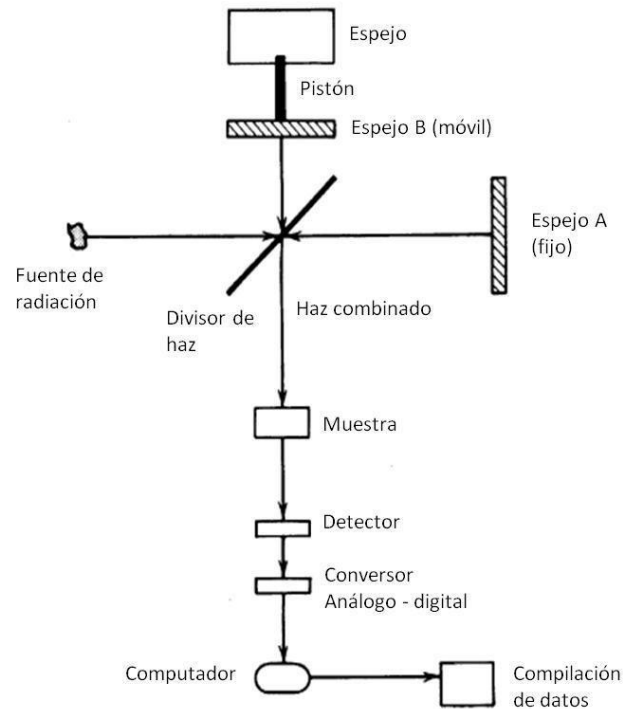
**Figura A-6-7:** Esquema de funcionamiento de la microscopía óptica convencional. Tomado y adaptado de [253].



## 8. FTIR.

La técnica de espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) se presenta como un método analítico altamente valioso y versátil en el estudio y caracterización de materiales, ofreciendo una profunda comprensión de su composición química y estructura molecular. Su funcionamiento se basa en la interacción entre la radiación infrarroja y la muestra analizada, que provoca la absorción de energía por parte de los enlaces químicos presentes. Esta absorción produce un espectro único para cada muestra, revelando información específica sobre los grupos funcionales y componentes presentes en la muestra. La técnica FTIR se fundamenta en los principios de la espectroscopia infrarroja, que explora las vibraciones moleculares y las transiciones electrónicas en la muestra. Sus aplicaciones son diversas, abarcando desde el análisis de polímeros y materiales orgánicos hasta la caracterización de compuestos inorgánicos y la identificación de contaminantes. En el ámbito de la caracterización de materiales, la FTIR desempeña un rol esencial al proporcionar detalles precisos sobre la composición química y la estructura molecular, permitiendo la identificación de compuestos específicos y el estudio de las interacciones moleculares en diversos sistemas. En términos generales, la FTIR emerge como una técnica indispensable para investigadores, científicos e ingenieros en la exploración y desarrollo de materiales, brindando una herramienta efectiva para el análisis químico y la evaluación de muestras en una amplia gama de industrias, desde la farmacéutica hasta la manufactura de materiales [254–258].

**Figura A-6-8:** Esquema de funcionamiento de un espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). Tomado y adaptado de [255].

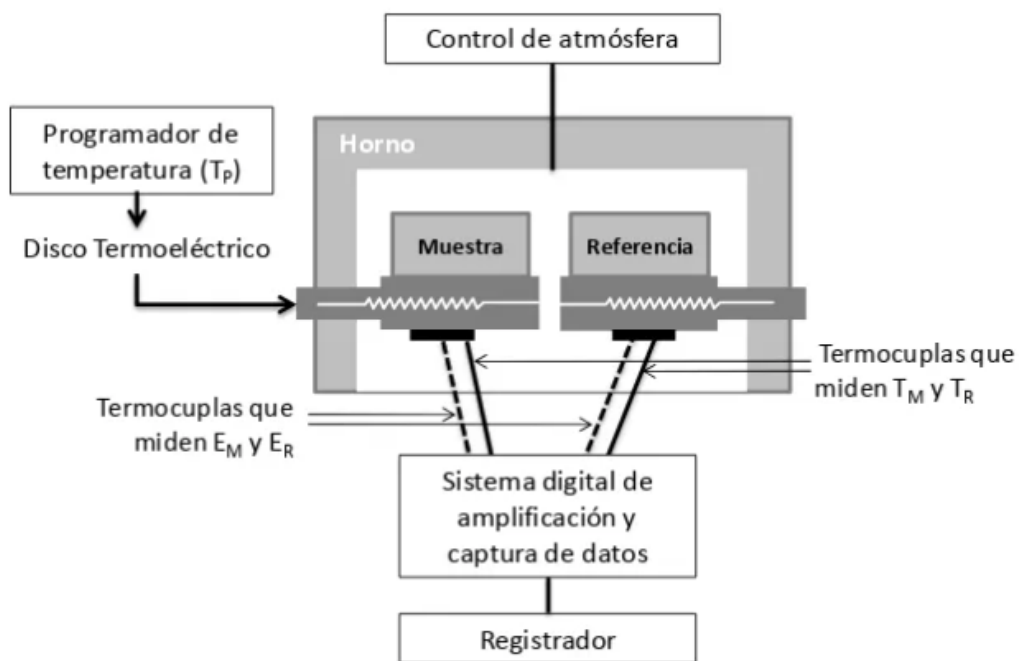


## 9. DSC.

La técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se destaca como un método crucial para analizar las propiedades térmicas de materiales, brindando una comprensión detallada sobre transiciones de fase, estabilidad térmica y comportamiento calorimétrico de las muestras. Su funcionamiento se basa en la medición de la diferencia de calor absorbido o liberado por la muestra en comparación con un material de referencia, mientras ambos son sometidos a un programa de temperatura controlado. Este enfoque permite identificar cambios en el calor específico y en la entalpía, revelando eventos como fusión, cristalización o reacciones químicas. Conceptualmente, la DSC se fundamenta en principios de termodinámica y calorimetría, que describen la relación entre el calor transferido y los cambios de temperatura en un sistema. Sus aplicaciones son amplias, abarcando desde la caracterización de polímeros hasta la evaluación de productos farmacéuticos y alimentos. En el ámbito de la caracterización de materiales, la DSC desempeña un papel esencial al proporcionar información detallada sobre sus propiedades térmicas, permitiendo comprender su comportamiento frente a variaciones de temperatura y evaluando su estabilidad y desempeño en diversas aplicaciones. En resumen, la calorimetría diferencial de barrido emerge como una técnica indispensable en la investigación y desarrollo de

materiales, brindando una valiosa herramienta para el análisis de propiedades térmicas y caracterización de muestras en una amplia gama de campos industriales, científicos y académicos [214, 259–261].

**Figura A-6-9:** Esquema de funcionamiento del análisis DSC. Tomado y adaptado de [259].

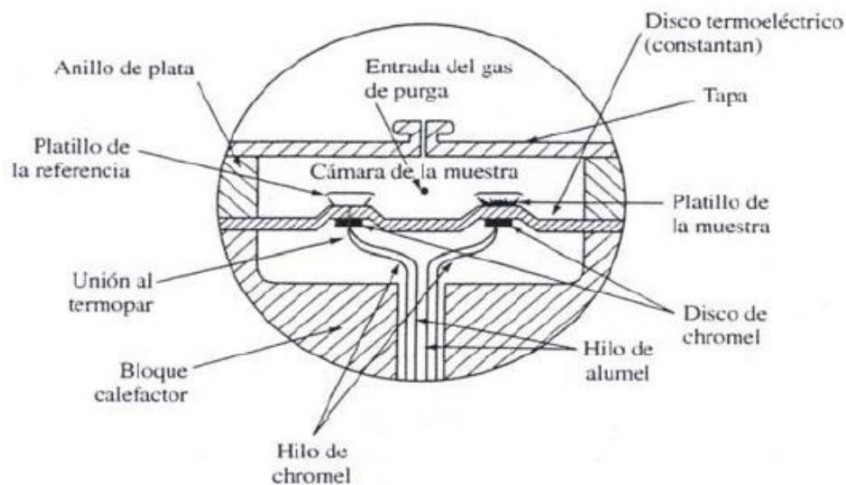


## 10. TGA.

La termogravimetría (TGA) es una técnica invaluable en el universo de la caracterización de materiales, proporcionando un conocimiento detallado sobre la estabilidad térmica, la composición y los procesos de descomposición de las muestras bajo análisis. Su operatividad radica en la observación continua de la masa de una muestra mientras se somete a un programa de temperatura controlada en una atmósfera específica, ya sea inerte o reactiva. Durante este proceso de calentamiento, la TGA registra los cambios en la masa de la muestra en función de la temperatura, permitiendo detectar alteraciones asociadas a la pérdida o ganancia de masa, que a menudo están vinculadas con procesos como descomposición, sublimación, evaporación u oxidación [262]. A nivel conceptual, esta técnica se sustenta en los principios de la termogravimetría, los cuales establecen una relación entre los cambios de masa y las transformaciones físicas o químicas que experimenta la muestra en respuesta al aumento de temperatura. El ámbito de aplicación de la TGA es amplio y diverso, abarcando desde el análisis de polímeros y materiales compuestos hasta

la caracterización de minerales, biomateriales y productos farmacéuticos. En el contexto de la caracterización de materiales, la TGA desempeña un rol esencial al proporcionar una visión detallada sobre la estabilidad térmica y composición de las muestras, permitiendo evaluar su respuesta ante variaciones de temperatura y ambiente, así como comprender procesos de descomposición y determinar propiedades cruciales como el contenido de materia orgánica, la humedad o la pureza de los materiales. En conclusión, la termogravimetría se presenta como una herramienta indispensable en la investigación y desarrollo de materiales, ofreciendo una valiosa contribución al análisis de propiedades térmicas y la caracterización de muestras en una amplia gama de aplicaciones industriales, científicas y académicas [262–264].

