

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SAN MARTÍN
COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA
INSTITUTO DE TECNOLOGÍA
“Prof. Jorge A. Sabato”**

Evaluación reológica, mecánica y morfológica de pastas para relleno óseo (*)

por Rafael Rodríguez Acosta

Director del Trabajo

**Dra. Beatriz Aráoz
Dr. Marcos Bertuola**

Tutor: Dra. Élida B. Hermida

(*) Trabajo de Seminario - Ingeniería de Materiales

República Argentina

2025

Resumen

En este trabajo se caracterizaron pastas autocementantes de fosfato de calcio basadas en β -TCP/MCPM con ácido hialurónico, diseñadas para aplicaciones como relleno óseo, y se evaluó su desempeño en un proceso de impresión 3D basado en extrusión. Para controlar la cinética de la reacción de cementado, se formularon pastas con distintos aditivos retardantes de fraguado: ácido cítrico, citrato de sodio y biovidrio. Se analizó el comportamiento reológico durante el fraguado, así como la microestructura, morfología y propiedades mecánicas de las pastas fraguadas.

Las imágenes de microscopía electrónica de barrido mostraron que las pastas fraguan en una matriz porosa, con poros de diámetros entre 100 y 300 μm y morfologías laminares y aciculares. Mediante difracción de rayos X se confirmó la formación de brushita como fase principal en todas las muestras.

Las propiedades mecánicas alcanzaron valores de resistencia a compresión entre 3 y 5,5 MPa, comparables a las del hueso trabecular, mientras que el módulo elástico en compresión osciló entre 300 y 700 MPa.

Los estudios reológicos demostraron que el tiempo de fraguado depende del tipo y la concentración del aditivo empleado. Las pastas evaluadas presentaron tiempos iniciales de fraguado que variaron entre 2 y 8 minutos. Además, se observó que el tiempo y la velocidad de mezcla influyen en el comportamiento del material durante el endurecimiento.

Finalmente, se realizaron pruebas de impresión 3D para evaluar el efecto de parámetros como el diámetro de boquilla y la altura de capa en la fidelidad de impresión. Este estudio proporciona información preliminar clave para optimizar la fabricación de estructuras con porosidad jerárquica destinadas a la regeneración ósea mediante impresión 3D.

Palabras clave: biomateriales, cementos de fosfato de calcio, regeneración ósea, impresión 3D basada en extrusión, biocerámicos

Abstract

In this work, self-setting calcium phosphate pastes based on β -TCP/MCPM with hyaluronic acid were characterized for bone filler applications, and their performance was evaluated in an extrusion-based 3D printing process. To control the setting reaction kinetics, pastes were formulated with different setting retardant additives: citric acid, sodium citrate, and bioglass. The rheological behavior during setting was analyzed, along with the microstructure, morphology, and mechanical properties of the set pastes.

Scanning electron microscopy images showed that the pastes set into a porous matrix with pore diameters between 100 and 300 μm , exhibiting plate-like and needle-like morphologies. X-ray diffraction confirmed brushite as the main phase in all samples.

The mechanical properties reached compressive strength values between 3 and 5.5 MPa, comparable to trabecular bone, while the elastic modulus in compression ranged between 300 and 700 MPa.

Rheological studies demonstrated that the setting time depends on the type and concentration of the additive used. The evaluated pastes showed initial setting times varying between 2 and 8 minutes. Furthermore, it was observed that mixing time and speed influence the material behavior during setting.

At last, 3D printing tests were performed to evaluate the effect of parameters such as nozzle diameter and layer height on printing fidelity. This study provides key preliminary information to optimize the manufacturing of hierarchically porous structures for bone regeneration using 3D printing.

Keywords: biomaterials, calcium phosphates cements, bone regeneration, extrusion-based 3D printing, bioceramics

Agradecimientos

A mi madre, Janet, por creer en mí. A mi padre, Rómulo, por criarme curioso por la ciencia. A mis hermanos, Janet, Rómulo, Guillermo y Andrea, por ayudarme a llegar a donde estoy.

A Olivia, por estar para mí durante el desarrollo de este trabajo. Por tu compañía, tu paciencia y tus ganas de ayudar. Gracias.

A Duki, el perrito inseparable que me acompaña desde el primer cuatrimestre. Qué buen perro.

A Michelle, Ignacio y Martina, amigos que me regaló la carrera. Gracias por hacerme uno más, por las risas y los mates.

Al Instituto Sabato, la CNEA y la UNSAM, por ofrecerme una formación de excelencia y la beca que hizo posible estos cuatro años de dedicación exclusiva.

A mis directores, Dres. Aráoz, Bertuola y Hermida, por resolver mis dudas y guiarme en la realización de este trabajo. Al equipo del Lab3bio, por abrirme las puertas y brindarme un espacio de intercambio de ideas entre disciplinas.

A Diego Lionello, Paula Alderete y Daniel Arcone, por su ayuda con los equipos y mediciones en el Centro Atómico Constituyentes, haciendo posible esta investigación.

A la Argentina por la oportunidad de crecer tanto personal como académicamente. A la universidad pública, gratuita y de calidad.

Abreviaturas y definiciones

- β -TCP: Fosfato β -tricálcico.
- ATD: Análisis térmico diferencial.
- ATG: Análisis termogravimétrico.
- BG: Biovidrio.
- CPC: Compuesto de fosfato de calcio.
- DCPA: Fosfato dibásico de calcio anhidro. Monetita.
- DCPD: Fosfato dibásico de calcio dihidratado. Brushita.
- DRX: Difracción de rayos X.
- HA: Ácido hialurónico.
- HAp: Hidroxiapatita.
- MCPM: Fosfato monobásico de calcio monohidratado.
- MEB: Microscopía electrónica de barrido.
- MEC: Matriz extracelular.
- TTCP: Fosfato tetracálcico.

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Contexto	1
1.2. Marco Teórico	3
1.2.1. Ingeniería de tejidos y biomateriales	3
1.2.2. Pastas de fosfato de calcio	4
1.2.3. Impresión 3D	5
1.3. Objetivos	7
2. Materiales y métodos	8
2.1. Materiales	8
2.2. Evaluación de aditivos retardantes del fraguado	8
2.3. Preparación de tintas seleccionadas para impresión 3D	8
2.4. Impresión 3D de pastas	10
2.5. Caracterización	11
2.5.1. Materias primas	11
2.5.2. Inspección visual del fraguado	11
2.5.3. Caracterización reológica	11
2.5.4. Fidelidad de impresión	14
2.5.5. Caracterización morfológica	14
2.5.6. Caracterización mecánica de pastas fraguadas	14
3. Resultados	15
3.1. Materias primas	15
3.2. Aditivos retardantes de fraguado	17
3.3. Propiedades reológicas de las pastas durante el fraguado	18
3.4. Fidelidad de impresión	23
3.5. Estructura cristalina de las pastas fraguadas	25
3.6. Morfología de pastas fraguadas	26
3.7. Propiedades mecánicas	30
4. Discusión	33
5. Conclusiones	37
Bibliografía	37

Anexos	45
A. Análisis termogravimétricos y térmico diferencial del MCPM	45
B. Propiedades reológicas: curvas completas	46
C. Propiedades mecánicas: curvas completas	46

Capítulo 1

Introducción

1.1 Contexto

La capacidad que tiene un hueso para recuperarse de un daño por sí mismo depende, entre varios factores, de un tamaño de defecto crítico [1]. Este tamaño crítico, relacionado al tipo de hueso y características del defecto, se ubica en el orden de 1-2 cm o la pérdida del 50 % de la circunferencia del hueso [2]. Para defectos de tamaño subcrítico, la inmovilización de la extremidad con vendajes y yesos ha sido práctica común en la historia desde civilizaciones antiguas, útil para huesos fisurados y fracturas de tamaño menor [3]. Para defectos más grandes que el tamaño crítico, el tejido no puede ser reparado por el mismo organismo. Es ahí cuando surge la necesidad de intervenir quirúrgicamente en el proceso para asistir a la reconstrucción del tejido óseo. Se necesitó de un avance científico significativo que permita la sujeción de los fragmentos de hueso mediante materiales estructurados que presenten bajo riesgo de infección o rechazo durante la regeneración.

Las soluciones quirúrgicas propuestas para reemplazar o asistir al hueso dañado utilizando hueso sano contemplan injertos del mismo paciente (autoinjerto), de otro paciente (aloinjerto) o de otra especie (xenoinjerto), donde se duplica el número de sitios quirúrgicos en el primer caso y se aumenta el riesgo de rechazo por el sistema inmune en los últimos dos [4].

En la búsqueda de materiales compatibles con el organismo nace el concepto de biomaterial, definido como “un material diseñado para adoptar una forma que pueda dirigir, mediante interacciones con sistemas vivos, el curso de cualquier procedimiento terapéutico o diagnóstico” [5]. Estos materiales comprenden diversas familias como metales, cerámicos, polímeros, vidrios bioactivos, materiales compuestos y materiales inteligentes, cada uno con características que los hacen adecuados para aplicaciones médicas específicas.

Para reparar defectos óseos, se han desarrollado estructuras de fijación interna o externa fabricadas con biomateriales comúnmente metálicos [6, 7]. Este tipo de estructuras representa un problema en pacientes pediátricos por seguir en crecimiento, lo que implica que el implante deba ser removido apenas se logre la regeneración del hueso. Además, la implantación de estos dispositivos requiere una intervención quirúrgica de gran tamaño. También, existe la posibilidad de que la estructura sea rechazada por el organismo por productos de tribocorrosión que resulten tóxicos o liberación de iones metálicos al torrente sanguíneo [8, 9].

Actualmente, se usan pastas de polimetilmetacrilato (PMMA) para fijar implantes y rellenar defectos óseos. Se ha demostrado que tiene buena biocompatibilidad, propiedades me-

cánicas similares al hueso y su costo es inferior a las alternativas metálicas [10]. Sin embargo, este polímero no es reabsorbible por el organismo, su reacción de síntesis alcanza temperaturas cercanas a 100°C causando necrosis en los tejidos cercanos [11] y su monómero es citotóxico [12].

Paralelamente, se han desarrollado compuestos de fosfato de calcio autocementantes (CPCs) que presentan similitud química, morfológica y biológica con la apatita ósea, componente inorgánico principal del tejido óseo. Entre la variedad de CPCs, destaca el obtenido de la reacción entre el fosfato β -tricálcico (β -TCP) y el fosfato monobásico de calcio monohidratado (MCPM) en medio acuoso [13], por su bajo costo de producción respecto a otros compuestos [14]. Este compuesto está formulado para emular la matriz extracelular del hueso (MEC) y favorecer la proliferación de células óseas mientras es reabsorbido lentamente por el organismo, formando hueso nuevo en el proceso [14–16]. La formulación de pastas para relleno óseo a base de biomateriales surge como alternativa a los injertos y rellenos por su alta tasa de absorción y capacidad de formar hueso nuevo [17]. Estas pastas cerámicas son actualmente usadas en aplicaciones médicas clínicas y veterinarias como cemento para fijación de implantes y relleno de defectos congénitos o patológicos en el hueso, donde la reacción de fraguado ocurre en el organismo y se accede al sitio quirúrgico mediante una aguja [18, 19]. También son usados para la fabricación de piezas implantables fraguadas in vitro, llamadas andamios por su función como soporte estructural, elaborados para ajustar a la anatomía del paciente [20, 21]. Un ejemplo de aplicación puede observarse en la Figura 1.1, donde se trata un defecto en la órbita ocular con un implante de CPC.

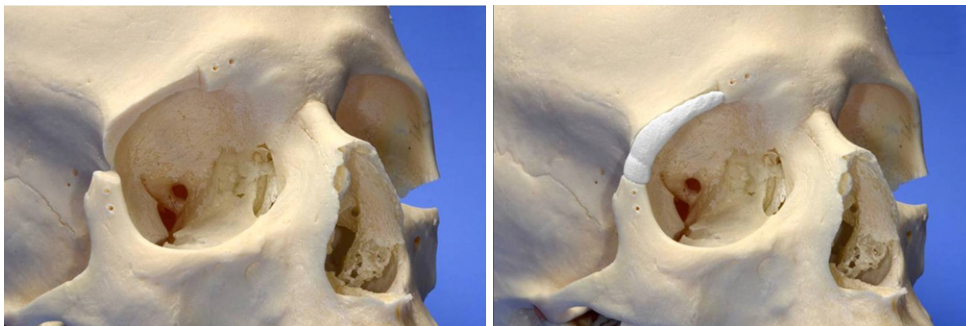


Figura 1.1: Izquierda: Cráneo con un defecto en el reborde orbitario. Derecha: Implante de fosfato de calcio bifásico impreso e insertado con una precisión de ajuste adecuada. Extraído de [21].

Los tipos de tejidos óseos se diferencian en su estructura macroscópica y microscópica sin un límite discreto definido [22]. El hueso cortical es la capa exterior más densa de la estructura, con una porosidad de 5-13 % y poros del orden de decenas de micrones, mientras que el hueso trabecular es la estructura interna menos densa caracterizada por tener una porosidad macroscópica interconectada (30 % a 90 %) con poros del orden de cientos de micrones, morfología que permite la vascularización e infiltración de células [23, 24]. Utilizar una pasta cerámica para obtener una estructura que reproduzca la porosidad jerárquica e interconectada del hueso y que no afecte a la biocompatibilidad del producto está limitada por los procesos tradicionales de conformado de la industria cerámica. Por este motivo, se ha propuesto explorar el área de la manufactura aditiva, utilizando la impresión 3D basada en extrusión usando pastas cerámicas como “tintas” para imprimir un andamio biomimético [7, 25, 26].

Para favorecer la inyectabilidad y extrudabilidad de la pasta, se estudian aditivos que modifiquen la viscosidad y tiempo de fraguado [27–30]. La comprensión de la reología del sistema determina los parámetros de viscosidad y tiempo que definen la ventana de procesamiento de un andamio conformado por impresión 3D, pudiendo correlacionar la fidelidad de impresión con la viscosidad de la pasta [31,32]. La Figura 1.2 describe el endurecimiento de una pasta de fosfato de calcio mediante la evolución de la viscosidad (η^*) en el tiempo, señalando estadios de fácil inyección por baja viscosidad (período de inyección), período de pasta manipulable pero inyección difícil (período de manipulación) y crecimiento exponencial de la viscosidad por solidificación (período de fraguado) [33].

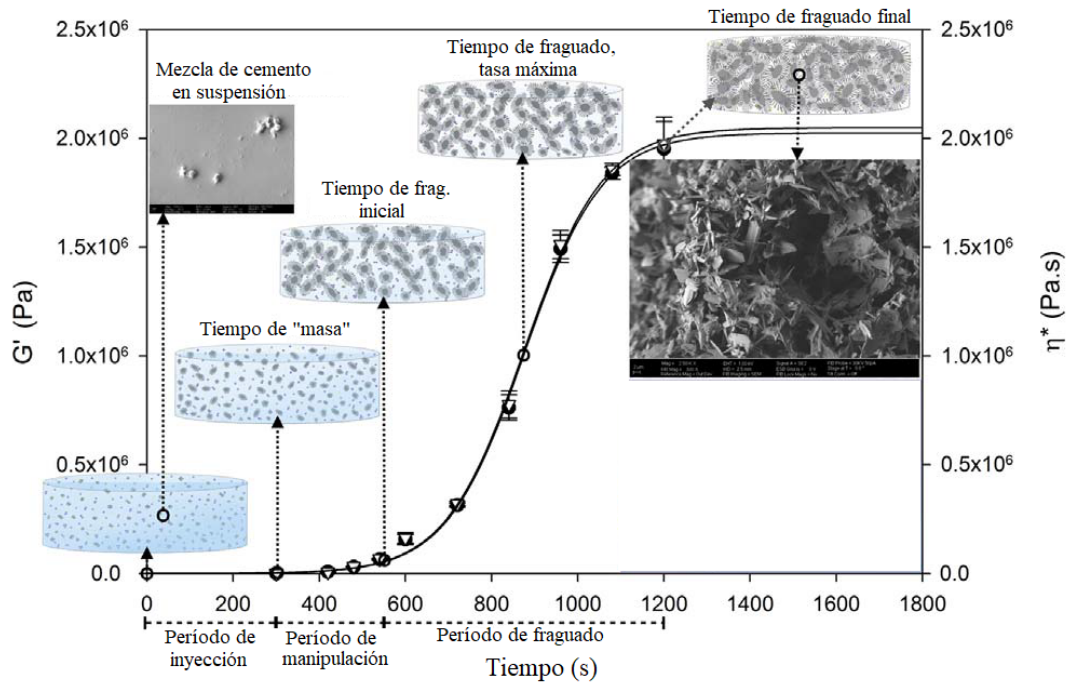


Figura 1.2: Representación esquemática de la cinética de fraguado del cemento de brushita y la evolución en el tiempo de las propiedades viscoelásticas lineales. Extraído y modificado de [33].

El profundo estudio de este sistema como alternativa a los métodos actualmente usados para la reparación del tejido óseo es de importancia para el avance de la tecnología médica por presentar una reacción de fraguado poco exotérmica respecto a la polimerización del PMMA [16], y por presentar similitud química y biológica con el tejido óseo [34].

1.2 Marco Teórico

1.2.1 Ingeniería de tejidos y biomateriales

La ingeniería de tejidos es la ciencia interdisciplinaria que estudia la fabricación de dispositivos implantables que asistan a tejidos dañados durante su regeneración o reemplacen su función, buscando minimizar los trasplantes y los problemas inmunológicos asociados [35].

Para fabricar un dispositivo implantable en un organismo, se seleccionan materiales que sean inertes o que tengan una respuesta favorable dependiendo de su aplicación. Un biomaterial

es aquel material diseñado para interactuar con sistemas biológicos [36].

