



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

**DESARROLLO DE COMPÓSITOS DE ÁCIDO POLILÁCTICO Y DERIVADOS
DEL GRAFITO PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO CIVIL QUÍMICO

PAULO ANDRÉS ARRIAGADA GONZÁLEZ

PROFESOR GUÍA:
HUMBERTO PALZA CORDERO

MIEMBROS DE LA COMISIÓN:
RAÚL QUIJADA ABARCA
JUAN CRISTÓBAL ZAGAL MONTEALEGRE

SANTIAGO DE CHILE

2016

“DESARROLLO DE COMPÓSITOS DE ÁCIDO POLILÁCTICO Y DERIVADOS DEL GRAFITO PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS”

En los últimos años se ha extendido el uso de materiales que destacan, principalmente, por su biocompatibilidad, razón por la cual son utilizados en aplicaciones biomédicas. El ácido poliláctico (PLA) es un biopolímero que, además de ser biocompatible, es biodegradable. Estas características lo hacen ser un material muy utilizado en biomedicina.

Sin embargo, las aplicaciones biomédicas requieren la consideración de diversas propiedades del material, pues se busca lograr una estabilidad en la interacción con sistemas biológicos. De esta forma, el interés es desarrollar materiales multifuncionales que presenten propiedades optimizadas, tales como mecánicas, bioactividad, propiedad antibacteriana, conductividad eléctrica, entre otras.

La presente memoria se centra en el desarrollo de nanocompuestos poliméricos de PLA con derivados del grafito (óxido de grafeno, GO, y óxido de grafeno térmicamente reducido, TrGO) mediante mezclado en fundido. Así, se busca evaluar las propiedades antimicrobianas, biocompatibles, mecánicas y eléctricas de los materiales desarrollados.

Los ensayos microbiológicos indican que el compuesto con 5% en peso GO logra un 100% de efectividad en contra de ambas bacterias estudiadas (*E. coli* y *S. aureus*). Mismo resultado se obtiene cuando se genera una corriente eléctrica por la placa de 10% en peso de TrGO.

Por otro lado, para los compósitos con GO aumenta la proliferación celular, mientras que para el TrGO se logra el mismo valor de viabilidad que para el PLA, en células SaOS-2. Esto indica que los compósitos desarrollados tienen una buena biocompatibilidad, sin riesgo de toxicidad para su uso con tejidos vivos. En particular, los compósitos con GO emergen como una alternativa pues mejoran la proliferación de las células.

El módulo de elasticidad aumentó su valor tanto para los compuestos con GO como para los con TrGO. Sin embargo, este crecimiento se acentúa para los primeros, donde se logra aumentar un 14% el módulo a una concentración de solo 2% en peso de GO. Además, para compósitos con ambas partículas la elongación a la rotura disminuyó.

La conductividad eléctrica de los compósitos depende fuertemente del tipo de relleno utilizado, logrando una conductividad eléctrica de $10^{-2} [S/m]$ para un contenido de 10% en peso de TrGO. En contraste, para los compósitos con GO no se obtuvo conductividad, ya que, a diferencia del grafeno, esta nanopartícula no es conductora.

De esta forma, el estudio indica que se mejoraron las propiedades antibacteriales, biocompatibles, mecánicas y eléctricas de los nanocompuestos de PLA al agregar rellenos de GO y TrGO. Así, los materiales desarrollados pueden ser utilizados en aplicaciones biomédicas e interactuar con sistemas biológicos sin problemas.

Dedicatoria

“There is no solace above or below. Only us - small, solitary, striving, battling one another. I pray to myself, for myself”

Frank Underwood
House of Cards

Por y para mí.

Agradecimientos

Muchas personas estuvieron vinculadas, ya sea directa o indirectamente, en este largo y gratificante proceso. Lo que más agradezco de cada una de ellas es el tiempo, el tiempo que se tomaron para resolver dudas, para enseñarme cosas, o simplemente para charlar.

Primero que todo, agradecer a mi familia y a mi novia, por estar ahí conmigo cuando los necesité y por todos los consejos y conversaciones. Por apoyarme y soportarme, por entenderme y acogerme.

Al profesor Humberto Palza, por el apoyo, el esfuerzo entregado y por las correcciones minuciosas. Sin él no hubiera sido posible haber aprendido todo lo que aprendí.

Al profesor Raúl Quijada, por las correcciones realizadas a este informe.

Al profesor Juan Zagal, por la disposición para el uso de las impresoras 3D del FabLab, que finalmente, por variadas razones, no pude utilizar.

A las personas del Laboratorio de Polímeros. A Juanito, por haber soportado las veces que rompí algo y por todo el apoyo que significó en el inicio de este trabajo. A Cristián Garzón, por enseñarme a medir conductividad y a hacer el ensayo de esfuerzo-deformación. A Carolina, por ayudarme en la última parte de la memoria con los papers y la presentación.

Al profesor Pablo Caviedes de la Facultad de Medicina, por recibirme en su laboratorio, y, de ahí mismo, a Kathy, por apoyarme cada vez que tenía alguna duda. Asimismo, a Julián Bejarano, por enseñarme el ensayo MTT y dar parte de su tiempo a discutir los resultados.

A la profesora Patricia Palma, por abrirme las puertas de su laboratorio en la Facultad de Odontología, y por todo el tiempo que se tomó para que los ensayos de microbiología salieran bien. A Daniela y a Darma, por estar siempre pendientes y enseñarme todo sobre los quehaceres de un laboratorio de microbiología.

Al profesor Mario Vergara, por facilitar el uso del laboratorio de la Unidad de Ensayos Eléctricos de IDIEM, y a todo su equipo.

A Andre Geim y Konstantin Novoselov, por descubrir el grafeno. Sin su gran aporte este trabajo no hubiera sido posible.

También, no puedo dejar de agradecer a mis héroes. Al señor Gokú, por enseñarme que cualquier problema, por muy gris, verde o rosado que sea, se soluciona siempre con un kame-hame-ha o una genkidama. A Bob Esponja, por enseñarme que lo ridículo de la vida es muchas veces la vida misma. A Dora la Exploradora, por enseñarme que a veces la respuesta a las cosas es lo más obvio. A Gon Freecss, porque la práctica hace al maestro. A Fry, de Futurama, por ser su propio abuelo y enseñarnos... nada. A Ash Ketchum, porque “yo quiero ser siempre el mejor, mejor que nadie más”. Y a Nicolás Massú, porque “nada es imposible...”.

A todos y cada uno de ustedes, muchas, muchísimas gracias.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ANTECEDENTES GENERALES	1
CAPÍTULO II. ESTADO DEL ARTE	2
2.1. BIOMATERIALES Y APLICACIONES EN MEDICINA.....	2
2.1.1 Biomateriales	2
2.1.2 Aplicaciones de los biomateriales [7,8]	3
2.1.3 Problemas y limitaciones del uso de biopolímeros	3
2.2. ÁCIDO POLILÁCTICO	4
2.3. NANOESTRUCTURAS DE CARBONO.....	6
2.3.1 Generalidades	6
2.3.2 GO y TrGO como biomaterial	9
2.3.3 Nanocompuestos de polímero/grafeno.....	10
2.4. COMPÓSITOS DE PLA CON DERIVADOS DEL GRAFENO.....	11
2.4.1 Propiedad antimicrobiana	11
2.4.2 Toxicidad.....	12
2.4.3 Propiedades mecánicas.....	15
2.4.4 Conductividad eléctrica	17
2.5. BIOAPLICACIONES DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	19
2.5.1 Estimulación eléctrica.....	19
2.5.2 Propiedad antibacteriana	19
2.5.3 Percolación eléctrica	20
CAPÍTULO III. OBJETIVOS.....	22
CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	23
3.1. MATERIALES.....	23
3.2. METODOLOGÍA.....	23
3.2.1. Producción de GO y TrGO.....	23
3.2.2. Nanocompuestos de PLA/GO y PLA/TrGO	24
CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
5.1 DERIVADOS DEL GRAFENO	27
5.1.1 Modificación del grafito.....	27
5.2 COMPÓSITOS PLA CON DERIVADOS DEL GRAFENO	28

5.2.1 Propiedad antibacterial.....	28
5.2.2 Toxicidad.....	30
5.2.3 Propiedades mecánicas.....	32
5.2.4 Conductividad eléctrica	36
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES.....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	40
ANEXOS.....	61
ANEXO A. CURVAS DE ENSAYO DE TRACCIÓN PARA LOS COMPÓSITOS.....	61
ANEXO B. TEORÍA DE PERCOLACIÓN ELÉCTRICA	63
ANEXO C. DETERMINACIÓN PUNTO DE PERCOLACIÓN Y EXPONENTE CRÍTICO	64
ANEXO D. FOTOGRAFÍAS DE ENSAYOS DE MICROBIOLOGÍA	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Grafeno (superior) y las posibles estructuras del carbono a las que da origen (abajo): fullereno (izquierda), nanotubos de carbono (centro) y grafito y/o diamante (derecha) [50].....	7
Figura 2: Estructura molecular del óxido de grafeno (GO) [74].	8
Figura 3: Ensayos de propiedad antibacterial en films de PLA y PLA/0.2 wt% GO-ZnO, durante 24 horas sobre bacterias S. Aureus y E. Coli, en condiciones luminosa y oscura [123].....	11
Figura 4: Cultivo de 24 horas para (a) S. Aureus y (b) E. Coli para distintas concentraciones en peso de GO en una matriz de PLA/PU [124].....	12
Figura 5: Viabilidad celular (izquierda) y porcentaje de muerte celular (derecha) respecto al control de fibroblastos embrionarios de ratón en presencia de distintas concentraciones de GO, M-rGO y H-rGO [125].	13
Figura 6: Proliferación y viabilidad celular para el polímero puro y los compósitos con GO en concentraciones de 1% y 2% en peso [126].	13
Figura 7: Índice de inhibición (%) para el material puro y los compósitos de PLA con GO y GNP a distintos tiempos [127].....	14
Figura 8: Proliferación celular de células MSC humanas en compósitos de PLGA y GO a un contenido de 1% en peso [128].....	15
Figura 9: Módulo de elasticidad (izquierda) y elongación a la rotura (derecha) v/s contenido de grafito en peso para compósitos de PLA/EG y PLA/NG [109].	15
Figura 10: Elongación al quiebre para los compósitos de PLA [129].....	16
Figura 11: Conductividad v/s concentración en volumen (%) de compósitos de PLA y óxidos de grafeno:GO (óxidos de grafeno), rGO-g (óxidos de grafeno reducidos con glucosa), rGO-p (óxidos de grafeno reducidos con polivinilpirrolidona (PVP)) [108].....	17
Figura 12: Resistividad eléctrica v/s contenido en peso de grafito para compósitos de PLA con grafito no exfoliado (NG) y grafito exfoliado (EG) [109].....	18
Figura 13: Conductividad eléctrica v/s contenido en peso de nanoplaqueta de grafeno (GNP) en compósitos de PLA/GNP [134].....	18
Figura 14: Representación esquemática del concepto de percolación eléctrica. En la figura de la izquierda el enrejado está sin sitios activos, al medio con un 50% de sitios activos, y a la derecha con un 67% de sitios activos, donde se observa el camino existente desde un extremo a otro.	21
Figura 15: Patrones de difracción de rayos X (DRX) para el G, GO y TrGO.	27
Figura 16: Citocompatibilidad a 24 horas de células SaOS-2 para compósitos de PLA/GO y PLA/TrGO respecto al control (n=6; *Diferencia estadísticamente significativa entre los test y el control. +Diferencia estadísticamente significativa entre los test y el PLA; p<0,05).	31

Figura 17: Comparación entre compósitos de PLA/GO a distintas concentraciones y los efectos del secado de los materiales antes del mezclado en fundido.	32
Figura 18: Módulo de elasticidad del PLA a distintas concentraciones en peso de GO y TrGO.	33
Figura 19: Elongación a la rotura del PLA a distintas concentraciones en peso de GO y TrGO.	34
Figura 20: Módulo de Young experimental y resultados del modelo Halpin-Tsai para compuestos de PLA con a) TrGO y b) GO.....	36
Figura 21: Curva experimental de percolación eléctrica y ajuste a modelo clásico para los compósitos a distintas concentraciones en volumen de GO y TrGO (densidad GO=2,2 [g/cm ³] [193]; densidad TrGO=2,38 2 [g/cm ³] [183]).	37
Figura 22: Linealización del modelo túnel para los datos experimentales en compósitos de PLA/TrGO.	38
Figura 23: Comparación curvas esfuerzo versus elongación obtenidas para los compósitos PLA/TrGO.	61
Figura 24: Comparación curvas esfuerzo versus elongación obtenidas para los compósitos PLA/GO.	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Propiedades mecánicas (módulo de elasticidad y elongación a la rotura) de algunos polímeros termoplásticos [18].....	5
Tabla 2: Propiedad antibacterial (%) y CFU/ml de los compósitos de PLA con GO y TrGO a las concentraciones (en peso) indicadas. (PLA se usó como control; e-: compósito sometido a conductividad eléctrica).	28

LISTA DE ABREVIATURAS

CrGO: óxido de grafeno químicamente reducido.

EG: grafito exfoliado.

G: grafito.

GO: óxido de grafito.

NG: grafito.

PDLA: ácido poli-D-láctico.

PDLLA: ácido poli-D-L-láctico.

PLA: ácido poliláctico.

PLLA: ácido poli-L-láctico.

PP: polipropileno.

PU: poliuretano.

PVA: polivinil alcohol.

rGO: óxido de grafeno reducido.

TrGO: óxido de grafeno térmicamente reducido.

UHMWPE: polietileno de ultra alto peso molecular.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES GENERALES

Durante los últimos años se ha configurado un nuevo paradigma en el desarrollo de materiales, posibilitando el avance de biomateriales para aplicaciones en medicina [1]. Éstos se definen como un material hecho para interactuar con sistemas biológicos, y para evaluar, tratar, aumentar o reemplazar cualquier tejido, órgano o función del cuerpo [2]. Entre los principales tipos de biomateriales se encuentran los materiales poliméricos con biocompatibilidad, denominados biopolímeros, propiciados por la aparición de nuevas tecnologías biomédicas, tales como la ingeniería de tejidos, la medicina regenerativa, la administración controlada de fármacos y la fabricación de scaffolds [2]. Si bien se han utilizado polímeros naturales desde los años 60, el avance en tecnologías químicas ha permitido la búsqueda de nuevos polímeros.

Entre ellos se encuentra el ácido poliláctico (PLA), que es un poliéster alifático derivado de fuentes 100% renovables, tales como remolachas de azúcar o de maíz. Este polímero ha sido ampliamente investigado para aplicaciones biomédicas, producto de su biodegradabilidad, bioreabsorción y biocompatibilidad [1]. Sin embargo, estas aplicaciones requieren materiales con propiedades optimizables, que incluyen cambios en la química de superficie, velocidades de degradación, bioadhesión, comportamiento mecánico, propiedad antimicrobiana, entre otras [3].

Para lograr estas características deseables, se utilizan compósitos, los cuales son materiales fabricados a partir de dos o más constituyentes, cuyo objetivo es mejorar las propiedades según el uso que se requiera. De esta forma se generan materiales multifuncionales, con nuevas propiedades, que pueden ser utilizados en variados campos de la ingeniería.

Actualmente se utilizan diferentes nanopartículas como relleno para producir nanocompósitos con propiedades incrementadas. Entre ellas destacan los compuestos basados en el carbono, los cuales son: nanotubos de carbono (CNT), óxido de grafeno (GO) y óxido de grafeno térmicamente reducido (TrGO). Estas nanopartículas le adicionan propiedades deseables a las matrices poliméricas donde son añadidas (tales como propiedad antibacteriana o dotarlas de conductividad eléctrica), generando nanocompuestos que se caracterizan por su versatilidad en la aplicación en distintos campos de la ingeniería [4].

CAPÍTULO II. ESTADO DEL ARTE

2.1. BIOMATERIALES Y APLICACIONES EN MEDICINA

2.1.1 Biomateriales

Los biomateriales son utilizados para interaccionar con sistemas biológicos [5]. De esta forma, las características son obtenidas por medio de una adecuada combinación de propiedades químicas, mecánicas, físicas y biológicas, con tal de diseñar un biomaterial con cualidades deseables [6]. Estos son fabricados utilizando distinto tipos de materiales, entre los cuales se encuentran polímeros, metales, cerámicos y compósitos [7].

- **Polímeros:** utilizados principalmente en prótesis vasculares y faciales, catéteres, liberación de drogas, piel y cartílagos y, junto a metales, en ortopedia.
- **Metales:** usados en implante ortopédicos (cables, tornillos y articulaciones) y aplicaciones dentales.
- **Cerámicos:** debido a su dureza y fragilidad se utilizan en restauraciones dentales y en ciertas aplicaciones ortopédicas (como parte de articulaciones artificiales).
- **Compósitos:** estos materiales combinan los beneficios de sus componentes. Son diseñados dependiendo de su uso, por lo que abarcan un amplio rango de aplicaciones biomédicas. Pueden ser microcompósitos cuando se utilizan microrrellenos, o nanocompósitos cuando el relleno es de tamaño nanométrico.

En el diseño de los biomateriales deben considerarse ciertas características que resultan fundamentales para que pueda desempeñarse de forma exitosa como implante o en contacto con sistemas biológicos. Estas propiedades tienen que ver tanto con la estabilidad en los sistemas biológicos como estabilidad mecánica, y se muestran a continuación [8].

- **Toxicidad:** la toxicidad del material se puede deber a la liberación no intencional de sustancias dentro del sistema biológico, afectando a células, tejidos y órganos.
- **Biocompatibilidad:** se define como la habilidad del biomaterial para desempeñarse con una apropiada respuesta del sistema biológico durante una aplicación específica.
- **Reacción corporal a cuerpos extraños:** es una reacción del sistema a los cuerpos externos, expresado en el rechazo a la utilización del material.
- **Propiedades mecánicas:** las propiedades físicas del biomaterial deben compatibilizar a los del tejido u órgano que se busca reemplazar, de tal forma de igualar o al menos asemejar el comportamiento mecánico del sistema biológico donde será implantado.
- **Propiedad antibacterial:** se relaciona con la capacidad del material de inhibir el crecimiento o producir lisis celular en bacterias en su superficie.

2.1.2 Aplicaciones de los biomateriales [7,8]

El campo de los biomateriales es altamente interdisciplinario, involucrando elementos de física, toxicología, ciencias de los materiales, ingeniería, biología, química y medicina, entre otros.

Los materiales desarrollados han comenzado a jugar un importante rol en diferentes aplicaciones clínicas, las que se listan a continuación:

- Liberación controlada de drogas
- Terapias génicas
- Desarrollo de scaffolds
- Reemplazo y mejora de tejidos
- Aparatos quirúrgicos

Todas estas aplicaciones se enmarcan dentro de la ingeniería tisular, cuyo principal propósito es recrear los procesos naturales involucrados en el reemplazo y regeneración de tejidos perdidos. Esto, pues los tejidos tienen la habilidad de regenerarse. Por ejemplo, órganos como el hígado, el hueso y la piel se regeneran para reparar heridas no críticas. Desafortunadamente el potencial regenerativo es limitado, y el uso de biomateriales como base para el cultivo de células ofrece una solución. El actual acercamiento de la ingeniería tisular es el desarrollo de materiales que promuevan las interacciones con células que aumenten drásticamente las capacidades del cuerpo para la reparación y reemplazo de tejidos [9].

2.1.3 Problemas y limitaciones del uso de biopolímeros

Los biopolímeros son obtenidos de fuentes naturales, ya sea directamente (celulosa, almidón, etc.) o indirectamente (ácidos poliglicólico y poliláctico) [3, 10, 11]. Este tipo de biomateriales ha encontrado un gran uso a nivel industrial, particularmente en la industria del packaging. Entre las características que poseen se encuentran la alta biocompatibilidad, biodegradabilidad y bioabsorción, por lo que son considerados como ecológicamente seguros [12]. Por ello han surgido como una alternativa a los polímeros basados en fuentes de petróleo, como el polietileno. De esta forma se busca reducir la producción de basura plástica que resulta en una gran fuente de contaminación medioambiental [12, 13].

Como se dijo anteriormente, en las aplicaciones biomédicas se deben considerar ciertas propiedades. En cuanto a las propiedades mecánicas, éstas deben ser apropiadas a la aplicación a la que se destinará [1]. Sin embargo, comparadas con las poliolefinas, los biopolímeros tienen menor comportamiento mecánico. Esto se transforma en un primer problema para el uso de éstos en las diversas posibles aplicaciones. De esta forma, se han desarrollado técnicas para mejorar las propiedades mecánicas de estos biomateriales, que incluyen la modificación química, adición de plastificantes o la incorporación de otros biopolímeros u otros materiales para producir compuestos con propiedades intermedias [13, 14].

Otro importante problema, que afecta a todo material ocupado en biomedicina, son las infecciones. Alrededor del mundo las infecciones producidas en hospitales han causado la muerte de millones de personas, en un panorama donde las terapias antimicrobianas clásicas han dejado de tener el efecto de antaño [15]. Particularmente, en Chile se producen alrededor de 70 mil infecciones asociadas a la atención de salud (IAAS) al año, produciendo aproximadamente 6 mil muertes anuales [16]. Esto se debe a la habilidad de los microbios de adaptarse y evolucionar en la presencia de agentes antibacteriales, generando bacterias resistentes a los antibióticos tradicionales, lo que se transforma en un problema grave en el tratamiento de enfermedades [15, 17].

En general los biopolímeros no tienen la capacidad de inhibir el crecimiento o causar la muerte de bacterias (el quitosano es una excepción, ya que se usa en medicina justamente para prevenir la proliferación de infecciones). Así, es necesario buscar técnicas que logren dotar de propiedad antibacteriana a los biopolímeros para permitir su uso en biomedicina, disminuyendo el riesgo de causar infecciones en los tejidos.

2.2. ÁCIDO POLILÁCTICO

El ácido poliláctico (PLA, por sus siglas en inglés) se ha conocido por más de 80 años. Fue inicialmente preparado por Wallace Carothers en 1931, mediante el calentamiento de ácido láctico en vacío. Eso, hasta que en 1954 la empresa DuPont patentó un sistema de producción a mayor escala [9]. Se forma por la dimerización del ácido láctico, por medio de dos métodos: apertura de anillos o policondensación.

El PLA es un material termoplástico que, comparado con otros polímeros, tiene alto módulo elástico y baja elongación a la fractura (ver Tabla 1). Debido a que el ácido láctico puede existir en dos formas (D-ácido láctico y L-ácido láctico), el PLA también tiene dos formas ópticas: ácido poli-D-láctico (PDLA) y ácido poli-L-láctico (PLLA). Además, estas dos formas se pueden combinar para crear un meso-complejo, llamado ácido poli-D-L-láctico (PDLLA) [19].

A las propiedades expuestas anteriormente, se le suma la alta biocompatibilidad y biodegradabilidad que presenta [20-22]. Por esta razón el PLA se utiliza en el área de la ingeniería de tejidos, y ha sido estudiado de forma extensa en aplicaciones para la piel, nervios, hígado, cardiovascular, cartílagos y regeneración de hueso [22].

El PLA puro ha sido estudiado mayormente en aplicaciones como aparatos de implante, scaffolds biodegradables, material de sutura, entre otras. Sin embargo, para mejorar sus propiedades, tales como capacidad de carga, bioactividad, respuesta biológica o comportamiento mecánico, se han desarrollado micro y nanocompuestos de PLA con diferentes tipos de fibras y rellenos.

