

SÍNTESIS DE NANOCOMPUESTOS DE CELULOSA PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS EN BASE A SUS PROPIEDADES MECÁNICAS

Guillermo H. Riva R., José A. Silva G., Fernando Navarro A., Fernando López-Dellamary T., Jorge R. Robledo O.

Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. Correo electrónico: guillermorivareyes@yahoo.es

Recibido: Abril 2013; Aceptado: Noviembre 2013

RESUMEN

La presente investigación aborda la elaboración de nanocompuestos empleando ácido poliláctico (PLA) como matriz polimérica y nanocristales de celulosa (NCC) como elemento reforzante. Las concentraciones fueron de 0,5, 1,0, y 2,0% de NCC (p/p). Dada la poca afinidad entre los NCC y el PLA, a los NCC se les intercambió de disolvente vía rotovaporación (etanol–acetona) para luego ser agregados a cloroformo, el cual se agregó finalmente al PLA disuelto. El material fue extruido e inyectado para luego proceder con los ensayos mecánicos y la caracterización de mismo. Las pruebas de tensión y módulo de elasticidad arrojaron mejoras significativas con el agregado de NCC en comparación con el PLA puro.

Palabras claves: Nanocompuestos, nanocristales de celulosa, extrusión/inyección, ácido poliláctico

ABSTRACT

This research shows the elaboration of nanocomposites using polylactid acid (PLA) as polymeric matrix and cellulose nanocrystals (CNC) as reinforcement element. The concentrations were of 0.5, 1.0 and 2.0% (w/w). Because the poor affinity between PLA and CNC, a solvent exchange was applied to CNC employing ethanol and acetone for then mixed with PLA dissolved in chloroform. The material was extruded and injected and after that, mechanical tests and respective characterizations were made. The tensile test and *Young* modulus showed significative improvements with the aggregation of CNC in comparison with pure PLA.

Keywords: nanocomposites, PLA, CNC, extrusion/injection

INTRODUCCIÓN

Los nanocompuestos como todos aquellos elementos conformados por partes a escala nanométrica (de 1 a 100 nm) en combinación con una matriz polimérica, la cual puede ser alcohol polivinílico, hidroxipropilcelulosa o polietilenglicol, así como polietileno, polipropileno entre otros. [1]. De acuerdo a su dimensionalidad, los nanocompuestos pueden ser clasificados *nanopartículas* (dimensionalidad cero), *nanofibras* (unidimensional), *nanocapas* (bidimensional) y la *red impermeable y/o impenetrable* (tridimensional). Por la estructura laminar los nanocompuestos pueden ser *Intercalados* (cuando la cadena polimérica alterna con un numero definido de capas inorgánicas) y *Exfoliados* cuando el número de capas poliméricas es variable y no supera los 100 Armstrong de espesor. Según *Dufresne* [2], los nanocompuestos son materiales nuevos que mejoran

drásticamente las propiedades debido a la incorporación de cantidades pequeñas (< 10% en peso) de nanomaterial a modo de refuerzo dentro de una matriz polimérica. En las aplicaciones biomédicas y de ingeniería de tejidos – en bionanocompuestos – estos nano rellenos se agregan a los biopolímeros, los cuales pueden ser compatibles y/o bioabsorbibles para formar materiales más rígidos, en los que se refuerza la resistencia, mientras que la biodegradabilidad/bioabsorbibilidad puede controlarse. Muchos intentos se han basado en el uso de nanopartículas como son los nanotubos de carbono, nanoarcillas y nanoapatitas para reforzar polímeros biodegradables a fin de aumentar las propiedades mecánicas y térmicas. Según *Habibi, Lucia y Rojas* [3], la celulosa es el material renovable más abundante producido en el planeta, teniendo una producción anual estimada en $7,5 \cdot 10^{10}$ toneladas. La celulosa está ampliamente distribuida en plantas superiores, en varios animales marinos (tunicatos) y en grado menor en algas, hongos, bacterias, invertebrados e incluso en amebas (protozoarios), como por ejemplo *Dictyostelium discoideum*. En general, la celulosa es una sustancia fibrosa, dura e insoluble en agua que juega un rol esencial en mantener la estructura de la pared celular de las plantas. A través de distintos procesos mecánicos, químicos, enzimáticos o biológicos, es posible obtener nanofibras y nanocristales de celulosa, que son las formas estructurales más básicas de este polisacárido y son aquellas a las que brindan mejoras considerables en las propiedades mecánicas, las mismas que tienen un alto potencial para ser usados en múltiples formas, en particular como material reforzante para el desarrollo de nanocompuestos. Se han realizado muchos estudios para el aislamiento y caracterización de las nanofibras de celulosa a partir de fuentes variadas. Para *Kalia, Dufresne et al.* [4], las nanopartículas de celulosa se obtienen como suspensiones acuosas estables y muchas investigaciones se enfocan en polímeros tipo látex que sean hidrosolubles (o al menos hidrodispersables). La principal ventaja es que el estado de dispersión de las nanopartículas se mantiene en el medio acuoso del proceso. Después de la disolución del polímero hidrosoluble o hidrodispersable, la solución acuosa puede ser mezclada con la suspensión de las nanopartículas de celulosa. La mezcla consiguiente por lo general se vacía y se lleva a evaporación con el fin de obtener una película sólida de nanocompuesto. También puede obtenerse por liofilizado o por prensado en caliente.