**Figura A-6-10:** Esquema general de un equipo de termogravimetría (TGA). Tomado y adaptado de [262].

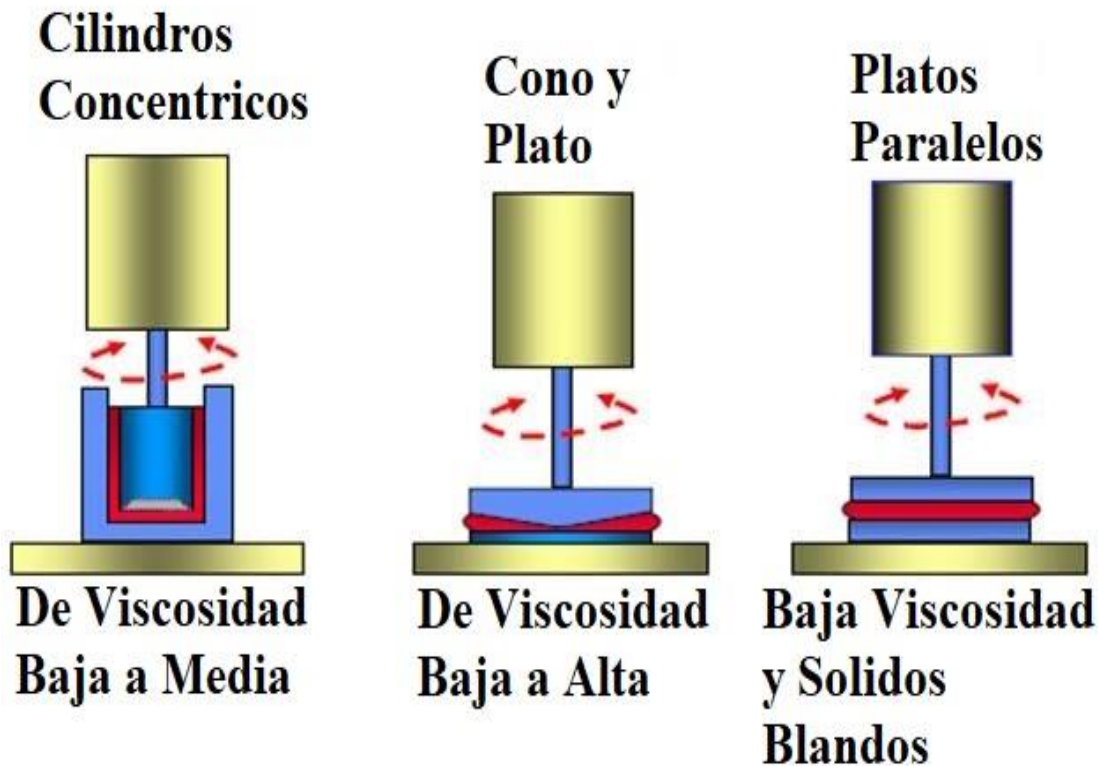


## 11. Reología.

La reología, un campo esencial en la física de materiales, se dedica al estudio de cómo la materia responde al flujo y la deformación cuando se ve afectada por fuerzas externas, derivando su nombre del griego rheo (fluir) y logos (ciencia) [200]. Este campo profundiza en los comportamientos viscosos y elásticos de los materiales, brindando una comprensión fundamental con aplicaciones prácticas en diversas industrias. Dentro del ámbito de la reología, el reómetro juega un papel de suma importancia, un instrumento meticulosamente diseñado para evaluar las propiedades reológicas de diferentes materiales, aplicando fuerzas controladas sobre una muestra y midiendo su respuesta en términos de deformación, flujo y resistencia al flujo, siendo los datos recopilados esenciales para entender cómo los materiales se comportan bajo diversas condiciones y

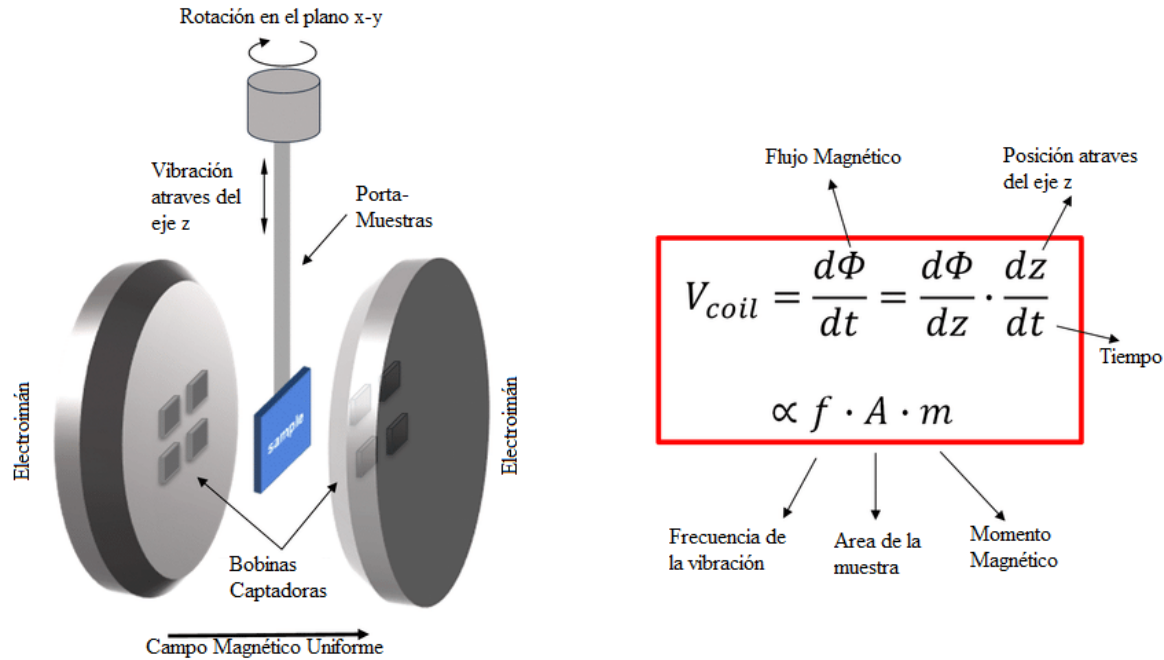
fuerzas, crítico para el diseño y la mejora de procesos y productos en distintos sectores industriales. En los estudios experimentales sobre reología, se emplea un enfoque meticuloso que implica la aplicación de diferentes tipos de fuerzas controladas sobre las muestras, como tensiones de corte, torsión o compresión, y se registra y analiza la respuesta correspondiente en términos de tensión, deformación, velocidad de flujo y otras variables relevantes. Los resultados obtenidos a través del uso del reómetro son examinados con minuciosidad, considerando las implicaciones que tienen en relación con la comprensión y la aplicación de las propiedades reológicas de los materiales en diversos entornos industriales y científicos. En resumen, tanto la reología como el empleo del reómetro para la caracterización de materiales son elementos fundamentales para entender cómo los materiales se comportan bajo distintas condiciones, lo cual tiene repercusiones significativas tanto en la industria como en la investigación científica [200, 265].

**Figura A-6-11:** Esquema de configuraciones que se utilizan en un reómetro para caracterizar reológicamente diferentes tipos de muestras. Tomado, adaptado y traducido de [265].



El Vibrating Sample Magnetometer (VSM), conocido como magnetómetro de muestra vibrante en español, representa una pieza fundamental en la caracterización de materiales, especialmente en lo concerniente a sus propiedades magnéticas. Este instrumento se apoya en el principio de que un material magnético, al ser sometido a un campo magnético alternante, muestra una respuesta vibratoria que está directamente correlacionada con sus características magnéticas. La función del VSM radica en medir esta respuesta vibratoria para determinar una serie de parámetros cruciales, como la magnetización remanente, la coercitividad y la susceptibilidad magnética de la muestra en análisis. Asimismo, el VSM ofrece una valiosa perspectiva sobre la curva de histéresis magnética de un material, lo cual es esencial para comprender su comportamiento magnético bajo diversas condiciones. En el ámbito de la investigación y desarrollo de materiales, el VSM desempeña un rol vital al permitir a científicos e ingenieros caracterizar y entender las propiedades magnéticas de una amplia gama de materiales. Este conocimiento resulta crucial en numerosas aplicaciones, desde la fabricación de dispositivos electrónicos hasta la investigación en nanomateriales y la exploración espacial. En consecuencia, el VSM emerge como una herramienta indispensable que proporciona información valiosa para impulsar el progreso científico y tecnológico en diversos campos de estudio [266–269].

**Figura A-6-12:** Esquema de funcionamiento de un magnetómetro de muestra vibrante a la izquierda. A la derecha las relaciones físicas que controlan su funcionamiento. Tomado, adaptado y traducido de [268].

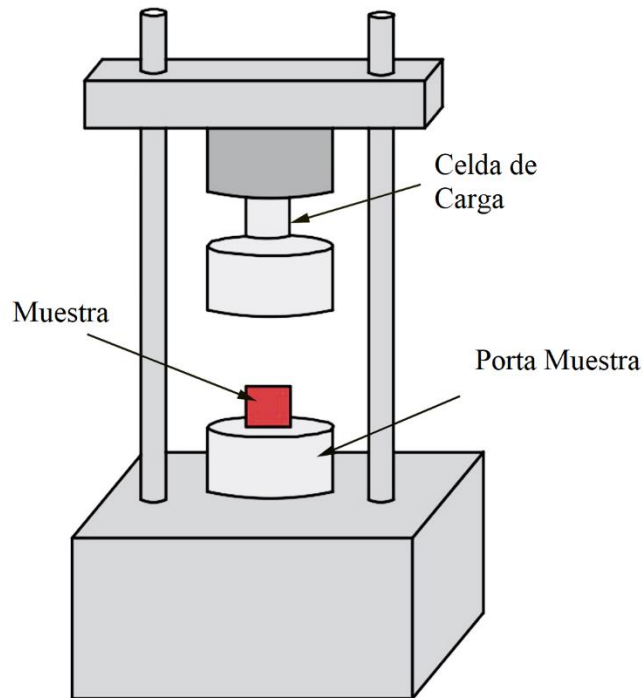


### 13. Ensayos mecánicos.

Los ensayos mecánicos tienen una relevancia crítica en la exploración y comprensión de las propiedades de los materiales, ya que permiten una evaluación detallada de su comportamiento bajo diferentes condiciones y cargas. Estos ensayos abarcan pruebas de tracción, compresión, flexión, torsión, entre otros, brindando información esencial sobre resistencia, elasticidad, ductilidad y tenacidad, entre otras propiedades fundamentales que influyen en su rendimiento en diversas aplicaciones. Dentro de esta variedad, los ensayos de compresión se destacan como una herramienta indispensable, especialmente en situaciones donde los materiales enfrentan cargas compresivas, como en la construcción de estructuras y componentes. Durante los ensayos de compresión, se aplica una fuerza axial que tiende a reducir el volumen de la muestra, lo que induce una deformación compresiva en el material. Se registran y analizan tanto la fuerza aplicada como la deformación resultante para determinar propiedades clave, como el módulo de elasticidad, la resistencia a la compresión, la plasticidad y la capacidad de absorción de energía antes de la falla. Estos datos son esenciales para comprender cómo un material responde a las fuerzas compresivas y

cómo puede soportarlas en diferentes situaciones. En términos prácticos, los ensayos de compresión tienen aplicaciones amplias, desde la evaluación de materiales de construcción como el hormigón y la piedra hasta la caracterización de materiales utilizados en la fabricación de componentes automotrices y aeroespaciales. Además de su importancia industrial, estos ensayos son fundamentales en la investigación científica para comprender mejor las propiedades de los materiales y desarrollar nuevos materiales con propiedades mejoradas. En resumen, los ensayos de compresión son una herramienta esencial en la caracterización de materiales, proporcionando información detallada que influye en el diseño, la selección y la optimización de materiales en una amplia variedad de aplicaciones industriales y científicas [270].