Muchas investigaciones se han realizado en relación a la incorporación de fibras de origen vegetal en matrices de PLA. Bodros et al. [23] reportaron un incremento de más de 2 veces en la resistencia a la tracción y en el módulo de Young de compósitos de PLA con lino o linaza en comparación con compuestos de matriz de polipropileno con la misma fibra. Asimismo, se han utilizado fibras de kenaf para mejorar las propiedades térmicas y mecánicas de la matriz de PLA [24, 25].

Por otro lado, la utilización de micropartículas también ha sido objeto de interés. La incorporación de Bioglass® [26] o vidrio-fosfato [27] ha demostrado mejorar las

propiedades mecánicas del material, además de inducir funciones bioactivas, como el enlazamiento al hueso por la formación de capas superficiales de hidroxiapatita (HA) [28]. Además, en los estudios de Lee et al. [29] y Stoclet et al. [30] se utilizó talco como relleno, lo que aumentó la cristalinidad alrededor de un 25% y el módulo de elasticidad en un 90% a un contenido 30% en peso de talco en los compósitos.

Tabla 1: Propiedades mecánicas (módulo de elasticidad y elongación a la rotura) de algunos polímeros termoplásticos [18].

Polímero	Módulo de elasticidad [GPa]	Elongación a la rotura [%]
PLA	3,2 – 4,0	3- 6
Poliestireno (PS)	2,7 – 3,4	1 - 3
Nylon 6	3,0 – 3,5	250 – 300
Polipropileno (PP)	1,1 – 1,8	500 – 700
Polietileno de baja densidad (PEBD)	0,1 – 0,3	500 – 725
Polietileno de alta densidad (PEAD)	0,5 – 1,0	100 - 400
Polimetilmetacrilato (PMMA)	2,9 – 3,3	3 – 10
Polioximetileno (POM)	3,0 – 3,4	60 - 80

El uso de nanopartículas ha sido estudiado por diversos autores. Ray et al. [31] y Paul et al. [32] investigaron la incorporación de montmorillonita (MMT) en una matriz de PLA, obteniendo un mejoramiento de las propiedades mecánicas de aproximadamente un 60% comparado con talco o fibras de vidrio, de permeabilidad al oxígeno y de las tasas de biodegradabilidad (50% más rápido para PLACN4 (4% en peso de MMT) comparado con el PLA puro). Asimismo, con la utilización de nanocilindros de celulosa (CNW) se obtuvo un máximo de aumento en el módulo de elasticidad de un 19% a un agregado de 5% en peso de surfactante junto con CNW, además de un aumento en la cristalinidad de un 50% a un 5% de CNW y de una disminución de la permeabilidad del material al agua y al oxígeno de casi un 80% a 5% de contenido en peso [33, 34]. También se han estudiado los compósitos multifuncionales usando PLLA y nanodiamantes funcionalizados con octadecilamina (ND-ODA) [35], obteniendo un aumento de 200% en el módulo de Young y de 800% en la dureza a un contenido de 10% en peso.

Sumado a lo anterior, los nanocompuestos basados en nanopartículas metálicas han atraído mucho la atención, debido a las diversas propiedades que entregan a las matrices poliméricas. Por ejemplo, las nanopartículas de plata dotan a la matriz de PLA de la propiedad antibacterial, característica intrínseca que poseen [36, 37]. Por otro lado, nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) se ocupan también para dar al PLA características antibacteriales, además de mejorar la permeabilidad a gases. Sin embargo, esto ocurre a costa de las propiedades mecánicas del compuesto [38, 39].

Otro tipo de nanocompuestos estudiados son los basados en los llamados nanotubos de carbono (CNT). Esta nanopartícula ha cobrado relevancia debido a su alto módulo de Young y altas conductividades eléctrica y térmica, que lo hacen interesante para ser utilizado como refuerzo o como componente eléctricamente conductor en matrices poliméricas [40, 41]. En nanocompuestos con PLA se utiliza para dotar de conductividad eléctrica [42-45], aumentar la cristalinidad [46] y mejorar las propiedades mecánicas y térmicas [44, 47] de la matriz.

Sin embargo, en el último tiempo han aparecido otros tipos de nanopartículas basadas en el carbono, las que son utilizadas como rellenos en diferentes matrices poliméricas para mejorar y otorgar distintas propiedades al polímero. Estas partículas son derivadas del grafito, y han llamado la atención pues tienen similares características a los nanotubos de carbono, pero a un menor costo en procesamiento [48].

2.3. NANOESTRUCTURAS DE CARBONO

2.3.1 Generalidades

Los átomos de carbono son capaces de enlazar con otros átomos con hibridación sp , sp^2 y sp^3 , por lo que puede generar una numerosa cantidad de moléculas estables. Debido a lo anterior, puede formar distintas formas moleculares o cristalinas, entre las que se encuentran el grafito, el diamante, nanotubos, grafenos y fulerenos [49], los que se muestran en la Figura 1.

Estas nanoestructuras han atraído mucha atención en las últimas décadas, debido, principalmente, a sus propiedades térmicas [51], eléctricas [52,53], ópticas [54,55] y mecánicas [56], además de su característica de poseer una alta superficie específica [57]. Por ello, sus aplicaciones abarcan una gran cantidad de ámbitos de la tecnología y la ciencia, entre las que se destacan el uso en sensores [58,59], en placas fotovoltaicas [60], celdas combustibles [61], compósitos [62,63] y biomateriales [64], entre otros.

A escala nanométrica los comportamientos físico y químico de los nanomateriales están fuertemente determinados por su estructura y las interacciones interfaciales con el material utilizado como matriz. De esta forma, cada tipo de nanoestructura de carbono tiene su propio comportamiento, lo que lleva a distintas propiedades, generando pros y contras en su uso [65].

Por ejemplo, los nanotubos de carbono (CNT, por sus siglas en inglés) han sido utilizados en aparatos electrónicos, sensores y refuerzo de matrices poliméricas [48]. Esto debido a sus propiedades únicas, tales como una estabilidad térmica mayor a 700°C en aire, resistencia a la tracción de aproximadamente 50 GPa, una alta relación de aspecto similar a 1000 y una conductividad eléctrica de alrededor de 10^6 S/m. De esta forma son utilizados en nanocompuestos poliméricos conductores eléctricos o en el aumento de la estabilidad

térmica del material [63]. Sin embargo, aún existen desafíos para superar la aglomeración de nanotubos al momento de la mezcla, lo que disminuye la disponibilidad de nanotubos de alta calidad, limitando la dispersión de éstos en la matriz. A ello se suma el alto costo de producción, lo que impide la fabricación de nanotubos en escalas mayores a la de laboratorio [48].

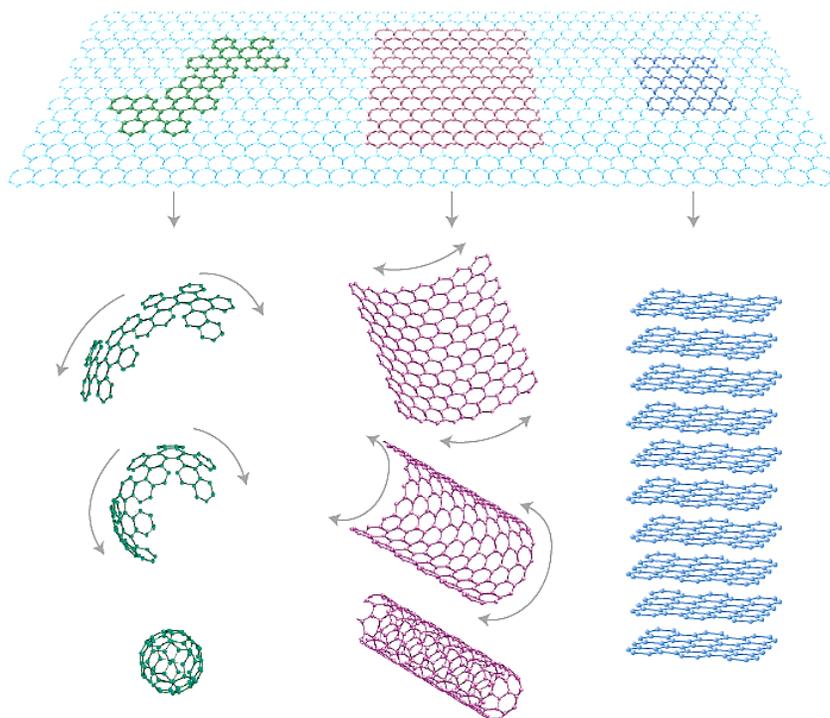


Figura 1: Grafeno (superior) y las posibles estructuras del carbono a las que da origen (abajo): fulereno (izquierda), nanotubos de carbono (centro) y grafito y/o diamante (derecha) [50].

Por lo anterior es necesario buscar materiales más económicos que conserven las propiedades otorgadas por los CNT, que puedan ser transferidas de forma fácil a la matriz. De esta forma, el grafeno se presenta como una alternativa para la creación de materiales avanzados debido a sus excelentes propiedades fisico-químicas. A esto se suma la abundancia natural de su precursor, el grafito, lo cual lo hace atractivo desde el punto de vista comercial [48].

Grafeno es el nombre dado a una monocapa de átomos de carbono estrechamente empaçados en una distribución tipo panal de abeja en dos dimensiones (2D), y es la base para la construcción de los materiales grafiticos de otras dimensiones (Figura 1). Por ello puede involucrarse para formar fulerenos (0D), pueden enrollarse y formar nanotubos (1D) o apilarse y formar grafito (3D) [50]. Los átomos de carbono en el grafeno están enlazados covalentemente con hibridación sp^2 , con una estructura análoga al benceno. Sufre distintas reacciones de adición, tales como hidrogenación, oxidación, hidroxilación, entre otros. Por ello la ruptura y formación de enlaces C-C con conjugación sp^2 (plano basal) o enlaces C-H sp^2 (borde), son importantes en la química del grafeno [4].

Entre las propiedades del grafeno se encuentran su gran conductividad térmica (5000 W/m*K), alta conductividad eléctrica ($6 \cdot 10^5$ S/m), un módulo de Young de aproximadamente 1 TPa, resistencia a la tracción de 130 GPa, transmitancia óptica de 98% y una alta área específica (2675 m²/g) [48]. De esta forma el grafeno se transforma en un material de gran potencial para el desarrollo de nanocompuestos, modificando las propiedades de la matriz polimérica a la cual se añade, mejorando la resistencia mecánica, la conductividad térmica y eléctrica y el desempeño como barrera para el traspaso de gases [140,66,67].

Se han desarrollado diferentes métodos para la obtención de grafeno de alta calidad, incluyendo métodos físicos como la exfoliación mecánica [68], y métodos químicos como la reducción química del óxido de grafito (GtO, por sus siglas en inglés) [69], la síntesis orgánica total [70] y la deposición química de vapor (CVD, por sus siglas en inglés) [71].

Sin embargo, los esfuerzos se han concentrado en la exfoliación química del grafito, utilizando fuertes agentes oxidantes capaces de producir GtO. Cada capa de GtO es una hoja de grafeno oxidado, conocido como óxido de grafeno [72]. Éste consiste en regiones gráficas intactas intercaladas con carbonos con hibridación sp³ que contienen grupos funcionales hidroxilos y epóxidos en la superficies superior e inferior de cada hoja y con carbonos con hibridación sp² que contienen grupos carboxilos y carbonilos, mayormente en los bordes de la hoja [73,74], lo que se puede apreciar en la ilustración de la Figura 2. La presencia de estos grupos hace que el GO sea térmicamente inestable [4] y un aislante eléctrico, ya que irrumpe en la estructura electrónica deslocalizada del grafito [75].

El óxido de grafito se produce generalmente por tratamiento del grafito usando ácidos minerales fuertes y agentes oxidantes. Por ejemplo, en el método de Hummers (y sus derivados) se utiliza permanganato de potasio (KMnO₄) y ácido sulfúrico (H₂SO₄), y en los métodos Staudenmaier o Brodie se utiliza clorato de potasio (KClO₃) o clorato de sodio (NaClO₃) junto con ácido nítrico (HNO₃), obteniendo niveles de oxidación similares (razón C:O de aproximadamente 2:1) [76].

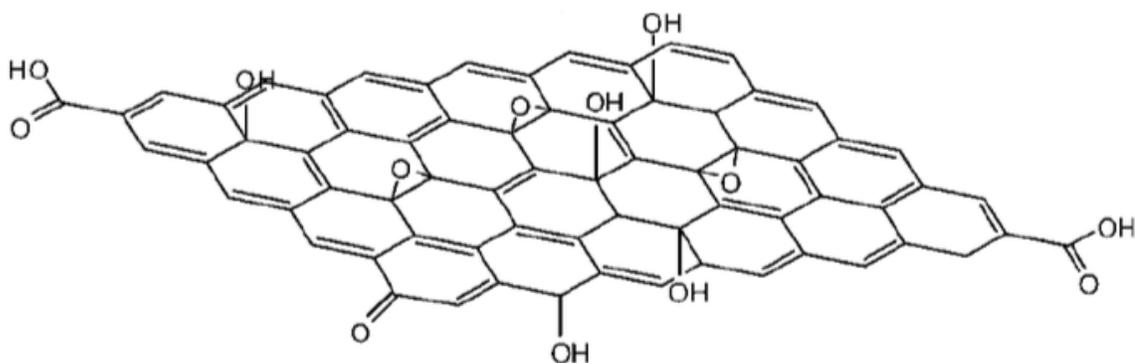


Figura 2: Estructura molecular del óxido de grafeno (GO) [74].

La reducción del GO restaura la conductividad eléctrica del grafito, obteniéndose un compuesto reducido. Las técnicas basadas en el uso de solventes y térmicas han emergido como las dos rutas preferidas para obtener grafeno.

En la primera forma (la reducción química), la naturaleza hidrofílica y el alto espacio entre capas del GO (relativo al grafito) facilita la exfoliación directa en agua por exfoliación mecánica, mediante ultrasonificación o agitación, generando una suspensión coloidal de “óxidos de grafeno” (G-O). Esta suspensión puede ser químicamente reducida utilizando agentes reductores, como hidracina (N_2H_4) o borohidruro de sodio ($NaBH_4$). De esta forma se producen óxidos de grafeno químicamente reducidos (CrGO, por sus siglas en inglés) [77].

La segunda técnica se basa en el rápido calentamiento del GO, formando óxidos de grafeno térmicamente reducidos (TrGO, por sus siglas en inglés). En este método el polvo seco es expuesto a shock térmico (es decir, a un repentino cambio en la temperatura) a temperaturas superiores a $600^\circ C$ [78]. El rápido calentamiento causa pequeñas moléculas de diversas especies (CO , CO_2 y agua, principalmente). Esto genera un aumento de la presión interna, forzando a las hojas de GO a separarse, generando un material seco, con alta área superficial y con baja densidad [79]. De esta forma, se ha reportado que el TrGO contiene razones de C:O de 10:1 [78], demostrando la estructura reducida que se obtiene mediante la exfoliación térmica.

La ventaja principal de la técnica de exfoliación térmica radica en la formación de grafeno sin necesidad de usar solventes para dispersar el compuesto. Estos solventes son peligrosos y de alto valor económico, por lo que limitan su uso en aplicaciones de producción de grafeno [4].

2.3.2 GO y TrGO como biomaterial

Las propiedades intrínsecas del grafeno y sus derivados (GBM, *graphene based materials*) llevan a que se utilicen en variados campos de la ingeniería. Particularmente, como biomateriales han ido progresivamente cobrando importancia desde su descubrimiento. Esto se debe a que el grafeno puede proveer una buena superficie para el cultivo de células debido a su biocompatibilidad, a que es químicamente inerte, y a su alta elasticidad, flexibilidad y conductividad eléctrica. Así, los derivados del grafeno han cobrado una gran importancia en la ingeniería de tejidos, debido principalmente a su estructura compacta y regular susceptible de ser funcionalizada y modificada [80].

Sin embargo, el estudio de estos nanomateriales ha llevado a variadas conclusiones en cuanto a su toxicidad, la que es dependiente del tipo y la forma de producción de los derivados del grafeno, de la dosis, de sus propiedades físicas (forma y tamaño) y químicas y del tiempo de exposición [80-82].

La mayoría de los estudios reportan que la viabilidad celular (fibroblastos humanos o células HeLa) disminuye menos del 20% frente a una exposición de 24 horas o más a una concentración de $\sim 10 \mu g/mL$ de GBM, además de mencionar que aumentar el tiempo de exposición y la concentración disminuye considerablemente la viabilidad de las células [83-86].

El GO es un GBM hidrofílico, y los mecanismos de acción sobre la célula se explican por penetración en la célula [83, 84, 86] o mostrando formación de moléculas oxidantes (ROS, *reactive oxidative stress*) [82], lo que produce una alta desregulación de antioxidantes y de reparación de ADN.

Por otro lado, el rGO (ya sea reducido térmica o químicamente) presenta características hidrofóbicas, y actúa sin penetrar en la célula (debido a las repulsiones producidas en la interacción con la superficie de la célula), generando deformación en la membrana, desestabilización del citoesqueleto [82, 87] y produciendo estrés oxidativo [85].

En contraste, en otros estudios se ha demostrado que la utilización de films de GBM tiene diferente comportamiento. Por ejemplo, no se observó cambio en la viabilidad celular de fibroblastos NIH-3T3 en films de CrGO o de GO [88], ni cambios en la viabilidad de células A549 en films de GO [89]. Incluso, se ha observado un crecimiento de la proliferación en células adenocarcinoma colorrectal (HT-29) sobre films de GO [90].

En otro aspecto, también se ha estudiado como agente antibacterial tanto en bacterias gram-positivas como gram-negativas, mostrando inhibición del crecimiento y propiedad bactericida en estudios en solución [91-95] y en films [95-97]. Los mecanismos antibacteriales explicados por las investigaciones incluyen la formación de estrés oxidativo [91-93, 95] o disrupción mecánica de la membrana de las bacterias [91, 92, 94, 96, 97], tanto para el GO [91, 92, 94-96] como para el CrGO [91, 92, 94, 95] o TrGO [91, 93, 97]. Estos mecanismos pueden incluso ocurrir de forma simultánea, tal como ocurre en los estudios de Liu et al. [92] y Hu et al. [95].

Los usos en biomedicina de los GBM son variados. Abarcan desde aplicaciones en ingeniería tisular y medicina regenerativa [98], farmacéutica (liberación de drogas, fototerapia, entre otros) [99-101] y biosensores y toma de bioimágenes [100, 101].

Las propiedades y usos que denotan al grafeno y sus derivados los hacen ser alternativas para su utilización junto a otros biomateriales, en particular con matrices poliméricas [87].

2.3.3 Nanocompuestos de polímero/grafeno

Los métodos de dispersión de las nanopartículas de GBM en la matriz polimérica son variados, e incluyen al mezclado en solución y en fundido, polimerización in situ, enlazamiento covalente y pulverización en estado sólido [75, 102]. Tanto la utilización del método de mezclado como el tamaño y forma de las nanopartículas influyen en las propiedades del compuesto [102].

Se han estudiado una gran cantidad de polímeros en este aspecto, que incluyen a las resinas epóxicas, poliestireno, polianilinas, nafión, polivinil alcohol, poliuretano, ácido poliláctico, entre otras [63, 103-116]. Esto se debe a que el uso de los derivados del grafeno mejora muchas propiedades de los polímeros. Por ejemplo, puede dotar a la matriz de conductividad eléctrica [63, 105-109], de conductividad térmica [75], mejorar las propiedades mecánicas [63, 109-115], de permeabilidad a gases [75, 106, 107], de biocompatibilidad [114-117], antibacteriano [117-119] y cambiar el comportamiento cristalino y reológico, entre otras [75, 102].

De esta forma, el uso de los nanocompuestos poliméricos con partículas GBM es amplio, abarcando áreas como la electrónica, la energía y la biomedicina (ingeniería tisular y farmacéutica) [100, 120, 121].

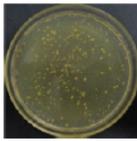
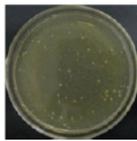
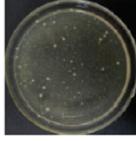
2.4. COMPÓSITOS DE PLA CON DERIVADOS DEL GRAFENO

Debido tanto a las propiedades del PLA como de los GBM expuestas anteriormente, es natural realizar estudios sobre nanocompuestos utilizando ambos materiales. Con ello se busca conciliar la biodegradabilidad y biocompatibilidad del PLA con la mejora en las propiedades otorgada por los derivados del grafito, particularmente del GO y TrGO.

2.4.1 Propiedad antimicrobiana

Como se mencionó, las infecciones microbiológicas en implantes y/o biomateriales en cirugías ortopédicas continúan siendo un problema crítico en medicina. Estas infecciones son producidas por organismos Gram-positivos, como las *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Streptococci*, y por organismos Gram-negativos, tales como la *Escherichia coli*, *Enterobacter* y *Pseudomonas aeruginosa* [122]. De esta forma, se hace necesario estudiar la propiedad bactericida que pueden otorgar los rellenos a la matriz polimérica.

Huang et al. [123] estudiaron el efecto antimicrobiano en films de compósitos de PLA/GO-ZnO durante 24 horas. En dos condiciones de luminosidad (con luz y oscuro) se obtuvieron resultados concluyentes que muestran un claro comportamiento bactericida, obteniéndose valores cercanos al 100% de eficacia bajo condiciones de iluminación. Según los autores se debe a la sinergia producida entre las partículas de ZnO y el GO, debido a la creación de pares electrón-hueco, que fomentan la formación de especies oxidativas que llevan al daño de la membrana celular de las bacterias. La Figura 3 resume los resultados obtenidos en la investigación.

Bacteria	Under light illumination			In dark condition		
	control ^a	treated ^b	R (%)	control ^a	treated ^b	R (%)
<i>S. aureus</i>			99.2 ± 0.5			83.0 ± 1.6
<i>E. coli</i>			97.6 ± 0.8			52.3 ± 2.5

^a Pure PLA film.

^b PLA/0.2 wt% GO-ZnO nanocomposite film.

Figura 3: Ensayos de propiedad antibacterial en films de PLA y PLA/0.2 wt% GO-ZnO, durante 24 horas sobre bacterias *S. Aureus* y *E. Coli*, en condiciones luminosa y oscura [123].

Por otro lado, los estudios de An et al. [124] muestran un comportamiento antimicrobiano de compósitos de ácido poliláctico (PLA) con poliuretano (PU) con agregados de GO. La Figura 4 muestra que para dos tipos de bacterias el comportamiento es similar: con solo agregar un 3% en peso de GO a la matriz polimérica se obtiene una eliminación prácticamente completa de las bacterias después de 24 horas. Además, con solo 4 horas de cultivo la mitad de las bacterias es eliminada, lo que es un resultado notable, pues la

eliminación es rápida. Los autores explican este efecto por cambios en la estructura de la bacteria (por estudio SEM) producido por estrés oxidativo o interrupción física del GO.

Además, los autores investigan la proliferación celular, obteniendo un resultado positivo. Esto se debe a la biocompatibilidad y la propiedad hidrofílica de los óxidos de grafeno, que promueven la interacción entre las células y el material.