Por su parte el ácido poliláctico (PLA) es un poliéster alifático, termoplástico y biodegradable el cual puede ser obtenido de fuentes renovables como el almidón, haciéndola una alternativa sustentable de los productos derivados de la industria petroquímica. Entre sus propiedades el PLA tiene buena rigidez y resistencia y está siendo usado en aplicaciones variadas, como empaques de alimentos, botellas de agua y leche, bolsas plásticas degradables así como aplicaciones de la

industria automotriz [4]. Los productos hechos de PLA son biodegradables y desaparecen en menos de 30 días en condiciones ideales [5]. Según *Ramírez* [6], por varias décadas, el PLA ha sido empleado en aplicaciones médicas, tales como sistemas de entrega de fármacos, implantes quirúrgicos y artefactos osteosintéticos. Este polímero puede ser producido por la polimerización del ácido láctico, vía dos diferentes mecanismos: Condensación directa y la formación del dímero cíclico intermedio (láctico). La biocompatibilidad del PLA y sus propiedades de degradación han sido bien entendidas, estando influenciadas principalmente por cuatro factores: una velocidad de hidrolisis constante de los enlaces éster, el coeficiente de difusión del agua en la matriz polimérica, el coeficiente de difusión de los fragmentos de cadena dentro de la cadena polimérica y la solubilidad del producto degradado. Según *Madhavan Nampoothiri et al.* [7] los poliláctidos en general son soluciones en disolventes orgánicos como ciclohexano, acetonitrilo, clorofomo, cloruro de metileno, 1,1,2-tricloroetano y ácido dicloroacético. Por otro lado, el etil benceno, tolueno, acetona y tetrahidrofurano pueden disolverla solo de modo parcial en condiciones de baja temperatura, aunque la solubilidad empleando estos disolventes sea mucho más probable cuando se calientan o alcancen la temperatura de ebullición.

Aparte de la liberación de subproductos no citotóxicos durante la degradación, el PLA tiene algunas otras ventajas como la alta cristalinidad, lo que proporciona una mayor resistencia, temperaturas de transición vítreas en el intervalo de 60 – 70°C y una temperatura de fundido de entre 170 y 180°C. Sin embargo, una de las principales ventajas del PLA es que puede ser fácilmente adaptado para modificaciones de material. Uno de los principales intentos por mejorar las propiedades físicas y químicas es vía copolimerización, aunque el PLA también puede ser electrohilado a fin de incrementar su área superficial, porosidad, permeabilidad, así como sus propiedades mecánicas. Se ha reportado que a través del electrohilado es posible producir estructuras tridimensionales de PLA con un alto grado de porosidad que pueden actuar como andamios celulares en ingeniería de tejidos [8–10]. Se pueden producir fibras ultra finas de PLA en un rango nanométrico a fin de incrementar el área superficial de la estructura del material [11]. Debido al enorme potencial que tienen las micro y nanofibras de PLA en la ingeniería de tejidos, muchas investigaciones se han enfocado en la modificación de la matriz a fin de mejorar la respuesta celular.

Los biopolímeros de uso potencial para el área biomédica, deben de contar con las características biológicas, físicas y mecánicas deseadas para el sector de salud. La celulosa cumple con las características de biocompatibilidad con el órgano y/o tejido circundante donde vaya a ser

incorporada [12]; a su vez, presenta niveles mínimos de toxicidad que contribuyen al desarrollo celular para regenerar el tejido u órgano dañado, entre otras [13]. Este biopolímero también presenta propiedades mecánicas y características utilitarias comprobadas, ya sea en sus formas de nanofibras o *nanowhiskers* [5], por lo que ha atraído el interés de los investigadores como material de refuerzo. La celulosa es una opción viable para la elaboración de nanocompuestos con capacidad de reemplazo, agente regenerador o soporte estructural de diversos tejidos y partes del cuerpo humano [14]. Por otro lado, también se busca que estos materiales sean amigables con el medio ambiente, que permitan una producción a escala industrial [15] y que tengan un origen biológico. Todo lo anterior les otorga una ventaja comparativa frente a los materiales convencionales empleados como las cerámicas, metales y polímeros [16].

