



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE FÍSICA Y MATEMÁTICA

**“SÍNTESIS DE HIDROGELES POLIMÉRICOS CON INCLUSIONES
DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS POR EL MÉTODO DE
MICROEMULSIÓN INVERSA”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Presentado para optar por el grado académico de:

BIOFÍSICA

AUTORA: YAJAIRA ABIGAIL MAYORGA MORA

DIRECTORA: Biof. ROSA MARICELA ORMAZA HUGO, MsC.

Riobamba – Ecuador

2019

©2019, Yajaira Abigail Mayorga Mora

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Yajaira Abigail Mayorga Mora, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 11 de junio del 2019

Yajaira Abigail Mayorga Mora
0604622571

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE FÍSICA Y MATEMÁTICA

El Tribunal de titulación certifica que: El trabajo de titulación: Tipo: Experimental, **SINTESIS DE HIDROGELES POLIMÉRICOS CON INCLUSIONES DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS POR EL MÉTODO DE MICROEMULSIÓN INVERSA**, realizado por la señorita **YAJAIRA ABIGAIL MAYORGA MORA**; ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Biof. Rosa Maricela Ormaza Hugo DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	2019-06-11
Dr. Robert Alcides Cazar Ramírez MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	2019-06-11

DEDICATORIA

El camino para llegar aquí, ha sido largo y lleno de experiencias, y no lo habría logrado sin la ayuda, soporte y motivación incondicional de mi familia, que siempre ha estado para mí, es por eso que este trabajo de titulación está dedicado ellos. A mis padres, Julio, Patricia y Marco porque incluso cuando más difíciles se han visto las cosas tengo la certeza de que estarán para respaldarme, y no hay nada en el mundo que me llene más que el saber que están orgullosos de mí. A mis hermanas, que han sido y son mis amigas, mis compañeras, mis cómplices y la razón por la que quiero ser mejor, animándome a perseguir mis metas incluso cuando pierdo la fe en mi misma; Paty, Mel y Vane.

¡Les amo para siempre!

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, y a su cuerpo docente y administrativo; de manera especial a los docentes de la carrera de Biofísica, quienes compartieron su tiempo y conocimientos para mi formación académica y personal.

A la Biof. Rosita Ormaza, por su orientación y acompañamiento durante este trabajo de titulación, fundamental para llevarlo a cabo.

A mi familia entera y a mis amigos todos, porque gracias a su constante motivación y apoyo pude lograrlo.

La vida es maravillosa, y en mi caso tengo la suerte de estar rodeada de personas que me permiten disfrutarla cada día, tanta vida por vivir y tanta gente a la que agradecer. Este trabajo no es solo mío, le pertenece a todos quienes directa e indirectamente contribuyeron para que hoy sea una realidad.

Gracias infinitas.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	xv
SUMARY	xvi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	6
1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	6
1.1 Hidrogel	6
<i>1.1.1 Tipos de hidrogeles</i>	<i>8</i>
<i>1.1.2 Síntesis de hidrogeles.....</i>	<i>9</i>
<i>1.1.2.1 Polimerización.....</i>	<i>9</i>
<i>1.1.3 Polímeros.....</i>	<i>11</i>
<i>1.1.3.1 Polímeros naturales - Agarosa.....</i>	<i>12</i>
<i>1.1.4 Nanotecnología</i>	<i>13</i>
<i>1.1.4.1 Nanopartículas magnéticas (NPMs).....</i>	<i>14</i>
<i>1.1.5 Técnicas de caracterización.....</i>	<i>17</i>
<i>1.1.5.1 Generalidades.....</i>	<i>17</i>
<i>1.1.5.2 Espectrofotometría infrarroja</i>	<i>17</i>
<i>1.1.5.3 Microscopía electrónica de barrido</i>	<i>18</i>
<i>1.1.5.4 Refractometría</i>	<i>19</i>
CAPÍTULO II	21
2. MARCO METODOLÓGICO	21
2.1 Materiales	21
2.2 Equipos	23
2.3 Reactivos y compuestos	26
2.4 Hipótesis y especificación de las variables.....	28
2.5 Tipo y diseño de investigación	29
<i>2.5.1 Tipo de investigación: Experimental</i>	<i>29</i>
<i>2.5.2 Diseño de investigación: Factorial.....</i>	<i>29</i>
2.6 Métodos.....	32
<i>2.6.1 Limpieza de materiales</i>	<i>32</i>

2.6.2	<i>Síntesis y purificación de nanopartículas magnéticas (NPMs)</i>	32
2.6.3	<i>Síntesis de hidrogeles poliméricos con inclusiones de NPMs</i>	33
2.6.4	<i>Caracterización del hidrogel polimérico con inclusiones de NPMs</i>	35
2.6.4.1	<i>Espectrofotometría de absorción IR</i>	35
2.6.4.2	<i>Refractometría</i>	35
2.6.4.3	<i>Microscopía electrónica de barrido</i>	36
CAPÍTULO III		37
3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	37
3.1	Resultados de la caracterización de los hidrogeles poliméricos	37
3.1.1	<i>Resultados en espectrofotometría IR</i>	37
3.1.2	<i>Resultados en microscopía electrónica de barrido</i>	40
3.1.2.1	<i>Nanopartículas magnéticas</i>	40
3.1.2.2	<i>Hidrogeles poliméricos</i>	42
3.2	Análisis estadístico	46
3.2.1	<i>Resultados en refractometría</i>	46
3.2.2	<i>Supuestos</i>	47
3.2.2.1	<i>Supuestos del modelo de ANOVA</i>	47
3.2.2.2	<i>Supuesto de normalidad</i>	49
3.2.2.3	<i>Supuesto de varianza constante</i>	50
3.2.2.4	<i>Supuesto de independencia</i>	50
3.2.3	<i>Resultados del modelo estadístico para elegir el mejor tratamiento</i>	52
CONCLUSIONES		55
RECOMENDACIONES		56
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Características principales de las NPMs.....	14
Tabla 2-1: Principales métodos de síntesis de NPs, ventajas y desventajas	16
Tabla 1-2: Materiales	21
Tabla 2-2: Equipos utilizados	23
Tabla 3-2: Reactivos y compuestos utilizados en el presente trabajo	26
Tabla 4-2: Planteamiento de la hipótesis para el presente trabajo	28
Tabla 5-2: Combinaciones para los tratamientos del diseño experimental	30
Tabla 6-2: Modelo diseño trifactorial	32
Tabla 1-3: Resultados cuantitativos - EDX de NMPs.....	41
Tabla 2-3: Resultados experimentales de la medición de grados Brix para cada tratamiento del hidrogel	46
Tabla 3-3: Valores predichos y residuos para los porcentajes de grados Brix del hidrogel.....	47
Tabla 4-3: ANOVA del diseño trifactorial	51
Tabla 5-3: Modelo de regresión asociado al modelo de efectos fijos	52
Tabla 6-3: Identificación del mejor tratamiento para la síntesis de hidrogeles poliméricos	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Hidrogel a) hidratado, b) xerogel.....	7
Figura 2-1: Estructura interna de un hidrogel: a) convencional, b) semi-IPN	8
Figura 3-1: Representación esquemática de a) microemulsión aceite en agua (O/W), b) microemulsión agua en aceite (W/O).....	10
Figura 4-1: Microscopio electrónico de barrido	18
Figura 1-2: Sistema de equipos y materiales para síntesis de hidrogeles	34
Figura 1-3: Muestra de NPMs (magnetita) bajo el SEM a x1100 ampliaciones	41
Figura 2-3: Muestra de NPMs (magnetita) bajo el SEM a x110 ampliaciones	42
Figura 3-3: Hidrogel polimérico funcionalizado con NPMs en SEM a 7 kV	43
Figura 4-3: Hidrogel polimérico funcionalizado con NPMs en SEM a 15 kV	43
Figura 5-3: Poros en el hidrogel en SEM	44
Figura 6-3: Informe de espectro EDX / SEM de hidrogel	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: a) Espectro IR de NPMs	37
Gráfico 1-3: b) Espectro IR de hidrogel con NPMs.....	38
Gráfico 2-3: Espectros IR del hidrogel polimérico funcionalizado con NPMs	39
Gráfico 3-3: Prueba de normalidad	49
Gráfico 4-3: Prueba de varianza constante.....	50
Gráfico 5-3: Gráfica de independencia	50

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Preparación de materiales

Anexo B. Caracterización

Anexo C. Obtención de NPMs

Anexo D. Síntesis del hidrogel

Anexo E. Hidrogel obtenido

Anexo F. Muestras obtenidas aplicando el diseño experimental

Anexo G. Preparación de muestras para el SEM

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

NPs	Nanopartículas
NPMs	Nanopartículas magnéticas
SEM	Microscopio Electrónico de Barrido
EDX	Espectroscopia de Dispersión de Energía de Rayos X
FA	Factor: Concentración del polímero
FB	Factor: Temperatura de Fusión
FC	Factor: Tiempo de homogenización
FV	Fuente de variación
SC	Suma de cuadrados
SCA	Suma de cuadrados de la concentración
SCB	Suma de cuadrados de la temperatura
SCC	Suma de cuadrados del tiempo
SC(AB)	Suma de cuadrados de la concentración más la temperatura
SC(AC)	Suma de cuadrados de la concentración más el tiempo
SC(BC)	Suma de cuadrados de la temperatura más el tiempo
SC(ABC)	Suma de cuadrados de concentración, temperatura y tiempo
SCR	Suma de cuadrados residual
SCT	Suma de cuadrados total
GL	Grados de libertad
CM	Media cuadrática
CMA	Media cuadrática de la concentración
CMB	Media cuadrática de la temperatura
CMC	Media cuadrática del tiempo
CM(AB)	Media cuadrática de concentración y temperatura
CM(AC)	Media cuadrática de concentración y tiempo
CM(BC)	Media cuadrática de temperatura y tiempo
CM(ABC)	Media cuadrática de concentración temperatura y tiempo
CMR	Media cuadrática residual
CMT	Media cuadrática total
FT/IR	Espectrómetro Infrarrojo con transformada de Fourier

LCD	Pantalla de cristal líquido
HBL	Balace hidrofílico - lipofílico
W/O	Microemulsión agua-en-aceite
O/W	Microemulsión aceite-en-agua
T#	Tratamiento
°C	Grados Celsius
rpm	Revoluciones por minuto
ml	Mililitro
g	Gramos
mm	Milímetros
mg	Miligramos
min	Minutos
nm	Nanómetros
µm	Micrómetros
cm	Centímetros
kV	Kilovoltios
KeV	Kilo electronvoltios
NIPA	N-isopropilacrilamida

RESUMEN

El presente trabajo de titulación tuvo como objetivo sintetizar hidrogeles poliméricos con inclusiones de nanopartículas magnéticas (NPMs), mediante el método de polimerización en microemulsión inversa. El procedimiento se dividió en dos partes; la primera consistió en la síntesis de las NPMs y la segunda en la estructuración propia del hidrogel funcionalizado con las NPMs, que a su vez consistió en la mezcla de dos disoluciones específicas. Se utilizó un diseño factorial consistente en 27 tratamientos con dos repeticiones cada uno, con el que se estudió la influencia de tres factores: concentración del polímero, temperatura de fusión y tiempo de homogenización sobre el grado de saturación de los hidrogeles finales. Se consideraron concentraciones en razón de 0.04, 0.05 y 0.06% en masa de agarosa, combinados a 50, 60 y 70°C por intervalos de 7, 10 y 15 min para la homogenización. Las muestras fueron caracterizadas por técnicas de espectroscopia IR, microscopía electrónica y refractometría; logrando comprobar la presencia de grupos funcionales, tales como hidroxilo con un pico en 3311.18 cm⁻¹, el pico en 709 cm⁻¹ correspondiente al enlace Fe-O-Fe de la hematita y el pico característico de la agarosa en 994.125 cm⁻¹, atribuido al enlace 3,6 anhydrogalactosa; y, además, se pudo observar la distribución homogénea que presentaron las NPMs en torno al hidrogel. Los resultados más favorables se obtuvieron al aplicar el nivel medio del tratamiento (0,05% de agarosa), proporcionando un porcentaje de grados Brix del 69.59% en promedio. Con todo lo analizado, se puede concluir que el hidrogel sintetizado es químicamente estable, con una distribución homogénea de NPMs en su estructura, mismas que no saturan la muestra, abriendo la posibilidad de su uso posterior en transporte de sustancias.

PALABRAS CLAVES: <BIOFÍSICA>, <HIDROGEL POLIMÉRICO>, <NANOPARTÍCULA MAGNÉTICA (NPMs) >, <NANOTECNOLOGÍA>, <MICROEMULSIÓN INVERSA>, <POLIMERIZACIÓN>, <AGAROSA>, <MAGNETITA>.

SUMMARY

The objective of the present research work was to synthesize polymeric hydrogels with magnetic nanoparticle inclusions (NPMs) by the inverse microemulsion polymerization method. The procedure was divided into two parts; the first consisted in the synthesis of the NPMs and the second in the proper structuring of the hydrogel functionalized with the NPMs, which in turn consisted in the mixture of two specific solutions. A factorial design consisting of 27 treatments with two repetitions each was used, with which the influence of three factors was studied: concentration of the polymer, melting temperature and time of homogenization on the degree of saturation of the final hydrogels. Concentrations were considered based on 0.04, 0.05 and 0.06% by mass of agarose, combined at 50, 60 and 70 ° C for intervals of 7, 10 and 15 min for homogenization. The samples were characterized by IR spectroscopy techniques, electron microscopy and refractometry; achieving the presence of functional groups, such as hydroxyl with a peak at 3311.18 cm⁻¹, the peak at 709 cm⁻¹ corresponding to the Fe-O-Fe bond of the hematite and the characteristic peak of the agarose at 994.125 cm⁻¹, attributed to the 3,6 anhydrogalactose linkage; and, in addition, the homogeneous distribution of the NPMs around the hydrogel could be observed. The most favourable results were obtained by applying the medium level of treatment (0.05% agarose), providing a percentage of Brix degrees of 69,59% on average. With all the analyzed, it can be concluded that the synthesized hydrogel is chemically stable, with a homogeneous distribution of NPMs in its structure, which do not saturate the sample, opening the possibility of its later use in the transport of substances.

KEYWORDS: <BIOPHYSICS>, <POLYMERIC HYDROGEL>, <MAGNETIC NANOPARTICLE (NPMs)>, <NANOTECHNOLOGY>, <REVERSE MICROEMULSION>, <POLYMERIZATION>, <AGAROSE>, <MAGNETITE>.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, las propiedades de los nanomateriales han incrementado su desarrollo, captando así especial atención en la industria, ciencia y salud. Dentro estas estructuras se encuentran las nanopartículas; mismas que pueden ser incluidas en un tipo de material polimérico llamado hidrogel, que cuenta con gran versatilidad por las características de su síntesis, otorgándoles nuevas aplicaciones.

Por ello, se presenta esta propuesta de trabajo de investigación, la cual tiene por objetivo sintetizar hidrogeles poliméricos con inclusiones de nanopartículas magnéticas, por el método de microemulsión inversa; con el fin de encontrar las proporciones adecuadas de reactivos y sustancias que permitan obtener una cubierta adecuada y estable para las NPMs.

El documento consta de tres capítulos, dispuestos como Marco Teórico Referencial, Marco Metodológico y Marco de Resultados, respectivamente. En el capítulo I, se presentan los fundamentos teóricos en los que está basada la investigación; con una detallada descripción de los tópicos más importantes para llevarla a cabo y los conceptos más relevantes dentro de la misma.

En el capítulo II, se plantea el marco metodológico que permitió desarrollar este trabajo, puntualizando los procesos de síntesis de las NPMs, del hidrogel polimérico funcionalizado y su correspondiente caracterización por tres distintos métodos, explicados de manera puntual. También se definen los materiales, equipos y reactivos que intervinieron en el proceso.

Finalmente, en el capítulo III, se explican los resultados obtenidos y su respectiva discusión una vez terminado el trabajo. Así como, el tratamiento que proporcionó mejores resultados debido a sus características de concentración y tiempo de síntesis; y los grupos funcionales constituyentes del hidrogel sintetizado. Se establecen las conclusiones finales y algunas recomendaciones pertinentes.

ANTECEDENTES

El campo de la nanotecnología inició su desarrollo con las partículas ultrafinas, a nivel mundial a finales de los años ochenta. En la actualidad, Estados Unidos, Alemania y China, destacan frente a países en vías de desarrollo que también investigan y comienzan a producirla. Así mismo, Estados Unidos incentivó al resto del mundo en el año 2000 a través de la Iniciativa Nacional de Nanotecnología, obteniendo resultados favorables en América Latina, no sólo en grandes países como Brasil o Argentina, sino también en países pequeños como Uruguay, Perú o Chile; y, aunque escasas, también hay investigaciones en Guatemala, El Salvador y Ecuador (Foladori y Invernizzi 2012).