**Figura A-6-13:** Esquema de una máquina universal de propiedades mecánicas en la cual se realiza un ensayo a compresión. Tomado, adaptado y traducido de [271]

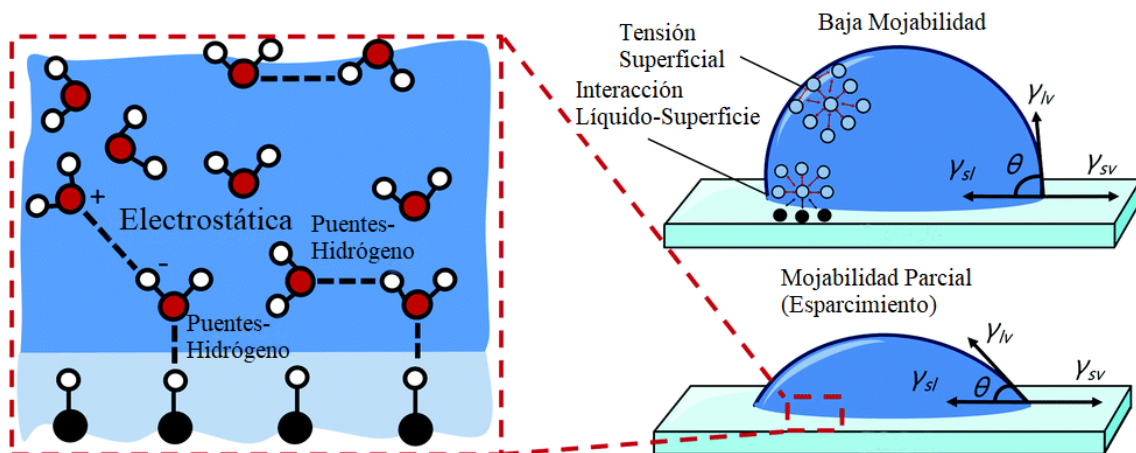


#### 14. Angulo de contacto.

Las pruebas de ángulo de contacto se han convertido en un método de evaluación frecuentemente empleado para analizar la mojabilidad de las superficies y el comportamiento de los líquidos en interacción con sólidos. Este procedimiento se fundamenta en la medición del ángulo creado por la intersección de una gota de líquido con la superficie sólida en cuestión. La información obtenida de este ángulo es esencial para comprender la afinidad relativa entre el líquido y la superficie

sólida, lo que tiene un impacto directo en una variedad de procesos, incluyendo la adhesión, la lubricación y la capacidad de recubrimiento. Para llevar a cabo esta medición con precisión, generalmente se recurre a un instrumento llamado goniómetro, que permite una observación detallada y la medición precisa del ángulo de contacto entre el líquido y el sólido. Este ángulo puede variar desde  $0^\circ$  hasta  $180^\circ$ , reflejando la interacción específica entre el líquido y la superficie sólida. Un ángulo cercano a  $0^\circ$  indica una superficie altamente hidrofílica, donde el líquido tiende a extenderse sobre la superficie, mientras que un ángulo cercano a  $180^\circ$  indica una superficie altamente hidrofóbica, donde el líquido forma una gota esférica y apenas toca la superficie. Estas pruebas son ampliamente aplicadas en diversas industrias, abarcando desde la farmacéutica, textil, cosmética, electrónica y de materiales. Por ejemplo, en el ámbito textil, se utilizan para evaluar la capacidad de los tejidos para repeler líquidos y manchas, mientras que en la industria farmacéutica, son útiles para estudiar la absorción de medicamentos y la adherencia de recubrimientos en tabletas. En el sector electrónico, estas pruebas permiten evaluar la humectabilidad de las superficies de soldadura y la efectividad de los recubrimientos protectores. En resumen, las pruebas de ángulo de contacto representan una herramienta invaluable para analizar la mojabilidad de las superficies y comprender la interacción entre líquidos y sólidos en una amplia gama de aplicaciones industriales y científicas [272].

**Figura A-6-14:** Esquema del análisis de los ensayos de mojabilidad y ángulo de contacto. Tomado, adaptado y traducido de [272].



## 15. Degradación e hinchamiento.

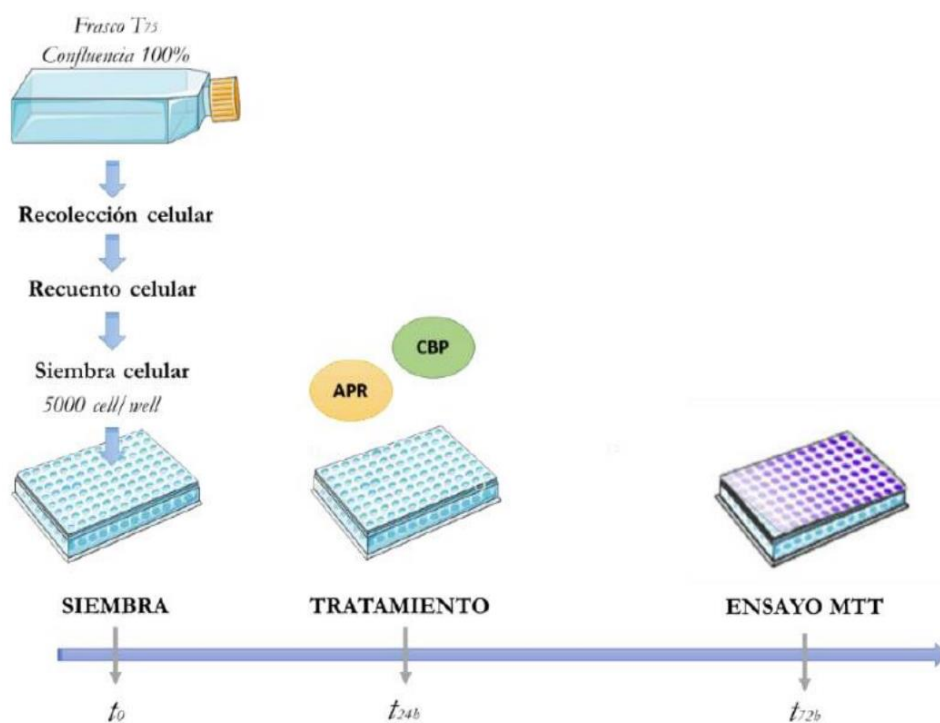
Las pruebas de degradación e hinchamiento son procedimientos esenciales para determinar la estabilidad y resistencia de los materiales frente a condiciones ambientales adversas. Estas pruebas tienen como objetivo principal analizar las reacciones y cambios que experimentan los materiales cuando se exponen a factores como la humedad, la temperatura, la radiación ultravioleta y diversos productos químicos. En el caso de las pruebas de degradación, se someten los materiales a un proceso de envejecimiento acelerado que simula las condiciones ambientales durante un período de tiempo más corto. Esto implica exponerlos a condiciones como luz solar simulada, humedad controlada y temperaturas elevadas, lo que permite evaluar su estabilidad y detectar posibles cambios en sus propiedades físicas, químicas y mecánicas. Por otro lado, las pruebas de hinchamiento se centran en determinar la capacidad de los materiales para absorber líquidos y expandirse como consecuencia. Estas pruebas son especialmente relevantes para materiales porosos como polímeros y compuestos, donde el hinchamiento puede tener un impacto significativo en sus propiedades y rendimiento. Estas pruebas son utilizadas en una variedad de industrias, incluyendo la automotriz, la construcción, la electrónica y la industria química. Por ejemplo, en la industria automotriz, son fundamentales para garantizar la durabilidad y resistencia de los componentes expuestos a condiciones ambientales adversas. En el sector de la construcción, se emplean para evaluar la resistencia de materiales como pinturas, revestimientos y selladores ante la exposición al agua y la humedad. En la industria electrónica, estas pruebas contribuyen a determinar la vida útil y fiabilidad de dispositivos y componentes expuestos a condiciones ambientales variables. En conclusión, las pruebas de degradación e hinchamiento son herramientas esenciales para evaluar la resistencia y durabilidad de los materiales frente a condiciones ambientales adversas, lo que garantiza su rendimiento óptimo en una amplia gama de aplicaciones industriales [273].

### **16. Viabilidad Celular.**

La viabilidad celular y el ensayo MTT son dos métodos cruciales en el campo de la biología celular y molecular, utilizados para examinar tanto la salud como la capacidad de proliferación de las células. Estas técnicas son indispensables en la investigación biomédica, farmacológica y toxicológica, permitiendo determinar los efectos de diversos tratamientos o compuestos sobre la viabilidad celular. La viabilidad celular se refiere a la habilidad de las células para mantener sus funciones esenciales y su capacidad de replicarse. Por su parte, el ensayo MTT es una técnica colorimétrica que se basa en la capacidad de las células viables para reducir una sal soluble de tetrazolio, el MTT, generando un producto coloreado detectable espectrofotométricamente. Este ensayo ofrece una medida indirecta de la viabilidad y proliferación celular, ya que la cantidad de

producto formado está directamente relacionada con la cantidad de células metabólicamente activas presentes en la muestra. Estas herramientas son fundamentales para evaluar el impacto de diferentes condiciones experimentales, como la exposición a fármacos, agentes tóxicos, estrés o modificaciones genéticas, en la salud y el comportamiento de las células. Además, desempeñan un papel crucial en el desarrollo y evaluación de nuevos fármacos, así como en la investigación básica para comprender los mecanismos subyacentes de enfermedades y procesos biológicos. En conclusión, la viabilidad celular y el ensayo MTT son recursos esenciales en la investigación biomédica y toxicológica, brindando información valiosa sobre la salud y comportamiento celular en una variedad de contextos experimentales[274–278].

**Figura A-6-15:** Esquema de funcionamiento del ensayo de viabilidad celular por MTT. Tomado y adaptado de [274].



## Bibliografía

1. Tim D. White, Pieter A. Folkens (2005) *The Human Bone Manual.*, 1st ed. Elsevier Academic Press
2. Court-Brown CM, Caesar B (2006) Epidemiology of adult fractures: A review. *Injury* 37:691–697. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2006.04.130>
3. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV (2011) Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med* 9:66. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-66>
4. Park S-Y, Kim K-H, Kim S, et al (2019) BMP-2 Gene Delivery-Based Bone Regeneration in Dentistry. *Pharmaceutics* 11:393. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080393>
5. Egido-Moreno S, Valls-Roca-Umbert J, Céspedes-Sánchez JM, et al (2021) Clinical Efficacy of Mesenchymal Stem Cells in Bone Regeneration in Oral Implantology. Systematic Review and Meta-Analysis. *IJERPH* 18:894. <https://doi.org/10.3390/ijerph18030894>
6. Tan SHS, Wong JRY, Sim SJY, et al (2020) Mesenchymal stem cell exosomes in bone regenerative strategies—a systematic review of preclinical studies. *Materials Today Bio* 7:100067. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2020.100067>
7. laquinta MR, Mazzoni E, Bononi I, et al (2019) Adult Stem Cells for Bone Regeneration and Repair. *Front Cell Dev Biol* 7:268. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00268>
8. Bourdón-Santoyo M, Quiñones-Uriostegui I, Martínez-López V, et al Preliminary study of an in vitro development of new tissue applying mechanical stimulation with a bioreactor as an alternative for ligament reconstruction
9. Fan J, Lee C-S, Kim S, et al (2020) Generation of Small RNA-Modulated Exosome Mimetics for Bone Regeneration. *ACS Nano* 14:11973–11984. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c05122>
10. Pereira HF, Cengiz IF, Silva FS, et al (2020) Scaffolds and coatings for bone regeneration. *J Mater Sci: Mater Med* 31:27. <https://doi.org/10.1007/s10856-020-06364-y>
11. Battafarano G, Rossi M, De Martino V, et al (2021) Strategies for Bone Regeneration: From Graft to Tissue Engineering. *IJMS* 22:1128. <https://doi.org/10.3390/ijms22031128>
12. Dong Z, Zhao X (2021) Application of TPMS structure in bone regeneration. *Engineered Regeneration* 2:154–162. <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2021.09.004>