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales. Alfa Celulosa (*Neucel Company Cellulose Ltd.*), grado de desacetilación > 85% (*Sigma Aldrich*), ácido poliláctico (PLA) *InGeo 2003D*, para extrusión, ácido sulfúrico (al 98%), cloroformo, acetona y etanol absoluto, membranas de diálisis, equipos de extrusión, inyección, microscopía y caracterización analítica para el procesamiento de los nanocompuestos.

METODOLOGÍA

Obtención de nanocristales de celulosa (NCC). Para la obtención de los nanocristales se empleó el método desarrollado inicialmente por *Revol et al.* [17] y modificado posteriormente por *Orts et al.* [18] y *Bondeson et al.* [19]. El material es molido y tamizado previo al tratamiento de hidrólisis ácida. La proporción celulosa/ácido fue de 1:10 (peso/volumen). La hidrólisis tuvo una duración de 60 minutos y la concentración del H_2SO_4 fue de 64%. El licor resultante es combinado con agua desionizada fría en una proporción 1:10 (volumen/volumen). Tras centrifugaciones sucesivas el gel resultante se agrega en membranas de diálisis, las mismas que se lavaron en agua desionizada hasta que el pH del efluente sea de 7. Posteriormente se dispone de la parte transparente de las membranas de diálisis para utilizar un tratamiento de ultrasonido por un periodo de tiempo de 6 minutos para la dispersión y separación de los nanocristales de celulosa. Finalmente la solución será filtrada y almacenada en frío de forma hermética.

Intercambio de disolvente de los nanocristales de celulosa (NCC). Se empleará un intercambio de solvente de NCC (de acuoso a orgánico). A los NCC en solución se aplicarán sucesivos procesos de rotovaporación con etanol y acetona para arrastrar la mayor cantidad de

agua de los NCC buscando que la sustancia resultante sea menos reactiva con el cloroformo, dado que los NCC son hidrófilos y el PLA es hidrófobo. Posterior a ello, los NCC serán combinados con cloroformo bajo agitación vigorosa previo al mezclado con el PLA disuelto.

Extrusión e inyección de los nanocompuestos. Para la extrusión e inyección de los nanocompuestos, se seguirá el procedimiento establecido por *Jonoobi et al.* [5]. La mezcla base será combinada con PLA como matriz polimérica hasta alcanzar las concentraciones de nanocristales establecidas (0,5, 1, y 2%). Los compuestos se agregaron a la extrusora, la que presentó un perfil de temperatura en el intervalo de 135 hasta 180 °C. La velocidad de rotación considerada es de 90 RPM. Seguido de la extrusión se peletizaron los hilos y éstos se secaron a 55°C durante 6 horas previo al moldeo por inyección. El intervalo de temperatura empleado fue de 160 hasta 190°C. El tiempo de inyección fue de 30 segundos, el avance del husillo de 21 mm y la presión de inyección de 75 MPa. Para estos procesos se trabajó con un extrusor de doble husillo marca *Leistritz* modelo *Micro 27 GI/GG-36 L/D* y con una inyectora *Nissei* modelo ES-100 serie ELJEC 12-E, respectivamente.

Caracterización de los nanocompuestos. *Microscopía de fuerza atómica (ATM).* Se seguirá la metodología trabajada por *Zimmermann et al.* [20], en la cual los especímenes serán cortados en porciones de 5·5 mm² y se pegarán en recipientes para muestras hechos de aluminio. Seguidamente se examinarán con un microscopio de fuerza atómica. Los especímenes serán escaneados empleando una punta de silicón de 10 nm de radio. Los especímenes se trabajaron en condiciones de humedad y temperatura ambiente.

Espectroscopia de absorción infrarroja (IR). La espectroscopia IR se realizó a fin de determinar cambios en los grupos funcionales del compuesto a consecuencia de los tratamientos químicos previos. Cantidades adecuadas de NCC en polvo y de las diferentes formulaciones de nanocompuesto se evaluarán en un espectrómetro IR en modalidad transmitancia dentro del intervalo de 4.000 a 500 cm⁻¹. El equipo a emplear para esta caracterización fue el espectrómetro marca *Perkin Elmer* modelo *Spectrum GX FT-IR System*.