Las aplicaciones de hidrogeles forman parte de la cotidianidad, sus inicios se remontan a finales de los años cincuenta, cuando los científicos Wichterle y Lim, reportaron la preparación de un gel de metacrilato de 2-hidro-xietilo (HEMA), mismo que fue usado como material para lentes de contacto blandos; probando su biocompatibilidad en implantes. Así mismo, se usan como absorbentes para pañales y toallas femeninas, para separación en química analítica, para la preparación de elásticos, y en particular para la liberación controlada de fármacos (Hernández et al. 2003).

Hoy por hoy, el interés por los hidrogeles ha aumentado debido a su importancia en aplicaciones biomédicas (Foladori y Invernizzi 2012). Algunos de los trabajos más interesantes, han sido realizados en México, donde se detallan la síntesis de hidrogeles nanoestructurados mediante la polimerización en micro-emulsión inversa de un polímero, para obtener hidrogeles con mayor capacidad de hinchamiento y mejores propiedades mecánicas (Cortés et al. 2011); y el diseño, síntesis y caracterización de hidrogeles nanofuncionalizados con nanopartículas para su uso en liberación controlada de fármacos (Gonzales 2016).

En la literatura se reporta la síntesis de partículas entrecruzadas de poliacrilamida con diámetros de entre 50 nm, mediante este método usando sulfosuccinato de sodio (AOT) como tensioactivo, agua como fase dispersa y una fase continua, para obtener hidrogeles nanoestructurados que mostraron mayor capacidad de absorción de agua (Puig et al. 2001; Cortés et al. 2011).

Así también, se reporta un trabajo en el que se usa la polimerización en microemulsión inversa de N-isopropilacrilamida (NIPA), seguida por la adición de monómero en forma semi-continua para aumentar la relación monómero-tensioactivo, con lo cual se obtuvieron macrogeles nanoestructurados

en una sola etapa, los cuales presentaron mayor capacidad de hinchamiento y mejores propiedades mecánicas (Cortés et al. 2011).

IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En los últimos años el estudio de las nanopartículas magnéticas (NPMs), ha progresado considerablemente por su rol en el desarrollo de nanomateriales, y las grandes expectativas que se tiene para su uso en las ciencias biomédicas y biotecnológicas. De igual forma, éstas presentan diversas ventajas, tales como: bajo costo, tamaño, facilidad de manipulación por un gradiente de campo magnético externo y; además, su capacidad de modificación para unificar agentes biológicos (Pacheco et al. 2013).

La investigación de nanomateriales se aplica en numerosos campos de la ciencia, industria y salud, todos enmarcados en actividades de investigación y docencia, dentro de los cuales se puede distinguir el área biomédica. Estos usos requieren que las partículas empleadas sean estables, pudiendo ser usadas en recubrimientos y nanocompuestos para mejorar su bioactividad y en la detención temprana de enfermedades (Alameda y Carbajo 2012).

En nuestro medio actual, existe una ligera carencia de estudios sobre estos materiales, específicamente innovaciones que incluyan el recubrimiento por medio de polímeros, y su modificación en forma de hidrogeles que permitan usos en liberación controlada de fármacos, recubrimientos, agricultura, membranas de hemodiálisis, entre otros (Gutarra, Rueda and Corzo, 2017; Mijares, 2008).

En Ecuador, los estudios relacionados con el desarrollo de NPMs son limitados, particularmente en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), donde las investigaciones referentes a su síntesis y aplicaciones a nivel experimental son escasas. Tomando en cuenta esta necesidad, se busca un método que permita preparar hidrogeles poliméricos con inserciones magnéticas, que cuenten con un recubrimiento especial en la superficie, biocompatible, no tóxico y estable (Foladori y Invernizzi 2012).

JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Los hidrogeles poseen características poliméricas particulares: son hidrófilos, blandos, elásticos y en presencia de agua aumentan considerablemente su volumen (colapso o hinchamiento), conservando su forma hasta alcanzar el equilibrio físico-químico necesario, por lo cual, algunos hidrogeles son considerados materiales inteligentes (Katime, 2000; Katime, 2004).

Debido a su naturaleza polimérica y a su capacidad de absorber grandes cantidades de agua, se pueden sintetizar variando ciertos parámetros que originen cambios en su estructura acorde a los requerimientos planteados; haciendo posible la adición de ciertos materiales como las NPMs en su estructura, con el fin de darle nuevas propiedades. Por esto, los hidrogeles funcionalizados son de especial importancia, ya que además ofrecen la posibilidad de tratamientos más focalizado en el área médica (Escobar 2002) (Ramírez et al. 2014).

En base a lo mencionado anteriormente, es importante incursionar en la síntesis de un hidrogel que por las características de su envoltura polimérica presente alta estabilidad, gran capacidad antiadherente, biocompatibilidad y que mantenga sus propiedades al incluir las NPMs. Dentro de este estudio se analizarán las propiedades fisicoquímicas del hidrogel como composición, morfología y distribución de las NPMs (Ramírez et al. 2014).

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Sintetizar hidrogeles poliméricos con inclusiones de nanopartículas magnéticas (NPMs) mediante el método de microemulsión inversa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar física y químicamente el hidrogel sintetizado mediante métodos instrumentales.
- Determinar las características más representativas del método de síntesis utilizado.
- Analizar la forma en que las nanopartículas magnéticas se incorporan en el hidrogel polimérico.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1 Hidrogel

Un gel puede describirse como una forma de materia entre sólida y líquida, constituida por una red tridimensional de polímeros entrecruzados, cuya red se encuentra inmersa en un líquido evitando así su colapso, mientras que impide que el líquido pueda fluir libremente. Si este líquido es agua, el material se denomina hidrogel (Katime 2004; Hernández et al. 2003).

En función de la naturaleza de las uniones de la red tridimensional existen dos tipos de geles. Los geles físicos, poseen uniones no permanentes, con fuerzas de interacción de tipo Van Der Waals que dan origen a mallas no entrecruzadas, donde las cadenas se enredan entre sí para retener moléculas de líquido. Por otro lado, los geles químicos que poseen una reticulación más resistente, la red está formada por enlaces covalentes muy fuertes permitiendo que el soporte molecular se fije por los nodos covalentes que conforman la red (Gonzales 2016).

Los hidrogeles son estructuras poliméricas de alto contenido líquido, insolubles en agua, blandos y elásticos. Cuando se encuentran en presencia de un medio acuoso su volumen aumenta, manteniendo su forma hasta alcanzar un equilibrio físico-químico denominado máximo grado de hidratación; mientras que en estado deshidratado se presenta como un material sólido-cristalino denominado xerogel (Figura 1-1). Este cambio de estado es un proceso reversible (Gonzales 2016).

Este tipo de estructuras, pueden absorber muchos fluidos y llegar al estado de equilibrio, comprendiendo un 60-90% de fluido y solo un 10-30% del polímero (Escobar 2002; Gonzales 2016). La capacidad de estos materiales para absorber agua es de gran importancia en hidrogeles naturales como los de los músculos, tendones, o cartílagos (Katime 2004; Ramírez et al. 2014; Campos 2015).

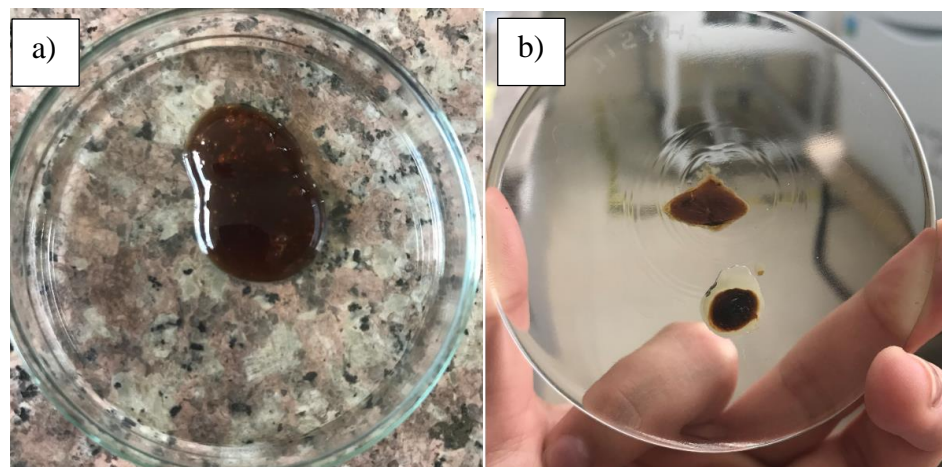


Figura 1-1: Hidrogel a) hidratado, b) xerogel

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

El interés en los hidrogeles se debe a su versatilidad, matriz porosa, alto grado de biocompatibilidad y propiedades físicas que los hacen similares a los tejidos vivos (baja tensión interfacial, estructura tridimensional) que le permiten almacenar moléculas pequeñas, lo que reduce la irritación por fricción de los tejidos con los que entran en contacto debido a su hidratación (Campos 2015).

Además, son materiales muy versátiles que no se disuelven a temperatura y pH fisiológico (Gonzales 2016). Su utilidad abarca biotecnología, farmacia, agricultura, y en medicina, pudiendo ser empleados como sistemas terapéuticos biodegradables, desintoxicantes sanguíneos, geles para electroforesis e implantes. Es por esto que durante los últimos años se han revisado métodos para la síntesis de hidrogeles utilizando biopolímeros como almidón, celulosa y polisacáridos naturales como la agarosa (Katime 2004; Ormaza, Coello y Basastes 2018; Escobar 2002).

Diversos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los hidrogeles sintetizados a partir de polímeros presentan alta biocompatibilidad, pues no se reporta necrosis ni infección en el tejido tratado (Ramírez et al. 2014). En el caso específico de tratamientos médicos, normalmente se recurre a una invasión desproporcionada cuando se necesita una acción más focalizada; particularmente en la terapia del cáncer, donde no hay distinción entre células afectando por igual a las células malignas y normales, lo que puede incluso provocar la muerte de las células sanas; el estudio de hidrogeles nanofuncionalizados es de especial importancia, pues ofrece la posibilidad de un tratamiento más focalizado (Escobar 2002).

1.1.1 Tipos de hidrogeles

Dependiendo de su estructura química y los componentes de su síntesis, tenemos:

- a) Hidrogeles copolímeros, se sintetizan para mejorar una propiedad específica en el material resultante, como el carácter hidrófilo y sensibilidad al pH.
- b) Hidrogeles de redes semi-interpenetradas (semi-IPN), se forman mediante la polimerización de un monómero en presencia de un polímero ya formado.
- c) Hidrogeles de doble red (DN), formados por dos redes IPN que mejoran sus propiedades mecánicas; son blandos, con baja tensión superficial y resistentes al deterioro.
- d) Hidrogeles híbridos, son una combinación de la matriz polimérica con partículas inorgánicas adaptando sus propiedades individuales, presentan una fase orgánica constituida por las cadenas de polímeros entrecruzadas y una fase inorgánica con la que pueden interactuar física o químicamente (Ramírez et al. 2014).

Los hidrogeles del tipo semi-IPN son usados como una estrategia para mejorar las propiedades mecánicas que presenta y añadir otras de distinta naturaleza a los hidrogeles en general. Como ejemplo de esto se muestra la figura 2-1, donde se puede observar la diferencia entre un hidrogel convencional y uno del tipo antes mencionado (Ramírez et al. 2014).

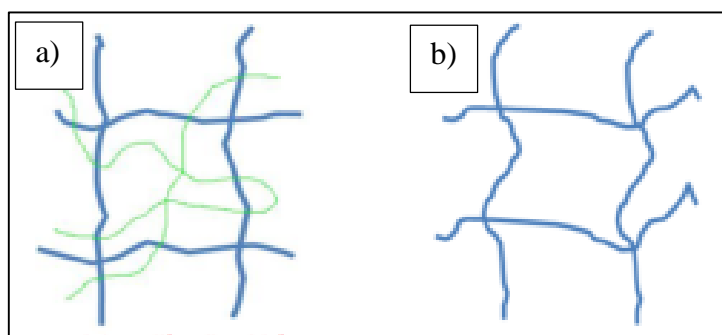


Figura 1-1: Estructura interna de un hidrogel: a) convencional, b) semi-IPN
Fuente: (Ramírez et al. 2014), Materiales polímeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización

La ventaja que brinda la inclusión de NPs en la síntesis de hidrogeles es que permite potenciar algunas de sus características principales, como dar por hecho la movilidad mecánica al utilizar NPMs y de

este modo centrar la atención en mejorar el índice de hinchamiento, o capacidad de absorber agua en su interior mediante modificaciones o variaciones en factores como la concentración del polímero, la densidad, tiempo de entrecruzamiento o temperatura de fusión de los elementos que intervienen en su síntesis (Escobar 2002).

1.1.2 Síntesis de hidrogeles

Los hidrogeles se pueden obtener mediante polimerización y entrecruzamientos simultáneo de uno o más monómeros, cuyas características serán las responsables de las propiedades del hidrogel final y su aplicación. Para la síntesis de los hidrogeles intervienen elementos típicos en cualquier reacción de polimerización: monómero, disolvente, surfactante y agente entrecruzante; los que permitirán la polimerización y formación del mismo (Cortés et al. 2011).

En algunos casos un solo monómero no proporciona buenas propiedades mecánicas y gran capacidad de absorción de agua al mismo tiempo, por lo que se puede recurrir a métodos como la copolimerización o inclusión de otros elementos en la estructura, obteniendo hidrogeles híbridos o nanoestructurados (Escobar 2002; Ramírez et al. 2014; Gonzales 2016).

1.1.2.1 Polimerización

Los procesos de polimerización se dividen en:

- a) Polimerización de condensación o reacción por etapas, ocurre entre dos moléculas polifuncionales, se produce una molécula mayor y se puede eliminar una molécula pequeña como el agua; esta reacción continúa hasta utilizar casi todos los reactivos. Es necesario establecer un equilibrio que puede ser manipulado controlando las cantidades de los reactivos y los productos (Billmeyer y Guerra 1975).

- b) Polimerización de adición o reacción en cadena, como su nombre lo indica, involucra reacciones en cadena donde el portador de la misma puede ser un ion o un radical libre que reacciona para abrir el doble enlace de un monómero y complementarlo, dejando un electrón desapareado; rápidamente muchos monómeros se suman a la cadena que crece, dos radicales libres reaccionan aniquilando recíprocamente su actividad de crecimiento y formando una o más moléculas de polímero (Billmeyer y Guerra 1975).

- c) Polimerización en microemulsión, esta a su vez puede ser directa o inversa. La última también se conoce como sol-gel o tipo agua-en-aceite de monómeros insolubles en agua, y permite la síntesis de partículas poliméricas de escala nanométrica (Cortés et al. 2011).

Una microemulsión es una dispersión termodinámicamente estable, isotrópica y microestructurada de líquidos estabilizados por una película de moléculas activas e inmiscibles. Su formación es espontánea, sin separarse en dos fases en el transcurso del tiempo (Tartaj et al. 2005). De este modo tenemos dos tipos de microemulsiones (figura 3-1):

- a) Microemulsiones directas (O/W), aquellas formadas por agua con estructura globular constituida por gotas de aceite dispersas en la fase acuosa. Las partes polares del tensioactivo están orientadas hacia el exterior de la micela, mientras que las cadenas hidrófobas están orientadas hacia el interior (Muñoz, Ochoa y Fernández 2005).
- b) Microemulsiones inversas (W/O): aquellas formadas por agua en aceite, de estructura globular constituida por gotas de fase acuosa dispersas en aceite. El ordenamiento de las zonas polares y no polares es inverso al anterior. Una microemulsión inversa consta de una fase oleosa (fase continua), una fase acuosa (fase dispersa) constituida por una disolución acuosa y un sistema tensioactivo que permite estabilizarla (Muñoz, Ochoa y Fernández 2005; Sanz 2016).

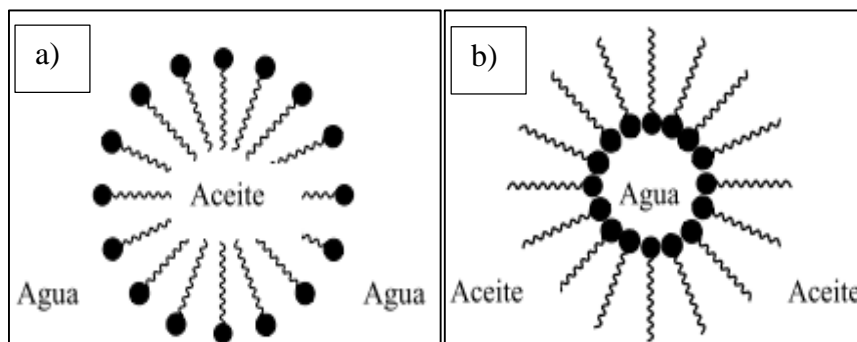


Figura 3-1: Representación esquemática de a) microemulsión aceite en agua (O/W), b) microemulsión agua en aceite (W/O)

Fuente:(Muñoz, Ochoa y Fernández 2005), Formación de microemulsiones de acrilamida

Es importante tener en cuenta las características del monómero a utilizar para la síntesis de los hidrogeles, pues de esto dependen las propiedades finales; así, los monómeros más utilizados pueden

ser los monómeros sustituyentes laterales no ionizables (N-vinil-2-pirrolidona, metacrilato de 2-hidroxi-etilo), monómeros con grupos funcionales ionizables (ácidos acrílicos, 4-vinilpiridina, acrilamida, metacrilamida, agarosa). Los hidrogeles preparados a partir de ellos presentan gran capacidad de absorción de agua, pero pobres propiedades mecánicas, y los monómeros cuyo grupo lateral consiste en dos grupos cargados y unidos a la cadena principal, se conocen como zwitteriónicos (Escobar 2002).