13. Ambu R, Morabito A (2018) Porous Scaffold Design Based on Minimal Surfaces: Development and Assessment of Variable Architectures. *Symmetry* 10:361. <https://doi.org/10.3390/sym10090361>
14. Abbasi N, Hamlet S, Love RM, Nguyen N-T (2020) Porous scaffolds for bone regeneration. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices* 5:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.01.007>
15. Owen R, Sherborne C, Evans R, et al (2020) Combined Porogen Leaching and Emulsion Templating to produce Bone Tissue Engineering Scaffolds. *IJB* 6:265. <https://doi.org/10.18063/ijb.v6i2.265>
16. Coogan KR, Stone PT, Sempertegui ND, Rao SS (2020) Fabrication of micro-porous hyaluronic acid hydrogels through salt leaching. *European Polymer Journal* 135:109870. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109870>
17. Ruiz-Aguilar C, Olivares-Pinto U, Drew RAL, et al (2021) Porogen Effect on Structural and Physical Properties of  $\beta$ -TCP Scaffolds for Bone Tissue Regeneration. *IRBM* 42:302–312. <https://doi.org/10.1016/j.irbm.2020.05.007>
18. Santos-Rosales V, Ardao I, Goimil L, et al (2021) Solvent-Free Processing of Drug-Loaded Poly( $\epsilon$ -Caprolactone) Scaffolds with Tunable Macroporosity by Combination of Supercritical Foaming and Thermal Porogen Leaching. *Polymers* 13:159. <https://doi.org/10.3390/polym13010159>
19. Moon JY, Lee J, Hwang TI, et al (2021) A multifunctional, one-step gas foaming strategy for antimicrobial silver nanoparticle-decorated 3D cellulose nanofiber scaffolds. *Carbohydrate Polymers* 273:118603. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118603>
20. Manavitehrani I, Le TYL, Daly S, et al (2019) Formation of porous biodegradable scaffolds based on poly(propylene carbonate) using gas foaming technology. *Materials Science and Engineering: C* 96:824–830. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.11.088>
21. Chen Y, Xu W, Shafiq M, et al (2021) Three-dimensional porous gas-foamed electrospun nanofiber scaffold for cartilage regeneration. *Journal of Colloid and Interface Science* 603:94–109. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.06.067>
22. Du X, Dehghani M, Alsaadi N, et al (2022) A femoral shape porous scaffold bio-nanocomposite fabricated using 3D printing and freeze-drying technique for orthopedic application. *Materials Chemistry and Physics* 275:125302. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.125302>
23. Izadyari Aghmiuni A, Heidari Keshel S, Sefat F, AkbarzadehKhiyavi A (2021) Fabrication of 3D hybrid scaffold by combination technique of electrospinning-like and freeze-drying to create mechanotransduction signals and mimic extracellular matrix function of skin. *Materials Science and Engineering: C* 120:111752. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111752>

24. Grenier J, Duval H, Barou F, et al (2019) Mechanisms of pore formation in hydrogel scaffolds textured by freeze-drying. *Acta Biomaterialia* 94:195–203. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.05.070>
25. Kordjamshidi A, Saber-Samandari S, Ghadiri Nejad M, Khandan A (2019) Preparation of novel porous calcium silicate scaffold loaded by celecoxib drug using freeze drying technique: Fabrication, characterization and simulation. *Ceramics International* 45:14126–14135. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.04.113>
26. Xie X, Chen Y, Wang X, et al (2020) Electrospinning nanofiber scaffolds for soft and hard tissue regeneration. *Journal of Materials Science & Technology* 59:243–261. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2020.04.037>
27. Wang Z, Wang H, Xiong J, et al (2021) Fabrication and in vitro evaluation of PCL/gelatin hierarchical scaffolds based on melt electrospinning writing and solution electrospinning for bone regeneration. *Materials Science and Engineering: C* 128:112287. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112287>
28. Maharjan B, Kaliannagounder VK, Jang SR, et al (2020) In-situ polymerized polypyrrole nanoparticles immobilized poly( $\epsilon$ -caprolactone) electrospun conductive scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C* 114:111056. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111056>
29. Ameer, Pr, Kasoju (2019) Strategies to Tune Electrospun Scaffold Porosity for Effective Cell Response in Tissue Engineering. *JFB* 10:30. <https://doi.org/10.3390/jfb10030030>
30. Han Y, Lian M, Wu Q, et al (2021) Effect of Pore Size on Cell Behavior Using Melt Electrowritten Scaffolds. *Front Bioeng Biotechnol* 9:629270. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.629270>
31. Saidy NT, Shabab T, Bas O, et al (2020) Melt Electrowriting of Complex 3D Anatomically Relevant Scaffolds. *Front Bioeng Biotechnol* 8:793. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00793>
32. Kade JC, Dalton PD (2021) Polymers for Melt Electrowriting. *Adv Healthcare Materials* 10:2001232. <https://doi.org/10.1002/adhm.202001232>
33. Varma MV, Kandasubramanian B, Ibrahim SM (2020) 3D printed scaffolds for biomedical applications. *Materials Chemistry and Physics* 255:123642. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.123642>
34. Yadav LR, Chandran SV, Lavanya K, Selvamurugan N (2021) Chitosan-based 3D-printed scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules* 183:1925–1938. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.215>

35. Kanwar S, Vijayavenkataraman S (2021) Design of 3D printed scaffolds for bone tissue engineering: A review. *Bioprinting* 24:e00167. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2021.e00167>
36. Wang Z, Wang Y, Yan J, et al (2021) Pharmaceutical electrospinning and 3D printing scaffold design for bone regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews* 174:504–534. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.05.007>
37. Wang P, Sun Y, Shi X, et al (2021) 3D printing of tissue engineering scaffolds: a focus on vascular regeneration. *Bio-des Manuf* 4:344–378. <https://doi.org/10.1007/s42242-020-00109-0>
38. Zimmerling A, Yazdanpanah Z, Cooper DML, et al (2021) 3D printing PCL/nHA bone scaffolds: exploring the influence of material synthesis techniques. *Biomater Res* 25:3. <https://doi.org/10.1186/s40824-021-00204-y>
39. Su X, Wang T, Guo S (2021) Applications of 3D printed bone tissue engineering scaffolds in the stem cell field. *Regenerative Therapy* 16:63–72. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2021.01.007>
40. Bahraminasab M (2020) Challenges on optimization of 3D-printed bone scaffolds. *BioMed Eng OnLine* 19:69. <https://doi.org/10.1186/s12938-020-00810-2>
41. Liu X, Chen M, Luo J, et al (2021) Immunopolarization-regulated 3D printed-electrospun fibrous scaffolds for bone regeneration. *Biomaterials* 276:121037. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.121037>
42. Zhang Q, Wang X, Kuang G, et al (2022) Photopolymerized 3D Printing Scaffolds with Pt(IV) Prodrug Initiator for Postsurgical Tumor Treatment. *Research* 2022:2022/9784510. <https://doi.org/10.34133/2022/9784510>
43. Chung JJ, Im H, Kim SH, et al (2020) Toward Biomimetic Scaffolds for Tissue Engineering: 3D Printing Techniques in Regenerative Medicine. *Front Bioeng Biotechnol* 8:586406. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.586406>
44. Rogers HB, Zhou LT, Kusuhara A, et al (2021) Dental resins used in 3D printing technologies release ovo-toxic leachates. *Chemosphere* 270:129003. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129003>
45. Lin C-H, Lin Y-M, Lai Y-L, Lee S-Y (2020) Mechanical properties, accuracy, and cytotoxicity of UV-polymerized 3D printing resins composed of Bis-EMA, UDMA, and TEGDMA. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 123:349–354. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.05.002>
46. Huang J, Qin Q, Wang J (2020) A Review of Stereolithography: Processes and Systems. *Processes* 8:1138. <https://doi.org/10.3390/pr8091138>

47. Liu Y, Lin Y, Jiao T, et al (2019) Photocurable modification of inorganic fillers and their application in photopolymers for 3D printing. *Polym Chem* 10:6350–6359. <https://doi.org/10.1039/C9PY01445D>
48. Fu S, Liu W, Liu S, et al (2018) 3D printed porous  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub> scaffolds derived from preceramic resin and their physicochemical and biological properties. *Science and Technology of Advanced Materials* 19:495–506. <https://doi.org/10.1080/14686996.2018.1471653>
49. Yu B, Fu S, Kang Z, et al (2020) Enhanced bone regeneration of 3D printed  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub> scaffolds by aluminum ions solid solution. *Ceramics International* 46:7783–7791. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.11.282>
50. Fu S, Hu H, Chen J, et al (2020) Silicone resin derived larnite/C scaffolds via 3D printing for potential tumor therapy and bone regeneration. *Chemical Engineering Journal* 382:122928. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122928>
51. Kang Z, Yu B, Fu S, et al (2019) Three-dimensional printing of CaTiO<sub>3</sub> incorporated porous  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub> composite scaffolds for bone regeneration. *Applied Materials Today* 16:132–140. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.05.005>
52. Dokuz ME, Aydın M, Uyaner M (2021) Production of Bioactive Various Lattices as an Artificial Bone Tissue by Digital Light Processing 3D Printing. *J of Mater Eng and Perform* 30:6938–6948. <https://doi.org/10.1007/s11665-021-06067-7>
53. Chen X, Xin Q, Min Z, et al (2017) Hydroxyapatite Whisker-reinforced Composite Scaffolds Through 3D Printing for Bone Repair. *Journal of Inorganic Materials* 32:837. <https://doi.org/10.15541/jim20160628>
54. Teotia AK, Dienel K, Qayoom I, et al (2020) Improved Bone Regeneration in Rabbit Bone Defects Using 3D Printed Composite Scaffolds Functionalized with Osteoinductive Factors. *ACS Appl Mater Interfaces* 12:48340–48356. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c13851>
55. Guillaume O, Geven MA, Sprecher CM, et al (2017) Surface-enrichment with hydroxyapatite nanoparticles in stereolithography-fabricated composite polymer scaffolds promotes bone repair. *Acta Biomaterialia* 54:386–398. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.03.006>
56. Abreu MCD, Ponzoni D, Langie R, et al (2016) Effects of a buried magnetic field on cranial bone reconstruction in rats. *J Appl Oral Sci* 24:162–170. <https://doi.org/10.1590/1678-775720150336>
57. Kim E-C, Leesungbok R, Lee S-W, et al (2015) Effects of moderate intensity static magnetic fields on human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Effects of SMFs on Human MSCs. *Bioelectromagnetics* 36:267–276. <https://doi.org/10.1002/bem.21903>