Evaluación de las propiedades mecánicas. Para las pruebas de tensión y flexión se emplearán las máquinas de ensayo universal marca *Instrom* modelo 4411 y la *United* modelo SFM-10, respectivamente. Las dimensiones de las probetas posterior a la inyección de los nanocompuestos se basaron en las normas ASTM 638D.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Sobre los NCC. Según las imágenes obtenidas por el AFM, los nanocristales de celulosa obtenidos por hidrolisis ácida con H_2SO_4 presentaron longitudes de entre 60 y 200 nm con un promedio de 130 ± 30 nm. Los diámetros tienen 13 nm en promedio. La relación promedio (L/D) oscila entre 12/1 – 15/1. Se puede apreciar en las imágenes que hay aglomeraciones en los nanocristales de celulosa, como consecuencia de las fuertes interacciones de enlaces de hidrógeno entre los mismos, fenómeno que se pudo apreciar en distintas investigaciones llevadas a cabo por *Jonoobi* [5], *Hossain* [21], *Roman* y *Winter* [22]. Por otro lado, las dimensiones de los NCC obtenidos se encuentran en el mismo intervalo que los obtenidos de otras materias primas vegetales bajo la misma modalidad *Cherian et al.* [23] y *Ramires y Dufresne* [24].

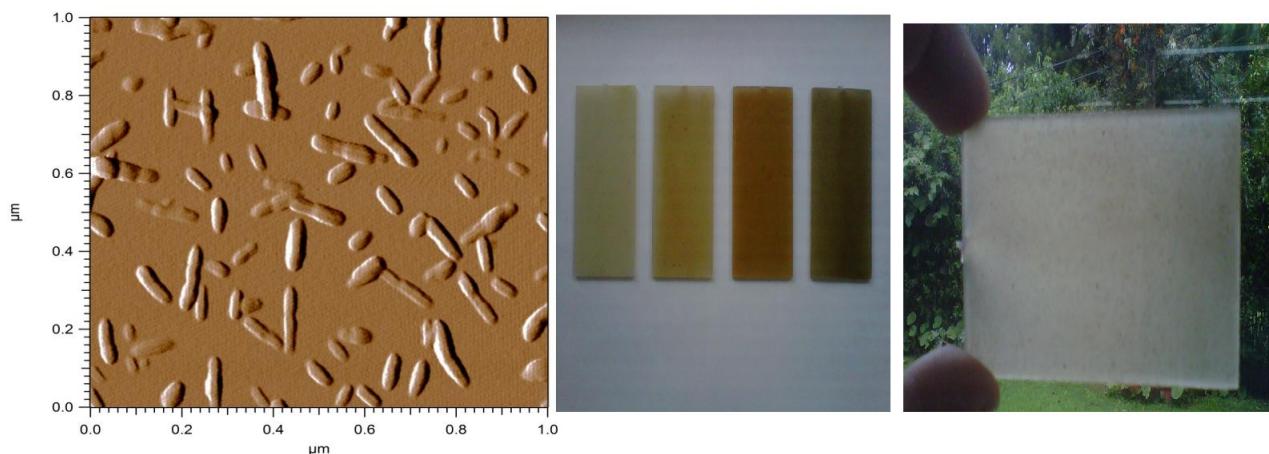


Figura 1. Imagen AFM de los NCC.

Figuras 2 y 3. Nanocomuestos de PLA + NCC posterior a la inyección

En la extrusión de los nanocomuestos. Las tres formulaciones presentaron puntuaciones oscuras en los hilos de extrusión. Este fenómeno óptico que generan los NCC como líquidos nemáticos quirales, el cual se apreció en el experimento de determinación de concentración de NCC en medio acuoso, estas puntuaciones corresponden a aglomeraciones de los NCC en la matriz polimérica. Este fenómeno también coincide con *Jonoobi* [5], *Hossain* [21] en la observación de una mayor cantidad de aglomeraciones a una mayor concentración. El fenómeno de una coloración más opaca también es causado por la elaboración de la mezcla base o del nanocomuesto en un ambiente no inerte, dado que la presencia de oxígeno contribuye a la oxidación de diferentes materiales y por ende, a una coloración más opaca. Asimismo este fenómeno puede estar provocado por la liberación de alguna traza del disolvente atrapado en la molienda de la mezcla base. La

liberación de burbujas o agua del interior del hilo por acción de las temperaturas generó una textura corrugada en la parte superficial en algunos tramos del nanocompuesto.