Los resultados obtenidos son importantes, pues la incorporación de grafeno contiene una doble acción: por un lado, promueve la proliferación celular, y por otro reduce la acción de bacterias en el material. Esta propiedad es la base para la utilización de estos materiales en sistemas biológicos, pues fomenta la formación de tejido mientras que impide el ataque de bacterias que puedan dañar tanto a los mismos tejidos como al material.

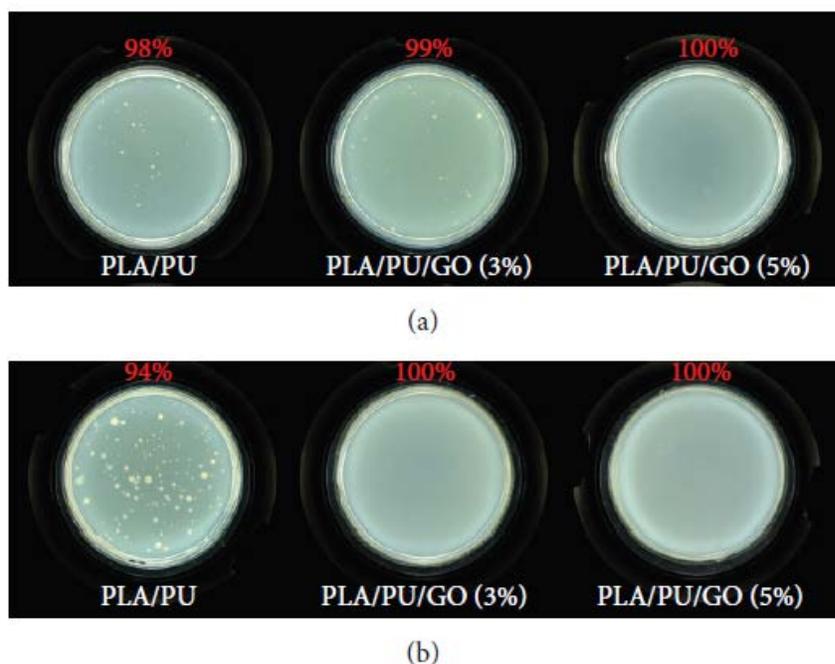


Figura 4: Cultivo de 24 horas para (a) *S. Aureus* y (b) *E. Coli* para distintas concentraciones en peso de GO en una matriz de PLA/PU [124].

2.4.2 Toxicidad

Tal como ocurre con las propiedades eléctricas y mecánicas, la toxicidad del material puede verse afectado por la incorporación de rellenos en la matriz polimérica. De esta forma, la interacción con sistemas biológicos puede ya no ser posible.

El estudio del efecto en la viabilidad celular frente al contacto directo con GO y grafeno fue realizado por Gurunathan et al. [125]. Se investigó la biocompatibilidad con fibroblastos embrionarios de ratón (PMEF) de tres muestras en concentraciones de 0 a 100 [$\mu\text{g}/\text{mL}$]: GO, GO reducido microbiológicamente (M-rGO) y GO reducido con hidracina (H-rGO). La Figura 5 muestra los resultados obtenidos, donde se observa que la viabilidad celular disminuye con el aumento de la concentración de GO, efecto que se potencia con el H-rGO. Esto se debe principalmente al uso de agentes tóxicos en la

reducción del GO, los cuales no se eliminan completamente de la estructura, por lo que permanecen y afectan en gran medida el crecimiento celular, aumentando las muertes de células.

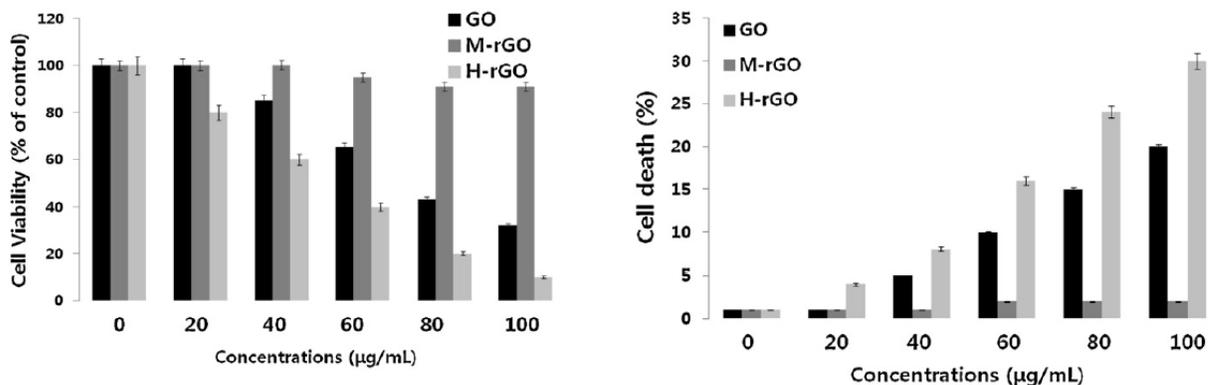


Figura 5: Viabilidad celular (izquierda) y porcentaje de muerte celular (derecha) respecto al control de fibroblastos embrionarios de ratón en presencia de distintas concentraciones de GO, M-rGO y H-rGO [125].

En contraste, el M-rGO presenta una característica más atenuada, mostrando un efecto prácticamente inexistente. Esto se corrobora al ver el gráfico de muerte celular, la que se mantiene constante respecto a la concentración.

Por otro lado, Yoon et al. [126] estudiaron este efecto al incorporar nanocapas de GO a una matriz de ácido poli(D-L-láctico-co-glicólico) (PLGA). La Figura 6 muestra la proliferación y viabilidad de células neuronales respecto al material puro. Se observa que un agregado de 2% en peso de GO aumenta en un 10% la proliferación de células, lo que se debe al cambio en las propiedades superficiales del material.

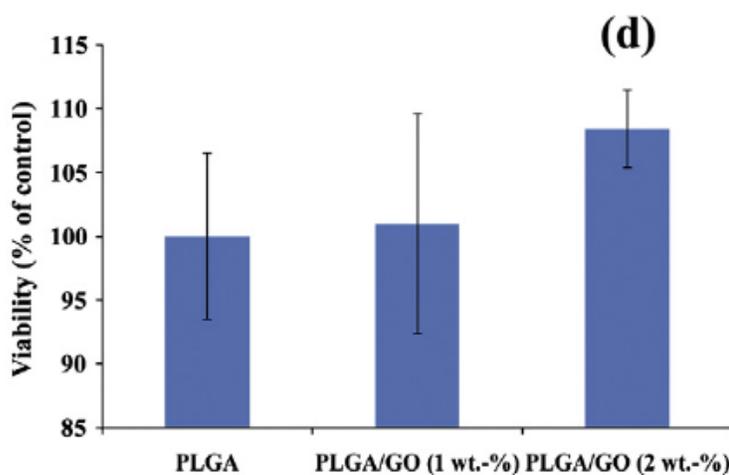


Figura 6: Proliferación y viabilidad celular para el polímero puro y los compósitos con GO en concentraciones de 1% y 2% en peso [126].

Además, Pinto et al. [127] incorporaron GO y nanoplaquetas de grafeno (GNP) a una matriz de PLA para estudiar la biocompatibilidad del material compuesto. La Figura 7 muestra que el índice de inhibición CPII es menor para el compuesto de PLA/GO comparado con el polímero puro y el compuesto de PLA/GNP, es decir, la proliferación celular es mayor en PLA/GO. Esto se debe a que la incorporación de GO a la matriz aumenta el comportamiento hidrofílico, lo que crea una morfología superficial más adecuada para la adhesión celular.

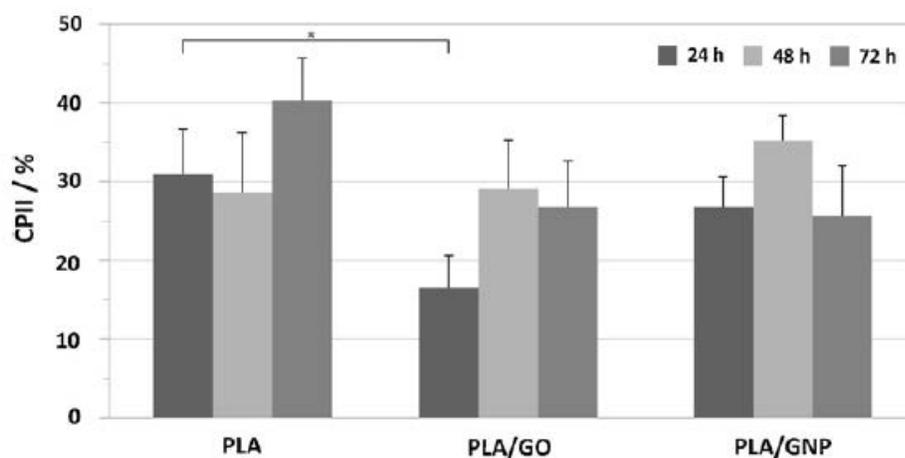


Figura 7: Índice de inhibición (%) para el material puro y los compósitos de PLA con GO y GNP a distintos tiempos [127].

Estos resultados se condicen con lo obtenido por Luo et al. [128], utilizando una matriz de PLGA y GO como relleno a una concentración de 1% en peso. El estudio indica que el crecimiento de las células troncales mesenquimáticas humanas (hMSC) se vio favorecido con la incorporación del relleno en la matriz, aumentando dramáticamente la proliferación celular al día 7 en comparación con el PLGA puro. Además, aumenta la diferenciación osteogénica de las células. Esto se debe, de acuerdo a la investigación, al aumento en la hidrofiliidad del material que fomenta la adsorción de proteínas. La Figura 8 muestra los resultados conseguidos con el estudio.

Estos resultados muestran que es posible dotar de la deseada conductividad eléctrica al PLA e incrementar sus propiedades mecánicas, sin disminuir su biocompatibilidad, pues la toxicidad del material no se ve afectada. Es más, se observa que la proliferación celular aumenta cuando se tiene una concentración baja de agregado en la matriz, particularmente para el GO.

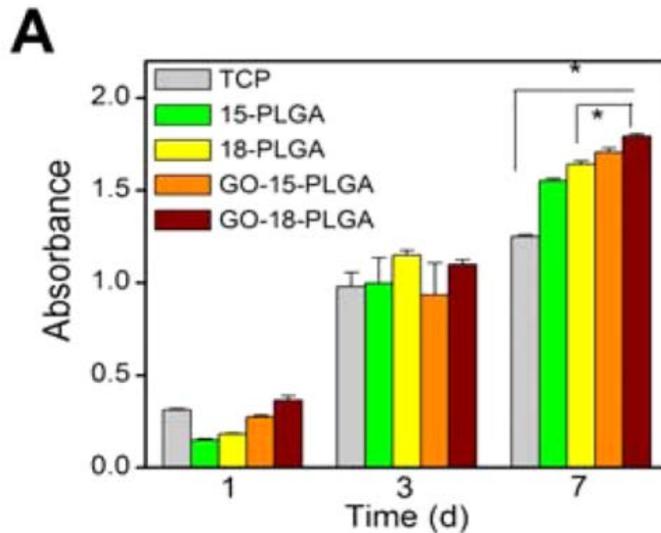


Figura 8: Proliferación celular de células MSC humanas en compósitos de PLGA y GO a un contenido de 1% en peso [128]

2.4.3 Propiedades mecánicas

Los resultados obtenidos en la investigación realizada por Kim et al. [109], sobre compósitos de PLA con grafito exfoliado (EG) y no exfoliado (NG), se muestran en la Figura 9.

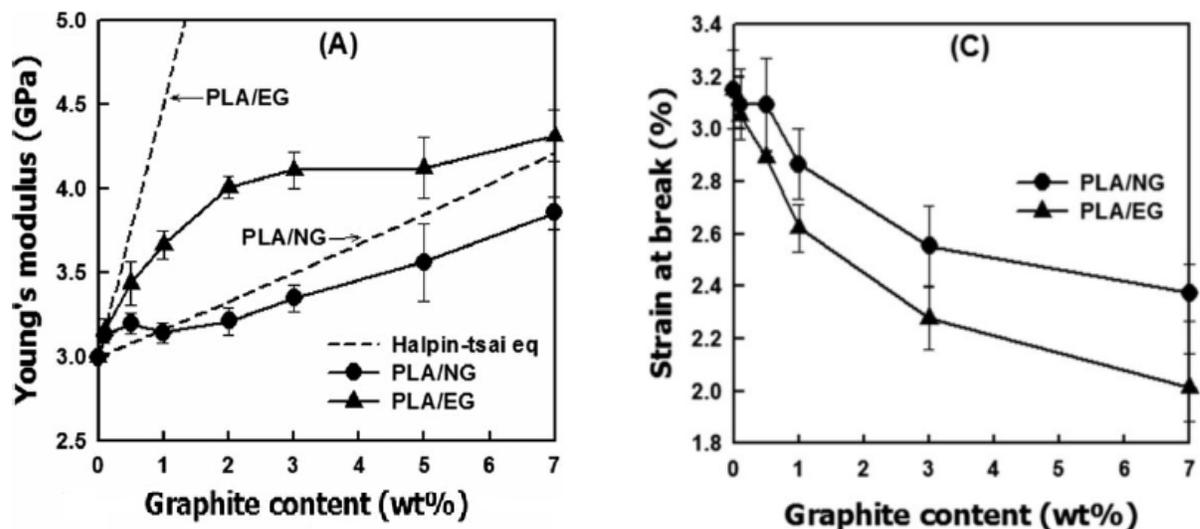


Figura 9: Módulo de elasticidad (izquierda) y elongación a la rotura (derecha) v/s contenido de grafito en peso para compósitos de PLA/EG y PLA/NG [109].

Se observa que el módulo de Young (izquierda en la Figura 9) de los nanocompósitos de PLA/EG incrementa un 30% con el aumento en la carga de EG en la matriz polimérica

hasta un porcentaje cercano al 2% en peso. Luego, por sobre un 3% en contenido se mantiene constante. En contraste, en los compósitos de PLA/NG el módulo aumenta gradualmente con el incremento en peso de grafito no exfoliado. A pesar de ello, el módulo de elasticidad obtenido es significativamente mayor en los compósitos de PLA/EG que en los de PLA/NG, lo que probablemente se debe a la dispersión homogénea de las nanoplaquetas de EG en la matriz de PLA. El gráfico de la derecha en la Figura 9 muestra la elongación a la rotura para los compósitos. El valor para el PLA sin carga es de aproximadamente 3,1% de elongación, la que disminuye al agregar cualquiera de las dos cargas. Sin embargo, para los compósitos de PLA/EG la disminución es mayor, lo que los investigadores aducen al efectivo refuerzo que realizan las nanoplaquetas de EG en la matriz de PLA.

Por otro, en el estudio del grupo de Valapa se obtuvo un aumento de la elongación a la rotura a un 0,1% en peso de relleno para grafeno (grafito expandido exfoliado) en una matriz de PLA, tal como se puede ver en la Figura 10. Este aumento es de un 53% en comparación con el polímero puro. Sin embargo, a un mayor contenido se observa una fuerte disminución. Los autores lo aducen a la baja dispersión del relleno que se produce en la matriz a un contenido mayor al 0,1% en peso, lo cual disminuye la ductilidad del polímero [129].

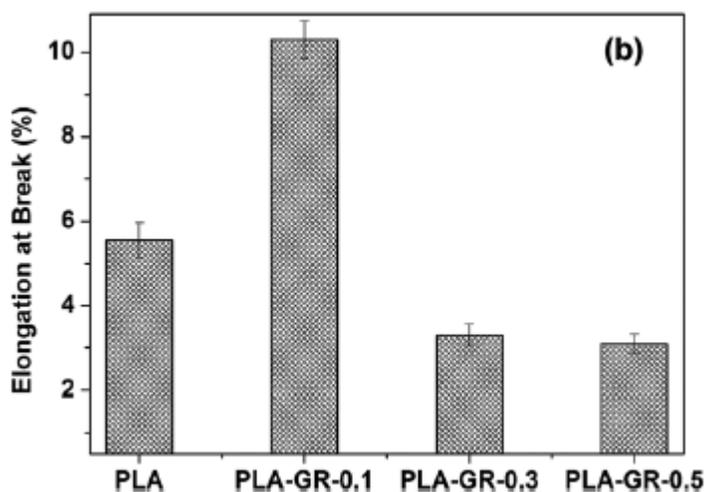


Figura 10: Elongación al quiebre para los compósitos de PLA [129].

Los resultados obtenidos por Cao et al. [130] en compósitos de PLA y nanohojas de grafeno (GNS), muestran que a un contenido de 0,2% en peso hubo un aumento del 18% en el módulo de Young. Asimismo, se obtuvo un máximo de aumento del 115% para un 0,3% en peso de contenido de GO y de un 156% para una concentración de 0,4% en peso de nanoplaquetas de grafeno (GNP) en una matriz de PLA en el módulo de elasticidad, según el estudio del grupo de investigación de Pinto [131].

En otro estudio realizado por Chieng et al. [132] se observa un leve aumento y una leve reducción en el módulo de elasticidad al agregar nanoplaquetas de grafeno y óxidos de grafeno reducidos (rGO) en una matriz de PLA, respectivamente. Este ligero cambio en

las propiedades mecánicas se condice con los resultados obtenidos por Chartarrayawadee y su grupo, que muestran una tenue disminución de la elongación al quiebre al agregar GO a una matriz de PLA a concentraciones de 1%, 2% y 3% en peso [133]. Los autores indican que esto se debe a la baja dispersión de los rellenos en la matriz polimérica.

2.4.4 Conductividad eléctrica

Los estudios realizados por Shen et al. [108] se realizan sobre compósitos de PLA con óxidos de grafeno y óxidos de grafeno reducidos con distintas sustancias. El principal resultado se muestra en la Figura 11, donde se observa que los óxidos de grafeno reducidos (rGO) aumentan casi 10 órdenes de magnitud la conductividad eléctrica a bajas concentraciones de relleno, encontrándose el punto de percolación entre 0.5% y 1% en volumen. Además, los autores indican que una concentración de 1.25% de rGO-g muestra una conductividad de 2.2 S/m, lo que equivale a un semiconductor.

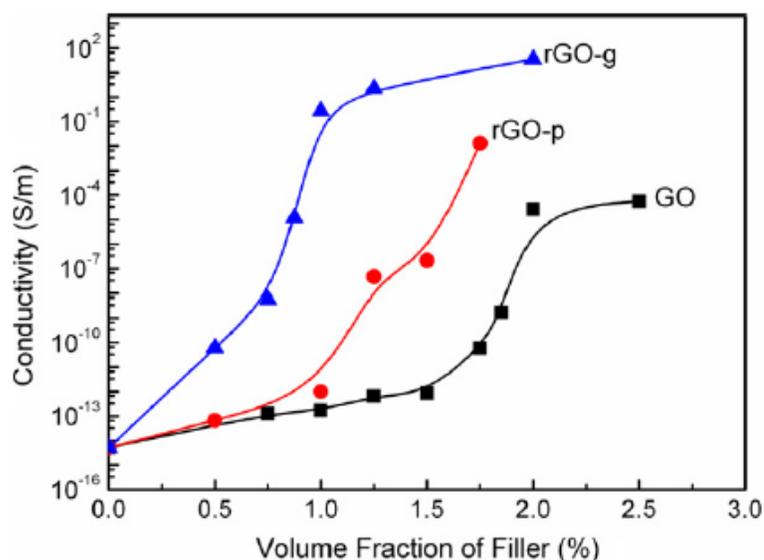


Figura 11: Conductividad v/s concentración en volumen (%) de compósitos de PLA y óxidos de grafeno: GO (óxidos de grafeno), rGO-g (óxidos de grafeno reducidos con glucosa), rGO-p (óxidos de grafeno reducidos con polivinilpirrolidona (PVP)) [108].

Por otro lado Kim y Jeong [109] muestran resultados similares para óxidos de grafeno térmicamente reducidos (EG o TRGO). La Figura 12 muestra la resistividad eléctrica (que es el inverso de la conductividad) versus el contenido de relleno en peso. Se observa que el compósito de PLA con EG a bajas concentraciones disminuye casi 10 órdenes de magnitud la resistividad, es decir, aumenta considerablemente la conductividad eléctrica. El grafito no exfoliado (NG) presenta también una disminución, pero a mayor concentración. El punto de percolación se ubica entre un 3% y 4% en peso para el PLA/EG.

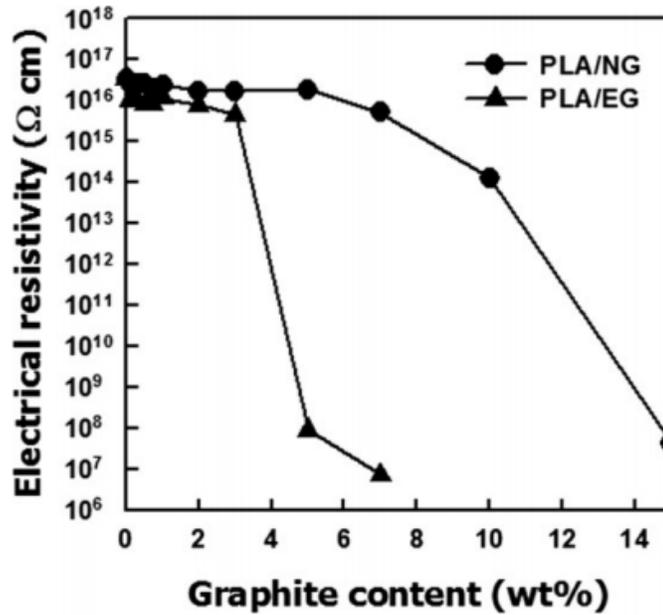


Figura 12: Resistividad eléctrica v/s contenido en peso de grafito para compósitos de PLA con grafito no exfoliado (NG) y grafito exfoliado (EG) [109].

A esto se suma la investigación del grupo de Kashi, que estudiaron compósitos de nanoplaquetas de grafeno (GNP) y PLA a diferentes concentraciones en peso. Los resultados se muestran en la Figura 13, donde se observa un aumento de la conductividad eléctrica a medida que crece la concentración del relleno en la matriz, llegando un valor de 7,4 [S/m] a un contenido de 15% en peso de GNP. Además, los autores ubican que la percolación eléctrica ocurre a una concentración entre 7% y 8% en peso [134].

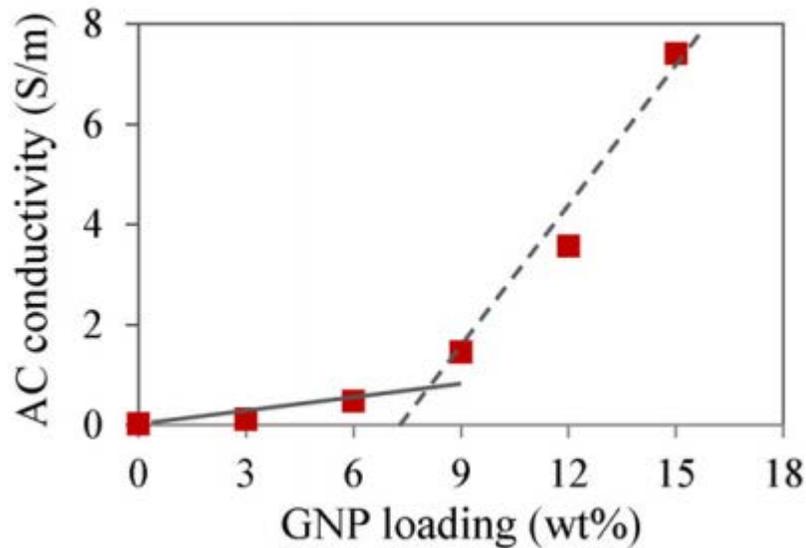


Figura 13: Conductividad eléctrica v/s contenido en peso de nanoplaqueta de grafeno (GNP) en compósitos de PLA/GNP [134].