Históricamente, se ha propuesto reparar el tejido óseo dañado rellenando el defecto con biomateriales como el polimetilmetacrilato (PMMA), cerámicos de fosfato de calcio, vidrio bioactivo, sulfatos de calcio y compuestos de fosfato de calcio autocementantes (CPC) [37]. También, se ha explorado implantar una estructura (andamio) que funcione de soporte para la proliferación de células óseas. Estos andamios pueden ser fabricados con materiales metálicos, poliméricos y cerámicos [38]. Entre los materiales usados actualmente para regeneración ósea, destacan las pastas de fosfatos de calcio por formar estructuras similares química, mecánica y morfológicamente al hueso, además de presentar la capacidad de formar hidroxiapatita en su superficie en medio biológico [39].

1.2.2 Pastas de fosfato de calcio

Las pastas de fosfato de calcio han sido ampliamente estudiadas como materiales para relleno óseo debido a su biocompatibilidad, bioactividad y capacidad de reabsorción [17, 40]. En el estudio de estos sistemas, se busca obtener materiales cerámicos implantables con propiedades mecánicas similares al hueso (ver Tabla 1.1).

Tabla 1.1: Propiedades mecánicas del hueso cortical y trabecular. Extraído de [19].

Hueso	Módulo de elasticidad (E)	Resistencia a compresión
Cortical	7-30 GPa	160-190 MPa
Trabecular	50-500 MPa	1,9-10 MPa

Una característica clave de las pastas de fosfato de calcio es la porosidad intrínseca que poseen, cualidad que disminuye la resistencia mecánica final pero favorece a procesos de absorción por el organismo y bioactividad por incremento de superficie [41].

Composición y materias primas

Se han desarrollado diversas composiciones de pastas de fosfato de calcio, siendo las más comunes aquellas basadas en fosfato tetracálcico y fosfato dicálcico anhidro (TTCP/DCPA, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}/\text{CaHPO}_4$), fosfato α -tricálcico (α -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), y fosfato β -tricálcico y fosfato monocálcico monohidratado (β -TCP/MCPM, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2/\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) [13, 42–44]. Dentro de esta variedad, el sistema β -TCP/MCPM se destaca por su rapidez de fraguado respecto al TTCP/DCPA (entre 80 y 160 segundos), el bajo costo y estabilidad de los reactivos involucrados [14, 28].

Reacción química de cementado

La reacción de fraguado del sistema β -TCP/MCPM está determinada por la interacción entre los fosfatos de calcio en un medio acuoso de pH ácido para formar fosfato dibásico de calcio dihidratado (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) [45]:



El endurecimiento de la pasta es atribuido al crecimiento y entrelazamiento de cristales de DCPD [46]. Este compuesto, también conocido por su nombre mineral brushita, es biocompatible y puede ser reabsorbido por el organismo. Al implantarse una pasta ósea formadora de brushita, esta se degrada en pocos meses y favorece la formación de hidroxiapatita, reemplazando el material por hueso nuevo [39,47].

En materiales cementicios, la opacidad es un indicador indirecto del grado de fraguado. En la transición de fase líquida a sólida, se generan microestructuras que aumentan la dispersión de luz, reduciendo la transmitancia y maximizando la opacidad superficial. La evolución de la opacidad en cementos de fosfato de calcio puede monitorearse mediante el análisis de reflexión difusa durante el fraguado, permitiendo estimar el tiempo inicial de fraguado [48].

Aditivos

Un hidrogel es un material polimérico que se hincha en agua y forma una estructura tridimensional a partir de reacciones de entrecruzamiento [49]. Se ha demostrado que el agregado de hidrogeles biocompatibles a la pasta, previo al fraguado, aporta una componente viscosa significativa que favorece a la manipulación e inyectabilidad de la misma, así como la cohesividad entre partículas durante la reacción [19]. Entre los hidrogeles estudiados en el campo se encuentran el quitosano [50,51], alginatos [52], colágeno [53] y ácido hialurónico [54]. El ácido hialurónico, además de contribuir a la reología del sistema, aumenta el módulo de compresión e induce a la regeneración ósea [55].

Es ideal ajustar el tiempo de fraguado de la pasta a valores manejables en un entorno quirúrgico (5 a 10 minutos) [28]. Para controlar la cinética de la reacción de fraguado, es posible agregar aditivos que inhiban o retrasen la formación de la brushita tales como sulfatos y pirofosfatos de calcio [27], sulfatos de sodio [29], ácido fítico [30], citrato de sodio [56], ácido cítrico [57] y vidrio bioactivo [58].

El vidrio bioactivo o biovidrio (BG) es un compuesto cerámico formulado para estimular la regeneración de tejidos óseos. La liberación de iones de calcio al medio logran la precipitación de hidroxiapatita, favoreciendo la adhesión entre la interfaz del tejido y un implante [59]. Su composición más utilizada en el ámbito clínico es la denominada 45S5, compuesta por 45 % SiO_2 , 24,5 % Na_2O , 24,5 % CaO , 6 % P_2O_5 [60]. Su uso como aditivo en CPCs ha sido extensamente estudiado por su desempeño como inductor de formación de hueso, además de retrasar la reacción de fraguado [20,58].

1.2.3 Impresión 3D

La impresión 3D con biomateriales es un proceso de conformado donde un cabezal móvil deposita biomaterial sobre un sustrato (cama) siguiendo un diseño asistido por computadora para posterior uso en un entorno biológico [25]. La impresión basada en extrusión consiste en la deposición de un líquido viscoso, comúnmente llamado “tinta” [61,62], mediante el accionamiento controlado de un pistón, fuerza neumática o tornillo sin fin (Figura 1.3), para luego endurecer por reacciones a luz UV, cambios térmicos o químicos [63].

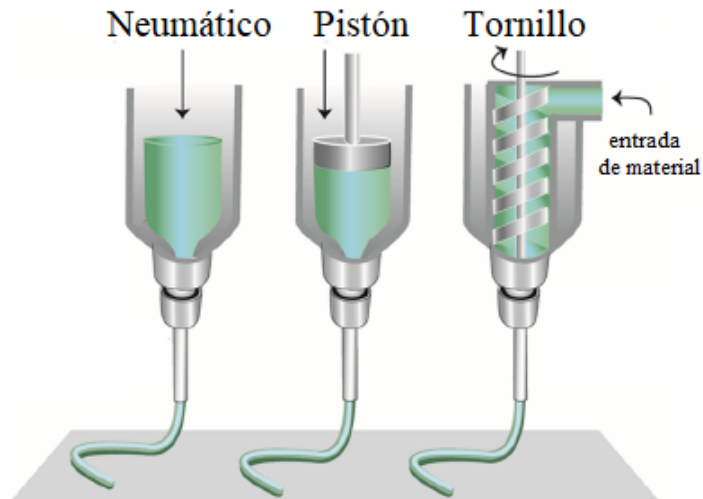


Figura 1.3: Representación esquemática de técnicas de impresión 3D basada en extrusión. Extraído y modificado de [64].

Entre los parámetros ajustables de la impresión 3D basada en extrusión inherentes al equipo, resaltan la velocidad de impresión o cantidad de material depositado por unidad de tiempo, el diámetro de la boquilla de extrusión, temperatura de la tinta y de la cama, y porcentaje de relleno del impreso. Respecto a la tinta, el parámetro más importante es la viscosidad y viscoelasticidad, determinante de un óptimo desempeño para reproducir fielmente el diseño a imprimir.

Para comparar el desempeño de una tinta respecto a otra, es importante definir parámetros medibles y con significado físico. Un parámetro característico del proceso es la fidelidad de impresión (Pr), donde un valor de $Pr = 1$ indica una óptima fidelidad de impresión [65]. Existen distintos métodos para determinar cuantitativamente la fidelidad de impresión, donde se calculan relaciones entre el impreso y el diseño teórico (Figura 1.4). Es posible también evaluar cualitativamente la fidelidad de impresión observando la reproducibilidad del conformado de un impreso [62].

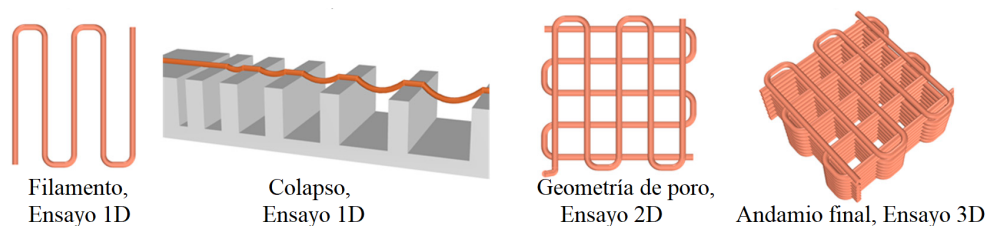


Figura 1.4: Representación esquemática de distintos ensayos de determinación de fidelidad de forma en impresión 3D. Extraído y modificado de [65].

En el proceso de impresión 3D toman importancia parámetros como la fuerza necesaria para extruir la tinta a través de la boquilla, la continuidad del extruido por cohesión del fluido y la capacidad de mantener la forma durante la solidificación, la adhesión de la primera capa al sustrato y la unión entre capas [66, 67]. La Figura 1.5 es una representación esquemática que muestra el efecto de la viscosidad de la tinta en la geometría del impreso obtenido, donde la viscosidad óptima permite imprimir un trazo continuo de material depositado que conserva la forma hasta solidificar.

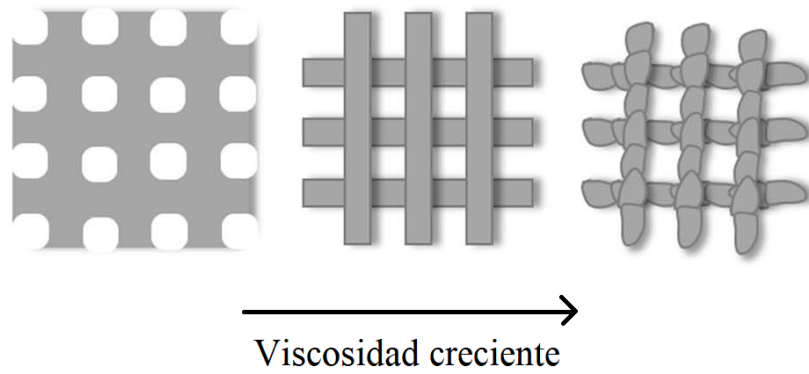


Figura 1.5: Evaluación de fidelidad de impresión en tres condiciones de viscosidad. Extraído y modificado de [67].

1.3 Objetivos

Objetivos generales

Evaluar y comparar las propiedades mecánicas, morfológicas y reológicas de pastas de fosfato de calcio formuladas para ser utilizadas en la impresión de andamios para regeneración ósea. Determinar la pasta óptima en términos de fidelidad de impresión y propiedades mecánicas.

Objetivos específicos

- Diseñar, elaborar y caracterizar la reología de pastas con diferentes proporciones de un hidrogel de ácido hialurónico cargado con partículas de β -TCP, MCPM y BG.
- Obtener estructuras 3D impresas con precisión y evaluar su respuesta mecánica y morfológica.
- Comparar las propiedades mecánicas y morfológicas de los andamios obtenidos mediante impresión 3D basada en extrusión con diferentes formulaciones de tinta.

Capítulo 2

Materiales y métodos

2.1 Materiales

Fosfato monobásico de calcio monohidratado (MCPM, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) y fosfato β -tricalcico (β -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), ambos de Sigma-Aldrich; ácido hialurónico de alto peso molecular (HA), provisto por la distribuidora Van Rossum S.A.; ácido cítrico anhidro ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) de Parafarm; hidróxido de potasio en pellets (KOH) de Biopack; sulfato de calcio hemihidratado (yeso de París, CSH, $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$); biovidrio 45S5 (BG, 45 % SiO_2 , 24,5 % Na_2O , 24,5 % CaO , 6 % P_2O_5); y citrato de sodio dihidratado ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$).

2.2 Evaluación de aditivos retardantes del fraguado

Para evaluar el efecto retardante del fraguado de distintos aditivos, se mezclaron manualmente los polvos de β -TCP (60 m/m %) y MCPM (40 m/m %) en placas de Petri usando una espátula (mezcla base). Se agregó HA (3 m/m % de la mezcla base) como agente viscosante, integrando con espátula a la mezcla. Luego, se hidrató esta mezcla con aditivos en soluciones acuosas (ver Tabla 2.1) con una relación líquido-sólido fija de $0,330 \text{ cm}^3/\text{g}$, agitando manualmente con espátula hasta obtener una mezcla homogénea. Cada pasta formulada adoptó el nombre indicado en la misma tabla, relacionado al aditivo utilizado.

2.3 Preparación de tintas seleccionadas para impresión 3D

En placas de Petri, se formularon pastas con distintos aditivos: ácido cítrico 0,25 M, ácido cítrico 0,50 M y pasta con citrato de sodio 0,25 M y biovidrio (A25, A50 y C4, respectivamente) según lo descrito en la Sección 2.2. Las pastas recién formuladas fueron transferidas inmediatamente a jeringas de 1 ml con una espátula para su uso en un proceso de impresión 3D basada en extrusión. Al ser pastas de alta componente viscosa, se imposibilita la extrusión a través de la aguja de mayor diámetro interno disponible en el laboratorio (calibre G21, diámetro interno de $514 \mu\text{m}$). Para lograr la extrusión aplicando una fuerza menor sobre el émbolo, se fabricaron boquillas de impresión de diámetro interno superior a 1 mm a partir de puntas para micropipeta de $200 \mu\text{l}$ cortadas a medida (Figura 2.1). El conjunto de jeringa y boquilla fue denominado “cartucho de impresión” (Figura 2.2).

Tabla 2.1: Aditivos evaluados como retardantes de la reacción de fraguado.

Pasta	Aditivo	Concentración
A0	Agua desionizada	-
A10	Ácido cítrico	0,10 M
A25	Ácido cítrico	0,25 M
A50	Ácido cítrico	0,50 M
C4	Citrato de sodio* + biovidrio**	0,25 M
C5	Citrato de sodio	0,50 M
K5	Citrato de potasio	0,50 M
K0	Citrato de potasio, saturado con KOH	0,50 M
N09	Cloruro de sodio	0,9 m/m %
N14	Cloruro de sodio	14 m/m %
S10	Sulfato de calcio hemihidrato***	10 m/m %

*: Se agregó 2 m/m % de HA a la mezcla base.

**: El reactivo fue agregado en polvo a la mezcla base en proporción 2.7 m/m % de la mezcla base.

***: El reactivo fue agregado en polvo a la mezcla base, luego hidratado con agua desionizada.



Figura 2.1: Boquillas de impresión, distintos diámetros internos. De izquierda a derecha: Tip para micropipeta de 200 μ l nuevo, boquilla de 1 mm, boquilla de 2 mm y boquilla de 2,5 mm.



Figura 2.2: Cartucho de impresión. Jeringa de 1 ml con boquilla de 1 mm.

2.4 Impresión 3D de pastas

Se insertaron los cartuchos cargados con las tintas preparadas en la Sección 2.3 en el cabezal de extrusión de la bioimpresora Life SI, modelo 3DRes V3.0 (Figura 2.3). La impresora cuenta con una camisa calefactora en el cabezal izquierdo que permite controlar la temperatura de la pasta en el proceso. Se realizaron pruebas de impresión de grillas (Figura 2.4) a temperatura ambiente utilizando boquillas de 1 mm, 2 mm y 2,5 mm de diámetro interno. La altura entre capas se definió como el 60 % del diámetro interno de la boquilla.

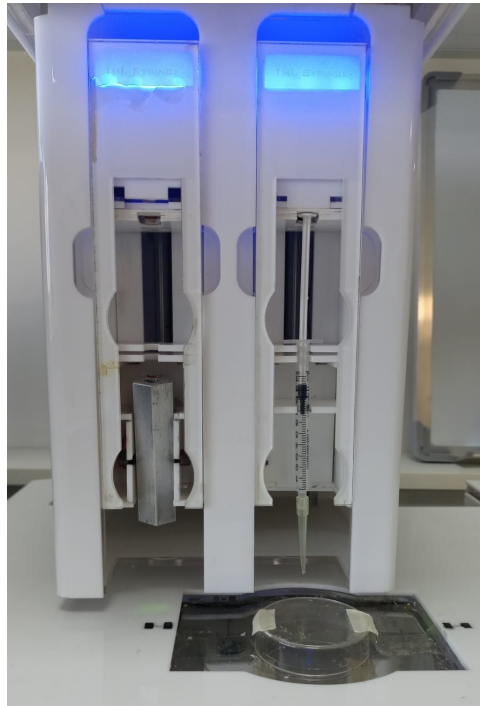


Figura 2.3: Bioimpresora LifeSI, modelo 3DRes V3.0, con cartucho cargado en el cabezal derecho.

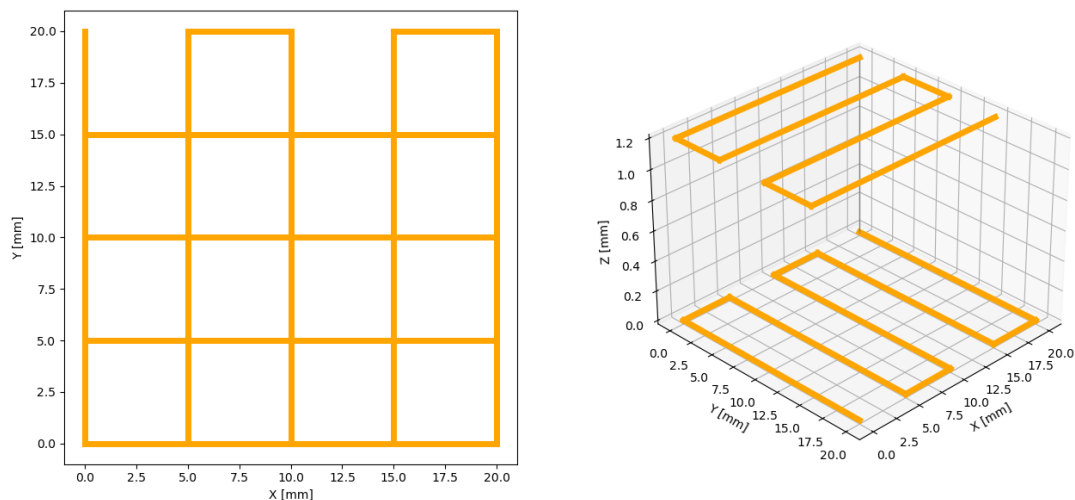


Figura 2.4: Modelo de grilla para cálculo de fidelidad de impresión con boquilla de 2 mm de diámetro interno.