1.1.3 Polímeros

Los polímeros o macromoléculas son compuestos constituidos por la repetición de pequeñas unidades sencillas; esta repetición puede ser lineal o con cadenas interconectadas que dan lugar a retículos tridimensionales. La unidad que se repite es un monómero, material del que se forma el polímero. Las fuerzas entre moléculas son de enlaces secundarios, de atracción débil comparadas con las fuerzas de enlace primarias. Su alto peso molecular permite que estas fuerzas incrementen lo suficiente para darle a las sustancias resistencia, estabilidad dimensional y demás propiedades mecánicas (Billmeyer y Guerra 1975).

Adicionalmente, poseen propiedades mecánicas peculiares, pudiendo ser sometidos a fuertes deformaciones sin romperse, a la vez que son suaves y flexibles. Este comportamiento se debe a la gran cantidad de interacciones consistentes de varios tipos de enlaces intermoleculares y de arreglos físicos entre sus cadenas; cuya magnitud depende de la naturaleza de las fuerzas, la manera en que son compactadas y la flexibilidad que tenga la cadena polimérica (Armellini 2002).

Las cadenas lineales de los polímeros pueden compactarse en forma desordenada o amorfa y en forma ordenada o cristalina. A pesar de que estos dos tipos son similares a las de las moléculas pequeñas, la microestructura de los polímeros es más compleja; por lo tanto, podemos dividirlos en dos clases: los que son completamente amorfos en cualquier condición y los semicristalinos (Armellini 2002).

Los polímeros amorfos existen como cadenas entrecruzadas y enrolladas de manera aleatoria, solo una parte de las cadenas pueden moverse en cualquier tiempo. Análogamente, en los sistemas cristalinos el orden existe en los ciertos sitios llamadas cristalitas o laminillas, que están rodeadas por una matriz amorfa y no tienen la forma regular de la mayoría de los cristales orgánicos (Armellini 2002; Coreño y Méndez 2010).

Por otro lado, se tienen polímeros biodegradables, considerados así porque pueden ser usados en contacto directo con sistemas biológicos para aplicaciones médicas. Este tipo de polímeros puede clasificarse en cuatro categorías. Polímeros naturales como proteínas, celulosa, almidón. Polímeros naturales con modificaciones, en esta categoría se puede encontrar el acetato de celulosa y polialcanatos. Materiales compuestos, estos acoplan polímeros sintéticos con partículas biodegradables. Y polímeros sintéticos como los poliésteres, poliuretanos y poliesteramidas (Armelín 2002).

1.1.3.1 Polímeros naturales - Agarosa

Los polímeros naturales se han utilizado desde tiempos remotos, dado que los seres humanos siempre han dependido de materia vegetal y animal para su sustento y protección. Algunos polímeros naturales como las proteínas son monodispersos, otros como la celulosa o el polietileno son polidispersos y se constituyen por cadenas de distintos pesos moleculares (Billmeyer y Guerra 1975).

Las propiedades de los polímeros se relacionan con su naturaleza química, distribución, longitudes de la cadena y cantidad de aditivos; factores que modifican la dureza, resistencia química, respuesta biológica, retención de humedad, entre otras propiedades. Esta categoría engloba a los polímeros de mayor aplicación debido a su bajo coste y alta disponibilidad (Seymour y Carraher 1995).

Así, la agarosa constituye uno de los polímeros orgánicos más utilizados en análisis de biocompatibilidad, es un polisacárido derivado del agar que puede encontrarse en forma de polvo blanco que se disuelve en agua cerca de la ebullición (Dumitriu 2004). Dentro de sus propiedades podemos destacar su bajo efecto electroendosmótico en la difusión de proteínas (Arderiu, Castiñeiras y Queraltó 1998).

La agarosa natural contiene grupos metilo sin carga y grupos cargados como piruvato y sulfato; presenta una estructura lineal compuesta por la unidad repetitiva de agarobiosa; con enlaces dispuestos alternativamente: 1,3-linked β -D-galactopiranoses and 1,4-linked 3,6-anhydro- α -L-galactopyranose (Robinson 2010).

Una de sus características más relevantes es la transición sol-gel al enfriarse; este gel posee un modelo conformacional de doble hélice y el proceso es térmicamente reversible. En este estado, la agarosa forma mallas que contienen poros cuyos tamaños dependen de su concentración, presenta una

histéresis importante (diferencia entre temperatura de fusión y gelificación) y posee poros pentagonales suficientemente grandes para permitir el acceso de proteínas moleculares. En reposo los geles son propensos a la sinéresis (extrusión de agua a través de la superficie del gel), pueden tener alta resistencia a baja concentración, lo que lo hace adecuado como medio para la electroforesis en gel («Agarosas: tipos, aplicaciones y concentraciones» 2005; Dumitriu 2004).

Siendo un producto natural y no tóxico que puede ser manipulado libremente, presenta una amplia estabilidad física, química y térmica; y su menor grado de complejidad química también hace que sea menos probable que interactúe con las biomoléculas. Su temperatura de fusión y gelificación puede ser modificada mediante alteraciones químicas para usos específicos, pero en general gelifica alrededor de los 35°C y su punto de fusión bordea los 65°C («Agarosas: tipos, aplicaciones y concentraciones» 2005).

Además, su uso en geles es fácilmente modificable, por lo que es sencillo fijar a su estructura proteínas, antígenos, anticuerpos o enzimas; por estas características que se la emplea ampliamente en el campo de la bioquímica, biología molecular, ingeniería genética y microbiología («Agarosas: tipos, aplicaciones y concentraciones» 2005).

1.1.4 Nanotecnología

La nanotecnología, es definida como una actividad científico-tecnológica involucrada en el estudio, síntesis y aplicación de materiales y sistemas funcionales a través del control de fenómenos y propiedades de la materia a nano-escala; los cuales poseen características totalmente nuevas en comparación con los materiales a escala macroscópica. En los últimos 20 años, la nanotecnología ha sido un importante complemento de la evolución científica, gracias a estos avances se han podido resolver enigmas médicos y problemas “micro” con consecuencias “macro” (Ruiz 2014).

Dentro de este campo tenemos a las nanopartículas, que son partículas sintetizadas en el laboratorio con dimensiones menores a 100 nm; las propiedades y desempeño dependen de manera directa de su tamaño; a medida que disminuyen (entre 1 a 10 nm) los efectos de tamaño y superficie son más notables. Por ejemplo, se ha determinado el confinamiento de electrones, lo cual tiene interesantes aplicaciones en NPs metálicas y semiconductoras, como la aparición de efectos cuánticos que se pueden observar en sus propiedades magnéticas y electrónicas (Gutiérrez 2006).

La razón principal para el estudio de materiales a escala nanométrica reside en que es posible encontrar propiedades físicas nuevas; existiendo múltiples aplicaciones, quizás las más interesantes en el campo de la biomedicina. El origen de las propiedades que presentan las NPs están asociadas con los cambios en los niveles electrónicos y el incremento de los átomos de superficie; la energía superficial se vuelve el factor dominante que define la interacción con otros medios, a la vez que promueve la aglomeración de NPs que modifica sus propiedades (Chamé 2013).

1.1.4.1 Nanopartículas magnéticas (NPMs)

Si bien, existe diferentes tipos de NPs, durante las dos últimas décadas se han estudiado las propiedades magnéticas que presentan un tipo de partículas llamadas nanoiron, término que involucra a todas las NPs a base de hierro, como las NPs de hierro metálico o valencia cero (Fe^0 , ZVI), y las NPs superparamagnéticas de óxido de hierro (SPIONs) (Chamé 2013).

Típicamente, estas últimas constan de dos componentes: un núcleo de óxido de hierro y su recubrimiento. Por su parte el núcleo de las SPIONS puede estar compuesto por magnetita (Fe_3O_4) o maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) que es la forma cúbica ferrimagnética del óxido de hierro III, y difiere de la estructura de espín inversa de la magnetita. Las NPs superparamagnéticas se caracterizan por tener mayor susceptibilidad al alinearse por completo con el campo aplicado (Chamé 2013). En la tabla 1-1 se presentan algunas características de la NPMs.

Tabla 1-1: Características principales de las NPMs

Composición	Propiedades magnéticas	Biocompatibilidad
Fe_3O_4	Superparamagnetismo Gran susceptibilidad magnética Carece de histéresis	Si
FeAu	Comportamiento ferromagnético a temperatura ambiente	Si
FePt	Amplio rango de propiedades magnéticas	Si
FeCo	Alta anisotropía Alta coercitividad Magnetización de saturación moderada	No
Fe^0	Superparamagnetismo Magnetización con histéresis pequeña	Si

Fuente: Karely Chamé Fernández, 2013. (Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas)

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

En la actualidad se usan de forma habitual técnicas experimentales para fabricar, manipular y caracterizar partículas magnéticas, con potenciales aplicaciones en áreas como el almacenamiento de información, remediación ambiental y, principalmente, aplicaciones biomédicas donde tienen incidencia trascendental en procedimientos como la hipertemia, el transporte y dosificación de fármacos entre otras. Así mismo, se sabe que existen diversos tipos de NPMs como hierro, cobalto, oro, platino y paladio, siendo las más prometedoras las NPs de óxido de hierro debido a su estabilidad química y baja toxicidad (Chamé 2013).

Las propiedades de los materiales magnéticos y la forma en que son controladas y utilizadas permite: la separación magnética de células marcadas; el transporte de medicamentos terapéuticos o de radioisótopos; la destrucción de tumores; y además su uso como agentes de contraste en resonancia magnética. Además, las NPMs son consideradas inertes permitiendo su uso médico in vivo e in vitro (Chamé 2013).

El comportamiento magnético de las NPs depende tanto de su composición química, tamaño y estructura cristalina; por lo cual el proceso de obtención es muy importante. Se tienen diversos métodos para preparar NPs, como se muestra en la tabla 2-1. Sin embargo, de manera general se puede clasificar en: métodos físicos, consistentes en la subdivisión de los materiales en volumen (top down en inglés); y métodos químicos, que consisten en el crecimiento de NPs a partir de precursores moleculares (bottom up) (Chamé 2013).

Los métodos químicos son los más utilizados debido a que se basan en la precipitación de un núcleo metálico y su consiguiente crecimiento. Este procedimiento se realiza mediante la unión de sales que contienen un metal específico. En presencia del líquido adecuado las sales se descomponen y liberan iones metálicos, los cuales tienden a unirse formando partículas. Las NPs se obtienen si el crecimiento de las mismas se detiene cuando son pequeñas, lo cual se logra incluyendo agentes de recubrimiento que se adhieran a los átomos metálicos que evitan la adición de más átomos (Chamé 2013).

Para su uso, las NPMs deben estar conformadas por un núcleo de óxido de hierro, que puede ser magnetita o maghemita, con un recubrimiento biocompatible. La magnetita, o también llamada piedra imán, forma parte de los minerales de óxido de hierro, que está formada por la combinación de óxido ferroso-diférrico (Fe_3O_4) y, junto a la maghemita, constituye uno de los materiales magnéticos más utilizados. Es un mineral muy denso, frágil, medianamente duro, de color negro parduzco. Las

propiedades que la caracterizan son paramagnetismo, susceptibilidad magnética y magnetización carente de histéresis (Del Rio 2014; Chamé 2013).

Tabla 1-1: Principales métodos de síntesis de NPs, ventajas y desventajas

Método de síntesis	Ventajas	Desventajas
Molienda mecánica	Refinamiento de la microestructura de los materiales de partida hasta el régimen de nanoescala	Problemas para la obtención de NPs menores a 10 nm. Contaminación del equipo y el producto.
Condensación de gas inerte	Bajo contenido de impurezas	Contar con una cámara de guantes y utilizar un gas inerte
Sol-Gel	Controlar el tamaño de partículas, permite el crecimiento del núcleo de las NPs y sus aleaciones	Tiempo de fabricación. Uso de temperatura
Redox	Método de síntesis rápido	Parte del material se desperdicia al realizar más de dos reacciones
Proceso hidrotermal	Crea fases cristalinas que no son estables en el punto de fusión	Requiere de autoclaves que generalmente son costosas y no permite observar el crecimiento del cristal
Co-precipitación	Cuenta con métodos que permiten obtener mayor control	Se puede contaminar el material fácilmente
Poliol	Permite la obtención de partículas finas	Conocimiento del punto de ebullición de los materiales

Fuente: Karely Chamé Fernández, 2013. (Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas)

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

La magnetita es considerada como el material más magnético de todos los minerales naturales existentes en la Tierra; se emplea profundamente en forma de NPMs para todo tipo de aplicaciones industriales y biológicas, debido a que los óxidos de hierro, a pesar de su inicial magnetización más baja, ofrecen un gran potencial para formar NPMs oxidativamente estables con inmensas aplicaciones en entornos ricos en oxígeno (Del Rio 2014; García, Martínez y Ruiz 2011).

1.1.5 Técnicas de caracterización

1.1.5.1 Generalidades

De manera general, una vez sintetizado el hidrogel y las NPMs, la caracterización se puede llevar a cabo mediante diversas técnicas. En este caso, se utilizaron: espectrofotometría, refractometría y microscopía. Estas técnicas permiten conocer el tamaño y la dispersión o estructura tanto de las NPs como del gel polimérico. Cabe recalcar que, aunque no se realizó en este trabajo, se puede caracterizar las propiedades magnéticas a lo largo del proceso de producción o durante la experimentación para el desarrollo de sus aplicaciones y comprobar su respuesta a los campos magnéticos (Rayo y Guerrero 2014).

La dispersión de luz está basada en la interacción de la radiación electromagnética con partículas de tipo coloidal o molecular y permite obtener información de la estructura de las mismas. Esto resulta esencial para caracterizar materiales blandos como nanopartículas, geles o macromoléculas naturales y sintéticas, tanto en estado sólido como en disolución (Rayo y Guerrero 2014).

1.1.5.2 Espectrofotometría infrarroja

La espectrofotometría infrarroja (IR) es un método que mide la absorción de la radiación que atraviesa una delgada capa de sustancia en un rango específico de longitudes de onda, es decir, es un ensayo de identificación capaz de distinguir sustancias con diferencias estructurales; cuyas particularidades lo convierten en un método analítico no destructivo basado en la interacción de la materia con la radiación. Tenemos tres regiones del infrarrojo: cercano, medio y lejano (por su relación con el espectro visible), de las cuales aquella comprendida entre 400 a 4000 cm^{-1} es la más empleada para fines de identificación o fines cualitativos (Ostroumov 2007).

Las muestras a identificar pueden ser líquidas, sólidas o gaseosas y la técnica de este método se realiza con ayuda de un espectrómetro IR. El espectro IR generado puede ser de absorción, reflexión o emisión y es una característica única de cada compuesto químico orgánico o inorgánico. Este se puede visualizar en un gráfico de la absorbancia de la luz IR en el eje vertical en función de la frecuencia o la longitud de onda en el eje horizontal (MERCOSUR 2010).

Las absorciones producidas en la región espectral del infrarrojo incluyen energías pequeñas, comparadas con las energías de absorción relacionadas con la estructura electrónica de la molécula (región ultravioleta y visible). Por tanto, las vibraciones y rotaciones de una molécula son las responsables de las bandas de absorción- transmisión de la misma en el infrarrojo (Ostroumov 2007).

1.1.5.3 Microscopía electrónica de barrido

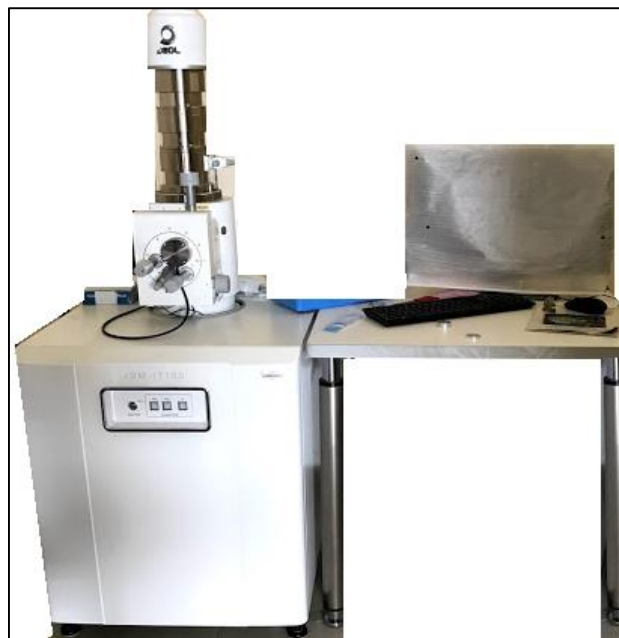


Figura 4-1: Microscopio electrónico de barrido
Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

Con la aparición, en 1965, de la microscopía electrónica de barrido o SEM por sus siglas en inglés (Scanning Electron Microscope), se hizo realidad la posibilidad de observar muestras íntegras y en tres dimensiones. Desde entonces, ha avanzado hasta constituirse en una técnica imprescindible de estudio, tanto en material biológico como en el campo inorgánico (Ipohorski y Bozzano 2009; Vázquez y Echeverría 2000). La principal característica de este tipo de microscopía es que su fuente de radiación está constituida por un haz de electrones acelerados por un alto potencial (Renau y Faura 2009).