58. Zhang J, Meng X, Ding C, Shang P (2018) Effects of static magnetic fields on bone microstructure and mechanical properties in mice. *Electromagnetic Biology and Medicine* 37:76–83. <https://doi.org/10.1080/15368378.2018.1458626>
59. Yang J, Zhang J, Ding C, et al (2018) Regulation of Osteoblast Differentiation and Iron Content in MC3T3-E1 Cells by Static Magnetic Field with Different Intensities. *Biol Trace Elem Res* 184:214–225. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1161-5>
60. Aydin N, Bezer M (2011) The effect of an intramedullary implant with a static magnetic field on the healing of the osteotomised rabbit femur. *International Orthopaedics (SICOT)* 35:135–141. <https://doi.org/10.1007/s00264-009-0932-9>
61. Gujjalapudi M (2016) Effect of Magnetic Field on Bone Healing around Endosseous Implants – An In-vivo Study. *JCDR*. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/21509.8666>
62. Zhao P-P, Ge Y-W, Liu X-L, et al (2020) Ordered arrangement of hydrated GdPO<sub>4</sub> nanorods in magnetic chitosan matrix promotes tumor photothermal therapy and bone regeneration against breast cancer bone metastases. *Chemical Engineering Journal* 381:122694. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122694>
63. Singh RK, Patel KD, Lee JH, et al (2014) Potential of Magnetic Nanofiber Scaffolds with Mechanical and Biological Properties Applicable for Bone Regeneration. *PLoS ONE* 9:e91584. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091584>
64. Russo A, Bianchi M, Sartori M, et al (2018) Bone regeneration in a rabbit critical femoral defect by means of magnetic hydroxyapatite macroporous scaffolds. *J Biomed Mater Res* 106:546–554. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33836>
65. Zhang J, Zhao S, Zhu M, et al (2014) 3D-printed magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/MBG/PCL composite scaffolds with multifunctionality of bone regeneration, local anticancer drug delivery and hyperthermia. *J Mater Chem B* 2:7583–7595. <https://doi.org/10.1039/C4TB01063A>
66. Perez RA, Patel KD, Kim H-W (2015) Novel magnetic nanocomposite injectables: calcium phosphate cements impregnated with ultrafine magnetic nanoparticles for bone regeneration. *RSC Adv* 5:13411–13419. <https://doi.org/10.1039/C4RA12640H>
67. Tampieri A, Landi E, Valentini F, et al (2011) A conceptually new type of bio-hybrid scaffold for bone regeneration. *Nanotechnology* 22:015104. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/22/1/015104>
68. Court-Brown CM, Caesar B (2006) Epidemiology of adult fractures: A review. *Injury* 37:691–697. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2006.04.130>
69. Wubneh A, Tsekoura EK, Ayranci C, Uludağ H (2018) Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia* 80:1–30. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.09.031>

70. Sabir MI, Xu X, Li L (2009) A review on biodegradable polymeric materials for bone tissue engineering applications. *J Mater Sci* 44:5713–5724. <https://doi.org/10.1007/s10853-009-3770-7>
71. Rau JV, Antoniac I, Cama G, et al (2016) Bioactive Materials for Bone Tissue Engineering. *BioMed Research International* 2016:1–3. <https://doi.org/10.1155/2016/3741428>
72. Gujjalapudi M (2016) Effect of Magnetic Field on Bone Healing around Endosseous Implants – An In-vivo Study. *JCDR*. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/21509.8666>
73. Mohammadi Zerankeshi M, Bakhshi R, Alizadeh R (2022) Polymer/metal composite 3D porous bone tissue engineering scaffolds fabricated by additive manufacturing techniques: A review. *Bioprinting* 25:e00191. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2022.e00191>
74. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV (2011) Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med* 9:66. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-66>
75. Abbasi N, Hamlet S, Love RM, Nguyen N-T (2020) Porous scaffolds for bone regeneration. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices* 5:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.01.007>
76. Battafarano G, Rossi M, De Martino V, et al (2021) Strategies for Bone Regeneration: From Graft to Tissue Engineering. *IJMS* 22:1128. <https://doi.org/10.3390/ijms22031128>
77. Escobar Ivirico J (2008) Síntesis, caracterización y aplicaciones biomédicas de redes de copolímeros basados en poliésteres. Maestría, Universidad Politécnica de Valencia
78. Zhou J, Zhang Z, Joseph J, et al (2021) Biomaterials and nanomedicine for bone regeneration: Progress and future prospects. *Exploration* 1:20210011. <https://doi.org/10.1002/EXP.20210011>
79. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E (2005) Bone substitutes: An update. *Injury* 36:S20–S27. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2005.07.029>
80. Velioglu ZB, Pulat D, Demirbakan B, et al (2019) 3D-printed poly(lactic acid) scaffolds for trabecular bone repair and regeneration: scaffold and native bone characterization. *Connective Tissue Research* 60:274–282. <https://doi.org/10.1080/03008207.2018.1499732>
81. Jones JR, Hench LL (2003) Regeneration of trabecular bone using porous ceramics. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 7:301–307. <https://doi.org/10.1016/j.cossms.2003.09.012>

82. Goldstein SA (1987) The mechanical properties of trabecular bone: Dependence on anatomic location and function. *Journal of Biomechanics* 20:1055–1061. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(87\)90023-6](https://doi.org/10.1016/0021-9290(87)90023-6)
83. Behrens JC, Walker PS, Shoji H (1974) Variations in strength and structure of cancellous bone at the knee. *Journal of Biomechanics* 7:201–207. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(74\)90010-4](https://doi.org/10.1016/0021-9290(74)90010-4)
84. Lindahl O (1976) Mechanical Properties of Dried Defatted Spongy Bone. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 47:11–19. <https://doi.org/10.3109/17453677608998966>
85. Williams JL, Lewis JL (1982) Properties and an Anisotropic Model of Cancellous Bone From the Proximal Tibial Epiphysis. *Journal of Biomechanical Engineering* 104:50–56. <https://doi.org/10.1115/1.3138303>
86. Goldstein SA, Wilson DL, Sonstegard DA, Matthews LS (1983) The mechanical properties of human tibial trabecular bone as a function of metaphyseal location. *Journal of Biomechanics* 16:965–969. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(83\)90097-0](https://doi.org/10.1016/0021-9290(83)90097-0)
87. Hvid I, Hansen SL (1985) Trabecular bone strength patterns at the proximal tibial epiphysis. *Journal of Orthopaedic Research* 3:464–472. <https://doi.org/10.1002/jor.1100030409>
88. Ciarelli M, Goldstein S, Dickie D, et al (1986) Experimental determination of the orthogonal mechanical properties, density, and distribution of human trabecular bone from the major metaphyseal regions utilizing materials testing and computed tomography. *Transactions of the Orthopedic Research Society* 42:
89. Pugh JW, Rose RM, Radin EL (1973) Elastic and viscoelastic properties of trabecular bone: Dependence on structure. *Journal of Biomechanics* 6:475–485. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(73\)90006-7](https://doi.org/10.1016/0021-9290(73)90006-7)
90. Ducheyne P, Heymans L, Martens M, et al (1977) The mechanical behaviour of intracondylar cancellous bone of the femur at different loading rates. *Journal of Biomechanics* 10:747–762. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(77\)90089-6](https://doi.org/10.1016/0021-9290(77)90089-6)
91. mg hardinge (1949) Determination of the strength of the cancellous bone in the head and neck of the femur. *Surgery, Gynecology & Obstetrics* 89:439–441
92. Evans FG, King AI (1961) Regional differences in some physical properties of human spongy bone. *Biomechanical studies of the musculo-skeletal system* 49:
93. Schoenfeld CM, Lautenschlager EP, Meyer PR (1974) Mechanical properties of human cancellous bone in the femoral head. *Medical and biological engineering* 12:313–317. <https://doi.org/10.1007/BF02477797>

94. Brown TD, Ferguson AB (1980) Mechanical Property Distributions in the Cancellous Bone of the Human Proximal Femur. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 51:429–437. <https://doi.org/10.3109/17453678008990819>
95. Martens M, Audekercke RV, Delpont P, et al (1983) The mechanical characteristics of cancellous bone at the upper femoral region. *Journal of Biomechanics* 16:971–983. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(83\)90098-2](https://doi.org/10.1016/0021-9290(83)90098-2)
96. WEAVER JK, CHALMERS J (1966) Cancellous Bone: Its Strength and Changes with Aging and an Evaluation of Some Methods for Measuring Its Mineral Content: I. AGE CHANGES IN CANCELLOUS BONE. *JBS* 48:
97. Galante J, Rostoker W, Ray RD (1970) Physical properties of trabecular bone. *Calcified Tissue Research* 5:236–246. <https://doi.org/10.1007/BF02017552>
98. JW M (1970) Mechanical properties of cranial bone. *J Biomech* 3:497
99. Struhl S, Goldstein S, Dickie D, et al (1987) The distribution of mechanical properties of trabecular bone within vertebral bodies and iliac crest: correlation with computed tomography density. *Transactions of the Orthopedic Research Society* 198:262
100. Ashman R, Turner C, Cowin S (1986) Ultrasonic technique for the measurement of the structural elastic modulus of cancellous bone. *Trans Orthop Res Soc* 43:
101. KELLER TS, HANSSON TH, ABRAM AC, et al (1989) Regional Variations in the Compressive Properties of Lumbar Vertebral Trabeculae: Effects of Disc Degeneration. *Spine* 14:
102. Townsend PR, Raux P, Rose RM, et al (1975) The distribution and anisotropy of the stiffness of cancellous bone in the human patella. *Journal of Biomechanics* 8:363–367. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(75\)90071-8](https://doi.org/10.1016/0021-9290(75)90071-8)
103. J.M Anderson (2012) *Polymers in Biology and Medicine*. Elsevier Science
104. Chen H, Yuan L, Song W, et al (2008) Biocompatible polymer materials: Role of protein–surface interactions. *Progress in Polymer Science* 33:1059–1087. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.07.006>
105. Asghari F, Samiei M, Adibkia K, et al (2017) Biodegradable and biocompatible polymers for tissue engineering application: a review. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 45:185–192. <https://doi.org/10.3109/21691401.2016.1146731>
106. Asri RIM, Harun WSW, Samykano M, et al (2017) Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review. *Materials Science and Engineering: C* 77:1261–1274. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.102>

107. Saptaji K, Gebremariam MA, Azhari MABM (2018) Machining of biocompatible materials: a review. *Int J Adv Manuf Technol* 97:2255–2292. <https://doi.org/10.1007/s00170-018-1973-2>
108. Kiradzhiyska DD, Mantcheva RD (2019) Overview of Biocompatible Materials and Their Use in Medicine. *Folia Medica* 61:34–40. <https://doi.org/10.2478/foimed-2018-0038>
109. Haider A, Haider S, Rao Kummara M, et al (2020) Advances in the scaffolds fabrication techniques using biocompatible polymers and their biomedical application: A technical and statistical review. *Journal of Saudi Chemical Society* 24:186–215. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2020.01.002>
110. Cao Y, Uhrich KE (2019) Biodegradable and biocompatible polymers for electronic applications: A review. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 34:3–15. <https://doi.org/10.1177/0883911518818075>
111. Shastri V (2003) Non-Degradable Biocompatible Polymers in Medicine: Past, Present and Future. *CPB* 4:331–337. <https://doi.org/10.2174/1389201033489694>
112. Höland W (1997) Biocompatible and bioactive glass-ceramics — state of the art and new directions. *Journal of Non-Crystalline Solids* 219:192–197. [https://doi.org/10.1016/S0022-3093\(97\)00329-3](https://doi.org/10.1016/S0022-3093(97)00329-3)
113. Bedair TM, Heo Y, Ryu J, et al (2021) Biocompatible and functional inorganic magnesium ceramic particles for biomedical applications. *Biomater Sci* 9:1903–1923. <https://doi.org/10.1039/D0BM01934H>
114. Ballouze R, Marahat MH, Mohamad S, et al (2021) Biocompatible MAGNESIUM-DOPED biphasic calcium phosphate for bone regeneration. *J Biomed Mater Res* 109:1426–1435. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34802>
115. Gautam C, Joyner J, Gautam A, et al (2016) Zirconia based dental ceramics: structure, mechanical properties, biocompatibility and applications. *Dalton Trans* 45:19194–19215. <https://doi.org/10.1039/C6DT03484E>
116. Hamidi MFFA, Harun WSW, Samykano M, et al (2017) A review of biocompatible metal injection moulding process parameters for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C* 78:1263–1276. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.016>
117. Abdel-Hady Gepreel M, Niinomi M (2013) Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 20:407–415. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2012.11.014>
118. Asri RIM, Harun WSW, Samykano M, et al (2017) Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review. *Materials Science and Engineering: C* 77:1261–1274. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.102>