2.5 Caracterización

2.5.1 Materias primas

Fosfato monobásico de calcio monohidratado

Se realizó una investigación de importancia para el trabajo referente a la composición del fosfato de calcio monobásico monohidratado (MCPM) tal como se suministra por dos proveedores, Sigma-Aldrich y Biopack. Este estudio se motiva en determinar si algún contaminante retrasa la reacción de fraguado en algunas mezclas de β -TCP/MCPM en agua desionizada ($0.330 \text{ cm}^3/\text{g}$), al obtener tiempos de fraguado notablemente distintos según el proveedor del compuesto.

Para este estudio, se realizaron ensayos de solubilidad en agua, medición de pH, análisis termogravimétrico (ATG), térmico diferencial (ATD), y difracción de rayos X (DRX) de los polvos.

Los ensayos de solubilidad y medición de pH con tiras de papel indicador se realizaron mezclando 2 mg de cada muestra en 2 ml de agua desionizada a 25°C . Los ensayos ATG y ATD fueron realizados en simultáneo usando 10 mg de cada muestra y realizando un barrido desde 25°C hasta 400°C a una tasa de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, en un flujo de 20 ml/min de aire en un Analizador Térmico Shimadzu, modelo DTA-50 del Departamento Física de la Materia Condensada, Gerencia Investigación y Aplicaciones, GAIDI - CAC - CNEA. El ensayo de DRX se realizó con una fuente de radiación $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) monocromada en un Difractómetro Panalytical, modelo Empyrean con Detector PIXCEL3D, del Laboratorio de Difracción de Rayos X, Departamento Física de la Materia Condensada, Gerencia Investigación y Aplicaciones, GAIDI - CAC - CNEA. Los patrones de difracción de rayos X fueron analizados utilizando el software de acceso libre QualX2.0 [68].

Fosfato β -tricálcico

Para determinar la estructura cristalina y composición del compuesto, se analizó una muestra de β -TCP (tal como se suministra por el proveedor) por difracción de rayos X (DRX).

2.5.2 Inspección visual del fraguado

Con el objetivo de seleccionar las pastas que presenten un fraguado más lento para facilitar su manipulación y procesabilidad desde la formulación hasta la aplicación, se registró el tiempo de fraguado inicial de las pastas formuladas en la Sección 2.2 observando el cambio de opacidad de la superficie de $500 \mu\text{l}$ de mezcla en un portaobjetos de vidrio bajo una luz LED blanca. También, se tomó nota de las características físicas observables de cada pasta durante la reacción de fraguado.

2.5.3 Caracterización reológica

La reología es el estudio del comportamiento de un fluido frente a un esfuerzo aplicado. En un ensayo oscilatorio en reómetro se mide el torque necesario para deformar un material a

una velocidad angular (ω) y desplazamiento angular (θ) determinados, parámetros que establecen una relación entre esfuerzo cortante (τ) y deformación angular (γ) [69].

El ángulo de fase delta (δ) describe el desfase temporal entre la deformación aplicada y la respuesta del material. Este parámetro se relaciona con el módulo de almacenamiento (G') que representa la energía elástica recuperable que el material puede guardar durante la deformación, componente sólida, y el módulo de pérdida (G'') que cuantifica la energía disipada como calor durante el flujo, componente viscosa [33, 69]. Se expresa como:

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad (2.1)$$

El esfuerzo cortante aplicado al material, expresado en función de las contribuciones elásticas y viscosas, se define como:

$$\tau = G'(\omega)\gamma_0 \sin(\omega t) + G''(\omega)\gamma_0 \cos(\omega t) \quad (2.2)$$

donde γ_0 es la amplitud de deformación angular [69].

Cuando el módulo de almacenamiento G' es mucho mayor que G'' el material tiene un comportamiento predominantemente sólido, observado en pastas de fosfato de calcio estudiadas en bibliografía [70, 71].

Para caracterizar las propiedades reológicas de las pastas, se estudió el cambio de módulo de almacenamiento respecto al tiempo durante el fraguado y el efecto del mezclado en las propiedades determinadas.

Las muestras de pasta fueron caracterizadas reológicamente utilizando un reómetro híbrido TA Instruments, modelo Discovery HR-3. Se empleó una geometría de platos paralelos con un dispositivo de reducción de área (Figura 2.5) para utilizar una superficie circular de 20 mm de diámetro y ensayar menor cantidad de material. Las superficies de contacto con la pasta fueron recubiertas con papel de lija grano 100 para evitar deslizamientos. Se estableció una separación entre platos (*gap*) de 1000 μm . El ensayo se configuró en modo oscilatorio a una frecuencia fija de 1 Hz y una deformación de 0,01 % de la separación entre platos. Las mediciones se realizaron a 25 °C con cinco réplicas por cada tipo de pasta. A partir de las curvas de G' en función del tiempo, se determinó el tiempo de fraguado inicial extrapolando la región lineal a la abscisa (*onset*), y la tasa de fraguado promedio definida como la pendiente [33].

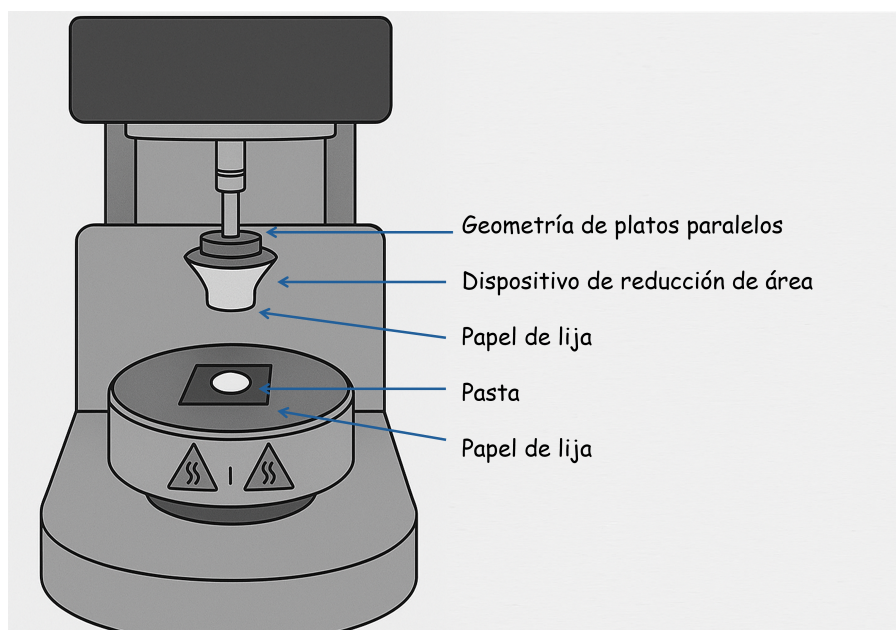


Figura 2.5: Representación esquemática del montaje experimental de ensayos reológicos en reómetro con geometría de platos paralelos y dispositivo de reducción de área. Imagen generada con IA.

En materiales cementicios, se produce una disminución de la viscosidad por rotura de la estructura interna ante la acción de esfuerzos externos, efecto denominado “descomposición tixotrópica” [70, 72]. Para evaluar el efecto del tiempo y velocidad de mezclado de la pasta en la tasa de fraguado, se configuró un ensayo de flujo para mezclar las pastas utilizando la geometría previamente descrita, separación de $1000\ \mu\text{m}$, velocidad angular constante y tiempo de mezclado definido según la Tabla 2.2. Posterior al ensayo de flujo, se reposó la pasta por 20 segundos y se inició un ensayo oscilatorio con parámetros iguales a los anteriores. Todos los ensayos se realizaron a $25\ ^\circ\text{C}$.

Tabla 2.2: Parámetros de tiempo y velocidad seleccionados para los ensayos de mezclado en reómetro.

Condición	Tiempo (s)	Velocidad angular (RPM)
1	815	4
2	815	30
3	815	60
4	815	120
5	1222	4
6	1630	4

Previo a la carga en el reómetro en todos los ensayos, las muestras fueron homogeneizadas mediante mezclado manual con espátula. Los ensayos reológicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biomateriales, Biomecánica y Bioinstrumentación (Lab3bio), ITECA - UNSAM.

2.5.4 Fidelidad de impresión

Para evaluar el desempeño de las pastas en un proceso de impresión 3D basada en extrusión, se realizó un procedimiento de determinación de fidelidad de impresión a partir de grillas impresas según la Sección 2.4 con distinto diámetro de boquilla y altura inicial. La fidelidad de impresión fue determinada mediante relaciones geométricas según la relación:

$$Pr = L^2/16A \quad (2.3)$$

Esta ecuación relaciona el área A de un hueco cuadrado con su perímetro L , evaluando la circularidad del hueco [62,65]. Se obtuvieron imágenes de las grillas y se analizaron los huecos internos utilizando el software de análisis de imagen ImageJ [73], calculando la fidelidad de impresión promedio por muestra.

2.5.5 Caracterización morfológica

Se caracterizaron por DRX las pastas después del fraguado para determinar la fase predominante, composición química, estructura cristalina formada, presencia de fase amorfa y de fases precursoras en el producto.

Se observaron en microscopio electrónico de barrido (MEB) las superficies expuestas al aire y superficie de fractura de muestras de las pastas fraguadas. Para analizar las superficies de fractura y estructura interna, las muestras fueron fracturadas con una espátula metálica a temperatura ambiente. Previo a la microscopía, las muestras fueron metalizadas por pulverización catódica en un metalizador Quorum, modelo Q150TS Plus con cátodo de oro. Las muestras fueron observadas en el microscopio FEI Quanta 200 del Laboratorio de Microscopía Electrónica, Gerencia de Materiales, CAC - CNEA. Para medir los tamaños característicos de las estructuras cristalinas, se analizaron las imágenes obtenidas por MEB mediante el software de análisis de imagen ImageJ. Utilizando la escala proporcionada por el microscopio como referencia, se midieron manualmente tanto el diámetro de los poros visibles en la superficie de fractura como el largo de las estructuras cristalinas, con el fin de comparar el orden de magnitud de estas medidas entre las distintas muestras.

2.5.6 Caracterización mecánica de pastas fraguadas

Para determinar la resistencia a la compresión y módulo de elasticidad de las pastas, se realizaron ensayos de compresión uniaxial. Se fabricaron probetas cilíndricas de las pastas con dimensiones de 7 mm de diámetro y 14 mm de altura. Para su conformación, se utilizaron moldes hechos con tubos de acrílico cortados longitudinalmente para facilitar el desmolde, y se aseguraron caras plano-paralelas mediante tapas de vidrio.

Las probetas fueron sometidas a un ensayo de compresión uniaxial con velocidad constante de 0,5 mm/min en una máquina universal de ensayos Instron, modelo 5500R equipada con una celda de carga de 500 kgf del Laboratorio SUR-100, Gerencia de Materiales, CAC - CNEA. Se ensayaron 5 réplicas por pasta.

Capítulo 3

Resultados

3.1 Materias primas

Las muestras de MCPM fueron nombradas **MCPM-S** (fosfato de calcio monobásico monohidratado, puro, Sigma-Aldrich) y **MCPM-B** (fosfato de calcio monobásico monohidratado, puro, Biopack).

La muestra MCPM-S se disolvió en agua sin requerir agitación, formando una solución transparente. La muestra MCPM-B se disolvió parcialmente formando una suspensión con gran parte del soluto decantado, solución con turbidez blanca al mezclar. La medición del pH de las soluciones fue 2 para la muestra MCPM-S y 5 para la muestra MCPM-B.

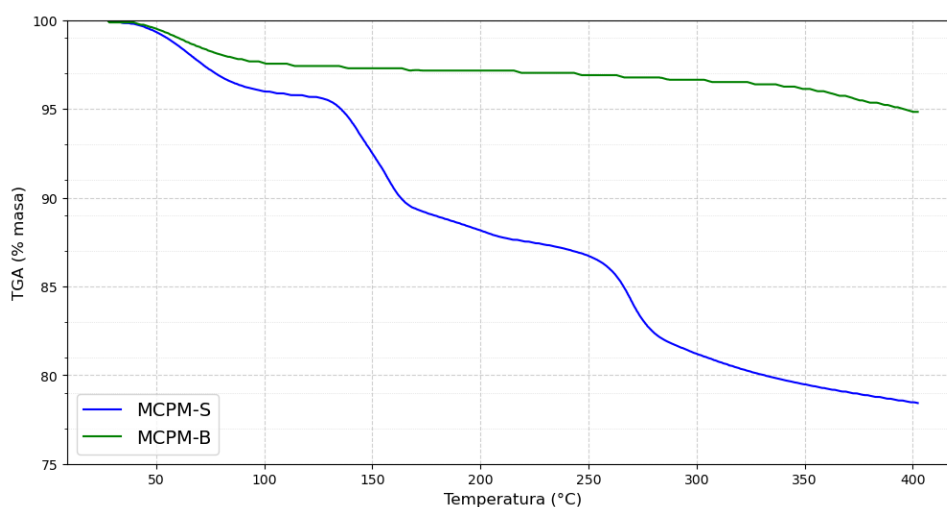


Figura 3.1: Análisis termogravimétrico de muestras de MCPM de dos proveedores, Sigma-Aldrich (azul) y Biopack (verde).

El diagrama de ATG de la muestra MCPM-S presentó tres eventos marcados de pérdida de masa. El diagrama correspondiente a la muestra MCPM-B solo mostró un evento de pérdida de peso por debajo de 100 °C. Una comparación de ambas curvas termogravimétricas (Figura 3.1) evidencia la diferencia en la historia térmica de ambas muestras. Las curvas obtenidas por ATG y ATD de ambas muestras se presentan en el Anexo A.

Para determinar la composición de ambas muestras, se realizó una difracción de rayos X. Los patrones obtenidos se muestran superpuestos en la Figura 3.2.

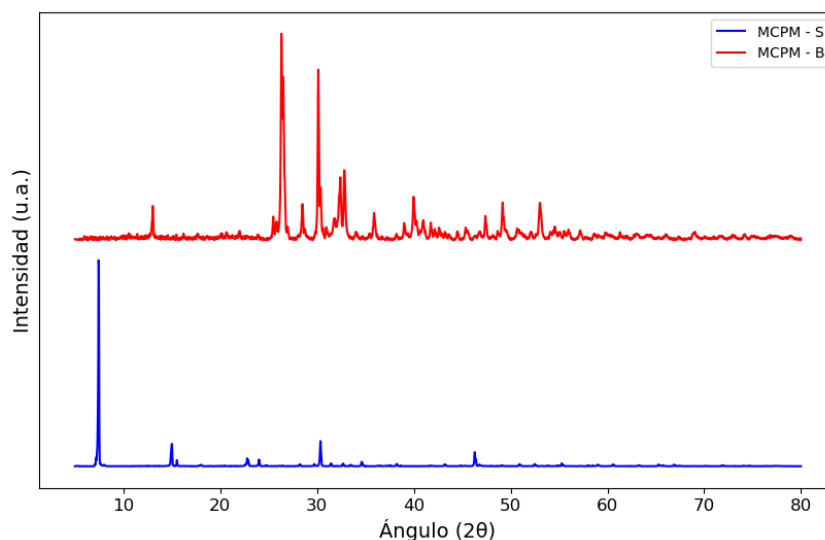


Figura 3.2: Patrones de difracción de rayos X, MCPM de Sigma-Aldrich (rojo) y MCPM de Biopack (azul).

Al comparar los patrones de difracción con la base de datos de QualX2.0, se encontró que la fase cristalina de la muestra de Sigma-Aldrich comparte picos característicos con el fosfato monobásico de calcio monohidratado (ver Tabla 3.1).

Tabla 3.1: Picos característicos de difracción de rayos X experimentales (muestra Sigma-Aldrich) y MCPM ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Valores teóricos de [74].

Ángulo 2θ Exp. ($^\circ$)	Ángulo 2θ Teó. ($^\circ$)	Plano (hkl)
7,46	7,52	(010)
22,79	22,87	(120)
24,03	24,09	(021)

El patrón de difracción de la muestra de Biopack comparte picos característicos con el del fosfato de calcio dibásico anhidro o monetita (ver Tabla 3.2).

Tabla 3.2: Picos característicos de difracción de rayos X experimentales (muestra Biopack) y monetita (CaHPO_4). Valores teóricos de [75].

Ángulo 2θ Exp. ($^\circ$)	Ángulo 2θ Teó. ($^\circ$)	Plano (hkl)
26,34	26,42	(020)
26,57	26,58	($\bar{2}20$)
30,14	30,18	($\bar{1}12$)

Para caracterizar la composición y estructura cristalina del polvo de β -TCP, se realizó una difracción de rayos X (Figura 3.3).