Las imágenes de un microscopio electrónico se obtienen mediante la detección, procesamiento y visualización de las señales que resultan de las interacciones entre un haz de electrones de alta energía con la materia, las cuales proporcionan información sobre la tipografía, composición y estructura de las muestras. A diferencia de una microscopía óptica, el SEM no forma una imagen real del objeto, sino que construye una imagen virtual a partir de alguna de las señales emitidas por la muestra. La

visualización de las imágenes se realizan en la pantalla de una computadora (Ipohorski y Bozzano 2009; Vázquez y Echeverría 2000).

La microscopía electrónica de barrido, además de ser usada para el análisis de muestras convencionalmente preparadas para el estudio de su superficie, también puede ser usada en el campo biológico y el de materiales; pues permite realizar análisis cuantitativos de los componentes de la muestra (Renau y Faura 2009). Un SEM moderno permite observar muestras con una resolución de unos 4 nm con magnificaciones de hasta 300000x; así, se pueden obtener imágenes de todo tipo de materiales estructurales o biológicos con un mínimo de preparación previa y observar directamente todo tipo de superficies (Ipohorski y Bozzano 2009).

Para que esto sea posible, es necesario asegurar que las muestras sean limpias, secas, resistentes al alto vacío del instrumento y buenas conductoras eléctricas. En caso de tratarse de un material no conductor, normalmente las muestras se recubren con una delgada capa metálica o desecando aquellas que presentan alto contenido de vapor de agua (Ipohorski y Bozzano 2009).

Además, el equipo de SEM permite realizar análisis adicionales como la espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDX, por sus siglas en inglés). Esta es una técnica analítica que proporciona información sobre la composición de una muestra, por ejemplo, los elementos que la componen o el peso de estos. Para ello se basa en la detección de radiación secundaria que se emite cuando los electrones de alta intensidad inciden en los materiales con los que interacciona.

1.1.5.4 Refractometría

Un refractómetro, es un instrumento que permite medir la cantidad de luz que dobla o refracta en una muestra, es decir, mide el índice de refracción de muestras líquidas o sólidas. Es utilizado tanto en la industria de alimentos o bebidas como en el campo de la investigación. En la actualidad existen varios tipos de refractómetros, pero la diferencia más notable entre estos equipos es la actualización de su software y facilidad de manejo para el usuario; sin embargo, la gran mayoría de ellos permite calcular el mismo índice de refracción de las muestras (Berg 2016).

Al calcular el índice de refracción, se puede identificar una muestra evaluando su pureza y determinando la concentración del soluto o materiales disueltos en la misma, esta última característica da lugar a una escala secundaria de la refractometría conocida como escala Brix, la cual relaciona la

concentración de azúcar en agua a cierta temperatura con el índice de refracción de la muestra, esto facilita la comparación de diferentes concentraciones en la solución; por ejemplo, el agua pura sin sólidos suspendidos tendrá un valor Brix de cero, mientras que una muestra con sólidos refractará la luz, produciendo un valor Brix más alto, mismo que será medido en porcentajes de 0 a 100% (Berg 2016; Moisture 2015).


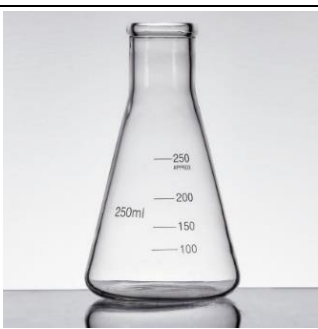




CAPÍTULO II







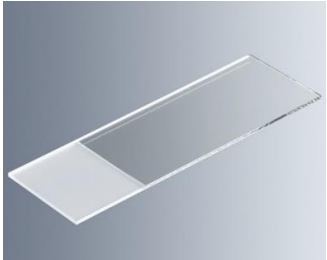
2. MARCO METODOLÓGICO

En el presente trabajo se realizaron dos síntesis; la primera en la que se obtuvieron las NPMs y a la segunda en que se obtuvo el hidrogel con inclusiones de NPMs. Para ello, se utilizaron distintos materiales y equipos; así como reactivos, los cuales serán detallados a continuación.

2.1 Materiales

Tabla 1-2: Materiales



1. Vaso de precipitación (50, 100, 150, 250 ml)	2. Erlenmeyer (250 ml)	3. Vaso de cristalización (250 ml)
		
4. Espátula con cuchara	5. Varilla de agitación	6. Pipeta graduada (1, 10 ml)
		

7. Vidrio reloj pequeño	8. Termómetro de mercurio (100°C)	9. Pera de succión
		
10. Caja Petri	11. Piseta	12. Frascos de vidrio
		
13. Soporte universal	14. Pinzas para soporte universal	15. Porta objetos
		

Realizado por: Mayorga, Yajaira, 2019

2.2 Equipos

Tabla 2-2: Equipos utilizados

Descripción de equipos	
<p>1. Balanza electrónica</p> <p>Marca: OHAUS</p> <p>Modelo: Explorer EX623</p> <p>Precisión: ± 0.1 mg</p> <p>Capacidad: 620g * 0.001g</p> <p>Software de análisis: Ingeniously Practical</p>	 A photograph of an Ohaus Explorer EX623 electronic scale. The scale is white with a stainless steel weighing pan on top. The front panel features a large color LCD screen displaying the number '0'. The brand name 'OHAUS' and 'EXPLORER' are visible on the front. The scale is placed on a dark countertop.
<p>2. Sorbona</p> <p>Marca: BIOBASE</p> <p>Modelo: FH1000(X)</p> <p>Soplador: Ventilador centrífugo incorporado con velocidad ajustable</p> <p>Tablero: Resistente a químicos sólidos</p>	 A photograph of a BioBase FH1000(X) biosafety cabinet. The cabinet is white with a blue front panel. The top panel has the 'BIOBASE' logo and a blue biohazard symbol. The front panel has a digital display and control buttons. The interior of the cabinet is visible, showing a stainless steel work surface and a metal mesh back panel. There are several bottles and containers on the work surface. The cabinet is on a white stand with four legs.

<p>3. Estufa con circulación de aire forzada</p> <p>Marca: MEMMERT</p> <p>Modelo: FC-L. INV-015</p> <p>Temperatura maxima: 300°C</p> <p>Temporizador: Digital, ajustable desde 1 minuto hasta 99 días. Parametros ajustables: Temperatura, velocidad del motor de aire circulación, posición de la trampilla de extracción de aire. Turbina de aire: Regulación electrónica con incrementos de 10%</p>	
<p>4. Microscopio electrónico de barrido</p> <p>Marca: JEOL</p> <p>Modelo: JSM-IT500HR</p> <p>Software de análisis: Deben Chamberscope</p> <p>Sensibilidad: Alta, con análisis de alta resolución espacial</p>	
<p>5. Espectrometro FT-IR</p> <p>Marca: Jasco</p> <p>Modelo: FT/IR-4100</p> <p>Resolución máxima: 0.9 cm⁻¹</p> <p>Software de análisis: Spectra Manager</p> <p>Escaneo: 10 exploraciones por segundo</p>	

<p>6. Agitador – Calentador magnético</p> <p>Marca: Fisher Scientific</p> <p>Modelo: C1928150310708H</p> <p>Temperatura: 0 -300°C</p> <p>Velocidad: 250 - 2500rpm</p>	 <p>A photograph of a Fisher Scientific magnetic stirrer and heater. It has a white top with a glass beaker containing a yellow liquid. The base is blue with two large black control knobs and a green indicator light. The brand name 'Fisher Scientific' is visible on the front panel.</p>
<p>7. Agitador Sonics Vibracell</p> <p>Marca: Sonics</p> <p>Modelo: VC 505</p> <p>Potencia: 500 Watts</p> <p>Programación: Automática hasta 10 horas</p> <p>Sonda: 13mm con punta reemplazable</p>	 <p>A photograph of a Sonics VC 505 ultrasonic agitator. It consists of a white control unit with a digital display and a keypad, and a separate white probe with a metal tip. The control unit has a green display showing some numbers.</p>
<p>8. Refractómetro</p> <p>Marca: Kyoto Kem Electronics</p> <p>Modelo: RA – 620</p> <p>Índice de refracción: ± 0.00002 nD</p> <p>Brix: 0.00 ~ 100.00% ($\pm 0.014\%$)</p> <p>Dimensiones: 192 mm x 281 mm</p> <p>El equipo cuenta con un dispositivo anti volatilización, prevención de salpicaduras para la pantalla LCD; y una medición segura que no se activará hasta que la tapa de muestras se haya cerrado.</p>	 <p>A photograph of a Kyoto Kem RA-620 refractometer. It is a compact, light blue device with a large LCD screen on top. The screen displays 'RA-620' and some other information. The device has a lid that can be closed over the sample well.</p>

Realizado por: Mayorga, Yajaira, 2019

2.3 Reactivos y compuestos

Tabla 3-2: Reactivos y compuestos utilizados en el presente trabajo

		
<p>1. Cloruro Férrico Hexahidratado Fórmula: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ Masa Molar: 270.19 g/mol Casa Comercial: PROLABOR</p>	<p>2. Sulfito de Sodio Fórmula: Na_2SO_3 Masa Molar: 126.04 g/mol Casa Comercial: MERCK</p>	<p>3. Hidróxido de Sodio Fórmula: $\text{Na}(\text{OH})$ Masa Molar: 39.98 g/mol Casa Comercial: J.T.BAKER</p>
		
<p>4. Ácido Oleico Fórmula: $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$ Masa Molar: 283.47 g/mol Casa Comercial: MERCK</p>	<p>5. Ácido Nítrico Fórmula: HNO_3 Masa Molar: 63.01 g/mol Casa Comercial: MERCK</p>	<p>6. Ácido Clorhídrico Fórmula: HCl Masa Molar: 36.46 g/mol Casa Comercial: FERM*NT</p>

		
<p>7. Agua destilada Fórmula: H₂O Masa Molar: 18.02 g/mol Casa Comercial:</p>	<p>8. Etanol Fórmula: C₂H₆O Masa Molar: 46.07 g/mol Casa Comercial: PURIQUIM REAGEN</p>	<p>9. Agarosa Fórmula: CH₂OH-CHOH-CHOH- CHOH-CHOH-CH₂OH Grado: Molecular Masa Molar: 180.08 g/mol Casa Comercial: BENCHMARK</p>
		
<p>10. Aceite comestible Casa Comercial: LA FAVORITA</p>	<p>11. Glicerina Fórmula: C₃H₈O₃ Masa Molar: 98.09 g/mol Casa Comercial: WEIR</p>	<p>12. Shampoo Casa comercial: Vitae Característica: Sin sal Usado como agente entrecruzante</p>

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

2.4 Hipótesis y especificación de las variables

Las hipótesis planteadas en este trabajo se exponen en la tabla 4-2; las mismas buscan evaluar la influencia de los factores que intervienen en la síntesis de hidrogeles, en función del porcentaje de grados Brix.

Tabla 4-2: Planteamiento de la hipótesis para el presente trabajo

Factor	Forma estadística	Forma verbal
Factor A (Concentración del polímero)	H_0 : Efecto de $A = 0$ H_1 : Efecto de $A \neq 0$	H_0 : La concentración del polímero no influye sobre los grados Brix del hidrogel. H_1 : La concentración del polímero influye sobre los grados Brix del hidrogel.
Factor B (Temperatura de fusión)	H_0 : Efecto de $B = 0$ H_1 : Efecto de $B \neq 0$	H_0 : La temperatura de fusión no influye sobre los grados Brix del hidrogel. H_1 : La temperatura de fusión influye sobre los grados Brix del hidrogel.
Factor C (Tiempo de homogenización).	H_0 : Efecto de $C = 0$ H_1 : Efecto de $C \neq 0$	H_0 : El tiempo de homogenización no influye sobre los grados Brix del hidrogel. H_1 : El tiempo de homogenización influye sobre los grados Brix del hidrogel.
Efecto de interacción AB	H_0 : Efecto de $AB = 0$ H_1 : Efecto de $AB \neq 0$	H_0 : La concentración del polímero y temperatura de fusión no tienen efecto de interacción sobre los grados Brix del hidrogel. H_1 : La concentración del polímero y temperatura de fusión tienen efecto de interacción sobre los grados Brix del hidrogel.
Efecto de interacción AC	H_0 : Efecto de $AC = 0$ H_1 : Efecto de $AC \neq 0$	H_0 : La concentración del polímero y el tiempo de homogenización no tienen efecto de interacción sobre los grados Brix del hidrogel.

		H_1 : La concentración del polímero y el tiempo de homogenización tienen efecto de interacción sobre los grados Brix del hidrogel.
Efecto de interacción BC	H_0 : Efecto de $BC = 0$ H_1 : Efecto de $BC \neq 0$	H_0 : La temperatura de fusión el tiempo de homogenización no tiene efecto de interacción sobre los grados Brix del hidrogel. H_1 : La temperatura de fusión el tiempo de homogenización tiene efecto de interacción sobre los grados Brix del hidrogel.
Efecto de interacción ABC	H_0 : Efecto de $ABC = 0$ H_1 : Efecto de $ABC \neq 0$	H_0 : La concentración del polímero y temperatura de fusión y el tiempo de homogenización no tienen efecto de interacción sobre los grados Brix del hidrogel. H_1 : La concentración del polímero y temperatura de fusión y el tiempo de homogenización tienen efecto de interacción sobre los grados Brix del hidrogel.

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

2.5 Tipo y diseño de investigación

2.5.1 Tipo de investigación: Experimental

El trabajo aquí expuesto se describe como experimental, consiste en una investigación cuya demostración afirmativa o contraria, se basa en la recolección y análisis de datos obtenidos de la síntesis de hidrogeles poliméricos, y su respectiva caracterización por técnicas de refractometría, espectroscopia y microscopía.

2.5.2 Diseño de investigación: Factorial

Un diseño factorial pretende estudiar el efecto que tienen varios factores sobre alguna respuesta; en otras palabras, su objetivo es determinar una combinación de niveles de los factores en la que el desempeño del proceso sea mejor. Estos factores pueden ser de tipo cualitativo como la clase de

material, o cuantitativo como la temperatura. Es necesario elegir al menos dos niveles de prueba para poder estudiar la manera en que los factores influyen sobre la variable respuesta; de este modo, con el diseño factorial completo se analizan aleatoriamente todas las posibles combinaciones que se pueden dar con los niveles de los factores a investigar (Gutierrez y De La Vara 2008).

Tabla 5-2: Combinaciones para los tratamientos del diseño experimental

Factores			Tratamientos
Concentración de agarosa	Temperatura de fusión	Tiempo de homogenización	
0,04 % en masa	50 °C	7 min	T1
			T2
			T3
		10 min	T4
			T5
			T6
		15 min	T7
			T8
			T9
0,05 % en masa	60 °C	7 min	T10
			T11
			T12
		10 min	T13
			T14
			T15
		15 min	T16
			T17
			T18
0,06 % en masa	70 °C	7 min	T19
			T20
			T21
		10 min	T22
			T23
			T24
		15 min	T25
			T26
			T27

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

El diseño experimental planteado en este trabajo, se detalla en la tabla 5-2 y contempla un diseño trifactorial con tres niveles. Se incluyen 3 factores que son: la concentración del polímero, la temperatura de fusión y el tiempo de homogenización; que a su vez contemplan niveles alto, medio y bajo, dando como total 27 tratamientos, con dos replicas cada uno.

El modelo estadístico empleado para este diseño factorial detallado a continuación, se encuentra descrito en el libro “*Análisis y diseño de experimentos*” (Gutierrez y De La Vara 2008).

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad [1]$$

Con $i = 1,2,3$; $j = 1,2$; $k = 1,2,3$; $l = 1,2$

Donde:

- Y_{ijkl} : representa los grados Brix del hidrogel i, Concentración del polímero j, Temperatura de fusión k, y el Tiempo de homogenización l.
- μ : Representa los grados Brix medio global del hidrogel.
- α_i : Representa el efecto debido al i-ésimo concentración del polímero.
- β_j : Representa el efecto del j-ésimo de la temperatura de fusión.
- γ_k : Representa el efecto del k-ésima del tiempo de homogenización.
- $(\alpha\beta)_{ij}$: Representa el efecto de interacción entre la concentración del polímero i y la temperatura de fusión j.
- $(\alpha\gamma)_{ik}$: Representa el efecto de interacción entre la concentración del polímero i y el tiempo de homogenización k.
- $(\beta\gamma)_{jk}$: Representa el efecto de interacción entre la temperatura de fusión j y el tiempo de homogenización k.
- $(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$: Representa el efecto de interacción entre la concentración del polímero j, temperatura de fusión k, y el tiempo de homogenización l.
- ε_{ijkl} : Representa al error aleatorio asociado a la observación Y_{ijkl} y se supone que ε_{ijkl} son independientes e idénticamente distribuidos con $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$

Para el diagnóstico del método se utilizará un ANOVA SIMPLE, descrita en la tabla 6-2.