119. Variola F, Vetrone F, Richert L, et al (2009) Improving Biocompatibility of Implantable Metals by Nanoscale Modification of Surfaces: An Overview of Strategies, Fabrication Methods, and Challenges. *Small* 5:996–1006. <https://doi.org/10.1002/sml.200801186>
120. Manam NS, Harun WSW, Shri DNA, et al (2017) Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review. *Journal of Alloys and Compounds* 701:698–715. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.01.196>
121. Han WB, Yang SM, Rajaram K, Hwang S (2022) Materials and Fabrication Strategies for Biocompatible and Biodegradable Conductive Polymer Composites toward Bio-Integrated Electronic Systems. *Advanced Sustainable Systems* 6:2100075. <https://doi.org/10.1002/adsu.202100075>
122. Pinto AM, Gonçalves IC, Magalhães FD (2013) Graphene-based materials biocompatibility: A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 111:188–202. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.05.022>
123. Tahmasebi E, Alam M, Yazdani M, et al (2020) Current biocompatible materials in oral regeneration: a comprehensive overview of composite materials. *Journal of Materials Research and Technology* 9:11731–11755. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.08.042>
124. Tihan TG, Ionita MD, Popescu RG, Iordachescu D (2009) Effect of hydrophilic–hydrophobic balance on biocompatibility of poly(methyl methacrylate) (PMMA)–hydroxyapatite (HA) composites. *Materials Chemistry and Physics* 118:265–269. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2009.03.019>
125. Inzana JA, Olvera D, Fuller SM, et al (2014) 3D printing of composite calcium phosphate and collagen scaffolds for bone regeneration. *Biomaterials* 35:4026–4034. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.064>
126. Marques CF, Diogo GS, Pina S, et al (2019) Collagen-based bioinks for hard tissue engineering applications: a comprehensive review. *J Mater Sci: Mater Med* 30:32. <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6234-x>
127. Fu S, Du X, Zhu M, et al (2019) 3D printing of layered mesoporous bioactive glass/sodium alginate-sodium alginate scaffolds with controllable dual-drug release behaviors. *Biomed Mater* 14:065011. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ab4166>
128. Ilhan E, Cesur S, Guler E, et al (2020) Development of *Satureja cuneifolia*-loaded sodium alginate/polyethylene glycol scaffolds produced by 3D-printing technology as a diabetic wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules* 161:1040–1054. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.086>

129. Liu Y, Tang T, Duan S, et al (2020) Effects of sodium alginate and rice variety on the physicochemical characteristics and 3D printing feasibility of rice paste. *LWT* 127:109360. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109360>
130. Wei Q, Zhou J, An Y, et al (2023) Modification, 3D printing process and application of sodium alginate based hydrogels in soft tissue engineering: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 232:123450. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123450>
131. Rajabi M, McConnell M, Cabral J, Ali MA (2021) Chitosan hydrogels in 3D printing for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers* 260:117768. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117768>
132. Suo H, Zhang J, Xu M, Wang L (2021) Low-temperature 3D printing of collagen and chitosan composite for tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C* 123:111963. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.111963>
133. Wu Q, Therriault D, Heuzey M-C (2018) Processing and Properties of Chitosan Inks for 3D Printing of Hydrogel Microstructures. *ACS Biomater Sci Eng* 4:2643–2652. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b00415>
134. Sommer MR, Schaffner M, Carnelli D, Studart AR (2016) 3D Printing of Hierarchical Silk Fibroin Structures. *ACS Appl Mater Interfaces* 8:34677–34685. <https://doi.org/10.1021/acсами.6b11440>
135. Wang Q, Han G, Yan S, Zhang Q (2019) 3D Printing of Silk Fibroin for Biomedical Applications. *Materials* 12:504. <https://doi.org/10.3390/ma12030504>
136. Kim SH, Yeon YK, Lee JM, et al (2018) Precisely printable and biocompatible silk fibroin bioink for digital light processing 3D printing. *Nat Commun* 9:1620. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03759-y>
137. Mu X, Sahoo JK, Cebe P, Kaplan DL (2020) Photo-Crosslinked Silk Fibroin for 3D Printing. *Polymers* 12:2936. <https://doi.org/10.3390/polym12122936>
138. Noh I, Kim N, Tran HN, et al (2019) 3D printable hyaluronic acid-based hydrogel for its potential application as a bioink in tissue engineering. *Biomater Res* 23:3. <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0152-8>
139. Shie M-Y, Chang W-C, Wei L-J, et al (2017) 3D Printing of Cytocompatible Water-Based Light-Cured Polyurethane with Hyaluronic Acid for Cartilage Tissue Engineering Applications. *Materials* 10:136. <https://doi.org/10.3390/ma10020136>
140. Ouyang L, Highley CB, Rodell CB, et al (2016) 3D Printing of Shear-Thinning Hyaluronic Acid Hydrogels with Secondary Cross-Linking. *ACS Biomater Sci Eng* 2:1743–1751. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.6b00158>

141. Petta D, D'Amora U, Ambrosio L, et al (2020) Hyaluronic acid as a bioink for extrusion-based 3D printing. *Biofabrication* 12:032001. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab8752>
142. Oladapo BI, Zahedi SA, Ismail SO, Omigbodun FT (2021) 3D printing of PEEK and its composite to increase biointerfaces as a biomedical material- A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 203:111726. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111726>
143. Geng P, Zhao J, Wu W, et al (2019) Effects of extrusion speed and printing speed on the 3D printing stability of extruded PEEK filament. *Journal of Manufacturing Processes* 37:266–273. <https://doi.org/10.1016/j.jmapro.2018.11.023>
144. Xiaoyong S, Liangcheng C, Honglin M, et al (2017) Experimental Analysis of High Temperature PEEK Materials on 3D Printing Test. In: 2017 9th International Conference on Measuring Technology and Mechatronics Automation (ICMTMA). IEEE, Changsha, China, pp 13–16
145. Yang C, Tian X, Li D, et al (2017) Influence of thermal processing conditions in 3D printing on the crystallinity and mechanical properties of PEEK material. *Journal of Materials Processing Technology* 248:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2017.04.027>
146. Chen X, Gao C, Jiang J, et al (2019) 3D printed porous PLA/nHA composite scaffolds with enhanced osteogenesis and osteoconductivity *in vivo* for bone regeneration. *Biomed Mater* 14:065003. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ab388d>
147. Wang M, Favi P, Cheng X, et al (2016) Cold atmospheric plasma (CAP) surface nanomodified 3D printed polylactic acid (PLA) scaffolds for bone regeneration. *Acta Biomaterialia* 46:256–265. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.09.030>
148. Anbu RT, Suresh V, Gounder R, Kannan A (2019) Comparison of the Efficacy of Three Different Bone Regeneration Materials: An Animal Study. *Eur J Dent* 13:022–028. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1688735>
149. Li X, Wang Y, Wang Z, et al (2018) Composite PLA/PEG/nHA/Dexamethasone Scaffold Prepared by 3D Printing for Bone Regeneration. *Macromol Biosci* 18:1800068. <https://doi.org/10.1002/mabi.201800068>
150. Liu D, Nie W, Li D, et al (2019) 3D printed PCL/SrHA scaffold for enhanced bone regeneration. *Chemical Engineering Journal* 362:269–279. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.015>
151. Dong Q, Zhang M, Zhou X, et al (2021) 3D-printed Mg-incorporated PCL-based scaffolds: A promising approach for bone healing. *Materials Science and Engineering: C* 129:112372. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112372>

152. Blackham JT, Vandewalle KS, Lien W (2009) Properties of Hybrid Resin Composite Systems Containing Prepolymerized Filler Particles. *Operative Dentistry* 34:697–702. <https://doi.org/10.2341/08-118-L>
153. Bettencourt AF, Neves CB, de Almeida MS, et al (2010) Biodegradation of acrylic based resins: A review. *Dental Materials* 26:e171–e180. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.01.006>
154. Stoye D, Funke W, Hoppe L, et al (2006) Paints and Coatings. In Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, (Ed.). [https://doi.org/10.1002/14356007.a18\\_359.pub2](https://doi.org/10.1002/14356007.a18_359.pub2)
155. Vallittu PK (1999) Flexural properties of acrylic resin polymers reinforced with unidirectional and woven glass fibers. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 81:318–326. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(99\)70276-3](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(99)70276-3)
156. Casemiro LA, Martins CHG, Pires-de-Souza F de CP, Panzeri H (2008) Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite - part I. *Gerodontology* 25:187–194. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2007.00198.x>
157. Bagheri A, Jin J (2019) Photopolymerization in 3D Printing. *ACS Appl Polym Mater* 1:593–611. <https://doi.org/10.1021/acsapm.8b00165>
158. Dong Z, Zhao X (2021) Application of TPMS structure in bone regeneration. *Engineered Regeneration* 2:154–162. <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2021.09.004>
159. Hayashi K, Kishida R, Tsuchiya A, Ishikawa K (2023) Superiority of Triply Periodic Minimal Surface Gyroid Structure to Strut-Based Grid Structure in Both Strength and Bone Regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces* 15:34570–34577. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c06263>
160. Abueidda DW, Elhebeary M, Shiang C-S (Andrew), et al (2019) Mechanical properties of 3D printed polymeric Gyroid cellular structures: Experimental and finite element study. *Materials & Design* 165:107597. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.107597>
161. Lyubutin IS, Lin CR, Korzhetskiy YuV, et al (2009) Mössbauer spectroscopy and magnetic properties of hematite/magnetite nanocomposites. *Journal of Applied Physics* 106:034311. <https://doi.org/10.1063/1.3194316>
162. Louis Néel (1952) Antiferromagnetism and Ferrimagnetism. *Proceedings of the Physical Society Section A* 65:869. <https://doi.org/10.1088/0370-1298/65/11/301>
163. Material-Properties.org (2024) Magnetic Properties of Materials – Definition. In: *Magnetic Properties of Materials*. <https://material-properties.org/magnetic-properties-of-materials-definition/>. Accessed 25 Mar 2024