En la inyección de los nanocompuestos. Se apreció el mismo fenómeno de oscurecimiento de las placas conforme las formulaciones tuvieran una mayor cantidad de NCC. En una primera inyección con la formulación de nanocompuestos al 0,5%, se observó que había un cambio gradual de coloración de las placas, pasando de un color claro a una tonalidad más opaca aunque traslúcida a contraluz. Esto se debió a que una pequeña parte de la formulación fue inyectada directamente sin aplicársele el tratamiento de pre-secado. Este percance se enmendó en una segunda ocasión en donde los *pellets* se secaron al igual que el resto de formulaciones. En relación con este fenómeno óptico, las formulaciones secas ya no presentaron variaciones en el color.

Propiedades mecánicas de los nanocompuestos. Se evaluó la resistencia a la tensión, el porcentaje de deformación y el módulo de elasticidad. Con respecto a los valores de tensión, se encontró que los nanocompuestos presentaron rendimientos superiores a los obtenidos con el PLA puro, como puede apreciarse en la Tabla 1. El porcentaje de mejora en el esfuerzo en tensión fue de 136% para la formulación de NCC (0,5%) + PLA, 117% para la formulación de NCC (1,0%) + PLA y de 90% para la formulación de NCC (2,0%) + PLA en comparación con el PLA puro.

Solo en el caso del módulo de elasticidad las formulaciones de NCC (0,5%) + PLA y NCC (1,0%) + PLA presentaron mejoras en los valores. La formulación NCC (2,0%) + PLA obtuvo menores rendimientos que el PLA puro.

Tabla 1. Valores de la tensión y el módulo de *Young*.

Fórmula	Tensión	Módulo de Young
PLA	24,2 MPa	1.762,8 MPa
NCC (0,5%)	57,3 MPa	2.031,2 MPa
NCC (1%)	51,7 MPa	1.793,3 MPa
NCC (2%)	46,1 MPa	1.746,7 MPa

Tabla 2. Valores comparativos de la cristalinidad de los nanocompuestos de PLA + NCC.

Formulación	% cristalinidad
PLA puro	33,16
NCC (0,5%) + PLA	24,38
NCC (1,0%) + PLA	26,99
NCC(2,0%) + PLA	29,71

Los mejores resultados son ofrecidos por la formulación NCC (0,5%) + PLA, no cumpliéndose la tendencia de que una mayor concentración de nanocristales aumentaba y/o mejoraba las propiedades mecánicas del nanocompuesto. La formulación de NCC+PLA (1%) fue bastante similar a la de 0,5% aunque menor y la de (2%) ya manifiesta un rendimiento decreciente. La causa de este fenómeno se debe principalmente a la irregular dispersión de los NCC en la matriz polimérica. Las cantidades de cloroformo empleadas para dispersar los NCC previo a la mezcla base fueron aceptables para la concentración de 0,5% pero insuficientes para las formulaciones de 1 y 2% (en los tres casos se emplearon 500 mL de cloroformo para dispersar los NCC).

Calorimetría diferencial de barrido de los nanocompuestos (DSC). Los resultados del DSC mostraron una tendencia de aumento de la cristalinidad conforme aumentaba la concentración de NCC en cada formulación. El valor de la T_g fue de 58°C en promedio para las 4 formulaciones, así como una temperatura de cristalización en frío de 109°C. Ninguno de los valores de cristalinidad de los nanocompuestos superó el valor mostrado por el PLA puro (Tabla 3), fenómeno que no se apreció en los trabajos anteriores de *Pei et al.* [25], o de *Shi et al.* [26]. Esto pudo tener como causas la irregular dispersión de los NCC en la matriz, así como menores concentraciones de NCC en la matriz (los autores mencionados trabajan con concentraciones mayores al 2%); aunque según lo reportado por *Shi et al.* [26], a concentraciones menores de NCC, éstos actúan como agentes nucleadores de las moléculas de PLA, mejorando su cristalización, siempre y cuando la dispersión de los NCC sea homogénea, afirmación establecida en el estudio realizado por *Pei et al.* [25]. El incremento en la presencia de los picos sugiere a que un incremento del contenido de NCC promueve el reordenamiento de los segmentos de PLA y la formación de fases cristalinas heterogéneas de PLA durante la cristalización térmica [26].