2.5. BIOAPLICACIONES DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

2.5.1 Estimulación eléctrica

Las propiedades eléctricas son un importante asunto en la interacción celular, ya que la conducción permite el intercambio de señales eléctricas entre las células en muchos tipos de tejidos. Por ello, vía estimulación eléctrica, es posible modular la actividad celular, lo que incluye la adhesión, migración, síntesis de ADN y secreción de proteínas [135, 136].

Por ejemplo, la conducción eléctrica en el sistema cardiaco es esencial para mantener los latidos sincronizados que bombean sangre de forma ordenada [137, 138]. O en el sistema nervioso, que posee un bien conocido sistema de señales electroquímicas. En la fabricación de scaffolds, los biomateriales conductores han sido estudiados para entender de qué forma afectan a los campos bioeléctricos en células y tejidos para replicar la electrofisiología natural [139].

Supronowicz et al. [140] estudiaron el efecto de la estimulación eléctrica en nanocompósitos de PLA y nanotubos de carbono. Cultivaron osteoblastos en la superficie del material, y lo sometieron a una estimulación de 10 μ A a 10 Hz por 6 horas al día por varios días. Los resultados arrojaron un incremento de casi un 50% de proliferación celular después de dos días, y más de 4 veces de aumento de la concentración de calcio extra celular después de 21 días. Estos resultados muestran que una estimulación eléctrica en matrices conductoras fomenta las funciones de los osteoblastos que son responsables de la composición orgánica e inorgánica del hueso. Similar resultado se obtuvo en la investigación de Mata et al. [141], donde se encontró que la actividad metabólica de los osteoblastos humanos aumentó un 130% utilizando compósitos de nanotubos de carbono, hidroxiapatita y vidrio (CNT/HA/Glass) con estimulación eléctrica, comparada con la situación no estimulada.

Por otro lado, Hu et al. [142] estudiaron la estimulación eléctrica en películas conductoras de polipirrol. Obtuvieron que la mineralización se fomentaba sin necesidad de aplicar la estimulación. Cuando se aplicó el tratamiento eléctrico, se obtuvo una mayor promoción, encontrando un óptimo de 0.35 V/cm por 4 horas. Este resultado muestra que el material por sí mismo puede promover la proliferación celular, y al aplicar una estimulación eléctrica, ésta se aumenta. Sin embargo, también indica que existe un óptimo en este valor, por lo que es necesario realizar estudios variando el voltaje y la intensidad de la estimulación.

Además, se ha estudiado el efecto de campos eléctricos y la respuesta como contracciones sincronizadas de cardiomiocitos cultivados en scaffolds de colágeno. Se obtuvo que en solo 8 días se expresó la diferenciación cardiaca y una contracción sincronizada a la estimulación eléctrica [137]. Este resultado demuestra la importancia del tratamiento eléctrico del cultivo en el scaffold, permitiendo la diferenciación de las células cardiacas y el fomento a las contracciones que se producen en el corazón.

2.5.2 Propiedad antibacteriana

Otra característica importante es inhibir o matar bacterias a través de la conductividad eléctrica en superficies. Por ello, se han realizado numerosos estudios sometiendo a diferentes cepas bacterianas en solución a corrientes eléctricas de baja intensidad. Uno de

ellos, realizado por el grupo de Obermeier, establece que someter a diferentes campos eléctricos y electromagnéticos a un medio con *Staphylococcus aureus* reduce la concentración de la bacteria en solución cerca de un 40% [143]. Similares resultados obtenidos por la investigación realizada por del Pozo et al. [144], que muestra una reducción importante en el número de bacterias viables en biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Además, se observó una dependencia del tiempo y de la dosis de densidad eléctrica aplicada. Los autores bautizan esta propiedad como “*electricidal effect*”.

Por otro lado, el grupo de Schmidt-Malan probó diferentes superficies (acero inoxidable, grafito, titanio y platino) con diferentes tipos de bacterias (33 cepas de 13 microorganismos distintos) encontrando que la utilización de corriente eléctrica de bajo amperaje (200-2000 μA) disminuye las bacterias viables en los biofilms [145]. Asimismo, se ha estudiado que los agentes bactericidas pueden aumentar su efecto si se utilizan en conjunto con corriente eléctrica de baja intensidad [146, 147].

Finalmente, también se ha estudiado el efecto de la corriente en agar nutritivo, obteniéndose un halo de inhibición alrededor del cátodo cuando se hace pasar una corriente de 10 μA por 16 horas [148].

El mecanismo de la actividad antibacteriana de la corriente eléctrica se debe a diversas situaciones, entre las cuales están la producción de sustancias tóxicas (H_2O_2 , radicales oxidativos y moléculas cloradas) a raíz de electrólisis, la oxidación de enzimas, daño a la membrana y disminución de la velocidad de respiración celular [144, 148].

Sin embargo, los polímeros conductores no han sido estudiados como materiales base para propiedad antibacteriana con conducción eléctrica. No obstante, los biopolímeros conductores tienen extensas aplicaciones, tales como biosensores, herramientas de microcirugía o en conductores para la reparación de nervios y otros tejidos, tales como cardíaco, pulmonar, dérmico, etc. [149]. Así, es deseable impartir conductividad eléctrica a polímeros biocompatibles y biodegradables, como el PLA.

2.5.3 Percolación eléctrica

El concepto de percolación es aplicable a muchos y diferentes tipos de sistemas heterogéneos. Está relacionado a una transición que experimenta el material cuando se modifican la estructura y distribución espacial a los elementos que constituyen el sistema. Considérese la Figura 14 como un sistema que puede aplicarse a materiales compuestos, donde el enrejado representa la matriz polimérica y los sitios o nodos son las cargas del material compuesto. Supongamos que estos sitios pueden estar conectados mediante un enlace al que se le asocia una resistencia eléctrica ya que son sitios que poseen una conductividad eléctrica considerable. Este enlace está presente siempre y cuando existan dos sitios contiguos ocupados por una carga. Aplicando las propiedades eléctricas a este sistema de enrejado los sitios ocupados y contiguos podrán generar una vía de conducción de electrones desde un extremo a otro siempre y cuando exista un camino posible asociado a sucesivas resistencias. Se dirá que un sistema se encuentra percolado cuando existe un camino posible de un extremo a otro del enrejado para poder generar el transporte de alguna propiedad en cuestión. Este genera un cambio no lineal en las propiedades del material heterogéneo. En el caso de un material compuesto de una matriz aislante cargado

con nanopartículas conductoras, las nanopartículas son las encargadas de conducir electrones para que finalmente el material aumente en varios órdenes de magnitud su conductividad eléctrica [150, 151].

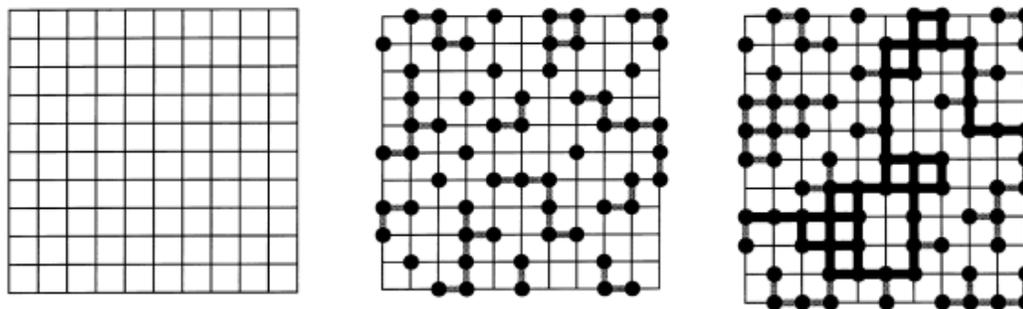


Figura 14: Representación esquemática del concepto de percolación eléctrica. En la figura de la izquierda el enrejado está sin sitios activos, al medio con un 50% de sitios activos, y a la derecha con un 67% de sitios activos, donde se observa el camino existente desde un extremo a otro.

Garzón et al. [63] investigaron la incorporación de grafito, nanotubos de carbono (CNT) y TrGO en una matriz polimérica de polipropileno (PP), obteniendo que el punto de percolación eléctrica más bajo fue obtenido para los CNT (menos de 2% en volumen), mientras que para el TrGO y G se obtuvo alrededor del 3% y 13% en volumen, respectivamente. Además, por sobre el 10% de contenido no se aprecia un aumento considerable de la conductividad.

También se ha investigado agregar TrGO a una matriz de poliuretano, obteniéndose una percolación a solo un 0,5% en peso de contenido de TrGO, logrando disminuir la resistencia superficial del compuesto de 10^{11} a 10^3 [Ohm] a un contenido de 1,5% [107].

Varios otros polímeros han sido utilizados con TrGO o grafeno para aumentar sus propiedades conductoras, tales como el poliestireno, nafión, polivinil alcohol, polietileno, entre otros, extensamente revisados por los grupos de Khanam [105] y Ammar [106].

CAPÍTULO III. OBJETIVOS

- **General**
 - Estudiar el efecto de agregar derivados del grafito en una matriz de ácido poliláctico sobre las propiedades eléctricas, mecánicas, citotoxicidad y antimicrobianas.

- **Específicos**
 - Modificar grafito para obtener óxido de grafeno (GO) y óxido de grafeno térmicamente reducido (TrGO) y desarrollar nanocompuestos de ácido poliláctico y estas nanopartículas.
 - Analizar las propiedades eléctricas, mecánicas, citotóxicas y antibacteriales de los nanocompuestos.
 - Determinar el efecto de la electricidad en la propiedad antibacterial de los compuestos.

CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1. MATERIALES

La matriz polimérica utilizada fue un filamento de ácido poliláctico (PLA) de grado comercial para impresión 3D de color gris, obtenido de la empresa MCI Ltda. Este material tiene una densidad de 1,24 [g/cm³], un punto de fusión de 160°C y un valor MFI de 15 [g/10 min] [152].

El polvo de grafito extra puro (tamaño de partícula menor a 50 micrones), el ácido sulfúrico (H₂SO₄) con pureza del 98,08%, el permanganato de potasio (KMnO₄) con pureza del 99%, ácido clorhídrico (HCl) en concentración 32% y el nitrato de sodio (NaNO₃) con pureza del 99,5% fueron obtenidos de la empresa Merck (Alemania).

El peróxido de hidrógeno (H₂O₂) se compró a Kadus S.A.

3.2. METODOLOGÍA

La metodología utilizada para este trabajo se divide en tres partes básicas:

1. Producción y caracterización de óxido de grafito (GO) y óxido de grafeno térmicamente reducido (TrGO).
2. Preparación y caracterización de nanocompuestos PLA/GO y PLA/TrGO.
3. Ensayos biológicos en nanocompuestos de PLA/GO y PLA/TrGO.

3.2.1. Producción de GO y TrGO

En esta parte se contempla la modificación del grafito (G) mediante el proceso de oxidación en solución utilizando el método de Hummers modificado, seguido de un tratamiento térmico de reducción a alta temperatura.

a) MODIFICACIÓN DEL GRAFITO

Se empleó el proceso de oxidación en solución de Hummers y Offeman para oxidar el grafito [153]. El primer paso, es una oxidación del grafito con KMnO₄ y NaNO₃ en ácido sulfúrico concentrado. Esta oxidación se realiza usando 250 ml de H₂SO₄ concentrado por 10 g de grafito como medio de dispersión. A la dispersión agitada se le adiciona 5 g de NaNO₃ y 30 min después de agitación es enfriada a 0 °C usando un baño frío. Después 30 g de KMnO₄ es adicionado durante 4 h. Cuando la adición es completada, la dispersión resultante es agitada a temperatura ambiente por 1.5 h. La reacción es terminada vertiendo la dispersión dentro de 0.5 L de agua y adicionando 450 ml de H₂O₂ (5% peso) hasta que el exceso de KMnO₄ es destruido. El GO se separó por filtración y se lavó con HCl acuoso y subsecuentemente fue lavado con agua. El GO purificado fue secado en vacío a 110 °C durante 10 h. En el segundo paso, el GO seco fue térmicamente reducido (para

proporcionar TrGO) en atmósfera de nitrógeno mediante un rápido calentamiento del GO a ~600 °C durante 40 s usando un reactor de cuarzo calentado en un horno de tubo vertical. El TrGO fue obtenido como un polvo negro de muy baja densidad bulk. El choque térmico es el principal requerimiento para lograr la exfoliación del GO.

b) CARACTERIZACIÓN

i) Difracción de Rayos X (XRD)

La difracción de rayos x (XRD, por sus siglas en inglés), se realiza en un difractómetro Siemens D-5000 con un sistema de difracción con detector de centelleo y geometría Bragg-Brentano que funciona con una fuente de radiación de $\text{CuK}\alpha_1$ filtrada con un monocromador de grafito ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) a 40 kV y 30 mA en el rango 2θ de 2-80° a una tasa de barrido de 0,02°/s.

3.2.2. Nanocompuestos de PLA/GO y PLA/TrGO

Durante esta fase experimental se realiza la preparación de nanocompuestos de PLA/TrGO, mediante mezclado en fundido. En esta etapa se tuvo como objetivo evaluar el efecto de la modificación del grafito sobre el comportamiento eléctrico y mecánico de los compuestos de PLA. Para tal efecto esta etapa contempló las siguientes actividades y su correspondiente procedimiento experimental.

a) PREPARACIÓN DE NANOCOMPÓSITOS

Tanto el PLA como el GO y TrGO fueron secados en una cámara de vacío a 60° C por 24 horas antes de realizar el mezclado. Los nanocompuestos de PLA/GO y PLA/TrGO se preparan mediante mezclado en fundido en un mezclador discontinuo Brabender Plasti-Corder (Brabender-Germany) de doble tornillo (capacidad 40 cm³) a 190°C y 110 rpm. La concentración de rellenos varió de 0 a 5% en peso de GO y de 0 a 10% en peso de TrGO para los nanocompuestos de PLA/GO y PLA/TrGO, respectivamente. Primero, aproximadamente un tercio de polímero (13 [g]) es adicionado al mezclador (operado a 20 rpm). Luego se adicionan aproximadamente 2 gramos de GO o TrGO, según corresponda. Estos pasos se repiten e intercalan durante todo el proceso de ingreso, por aproximadamente 4 minutos. La velocidad de mezclado se aumentó a 110 rpm por 10 minutos más, proporcionando un tiempo total de mezclado de 14 minutos.

Luego se realiza un prensado de las muestras en fundido usando una prensa hidráulica HP (con sistema de calentamiento, modelo D-50, y sistema de enfriamiento por agua) a 5000 kPa y 190°C durante 3 minutos, para obtener placas de los materiales nanocompuestos.

b) CARACTERIZACIÓN

i) Conductividad Eléctrica

Se utilizó el método de dos puntos estándar para realizar las mediciones de resistividad eléctrica, usando diferentes megómetros (Megger BM11 con voltaje máximo de 1200 V, y AEMC 1060 con un voltaje máximo de 5000 V) (Unidad de Ensayos Eléctricos, Sección Especialidades, División de Inspección de Obras-IDIEM) de acuerdo a la conductividad de las muestras. Para cada valor de conductividad, se preparan por lo menos cuatro muestras. Para estas pruebas, se utilizan probetas de 40x16 mm² y 1 mm de espesor.

ii) Propiedades Mecánicas (análisis de tracción)

Las propiedades mecánicas a tracción son medidas en un dinamómetro HP D500 según la norma ASTM D638, a una tasa de desplazamiento de 50 mm/min a 23 ± 2 °C. Las muestras son probetas del tipo I según norma, con 1 mm de espesor. Los ensayos fueron realizados en el Laboratorio de Polímeros de la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas (FCFM) de la Universidad de Chile.

iii) Citotoxicología in vitro

La citocompatibilidad de los compósitos fue evaluada por el ensayo MTT (3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), basado en la norma ISO 10993-5:2009 (Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity). Los ensayos fueron realizados en el Centro de Investigación Clínica y Estudios Farmacológicos (CICEF) de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Se utilizó la línea celular osteosarcoma humano (SaOS-2). El cultivo se realizó a una temperatura de 37°C en una atmósfera humidificada con 5% CO y 95% aire; a 24 horas. Se utilizaron 6 muestras por cada material tratado, y cada ensayo fue realizado 3 veces, independientes uno del otro. Las células cultivadas en un medio de DMEM/F12 en el material de la placa de 96 pocillos fueron utilizadas como blancos.

iv) Microbiología

La actividad antibacterial de los nanocompósitos de PLA/GO y PLA/TrGO fue medida de acuerdo al estándar internacional ISO 22196:2007 (Plastics — Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces) en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Escherichia coli (ATCC 25922) y Staphylococcus aureus (ATCC 25923), fueron utilizadas para el estudio como bacterias Gram-negativa y Gram-positiva, respectivamente. Las muestras fueron cortadas en cuadrados de lado de 50 ± 2 [mm]. El cultivo se realizó a una temperatura de 37°C a aproximadamente 90% de humedad relativa durante 24 horas. Se utilizaron 3 muestras por cada material tratado, y el ensayo se realizó dos veces con cultivos diferentes.

Para las placas que requieren conductividad eléctrica se utiliza una configuración que consiste en 6 baterías de 9 V conectadas en serie entre sí, y conectadas a la placa cuadrada de lado de 50 ± 2 [mm]. Este arreglo se deja de la misma forma que las demás placas, es decir, durante 24 horas a 37°C a un 90% de humedad relativa.

La fórmula utilizada para el cálculo de la propiedad antibacterial en forma de porcentaje fue la siguiente:

$$R(\%) = \frac{N_0 - N}{N_0} \times 100 \quad (1)$$

Siendo R la propiedad antibacterial en porcentaje, N_0 y N son el número de células viables obtenidas por el método de conteo de la muestra a 24 horas de contacto del PLA puro y de los compósitos a estudiar, respectivamente.

CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 DERIVADOS DEL GRAFENO

5.1.1 Modificación del grafito

El grafito fue tratado mediante un proceso de oxidación con el objetivo de obtener GO, el cual fue a su vez reducido mediante un tratamiento térmico de choque, produciendo TrGO. Este tratamiento produce una expansión del polvo, generada por la creciente presión de CO₂ formado en el proceso (debido a la descomposición de los grupos epóxido e hidroxilo del GO), la que es más mayor a las fuerzas de Van der Waals entre las hojas de grafeno [102,4].

El patrón de difracción para el grafito, GO y TrGO se presenta en la Figura 15. Observando la curva correspondiente al grafito, se nota un pico agudo en $2\theta=26,5^\circ$, lo que corresponde a una distancia interlaminar de 3,38 Å. Esto da cuenta de que la estructura de esta sustancia es cristalina. Después del proceso de oxidación, el pico se reduce significativamente y cambia a $2\theta=10,98^\circ$, lo que aumenta el espacio entre cada lámina a 8,1 Å. Este aumento se debe a la presencia de grupos funcionales que contienen oxígeno (tales como hidroxilos y carboxilos, entre otros) [154,155]. Para el TrGO no se observa ningún pico.

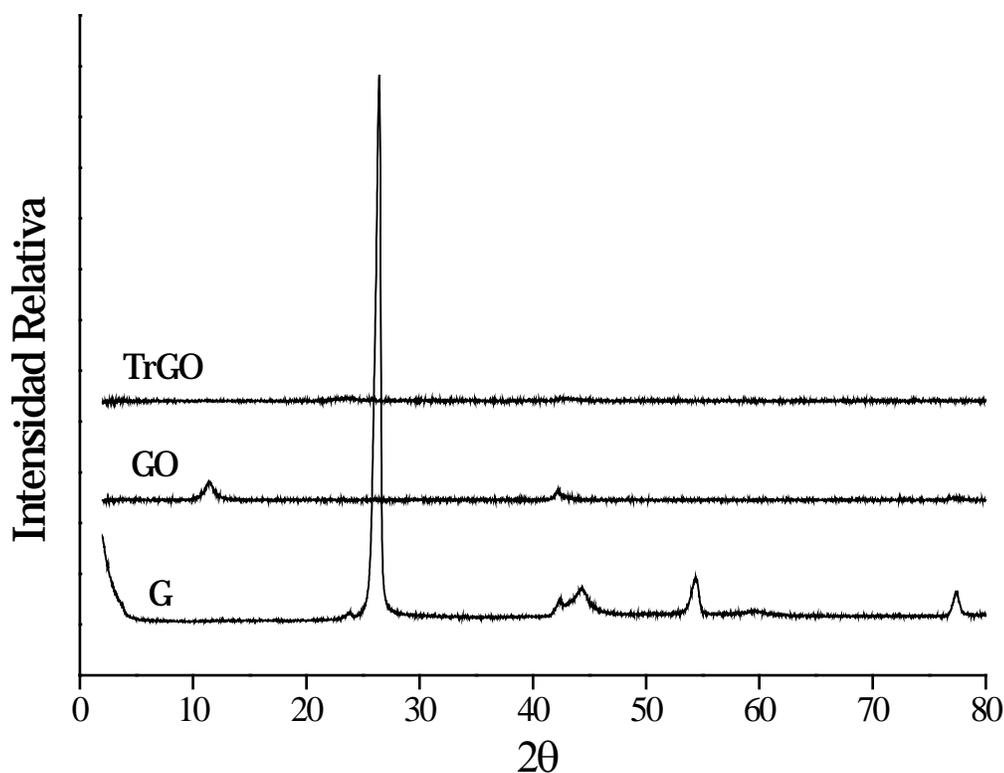


Figura 15: Patrones de difracción de rayos X (DRX) para el G, GO y TrGO.

5.2 COMPÓSITOS PLA CON DERIVADOS DEL GRAFENO

5.2.1 Propiedad antibacterial

Las infecciones son unos de los graves problemas al momento de usar materiales en aparatos implantables o en contacto con sistemas biológicos [15]. La adhesión bacteriana a la superficie de los biomateriales es el paso esencial para el inicio de estas infecciones. Sin embargo, el mecanismo de acción de las interacciones moleculares y físicas que gobiernan la adhesión siguen sin ser entendidas en detalle [156].

En esta investigación se realizó un estudio de propiedad antibacterial para verificar la eficacia de los materiales desarrollados, a través del ensayo de contacto directo descrito en la parte de metodología, cuyos resultados se muestran en la Tabla 2 (ver fotografías en ANEXO D).

Tabla 2: Propiedad antibacterial (%) y CFU/ml de los compósitos de PLA con GO y TrGO a las concentraciones (en peso) indicadas. (PLA se usó como control; e-: compósito sometido a conductividad eléctrica).