164. Iowa State University - Center for Nondestructive Evaluation (2024) The Hysteresis Loop. In: Magnetism. <https://www.nde-ed.org/Physics/Magnetism/HysteresisLoop.xhtml>. Accessed 25 Mar 2024
165. Deganello F, Tyagi AK (2018) Solution combustion synthesis, energy and environment: Best parameters for better materials. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* 64:23–61. <https://doi.org/10.1016/j.pcrysgrow.2018.03.001>
166. Carlos E, Martins R, Fortunato E, Branquinho R (2020) Solution Combustion Synthesis: Towards a Sustainable Approach for Metal Oxides. *Chem Eur J* 26:9099–9125. <https://doi.org/10.1002/chem.202000678>
167. Dasari A, Xue J, Deb S (2022) Magnetic Nanoparticles in Bone Tissue Engineering. *Nanomaterials* 12:. <https://doi.org/10.3390/nano12050757>
168. Shuai C, Yang W, He C, et al (2020) A magnetic micro-environment in scaffolds for stimulating bone regeneration. *Materials & Design* 185:108275. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108275>
169. Kim J-J, Singh RK, Seo S-J, et al (2014) Magnetic scaffolds of polycaprolactone with functionalized magnetite nanoparticles: physicochemical, mechanical, and biological properties effective for bone regeneration. *RSC Adv* 4:17325–17336. <https://doi.org/10.1039/C4RA00040D>
170. Bin S, Wang A, Guo W, et al (2020) Micro Magnetic Field Produced by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles in Bone Scaffold for Enhancing Cellular Activity. *Polymers* 12:. <https://doi.org/10.3390/polym12092045>
171. Wang Q, Tang Y, Ke Q, et al (2020) Magnetic lanthanum-doped hydroxyapatite/chitosan scaffolds with endogenous stem cell-recruiting and immunomodulatory properties for bone regeneration. *J Mater Chem B* 8:5280–5292. <https://doi.org/10.1039/D0TB00342E>
172. Li Y, Huang L, Tai G, et al (2022) Graphene Oxide-loaded magnetic nanoparticles within 3D hydrogel form High-performance scaffolds for bone regeneration and tumour treatment. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 152:106672. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2021.106672>
173. Shuai C, Yang W, He C, et al (2020) A magnetic micro-environment in scaffolds for stimulating bone regeneration. *Materials & Design* 185:108275. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108275>
174. Wei X, Li D, Jiang W, et al (2015) 3D Printable Graphene Composite. *Sci Rep* 5:11181. <https://doi.org/10.1038/srep11181>

175. Gnanasekaran K, Heijmans T, Van Bennekom S, et al (2017) 3D printing of CNT- and graphene-based conductive polymer nanocomposites by fused deposition modeling. *Applied Materials Today* 9:21–28. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.04.003>
176. Qu H (2020) Additive manufacturing for bone tissue engineering scaffolds. *Materials Today Communications* 24:101024. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2020.101024>
177. Dul S, Fambri L, Pegoretti A (2016) Fused deposition modelling with ABS–graphene nanocomposites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 85:181–191. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2016.03.013>
178. Savaris M, Santos VD, Brandalise RN (2016) Influence of different sterilization processes on the properties of commercial poly(lactic acid). *Materials Science and Engineering: C* 69:661–667. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.07.031>
179. Lee S-J, Zhu W, Nowicki M, et al (2018) 3D printing nano conductive multi-walled carbon nanotube scaffolds for nerve regeneration. *J Neural Eng* 15:016018. <https://doi.org/10.1088/1741-2552/aa95a5>
180. Sciancalepore C, Moroni F, Messori M, Bondioli F (2017) Acrylate-based silver nanocomposite by simultaneous polymerization–reduction approach via 3D stereolithography. *Composites Communications* 6:11–16. <https://doi.org/10.1016/j.coco.2017.07.006>
181. Feng Z, Li Y, Xin C, et al (2019) Fabrication of Graphene-Reinforced Nanocomposites with Improved Fracture Toughness in Net Shape for Complex 3D Structures via Digital Light Processing. *C* 5:25. <https://doi.org/10.3390/c5020025>
182. Feng Z, Li Y, Hao L, et al (2019) Graphene-Reinforced Biodegradable Resin Composites for Stereolithographic 3D Printing of Bone Structure Scaffolds. *Journal of Nanomaterials* 2019:1–13. <https://doi.org/10.1155/2019/9710264>
183. Dizon JRC, Chen Q, Valino AD, Advincula RC (2019) Thermo-mechanical and swelling properties of three-dimensional-printed poly (ethylene glycol) diacrylate/silica nanocomposites. *MRS Communications* 9:209–217. <https://doi.org/10.1557/mrc.2018.188>
184. Chunze Y, Yusheng S, Jinsong Y, Jinhui L (2009) A Nanosilica/Nylon-12 Composite Powder for Selective Laser Sintering. *Journal of Reinforced Plastics and Composites* 28:2889–2902. <https://doi.org/10.1177/0731684408094062>
185. Valino AD, Dizon JRC, Espera AH, et al (2019) Advances in 3D printing of thermoplastic polymer composites and nanocomposites. *Progress in Polymer Science* 98:101162. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2019.101162>
186. Zhang Y, Hao L, Savalani MM, et al (2008) Characterization and dynamic mechanical analysis of selective laser sintered hydroxyapatite-filled polymeric composites. *J Biomed Mater Res* 86A:607–616. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31622>

187. Chung H, Das S (2008) Functionally graded Nylon-11/silica nanocomposites produced by selective laser sintering. *Materials Science and Engineering: A* 487:251–257. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2007.10.082>
188. Drummer D, Medina-Hernández M, Drexler M, Wudy K (2015) Polymer Powder Production for Laser Melting Through Immiscible Blends. *Procedia Engineering* 102:1918–1925. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2015.01.332>
189. Wiberg A, Persson J, Ölvander J (2019) Design for additive manufacturing – a review of available design methods and software. *RPJ* 25:1080–1094. <https://doi.org/10.1108/RPJ-10-2018-0262>
190. Reddy K. SN, Ferguson I, Frecker M, et al (2016) Topology Optimization Software for Additive Manufacturing: A Review of Current Capabilities and a Real-World Example. In: *IDETC-CIE2016. Volume 2A: 42nd Design Automation Conference*
191. Gibson I, Rosen D, Stucker B, Khorasani M (2021) Software for Additive Manufacturing. In: Gibson I, Rosen D, Stucker B, Khorasani M (eds) *Additive Manufacturing Technologies*. Springer International Publishing, Cham, pp 491–524
192. Gibson I, Rosen D, Stucker B (2015) Software Issues for Additive Manufacturing. In: Gibson I, Rosen D, Stucker B (eds) *Additive Manufacturing Technologies: 3D Printing, Rapid Prototyping, and Direct Digital Manufacturing*. Springer New York, New York, NY, pp 351–374
193. O’Reilly (2024) 3D printing. <https://www.oreilly.com/library/view/3d-printing-basics/9781351610810/xhtml/Ch06.xhtml>. Accessed 14 Apr 2024
194. Manapat JZ, Chen Q, Ye P, Advincula RC (2017) 3D Printing of Polymer Nanocomposites via Stereolithography. *Macromolecular Materials and Engineering* 302:1600553. <https://doi.org/10.1002/mame.201600553>
195. Deshmane S, Kendre P, Mahajan H, Jain S (2021) Stereolithography 3D printing technology in pharmaceuticals: a review. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 47:1362–1372. <https://doi.org/10.1080/03639045.2021.1994990>
196. Mukhtarkhanov M, Perveen A, Talamona D (2020) Application of Stereolithography Based 3D Printing Technology in Investment Casting. *Micromachines* 11:. <https://doi.org/10.3390/mi11100946>
197. TAICED (2023) ¿Qué es una Impresora 3D? Tipos y Como Funciona. In: *TAICED Construyendo Ideas*. <https://www.taiced.com/post/tipos-de-impresoras-3d-y-como-funcionan>. Accessed 25 Mar 2024

198. Mhmood TR, Al-Karkhi NK (2023) A Review of the Stereo lithography 3D Printing Process and the Effect of Parameters on Quality. *alkej* 19:82–94.  
<https://doi.org/10.22153/kej.2023.04.003>
199. Huang J, Qin Q, Wang J (2020) A Review of Stereolithography: Processes and Systems. *Processes* 8:.. <https://doi.org/10.3390/pr8091138>
200. Thomas G. Mezger (2006) *The rheology Handbook*, 2nd ed. Coatings Compendia
201. Hsissou R, Bekhta A, Dagdag O, et al (2020) Rheological properties of composite polymers and hybrid nanocomposites. *Heliyon* 6:e04187.  
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04187>
202. Bochnia J, Koziar T, Szot W, et al (2024) Selected Mechanical and Rheological Properties of Medical Resin MED610 in PolyJet Matrix Three-Dimensional Printing Technology in Quality Aspects. *3D Printing and Additive Manufacturing* 11:299–313.  
<https://doi.org/10.1089/3dp.2022.0215>
203. Liu Y, Lin Y, Jiao T, et al (2019) Photocurable modification of inorganic fillers and their application in photopolymers for 3D printing. *Polym Chem* 10:6350–6359.  
<https://doi.org/10.1039/C9PY01445D>
204. Hada T, Kanazawa M, Miyamoto N, et al (2022) Effect of Different Filler Contents and Printing Directions on the Mechanical Properties for Photopolymer Resins. *International Journal of Molecular Sciences* 23:.. <https://doi.org/10.3390/ijms23042296>
205. Vyas A, Garg V, Ghosh SB, Bandyopadhyay-Ghosh S (2022) Photopolymerizable resin-based 3D printed biomedical composites: Factors affecting resin viscosity. *Materials Today: Proceedings* 62:1435–1439. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.01.172>
206. Tsai S-C, Chen L-H, Chu C-P, et al (2022) Photo curable resin for 3D printed conductive structures. *Additive Manufacturing* 51:102590.  
<https://doi.org/10.1016/j.addma.2021.102590>
207. Liu M, Wu J, Gan Y, et al (2016) Evaporation Limited Radial Capillary Penetration in Porous Media. *Langmuir* 32:9899–9904. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02404>
208. BYK Additives & Instruments Humectación y Dispersión de Aditivos
209. Jain A, Ong SP, Hautier G, et al (2013) Commentary: The Materials Project: A materials genome approach to accelerating materials innovation. *APL Materials* 1:011002.  
<https://doi.org/10.1063/1.4812323>
210. International Organization for Standardization (2009) Biological evaluation of medical devices Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, ISO Standard No. 10993-5:2009

211. International Organization for Standardization (2009) Biological evaluation of medical devices Part 12: Sample preparation and reference materials, ISO Standard No. 10993-12:2009
212. Russo et al. - 2018 - Bone regeneration in a rabbit critical femoral def.pdf
213. UserCom (2000) Interpreting DSC Curves
214. Schick C (2009) Differential scanning calorimetry (DSC) of semicrystalline polymers. *Anal Bioanal Chem* 395:1589–1611. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3169-y>
215. Chiantore O, Lazzari M (1996) Characterization of Acrylic Resins. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 2:395–408. <https://doi.org/10.1080/10236669608033358>
216. Anycubic (2023) Buyer's Guide: How to Choose the Right Resin for 3D Printing. In: 3D Printing Guides. <https://store.anycubic.com/blogs/3d-printing-guides/how-to-choose-the-right-resin-for-3d-printing>. Accessed 20 Apr 2024
217. Kim D-Y, Kim J-H (2021) Comparison of shrinkage according to thickness of photopolymerization resin for 3D printing. *J Tech Dent* 43:1–5. <https://doi.org/10.14347/jtd.2021.43.1.1>
218. Peng J, Zhao J, Long Y, et al (2019) Magnetic Materials in Promoting Bone Regeneration. *Front Mater* 6:268. <https://doi.org/10.3389/fmats.2019.00268>
219. Torres del Castillo, Miguel Ángel (2016) Potencial de la adición de nanofibras de frafeno en la resistencia mecánica de resinas autopolimerizables para aplicaciones en implanto-prótesis. Universidad Católica San Antonio de Murcia
220. Caeiro JR, González P, Guede D (2013) Biomecánica y hueso (y II): ensayos en los distintos niveles jerárquicos del hueso y técnicas alternativas para la determinación de la resistencia ósea. *Rev Osteoporos Metab Miner* 5:99–108. <https://doi.org/10.4321/S1889-836X2013000200007>
221. Chiantore O, Lazzari M (1996) Characterization of Acrylic Resins. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 2:395–408. <https://doi.org/10.1080/10236669608033358>
222. Singh RK, Patel KD, Lee JH, et al (2014) Potential of Magnetic Nanofiber Scaffolds with Mechanical and Biological Properties Applicable for Bone Regeneration. *PLoS ONE* 9:e91584. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091584>