Tabla 6-2: Modelo diseño trifactorial

F.V	S.C	GL	CM	Fexp
Factor A	SCA	a-1	CMA	CMA/CMR
Factor B	SCB	b-1	CMB	CMB/CMR
Factor C	SCC	c-1	CMC	CMC/CMR
A*B	SC(AB)	(a-1)(b-1)	CM(AB)	CM(AB)/CMRR
A*C	SC(AC)	(a-1)(c-1)	CM(AC)	CM(AC)/CMRR
B*C	SC(BC)	(b-1)(c-1)	CM(BC)	CM(BC)/CMRR
A*B*C	SC(ABC)	(a-1)(b-1)(c-1)	CM(ABC)	CM(ABC)/CMRR
Residual	SCR	abc(r-1)	CMR	
Total	SCT	abc(r-1)	CMT	

Fuente: (Gutierrez y De La Vara 2008). (Análisis y diseño de experimentos)

2.6 Métodos

2.6.1 Limpieza de materiales

La adecuada limpieza de los materiales dentro del laboratorio es primordial antes de realizar cualquier procedimiento, pues así se garantiza la pureza de la síntesis y por tanto la calidad de los resultados finales, en este caso la capacidad magnética y pureza de las NPMs y en consecuencia del hidrogel. Para el proceso de limpieza, los materiales fueron lavados en dos fases, la primera con jabón y agua corriente; y la segunda con agua regia, que consiste en una mezcla en relación de 3:1 de ácido clorhídrico (HCl) y ácido nítrico (HNO₃). Se realiza este procedimiento para eliminar cualquier resto de metales o compuestos de prácticas anteriores adheridos a los materiales.

Para la primera etapa de limpieza se lavaron los materiales con agua y jabón desinfectante (preferiblemente líquido). Luego fueron secados en la estufa, que se encontraba a 60°C, durante 20 minutos. Como segunda etapa, se limpiaron con agua regia y se enjuagaron con agua destilada para ser llevados a la estufa por tiempo y temperatura previos. Una vez secos, se esperó a que se enfríen para comenzar la síntesis.

2.6.2 Síntesis y purificación de nanopartículas magnéticas (NPMs)

La síntesis de NPMs se llevó a cabo siguiendo la técnica establecida en el trabajo “*Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas de hierro (magnetita)*” (Vera 2018), donde se expone el

método de co-precipitación bajo la modalidad de absorción superficial. Se prepararon 150 ml de solución de hidróxido de sodio (NaOH) con 4.8 g de NaOH, 17.98 ml de agua destilada, 0.899 ml de ácido oleico, 449.6 mg de cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y 224.8 mg de sulfito de sodio (NaSO_3).

En el matraz erlenmeyer se colocaron las cantidades establecidas de FeCl_3 , NaSO_3 y agua destilada e inmediatamente se llevó al agitador-calentador magnético por 10 minutos; hasta obtener una mezcla homogénea. Cuando la temperatura alcanza los 55°C se adiciona el ácido oleico y; posteriormente, la solución de NaOH. Se mantuvo la temperatura y revoluciones durante una hora hasta que los elementos se combinen para dar lugar a la formación de las NPMs.

Una vez que terminó el proceso de síntesis, inició la purificación. Para la purificación química se utilizó agua y etanol en cantidades iguales con el fin de enjuagar la solución; y para la purificación física se emplea un imán de neodimio que mantiene las NPMs en el fondo del recipiente. Así, la solución sobrante (en su mayoría agua con desechos químicos propios del proceso de síntesis) fue desechada, quedando únicamente las NPMs sintetizadas.

2.6.3 Síntesis de hidrogeles poliméricos con inclusiones de NPMs

El método empleado en este proceso es una compilación de técnicas descritas en trabajos como “*Hidrogeles nanoestructurados termosensibles sintetizados mediante polimerización en microemulsión inversa*” (Cortés et al. 2011), “*Diseño, síntesis y caracterización fisicoquímica de un hidrogel nanofuncionalizado basado en polietilenglicol*” (Gonzales 2016) y “*Caracterización y control del tamaño de microfibras magnéticas de agarosa*” (Ormaza 2016); que fueron acopladas a las necesidades y disposición de materiales del caso.

Se construyó un sistema de equipos y materiales, para lo cual se colocó el sonicador vibracell sobre el agitador-calentador magnético con ayuda de dos soportes universales; posteriormente se situó un vaso de cristalización con agua destilada sobre el agitador, logrando que este quede debajo y en el centro del sonicador (ver figura 1-2). Con ayuda de una pinza se instaló un vaso de precipitación dentro (esto hará el efecto de baño maría), fue necesario que los vasos de precipitación involucrados se mantengan firmes en su posición.



Figura 1-2: Sistema de equipos y materiales para síntesis de hidrogeles
Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

Previamente, se preparó una disolución de 50 ml de aceite comestible (de la marca girasol) el cual se adquirió de manera convencional en un supermercado, 10 ml de tensioactivo (glicerina) de la casa comercial WEIR y 1.5 ml de entrecruzante (shampoo) de la marca Vitae.

Se utiliza glicerina como tensioactivo ya que su valor según la escala de Griffin es de 3.8 HBL (Balance hidrofílico-lipofílico), lo que la define como un emulsionante W/O lipofílico (Vega y Miranda 2009); y el shampoo como agente entrecruzante debido a que contiene lauril sulfato de sodio en su composición, y da paso a la formación de la estructura reticulada del gel (Mamani 2012; Chacón 2012). Esta disolución será llamada posteriormente, disolución 1.

Luego se procedió con el pesaje de los reactivos, iniciando con 10 ml de disolución 1 en un vaso de precipitación de 50 ml. En un vaso de 25 ml se pesó 1 g de NPMs, considerando las distintas concentraciones en masa de agarosa presentadas en la tabla 5-2, esta mezcla se nombró disolución 2. Se colocó el vaso de precipitación que contiene la disolución 1 dentro del baño maría (a la temperatura requerida para cada tratamiento) y se encendió el sonicador con una amplitud de onda de 50. A la vez se colocó la disolución 2 sobre la disolución 1 y se mantuvo la agitación constante por el tiempo

requerido. Terminado este tiempo, se retiró el vaso de precipitación del baño maría y se colocó el gel obtenido en una caja petri.

2.6.4 Caracterización del hidrogel polimérico con inclusiones de NPMs

La caracterización se realizó mediante tres técnicas, detalladas a continuación:

2.6.4.1 Espectrofotometría de absorción IR

Se encendió el equipo con 30 minutos de anticipación para darle tiempo de configurarse, se inició el programa SpectraManager y se seleccionó Quick-start para dar inicio al análisis. Se debe limpiar el área destinada para las muestras previo a su uso (para cada muestra) con alcohol y algodón. Se realizó un Background o primer análisis sin muestras para encerrar el equipo y garantizar que no existen sustancias externas que puedan interferir con la medición. Se colocó cada muestra en el interior del equipo, cuidando que el capuchón esté en contacto con la misma y se inició presionando “start”.

Mediante el programa Spectra Analysis se procesó el espectro, y posteriormente se pudieron visualizar los resultados en la pantalla del computador; en este punto se seleccionaron los picos más representativos de la gráfica y estos resultados fueron guardados para su consiguiente análisis. Una vez terminado el análisis se limpia y apaga el equipo.

2.6.4.2 Refractometría

Para este análisis se encendió el equipo y se esperó aproximadamente 10 minutos para que el software se establezca. El primer paso fue calibrar el equipo con agua destilada; una vez listo, se procedió a colocar una gota de cada muestra en la lente, cuidando que se cubra correctamente. La muestra debe ser medida inmediatamente luego de su síntesis pues el equipo trabaja mejor con muestras líquidas o poco viscosas, enseguida se cerró la puerta para muestras y se presionó “start” en la pantalla táctil.

Al cabo de 30-60 segundos, y si la muestra fue suficiente, se visualizaron los resultados en la pantalla. Se pueden observar tanto el índice de refracción como el porcentaje de grados Brix de cada muestra. Es importante tener en cuenta que, al ser un equipo con una lente muy delicada, después de cada medición, requiere limpiarla con un paño y agua destilada muy cuidadosamente.

2.6.4.3 Microscopía electrónica de barrido

Las muestras analizadas en este equipo fueron cuidadosamente seleccionadas. Con el análisis previo en el espectrómetro IR, se eligieron las tres mejores muestras y estas fueron cortadas en delgadas láminas de gel, que se colocaron sobre una cinta de carbono cuya función es incrementar la conductividad de las mismas para su mejor análisis en el equipo; la cinta a su vez fue posicionada sobre un porta muestras propio del equipo.

Con la muestra ubicada correctamente en el interior del equipo, se genera el vacío que, por tratarse de muestras orgánicas, será bajo evitando dañarlas. Se establece el voltaje adecuado (entre 5 y 15 kV); y se enfoca la estructura de interés. Se optimizan los parámetros propios del equipo para mejorar la adquisición de la imagen como contraste, brillo. Finalmente, cuando se obtuvo la imagen adecuada, inició el análisis EDX que mostró el porcentaje de los elementos componentes de la muestra.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Resultados de la caracterización de los hidrogeles poliméricos

3.1.1 Resultados en espectrofotometría IR

Se presenta una comparación entre los espectros IR de las NMPs y del hidrogel polimérico con inclusiones de NMPs, los espectros se visualizan en un gráfico de transmitancia (a.u) vs número de onda (cm^{-1}), obtenidos en escala de 580 a 4180 cm^{-1} ; de este modo se puede identificar la composición de las muestras.

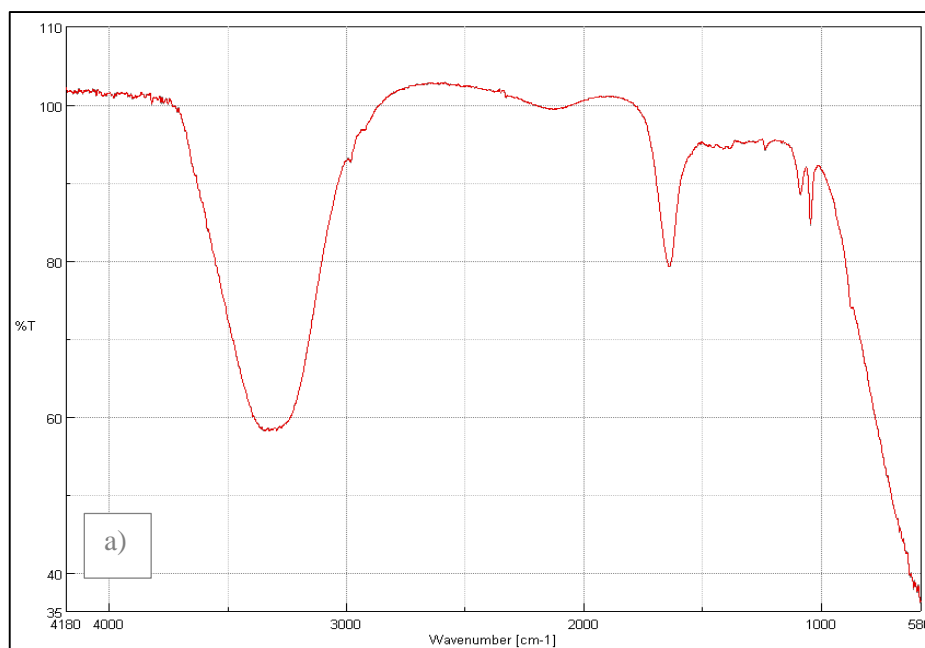


Gráfico 1-3: a) Espectro IR de NPMs

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

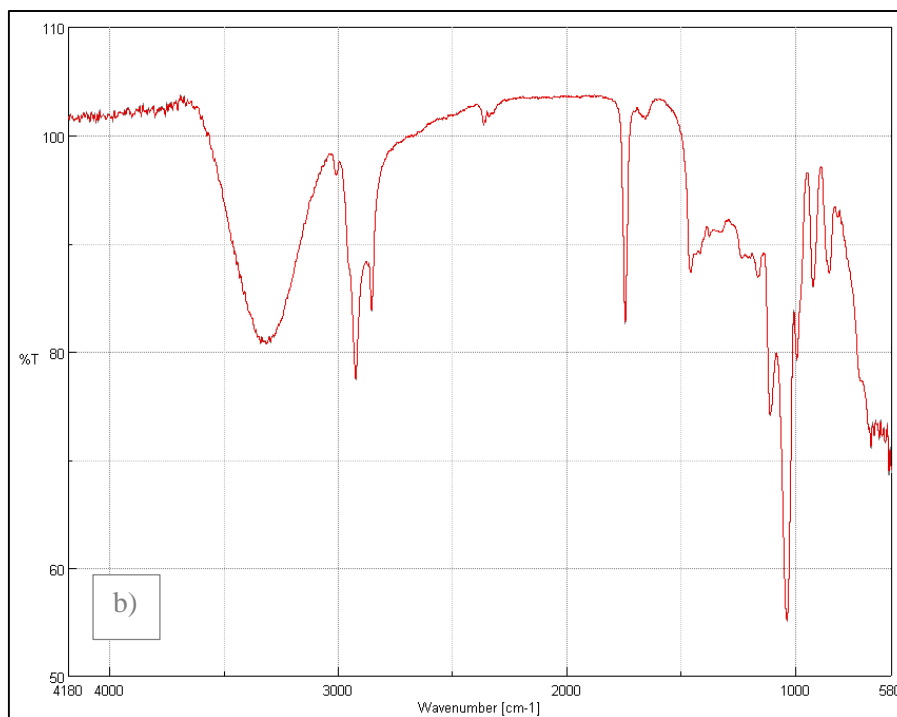


Gráfico 1-3: b) Espectro IR de hidrogel con NPMs

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

En el gráfico 1-3 a, es posible apreciar el espectro correspondiente a la caracterización de NPMs, previo a la síntesis del hidrogel. Mientras que, el gráfico 1-3 b muestra el espectro obtenido del análisis de la muestra del hidrogel polimérico funcionalizado perteneciente al tratamiento T14. Se puede apreciar una mayor cantidad de picos en el segundo espectro debido a la cantidad de sustancias químicas en su composición, mismas que absorben la luz incidente en la muestra.

Mediante la espectroscopia IR se determinaron los grupos funcionales que se encuentran presentes en el hidrogel. En el gráfico 2-3 se pueden notar bandas de absorción características para enlaces o elementos específicos dentro de los hidrogeles sintetizados, mismos que fueron encontrados en la bibliografía (Shurvell 2006).

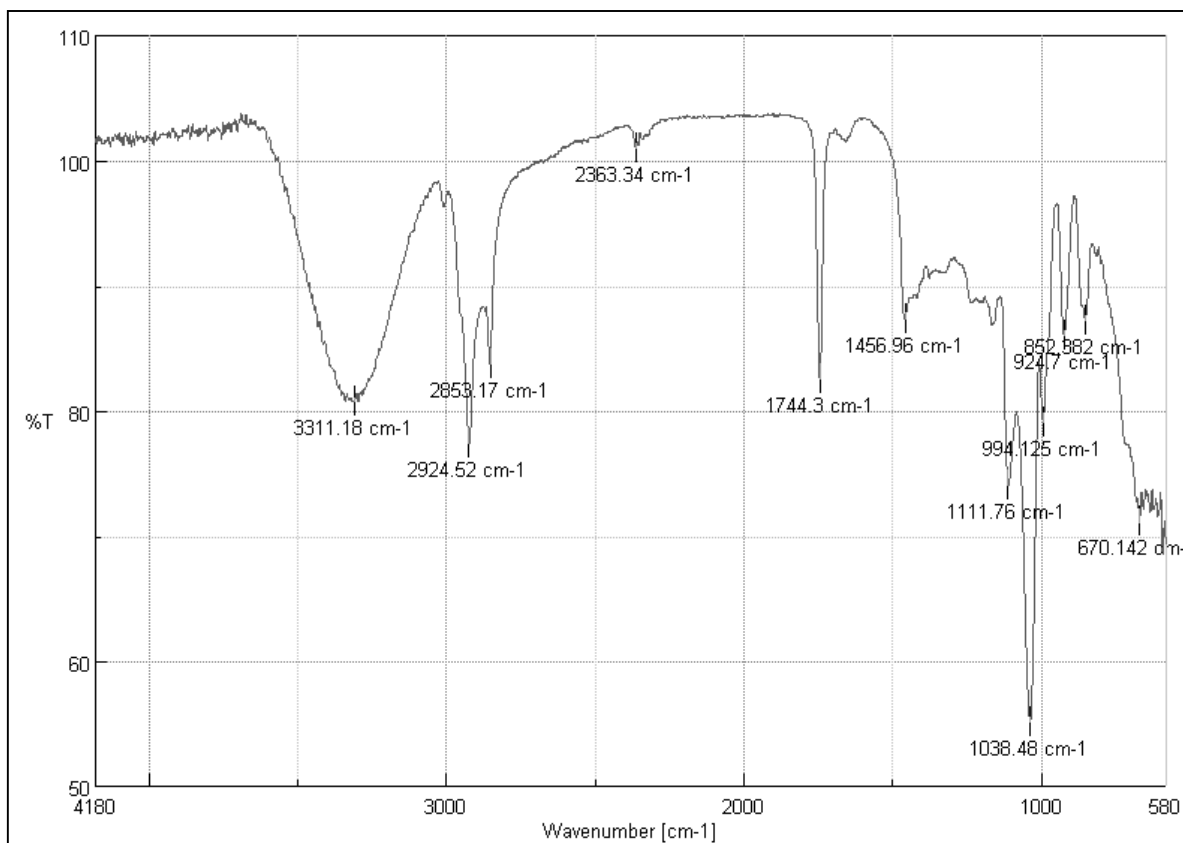


Gráfico 2-3: Espectros IR del hidrogel polimérico funcionalizado con NPMs

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

Dentro de las características de los hidrogeles tenemos su carácter hidrófilo, es decir, la capacidad física de las moléculas de interactuar con el agua o disolverse en ella, que se debe a la presencia de grupos funcionales como hidroxilo (OH), carboxilo (COOH), amida (CONH₂), (CONH), (SO₃H) lo cual se puede comprobar con los resultados obtenidos en esta sección (Escobar 2002; Katime 2004).