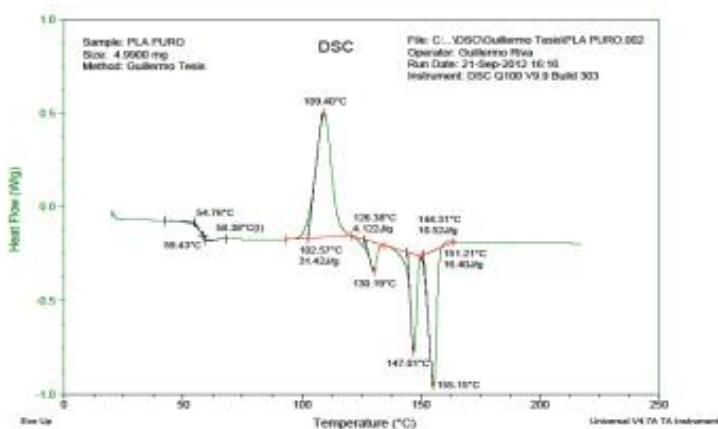


Figura 4. Curvas calorimétricas del PLA puro.

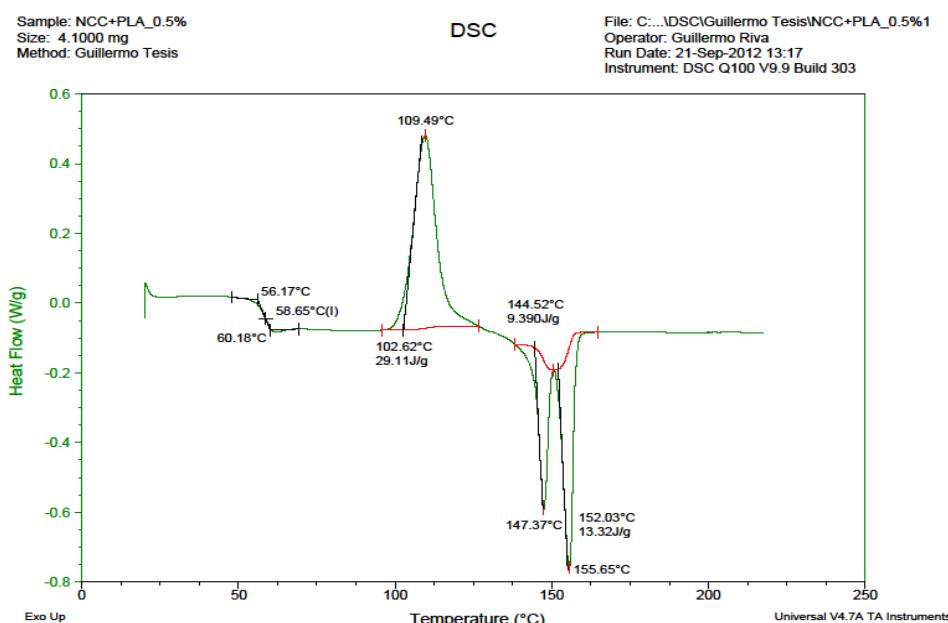


Figura 5. Curvas calorimétricas del PLA + NCC 0,5%.

Espectroscopia IR. Se evaluó la celulosa en su forma de nanocristal, así como los diferentes nanocomuestos según la formulación. En el caso de los NCC, se identificaron sus grupos funcionales entre los rangos de 3.340, 3.290 y 3.260 cm^{-1} , correspondientes a los estiramientos vibracionales de los grupos O–H y los enlaces de hidrógeno. Las bandas en 2.893 y 1.434 cm^{-1} son atribuidos a los estiramientos de los grupos C–H y CH_2 ; por su parte, el pico en 1.644 cm^{-1} representa la confirmación de los estiramientos de los grupos O–H en la estructura de los nanocristales. Las bandas en 1.304, 1.158, 1.052, y 1.026 cm^{-1} corresponden a enlaces C–C, un estiramiento en el puente del enlace glucosídico de la celulosa (C–O–C) y a los estiramientos C–O en las posiciones C–6 y C–3 de la celulosa, respectivamente. En el caso del PLA, los picos en 2.994 y 2.945 cm^{-1} corresponden a los estiramientos de los grupos C–H y CH_2 . El pico en 1.748 cm^{-1} es típico de enlaces éster C=O, al igual que el pico en 1.083 cm^{-1} del enlace –C–O–. Los picos en 1.452, 1.381 y 867 cm^{-1} son atribuidos al estiramiento asimétrico del grupo CH_3 , la deformación simétrica del – CH_3 y al grupo C–H en la matriz, respectivamente. Ya en los espectros de los nanocomuestos de NCC – PLA de 0,5 y 1% el pico de 3.334 cm^{-1} desaparecen, lo que sugiere que hay una pequeña cantidad de NCC en los nanocomuestos. Sin embargo, este pico reaparece de modo muy leve en la formulación de NCC–PLA 2%, debido a que la concentración de NCC aumenta. La banda a 1.750 cm^{-1} representa el grupo C=O del PLA en todos los nanocomuestos. La intensidad de los picos en 1.041 y 1.082 cm^{-1} corresponden al grupo C–O de la estructura de los

NCC, la misma que aumenta conforme aumenta la concentración de NCC en las formulaciones.