223. Seongpil Jeong, Hye-Won Kim (2023) In situ real-time monitoring technologies for fouling detection in membrane processes. In: *Membrane Technology for Sustainable Water and Energy Management*, 1st ed. Elsevier Science, pp 43–64
224. Negishi J, Nam K, Kimura T, et al (2010) High-hydrostatic pressure technique is an effective method for the preparation of PVA–heparin hybrid gel. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 41:617–622. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.09.001>
225. International Organization for Standardization (2009) Biological evaluation of medical devices, Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity (ISO Standard No. 10993-5:2009)
226. Soenen SJ, Parak WJ, Rejman J, Manshian B (2015) (Intra)Cellular Stability of Inorganic Nanoparticles: Effects on Cytotoxicity, Particle Functionality, and Biomedical Applications. *Chem Rev* 115:2109–2135. <https://doi.org/10.1021/cr400714j>
227. Ameh ES (2019) A review of basic crystallography and x-ray diffraction applications. *Int J Adv Manuf Technol* 105:3289–3302. <https://doi.org/10.1007/s00170-019-04508-1>
228. Bunaciu AA, Udriștioiu EG, Aboul-Enein HY (2015) X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 45:289–299. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.949616>
229. Ali A, Chiang YW, Santos RM (2022) X-ray Diffraction Techniques for Mineral Characterization: A Review for Engineers of the Fundamentals, Applications, and Research Directions. *Minerals* 12:205. <https://doi.org/10.3390/min12020205>
230. Erik Gregersen Bragg condition, Bragg's law
231. McCusker LB, Von Dreele RB, Cox DE, et al (1999) Rietveld refinement guidelines. *J Appl Crystallogr* 32:36–50. <https://doi.org/10.1107/S0021889898009856>
232. Sakata M, Cooper MJ (1979) An analysis of the Rietveld refinement method. *Journal of Applied Crystallography* 12:554–563. <https://doi.org/10.1107/S002188987901325X>
233. Ghazi N, Chenari HM, Ghodsi FE (2018) Rietveld refinement, morphology analysis, optical and magnetic properties of magnesium-zinc ferrite nanofibers. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 468:132–140. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2018.07.084>
234. Weisstein, Eric W. "Gaussian Function." From MathWorld--A Wolfram Web Resource. <https://mathworld.wolfram.com/GaussianFunction.html>
235. Giannuzzi LA, Stevie FA (1999) A review of focused ion beam milling techniques for TEM specimen preparation. *Micron* 30:197–204. [https://doi.org/10.1016/S0968-4328\(99\)00005-0](https://doi.org/10.1016/S0968-4328(99)00005-0)
236. Zaefferer S (2011) A critical review of orientation microscopy in SEM and TEM. *Cryst Res Technol* 46:607–628. <https://doi.org/10.1002/crat.201100125>

237. Mohammed A, Abdullah A Scanning Electron Microscopy (SEM): a Review
238. Metalinspect (2022) Microscopio electrónico de barrido: Qué es y cómo funciona. In: Microscopio electrónico de barrido. <https://www.blog.metalinspect.com.mx/que-es-y-como-funciona-un-microscopio-electronico-de-barrido>. Accessed 2 Mar 2024
239. Zaefferer S (2011) A critical review of orientation microscopy in SEM and TEM. *Cryst Res Technol* 46:607–628. <https://doi.org/10.1002/crat.201100125>
240. Rauwel P, Küünal S, Ferdov S, Rauwel E (2015) A Review on the Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Morphologies Studied via TEM. *Advances in Materials Science and Engineering* 2015:1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/682749>
241. Egerton RF (2009) Electron energy-loss spectroscopy in the TEM. *Rep Prog Phys* 72:016502. <https://doi.org/10.1088/0034-4885/72/1/016502>
242. Resta V Propiedades morfológicas y ópticas de nanopartículas de oro producidas o procesadas mediante técnicas láser
243. Erlandsen SL, Frøthem C, Chen Y (2000) Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM) Entering the 21st Century: Nanometer Resolution and Molecular Topography of Cell Structure. *Journal of Histotechnology* 23:249–259. <https://doi.org/10.1179/his.2000.23.3.249>
244. Prabhu RS, Priyanka R, Vijay M, Vikashini GRK Field Emission Scanning Electron Microscopy (Fesem) with A Very Big Future in Pharmaceutical Research. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*
245. A.H.M. Areef Billah (2016) Investigation Of Multiferroic And Photocatalytic Properties Of Li Doped BiFeO3 Nanoparticles Prepared By Ultrasonication. BANGLADESH UNIVERSITY OF ENGINEERING AND TECHNOLOGY
246. Sharma S, Rasool HI, Palanisamy V, et al (2010) Structural-Mechanical Characterization of Nanoparticle Exosomes in Human Saliva, Using Correlative AFM, FESEM, and Force Spectroscopy. *ACS Nano* 4:1921–1926. <https://doi.org/10.1021/nn901824n>
247. Nallusamy S, Manoj Babu A (2015) X-Ray Diffraction and FESEM Analysis for Mixture of Hybrid Nanoparticles in Heat Transfer Applications. *JNanoR* 37:58–67. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JNanoR.37.58>
248. Scimeca M, Bischetti S, Lamsira HK, et al (2018) Energy Dispersive X-ray (EDX) microanalysis: A powerful tool in biomedical research and diagnosis. *Eur J Histochem*. <https://doi.org/10.4081/ejh.2018.2841>

249. Stefaniak EA, Buczynska A, Novakovic V, et al (2009) Determination of chemical composition of individual airborne particles by SEM/EDX and micro-Raman spectrometry: A review. *J Phys: Conf Ser* 162:012019. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/162/1/012019>
250. Piccinotti D Chalcogenide Platforms for Photonic Metamaterials
251. Cardell C, Guerra I (2016) An overview of emerging hyphenated SEM-EDX and Raman spectroscopy systems: Applications in life, environmental and materials sciences. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 77:156–166. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.12.001>
252. Poole JJA, Mostaço-Guidolin LB (2021) Optical Microscopy and the Extracellular Matrix Structure: A Review. *Cells* 10:1760. <https://doi.org/10.3390/cells10071760>
253. José L. Fernández (2023) El Microscopio. In: *Óptica Geométrica*. <https://www.fisicalab.com/apartado/microscopio>. Accessed 2 Mar 2024
254. Chen Y, Zou C, Mastalerz M, et al (2015) Applications of Micro-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in the Geological Sciences—A Review. *IJMS* 16:30223–30250. <https://doi.org/10.3390/ijms161226227>
255. Torres-Luque MM (2010) Estudio comparativo del proceso de corrosión en recubrimientos cerámicos, metálicos y orgánicos mediante técnicas electroquímicas. PhD Thesis
256. Berthomieu C, Hienerwadel R (2009) Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynth Res* 101:157–170. <https://doi.org/10.1007/s11120-009-9439-x>
257. Movasaghi Z, Rehman S, Ur Rehman DrI (2008) Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews* 43:134–179. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
258. Bacsik Z, Mink J, Keresztury G (2004) FTIR Spectroscopy of the Atmosphere. I. Principles and Methods. *Applied Spectroscopy Reviews* 39:295–363. <https://doi.org/10.1081/ASR-200030192>
259. María Guillermina Volonté, Pablo Quiroga (2013) *Análisis farmacéutico*, 1ed ed. edulp Editorial de la Universidad de La Plata, Universidad Nacional de La Plata
260. Flynn JH (1993) Analysis of DSC results by integration. *Thermochimica Acta* 217:129–149. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(93\)85104-H](https://doi.org/10.1016/0040-6031(93)85104-H)
261. Van Dooren AA, Müller BW (1984) Purity determinations of drugs with differential scanning calorimetry (DSC)—a critical review. *International Journal of Pharmaceutics* 20:217–233. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(84\)90170-4](https://doi.org/10.1016/0378-5173(84)90170-4)
262. Cristancho YAG (2015) Universidad Distrital Francisco José De Caldas

263. Mansa R, Zou S (2021) Thermogravimetric analysis of microplastics: A mini review. *Environmental Advances* 5:100117. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2021.100117>
264. Saadatkah N, Carillo Garcia A, Ackermann S, et al (2020) Experimental methods in chemical engineering: Thermogravimetric analysis—TGA. *Can J Chem Eng* 98:34–43. <https://doi.org/10.1002/cjce.23673>
265. Jeffrey Gotro (2014) Rheology of Thermosets Part 2: Rheometers. In: *Polymer Innovation Blog*. <https://polymerinnovationblog.com/rheology-thermosets-part-2-rheometers/>. Accessed 3 Mar 2024
266. Sankhi BR, Turgut E (2020) A low-cost vibrating sample magnetometry based on audio components. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 502:166560. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2020.166560>
267. Mulay LN, Mulay IL (1984) Magnetometry: aspects of instrumentation and applications including catalysis, bioscience, and geoscience. *Anal Chem* 56:293–300. <https://doi.org/10.1021/ac00269a023>
268. Liu E (2018) Materials and designs of magnetic tunnel junctions with perpendicular magnetic anisotropy for high-density memory applications. PhD Thesis
269. Dodrill B, Lindemuth JR (2021) Vibrating Sample Magnetometry. In: Franco V, Dodrill B (eds) *Magnetic Measurement Techniques for Materials Characterization*. Springer International Publishing, Cham, pp 15–37
270. Elmrabet N, Siegkas P (2020) Dimensional considerations on the mechanical properties of 3D printed polymer parts. *Polymer Testing* 90:106656. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106656>
271. (2021) BS 6319-2 : How to check the compressive strength of resin flooring. In: *EPOXY TILE FLOORING*. Accessed 3 Mar 2024
272. Jarray A, Wijshoff H, Luiken JA, Den Otter WK (2020) Systematic approach for wettability prediction using molecular dynamics simulations. *Soft Matter* 16:4299–4310. <https://doi.org/10.1039/D0SM00197J>
273. Abbas MA, Zamir A, Elraies KA, et al (2021) A critical parametric review of polymers as shale inhibitors in water-based drilling fluids. *Journal of Petroleum Science and Engineering* 204:108745. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2021.108745>
274. Riofrio SKE Trabajo Final de Máster en Biotecnología Biomédica

275. Sargent JM (2003) The Use of the MTT Assay to Study Drug Resistance in Fresh Tumour Samples. In: Reinhold U, Tilgen W (eds) *Chemosensitivity Testing in Oncology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 13–25
276. Pintor AVB, Queiroz LD, Barcelos R, et al (2020) MTT versus other cell viability assays to evaluate the biocompatibility of root canal filling materials: a systematic review. *Int Endodontic J* 53:1348–1373. <https://doi.org/10.1111/iej.13353>
277. Grela E, Kozłowska J, Grabowiecka A (2018) Current methodology of MTT assay in bacteria – A review. *Acta Histochemica* 120:303–311. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.03.007>
278. Hayon T, Dvilansky A, Shpilberg O, Nathan I (2003) Appraisal of the MTT-based Assay as a Useful Tool for Predicting Drug Chemosensitivity in Leukemia. *Leukemia & Lymphoma* 44:1957–1962. <https://doi.org/10.1080/1042819031000116607>