Material	E. coli		S. aureus			
	R (%)	CFU/ml	R (%)	CFU/ml		
PLA	-	-	8,82 * 10 ⁷	-	-	8,09 * 10 ⁷
5% TrGO	13,8	±8	7,60 * 10 ⁷	0,0	±6	8,62 * 10 ⁷
10% TrGO	44,9	±11	4,34 * 10 ⁷	35,5	±3	5,22 * 10 ⁷
10% TrGO e-	100,0	±0	9,63 * 10 ¹	100,0	±0	3,93 * 10 ⁴
3% GO	3,1	±3	8,55 * 10 ⁷	1,8	±3	7,95 * 10 ⁷
5% GO	100,0	±0	3,13 * 10 ¹	100,0	±0	3,88 * 10 ¹

Como se observa, tanto los compósitos con 5% en peso de TrGO y 3% en peso de GO mostraron nula actividad antimicrobiana. En contraste, los materiales con concentraciones de 10% en peso de TrGO y 5% de GO mostraron actividad significativa. Además, no se logra apreciar ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las dos bacterias frente a un mismo compósito, por lo que los mecanismos de acción antibacterial son válidos para ambas.

Particularmente, el compósito de PLA/5%GO mostró un buen comportamiento antibacterial, inhibiendo el 100% de ambas bacterias estudiadas. El comportamiento de esta nanopartícula se condice con lo estudiado por Huang et al. [123] y An et al. [124]. Sin embargo, existen diferencias respecto a las concentraciones de los rellenos. Por un lado, el equipo de Huang elabora compuestos al 0,2% en peso de GO/ZnO en una matriz de PLA, lo cual es una cantidad bastante menor a la investigada en este estudio. Sin embargo, esta característica antibacterial generada a bajas concentraciones de GO es producida por un efecto sinérgico entre el ZnO y el GO, tal como explican los autores, además del estudio

de Wuang et al. [158]. Por otro lado, el grupo de An desarrolla materiales de PLA y poliuretano (PU) con GO, obteniendo eficacia antibacterial del 100% para contenidos en peso de GO del 3% y 5%, para ambas bacterias (*E. coli* y *S. aureus*). La diferencia con esta investigación se puede deber a la mejor dispersión del GO en la matriz de PLA, potenciada por el PU o por el método utilizado para el desarrollo de los compuestos (mezclado en solución, mientras que en esta investigación se usó mezclado en fundido), razón por la cual en el presente estudio se obtienen características antibacteriales solo para el compuesto con 5% de GO.

Por otro lado, los mecanismos de acción para lograr una inhibición en el crecimiento bacteriano por medio del GO y del TrGO son variados [157]. Uno de los más estudiados es el de interacción cortante [92-94], que se basa en el corte de la membrana citoplasmática de las bacterias, que en la superficie se puede producir por bordes parcialmente expuestos de los nanorrellenos, tal como Pinto et al. verifican [127]. Otro mecanismo es la producción de moléculas oxidativas, que producen un estrés sobre las bacterias [91, 95, 97], generando interrupciones en la membrana que producen la muerte.

Sin embargo, la propiedad antibacterial lograda para los compuestos con GO se explica, además de lo anterior, mediante el aumento de la hidrofiliidad al agregar el relleno a la matriz de PLA [127, 128]. Esto, a la vez que crea una superficie adecuada para la proliferación de células (como fue explicado en el apartado anterior), inhibe en cierta medida la adhesión de las bacterias, pues éstas muestran mejor afinidad con superficies hidrofóbicas [156, 159-162]. Es más, cuando la superficie del material presenta un comportamiento anfifílico el efecto antimicrobiano se potencia [163-165]. Según lo reportado por la investigación realizada por el grupo de Pinto [127], la incorporación del GO como relleno en la matriz de PLA hace que la superficie del material presente dicha dualidad, teniendo tanto un comportamiento hidrofílico como hidrofóbico. Este mejoramiento en la propiedad antibacterial ha sido observado por numerosos estudios [166-170], donde se han desarrollado materiales con características anfifílicas que sean antibacterianos y, a la vez, no sean tóxicos para las células. El mecanismo de acción para estas superficies se inicia con una favorable unión a la superficie anfifílica, seguido de una interrupción de membrana citoplasmática, creando una diferencia de presión entre el interior y el exterior de la bicapa en la pared celular, lo que resulta en la formación de agujeros debido a un reordenamiento de la membrana [96, 163, 164].

Como se vio en la parte de conductividad eléctrica de esta investigación, el compuesto de PLA/5%TrGO (en peso) no está percolado, mientras que el de PLA/10%TrGO sí lo está. De esta forma, para los compósitos con TrGO que no son sometidos a un flujo eléctrico, si bien se cumplen los mecanismos de corte y de estrés oxidativo, también se agrega uno distinto. Debido a las moléculas de ácido teicoico presentes en la pared celular de las bacterias Gram-positivas, a los lipopolisacáridos y fosfolípidos de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas y a la composición de una bicapa de fosfolípidos de la membrana citoplasmática, las bacterias se rodean de una carga neta negativa [164, 165]. Además, en la respiración celular, se requieren aceptores de electrones extracelulares, que forman parte de la cadena respiratoria para generar energía [171]. Así, el TrGO, a través de los caminos percolados en la matriz, actúa como un aceptor de electrones, llevándolos lejos de la membrana de las bacterias [172]. Esto interrumpe la cadena de transferencia de electrones en la respiración celular, lo que desencadena la muerte de las bacterias. Esto explicaría que el PLA/5%TrGO no muestre actividad antibacterial, mientras que el compuesto con 10%TrGO sí.

En contraste con los compósitos con GO, el mecanismo de acción de transferencia de electrones en los compuestos percolados con TrGO tiene un menor impacto, lo cual se ve reflejado en los porcentajes de propiedad antibacteriana obtenidos (100% para PLA/5%GO versus ~40% para PLA/10%TrGO, en ambos tipos de bacterias).

Para el compósito sometido a un flujo de corriente eléctrica (a través de pilas en serie; ver sección de metodología), simbolizado por “e-“ en la Tabla 2, se observa que el efecto de transporte electrónico se ve potenciado, en concordancia con lo que se obtuvo en diferentes estudios anteriores [143-147]. Se propone como mecanismo que el flujo de corriente deslocaliza los electrones de la cadena de respiración celular, logrando un efecto inhibitorio producto de un efecto electrostático, que inmoviliza a la bacteria y no le permite sobrevivir [145, 147]. Así, se obtiene que el compósito de PLA/10%TrGOe- (compósito con corriente eléctrica) logra fortalecer la transferencia de electrones de mejor manera, mostrando un 100% de efectividad antibacteriana versus el ~40% obtenido para el sistema sin flujo eléctrico, para ambas bacterias.

5.2.2 Toxicidad

El ensayo MTT es un método para evaluar la citotoxicidad a partir del número de células vivas y la capacidad metabólica de las mismas [173]. Así, esta técnica fue utilizada para evaluar la biocompatibilidad de los compósitos de PLA con GO y TrGO con células SaOS-2, cuyos resultados se muestran en la Figura 16. Comparados con el control, se puede observar que el PLA sin ningún relleno presenta el menor valor de viabilidad celular, llegando al valor límite del 70%, que es considerado tóxico para las células [173, 174]. Este mismo resultado se obtiene para los compósitos con TrGO a concentraciones mayores a 3% en peso. En contraste, agregar un contenido bajo de GO (0,5%) aumenta significativamente la citocompatibilidad ($p < 0,05$), manteniéndose en valores cercanos al del control a valores elevados de relleno (5% en peso).

Como antecedente, se tiene que la proliferación celular requiere la promoción de la adhesión de vitronectina y la reorganización de la fibronectina adsorbida en la superficie, que es la proteína presente en la matriz extracelular (ECM) de las células [127, 175]. Esto ocurre de mejor manera en superficies hidrofílicas que en hidrofóbicas [127]. Además, el PLA prístino posee cierta hidrofobicidad, al igual que los compósitos con TrGO o grafeno [174]. De esta forma, las proteínas presentes en la ECM de las células no logran adherirse de buena manera a la superficie, lo que no permite la adhesión ni la proliferación celular. Sin embargo, según lo reportado por diversos estudios [127, 176-178], es posible que ello solo retrase la adhesión de las células, pues en análisis de citocompatibilidad a mayor tiempo (3 a 4 días) realizados por las investigaciones citadas se obtiene que el polímero puro y los compósitos con GNPs o TrGO se acercan a los valores de viabilidad del control y de los compósitos con GO, tanto para una matriz de PLA [127, 176, 178] como para otros polímeros [177, 117].

Interesantemente, para el compósito con 1% de TrGO se observa un incremento en la viabilidad celular en comparación con el PLA puro y los compósitos con porcentaje mayor a 3% de TrGO, llegando a niveles similares a los compósitos con GO. Esto se explica pues el agregar los rellenos de TrGO se genera una superficie más rugosa, tal como verificó el equipo de Pinto [127]. De esta forma, y considerando como antecedente que la rugosidad de la superficie afecta la adhesión celular [125] promoviendo su proliferación [177], se

tiene que la superficie lograda en el compuesto de PLA con 1%TrGO es adecuada para el crecimiento celular. Para mayor porcentaje de TrGO, es posible que, si bien la superficie se vuelve más rugosa [127], la hidrofobicidad que adquiere la superficie genere rechazo para la adhesión de las proteínas y el efecto de la rugosidad sea anulado.

Por otro lado, al agregar GO a la matriz polimérica se observa un aumento en la hidrofiliidad del compuesto, debido a que esta partícula posee intrínsecamente esta propiedad. De esta forma, se crea una adecuada superficie que permite mejorar la absorción de proteínas y la adhesión celular [127, 128].

Esta tendencia obtenida se observa también en estudios anteriores realizados. En matrices de PLA, el equipo de Yoon [126] investigó la proliferación celular en nanofibras de compósitos de PLGA con concentraciones de GO de 1% y 2% en peso, obteniendo que la viabilidad en los nanocompósitos de PLGA con 2% de GO era aproximadamente 8% mayor que la del PLGA y la del PLGA/1%GO. Similar resultado fue el conseguido por Pinto et al. [127], donde se obtuvo que los compósitos de PLA/GO tenían una adhesión y proliferación de los fibroblastos significativamente mayor (17%) que el PLA sin tratar. Además, los compuestos con GNP no muestran una variación de la proliferación y la adhesión, por lo que la presencia de esta partícula no afecta la viabilidad celular. Además, estos resultados se obtienen en otras matrices poliméricas, tales como en PLA con policloruro de vinilo (PVC) [116], en polietileno de ultra alta densidad (UHMWPE) [114], en polifluoruro de vinilideno (PVDF) [177] o en quitosan [115].

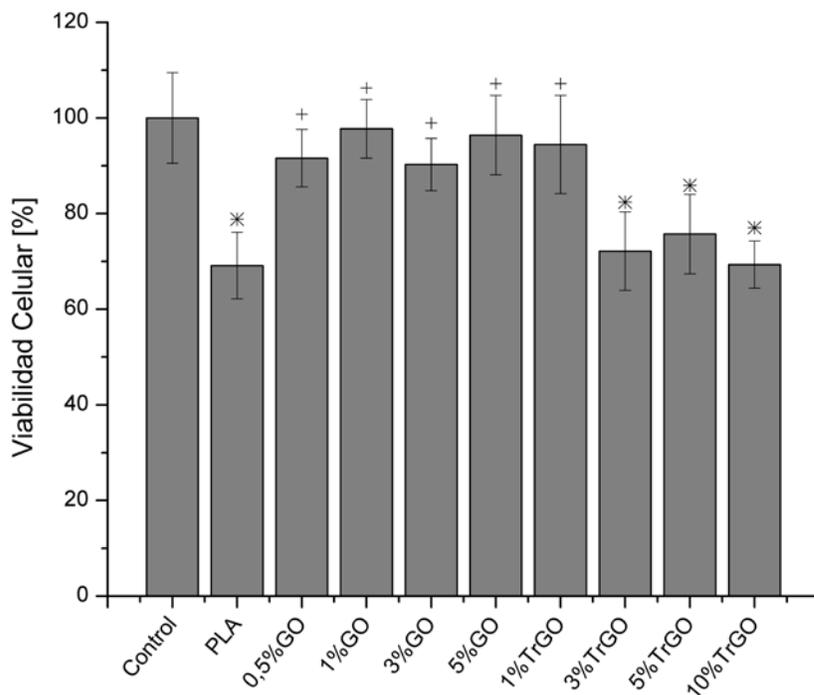


Figura 16: Citocompatibilidad a 24 horas de células SaOS-2 para compósitos de PLA/GO y PLA/TrGO respecto al control (n=6; *Diferencia estadísticamente significativa entre los test y el control. +Diferencia estadísticamente significativa entre los test y el PLA; p<0,05).

5.2.3 Propiedades mecánicas

El secado de los materiales antes del mezclado en fundido explicado en la parte de metodología experimental es importante para lograr un material que sea mecánicamente manejable, es decir, que pueda ser moldeado y transportado sin sufrir fractura.

Esto se hace particularmente importante cuando se trata del GO, ya que la alta humedad que adquiere desde el ambiente producto de los grupos hidroxilos que abundan en su estructura [87] es transferida al PLA, el cual se degrada al estar expuesto a esas condiciones. Aquello se acentúa cuando el método utilizado para mezclar los dos materiales es en fundido, ya que la alta temperatura del procedimiento, sumado a la humedad que rodea al polímero genera un ambiente ideal para la degradación del PLA [19, 20].

Los resultados comparativos entre la situación sin secado y con secado de los materiales se aprecian en la Figura 17. Se observa que el no secar los materiales antes de su procesamiento genera compuestos muy frágiles que se fracturan al tacto, resultando en materiales que son inservibles desde el punto de vista de la ingeniería. Al secar los constituyentes del compuesto, se logra desarrollar compuestos que responden a las necesidades de manipulación.

No obstante, y producto de la estructura llena de grupos funcionales del GO [77, 87] la mezcla de PLA con concentraciones más allá de 5% en peso de GO genera materiales muy frágiles, aún con un intensivo secado de los materiales (48 horas de secado en vacío).

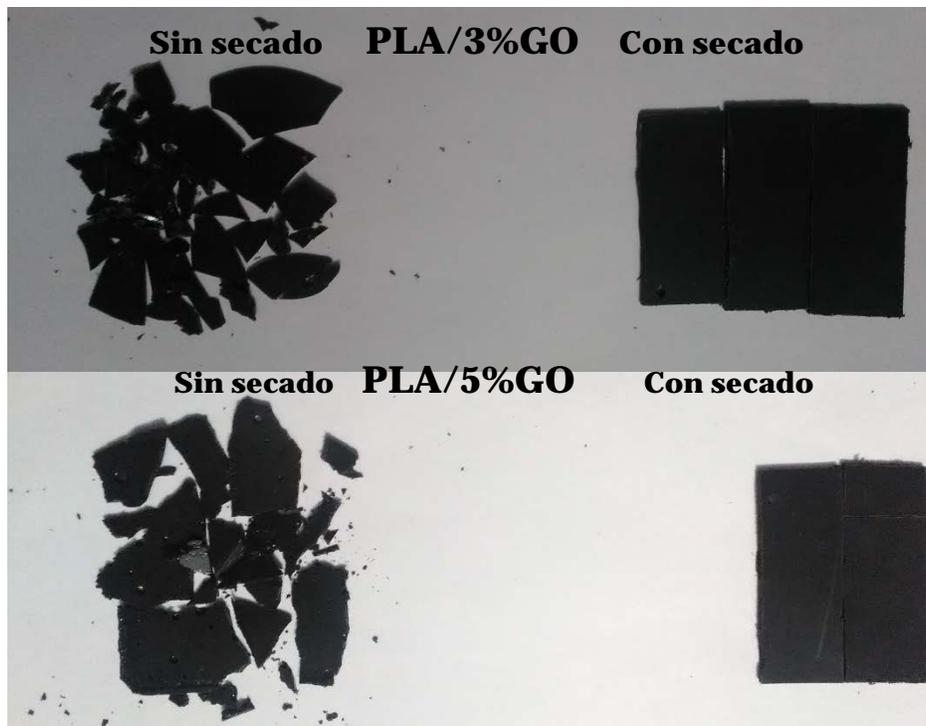


Figura 17: Comparación entre compósitos de PLA/GO a distintas concentraciones y los efectos del secado de los materiales antes del mezclado en fundido.

Por otra parte, los rellenos a base de carbono, y particularmente el grafeno, son una prometedora alternativa para el refuerzo de nanocompuestos de matrices poliméricas [110, 112, 179], ya que las altas propiedades mecánicas de estos rellenos pueden ser transferidos parcialmente a la matriz.

La Figura 18 muestra la variación del módulo de elasticidad de los compósitos respecto del contenido de relleno en peso, mientras que la Figura 19 grafica la variación de la elongación a la rotura respecto del contenido de la carga. Las curvas de esfuerzo versus deformación obtenidas se usaron para obtener los gráficos anteriores [ANEXO A]. La principal observación que se puede realizar es que el comportamiento mecánico depende fuertemente tanto del tipo de relleno utilizado como de la concentración de estos.

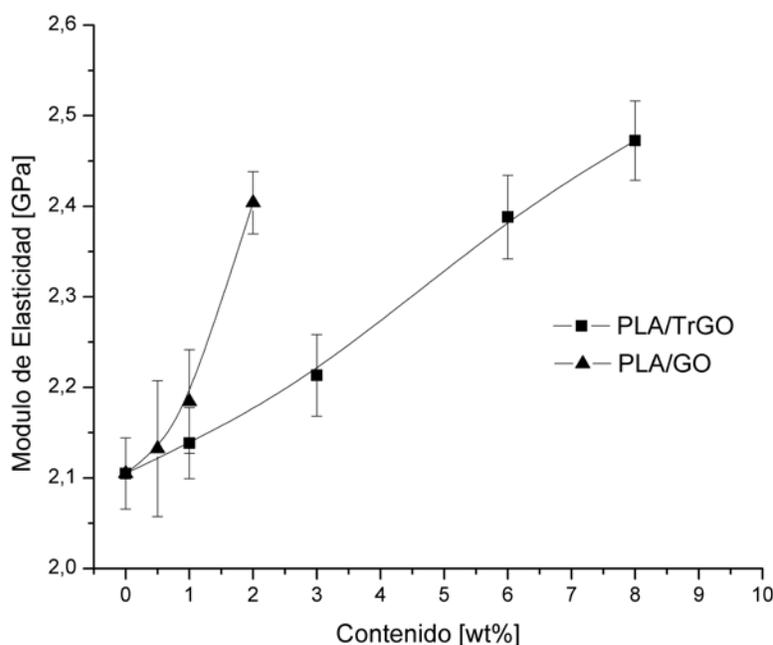


Figura 18: Módulo de elasticidad del PLA a distintas concentraciones en peso de GO y TrGO.

Particularmente, el módulo de elasticidad o de Young incrementa con el aumento del contenido de GO y de TrGO. Este resultado es consistente por lo obtenido por otros autores, ya que se observa el mismo comportamiento utilizando grafito exfoliado en PLA [109], al agregar nanoláminas de grafeno a una matriz de alcohol polivinilo (PVA) [112] y de polipropileno (PP) [63] o al utilizar GO como relleno en compuestos con polisulfona (PSf), con poliimidaz (PI), óxido de polietileno (PEO) y quitosan (CS) [106].

Para el TrGO el módulo de elasticidad aumenta cerca de 18%, mientras que la elongación disminuye más de un 40%, a una concentración de 8% en peso. Para el GO el comportamiento es distinto, pues se observa un crecimiento mayor que el TrGO a baja concentración de relleno, logrando obtener un aumento de un 14% solo a una concentración de 2% de peso de GO. Además, la elongación a la rotura disminuye considerablemente, cerca de un 36% respecto al PLA, a una concentración de 0,5%. Sin

embargo, en concentraciones mayores se logra un aumento en la elongación, lo que puede deberse a una mejor dispersión del relleno dentro de la matriz polimérica [106, 180].

Para ambos rellenos, si bien se sigue la tendencia esperada, no se logran los valores encontrados por otros autores. Particularmente, en el estudio de Kim et al. [109] se obtiene un aumento de más de un 40% en el módulo de elasticidad a un 7% en peso de TrGO, más del doble de lo conseguido en la presente investigación. Otros autores obtienen incluso mejores resultados a menores concentraciones [130, 131] para el GO en una matriz de PLA. Esto se debe principalmente a la pobre dispersión lograda de los rellenos en la matriz polimérica, tal como se obtiene de los resultados de Wu y sus colaboradores [181] y de otros estudios [132, 133].

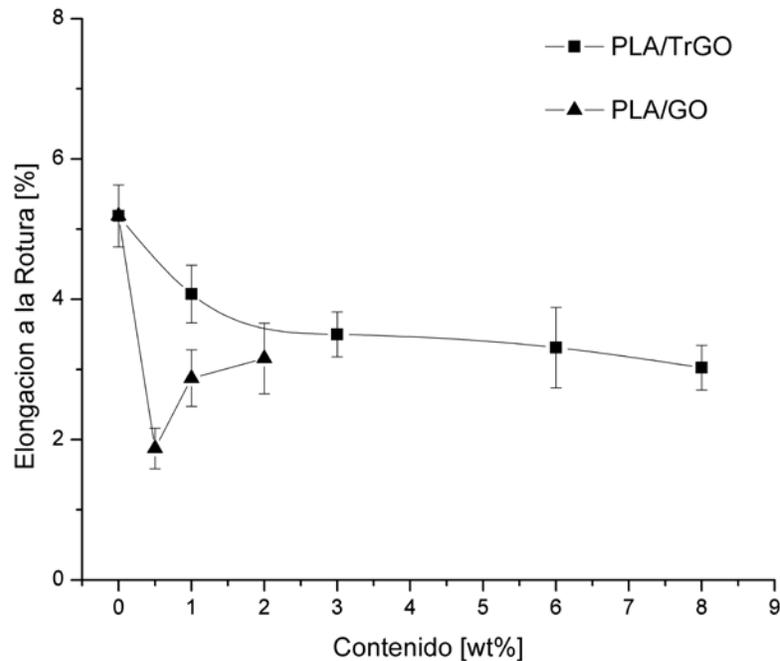


Figura 19: Elongación a la rotura del PLA a distintas concentraciones en peso de GO y TrGO.

El modelo de Halpin-Tsai se ocupa cuando existe una alta interacción entre la matriz y el relleno [182]. En este sentido, el modelo da la posibilidad de calcular el valor del módulo de Young realizando el supuesto de adherencia perfecta. El modelo consiste en las siguientes ecuaciones [183]:

$$E_C = E_m \left[\frac{3}{8} \frac{1+\xi\eta_l\nu_g}{1-\eta_l\nu_g} + \frac{5}{8} \frac{1+2\eta_t\nu_g}{1-\eta_t\nu_g} \right] \quad (2)$$

$$\eta_l = \frac{(E_g/E_m)-1}{(E_g/E_m)-\xi} \quad (3)$$

$$\eta_t = \frac{(E_g/E_m)^{-1}}{(E_g/E_m)^{-2}} \quad (4)$$

$$\xi = 2 \left(\frac{(w+l)/2}{t} \right) \quad (5)$$

donde E_g y E_m representan los módulos de Young del relleno y de la matriz, respectivamente; v_g es la fracción volumétrica de las partículas; y ξ es un parámetro que depende de la geometría y condiciones de enlace del relleno. Para el GO y el TrGO, la razón de aspecto puede ser expresado como en la ecuación (5), donde l , w , y t representan la longitud, ancho y espesor promedio de la partícula, respectivamente, usado para filamentos rectangulares [63, 183]. El módulo de Young (E) del PLA, GO y TrGO se considera como 2,1 GPa, 32 GPa y 70 GPa [63, 184], respectivamente, en el caso de partículas individuales. Los valores estadísticos promedios de l , w , y t para el TrGO y el GO utilizados (y supuestos iguales para ambas nanopartículas) son 500 [nm], 500 [nm] y 1,75 [nm] [63], respectivamente.