El pico de absorción en 3311.18 cm⁻¹ corresponde a enlaces OH del grupo funcional hidroxilo que se encuentra entre 3400 – 2400 cm⁻¹ (Shurvell, 2006), esto representa un detalle importante ya que su presencia se pudo comprobar en las muestras resultantes de cada tratamiento para obtener el hidrogel.

Los picos en 2924.52, 2853.17 y 2363.34 cm⁻¹, son observados generalmente por las interacciones covalentes correspondientes a enlaces C-H (Shurvell, 2006). Los picos obtenidos entre 1749.3 y 1456.96 cm⁻¹, son atribuidos a las vibraciones relacionadas con el elemento oxígeno (O), es decir, enlaces C=O y C-O-C; lo cual es representativo de la agarosa (Xu *et al.*, 2018; Awadhiya, Kumar and Verma, 2016).

La bibliografía indica que bajo el rango de los 600 cm^{-1} se encuentran picos correspondientes a la unión de los enlaces Fe-O, por tanto, se puede decir que el pico en 670.142 cm^{-1} , se puede atribuir a la presencia de NPs de óxidos de hierro. Así mismo, la presencia de NPMs fue confirmada por los picos entre 852.382 y 670.142 cm^{-1} , lo cual puede deberse a la vibración producida por el estiramiento del núcleo de hematita, correspondiente al enlace Fe-O-Fe, específicamente en 709 cm^{-1} (Li et al. 2010).

Finalmente, uno de los picos más representativos está en 994.125 cm^{-1} , correspondiente a la presencia del enlace 3,6 anhydrogalactosa, componente y principal característica de la agarosa (Ormaza, Coello and Basantes, 2018; Xu *et al.*, 2018).

3.1.2 Resultados en microscopía electrónica de barrido

3.1.2.1 Nanopartículas magnéticas

En las figuras 1-3 y 2-3, se consideran las imágenes más representativas de las NPMs observadas en el microscopio electrónico de barrido. A distintas ampliaciones se aprecian cristales de magnetita, su morfología y estructura superficial tridimensional, para esto se utilizó alto voltaje (20kV) a 10 y $100\text{ }\mu\text{m}$ respectivamente.

La figura 1-3, permitió evaluar el tamaño de las NPMs, mismo que se encuentra en un rango de entre 10 y 30 nm , cuya media está alrededor de los 15 nm . Además, el análisis EDX hace posible conocer su composición química, misma que se muestra en la tabla 1-3, donde el porcentaje de hierro (Fe) y demás elementos confirma que la síntesis utilizada es favorable.

Así, se tienen NPMs con una morfología irregular, debido a la aglomeración típica que presentan los nanocompuestos magnéticos; pero con homogeneidad respecto al tamaño y concentración por muestra analizada (Vera 2018).

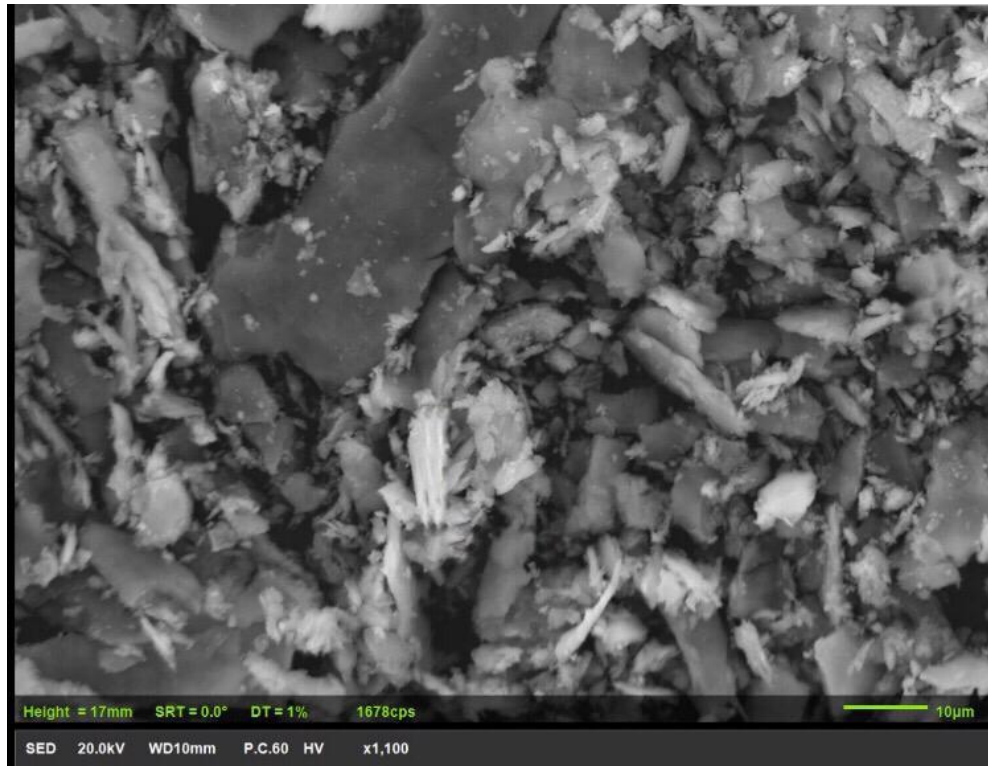


Figura 1-3: Muestra de NPMs (magnetita) bajo el SEM a x1100 ampliaciones
Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

Tabla 1-3: Resultados cuantitativos - EDX de NPMs

Fórmula	Masa %	Átomo %	K ratio
C	5.31	25.92	0.02009899
O	14.77	54.13	0.1550617
Na	1.67	4.27	0.0060107
Fe	14.94	15.69	0.1344663
Total	36.69	100.00	

Fuente: JEOL EDS System, 2019

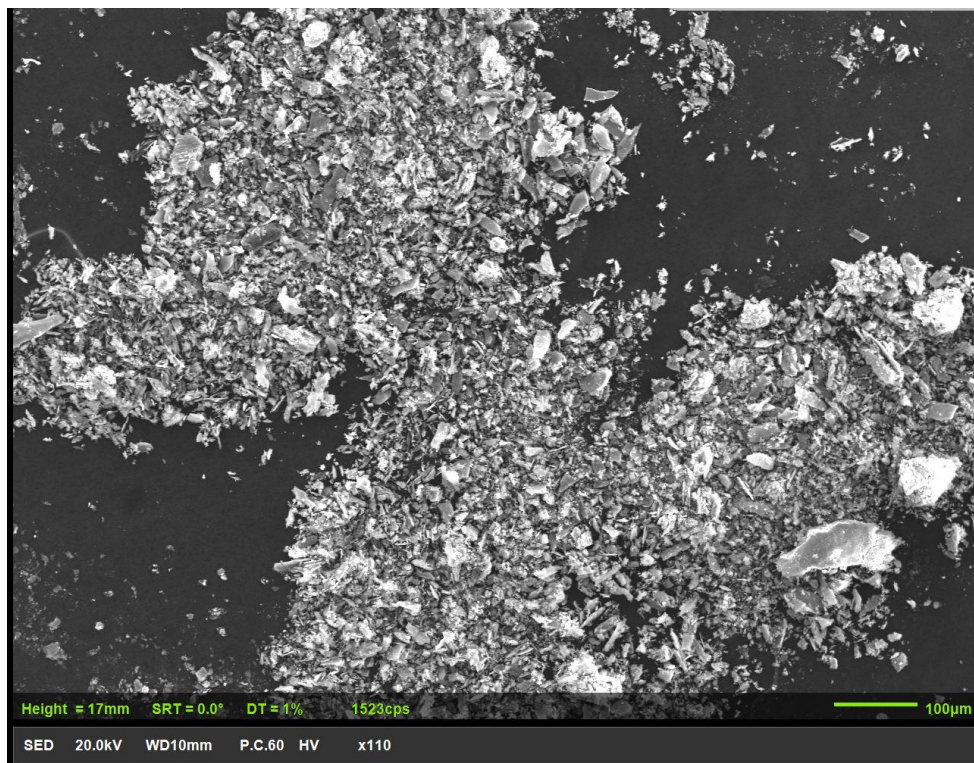


Figura 2-3: Muestra de NPMs (magnetita) bajo el SEM a x110 ampliaciones
Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

3.1.2.2 *Hidrogeles poliméricos*

Para el análisis en el SEM se eligieron, las cuatro mejores muestras de los hidrogeles, en base a los resultados previamente obtenidos por espectrofotometría IR y refractometría. Esto debido a que no se tiene mayor acceso al equipo para analizar una mayor cantidad de muestras.

En las figuras 3-3 y 3-4 se muestran las imágenes obtenidas en el SEM del hidrogel polimérico funcionalizado con las NPMs, la primera con un voltaje de 7 kV y 50 µm y la segunda a 15 kV y 100 µm. Estas imágenes corresponden al tratamiento de nivel medio para la síntesis del hidrogel con una concentración en masa de 0.05% de agarosa, a 50°C y por 10 min.



Figura 3-3: Hidrogel polimérico funcionalizado con NPMs en SEM a 7 kV
Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

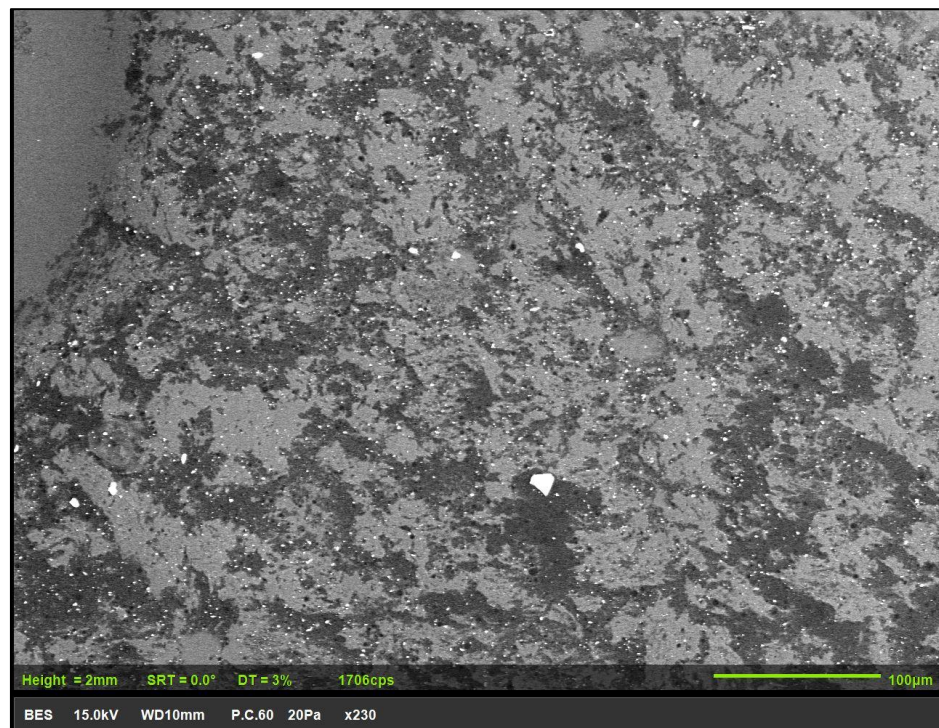


Figura 4-3: Hidrogel polimérico funcionalizado con NPMs en SEM a 15 kV
Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

Se puede decir que existe una distribución homogénea de las NPMs dentro del hidrogel polimérico, lo cual se atribuye a la interacción de las mismas con el polímero (agarosa); resultados similares a los encontrados en la literatura (Ormaza, Coello and Basantes, 2018).

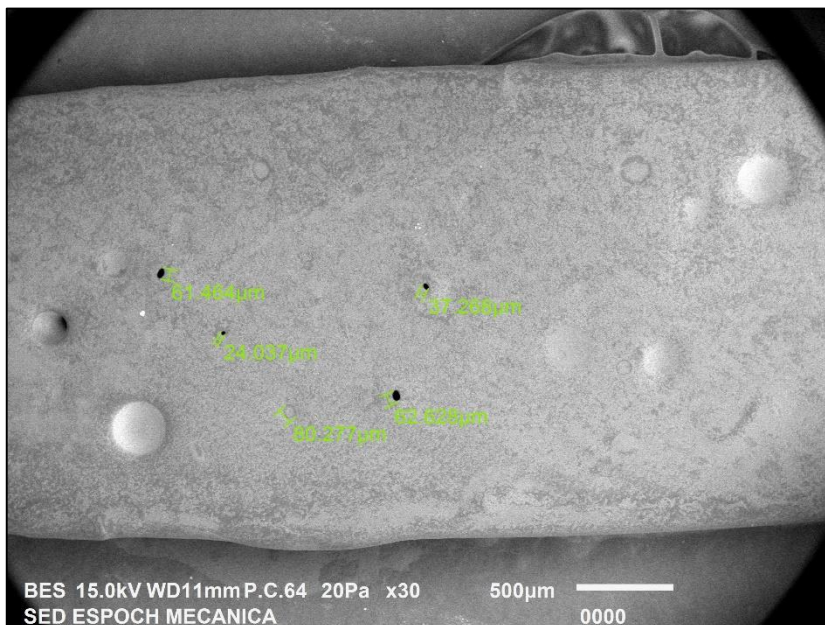


Figura 5-3: Poros en el hidrogel en SEM

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

En la figura 5-3 se puede evaluar los poros presentes en el hidrogel, visualizados x30 ampliaciones, el tamaño promedio se encuentra en 53,14 μm . Después de una larga revisión bibliográfica se puede decir que este tamaño representa un resultado favorable, si se toma en cuenta que el tamaño promedio de las NPMs se halla alrededor de los 15 nm.

Además, mediante el análisis EDX, se pudo comprobar la presencia de elementos que corroboran la naturaleza química del hidrogel expresada en su espectro IR; así tenemos hierro (Fe), carbono (C) y oxígeno (O) como los principales. Los detalles de este análisis se aprecian en la figura 6-3; donde, además, se puede observar el voltaje al que fue adquirida la imagen y concentración de los elementos que componen la muestra.