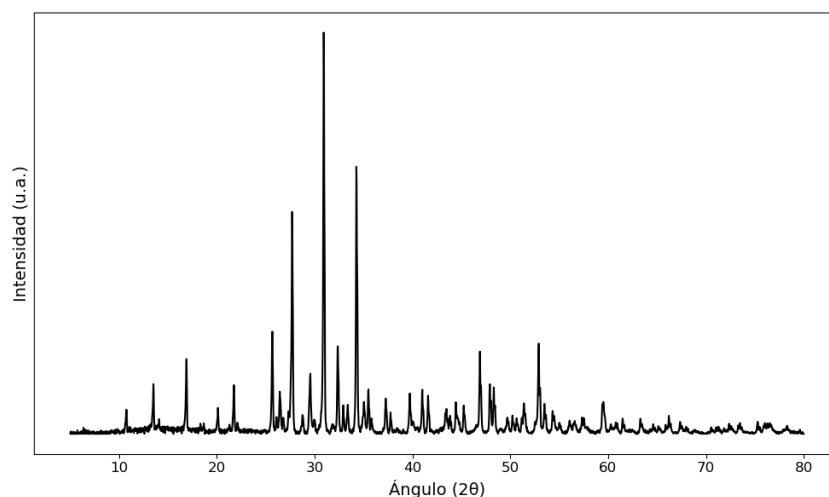


Figura 3.3: Patrón de difracción de rayos X, β -TCP.

Comparando los picos obtenidos con la base de datos de QualX2.0, se encontró que el difractograma coincidía con el reportado para el β -TCP [68], confirmando que el reactivo presentaba la fase cristalina esperada. La comparación de picos característicos se encuentra en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3: Picos característicos de difracción de rayos X experimentales (muestra de β -TCP) y picos esperados de β -TCP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Valores teóricos de [68].

Ángulo 2θ Exp. (°)	Ángulo 2θ Teó. (°)	Plano (hkl)
27,70	27,78	(02 $\bar{1}$ 0)
30,93	31,01	(21 $\bar{3}$ 4)
34,27	34,35	(22 $\bar{4}$ 0)

3.2 Aditivos retardantes de fraguado

Para realizar un análisis cualitativo del tiempo de fraguado promedio, se inspeccionó visualmente la evolución de pastas con distinta composición. En la Tabla 3.4 se encuentran las observaciones sobre la consistencia, tiempo de fraguado y comportamiento mecánico de las pastas formuladas.

Tabla 3.4: Observaciones de consistencia, tiempo de fraguado y comportamiento mecánico en pastas con distintos aditivos.

Composición	Tiempo de fraguado aproximado	Observaciones
Agua desionizada	90 s	Comportamiento similar al cemento blanco comercial.
Ácido cítrico 0,10 M	5 min	Retrasa levemente la hidratación del HA. Pasta con elasticidad superior al resto, de difícil manipulación.
Ácido cítrico 0,25 M	9 min	Retrasa el fraguado y la hidratación del HA. Resistencia al rayado con espátula superior a la pasta con mayor concentración de ácido cítrico y al sistema con agua desionizada.
Ácido cítrico 0,50 M	25 min	Retrasa tanto el fraguado como la hidratación del HA.
Citrato de sodio 0,50 M	-	Pasta de consistencia arenosa, sin cohesividad.
Citrato de sodio 0,25 M + biovidrio	18 min	Viscosidad más alta que el resto a un mismo tiempo.
Citrato de potasio 0,50 M	9 min	Retardante del fraguado, no de la hidratación del HA. Se forma un gel a los pocos segundos de mezclado.
Citrato de potasio 0,50 M saturado con KOH	9 min	Presenta cambios dimensionales importantes durante el fraguado.
Cloruro de sodio 0,9 m/m %	-	Comportamiento similar a citrato de sodio 0,50 M.
Cloruro de sodio 14 m/m %	-	Comportamiento similar a citrato de sodio 0,50 M.
Sulfato de calcio hemihidrato 10 m/m %	<3 min	Pasta elástica similar a la de ácido cítrico 0,10 M.

El sistema con agua desionizada se utilizó como control. El tiempo de fraguado aproximado del resto se midió como la diferencia respecto al control.

A partir de estas observaciones, se seleccionaron tres pastas para su análisis como posibles tintas para impresión 3D: las pastas con ácido cítrico 0,25 M (A25), ácido cítrico 0,50 M (A50) y el sistema con citrato de sodio 0,25 M y biovidrio (C4).

3.3 Propiedades reológicas de las pastas durante el fraguado

Se realizó un estudio cuantitativo de la tasa y tiempo inicial de fraguado a las pastas seleccionadas en la sección anterior. En la Figura 3.4 se muestran las curvas representativas obtenidas en el ensayo oscilatorio para las pastas A25, A50 y C4, con los parámetros indicados reportados en la Tabla 3.5. Todas las curvas obtenidas se encuentran en el Anexo B.

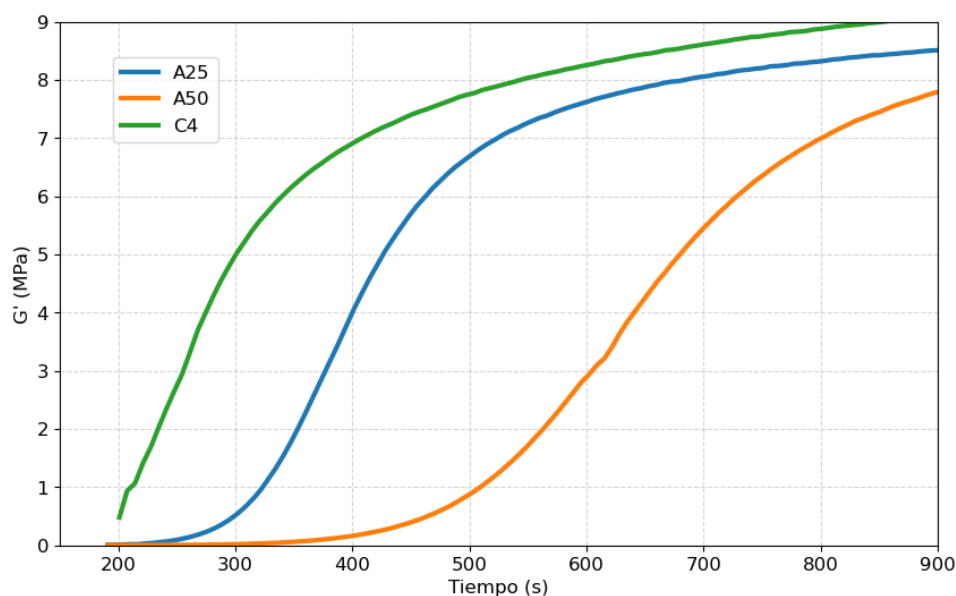


Figura 3.4: Evolución del proceso de fraguado de pastas con distinta concentración de ácido cítrico y sistema con citrato de sodio y biovidrio, evaluado con ensayo oscilatorio en reómetro a partir de analizar cambios el módulo de almacenamiento G' en función del tiempo.

Tabla 3.5: Parámetros reológicos de pastas para relleno óseo: sistema con ácido cítrico 0,25 M (A25), sistema con ácido cítrico 0,50 M (A50) y sistema con citrato de sodio y biovidrio (C4).

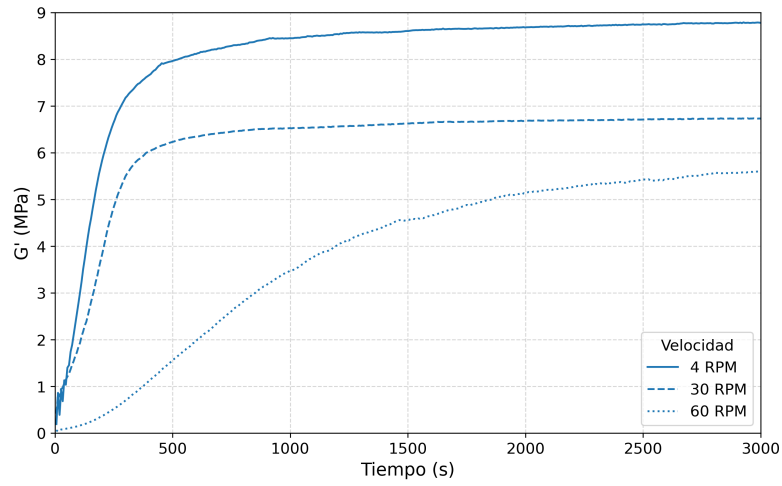
Muestra	Tiempo de fraguado (s)	Tasa de fraguado (kPa/s)
A25	330 ± 30	$37,5 \pm 0,7$
A50	500 ± 40	$25,2 \pm 0,2$
C4	170 ± 10	$45,5 \pm 0,3$

Al comparar las pastas con diferente concentración de ácido cítrico puede observarse un decremento en la tasa de fraguado al aumentar la concentración. También se observó un incremento del tiempo de fraguado con la concentración de ácido cítrico.

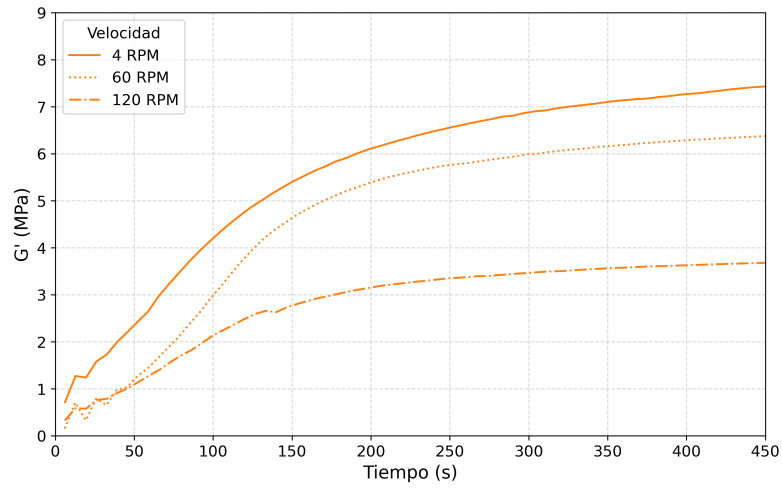
El sistema con citrato de sodio y biovidrio presentó una tasa de fraguado mayor al resto, y un tiempo de fraguado menor. El pie de la curva correspondiente a esta pasta no fue registrado por el ensayo debido al tiempo de carga de la muestra al reómetro, superior al tiempo de fraguado.

Para simular distintas condiciones de tiempo y velocidad de mezclado previo de las pastas y evaluar su efecto en la tasa de fraguado, se realizaron ensayos reológicos oscilatorios con distintas condiciones iniciales. Las curvas obtenidas en los ensayos con variación de velocidad y tiempo inicial de mezclado se presentan en las Figuras 3.5 y 3.6.

(a) A25



(b) A50



(c) C4

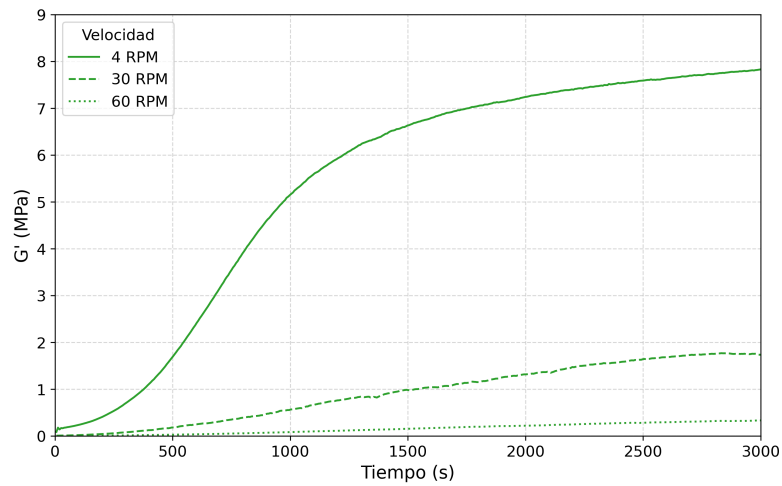
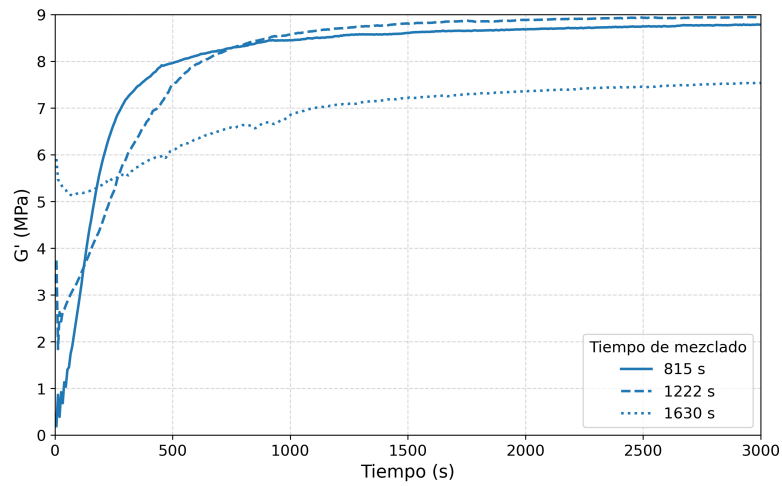
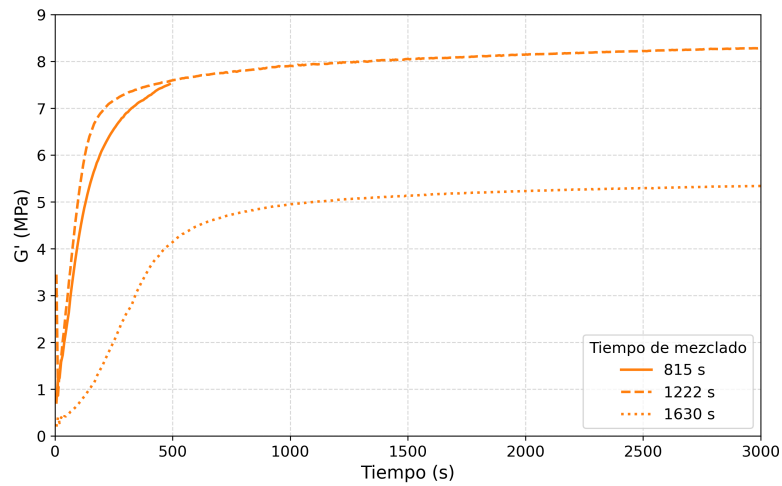


Figura 3.5: Efecto de la velocidad de mezclado en el comportamiento reológico de pastas para relleno óseo. Pastas de β -TCP/MCPM con ácido hialurónico y ácido cítrico 0,25 M (a), ácido cítrico 0,50 M (b) y sistema de citrato de sodio y biovidrio (c). Módulo de almacenamiento G' en función del tiempo.

(a) A25



(b) A50



(c) C4

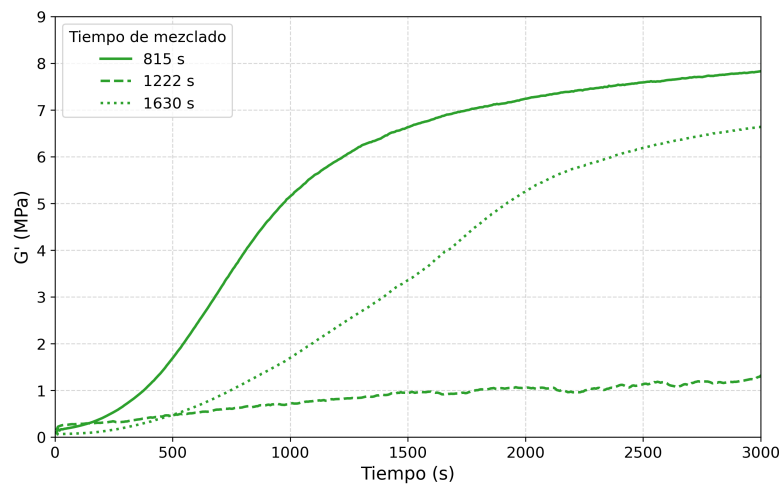


Figura 3.6: Efecto del tiempo de mezclado en el comportamiento reológico de pastas para relleno óseo. Pastas de β -TCP/MCPM con ácido hialurónico y ácido cítrico 0,25 M (a), ácido cítrico 0,50 M (b) y sistema de citrato de sodio y biovidrio (c). Módulo de almacenamiento G' en función del tiempo.

Tabla 3.6: Efecto de la velocidad y el tiempo de mezclado en la tasa de fraguado (kPa/s), pasta A25.

Tasa de fraguado (kPa/s)	0 s	815 s	1222 s	1630 s
0 RPM	37,5	—	—	—
4 RPM	—	29,6	11,6	2,4
30 RPM	—	20,3	—	—
60 RPM	—	4,2	—	—

Tabla 3.7: Efecto de la velocidad y el tiempo de mezclado en la tasa de fraguado (kPa/s), pasta A50.

Tasa de fraguado (kPa/s)	0 s	815 s	1222 s	1630 s
0 RPM	25,2	—	—	—
4 RPM	—	31,8	47,4	10,3
60 RPM	—	33,8	—	—
120 RPM	—	19,8	—	—

Tabla 3.8: Efecto de la velocidad y el tiempo de mezclado en la tasa de fraguado (kPa/s), pasta C4.

Tasa de fraguado (kPa/s)	0 s	815 s	1222 s	1630 s
0 RPM	45,5	—	—	—
4 RPM	—	7,1	—	3,3
30 RPM	—	0,7	—	—
60 RPM	—	0,1	—	—

En las pastas ensayadas, la velocidad de mezclado creciente disminuye la tasa de fraguado y el módulo alcanzado en el tiempo de ensayo, C4 es más sensible a esta tendencia. En los ensayos a velocidad superior a 60 RPM se observó material desplazado fuera de la geometría (Figura 3.7), afectando la medición al tener una superficie de contacto menor entre la pasta y la geometría del reómetro.



Figura 3.7: Ensayo reológico con variación de velocidad de mezclado, etapa de mezclado a 120 RPM. Puede notarse material despedido de la geometría por la velocidad del ensayo.