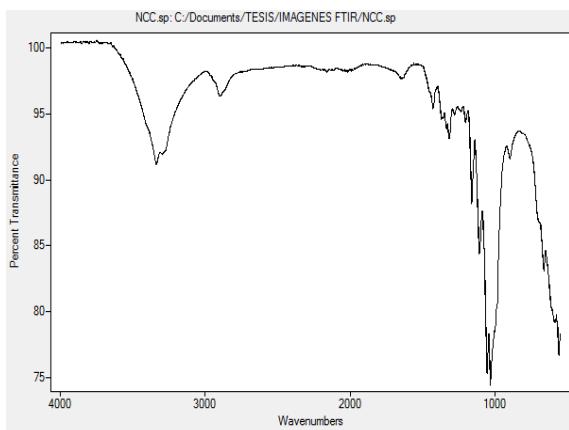


Figura 6. Espectro IR del PLA puro.

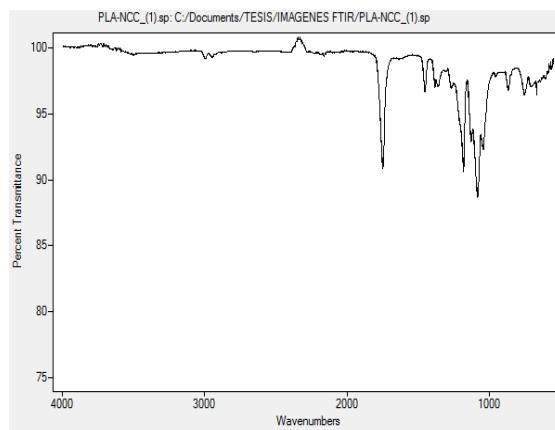


Figura 7. Espectro IR del PLA + NCC 1%

CONCLUSIONES

En la presente investigación se elaboraron nanocompuestos de celulosa y ácido poliláctico bajo la modalidad de mezcla base (*master batch*), extrusión e inyección. Se estudiaron cuatro formulaciones: PLA puro, PLA+NCC (0,5%), PLA+NCC (1,0%) y PLA+NCC (2,0%). Para superar la poca afinidad entre los NCC y la matriz se aplicó un intercambio de solvente vía rotoevaporación, la que tuvo un resultado aceptable hasta la formulación PLA+NCC (0,5%). Los resultados en propiedades mecánicas mostraron que el agregado de NCC mejora las propiedades del nanocompuesto en comparación con la matriz pura de un modo significativo (principalmente en tensión, módulo de elasticidad), aún a pesar de que la dispersión de los NCC no fue homogénea a concentraciones mayores dado el fuerte efecto de los enlaces de hidrógeno de los nanocristales. Las propiedades térmicas también mostraron mejoras en la cristalinidad conforme la concentración de nanocompuestos fue mayor, al actuar como agentes nucleadores de las cadenas de PLA.

Agradecimientos. Al Servicio de Intercambio Estudiantil Alemán (DAAD) por otorgamiento de la Beca para realizar los estudios de Maestría en Ciencia de Productos Forestales en la *Universidad de Guadalajara* (Méjico) y a *Neucel Company Cellulose Ltd.* (BC, Canadá), por la donación de la alfa celulosa empleada para la obtención de los nanocristales.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Schmidt D, Shah D et al. "New advances in polymer/layered silicate nanocomposites." *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, **6**(3), 205 (2002)
- [2] Dufresne A "Processing of Polymer Nanocomposites Reinforced with Polysaccharide Nanocrystals", *Molecules* **15**(6), 4111 (2010)
- [3] Habibi Y, Lucia LA et al. "Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications." *Chemical Reviews*, **110**(6), 3479 (2010)