La Figura 20 muestra la comparación de los datos experimentales obtenidos y el modelo Halpin-Tsai para los compósitos de PLA/TrGO (a)) y PLA/GO (b)). Tanto para el TrGO como para el GO se observa que el modelo no logra ajustarse a los datos experimentales, lo que se puede deber a la baja dispersión del relleno en la matriz y/o a la formación de aglomerados, lo que hace que disminuya su razón de aspecto generando una disminución en el valor del módulo de elasticidad [63, 109, 185, 186]. De esta forma, es necesario cambiar la razón de aspecto en el modelo para encontrar el valor que se ajuste.

Los datos asumidos para ambas partículas dan una razón de aspecto de 285. Para el TrGO este valor disminuyó a 60, y su curva se presenta en la Figura 20 (a) como Halpin-Tsai ajustado. Este ajuste se debe a que es probable que las partículas presenten una baja dispersión en la matriz polimérica, generando aglomerados que impidan la transmisión de las propiedades del TrGO al PLA. De esta forma, no existe una perfecta adherencia a la matriz de PLA.

Por otro lado, para los compósitos de PLA/GO (Figura 20 b)) se observa que la razón de aspecto asumida en el modelo no logra representar a cabalidad los datos experimentales. Si se aumenta el valor, se obtiene una razón de aspecto igual a 500, lo que es casi el doble de lo asumido (Halpin-Tsai Ajustado en Figura 20 (b)). Sin embargo, este valor es bastante alto (pues supone una perfecta adhesión), lo cual se aleja de la realidad. De esta forma, es posible decir que existe un fenómeno involucrado que mejora el refuerzo otorgado por el GO al PLA. Esto puede explicarse debido a la presencia de los grupos funcionales $-OH$ en la estructura del GO, que puede formar fuertes enlaces de hidrógeno con el PLA [126, 187, 188] y otros polímeros polares, tales como el polivinil alcohol (PVA) [113], el polimetil metacrilato (PMMA) [189] o el poliuretano (PU) [107]. Este enlace produce una fuerte cohesión entre el GO y la matriz de PLA, por lo que las propiedades características del GO, en particular las mecánicas, se transfieren de mejor manera al PLA.

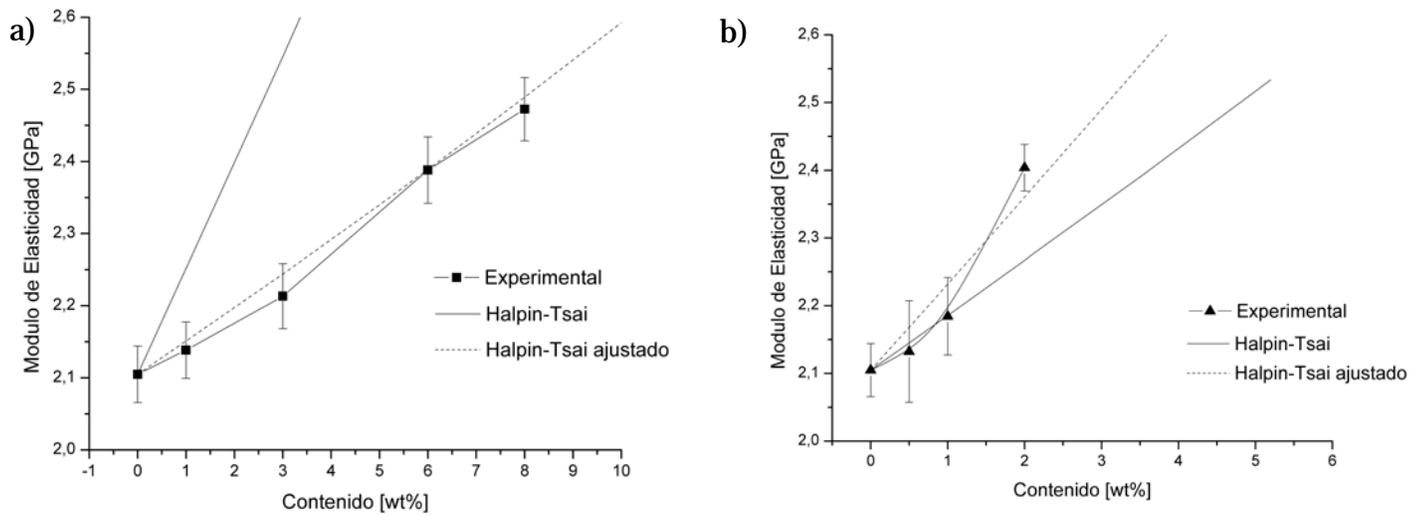


Figura 20: Módulo de Young experimental y resultados del modelo Halpin-Tsai para compuestos de PLA con a) TrGO y b) GO.

Si bien el modelo Halpin-Tsai predice un mejor comportamiento mecánico (mayor módulo de elasticidad) para el TrGO, pues la unión interfacial se ve favorecida por el anclaje mecánico con la matriz (producto de la textura rugosa y arrugada del TrGO [63, 151]), esta investigación muestra que se obtiene un mejor desempeño cuando se utiliza al GO como relleno. Esto se explica también por los mencionados puentes de hidrógeno generados entre el PLA y los grupos hidroxilos del GO, produciendo que se obtenga un mejor refuerzo de la matriz polimérica.

5.2.4 Conductividad eléctrica

La Figura 21 muestra la curva experimental de percolación eléctrica para los compósitos de PLA/TrGO y PLA/GO para distintas concentraciones en peso de la carga. Se observa que para el GO no hubo cambio significativo en la conductividad, ya que esta partícula no es conductora de la electricidad debido a los grupos funcionales oxigenados que componen su estructura [75, 190, 191]. En contraste, el TrGO logra dotar a la matriz polimérica de PLA de conductividad eléctrica, logrando valores equivalentes a los de un semiconductor ($\sim 10^{-2}$ [S/m]) [192] al máximo porcentaje de carga estudiado (5,5 vol%). Este comportamiento eléctrico sigue la ley potencial planteado por la teoría de percolación eléctrica, es decir, que a partir de cierta cantidad en volumen de carga la conductividad aumenta varios órdenes de magnitud de forma rápida [ver ANEXO B].

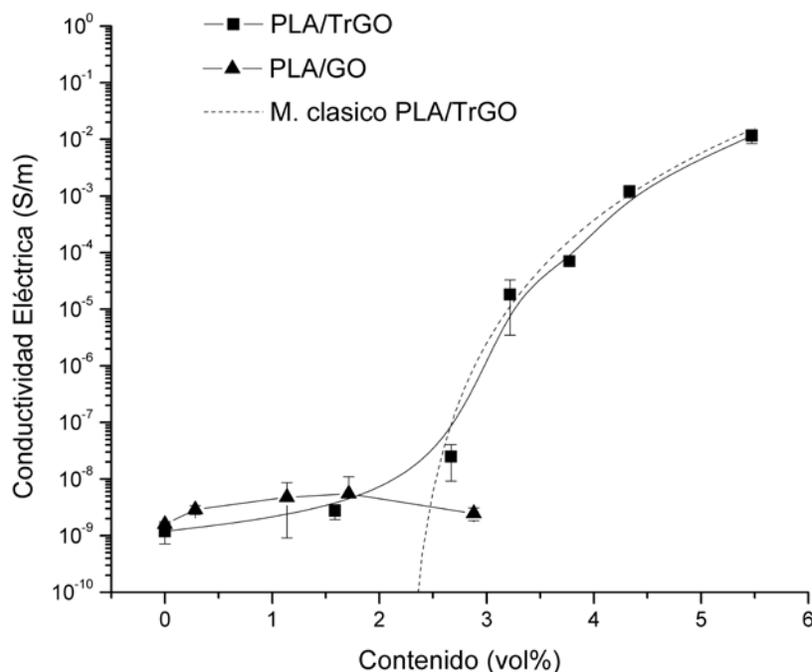


Figura 21: Curva experimental de percolación eléctrica y ajuste a modelo clásico para los compósitos a distintas concentraciones en volumen de GO y TrGO (densidad GO=2,2 [g/cm³] [193]; densidad TrGO=2,38 2 [g/cm³] [183]).

Los parámetros de la teoría clásica de percolación eléctrica (ecuación (6); ver **ANEXO B** para más detalle) indican que para el compósito de PLA/TrGO la percolación eléctrica se encuentra a un 2,4% de contenido en volumen del relleno en la matriz y una conductividad en ese punto de aproximadamente 10⁻⁸ [S/m] (ver ANEXO C). Este valor se condice con los resultados obtenidos por Kim et al. [109], quienes encontraron que la percolación se encontraba en 2,1% en volumen con conductividad de 10⁻⁹[S/m]. Sin embargo, esto contrasta con la investigación realizada por Shen et al. [108], donde el valor encontrado para el GO reducido con glucosa es casi 3 veces más bajo, aproximadamente un 0,8% en volumen.

$$\sigma = \sigma_0(\phi - \phi_c)^t \quad (6)$$

Esta diferencia se produce debido al método de fabricación de los nanocompósitos. Tanto en esta investigación como la realizada por Kim et al., el grafeno se incorpora a la matriz polimérica mediante mezclado en fundido, mientras que el equipo de Shen et al. realiza la fabricación mediante mezclado en solución. De esta forma, estos últimos obtienen una mejor dispersión de los rellenos en la matriz de PLA, lo que genera caminos percolados a un menor porcentaje de contenido [190, 105]. No obstante, el mezclado en fundido es considerado una mejor alternativa desde el punto de vista económico, pues no es necesaria la utilización de solvente [190]. De esta forma, si bien no se alcanza una percolación a un

porcentaje bajo, la técnica usada se convierte en una alternativa económica para su implementación a nivel industrial.

Además, el valor de conductividad obtenido a una concentración de 7% en peso (3,7 vol%) es de 10^{-5} [S/m], mismo valor obtenido por el equipo de Kim, lo que confirma los datos de percolación encontrados en esta investigación.

Por otro lado, el índice crítico de conductividad t obtenido fue de 6,2, que es mayor a $t=2$, lo que indica que la red percolada en los nanocompuestos es una estructura 3D.

La Figura 21, además, muestra el ajuste de los datos al modelo clásico de la ecuación (6) (**ANEXO B**), donde es posible observar que el modelo representa muy bien a los datos experimentales posteriores a la percolación.

$$\sigma = \sigma_0 \exp(-C \phi^{-1/3}) \quad (7)$$

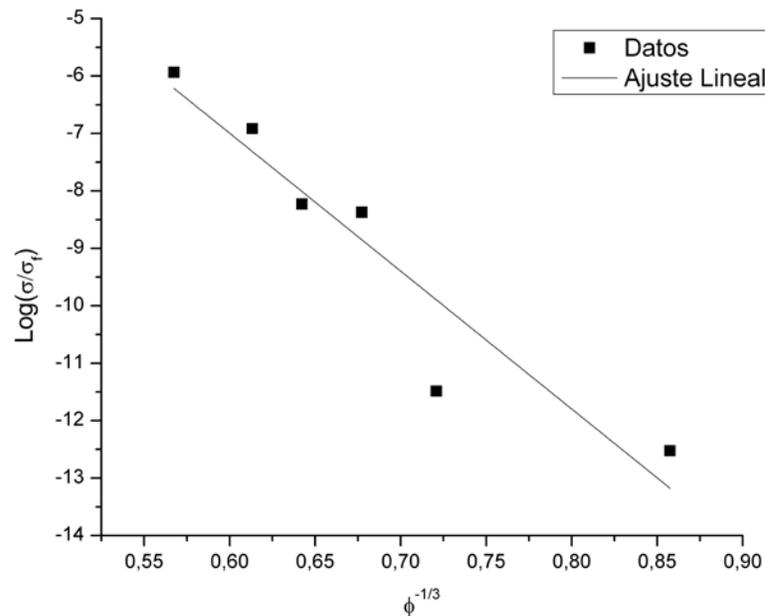


Figura 22: Linealización del modelo túnel para los datos experimentales en compósitos de PLA/TrGO.

De la misma figura se ve que los nanocompuestos de PLA/TrGO muestran un rápido proceso de percolación. De esa forma, para comprobar un posible efecto túnel en la conductividad eléctrica se debe utilizar una linealización de la ecuación (7) (**ANEXO B**) [194-196], lo que se muestra en la Figura 22. Como se observa, los datos a bajas concentraciones (derecha del gráfico) no están cerca de la línea continua, y el modelo no se ajusta tan bien a los datos como el modelo clásico, lo que manifiesta que no existe un efecto túnel considerable [63, 195, 197].

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

El comportamiento mecánico del compuesto mejoró más de un 15% para ambas partículas. Sin embargo, con el GO se obtienen mejores resultados, pues este incremento se obtiene a una baja concentración (2% en peso) en comparación con el TrGO (8% en peso). Con ambas partículas la elongación a la rotura disminuye cerca de un 40%, por lo que la ductilidad de los compósitos disminuye.

Por otro lado, la conductividad eléctrica para los compósitos con TrGO aumentó 7 órdenes de magnitud, llegando a un valor de 10^{-2} [S/m] a una concentración de 10% en peso. El punto de percolación se obtuvo a un contenido de 2,4% en volumen de TrGO, valor similar al alcanzado por otros autores. En contraste, para los compuestos con GO no se obtuvo conductividad.

Se obtuvo que el valor de viabilidad de células SaOS-2 para PLA puro fue baja (~70%). Además, la adición de TrGO en contenidos mayores a 3% en peso no modifica dicho valor de la matriz de PLA. Además, el compuesto con 1% de TrGO mostró un aumento de la viabilidad respecto al PLA. Por otro lado, se obtuvo una diferencia significativa entre el PLA y los compósitos con GO, por lo cual es posible decir que la adición de GO a la matriz aumenta la viabilidad celular (alrededor de un 20%), incluso a niveles altos de contenido (5% en peso). De esta forma, se posibilita el uso de estos compuestos en contacto con tejidos vivos sin riesgo de toxicidad.

Finalmente, los ensayos microbiológicos en las bacterias *E. coli* y *S. aureus* mostraron que los compósitos de PLA con 5%GO, 10%TrGO y 10%TrGO sometido a flujo eléctrico mostraron actividad antimicrobiana. Para el primero se obtuvo un 100% de efectividad, el segundo presenta un 40% y el tercero un 100%. Ningún compósito mostró diferencia significativa en la efectividad entre las bacterias analizadas, por lo que se puede decir que no existe un mecanismo aparente ligado intrínsecamente a las bacterias.

De esta forma, la investigación realizada aporta datos útiles sobre el uso del PLA como biomaterial, otorgándole propiedades, como la conductividad eléctrica y antibacterial, y mejorando otras, como el comportamiento mecánico o la biocompatibilidad. Esto fue logrado mediante la fabricación de compósitos con derivados del grafito. Así, se consigue desarrollar materiales que pueden cumplir con las exigencias de desempeño mecánico y biológico que requieren las aplicaciones biomédicas.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Lakshmi S. Nair, Cato T. Laurencin. Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog. Polym. Sci.* 2007:32;762–798.
- 2.- Tsang, K. Y., Cheung, M. C., Chan, D. & Cheah, K. S. The developmental roles of the extracellular matrix: beyond structure to regulation. *Cell Tissue Res.* 2010:339;93–110.
- 3.- Huayu T., Zhaohui T., Xiuli Z., Xuesi C., Xiabin J. Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. *Prog. Polym. Sci.* 2012:37;237–280.
- 4.- Garzón, C. Desarrollo de materiales compuestos de polipropileno y nanoestructuras de carbono. Tesis para optar al grado de doctor en ciencias de la ingeniería, mención ciencia de los materiales. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. 2014. 1-28p.
- 5.- Tathe A, Ghodke M, Nikalje AP. A brief review: biomaterials and their application. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2010:2(4);19-23.
- 6.- Williams DF. Review: tissue-biomaterial interactions. *J Mat Sci.* 1987:22(10):3421-3445.
- 7.- Kulinets, I. Regulatory Affairs for Biomaterials and Medical Devices. Chapter 1: Biomaterials and their applications in medicine. 2015:1-6.
- 8.- Raghavendra G., Varaprasad K., Jayaramudu J. Nanotechnology Applications for Tissue Engineering . Chapter 2 – Biomaterials: Design, Development and Biomedical Applications. 2015: 26-28.
- 9.- J. Xu, J. Song. Shape Memory Polymers for Biomedical Applications. 10. Polylactic acid (PLA)-based shape-memory materials for biomedical applications. A volume in Woodhead Publishing Series in Biomaterials. 2015:198–199.
- 10.- Schiffman, J., Schauer, C. A Review: Electrospinning of Biopolymer Nanofibers and their Applications. *Polymer Reviews.* 2008:48;317–318p.

- 11.- Singh, A. Biopolymers in Drug Delivery: A Review. *Pharmacologyonline* 1:2011;666-667p.
- 12.- Naiaretti, D., Tita, O. Biopolymers used in food packaging: a review. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: FOOD TECHNOLOGY*. 2012;16;3-4p.
- 13.- Tang, X. Z., Kumar, P., Alavi, S., Sandeep, K. P. Recent Advances in Biopolymers and Biopolymer-Based Nanocomposites for Food Packaging Materials. *Critical Reviews in food Science and Nutrition*2012;52;426–428p.
- 14.- Tănase, E. E., Râpă, M., Popa, O. Biopolymers based on renewable resources - A review. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*. 2014;18;188-192p.
- 15.- Tegou, E., Magana, M., Katsogridaki, A., Ioannidis, A., Raptis, V., Jordan, s., Chatzipanagiotou, S., Chatzandroulis, S., Ornelas, C., Tegos, G. Terms of endearment: Bacteria meet graphene nanosurfaces. *Biomaterials* 2016;89;38-40p.
- 16.- Universidad Católica de Chile. Facultad de Medicina. [en línea] <<http://publicacionesmedicina.uc.cl/pediatricaHosp/Infecciones.html>> [consulta: 21 de mayo de 2016].
- 17.- Drew, R. H., Pharm, D. Emerging Options for Treatment of Invasive, Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *Pharmacotherapy*. 2007;27;227-230p.
- 18.- Blanco, F. Leccion 5 .- Plásticos/rigidez de polímeros. Diseño práctico. [en línea] <<http://www6.uniovi.es/usr/fblanco/Leccion5.PLASTICOS.Rigidez.Dise%F1o.pdf>> [consulta: 30 de mayo de 2016].
- 19.- Drumright, R. E., Gruber, P. R., Henton, D. E. Polylactic Acid Technology. *Adv. Mater.* 2000;12;1841-1845p.
- 20.- Anderson, J., Shive, M. Advanced Drug Delivery Reviews. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. 2012;64;72-75.

- 21.- E. Castro-Aguirre, et al.. Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2016
- 22.- Y. Ramot, et al.. Biocompatibility and safety of PLA and its copolymers, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2016
- 23.- E. Bodros, I. Pillin, N. Montrelay, C. Baley, Could biopolymers reinforced by randomly scattered flax fibre be used in structural applications? *Compos. Sci. Technol.* 2007:67;462–463p.
- 24.- B.-H. Lee, H.-S. Kim, S. Lee, H.-J. Kim, J.R. Dorgan, Bio-composites of kenaf fibers in polylactide: Role of improved interfacial adhesion in the carding process, *Compos. Sci. Technol.* 2009:69;2573–2574p.
- 25.- S.M. Ogbomo, K. Chapman, C. Webber, R. Bledsoe, N.A. D'Souza, Benefits of low kenaf loading in biobased composites of poly(l-lactide) and kenaf fiber, *J. Appl. Polym. Sci.* 2009:112;1294–1295p.
- 26.- Caridade SG, Merino EG, Martins GV, Luz GM, Alves NM and Mano JF. Membranes of poly(DL-lactic acid)/Bioglass (R) with asymmetric bioactivity for biomedical applications. *J Bioact Compat Pol.* [Article]. 2012:27 (5);429–40.
- 27.- Georgiou G, Mathieu L, Pioletti DP, Bourban PE, Manson JAE, Knowles JC and Nazhat SN. Polylactic acid-phosphate glass composite foams as scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res B.* 2007:80B (2);322–31.
- 28.- Hench LL, Splinter RJ, Allen WC and Greenlee TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Mater Res.* 1972. 5 (6);117–41.
- 29.- A.M. Harris, E.C. Lee, Improving mechanical performance of injection molded PLA by controlling crystallinity, *J. Appl. Polym. Sci.* 2008:107;2246–2247p.
- 30.- S. Ouchiar, G. Stoclet, C. Cabaret, E. Georges, A. Smith, C. Martias, A. Addad, V. Gloaguen, Comparison of the influence of talc and kaolinite as inorganic fillers on morphology, structure and thermomechanical properties of polylactide based composites, *Appl. Clay Sci.* 2015:116-117;231–232p.

- 31.- Ray SS, Yamada K, Okamoto M, Ueda K. Polylactide-layered silicate nanocomposite: a novel biodegradable material. *Nano Letters*. 2002;2;1093–1094p.
- 32.- Paul DR, Robeson LM. Polymer nanotechnology: nanocomposites. *Polymer*. 2008;49;3187–3188p.
- 33.- Bondeson D, Oksman K. Dispersion and characteristics of surfactant modified cellulose whiskers nanocomposites. *Composite Interfaces*. 2007;14:617–618p.
- 34.- Sanchez-Garcia M, Lagaron J. On the use of plant cellulose nanowhiskers to enhance the barrier properties of polylactic acid. *Cellulose*. 2010;17:987–988p.
- 35.- Qingwei Zhang, Vadym N. Mochalin, Neitzel I., Knoke IY., Han J., Klug CA., Zhou JG., Lelkes PI., Gogotsi Y.. Fluorescent PLLA-nanodiamond composites for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2011;32;87-94
- 36.- Kamyar S, Bin Ahmad M, Yunus WMZW, Ibrahim NA, Jokar M, Darroudi M. Silver/poly (lactic acid) nanocomposites: preparation, characterization, and antibacterial activity. *International Journal of Nanomedicine*. 2010;5:573–574p.
- 37.- Xu X, Yang Q, Wang Y, Yu H, Chen X, Jing X. Biodegradable electrospun poly(l-lactide) fibers containing antibacterial silver nanoparticles. *European Polymer Journal*. 2006;42:2081–2082p.
- 38.- R. Pantani, G. Gorrasi, G. Vigliotta, M. Murariu, P. Dubois, PLA–ZnO nanocomposite films: water vapor barrier properties and specific end-use characteristics, *Eur. Polym. J*. 2013;49;3471–3472p.
- 39.- M. Murariu, A. Dombia, L. Bonnaud, A.L. Dechief, Y. Paint, M. Ferreira, C. Campagne, E. Devaux, P. Dubois, High-performance polylactide/ZnO nanocomposites designed for films and fibers with special end-use properties, *Biomacromolecules*. 2011;12;1762–1763p.
- 40.- Spitalsky Z, Tasis D, Papagelis K, Galiotis C. Carbon nanotube–polymer composites: chemistry, processing, mechanical and electrical properties. *Progress in Polymer Science*. 2010;35:357–360p.