El tiempo de mezclado significó una disminución de la tasa de fraguado y el módulo de almacenamiento alcanzado en el tiempo de ensayo, siendo el efecto notorio después de los 1222 segundos.

3.4 Fidelidad de impresión

Para cuantificar el desempeño de las pastas en un proceso de impresión 3D basada en extrusión, se calculó la fidelidad de impresión (Pr) en distintas condiciones. Se obtuvieron grillas impresas con las pastas cerámicas con ácido cítrico 0,25 M, ácido cítrico 0,50 M y sistema con citrato de sodio y biovidrio. Se calculó Pr para 5 grillas (ver Tabla 3.9).

Tabla 3.9: Parámetros de impresión y fidelidad de impresión (Pr) medida en grillas de pastas para relleno óseo. Los aditivos utilizados fueron: ácido cítrico 0,25 M (A25), ácido cítrico 0,50 M (A50) y citrato de sodio y biovidrio (C4). Donde d es el diámetro interno de la boquilla, h es la altura de la primera capa y el tiempo es el transcurrido desde la formulación de la pasta hasta la impresión.

Pasta	d (mm)	Tiempo (min)	h (mm)	Pr
A25	2	3	2	1,07
A25	2	7	1	1,56
A50	1	12	1	1,01
A50	2	15	2	1,03
C4	2	5,75	2	1,21

Se encontraron valores de fidelidad de impresión $Pr > 1$ en todas las grillas evaluadas, donde la grilla impresa con boquilla de 1 mm tuvo el valor más cercano a 1 ($Pr = 1,01$, Figura 3.8).

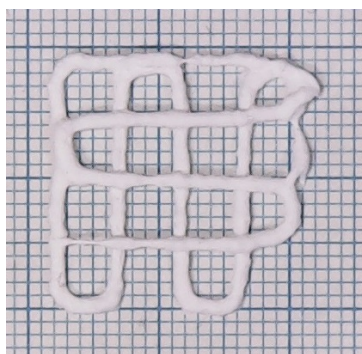


Figura 3.8: Grilla de impresión de pasta con ácido cítrico 0,50 M (A50). Parámetros: $d = 1$ mm, $h = 1$ mm, tiempo inicial = 12 min.

La grilla de pasta con ácido cítrico 0,50 M impresa a los 15 minutos de formulación con boquilla de 2 mm de diámetro interno (Figura 3.9) muestra una diferencia en el ancho del trazo de una capa respecto a la otra, y un exceso de material en el punto final del recorrido (esquina inferior izquierda).

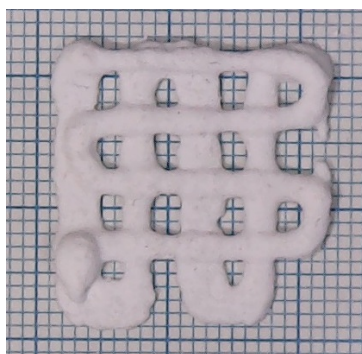


Figura 3.9: Grilla de impresión de pasta con ácido cítrico 0,50 M (A50). Parámetros: $d = 2$ mm, $h = 2$ mm, tiempo inicial = 15 min.

En la grilla de pasta con ácido cítrico 0,25 M impresa a los 3 minutos de su formulación puede notarse un trazo discontinuo de espesor variable (Figura 3.10).

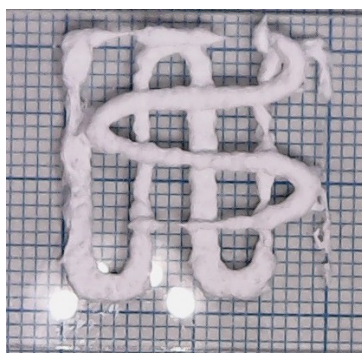


Figura 3.10: Grilla de impresión de pasta con ácido cítrico 0,25 M (A25). Parámetros: $d = 2$ mm, $h = 2$ mm, tiempo inicial = 3 min.

Pudo notarse el barrido de la pasta recién extrudada por la boquilla al configurar una altura de primera capa menor al diámetro interno de la boquilla, y la detención de la impresión antes de finalizar la grilla por falta de pasta (Figura 3.11).

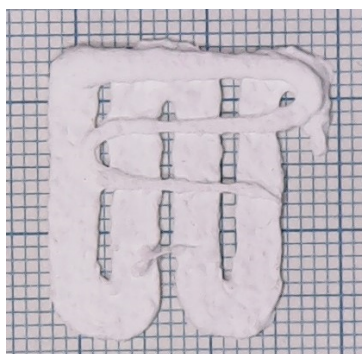


Figura 3.11: Grilla de impresión de pasta con ácido cítrico 0,25 M (A25). Parámetros: $d = 2$ mm, $h = 1$ mm, tiempo inicial = 7 min.

La impresión de la grilla de pasta con citrato de sodio y biovidrio (C4) fue detenida antes de finalizada por agotamiento de pasta en el cartucho de impresión (Figura 3.12).

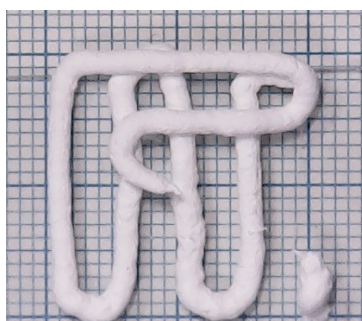


Figura 3.12: Grilla de impresión de pasta con citrato de sodio y biovidrio (C4). Parámetros: $d = 2$ mm, $h = 2$ mm, tiempo inicial = 5,75 min.

Los eventos de interrupción por agotamiento de pasta se debieron a múltiples impresiones con un mismo cartucho, vaciando la jeringa hasta volúmenes inferiores al necesario para imprimir completamente el modelo.

3.5 Estructura cristalina de las pastas fraguadas

Se estudió mediante difracción de rayos X (DRX) la composición y estructura cristalina de pastas fraguadas por más de 24 horas al aire, a temperatura ambiente. Se analizaron los difractogramas obtenidos (Figura 3.13).

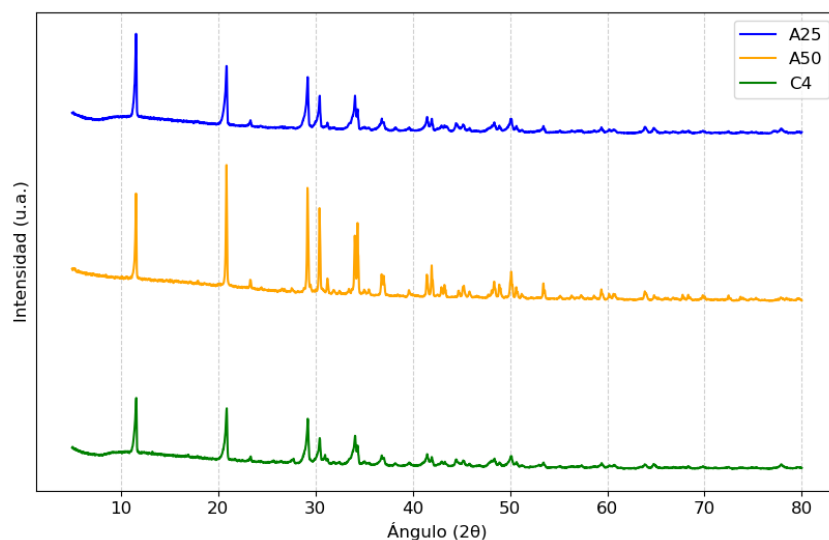


Figura 3.13: Patrones de difracción de rayos X de distintas formulaciones de pastas óseas fraguadas al aire: pasta A25 (azul), A50 (naranja) y C4 (verde).

Los difractogramas obtenidos para las tres composiciones estudiadas presentan picos característicos coincidentes. Al contrastarlos con la base de datos de QualX2.0, se encontró coincidencia con los valores reportados para el fosfato dicálcico dihidratado o brushita (ver Tabla 3.10).

Tabla 3.10: Picos característicos de difracción de rayos X experimentales (pastas A25, A50 y C4 fraguadas al aire) y brushita ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Valores teóricos de [76].

Ángulo 2θ Exp. (°)	Ángulo 2θ Teó. (°)	Plano (hkl)
11,58	11,58	(020)
20,87	20,86	(121)
29,23	29,21	(112)

3.6 Morfología de pastas fraguadas

Las pastas formuladas con ácido cítrico 0,25 M, ácido cítrico 0,50 M y citrato de sodio 0,25 M y biovidrio comparten un aspecto similar al ser inspeccionadas visualmente bajo una lupa luego del fraguado. El material fraguado es de color blanco opaco y tiene una superficie rugosa (Figura 3.14). Se observaron pastas fraguadas utilizando un microscopio digital de bajo aumento, donde se evidencia la irregularidad de la superficie (Figura 3.15).



Figura 3.14: Aspecto macroscópico, pasta A25 fraguada al aire.



Figura 3.15: Aspecto microscópico después del fraguado, superficie de la pasta C4 extrudada con jeringa. Puede notarse una superficie irregular.

Para determinar la morfología del producto obtenido en el fraguado, se observaron muestras de las pastas A25, A50 y C4 en el microscopio electrónico de barrido (MEB). Se fracturaron las muestras fraguadas con una espátula previo a la microscopía para analizar tanto la estructura interna como la formada en contacto con el aire.

Pasta A25

Al examinar la superficie de fractura de la probeta fraguada de pasta con ácido cítrico 0,25 M (Figura 3.16a) se evidencian poros internos en el material de diámetros entre 130 y 200 μm . La superficie expuesta al aire (Figura 3.16b) presenta rugosidad y algunos poros. También se muestran fisuras propagadas desde el sitio de fractura del material.

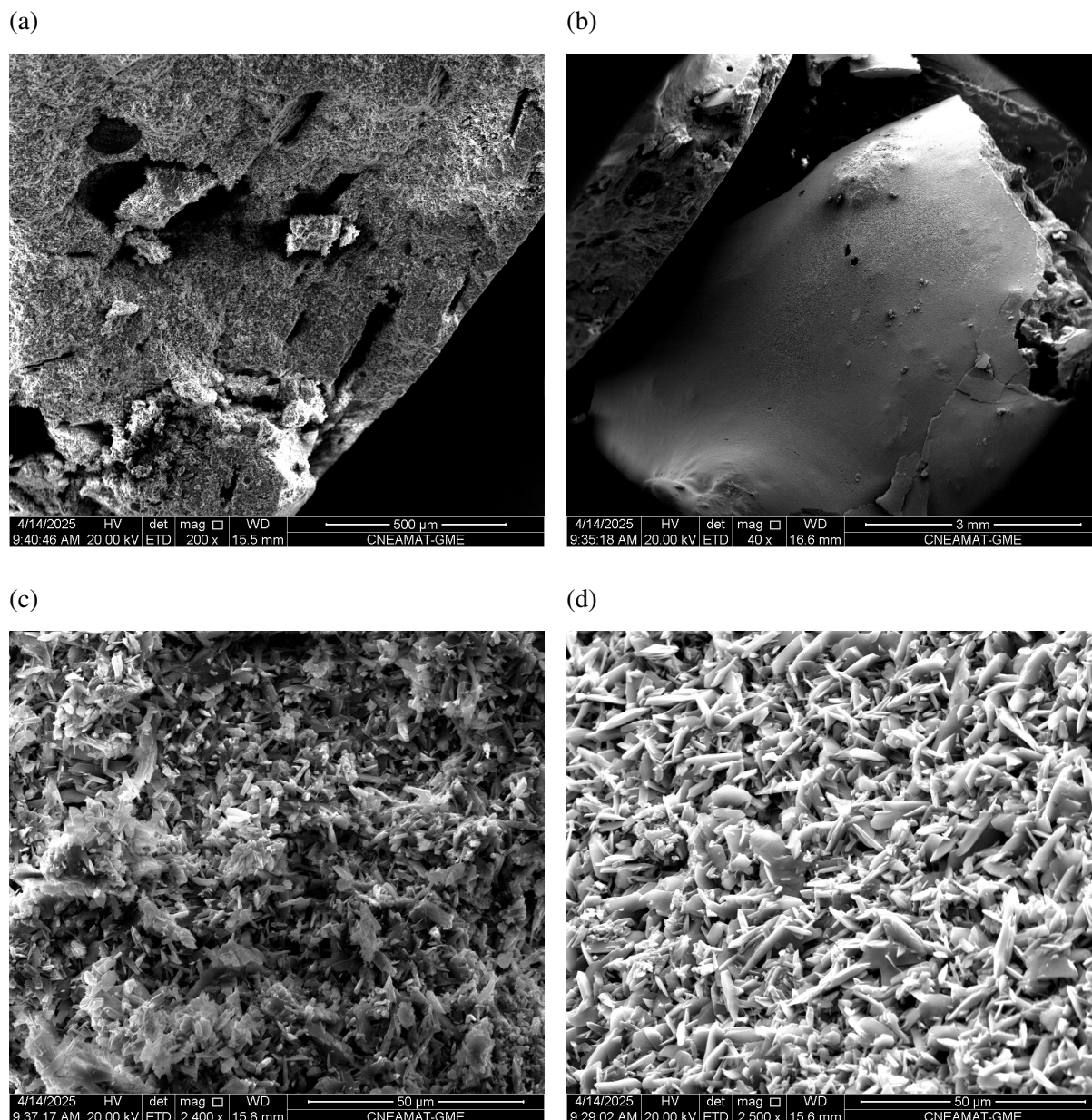


Figura 3.16: Imágenes de MEB de la Pasta A25: (a) Superficie de fractura, (b) Superficie expuesta al aire, (c) Morfologías laminar y acicular, (d) Morfología acicular.

La Figura 3.16c muestra una zona donde se manifiestan dos morfologías, laminar y acicular, en una distribución y orientación aleatoria. La Figura 3.16d presenta una ampliación de una zona predominantemente acicular, con agujas de 10 a 20 μm de largo en orientaciones aleatorias.

Pasta A50

La superficie de fractura de la probeta fraguada de pasta con ácido cítrico 0,50 M muestra una gran cantidad de poros en el interior del material (Figura 3.17a), con diámetros entre 100 y 200 μm . La Figura 3.17b muestra la ampliación de uno de los poros, donde se muestran estructuras aciculares en toda la superficie del poro.

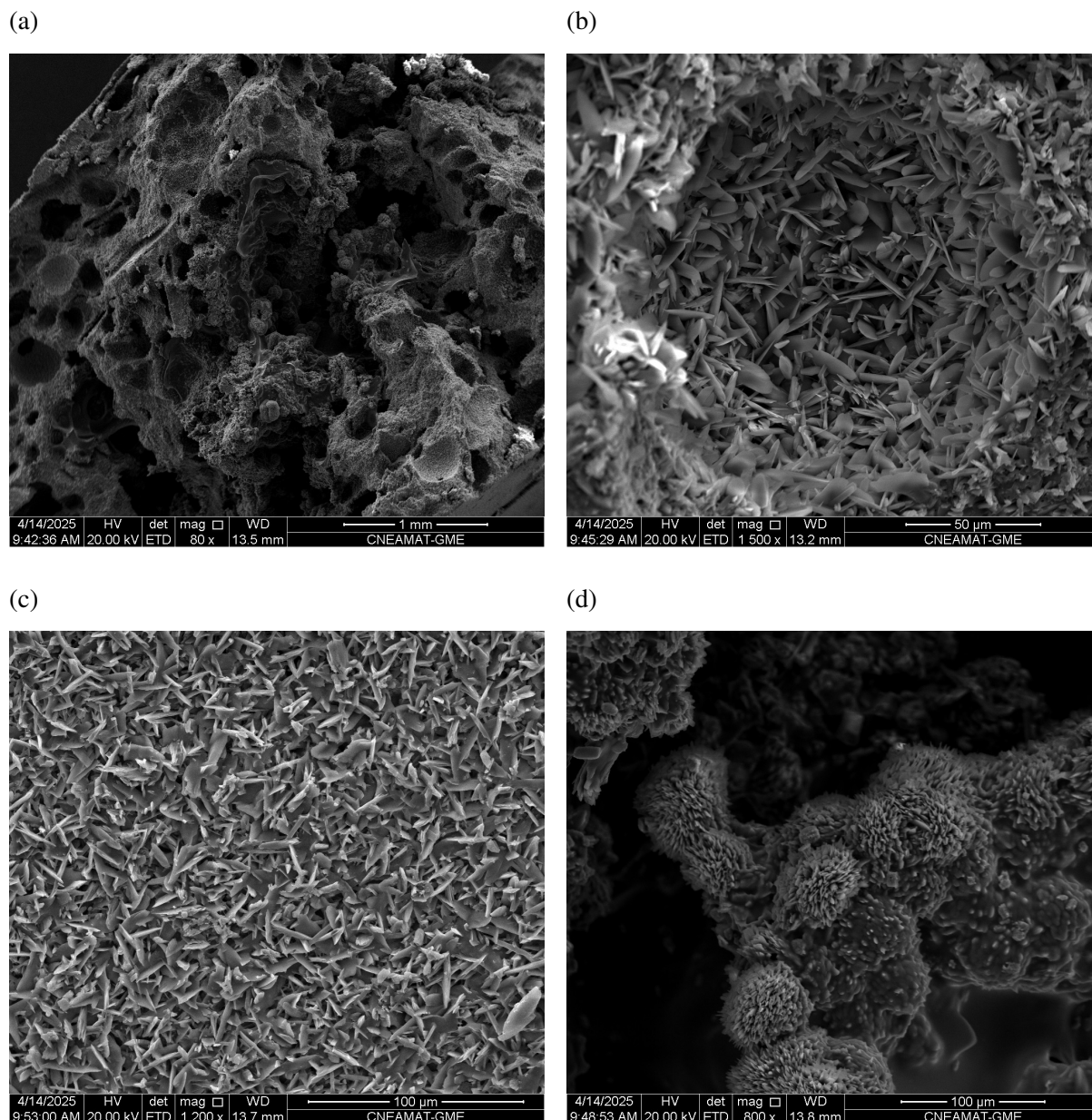


Figura 3.17: Imágenes de MEB de la Pasta A50: (a) Superficie de fractura, (b) Ampliación de poro de sección circular, (c) Morfología acicular, (d) Aglomerados de láminas en forma de crisantemos.