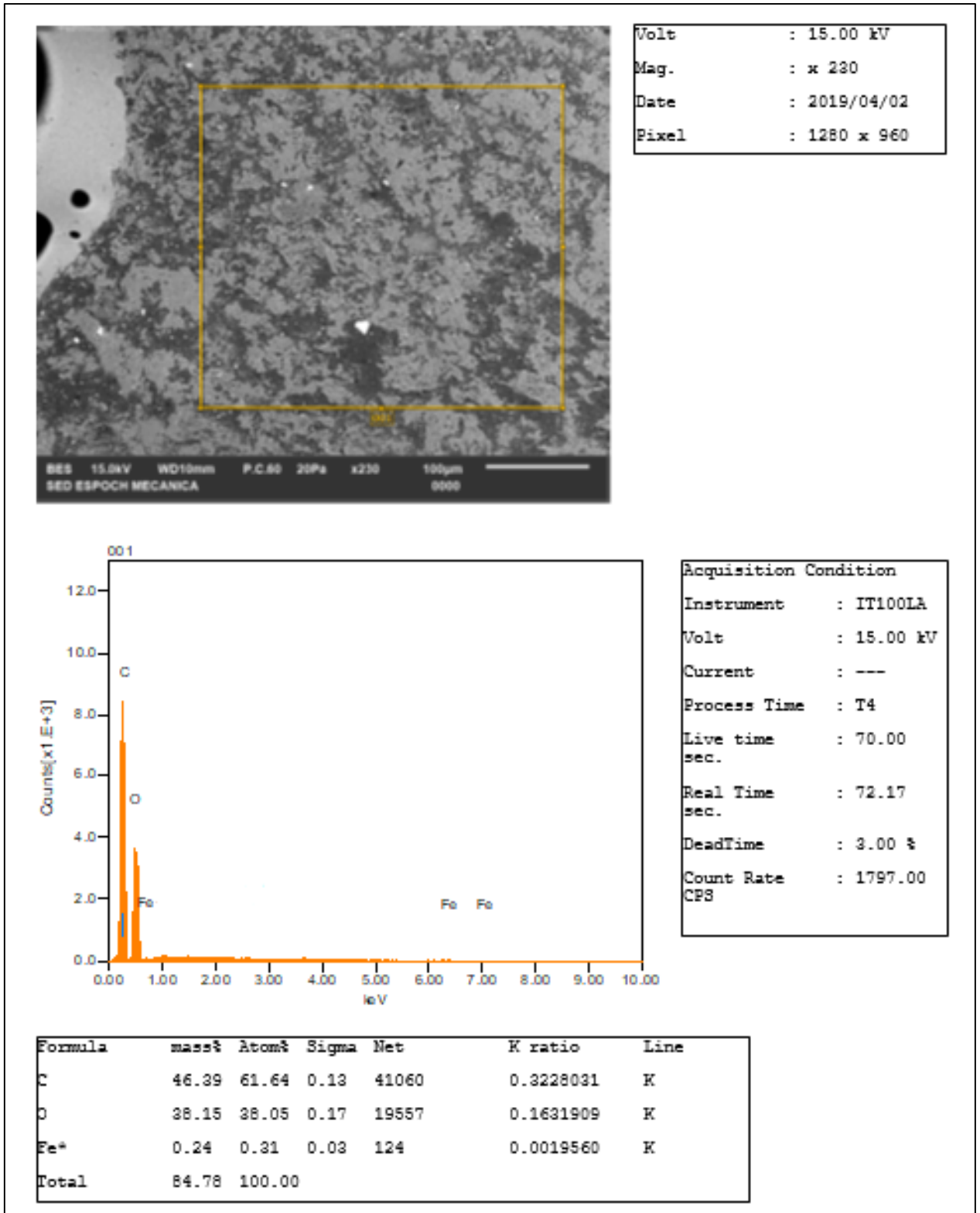


Figura 6-3: Informe de espectro EDX / SEM de hidrogel
Fuente: JEOL EDS System, 2019

3.2 Análisis estadístico

3.2.1 Resultados en refractometría

Tabla 2-3: Resultados experimentales de la medición de grados Brix para cada tratamiento del hidrogel

Nivel de tratamiento	Tratamiento	Grados Brix (%)	
Bajo	T1	65,48	63,85
	T2	69,44	73,92
	T3	62,50	61,16
	T4	69,85	73,50
	T5	65,73	65,88
	T6	62,62	65,33
	T7	72,84	72,84
	T8	71,66	73,28
	T9	73,49	73,13
Medio	T10	63,34	63,31
	T11	64,71	63,07
	T12	71,98	68,42
	T13	69,30	70,24
	T14	70,41	73,46
	T15	70,26	73,75
	T16	63,62	69,34
	T17	71,96	72,07
	T18	73,20	72,49
Alto	T19	68,63	68,59
	T20	73,46	73,46
	T21	73,71	72,19
	T22	73,48	71,89
	T23	74,11	71,54
	T24	70,51	72,52
	T25	70,19	68,36
	T26	68,51	71,44
	T27	74,00	73,68

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

Los resultados que se muestran en esta sección fueron obtenidos mediante la caracterización de los hidrogeles poliméricos por la técnica de refractometría, misma que arroja resultados cuantitativos y permite llevar a cabo el análisis estadístico detallado a continuación.

Se buscó determinar la influencia de la variación de la concentración de agarosa, temperatura de fusión y tiempo de homogenización en la síntesis del hidrogel. De este modo el tamaño muestral es de 54 datos, repartidos en 27 tratamientos, generados por tres factores variantes y dos repeticiones cada uno. La unidad experimental es la concentración de NPMs dentro del hidrogel, determinada por el porcentaje de grados Brix del hidrogel.

3.2.2 Supuestos

Los resultados expuestos en esta sección se realizaron utilizando el paquete de hojas de cálculo de Excel, versión 2013.

3.2.2.1 Supuestos del modelo de ANOVA.

Tabla 3-3: Valores predichos y residuos para los porcentajes de grados Brix del hidrogel.

Valor observado	Valor predicho	Error	Error ordenado	i	$\alpha=(i-0,5)/36$	$Z\alpha$
65,48	65,85	-0,37	-7,26	1	0,02	-2,11
63,85	65,85	-2,00	-6,38	2	0,04	-1,80
69,44	66,38	3,06	-6,11	3	0,05	-1,60
73,92	66,38	7,54	-4,88	4	0,07	-1,45
62,50	67,27	-4,77	-4,77	5	0,09	-1,33
61,16	67,27	-6,11	-4,46	6	0,11	-1,23
69,85	67,58	2,27	-4,11	7	0,13	-1,13
73,50	67,58	5,92	-4,08	8	0,15	-1,05
65,73	68,11	-2,38	-4,08	9	0,17	-0,97
65,88	68,11	-2,23	-3,67	10	0,18	-0,90
62,62	69,00	-6,38	-3,24	11	0,20	-0,83
65,33	69,00	-3,67	-2,38	12	0,22	-0,77
72,84	69,31	3,53	-2,25	13	0,24	-0,71
70,18	69,31	0,87	-2,23	14	0,26	-0,65
71,66	69,84	1,82	-2,00	15	0,28	-0,59
73,28	69,84	3,44	-1,62	16	0,30	-0,54

73,49	70,72	2,77	-1,54	17	0,31	-0,48
73,13	70,72	2,41	-1,53	18	0,33	-0,43
63,34	67,42	-4,08	-0,42	19	0,35	-0,38
63,31	67,42	-4,11	-0,40	20	0,37	-0,33
64,71	67,95	-3,24	-0,37	21	0,39	-0,28
63,07	67,95	-4,88	-0,36	22	0,41	-0,24
71,98	68,84	3,14	-0,30	23	0,43	-0,19
68,42	68,84	-0,42	-0,18	24	0,44	-0,14
69,3	69,15	0,15	0,14	25	0,46	-0,10
70,24	69,15	1,09	0,15	26	0,48	-0,05
70,41	69,68	0,73	0,20	27	0,50	0,00
73,46	69,68	3,78	0,29	28	0,52	0,04
70,26	70,56	-0,30	0,39	29	0,54	0,09
73,75	70,56	3,19	0,55	30	0,55	0,14
63,62	70,88	-7,26	0,66	31	0,57	0,18
69,34	70,88	-1,54	0,73	32	0,59	0,23
71,96	71,41	0,55	0,87	33	0,61	0,28
72,07	71,41	0,66	0,91	34	0,63	0,33
73,20	72,29	0,91	1,09	35	0,65	0,38
72,49	72,29	0,20	1,17	36	0,67	0,43
68,63	68,99	-0,36	1,79	37	0,68	0,48
68,59	68,99	-0,40	1,82	38	0,70	0,53
73,46	69,52	3,94	2,27	39	0,72	0,59
73,46	69,52	3,94	2,41	40	0,74	0,64
73,71	70,40	3,31	2,76	41	0,76	0,70
72,19	70,40	1,79	2,77	42	0,78	0,76
73,48	70,72	2,76	2,86	43	0,80	0,83
71,89	70,72	1,17	3,06	44	0,81	0,89
74,11	71,25	2,86	3,14	45	0,83	0,96
71,54	71,25	0,29	3,19	46	0,85	1,04
70,51	72,13	-1,62	3,31	47	0,87	1,12
72,52	72,13	0,39	3,44	48	0,89	1,22
70,19	72,44	-2,25	3,53	49	0,91	1,32
68,36	72,44	-4,08	3,78	50	0,93	1,44
68,51	72,97	-4,46	3,94	51	0,94	1,59
71,44	72,97	-1,53	3,94	52	0,96	1,77
74,00	73,86	0,14	5,92	53	0,98	2,07
73,68	73,86	-0,18	7,54	54	1,00	3,11

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

Con base en los datos expresados en la tabla 3-3 se realizaron las gráficas de normalidad, varianza constante e independencia, para corroborar cada uno de los supuestos.

3.2.2.2 Supuesto de normalidad.

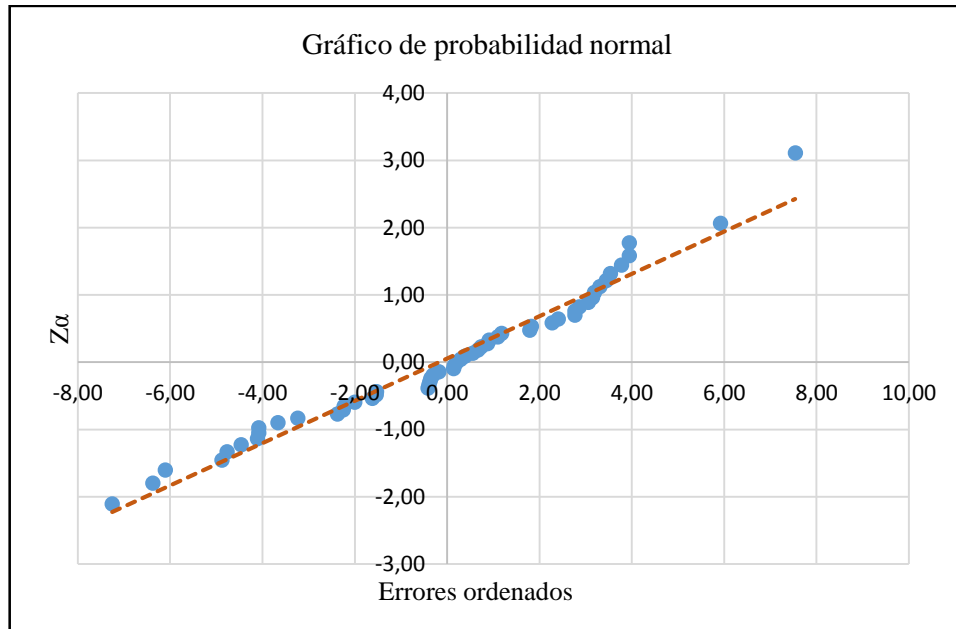


Gráfico 3-3: Prueba de normalidad
Realizado por: Yajaira Mayorga 2019

En el gráfico 3-3 se puede observar que los residuos presentan una tendencia creciente, donde solamente uno de ellos se encuentra hacia un extremo (7.54). Al trazar una línea recta se puede evidenciar que la mayor parte de estos valores están sobre la línea o cercanos a la misma.

Esto quiere decir que, los puntos están alineados de manera aceptable sobre una línea recta; lo que indica que los residuos provienen de una distribución normal y, por tanto, sugiere que el supuesto de normalidad en los errores se cumple.

3.2.2.3 *Supuesto de varianza constante.*

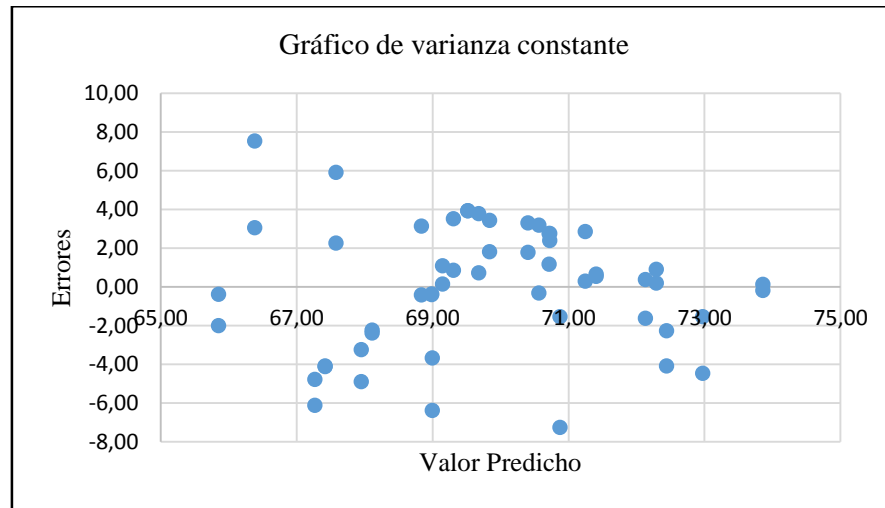


Gráfico 4-3: Prueba de varianza constante
Realizado por: Yajaira Mayorga 2019

Para la verificación del supuesto de varianza constante se graficaron los valores predichos y los residuales. De acuerdo al gráfico 4-3, se puede observar que los puntos parecen estar dispersos de forma aleatoria; además, no siguen ningún patrón a lo largo de una banda horizontal alrededor de cero. Esto sugiere que el supuesto de varianza constante en los errores se cumple, es decir que no existe una variabilidad significativa entre los residuos o se encuentran próximos a cero.

3.2.2.4 *Supuesto de independencia.*

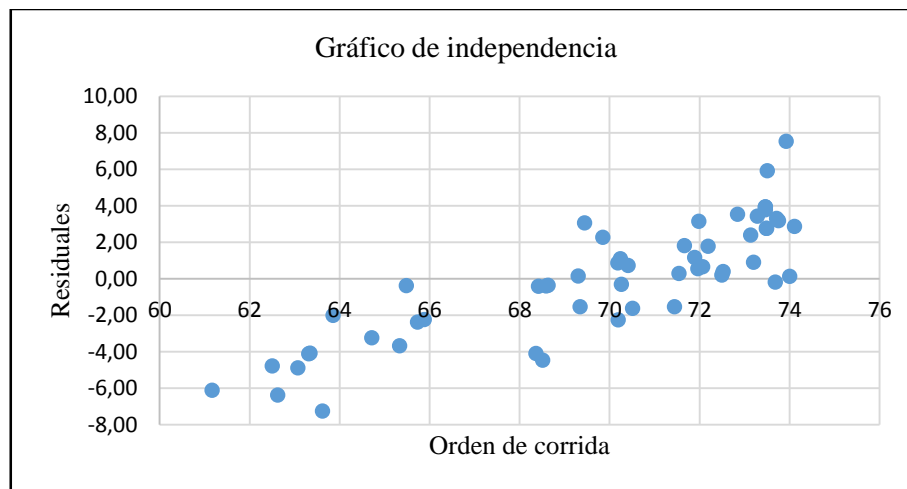


Gráfico 5-3: Gráfica de independencia
Realizado por: Yajaira Mayorga 2019

Para comprobar el supuesto de independencia fue necesario graficar los errores residuales y el orden de corrida. Al observar el gráfico 5-3 es claro que los puntos se encuentran dispersos aleatoriamente, lo que sugiere el cumplimiento de la hipótesis de independencia; es decir que los residuos no se encuentran relacionados.

Tabla 4-3: ANOVA del diseño trifactorial

F.V	S.C	GL	CM	F	Valor <i>p</i>
Factor A	99,32	2	49,66	17,47	0,000013568984
Factor B	112,91	2	56,46	19,86	0,000004970158
Factor C	34,81	2	17,41	6,12	0,006418324604
A*B	134,90	4	33,73	11,86	0,000010860070
A*C	110,61	4	27,65	9,73	0,000052581021
B*C	87,80	4	21,95	7,72	0,000277405295
A*B*C	104,88	8	13,11	4,61	0,001237116505
Residual	76,76	27	2,84		
Total	761,99	53	14,38		

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

En la tabla 4-3, se presentan los resultados del ANOVA utilizada para el diseño trifactorial, en base a los valores obtenidos luego de la caracterización de las 54 muestras, expresados en la tabla 2-3.

Al 95% de confianza se rechaza la hipótesis nula y de manera general se determina que todos los factores principales como sus interacciones son significativas; debido a que al valor *p* que presenta cada uno es menor al nivel de significancia 0.05. En otras palabras, dependiendo del nivel en donde se encuentre cada uno de los factores, influyen en el porcentaje de grados Brix del hidrogel.

Dado que para las hipótesis correspondientes al factor A, B y C expresadas en la tabla 4-2, el valor de *p* es casi nulo se rechaza H_0 y se determinó que tanto la concentración del polímero, la temperatura de fusión y el tiempo de homogenización influyen significativamente en el porcentaje final de grados Brix del hidrogel.

Respecto a las hipótesis del efecto de interacción AB, AC y BC, en vista de que el valor *p* es casi nulo con un nivel de significancia del 5% se rechaza H_0 y se determinó que la interacción de estos factores, influyen sobre el porcentaje de grados Brix del hidrogel.

Así mismo; para la hipótesis del factor ABC, debido a que p también presentó un valor casi nulo con un nivel de significancia del 5% se rechaza H_0 , y como resultado se muestra que las interacciones entre concentración del polímero, temperatura de fusión y el tiempo de homogenización tienen efecto sobre el porcentaje de los grados Brix del hidrogel.