- 41.- Baughman RH, Zakhidov AA, de Heer WA. Carbon nanotubes: the route toward applications. *Science*. 2002;297:787–789p.
- 42.- Villmow T, Poetschke P, Pegel S, Haeussler L, Kretzschmar B. Influence of twin-screw extrusion conditions on the dispersion of multi-walled carbon nanotubes in a poly(lactic acid) matrix. *Polymer*. 2008;49:3500–3502p.
- 43.- Wu D, Wu L, Zhou W, Sun Y, Zhang M. Relations between the aspect ratio of carbon nanotubes and the formation of percolation networks in biodegradable polylactide/carbon nanotube composites. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 2010;48:479–480p.
- 44.- Kuan CF, Kuan HC, Ma CCM, Chen CH. Mechanical and electrical properties of multi-wall carbon nanotube/poly(lactic acid) composites. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 2008;69:1395–1396p.
- 45.- Kumar B, Castro M, Feller JF. Poly(lactic acid)-multi-wall carbon nanotube conductive biopolymer nanocomposite vapour sensors. *Sensors and Actuators B* 2012;161:621–622p.
- 46.- Sobkowicz MJ, Sosa R, Dorgan JR. Supramolecular bionanocomposites. Part 2: Effects of carbon nanoparticle surface functionality on polylactide crystallization. *Journal of Applied Polymer Science*. 2011;121:2029–2030p.
- 47.- Wu D, Wu L, Zhang M, Zhao Y. Viscoelasticity and thermal stability of polylactide composites with various functionalized carbon nanotubes. *Polymer Degradation and Stability*. 2008;93:1577–1578p.
- 48.- Zhu J., Chen M., He Q., Shao L., Wei S., Guo Z. An Overview of the Engineered Graphene Nanostructures and Nanocomposites. *RSC Adv.*, 2013;3;22790-22792.
- 49.- Li Y., Zhu J., Wei S., Ryu J., Wang Q., Sun L., Guo Z. Poly(propylene) Nanocomposites Containing Various Carbon Nanostructures. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2011;212;2429–2430.
- 50.- A. K. Geim and K. S. Novoselov. The Rise of Graphene. *Nature materials*. 2007:6.

- 51.- Hone, J., Whitney, M., Piskoti, C., Zettl, A. Thermal conductivity of single-walled carbon nanotubes. *Phys. Rev. B* 1999:59;R2514–R2516.
- 52.- Ebbesen, T.W., Lezec, H.J., Hiura, H., Bennett, J.W., Ghaemi, H.F., Thio, T. Electrical conductivity of individual carbon nanotubes. *Nature* 1996:382;54–56
- 53.- Castro Neto, A., Guinea, F., Peres, N., Novoselov, K., Geim, A. The electronic properties of graphene. *Rev. Mod. Phys.* 2009:81;109–162.
- 54.- Bunker, C.E., Lawson, G.E., Sun, Y.P. Fullerene-Styrene Random Copolymers. Novel Optical Properties. *Macromolecules* 1995:28;3744–3746.
- 55.- Bachilo, S.M., Strano, M.S., Kittrell, C., Hauge, R.H., Smalley, R.E., Weisman, R.B. Structure-assigned optical spectra of single-walled carbon nanotubes. *Science* 2002:298;2361–2366.
- 56.- Lee, C., Wei, X., Kysar, J.W., Hone, J. Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene. *Science* 2008:321;385–388.
- 57.- Peigney, A., Laurent, C., Flahaut, E., Bacsa, R.R., Rousset, A. Specific surface area of carbon nanotubes and bundles of carbon nanotubes. *Carbon* 2001:39;507–514.
- 58.- Wujcik, E.K., Wei, H., Zhang, X., Guo, J., Yan, X., Sutrave, N., Wei, S., Guo, Z. Antibody nanosensors: A detailed review. *RSC Adv.* 2014:4;43725–43745.
- 59.- Wujcik, E.K., Monty, C.N. Nanotechnology for implantable sensors: Carbon nanotubes and graphene in medicine. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2013:5;233–249.
- 60.- Wei, J., Jia, Y., Shu, Q., Gu, Z., Wang, K., Zhuang, D., Zhang, G., Wang, Z., Luo, J., Cao, A., Wu, D. Double-walled carbon nanotube solar cells. *Nano Lett.* 2007:7;2317–2321.
- 61.- Seger, B., Kamat, P.V. Electrocatalytically active graphene-platinum nanocomposites. Role of 2-D carbon support in PEM fuel cells. *J. Phys. Chem. C* 2009:113;7990–7995.

- 62.- Wang, Y., He, Q., Qu, H., Zhang, X., Guo, J., Zhu, J., Zhao, G., Colorado, H.A., Yu, J., Sun, L., et al.. Magnetic graphene oxide nanocomposites: Nanoparticles growth mechanism and property analysis. *J. Mater. Chem. C* 2014;2;9478–9488.
- 63.- Garzón, C., Palza, H. Electrical behavior of polypropylene composites melt mixed with carbon-based particles: Effect of the kind of particle and annealing process. *Composites Science and Technology*. 2014;99;117–123
- 64.- Harrison, B.S., Atala, A. Carbon nanotube applications for tissue engineering. *Biomaterials* 2007;28;344–353.
- 65.- Wang Y., Wei H., Lu Y., Wei S., Wujcik E. K., Guo Z. Multifunctional Carbon Nanostructures for Advanced Energy Storage Applications. *Nanomaterials*. 2015;5;755-757.
- 66.- M. A. Rafiee, J. Rafiee, Z. Wang, H. Song, Z.-Z. Yu, N. Koratkar. Enhanced mechanical properties of nanocomposites at low graphene content. *ACS Nano*. 2009;3;3884-3890.
- 67.- Z. Xu, C. Gao. In situ Polymerization Approach to Graphene-Reinforced Nylon-6 Composites. *Macromolecules*. 2010;43;6716-6723.
- 68.- J. C. Meyer, A. K. Geim, M. I. Katsnelson, K. S. Novoselov, T. J. Booth, S. Roth. The Structure of suspended graphene sheets. *Nature*. 2007;446;60-63.
- 69.- I. K. Moon, J. Lee, R. S. Ruoff, H. Lee. Reduced graphene oxide by chemical graphitization. *Nature. Communications*. 2010;1;73-74.
- 70.- X. Yang, X. Dou, A. Rouhanipour, L. Zhi, H. J. Räder, K. Müllen. Two-Dimensional Graphene Nanoribbons. *J. Am. Chem. Soc.* 2008;130;4216-4217.
- 71.- L. Gomez De Arco, Y. Zhang, C. W. Schlenker, K. Ryu, M. E. Thompson, C. Zhou. Continuous, Highly Flexible, and Transparent Graphene Films by Chemical Vapor Deposition for Organic Photovoltaics. *ACS Nano*. 2010;4;2865-2873.

72.- Hirata M, Gotou T, Ohba M. Thin-film particles of graphite oxide. 2: Preliminary studies for internal micro fabrication of single particle and carbonaceous electronic circuits. *Carbon* 2005;43(3):503.

73.- S. Stankovich, R.D. Piner, S.T. Nguyen, R.S. Ruoff. Synthesis and exfoliation of isocyanate-treated graphene oxide nanoplatelets. *Carbon*. 2006;44;33423343.

74.- P. Steurer, R. Wissert. Functionalized Graphenes and Thermoplastic Nanocomposites Based upon Expanded Graphite Oxide. *Macromolecular Rapid Communications*. 2009;30;316-327.

75.- Potts, J., Dreyer, D., Bielawski, C., Ruoff, R. Graphene-based polymer nanocomposites. *Polymer*. 2011;52:5-25p.

76.- Daniel R. Dreyer, Sungjin Park, Christopher W. Bielawski, Rodney S. Ruoff.. The chemistry of graphene oxide. *Chem Soc Rev*. 2010;39:228-240.

77.- Sungjin Park, Rodney S. Ruoff. Chemical methods for the production of graphenes. 2009;5:217-224.

78.- Schniepp HC, Li JL, McAllister MJ, Sai H, Herrera-Alonso M, Adamson DH. Functionalized Single Graphene Sheets Derived from Splitting Graphite Oxide. *J Phys Chem B*. 2006;110:8535-8537.

79.- McAllister MJ, Li JL, Adamson DH, Schniepp HC, Abdala AA, Liu J, et al.. Single Sheet Functionalized Graphene by Oxidation and Thermal Expansion of Graphite. *Chem. Mater*. 2007;19:4396-4404.

80.- Skoda, M., Dudek, I., Jarosz, A., Szukiewicz, D. Graphene: One Material, Many Possibilities—Application Difficulties in Biological Systems. *Journal of Nanomaterials*. 2014;1-12p.

81.- Bianco, A. Graphene: Safe or toxic? the two faces of the medal. *Angewandte Chemie—International Edition*. 2013;52;4986–4997p.

82.- Syama, S., Mohanan, P. V. Safety and biocompatibility of graphene: A new generation nanomaterial for biomedical application. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;86;546–555p.

83.- K. Wang, J. Ruan, H. Song, J. Zhang, Y. Wo, S. Guo, D. Cui. Biocompatibility of Graphene Oxide. *Nanoscale Res. Lett.* 2011;6;1p.

84.- L.H. Liao, Y.S. Lin, C.W. Macosko, C.L. Haynes. Cytotoxicity of Graphene Oxide and Graphene in Human Erythrocytes and Skin Fibroblasts. *Appl. Mater. Interfaces*. 2011;3;2607p.

85.- G. Gollavelli, Y. Ling. Multi-functional graphene as an in vitro and in vivo imaging probe. *Biomaterials*. 2012;33;2532p.

86.- W. Hu, C. Peng, M. Lv, X. Li, Y. Zhang, N. Chen, C. Fan, Q. Huang. Protein-corona mediated mitigation of cytotoxicity of graphene oxide. *ACS Nano*. 2011;5;3693p.

87.- Pinto, A. M., Goncalves, I. C., Magalhães, F. D. Graphene-based materials biocompatibility: A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;111;188– 200p.

88.- S. R. Ryoo, Y. K. Kim, M. H. Kim, and D. H. Min. Behaviors of NIH-3T3 fibroblasts on graphene/carbon nanotubes: proliferation, focal adhesion, and gene transfection studies. *ACS Nano*. 2010;4-11;6587p.

89.- Y. Chang, S.-T. Yang, J.-H. Liu et al.. In vitro toxicity evaluation of graphene oxide on A549 cells. *Toxicology Letters*. 2011;200-3;201p.

90.- O.N. Ruiz, K. A. S. Fernando, B. Wang et al.. Graphene oxide: a nonspecific enhancer of cellular growth. *ACS Nano*. 2011;5-10;8100p.

91.- Tegou, E., Magana, M., Katsogridaki, A. E., Ioannidis, A., Raptis, V., Jordan, S., Chatzipanagiotou, S., Chatzandroulis, S., Ornelas, C., Tegos, G. P. Terms of endearment: Bacteria meet graphene nanosurfaces. *Biomaterials*. 2016;89;38p.

92.- Liu, S., Zeng, T. h., Hofmann, M., Burcombe, E., Wei, J., Jiang, R., Kong, J., Chen, Y. Antibacterial Activity of Graphite, Graphite Oxide, Graphene Oxide, and Reduced Graphene Oxide: Membrane and Oxidative Stress. 2011:5; 6971–6980p.

93.- Krishnamoorthy, K., Veerapandian, M., Zhang, L., Yun, K., Kim, S. J. Antibacterial Efficiency of Graphene Nanosheets against Pathogenic Bacteria via Lipid Peroxidation. J. Phys. Chem. C. 2012:116;17280p.

94.- Kurantowicz, N., Sawosz, E., Jaworski, S., Kutwin, M., Strojny, B., Wierzbicki, M., Szeliga, J., Hotowy, A., Lipińska, L., Koziński, R., Jagiełło, J., Chwalibog, A. Interaction of graphene family materials with *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. Nanoscale Research Letters. 2015:10(23);1-2p.

95.- W. Hu, C. Peng, W. Luo, M. Lv, X. Li, D. Li, et al.. Graphene-based antibacterial paper. ACS Nano. 2010:4(7);4317p.

96.- Y. Tu, M. Lv, P. Xiu, T. Huynh, M. Zhang, M. Castelli, et al. Destructive extraction of phospholipids from *Escherichia coli* membranes by graphene nanosheets, Nat. Nanotechnol. 2013:8(8);594p.

97.- S. Park, N. Mohanty, J.W. Suk, A. Nagaraja, J. An, R.D. Piner, et al., Biocompatible, robust free-standing paper composed of a TWEEN/graphene composite, Adv. Mater. 2010:22(15);1736p.

98.- Shin, S. R., Li, Y., Jang, H. L., Khoshakhlagh, P., Akbari, M., Nasajpour, A., Zhang, Y. S., Tamayol, A., Khademhosseini, A. Graphene-based materials for tissue engineering. Advanced Drug Delivery Reviews. 2016.

99.- Zhang, B., Wang, Y., Zhai, G. Biomedical applications of the graphene-based materials. Materials Science and Engineering C. 2016:61;953–954.

100.- Shen, H., Zhang, L., Liu, M., Zhang, Z. Biomedical Applications of Graphene. Theranostics. 2012:2(3);283-284p.

101.- Yang, Y., Asiri, A. M., Tang, Z., Du, D., Lin, Y. Graphene based materials for biomedical applications. Materials Today. 2013:16(10);365-366p.

102.- H. Kim, A. Abdala, C. Macosko. Graphene/Polymer Nanocomposites. *Macromolecules*. 2010;6515.

103.- Kuillaa, T., Bhadra, S., Yaoa, D., Kimc, N. H., Bose, S., Lee, J. H. Recent advances in graphene based polymer composites. *Progress in Polymer Science*. 2010;35;1350–1375p.

104.- Saravanan, n., Rajasekar, R., Mahalakshmi, S., Sathishkumar, TP., Sasikumar, K. S. K., Sahoo, S. Graphene and modified graphene-based polymer nanocomposites – A review. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*. 2014;1–23p.

105.- Khanam, P., Ponnamma, D., AL-Madeed, M. Electrical Properties of Graphene Polymer Nanocomposites. *Polymer and Composite Materials*. 2015:36-38p.

106.- Ammar, A., Al-Enizi, A., AlMaadeed, M., Karim, A. Influence of graphene oxide on mechanical, morphological, barrier, and electrical properties of polymer membranes. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016;9:274–286p.

107.- H. Kim, Y. Miura, C.W. Macosko. Graphene/Polyurethane Nanocomposites for Improved Gas Barrier and Electrical Conductivity *Chem. Mater*. 2010;22:3441-3443p.

108.- Yuxia Shen, Tao Jing, Weijie Ren, Jiewei Zhang, Zhi-Guo Jiang, Zhong-Zhen Yu, Aravind Dasari. Chemical and thermal reduction of graphene oxide and its electrically conductive polylactic acid nanocomposites. *Composites Science and Technology*. 2012;72;1430–1435p.

109.- Kim, I., Jeong, Y. Polylactide/Exfoliated Graphite Nanocomposites with Enhanced Thermal Stability, Mechanical Modulus, and Electrical Conductivity. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*. 2010;48;850–858.

110.- Ovid´ko, I. Enhanced mechanical properties of polymer-matrix nanocomposites reinforced by graphene inclusions: a review. *Rev.Adv.Mater. Sci*. 2013;34:19-21p.

111.- Rafiee, M., Rafiee, J., Wang, Z., Song, H., Yu, Z., Koratkar, N. Enhanced Mechanical Properties of Nanocomposites at Low Graphene Content. *American Chemical Society Nano*. 2009;3;3884-3889p.

- 112.- Zhao, X., Zhang, Q., Chen, D. Enhanced Mechanical Properties of Graphene-Based Poly(vinyl alcohol) Composites. *Macromolecules*. 2010;43:2357–2359p.
- 113.- J. Liang, Y. Huang, L. Zhang, Y. Wang, Y. Ma, T. Guo, Y. Chen. Molecular-level dispersion of graphene into poly(vinyl alcohol) and effective reinforcement of their nanocomposites. *Adv. Funct. Mater.* 2009;19:2297–2299p.
- 114.- Chen, Y., Qi, Y., Tai, Z., Yan, X., Zhu, F., Xue, Q. Preparation, mechanical properties and biocompatibility of graphene oxide/ultrahigh molecular weight polyethylene composites. *European Polymer Journal*. 2012;48:1026–1031p.
- 115.- Fan, H., Wang, L., Zhao, K., Li, N., Shi, Z., Ge, Z., Jin, Z. Fabrication, Mechanical Properties, and Biocompatibility of Graphene-Reinforced Chitosan Composites. *Biomacromolecules*. 2010;11:2345–2350p.
- 116.- Jin, L., Wu, D., Kuddannaya, S., Zhang, Y., Wang, Z. Fabrication, Characterization, and Biocompatibility of Polymer Cored Reduced Graphene Oxide Nanofibers. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2016;8:5170–5176p.
- 117.- Surudzic, R., Jankovic, A., Mitric, M., Matic, I., Juranic, Z., Zivkovic, L., Miskovic – Stankovic, V., Rhee, K. Y., Park, S., Hui, D. The effect of graphene loading on mechanical, thermal and biological properties of poly(vinyl alcohol)/graphene nanocomposites. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2016;34:250–257p.
- 118.- Carpio, I., Santos, C., Weib, X., Rodrigues, D. Toxicity of a polymer–graphene oxide composite against bacterial planktonic cells, biofilms, and mammalian cells. *Nanoscale*. 2012;4:4746p.
- 119.- Cao, Y., Wei, W., Liu, J., You, Q., Liu, F., Lan, Q., Zhang, C., Liu, C., Zhao, J. The Preparation of Graphene Reinforced Poly(vinyl alcohol) Antibacterial Nanocomposite Thin Film. *International Journal of Polymer Science*. 2015;1-7p.
- 120.- Mukhopadhyay, P., Gupta, R. K. Trends and Frontiers in Graphene-Based Polymer Nanocomposites. *Plastics Engineering*. 2011;32-41p.
- 121.- Thompson, B. C., Murray, E., Wallace, G. G. Graphite Oxide to Graphene. *Biomaterials to Bionics. Adv. Mater.* 2015;27;7563p.

122.- Prabhu, M., Priscilla, S., Kavitha, K., Manivasakan, P., Rajendran, V., Kulandaivelu, P. In Vitro Bioactivity and Antimicrobial Tuning of Bioactive Glass Nanoparticles Added with Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Powder. *BioMed Research International*. 2014;1.

123.- Huang, Y., Wang, T., Zhao, X., Wang, X., Zhou, L., Yang, Y., Liao, F., Ju, Y. Poly(lactic acid)/graphene oxide–ZnO nanocomposite films with good mechanical, dynamic mechanical, anti-UV and antibacterial properties. *J Chem Technol Biotechnol*. 2015;90;1677–1684.

124.- An, X, Ma, B., Liu, B., Wang, J. Graphene Oxide Reinforced Polylactic Acid/Polyurethane Antibacterial Composites. *Journal of Nanomaterials* 2013;1-7.

125.- Gurunathan, S., Han, J. W., Eppakayala, V., Kim, J. Biocompatibility of microbially reduced graphene oxide in primary mouse embryonic fibroblast cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;105;58– 66.

126.- Yoon, O. Jung, C. Y., Sohn, I. Y., Kim, H. J., Hong, B. H., Jhon, M. S., Lee, N. Nanocomposite nanofibers of poly(D, L-lactic-co-glycolic acid) and graphene oxide nanosheets. *Composites: Part A*. 2011;42;1978–1984.

127.- Pinto, M. et al.. Biocompatibility of poly(lactic acid) with incorporated graphene-based materials. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;104;229– 238

128.- Luo, Y., Shen, H., Fang, Y., Cao, Y., Huang, J., Zhang, M., Dai, J., Shi, X., Zhang, Z. Enhanced proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells on graphene oxide-incorporated electrospun poly(lactic-co-glycolic acid) nanofibrous mats. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2015;7(11):6331p.

129.- Valapa, R. B., Pugazhenti, G., Katiyar, V. Effect of graphene content on the properties of poly(lactic acid) nanocomposites. *RSC Adv*. 2015;5;28410-28422p.

130.- Cao, Y., Feng, J., Wu, P. Preparation of organically dispersible graphene nanosheet powders through a lyophilization method and their poly(lactic acid) composites. *Carbon*. 2010;48;3834 – 3839p.

- 131.- Pinto A., Cabral J., Tanaka D., Mendes A., Magalhaes F. Effect of incorporation of graphene oxide and graphene nanoplatelets on mechanical and gas permeability properties of poly(lactic acid) films. *Polym Int* 2013; 62; 33–40.
- 132.- Chieng, B., Ibrahim, N., Yunus, W., Hussein, M., Then, Y., Loo, Y. Effects of Graphene Nanoplatelets and Reduced Graphene Oxide on Poly(lactic acid) and Plasticized Poly(lactic acid): A Comparative Study. *Polymers*. 2014;6:2232-2240p.
- 133.- Chartarrayawadee, W., Molloy, R., Ratchawet, A., Janmee, N., Butsamran, M., Panpai, K. Fabrication of Poly(Lactic Acid)/Graphene Oxide/Stearic Acid Composites With Improved Tensile Strength. *Polymer composites*. 2015;1-7p.
- 134.- Kashi, S., Gupta, R. K., Baum, T., Kao, N., Bhattacharya, S. N. Morphology, electromagnetic properties and electromagnetic interference shielding performance of poly lactide/graphene nanoplatelet nanocomposites. *Materials and Design*. 2016;95;119–123p.
- 135.- Guimarda, N. K., Gomez, N., Schmidt, C. E. Conducting polymers in biomedical engineering. *Prog. Polym. Sci*. 2007;32;876–882p.
- 136.- Shia, G., Rouabhiab, M., Wang, Z., Dao, L. H., Zhang, Z. A novel electrically conductive and biodegradable composite made of polypyrrole nanoparticles and polylactide. *Biomaterials*. 2004;25;2477p.
- 137.- Gerecht-Nir S, Radisic M, Park H, Cannizzaro C, Boublik J, Langer R, et al.. Biophysical regulation during cardiac development and application to tissue engineering. *Int J Dev Biol* 2006;50(2-3);233-43.
- 138.- Sapir, Y., Polyak, B., Cohen, S. Cardiac tissue engineering in magnetically actuated scaffolds. *Nanotechnology*. 2014;25;1-2.
- 139.- Yang G., Liang H. Improved method for synchronous movement of attached self-lifting scaffolds with an optoelectronic sensor array. *Measurement*. 2015;73;360–364p.
- 140.- Supronowicz PR, Ajayan PM, Ullmann KR, et al.. Novel current-conducting composite substrates for exposing osteoblasts to alternating current stimulation. *J Biomed Mater Res*. 2002;59;499–506p.