Una ampliación de la morfología acicular muestra agujas de largos entre 20 y 30 μm con orientación aleatoria (Figura 3.16c). En el interior del material, pueden notarse estructuras de aglomerados de láminas en forma de crisantemos (Figura 3.17d).

Pasta C4

La superficie de fractura de la probeta fraguada de pasta con citrato de sodio 0,25 M y biovidrio muestra poros con diámetros entre 100 y 300 μm (Figura 3.18a). Una ampliación de la superficie expuesta al aire muestra morfologías laminares y aciculares sin orientaciones preferenciales y tamaño uniforme (Figuras 3.18b y 3.18c).

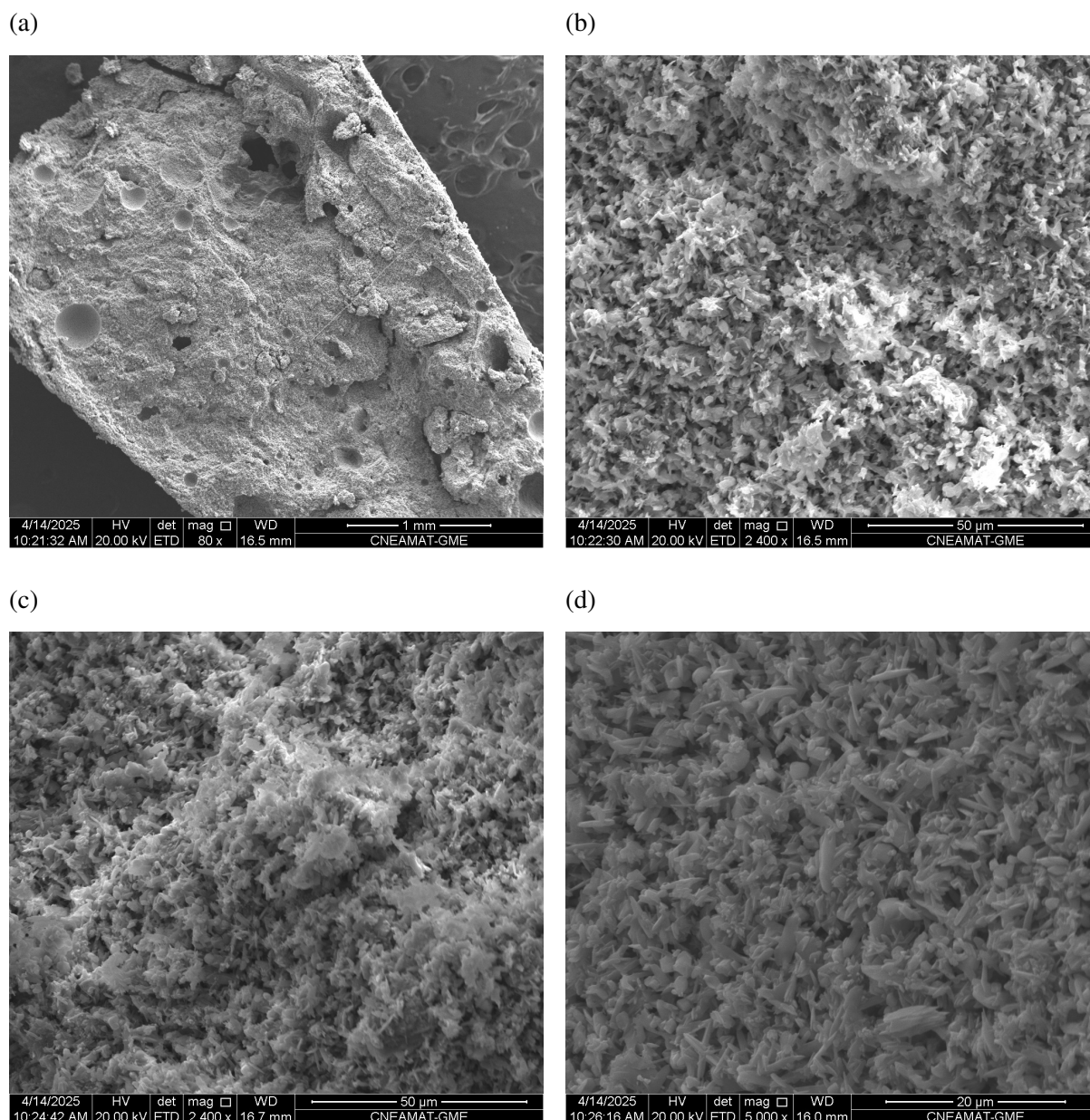


Figura 3.18: Imágenes de MEB de la Pasta C4: (a) Superficie de fractura, (b) y (c) Superficie expuesta al aire con morfología de agujas y láminas, (d) Morfología de agujas y láminas, ampliación.

La Figura 3.18d muestra una magnificación mayor de la distribución aleatoria de morfologías laminares y aciculares sin orientación preferencial, con un largo de agujas de entre 2 y 6 μm .

3.7 Propiedades mecánicas

Se determinó el comportamiento en compresión de las pastas fraguadas de composiciones con ácido cítrico 0,25 M, ácido cítrico 0,50 M y pasta con citrato de sodio 0,25 M y biovidrio (A25, A50 y C4, respectivamente) en probetas cilíndricas. Del estudio, se obtuvieron las tendencias de esfuerzo-deformación representadas en la Figura 3.19. Todas las curvas obtenidas

se presentan en el Anexo C.

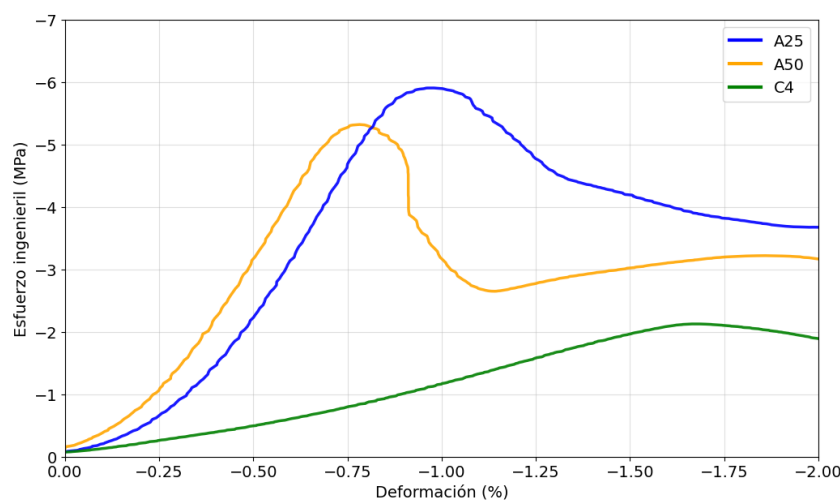


Figura 3.19: Ensayos de compresión, curvas representativas de pastas A25 (azul), A50 (naranja) y C4 (verde). Esfuerzo respecto la sección inicial (ingenieril) en función de la deformación porcentual respecto al largo inicial.

La resistencia a la compresión de cada muestra fue determinada como el máximo esfuerzo alcanzado, en valor absoluto. Se calculó una regresión lineal en la sección recta del gráfico para determinar el módulo de elasticidad en compresión (E) como la pendiente de dicho segmento. Los valores promedio de cada propiedad mecánica por material se encuentran en la Tabla 3.11.

Tabla 3.11: Propiedades mecánicas de las pastas evaluadas.

Muestra	Resistencia a compresión (MPa)	Módulo de elasticidad (MPa)
A25	$5,49 \pm 1,12$	710 ± 227
A50	$5,17 \pm 1,85$	678 ± 219
C4	$3,02 \pm 0,92$	312 ± 92

Las probetas tendieron a la fractura en planos paralelos a la dirección longitudinal. En el caso de las probetas A25 y A50, se observó una disminución de la longitud inicial similar a una deformación plástica. Durante los ensayos de compresión, las probetas A25 y A50 presentaron fisuras visibles, pero mantuvieron su integridad estructural (Figuras 3.20 y 3.21). En contraste, las probetas C4 tendieron a la falla completa, fracturándose en múltiples fragmentos con poca o nula cohesión entre ellos (Figura 3.22).

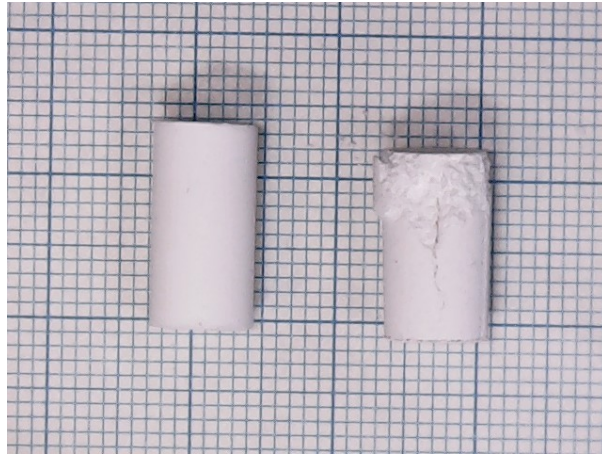


Figura 3.20: Probetas de pasta A25 antes (izquierda) y después (derecha) del ensayo de compresión.

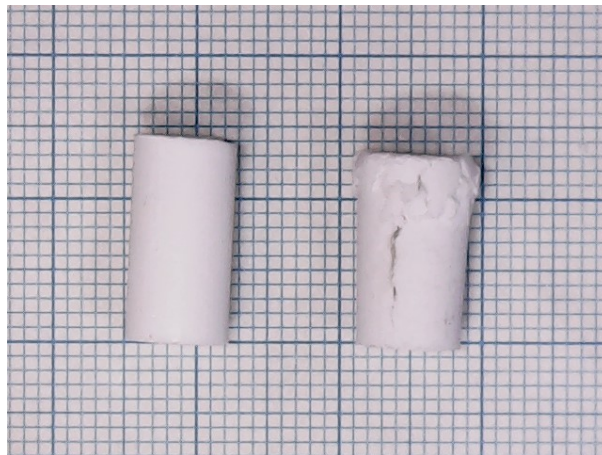


Figura 3.21: Probetas de pasta A50 antes (izquierda) y después (derecha) del ensayo de compresión.

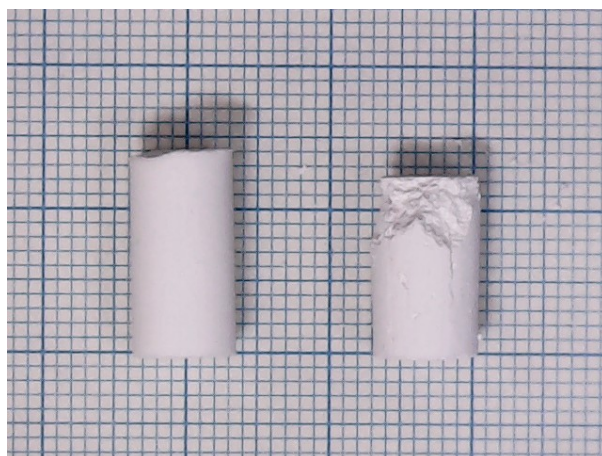


Figura 3.22: Probetas de pasta C4 antes (izquierda) y después (derecha) del ensayo de compresión.

Capítulo 4

Discusión

El estudio de las pastas de fosfato de calcio revela aspectos fundamentales sobre su microestructura, propiedades mecánicas y comportamiento reológico de importancia para optimizar su procesamiento y aplicaciones. A partir del estudio de distintos aditivos retardantes de la reacción de fraguado disponibles en bibliografía, se seleccionaron las pastas con mayor tiempo de fraguado para ser caracterizadas y evaluadas como posibles materiales para impresión 3D de andamios para regeneración ósea. El tiempo de fraguado es un parámetro clave que define la ventana de procesamiento disponible para el conformado de un impreso 3D, aunque también se tomó en cuenta la disponibilidad de reactivos y cantidad de trabajos previos avalando el uso de dichos aditivos en pastas cerámicas para regeneración ósea. De los aditivos evaluados, fueron seleccionadas las pastas formuladas con ácido cítrico (0,50 y 0,25 M) por su elevado tiempo inicial de fraguado respecto al resto de aditivos. También se seleccionó el sistema con citrato de sodio 0,25 M y biovidrio por tener un tiempo de fraguado alto respecto al resto y contener partículas de vidrio bioactivo, que además de retardar la reacción de cementado promueve la formación de hueso nativo [20, 58]. Estas tres formulaciones fueron evaluadas en aspectos morfológicos, reológicos y mecánicos.

La caracterización de las materias primas demostró ser un aspecto fundamental del estudio. Se encontraron diferencias notables en la solubilidad y pH de las muestras de MCPM disponible en el laboratorio. El MCPM es el compuesto más soluble de la familia de fosfatos de calcio [84] y su pH esperado está entre 0,1 y 2 [85]. Estas características coincidieron con lo observado en la muestra de Sigma-Aldrich, distinto de lo observado en la muestra de Biopack.

Los análisis termogravimétricos de la muestra de Sigma-Aldrich confirmaron los tres eventos típicos del MCPM: la pérdida de agua adsorbida por debajo de 100°C, la eliminación del agua estructural entre 125 y 175°C, y finalmente la descomposición del fosfato alrededor de 275°C [86], mientras que la muestra de Biopack solo perdió agua adsorbida por debajo de 100°C y no presentó más eventos de 100 a 400°C. El MCPM de Sigma-Aldrich mostró el patrón de difracción característico esperado para este compuesto [87], a diferencia de la muestra de Biopack que presentó características compatibles con la monetita. De la caracterización de las muestras de distintos proveedores se determinó que el MCPM de Biopack pudo haber reaccionado con la humedad para producir monetita [88] o estaba mal rotulado el lote, por lo que se procedió en el desarrollo del trabajo utilizando el MCPM del proveedor Sigma-Aldrich. Si bien la monetita es un compuesto de interés en el campo de las pastas para relleno óseo [75, 89, 90], su estudio se escapa del enfoque de este trabajo.

Los análisis por difracción de rayos X de las pastas confirman que el principal producto de reacción en las tres formulaciones estudiadas en profundidad es el DCPD (brushita), fase esperada dado el pH ácido de la reacción [13]. Los difractogramas muestran además un fondo amorfo que puede atribuirse al ácido hialurónico presente en la matriz cerámica.

En las tres formulaciones estudiadas se observó una matriz porosa con distribución de poros cuyos diámetros oscilan entre 100 y 200 μm , dimensión que resulta particularmente adecuada para aplicaciones biomédicas; permite la vascularización y crecimiento tisular [23, 40, 41]. Para determinar la distribución de tamaños e interconexión entre poros, es necesario realizar un análisis asistido por microtomografías computarizadas de las pastas fraguadas. Las diferencias morfológicas entre las formulaciones observadas en MEB son notables: mientras la pasta con mayor concentración de ácido cítrico (0,50 M) desarrolla agujas de 20 a 30 μm de longitud, la formulación con menor concentración (0,25 M) presenta estructuras similares pero con tamaños reducidos a aproximadamente la mitad (10 a 15 μm). La modificación con citrato de sodio 0,25 M y biovidrio genera una microestructura más fina, con cristales de apenas 3-6 μm . Estas morfologías aciculares y laminares son características de la formación de brushita [77]. El ácido cítrico y el ión citrato inhiben la nucleación de cristales de brushita al complejar el calcio [56, 57], lo que podría explicar que a mayor concentración de ácido cítrico se observen menos agujas de mayor tamaño. Las propiedades mecánicas evaluadas muestran que aunque las formulaciones con ácido cítrico presentan diferencias sustanciales en el tamaño de sus estructuras cristalinas (20-30 μm contra 10-15 μm), sus resistencias a la compresión son similares, del orden de los 5 MPa. Esto sugiere que, en este rango de tamaños, la escala de las formaciones cristalinas no sería el factor determinante en las propiedades mecánicas. Por el contrario, la pasta con citrato de sodio y biovidrio, que presenta cristales de apenas 3-6 μm muestra una resistencia menor, de 3 MPa. Todos los valores de resistencia a la compresión obtenidos (3,0-5,5 MPa) se encuentran dentro del rango reportado para hueso trabecular (1,9-10 MPa) [19] y comparables con los valores para sistemas similares reportados en bibliografía [14, 18], lo que indica que estas formulaciones podrían ser adecuadas para asistir a la regeneración ósea. Al comparar las propiedades mecánicas con otros materiales utilizados actualmente para regeneración ósea, se notó que la resistencia a la compresión obtenida es un orden de magnitud menor al valor mínimo requerido para cementos óseos acrílicos (70 MPa) según la norma ASTM F451-21 [78]. También se reportaron pastas cerámicas formadoras de brushita de alta resistencia (52-74 MPa) obtenidas al disminuir la relación líquido a sólido en sistemas similares [79, 80]. Los estudios del comportamiento mecánico se realizaron con 5 réplicas por sistema, se sugiere aumentar el número de muestras para disminuir la dispersión.

La presencia de fases amorfas por la adición de ácido hialurónico parece influir en el mecanismo de fractura, favoreciendo un comportamiento de puenteo de fisuras mediado por las fibras poliméricas que refuerzan la matriz cerámica. Este comportamiento es consistente con lo reportado para compuestos de matriz cerámica [81].