- [4] Kalia S, Dufresne A et al. "Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review." *International J. Polymer Sci.*, (2011)
- [5] Jonoobi M, Harun J, Mathew AP, Hussein MZ, Oksman K "Preparation of cellulose nanofibers with hydrophobic surface characteristics", *Cellulose* **17**, 299 (2010)
- [6] Ramirez M "Cellulose Nanocrystals reinforced electrospun poly (lactic acid) fibers as potential scaffold for bone tissue engineering". *Forest Biomaterials*. Raleigh, North Carolina State University 2010. Master of Science
- [7] Madhavan Nampoothiri K, Nair NR et al. "An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research." *Bioresource Technology*, **101**(22), 8493 (2010)
- [8] Chen J, Chu B, Hsiao BS "Mineralization of hydroxyapatite in electrospun nanofibrous poly(L-lactic acid) scaffolds", *J. Biomedical materials research part A.*, **79a** (2), 307 (2006)
- [9] Mendenhall J, Li D, Frey M, Hinestroza J, Babalola O, Bonnasaar L, Batt CA "Piezoelectric poly(3-hydroxybutyrate)-poly(lactic acid) three dimensional scaffolds for bone tissue engineering", *Materials Research Society*, 1025, (2008)
- [10] Ko EK, Jeong SI, Rim NG, Lee YM, Shin H, Lee B "In vitro osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and in vivo bone formation in composite nanofiber meshes", *Tissue Engineering: Part A*. **14**(12), 2105 (2008)
- [11] Kim HW, Lee HH, Knowles JC "Electrospinning biomedical nanocomposite fibers of hydroxyapatite/poly(lactic acid) for bone regeneration", *J. biomedical materials research part A.*, **79a**(3), 643 (2006)
- [12] Sannino A, Demitri C, Madaghiele M "Biodegradable Cellulose-based Hydrogels: Design and Applications", *Materials*, **2**, 353 (2009)
- [13] Shammuganathan K, Capadona J, Rowan S, Wedera C "Biomimetic mechanically adaptive nanocomposites", *Progress in Polymer Science*, **35**(1-2), 212 (2010)
- [14] Koyama S, Haniu H, Osaka K, Koyama H, Kuroiwa N, Endo M, Kim Y, Hayashi T "Medical Application of Carbon-Nanotube-Filled Nanocomposites: The Microcatheter", *Small* **12**(2), 1406 (2006)
- [15] Siró I, Plackett D "Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review", *Cellulose* **17**(3), 459 (2010)
- [16] Gardner DJ, Oporto GS, Mills R, Azizi Samir M "Adhesion and Surface Issues in Cellulose and Nanocellulose", *J. Adhesion Science and Technology*, **22**, 545 (2008)
- [17] Revol J-F, Godbout L, Dong XM, Gray DG, Chanzy H, Maret G "Chiral nematic suspensions of cellulose crystallites; phase separation and magnetic field orientation", *Liq. Cryst.*, **16**, 127 (1994)
- [18] Orts W, Shey J et al. "Application of Cellulose Microfibrils in Polymer Nanocomposites", *J. Polymers and the Environment*, **13**(4), 301 (2005)
- [19] Bondeson D, Mathew A, et al. "Optimization of the isolation of nanocrystals from microcrystalline cellulose by acid hydrolysis", *Cellulose*, **13**(2), 171 (2006)
- [20] Zimmermann T, Pöhler E, Schwaller P "Mechanical and Morphological Properties of Cellulose fibrils reinforced Nanocomposites", *Engineering Materials*, **12**(7), 1156 (2005)
- [21] Hossain KZ, Ahmed I, et al. "Physico-chemical and mechanical properties of nanocomposites prepared using cellulose nanowhiskers and poly(lactic acid)", *J. Materials Science* **47**(6), 2675 (2012)
- [22] Roman M, Winter WT "Effect of Sulfate Groups from Sulfuric Acid Hydrolysis on the Thermal Degradation Behavior of Bacterial Cellulose", *Biomacromolecules*, **5**(5), 1671 (2004)
- [23] Cherian BM, Leão AL et al. "Cellulose nanocomposites with nanofibres isolated from pineapple leaf fibers for medical applications", *Carbohydrate Polymers*, **86**(4), 1790 (2011)
- [24] Ramires EC, Dufresne A "A review of cellulose nanocrystals and nanocomposites", *TAPPI APRIL*, 9, (2011)
- [25] Pei A, Zhou Q et al. "Functionalized cellulose nanocrystals as biobased nucleation agents in poly(l-lactide) (PLLA) – Crystallization and mechanical property effects", *Composites Science and Technology*, **70**(5), 815(2010)
- [26] Shi Q, Zhou C et al. "Mechanical properties and in vitro degradation of electrospun bio-nanocomposite mats from PLA and cellulose nanocrystals", *Carbohydrate Polymers* **90**(1), 301 (2012)