- 141.- Mata D., Oliveira, F., Neto, M., Belmonte, M., Bastos, A., Lopes, M., Gomes, P., Fernandes, M., Silva, R. Smart electroconductive bioactive ceramics to promote in situ electrostimulation of bone. *Journal of Materials Chemistry B*. 2015:3; 1831-1845p.
- 142.- Wei-Wen Hu, Yi-Ting Hsu , Yu-Che Cheng, Chuan Li, Ruoh-Chyu Ruaan, Chih-Cheng Chien. Electrical stimulation to promote osteogenesis using conductive polypyrrole films. *Materials Science and Engineering C*. 2014:37;28–36p.
- 143.- Obermeier, A., Matl, F. D., Friess, W., Stemberger, A. Growth Inhibition of *Staphylococcus aureus* Induced by Low-Frequency Electric and Electromagnetic Fields. *Bioelectromagnetics*. 2009:30;270 – 272p.
- 144.- del Pozo, J. L., Rouse, M. S., Mandrekar, J. N., Steckelberg, J. M., Patel, R. The Electricidal Effect: Reduction of *Staphylococcus* and *Pseudomonas* Biofilms by Prolonged Exposure to Low-Intensity Electrical Current. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009:53(1);41–42p.
- 145.- Schmidt-Malan SM, Karau MJ, Cede J, Greenwood-Quaintance KE, Brinkman CL, Mandrekar JN, Patel R. 2015. Antibiofilm activity of low-amperage continuous and intermittent direct electrical current. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015:59;4610p.
- 146.- del Pozo, J. L., Rouse, M. S., Mandrekar, J. N., Sampedro, M. F., Steckelberg, J. M., Patel, R. Effect of Electrical Current on the Activities of Antimicrobial Agents against *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Staphylococcus epidermidis* Biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009:53(1);35–37p.
- 147.- Blenkinsopp, S. A., Khoury, A. E., Costerton, J. W. Electrical Enhancement of Biocide Efficacy against *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Applied and environmental microbiology*. 1992:58(11);3770p.
- 148.-Liu, W., Brown, M., Elliott, T. Mechanisms of the bactericidal activity of low amperage electric current (DC). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1997:39;687–689p.
- 149.- Choy, M. Polímeros conductores como alternativa tecnológica en la protección de nuestro ambiente. 2008;1-14p.

- 150.- Berkowitz, B. P. Ewing, R. Percolation theory and network modeling applications in soil physics. *Surveys in Geophysics*. 1998:19;23 – 72p.
- 151.- Rojas, M. Desarrollo de sensores piezoeléctricos basados en una matriz elastomérica con nanopartículas de carbono. Memoria para optar al título de ingeniero civil químico. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. 2015. 1-36p.
- 152.- Brito, G., Agrawal, P., Araújo, E., de Mélo, T. Polylactide/Biopolyethylene Bioblends. *Polímeros*. 2012:22;427.
- 153.- W. H. Jr, R. Offeman. Preparation of graphitic oxide. *J. Am. Chem.* 1958:208;1339.
- 154.- Roy, N., Sengupta, R., Bhowmick, A. Modifications of carbon for polymer composites and nanocomposites. *Progress in Polymer Science*. 2012:37;781 – 819.
- 155.- Hu, K., Kulkarni, D., Choi, I., Tsukruk, V. Graphene-polymer nanocomposites for structural and functional applications. *Progress in Polymer Science*. 2014;39.
- 156.- M. Katsikogianni, Y.F. Missirlis. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteriamaterial interactions. *European Cells and Materials*. 2004:8;37-40p.
- 157.- Zou, X., Zhang, L., Wang, Z., Luo, Y. Mechanisms of the Antimicrobial Activities of Graphene Materials. *J. Am. Chem. Soc.* 2016:138;2064–2077p.
- 158.- Wang, Y., Cao, A., Jiang, Y., Zhang, X., Liu, J., Liu, Y., Wang, H. Superior Antibacterial Activity of Zinc Oxide/Graphene Oxide Composites Originating from High Zinc Concentration Localized around Bacteria. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2014:6;2791p.
- 159.- Notley, S., Crawford, R., Ivanova, E. Bacterial Interaction with Graphene Particles and Surfaces. *Advances in Graphene Science*. Chapter 5. 107p.

160.- Balazs DJ, Triandafillu K, Chevolut Y, Aronsson B–O, Harms H, Descouts P, Mathieu HJ. Surface modification of PVC endotracheal tubes by oxygen glow discharge to reduce bacterial adhesion. *Surf Interf Anal.* 2003;35;301p.

161.- Cunliffe, D., Smart, C., Alexander, C., Vulfson, E. Bacterial Adhesion at Synthetic Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology.* 1999;4995–4999p.

162.- Garrett, T., Bhakoo, M., Zhang, Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science.* 2008;18;1049–1052p.

163.- Siedenbiedel, F., Tiller, J. C. Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles. *Polymers.* 2012;4;46-54p.

164.- Gabriel, G., Som, A., Madkour, A. E., Eren, T., Tew, G. N. Infectious disease: Connecting innate immunity to biocidal polymers. *Materials Science and Engineering R.* 2007;57;28–43p.

165.- Timofeeva, L., Kleshcheva, N. Antimicrobial polymers: mechanism of action, factors of activity, and applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;89;475–492p.

166.- Uppu, D., Samaddar, S., Ghosh, C., Paramanandham, K., Shome, B. R., Haldar, J. Amide side chain amphiphilic polymers disrupt surface established bacterial bio-films and protect mice from chronic *Acinetobacter baumannii* infection. *Biomaterials* 74 (2016) 131p.

167.- Shaker, N., El-Salam, F., El-Sadek, B. M., Kandeel, E. M., Baker, S. A. *Journal of American Science.* 2011;7(5);427p.

168.- Wang, H., Shi, X., Yu, D., Zhang, J., Yang, G., Cui, Y., Sun, K., Wang, J., Yan, H. Antibacterial Activity of Geminized Amphiphilic Cationic Homopolymers. *Langmuir.* 2015;31;13469p.

169.- Uppu, D., Akkapeddi, P., Manjunath, G. B., Yarlagadda, V., Hoque, J., Haldar, J. Polymers with tunable side-chain amphiphilicity as non-hemolytic antibacterial agents. *Chem. Commun.* 2013;49;9389p.

- 170.- Chaveriat, L., Gosselin, I., Machut, C., Martin, P. Synthesis, surface tension properties and antibacterial activities of amphiphilic D-galactopyranose derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013;62;177p.
- 171.- Hartshorne, R. S. et al.. Characterization of an electron conduit between bacteria and the extracellular environment. *PNAS*. 2009;106:22169–22170p.
- 172.- J. Li, G. Wang, H. Zhu, M. Zhang, X. Zheng, Z. Di, X. Liu, X. Wang, Antibacterial activity of large-area monolayer graphene film manipulated by charge transfer, *Sci. Rep.* 4 (2014) 4359p.
- 173.- International Organization for Standardization. Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. 2009. 3era Edición. 24-28p.
- 174.- Goncalves, C., Pinto, A., Machado, A., Moreira, J., Goncalves, I., Magalhães, F. Biocompatible Reinforcement of Poly(Lactic Acid) With Graphene Nanoplatelets. *Polymer Composites*. 2016:1-13p.
- 175.- Jin, L.; Zeng, Z. P.; Kuddannaya, S.; Yue, D.; Bao, J. N.; Wang, Z. L.; Zhang, Y. L. Synergistic Effects of A Novel Free-Standing Reduced Graphene Oxide Film and Surface Coating Fibronectin on Morphology, Adhesion and Proliferation of Mesenchymal Stem Cells. *J. Mater. Chem. B*. 2015;3:4338–4341.
- 176.- Yoon, O., Sohn, I., Kim, D., Lee, N. Enhancement of Thermomechanical Properties of Poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) and Graphene Oxide Composite Films for Scaffolds. *Macromolecular Research*. 2012;20:789-794p.
- 177.- Pei, S., Aib, F., Qu, S. Fabrication and biocompatibility of reduced graphene oxide/poly(vinylidene fluoride) composite membranes. *RSC Adv*. 2015;5:99841–99845p.
- 178.- Ma H B, Su W X, Tai Z X, et al.. Preparation and cytocompatibility of polylactic acid/hydroxyapatite/graphene oxide nanocomposite fibrous membrane. *Chin Sci Bull*. 2012;57;3056-3057p.
- 179.- Li, Z., Guo, Q., Li, Z., Fan, G., Xiong, D., Su, Y., Zhang, J., Zhang, D. Enhanced Mechanical Properties of Graphene (Reduced Graphene Oxide)/Aluminum Composites with a Bioinspired Nanolaminated Structure. *Nano Lett*. 2015;15:8077–8080p.

- 180.- Xu, H., Xie, L., Wu, D., Hakkarainen, M. Immobilized Graphene Oxide Nanosheets as Thin but Strong Nanointerfaces in Biocomposites. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2015:1-7p.
- 181.- Wu, L., Wuang, J., He, X., Zhang, T., Sun, H. Using graphene oxide to enhance the barrier properties of poly(lactic acid) film. *Packag. Technol. Sci.* 2014;27:693–700p.
- 182.- Halpin. J. C., Kardos, J. L. The Halpin-Tsai Equations: A Review. *Polymer engineering and science.* 1976:16(5);344-348p.
- 183.- Song, P., Cao, Z., Cai, Y., Zhao, L., Fang, Z., Fu, S. Fabrication of exfoliated graphene-based polypropylene nanocomposites with enhanced mechanical and thermal properties. *Polymer.* 2011:52;4001-4002p.
- 184.- Zhu, Y., Murali, S., Cai, W., Li, X., Suk, J. K., Potts, J. R., Ruoff, R. S. Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications. *Adv. Mater.* 2010:22;3906-3908p.
- 185.- Wakabayashi, K.; Pierre, C.; Dikin, D. A.; Ruoff, R. S.; Ramanathan, T.; Brinson, L. C.; Torkelson, J. M. Polymer–Graphite Nanocomposites: Effective Dispersion and Major Property Enhancement via Solid-State Shear Pulverization. *Macromolecules.* 2008:41;1905p.
- 186.- Palza, H., Vergara, R., Zapata, P. Composites of polypropylene melt blended with synthesized silica nanoparticles. *Composites Science and Technology.* 2011:71;539p.
- 187.- L. He, J. Sun, X. Wang, X. Fan, Q. Zhao, L. Cai, R. Song, Z. Ma, W. Huang. Unzipped multiwalled carbon nanotubes-incorporated poly(L-lactide) nanocomposites with enhanced interface and hydrolytic degradation. *Mater. Chem. Phys.* 2012;134:1059p.
- 188.- Li, W., Xu, Z., Chen, L., Shan, M., Tian, X., Yang, C., Lv, H., Qian, X. A facile method to produce graphene oxide-g-poly(L-lactic acid) as an promising reinforcement for PLLA nanocomposites. *Chemical Engineering Journal.* 2014;237:291–298p.
- 189.- T. Ramanathan, A.A. Abdala, S. Stankovich, D.A. Dikin, M. Herrera-Alonso, R.D. Piner, D.H. Adamson, H.C. Schniepp, X. Chen, R.S. Ruoff. Functionalized graphene sheets for polymer nanocomposites. *Nat. Nanotechnol.* 2008;3:327-329p.

190.- Zheng, Q., Li, Z., Yang, J., Kim, J. Graphene oxide-based transparent conductive films. *Progress in Materials Science*. 2014;64:200-205p.

191.- Ning, D., Chao-yue, Z., Qiao, C., Gang, W., Rong, L., Preparation and characterization of nylon 6/graphite composite. *Materials Chemistry and Physics*. 2010;120;167–170p.

192.- Navasquillo, J. Tecnología de Instrumentación. Semiconductores. Universidad de Valencia.

193.- Museo Geológico virtual de Venezuela. [en línea] <<http://www.pdv.com/lexico/museo/minerales/grafito.htm>> [consulta: 28 de mayo de 2016].

194.- Hu, N., Karube, Y., Arai, M., Watanabe, T., Yan, C., Li, Y., Liu, Y., Fukunaga, H. Investigation on sensitivity of a polymer/carbon nanotube composite strain sensor. *Carbon*. 2010;48;680-686p.

195.- Panwar, V., Sachved, V. K., Mehra, R. M. Insulator conductor transition in low-density polyethylene-graphite composites. *European Polymer Journal*. 2007;43;573–580p.

196.- Hua, N., Karube, Y., Yan, C., Masuda, Z., Fukunaga, H. Tunneling effect in a polymer/carbon nanotube nanocomposite strain sensor. *Acta Materialia*. 2008;56;2929–2933p.

197.- Laredo, E., Bello, A., Grimau, M., Wu, D. Percolación, universalidad y propiedades eléctricas de nanocompuestos polímeros/nanotubos de carbón, PCL/PLA/NTC. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* 2011;S3;2-3p.

198.- Concha, A., Quijada, R., Soto, R., Rica, S., Pilleux, M. Percolación eléctrica en matrices 2-D y 3-D de materiales compuestos aislantes con una fase conductora. *Simposio Materia*. 2002:747 – 752p.

199.- Linares, A., Canalda, J. C., Cagiao, M. E., García-Gutiérrez, M. C., Nogales, A., Martín-Gullón, I., Vera, J., Esquerria, T. A. Broad – Band Electrical Conductivity of High

Density Polyethylene Nanocomposites with Carbon Nanoadditives: Multiwall Carbon Nanotubes and Carbon Nanofibers. *Macromolecules*. 2008:7090 – 7097p.

ANEXOS

ANEXO A. CURVAS DE ENSAYO DE TRACCIÓN PARA LOS COMPÓSITOS

Los datos obtenidos en los ensayos de tracción se observan en la Figura 23 para los compósitos con TrGO y en la Figura 24 para los compósitos con GO.

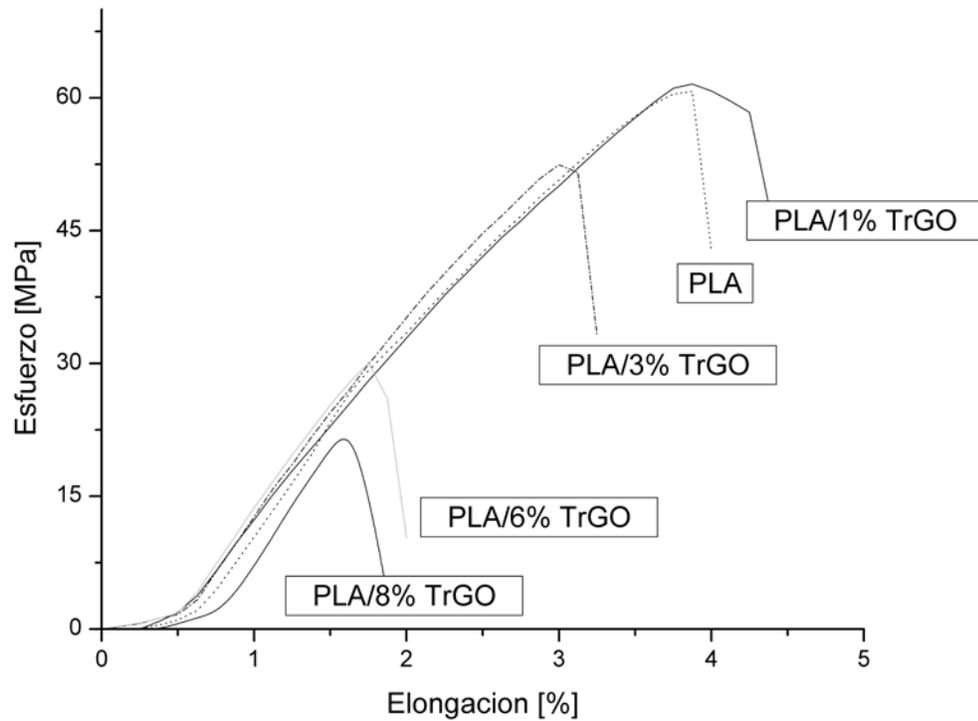


Figura 23: Comparación curvas esfuerzo versus elongación obtenidas para los compósitos PLA/TrGO.

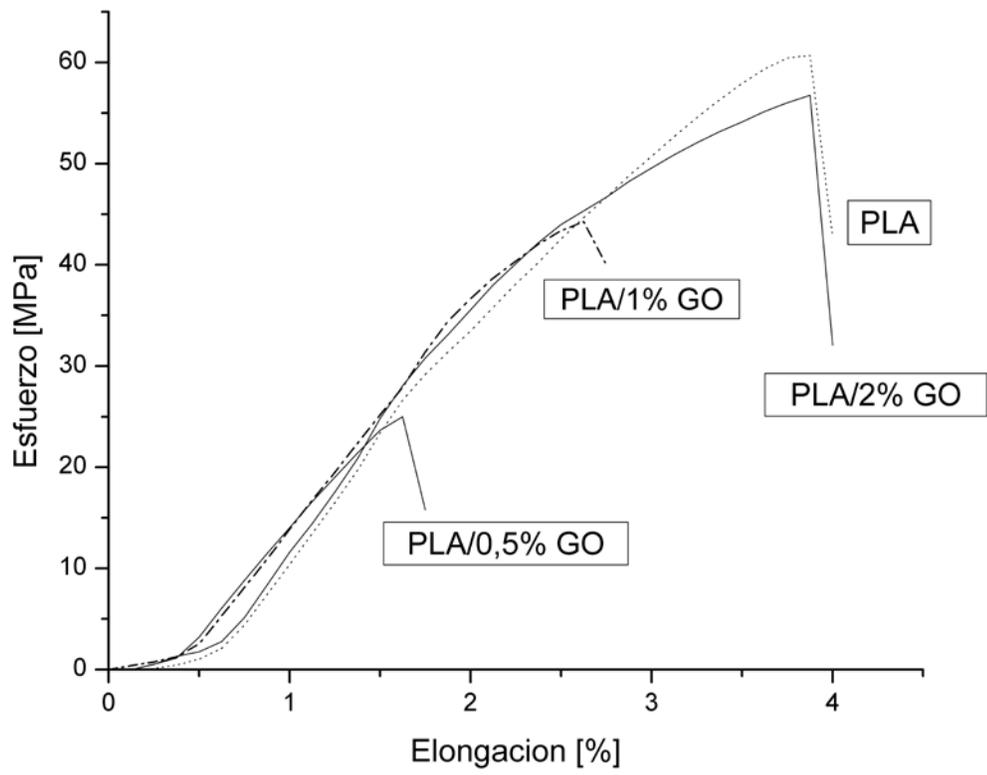


Figura 24: Comparación curvas esfuerzo versus elongación obtenidas para los compósitos PLA/GO.

ANEXO B. TEORÍA DE PERCOLACIÓN ELÉCTRICA

En la teoría clásica de percolación, la conductividad (σ) de los materiales compuestos viene dada por la ecuación (6) [4,198,199],

$$\sigma = \sigma_0(\phi - \phi_c)^t \quad (6)$$

donde,

σ_0 : conductividad del compuesto,

σ_0 : conductividad del relleno,

ϕ : fracción volumétrica del relleno,

ϕ_c : fracción volumétrica crítica del relleno,

t : índice crítico de conductividad, que se relaciona con la dimensionalidad del relleno.

Esta teoría predice una correlación de ley de potencia entre estos parámetros, suponiendo el contacto físico entre las partículas. Sin embargo, los compuestos poliméricos con rellenos a base de carbono son sistemas más complejos donde la conductividad eléctrica no puede ser predicha sólo por esta teoría. En los compuestos poliméricos, las partículas conductoras están separadas por barreras de energía (moléculas poliméricas) y el efecto túnel se vuelve relevante, modificando el modelo de percolación, descrito en la ecuación (8),

$$\sigma \propto \exp(-Cd) \quad (8)$$

donde,

σ_0 : conductividad del compuesto,

C : parámetro túnel,

d : distancia de túnel.

Si se asume una distribución al azar de las partículas, entonces el promedio de las distancias entre partículas puede ser aproximado a $\phi^{-1/3}$, llevando a la ecuación (7),

$$\sigma = \sigma_0 \exp(-C\phi^{-1/3}) \quad (7)$$

donde,

σ_0 : conductividad del compuesto,

σ_0 : conductividad del relleno,

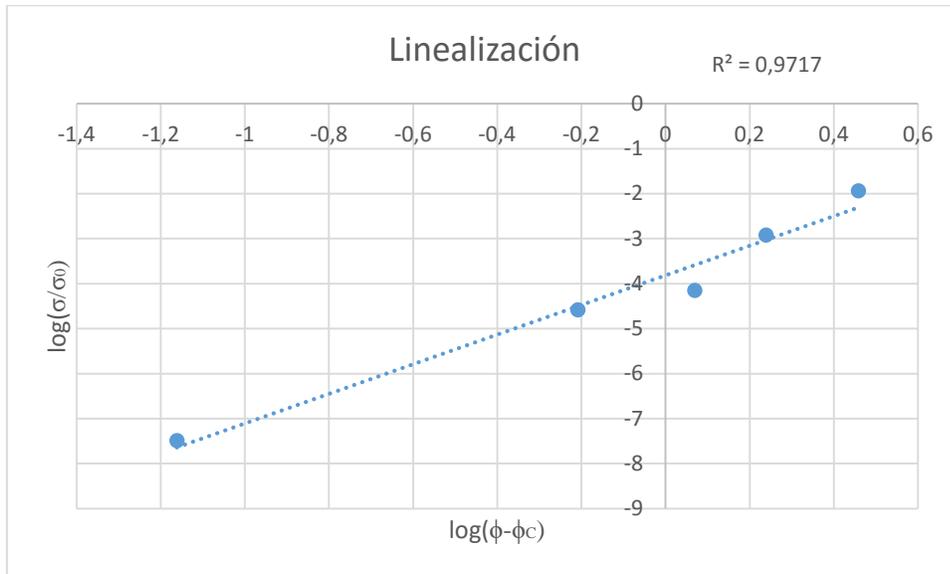
C : parámetro túnel, que varía de acuerdo a la dimensionalidad de la partícula,

ϕ : fracción volumétrica del relleno.

Bajo este modelo, el efecto de los rellenos a base de carbono en el umbral de percolación se explica mejor teniendo en cuenta la distancia media entre partículas relacionada con la probabilidad de contacto entre partículas conductoras. Esta distancia entre partículas depende de la relación de aspecto y el tamaño de las partículas.

ANEXO C. DETERMINACIÓN PUNTO DE PERCOLACIÓN Y EXPONENTE CRÍTICO

Con los datos experimentales para los compósitos con TrGO se determinó el punto de percolación θ_c considerando solamente los puntos percolados, a través de un ajuste lineal del gráfico $\log(\sigma/\sigma_0)$ versus $\log(\theta - \theta_c)$ (ecuación (6)). El mejor ajuste (viendo el valor de R^2) determinaba el umbral de percolación, como se ve en la siguiente figura.



Como dato se utilizó el valor de conductividad eléctrica para el TrGO [53, 50]:

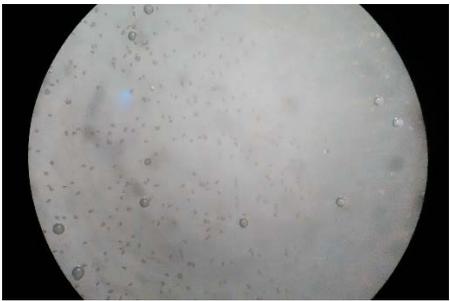
$$\sigma_{TrGO} = 10^4 \left[\frac{S}{m} \right]$$

Posteriormente se obtuvo el exponente crítico utilizando la herramienta Solver de Excel, la cual se basa en la minimización de la suma de los cuadrados para ajustar los valores experimentales a la ecuación teórica.

ANEXO D. FOTOGRAFÍAS DE ENSAYOS DE MICROBIOLOGÍA

Para realizar el conteo de las colonias obtenidas después del ensayo se utilizó un aumento de 6X. Las fotografías a continuación son de una sección representativa de los cultivos.

Material	E. coli	S. aureus
PLA		
5%TrGO		
10%TrGO		
10%TrGOe-		

3%GO		
5%GO		

Esta página ha sido intencionalmente dejada en blanco