Los estudios reológicos determinaron aspectos a considerar en el procesamiento de estos materiales. El tiempo de fraguado determinado en el ensayo oscilatorio para el sistema conteniendo citrato de sodio 0,25 M y biovidrio fue el menor de todos, 2,8 min. Respecto a las pastas con ácido cítrico, se observó que el aumento en la concentración de ácido cítrico de 0,25 M a 0,50 M incrementó el tiempo de fraguado de 5,5 a 8,3 min, significando un aumento del 51 %. Al comparar con el rango previamente reportado para tiempos manejables en un entorno

quirúrgico (5 a 10 minutos) [28], se determina que la pasta con citrato y biovidrio presenta un tiempo de fraguado inferior al requerido. El comportamiento reológico de las pastas durante el fraguado siguió la tendencia reportada en bibliografía, describiendo curvas de módulo de almacenamiento en función del tiempo similares a la Figura 1.2 [33]. Se observó que el aumento en los tiempos y velocidades de mezcla conduce a una disminución tanto en la tasa de fraguado como en el módulo de almacenamiento máximo alcanzado. Este comportamiento podría explicarse por una descomposición tixotrópica del sistema, en la que la agitación prolongada rompe progresivamente la red estructural interna del material, reduciendo el módulo de almacenamiento y la capacidad del material para recuperar su estructura una vez en reposo [72, 82]. Se sugiere repetir estos ensayos en trabajos posteriores para garantizar la reproducibilidad de resultados. Estos resultados son relevantes para aplicaciones de impresión 3D, donde es fundamental establecer correlaciones precisas entre el módulo de almacenamiento del material y la fidelidad de impresión obtenida [31]. Además, deben considerarse parámetros característicos de la impresora 3D como la fuerza máxima aplicada al extruir la pasta y la geometría del cartucho de impresión para garantizar la reproducibilidad del proceso.

Los resultados de fidelidad de impresión (Pr) obtenidos para las distintas formulaciones superaron la unidad, indicando que en todos los casos hubo cierto grado de deformación del filamento extrudido respecto al diámetro de la boquilla [67]. La mejor fidelidad ($Pr = 1,01$) se logró con la pasta A50 utilizando una boquilla de 1 mm, lo que sugiere que esta combinación de parámetros (diámetro pequeño y formulación con mayor concentración de ácido cítrico) genera el comportamiento más cercano al ideal dentro de las condiciones ensayadas. Este resultado es consistente con estudios previos que reportan que diámetros de boquilla menores pueden mejorar la precisión en materiales viscoelásticos [31].

La pasta C4, a pesar de tener un tiempo de fraguado inferior al requerido para aplicaciones en quirófano, pudo ser utilizada en el proceso de impresión 3D. El tiempo de carga de la pasta al cartucho de impresión tuvo que ser minimizado para lograr extruirla; el módulo de almacenamiento alcanzado por el material al momento de imprimir era alto en comparación a las pastas que contenían ácido cítrico.

El problema de barrido de pasta observado al usar una altura de primera capa mucho menor al diámetro de boquilla confirma la importancia de optimizar esta relación geométrica para lograr buena adhesión de la pasta al sustrato sin deformar el extrudado con el paso de la boquilla [83].

En el proceso de impresión 3D, toma importancia la tasa de fraguado del material. Una tasa de fraguado menor asegura un comportamiento reológico cercano a constante durante el conformado del impreso, logrando un trazo similar desde el inicio al final y permitiendo el diseño de piezas más complejas, con mayor volumen de pasta y mayor tiempo de impresión. También, se evita el fraguado de la pasta en el cartucho de impresión. Este parámetro debe ser tomado en cuenta para la selección del material óptimo para su uso como tinta de impresión 3D.

Las dificultades técnicas experimentadas durante los ensayos de impresión 3D (falso contacto en el control de temperatura y falla final del equipo) limitaron la cantidad de datos obtenidos. El caso de la pasta A25 impresa a los 3 minutos de formulación destaca al mostrar un trazo discontinuo y de espesor variable (Figura 3.10), cuando se esperaba un impreso de trazo uniforme por la baja viscosidad alcanzada por este sistema en el tiempo seleccionado para imprimir

según los resultados del ensayo oscilatorio. Este fue el último impreso obtenido previo a la falla final del equipo de impresión. Estos hallazgos preliminares debido a las limitaciones técnicas proporcionan valiosa información para optimizar futuros protocolos de impresión con estas formulaciones. Estas dificultades técnicas imposibilitaron la obtención de probetas que permitan evaluar la respuesta mecánica y morfológica de impresos 3D, así como la determinación de una pasta óptima validada con estudios estadísticos.

Capítulo 5

Conclusiones

El estudio de pastas de fosfato de calcio con ácido hialurónico permitió caracterizar su microestructura, propiedades mecánicas y comportamiento reológico, evidenciando su potencial en aplicaciones de ingeniería de tejidos. Los resultados demostraron que las formulaciones con ácido cítrico (0.25 M y 0.50 M) y la modificación con citrato de sodio y biovidrio generan microestructuras porosas con tamaños de poro adecuados para la vascularización y crecimiento tisular, aunque con diferencias morfológicas en los cristales de brushita según el aditivo retardante de fraguado utilizado. A pesar de estas variaciones microestructurales, las resistencias a la compresión obtenidas fueron similares entre las pastas con ácido cítrico, mientras que la formulación con citrato de sodio y biovidrio presentó valores inferiores. Las resistencias a la compresión de las pastas ensayadas (3,0-5,5 MPa) ubicaron dentro del rango reportado para hueso trabecular. El número de réplicas en los ensayos de compresión y reología limita la estadística de estos resultados, por lo que se recomienda incluir un mayor número de muestras en futuros estudios.

El análisis reológico reveló que el tiempo de fraguado de la pasta con citrato de sodio y biovidrio (2.8 min) fue inferior al rango clínicamente manejable pero igual pudo ser utilizada en impresión 3D, mientras que las formulaciones con ácido cítrico mostraron tiempos manejables en un quirófano (5.5 a 8.3 min). Además, se identificó que parámetros como la concentración de aditivos, la velocidad y tiempo de mezcla, el tamaño de la boquilla y altura de la primera capa influyen en la fidelidad de impresión 3D, siendo la combinación de boquilla de 1 mm y alta concentración de ácido cítrico la que produjo los mejores resultados en este trabajo. Sin embargo, las limitaciones técnicas durante la impresión 3D resaltan la necesidad de optimizar los protocolos experimentales y validar la reproducibilidad del proceso, siendo este un trabajo preliminar.

Como trabajo futuro, se sugiere profundizar en la relación entre la porosidad y aditivos viscosantes utilizados mediante técnicas específicas como la microtomografía computarizada, por ser un factor clave en las propiedades mecánicas de un cerámico. Además, se sugiere evaluar el comportamiento mecánico in vitro e in vivo de estas pastas, fenómenos de degradación y de formación de hidroxiapatita. Finalmente, se recomienda relacionar el módulo de almacenamiento con la fidelidad de impresión asegurando reproducibilidad de la técnica de impresión 3D.

Bibliografía

- [1] E. H. Schemitsch, “Size Matters: Defining Critical in Bone Defect Size!,” *J. Orthop. Trauma*, vol. 31, no. 10, pp. S20–S22, 2017.
- [2] A. Nauth, E. Schemitsch, B. Norris, Z. Nollin, and J. T. Watson, “Critical-Size Bone Defects: Is There a Consensus for Diagnosis and Treatment?,” *J. Orthop. Trauma*, vol. 32, pp. S7–S11, mar 2018.
- [3] B. H. Kakria, “Evolution in fracture management,” *Med. J. Armed Forces India*, vol. 61, no. 4, pp. 311–312, 2005.
- [4] T. W. Bauer and G. F. Muschler, “Bone graft materials. An overview of the basic science,” *Clin. Orthop. Relat. Res.*, no. 371, pp. 10–27, 2000.
- [5] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, and J. E. Lemons, “Biomaterials Science: An Evolving, Multidisciplinary Endeavor,” in *Biomater. Sci.*, pp. xxv–xxxix, Elsevier, 2013.
- [6] S. M. Perren, “Evolution of the internal fixation of long bone fractures,” *J. Bone Jt. Surg. - Ser. B*, vol. 84, no. 8, pp. 1093–1110, 2002.
- [7] H. Zhang, S. Xu, X. Ding, M. Xiong, and P. Duan, “Design of internal fixation implants for fracture: A review,” *J. Orthop. Transl.*, vol. 50, no. November 2023, pp. 306–332, 2025.
- [8] G. Armencea, D. Gheban, F. Onisor, I. Mitre, A. Manea, V. Trombitas, M. Lazar, G. Baciut, M. Baciut, and S. Bran, “Histological change in soft tissue surrounding titanium plates after jaw surgery,” *Materials (Basel)*, vol. 12, no. 19, pp. 1–8, 2019.
- [9] R. V. Badhe, O. Akinfosile, D. Bijukumar, M. Barba, and M. T. Mathew, “Systemic toxicity eliciting metal ion levels from metallic implants and orthopedic devices – A mini review,” *Toxicol. Lett.*, vol. 350, pp. 213–224, 2021.
- [10] V. S. Seesala, L. Sheikh, B. Basu, and S. Mukherjee, “Mechanical and Bioactive Properties of PMMA Bone Cement: A Review,” *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 10, pp. 5939–5959, oct 2024.
- [11] S. M. Belkoff and S. Molloy, “Temperature measurement during polymerization of polymethylmethacrylate cement used for vertebroplasty,” *Spine (Phila Pa 1976)*, vol. 28, pp. 1555–9, jul 2003.

- [12] F. Tamimi, Z. Sheikh, and J. Barralet, “Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite,” *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 2, pp. 474–487, 2012.
- [13] A. A. Mirtchi, J. Lemaître, and N. Terao, “Calcium phosphate cements: study of the β -tricalcium phosphate - monocalcium phosphate system,” *Biomaterials*, vol. 10, no. 7, pp. 475–480, 1989.
- [14] B. Han, P. W. Ma, L. L. Zhang, Y. J. Yin, K. D. Yao, F. J. Zhang, Y. D. Zhang, X. L. Li, and W. Nie, “ β -TCP/MCPM-based premixed calcium phosphate cements,” *Acta Biomater.*, vol. 5, no. 8, pp. 3165–3177, 2009.
- [15] G. L. Koons, M. Diba, and A. G. Mikos, “Materials design for bone-tissue engineering,” *Nat. Rev. Mater.*, vol. 5, no. 8, pp. 584–603, 2020.
- [16] G. Hannink, J. G. Wolke, B. W. Schreurs, and P. Buma, “In vivo behavior of a novel injectable calcium phosphate cement compared with two other commercially available calcium phosphate cements,” *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, vol. 85, no. 2, pp. 478–488, 2008.
- [17] J. Zhang, W. Liu, V. Schnitzler, F. Tancrét, and J. M. Bouler, “Calcium phosphate cements for bone substitution: Chemistry, handling and mechanical properties,” *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 3, pp. 1035–1049, 2014.
- [18] J. Luo, H. Engqvist, and C. Persson, “A ready-to-use acidic, brushite-forming calcium phosphate cement,” *Acta Biomater.*, vol. 81, pp. 304–314, 2018.
- [19] H. Moussi, P. Weiss, J. Le Bideau, H. Gautier, and B. Charbonnier, “Injectable macromolecule-based calcium phosphate bone substitutes,” *Mater. Adv.*, vol. 3, no. 15, pp. 6125–6141, 2022.
- [20] Ö. Demir-Oğuz, A. R. Boccaccini, and D. Loca, “Injectable bone cements: What benefits the combination of calcium phosphates and bioactive glasses could bring?,” *Bioact. Mater.*, vol. 19, no. April 2022, pp. 217–236, 2023.
- [21] M. Castilho, C. Moseke, A. Ewald, U. Gbureck, J. Groll, I. Pires, J. Teßmar, and E. Vorn-dran, “Direct 3D powder printing of biphasic calcium phosphate scaffolds for substitution of complex bone defects,” *Biofabrication*, vol. 6, no. 1, 2014.
- [22] S. M. Ott, “Cortical or Trabecular Bone: What’s the Difference?,” *Am. J. Nephrol.*, vol. 47, no. 6, pp. 373–375, 2018.
- [23] D. M. L. Cooper, C. E. Kawalilak, K. Harrison, B. D. Johnston, and J. D. Johnston, “Cortical Bone Porosity: What Is It, Why Is It Important, and How Can We Detect It?,” *Curr. Osteoporos. Rep.*, vol. 14, pp. 187–198, oct 2016.
- [24] A. J. Wagoner Johnson and B. A. Herschler, “A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair,” *Acta Biomater.*, vol. 7, pp. 16–30, jan 2011.

- [25] D. J. Thomas and D. Singh, *3D Printing in Medicine and Surgery*. Woodhead Publishing, 2020.
- [26] M. Askari, M. Afzali Naniz, M. Kouhi, A. Saberi, A. Zolfagharian, and M. Bodaghi, “Recent progress in extrusion 3D bioprinting of hydrogel biomaterials for tissue regeneration: A comprehensive review with focus on advanced fabrication techniques,” *Biomater. Sci.*, vol. 9, no. 3, pp. 535–573, 2021.
- [27] A. A. Mirtchi, J. Lemaître, and E. Hunting, “Calcium phosphate cements: action of setting regulators on the properties of the β -tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements,” *Biomaterials*, vol. 10, no. 9, pp. 634–638, 1989.
- [28] M. Bohner, J. Lemaître, and T. A. Ring, “Effects of Sulfate, Pyrophosphate, and Citrate Ions on the Physicochemical Properties of Cements Made of β -Tricalcium Phosphate-Phosphoric Acid-Water Mixtures,” *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 79, pp. 1427–1434, jun 1996.
- [29] Eddy, A. Tsuchiya, K. Tsuru, and K. Ishikawa, “Fabrication of self-setting β -TCP granular cement using β -TCP granules and sodium hydrogen sulfate solution,” *J. Biomater. Appl.*, vol. 33, no. 5, pp. 630–636, 2018.
- [30] V. C. Steinacker, J. Weichhold, T. Renner, S. Gubik, A. Vollmer, N. Breitenbücher, A. Fuchs, A. Straub, S. Hartmann, A. C. Kübler, and U. Gbureck, “Biological and mechanical performance of calcium phosphate cements modified with phytic acid,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 35, no. 1, 2024.
- [31] N. Paxton, W. Smolan, T. Böck, F. Melchels, J. Groll, and T. Jungst, “Proposal to assess printability of bioinks for extrusion-based bioprinting and evaluation of rheological properties governing bioprintability,” *Biofabrication*, vol. 9, p. 044107, nov 2017.
- [32] T. Gao, G. J. Gillispie, J. S. Copus, A. K. PR, Y.-J. Seol, A. Atala, J. J. Yoo, and S. J. Lee, “Optimization of gelatin–alginate composite bioink printability using rheological parameters: a systematic approach,” *Biofabrication*, vol. 10, p. 034106, jun 2018.
- [33] E. Şahin and D. M. Kalyon, “The rheological behavior of a fast-setting calcium phosphate bone cement and its dependence on deformation conditions,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 72, no. May, pp. 252–260, 2017.
- [34] M. Bohner, “Physical and chemical aspects of calcium phosphates used in spinal surgery,” *Eur. Spine J.*, vol. 10, pp. S114–21, oct 2001.
- [35] J. P. Vacanti and C. A. Vacanti, “Chapter 1 - The History and Scope of Tissue Engineering,” in *Princ. Tissue Eng. (Fourth Ed. (R. Lanza, R. Langer, and J. Vacanti, eds.))*, pp. 3–8, Boston: Academic Press, fourth edi ed., 2014.
- [36] “II - Biomaterials and biomedical materials,” in *Defin. Biomater. Twenty-First Century (D. Williams and X. Zhang, eds.)*, Materials Today, pp. 15–23, Elsevier, 2019.
- [37] W. Wang and K. W. Yeung, “Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review,” *Bioact. Mater.*, vol. 2, no. 4, pp. 224–247, 2017.

- [38] H. Qu, H. Fu, Z. Han, and Y. Sun, “Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: A review,” *RSC Adv.*, vol. 9, no. 45, pp. 26252–26262, 2019.
- [39] T. Kokubo, “Bioactive glass ceramics: properties and applications,” *Biomaterials*, vol. 12, no. 2, pp. 155–163, 1991.
- [40] J. Jeong, J. H. Kim, J. H. Shim, N. S. Hwang, and C. Y. Heo, “Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration,” *Biomater. Res.*, vol. 23, pp. 1–11, dec 2019.
- [41] M. Espanol, R. A. Perez, E. B. Montufar, C. Marichal, A. Sacco, and M. P. Ginebra, “Intrinsic porosity of calcium phosphate cements and its significance for drug delivery and tissue engineering applications,” *Acta Biomater.*, vol. 5, no. 7, pp. 2752–2762, 2009.
- [42] E. Fernández, M. D. Vlad, M. M. Gel, J. López, R. Torres, J. V. Cauich, and M. Bohner, “Modulation of porosity in apatitic cements by the use of alpha-tricalcium phosphate-calcium sulphate dihydrate mixtures,” *Biomaterials*, vol. 26, pp. 3395–404, jun 2005.
- [43] E. F. Burguera, H. H. K. Xu, and M. D. Weir, “Injectable and rapid-setting calcium phosphate bone cement with dicalcium phosphate dihydrate,” *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, vol. 77, pp. 126–34, apr 2006.
- [44] C. D. Friedman, P. D. Costantino, S. Takagi, and L. C. Chow, “BoneSource hydroxyapatite cement: a novel biomaterial for craniofacial skeletal tissue engineering and reconstruction,” *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 43, no. 4, pp. 428–32, 1998.
- [45] U. Gbureck, O. Grolms, J. E. Barralet, L. M. Grover, and R. Thull, “Mechanical activation and cement formation of β -tricalcium phosphate,” *Biomaterials*, vol. 24, no. 23, pp. 4123–4131, 2003.
- [46] M. Bohner, “Reactivity of calcium phosphate cements,” *J. Mater. Chem.*, vol. 17, no. 38, p. 3980, 2007.
- [47] Z. Xia, L. M. Grover, Y. Huang, I. E. Adamopoulos, U. Gbureck, J. T. Triffitt, R. M. Shelton, and J. E. Barralet, “In vitro biodegradation of three brushite calcium phosphate cements by a macrophage cell-line,” *Biomaterials*, vol. 27, pp. 4557–65, sep 2006.
- [48] H. A. De León Martínez, J. J. Soto Bernal, R. González Mota, and I. Rosales-Candelas, “Optical evaluation on the setting of cement paste,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 582, no. 1, 2015.
- [49] X. Xue, Y. Hu, Y. Deng, and J. Su, “Recent Advances in Design of Functional Biocompatible Hydrogels for Bone Tissue Engineering,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 31, no. 19, pp. 1–20, 2021.
- [50] S. Takagi, L. C. Chow, S. Hirayama, and F. C. Eichmiller, “Properties of elastomeric calcium phosphate cement–chitosan composites,” *Dent. Mater.*, vol. 19, pp. 797–804, dec 2003.

- [51] H. Liu, H. Li, W. Cheng, Y. Yang, M. Zhu, and C. Zhou, “Novel injectable calcium phosphate/chitosan composites for bone substitute materials,” *Acta Biomater.*, vol. 2, pp. 557–565, sep 2006.
- [52] K. Ishikawa, Y. Miyamoto, M. Kon, M. Nagayama, and K. Asaoka, “Non-decay type fast-setting calcium phosphate cement: composite with sodium alginate,” *Biomaterials*, vol. 16, pp. 527–532, may 1995.
- [53] J. A. Inzana, D. Olvera, S. M. Fuller, J. P. Kelly, O. A. Graeve, E. M. Schwarz, S. L. Kates, and H. A. Awad, “3D printing of composite calcium phosphate and collagen scaffolds for bone regeneration,” *Biomaterials*, vol. 35, pp. 4026–4034, apr 2014.
- [54] M. Alkhraisat, C. Rueda, F. Mariño, J. Torres, L. Jerez, U. Gbureck, and E. Cabarcos, “The effect of hyaluronic acid on brushite cement cohesion,” *Acta Biomater.*, vol. 5, pp. 3150–3156, oct 2009.
- [55] X. Cui, C. Huang, Z. Chen, M. Zhang, C. Liu, K. Su, J. Wang, L. Li, R. Wang, B. Li, D. Chen, C. Ruan, D. Wang, W. W. Lu, and H. Pan, “Hyaluronic acid facilitates bone repair effects of calcium phosphate cement by accelerating osteogenic expression,” *Bioact. Mater.*, vol. 6, no. 11, pp. 3801–3811, 2021.
- [56] X. P. Qi, “Calcium phosphate cement modified with sodium citrate for bone repair,” *Adv. Mater. Res.*, vol. 197-198, pp. 151–155, 2011.
- [57] J. Engstrand, C. Persson, and H. Engqvist, “The effect of composition on mechanical properties of brushite cements,” *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 29, pp. 81–90, jan 2014.
- [58] L. Yu, Y. Li, K. Zhao, Y. Tang, Z. Cheng, J. Chen, Y. Zang, J. Wu, L. Kong, S. Liu, W. Lei, and Z. Wu, “A Novel Injectable Calcium Phosphate Cement-Bioactive Glass Composite for Bone Regeneration,” *PLoS One*, vol. 8, no. 4, 2013.
- [59] L. L. Hench and H. A. Paschall, “Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle,” *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 7, pp. 25–42, may 1973.
- [60] L. L. Hench, “The story of Bioglass®,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 17, pp. 967–978, nov 2006.
- [61] J. Groll, T. Boland, T. Blunk, J. A. Burdick, D.-W. Cho, P. D. Dalton, B. Derby, G. Forgacs, Q. Li, V. A. Mironov, L. Moroni, M. Nakamura, W. Shu, S. Takeuchi, G. Vozzi, T. B. F. Woodfield, T. Xu, J. J. Yoo, and J. Malda, “Biofabrication: reappraising the definition of an evolving field,” *Biofabrication*, vol. 8, p. 013001, jan 2016.
- [62] A. Schwab, R. Levato, M. D’Este, S. Piluso, D. Eglin, and J. Malda, “Printability and Shape Fidelity of Bioinks in 3D Bioprinting,” *Chem. Rev.*, vol. 120, no. 19, pp. 11028–11055, 2020.
- [63] Y. J. Seol, H. W. Kang, S. J. Lee, A. Atala, and J. J. Yoo, “Bioprinting technology and its applications,” *Eur. J. Cardio-thoracic Surg.*, vol. 46, no. 3, pp. 342–348, 2014.

- [64] J. Malda, J. Visser, F. P. Melchels, T. Jüngst, W. E. Hennink, W. J. A. Dhert, J. Groll, and D. W. Huttmacher, “25th Anniversary Article: Engineering Hydrogels for Biofabrication,” *Adv. Mater.*, vol. 25, pp. 5011–5028, sep 2013.
- [65] C. Nelson, S. Tuladhar, L. Launen, and M. D. Habib, “3D bio-printability of hybrid pre-crosslinked hydrogels,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, p. 13481, dec 2021.
- [66] G. Gillispie, P. Prim, J. Copus, J. Fisher, A. G. Mikos, J. J. Yoo, A. Atala, and S. J. Lee, “Assessment methodologies for extrusion-based bioink printability,” *Biofabrication*, vol. 12, p. 022003, feb 2020.
- [67] L. Ouyang, R. Yao, Y. Zhao, and W. Sun, “Effect of bioink properties on printability and cell viability for 3D bioplotting of embryonic stem cells,” *Biofabrication*, vol. 8, no. 3, pp. 1–12, 2016.
- [68] A. Altomare, N. Corriero, C. Cuocci, A. Falcicchio, A. Moliterni, and R. Rizzi, “QUALX2.0: A qualitative phase analysis software using the freely available database POW-COD,” *J. Appl. Crystallogr.*, vol. 48, pp. 598–603, 2015.
- [69] T. Miri, “Viscosity and Oscillatory Rheology,” in *Pract. Food Rheol.*, no. February, pp. 7–28, Wiley, jan 2011.
- [70] Y. El Bitouri, “Rheological Behavior of Cement Paste: A Phenomenological State of the Art,” *Eng*, vol. 4, pp. 1891–1904, jul 2023.
- [71] E. Şahin, “Calcium Phosphate Bone Cements,” in *Cem. Based Mater.*, InTech, oct 2018.
- [72] O. Ojeda-Farías, P. Hebraud, D. Lootens, M. Liard, and J. Mendoza-Rangel, “Thixotropy of reactive suspensions: The case of cementitious materials,” *Constr. Build. Mater.*, vol. 212, pp. 121–129, jul 2019.
- [73] C. A. Schneider, W. S. Rasband, and K. W. Eliceiri, “NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis,” *Nat. Methods*, vol. 9, pp. 671–675, jul 2012.
- [74] S. Seesanong, C. Laosinwattana, and B. Boonchom, “A simple rapid route to synthesize monocalcium phosphate monohydrate using calcium carbonate with different phases derived from green mussel shells,” *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 10, no. 2, pp. 113–118, 2019.
- [75] H. Zhou, L. Yang, U. Gbureck, S. B. Bhaduri, and P. Sikder, “Monetite, an important calcium phosphate compound—Its synthesis, properties and applications in orthopedics,” *Acta Biomater.*, vol. 127, pp. 41–55, 2021.
- [76] C. Moseke, C. Bayer, E. Vorndran, J. E. Barralet, J. Groll, and U. Gbureck, “Low temperature fabrication of spherical brushite granules by cement paste emulsion,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 23, pp. 2631–2637, nov 2012.
- [77] K. Issa, A. Alanazi, K. A. Aldhafeeri, O. Alamer, and M. Alshaaer, “Brushite: Synthesis, Properties, and Biomedical Applications,” in *Cryst. Appl.*, IntechOpen, mar 2022.

- [78] ASTM International, “ASTM F451-21: Specification for Acrylic Bone Cement,” tech. rep., 2021.
- [79] M. Hofmann, A. Mohammed, Y. Perrie, U. Gbureck, and J. Barralet, “High-strength resorbable brushite bone cement with controlled drug-releasing capabilities,” *Acta Biomater.*, vol. 5, pp. 43–49, jan 2009.
- [80] J. Unosson and H. Engqvist, “Development of a Resorbable Calcium Phosphate Cement with Load Bearing Capacity,” *Bioceram. Dev. Appl.*, vol. 04, no. 01, pp. 272–307, 2016.
- [81] E.-H. Yang, S. Wang, Y. Yang, and V. C. Li, “Fiber-Bridging Constitutive Law of Engineered Cementitious Composites,” *J. Adv. Concr. Technol.*, vol. 6, no. 1, pp. 181–193, 2008.
- [82] L. Yang, H. Wang, H. Li, and X. Zhou, “Effect of High Mixing Intensity on Rheological Properties of Cemented Paste Backfill,” *Minerals*, vol. 9, p. 240, apr 2019.
- [83] F. Hu, T. Mikolajczyk, D. Y. Pimenov, and M. K. Gupta, “Extrusion-Based 3D Printing of Ceramic Pastes: Mathematical Modeling and In Situ Shaping Retention Approach,” *Materials (Basel)*, vol. 14, p. 1137, feb 2021.
- [84] C. Rey, C. Combes, C. Drouet, D. Grossin, G. Bertrand, and J. Soulié, “1.11 Bioactive Calcium Phosphate Compounds: Physical Chemistry,” in *Compr. Biomater. II* (P. Ducheyne, ed.), pp. 244–290, Oxford: Elsevier, 2017.
- [85] B. Leon and J. Jansen, *Thin Calcium Phosphate Coatings for Medical Implants*. New York, NY: Springer New York, 2009.
- [86] N. A. Clark, “The system P_2O_5 -CaO- H_2O and the recrystallization of monocalcium phosphate,” *J. Phys. Chem.*, vol. 35, no. 5, pp. 1232–1238, 1931.
- [87] K. Nasri, H. El Feki, P. Sharrock, M. Fiallo, and A. Nzihou, “Spray-dried monocalcium phosphate monohydrate for soluble phosphate fertilizer,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 54, no. 33, pp. 8043–8047, 2015.
- [88] U. Gbureck, S. Dembski, R. Thull, and J. E. Barralet, “Factors influencing calcium phosphate cement shelf-life,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 17, pp. 3691–3697, 2005.
- [89] Z. Sheikh, M. Abdallah, F. Al-Jaf, G. Chen, N. Hamdan, R. N. Young, M. D. Gryn timer, and M. Glogauer, “Achieving enhanced bone regeneration using monetite granules with bone anabolic drug conjugates (C3 and C6) in rat mandibular defects,” *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, vol. 108, pp. 2670–2680, aug 2020.
- [90] A. Ghina Imaniyyah, Sunarso, and E. Herda, “Monetite as a potential ideal bone substitute: A short review on fabrication and properties,” *Mater. Today Proc.*, vol. 66, pp. 2762–2766, 2022.

Anexos

A Análisis termogravimétricos y térmico diferencial del MCPM

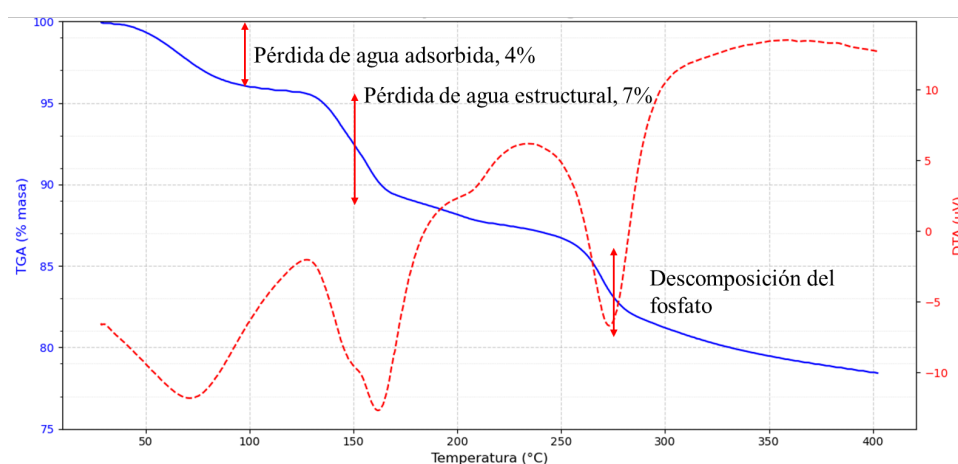


Figura A.1: Análisis termogravimétrico (azul) y térmico diferencial (rojo), muestra de MCPM Sigma-Aldrich.

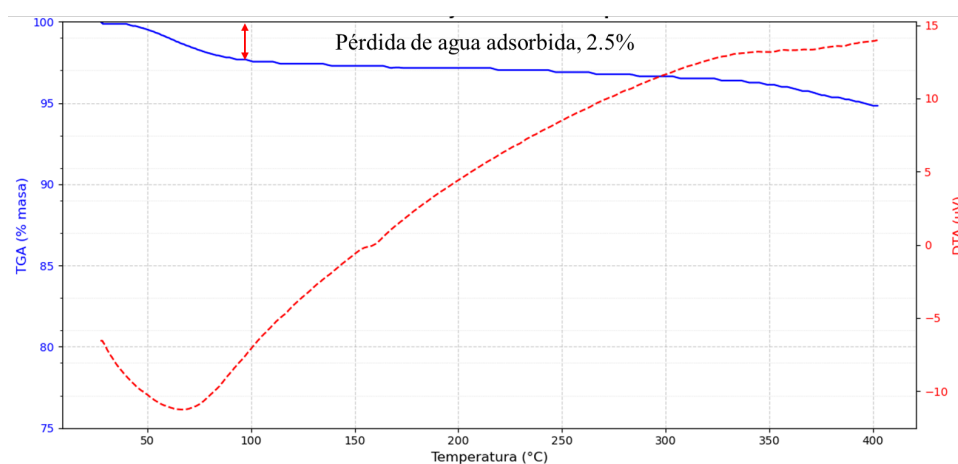


Figura A.2: Análisis termogravimétrico (azul) y térmico diferencial (rojo), muestra de MCPM Biopack.

B Propiedades reológicas: curvas completas

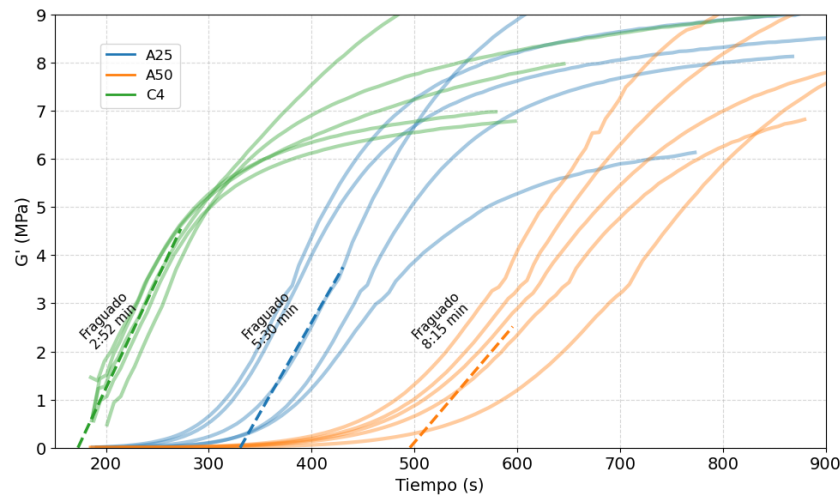


Figura B.1: Evolución del proceso de fraguado de pastas con distinta concentración de ácido cítrico y sistema con citrato de sodio y biovidrio, evaluado con ensayo oscilatorio en reómetro. Se muestra en línea discontinua la regresión utilizada para determinar el tiempo inicial de fraguado. Módulo de almacenamiento G' en función del tiempo.

C Propiedades mecánicas: curvas completas

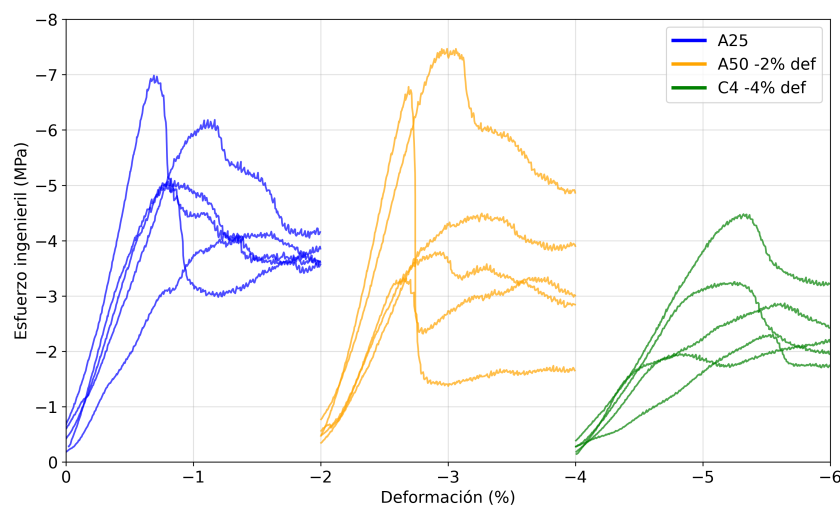


Figura C.1: Ensayos de compresión, curvas de pastas A25, A50 y C4 desplazadas en el eje de deformación. Esfuerzo respecto la sección inicial (ingenieril) en función de la deformación porcentual.