3.2.3 Resultados del modelo estadístico para elegir el mejor tratamiento

Para identificar el tratamiento que permita obtener los mejores resultados en la síntesis del hidrogel, se usó el modelo de regresión asociado al modelo de efectos fijos.

Tabla 5-3: Modelo de regresión asociado al modelo de efectos fijos

A (Concentración del polímero) X_1	B (Temperatura de fusión) X_2	C (Tiempo de homogenización) X_3	Grados Brix del hidrogel Y	\hat{Y}
-1	-1	-1	65,48	-107,40
0	-1	-1	63,34	49,35
1	-1	-1	68,63	206,10
-1	0	-1	69,85	-107,22
0	0	-1	69,30	49,53
1	0	-1	73,48	206,28
-1	1	-1	72,84	-107,05
0	1	-1	63,62	49,70
1	1	-1	70,19	206,45
-1	-1	0	69,44	-107,22
0	-1	0	64,71	49,53
1	-1	0	73,46	206,28
-1	0	0	65,73	-107,05
0	0	0	70,41	49,70
1	0	0	74,11	206,45
-1	1	0	71,66	-106,87
0	1	0	71,96	49,88
1	1	0	68,51	206,63
-1	-1	1	62,50	-107,04
0	-1	1	71,98	49,71
1	-1	1	73,71	206,46
-1	0	1	62,62	-106,87
0	0	1	70,26	49,88

1	0	1	70,51	206,63
-1	1	1	73,49	-106,70
0	1	1	73,20	50,05
1	1	1	74,00	206,80
-1	-1	-1	65,48	-107,40
0	-1	-1	63,34	49,35
1	-1	-1	68,63	206,10
-1	0	-1	69,85	-107,22
0	0	-1	69,30	49,53
1	0	-1	73,48	206,28
-1	1	-1	72,84	-107,05
0	1	-1	63,62	49,70
1	1	-1	70,19	206,45
-1	-1	0	69,44	-107,22
0	-1	0	64,71	49,53
1	-1	0	73,46	206,28
-1	0	0	65,73	-107,05
0	0	0	70,41	49,70
1	0	0	74,11	206,45
-1	1	0	71,66	-106,87
0	1	0	71,96	49,88
1	1	0	68,51	206,63
-1	-1	1	62,50	-107,04
0	-1	1	71,98	49,71
1	-1	1	73,71	206,46
-1	0	1	62,62	-106,87
0	0	1	70,26	49,88
1	0	1	70,51	206,63
-1	1	1	73,49	-106,70
0	1	1	73,20	50,05
1	1	1	74,00	206,80

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

Dado que, se pretende analizar la distribución de las NPMs dentro del hidrogel, se utilizó el porcentaje de grados Brix como indicador de saturación del mismo; buscando, de este modo, obtener el menor porcentaje para mantener un equilibrio. En la tabla 5-3 se muestran los valores para cada nivel de tratamiento.

Los niveles se encuentran codificados de manera que -1 representa al nivel bajo. 0 al nivel medio y 1 al nivel alto; de este modo se puede observar que para concentraciones medias se obtienen los valores más bajos en porcentajes de grados Brix tanto para los valores observados, como los valores predichos.

Tabla 6-3: Identificación del mejor tratamiento para la síntesis de hidrogeles poliméricos

Tratamientos para el nivel medio			
Factor	A(Concentración del polímero)	B (temperatura de fusión)	C (tiempo de homogenización)
Nivel codificado	0	-1	-1
Tratamiento ganador	0,05 % en masa	50°C	7 min
Nivel codificado	0	0	-1
Tratamiento ganador	0,05 % en masa	60 °C	7 min
Nivel codificado	0	1	-1
Tratamiento ganador	0,05 % en masa	70 °C	7 min
Nivel codificado	0	-1	0
Tratamiento ganador	0,05 % en masa	50°C	10 min
Nivel codificado	0	0	0
Tratamiento ganador	0,05 % en masa	60 °C	10 min
Nivel codificado	0	1	0
Tratamiento ganador	0,05 % en masa	70°C	10 min
Nivel codificado	0	-1	1
Tratamiento ganador	0,05 % en masa	50°C	15 min
Nivel codificado	0	0	1
Tratamiento ganador	0,05 % en masa	60 °C	10 min

Realizado por: Mayorga Yajaira, 2019

De la tabla 5-3 se extraer la tabla 6-3, donde se expresan los niveles codificados y originales para los tratamientos con el nivel medio de concentración del polímero, mismos que permiten obtener un porcentaje de grados Brix homogéneos dentro del hidrogel. Así tenemos, concentración del polímero de 0.05% en masa, temperatura de fusión en 50°C, 60°C o 70°C y tiempo de homogenización en 7, 10 o 15 minutos. En otras palabras, los resultados al usar la concentración del nivel medio son favorables para todas sus interacciones.

CONCLUSIONES

- Mediante la polimerización en microemulsión inversa, se pudo sintetizar un hidrogel polimérico, constatando que este método permite obtener una emulsión más estable, que mantiene las NPMs en su interior, aunque requiere el uso de una gran cantidad de tensioactivo. En consecuencia, se considera al hidrogel químicamente reticulado.
- Al variar la temperatura y tiempo de homogenización en la síntesis de las muestras; se dio paso al crosslinking, creando enlaces químicos (covalentes) o físicos (puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals) en las cadenas de la red polimérica, lo que le dio la estabilidad característica del hidrogel.
- Las técnicas instrumentales usadas para la caracterización del hidrogel fueron espectroscopia IR, microscopía electrónica de barrido y refractometría. La primera permitió realizar un análisis químico de la muestra, determinando su carácter hidrófilo; además de la presencia de enlaces que identifican elementos importantes como la agarosa y óxidos de hierro. La técnica de microscopía electrónica de barrido por su parte, nos permitió observar una distribución homogénea de la NPMs dentro del hidrogel, lo cual se corroboró con el análisis por refractometría que arrojó valores con media de 69.59% de grados Brix, determinando que la cantidad de NPMs es elevada, sin embargo, no satura la muestra, abriendo la posibilidad de su uso posterior en transporte de sustancias.
- La preparación de los hidrogeles se llevó a cabo en sencillos pasos, donde el polímero fue incorporado, creando una delgada capa sobre las NPMs y encapsulándolas en su interior. Si se incrementa el contenido del polímero, este aumenta la cantidad de grupos afines a las moléculas de agua, lo que favorece la interacción del hidrogel con las soluciones acuosas y las NPMs. Esto nos permite evidenciar, mediante el SEM, una distribución casi completamente homogénea de las NPMs en el gel.
- Los resultados presentados en la tabla 5-3, permiten concluir que el mejor tratamiento para la síntesis de hidrogeles se obtiene al utilizar una concentración de agarosa al 0.05%, sin que factores como el tiempo y la temperatura influyan de manera significativa en el mismo.

RECOMENDACIONES

- Extender la presente investigación orientando las propiedades del hidrogel funcionalizado al área biomédica, como un potencial agente para producir hipertermia dentro de células específicas una vez que se alcance la biocompatibilidad del mismo.
- No almacenar la disolución 1 por un tiempo mayor a 24 horas; ya que pierde las propiedades como agente entrecruzante, lo cual impide la síntesis del hidrogel y, en lo posible, utilizar un agitador eléctrico para la homogenización de las disoluciones que dan lugar al hidrogel polimérico funcionalizado con NPMs.
- Se recomienda limpiar el lente del espectrofotómetro IR utilizando acetona en lugar de alcohol, luego de que haya estado en contacto con NPMs, puesto que el Fe presente en las mismas es bastante alto y puede alterar los resultados de análisis consecutivos.

BIBLIOGRAFÍA

Agarosas: tipos, aplicaciones y concentraciones. [en línea]. 2005, S.l.: [Consulta: 17 diciembre 2018]. Disponible en: https://www.condalab.com/pdf/folleto_agarosas09.pdf.

ALAMEDA, J. y CARBAJO, J.I. *Aplicaciones Industriales de la Nanotecnología*. Universidad de Oviedo, 2012, pp. 92.

ARDERIU, X., CASTIÑEIRAS, M. y QUERALTÓ, J. *Bioquímica clínica y patología molecular*. 2a. S.l.: Reverté, 1998. ISBN 9788429118544.

ARMELÍN, E.. *Polímeros biodegradables de uso comercial*. [en línea], 2002, pp. 1-30. Disponible en: <http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/6425/03INTRODUCCION.pdf?sequence=3>.

AWADHIYA, A., KUMAR, D. y VERMA, V. Crosslinking of agarose bioplastic using citric acid. *Carbohydrate Polymers* [en línea], vol. 151, 2016, pp. 60-67. [Consulta: 29 marzo 2019]. ISSN 01448617. DOI 10.1016/j.carbpol.2016.05.040. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716305628>.

BERG, S. Purpose of a Refractometer. [en línea]. 2016, [Consulta: 3 abril 2019]. Disponible en: <https://sciencing.com/purpose-refractometer-5069941.html>.

BILLMEYER, F.W. y GUERRA, A., 1975. *Ciencia de los polímeros*. S.l.: Reverté, 1975. ISBN 9788429170481.

CAMPOS, S. *Hidrogeles de almidón-PVA como vehículos de antimicrobianos para el envasado activo de alimentos* [en línea]. 2015, S.l.: s.n. [Consulta: 10 diciembre 2018]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/54486/CAMPOS - Hidrogeles de almidón-PVA como vehículos de antimicrobianos para el envasado activo de a....pdf?sequence=2&isAllowed=y>.

CHACÓN, C. *Síntesis de hidrogeles interpenetrados en base a acrilamida para la recuperación de metales en aguas*, 2012, pp. 143.

CHAMÉ, K. *Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas* [en línea]. 2013. S.l.: s.n. Disponible en: <http://biblioteca.cio.mx/tesis/15611.pdf>.

COREÑO, J. y MÉNDEZ, M.T. Relación estructura-propiedades de polímeros. [en línea]. 2010, S.l.: [Consulta: 10 abril 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/eq/v21n4/v21n4a6.pdf>.

CORTÉS, J., PUIG, J.E., MORALES, J. a. y MENDIZÁBAL, E. Thermosensitive Nanostructured Hydrogels Synthesized by Inverse Microemulsion Polymerization. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, vol. 10, no. 3, pp. 513-520, 2011. ISSN 1665-2738.

DEL RIO, M. Aplicación de nanopartículas magnéticas de hierro a la eliminación de mercurio del agua. [en línea]. 2014, pp. 31. [Consulta: 4 febrero 2018]. Disponible en: http://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/1143/TFG_QUIMICA_DelRioClarMateu.pdf?sequence=1.

DUMITRIU, S. *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. 2da. Quebec, Canada: Marcel Dekker, 2004. ISBN 9781420030822.

ESCOBAR, J.M. Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana*, vol. 3, no. 3, 2002, pp. 1-25.

FOLADORI, G. y INVERNIZZI, N. *Implicaciones sociales y ambientales del desarrollo de las nanotecnologías en América Latina y el Caribe*, 2012. S.l.: s.n.

GARCÍA, M.A., MARTÍNEZ, A. y RUIZ, R.G. Desarrollo De Los Óxidos De Hierro En La Nanotecnología. [en línea]. 2011, Disponible en: http://ww.w.razonypalabra.org.mx/N/n68/Monotematico/PDF/11_GarciaLobato_68.pdf.

GONZALES, X. Diseño, síntesis y caracterización fisicoquímica de un hidrogel nanofuncionalizado basado en polietilenglicol. *Journal of Experimental Psychology: General*, vol. 136, 2016, pp. 96.

GUTARRA, J.T., RUEDA, J.C. y CORZO, A. Elaboración de nanopartículas de oro en hidrogeles termosensitivos. *Rev Soc Quím Perú* [en línea]. 2017, vol. 83, no. 1, pp. 13. [Consulta: 5 febrero

2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v83n1/a08v83n1.pdf>.

GUTIÉRREZ, C. NANOPARTÍCULAS: pequeñas estructuras con gran potencial. [en línea]. 2006, S.l.: [Consulta: 10 abril 2019]. Disponible en: <http://inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/39NANOPARTICULAS.pdf>.

GUTIERREZ, H. y DE LA VARA, R. *Análisis y diseño de experimentos*. Segunda Ed. México: s.n. 2008. ISBN 9789701065266.

HERNÁNDEZ, E., LICEA, A., CORNEJO, J.M. y FRIEDRICH, K. Preparación de hidrogeles anfifílicos sensibles a diferentes valores de pH utilizando monómeros ácidos con espaciadores hidrofóbicos. *Núm* [en línea]. 2003, vol. 47, no. 3, pp. 251-257. ISSN 0583-7693. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rsqm/v47n3/v47n3a8.pdf>.

IPOHORSKI, M. y BOZZANO, P. Microscopía electrónica de barrido en la caracterización de materiales. [en línea]. 2009, S.l.: [Consulta: 15 enero 2019]. Disponible en: <http://aargentinapciencias.org/wp-content/uploads/2018/01/RevistasCeI/tomo63-3/5-MICROSCOPIA-ELECTRONICA-DE-BARRIDO-EN-LA-CARACTERIZACION-DE-MATERIALES-cei63-3-2013-5.pdf>.

KATIME, I. Hidrogeles inteligentes. *Revista Iberoamericana de Polímeros* [en línea]. 2000, vol. 5, no. 5, pp. 10. Disponible en: <http://www.reviberpol.iibcaudo.com.ve/pdf/publicados/katime.pdf> <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/AGO06/gascue.pdf>.

KATIME, I. Materiales inteligentes: Hidrogeles macromoleculares. Algunas aplicaciones biomedicas. *Universidad del País Vasco*, 2004, pp. 16.

LI, L., QIN, D., YANG, X. y LIU, G. Synthesis of ellipsoidal hematite/polymer/titania hybrid materials and the corresponding hollow ellipsoidal particles. *Polym. Chem.* [en línea]. 2010, vol. 1, no. 3, pp. 289-295. [Consulta: 14 mayo 2019]. DOI 10.1039/B9PY00230H. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B9PY00230H>.

MAMANI, D. Componentes Del Champu. [en línea]. 2012, [Consulta: 5 diciembre 2019]. Disponible

en: <https://es.scribd.com/document/114452577/Componentes-Del-Champu>.

MERCOSUR, F. Espectrofotometría infrarroja. [en línea]. 2010. Buenos Aires: [Consulta: 20 marzo 2019]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/mercosur/ACTA02-13/P_Res_Monografia_Infrarrojo_ES.pdf.

MIJARES, E.M. Nanomateriales Poliméricos Preparados Mediante Polimerización. , 2008, pp. 1-30. DOI 10.3141/1970-08.

MOISTURE, K.F. Refractometer RA-620/-600. [en línea]. 2015. S.l.: [Consulta: 3 abril 2019]. Disponible en: http://www.kyoto-kem.com/en/pdf/catalog/ra_620_600.pdf.

MUÑOZ, M., OCHOA, J.R. y FERNÁNDEZ, C. Formación de microemulsiones inversas de acrilamida. *Tecnología y desarrollo. Revista de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente* [en línea]. 2005, vol. 3, no. 0, pp. 29. ISSN 1696-8085. Disponible en: https://revistas.uax.es/index.php/tec_des/article/view/527.

ORMAZA, R., COELLO, J. y BASASTES, E. Control del tamaño de microfibras magnéticas poliméricas durante el proceso de síntesis. *Ciencia Digital* [en línea]. 2018, vol. 2, no. 4.1., pp. 125-138. [Consulta: 29 abril 2019]. DOI 10.33262/cienciadigital.v2i4.1..195. Disponible en: <http://cienciadigital.org/revistacienciadigital2/index.php/CienciaDigital/article/view/195>.

ORMAZA, R.M. Caracterización y control del tamaño de microfibras magnéticas de agarosa. , 2016, pp. 1-33.

OSTROUMOV, M.N. *Espectrometría infrarroja de reflexión en mineralogía avanzada, geomología y arqueometría*. S.l.: Instituto de Geofísica, Universidad Nacional Autónoma de México, 2007. ISBN 9789703250097.

PACHECO, M., GUERRERO, M., TACURI, E. y LÓPEZ, R. Síntesis y caracterización de nanopartículas superparamagnéticas obtenidas por precipitación en microemulsión inversa para aplicaciones biomédicas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, vol. 79, no. 2, 2013, pp. 99-106.

PUIG, L.J., et. all. Microstructured polyacrylamide hydrogels prepared via inverse microemulsion

polymerization. *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 235, no. 2, 2001, pp. 278-282. ISSN 00219797. DOI 10.1006/jcis.2000.7356.

RAMÍREZ, A., BENITEZ, J.L., ROJAS, L. y ROJAS, B. Materiales polímeros de tipo hidrogeles: Revisión sobre su caracterización mediante FTIR, DSC, MEB y MET. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* [en línea]. 2014, vol. 0, no. 0, pp. 108-130. ISSN 2244-7113. Disponible en: <http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/view/736>.

RAYO, O. y GUERRERO, D. Nanogeles poliméricos: Una nueva alternativa para la administración de fármacos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, vol. 45, no. 3, 2014, pp. 17-38. ISSN 10273956.

RENAU, J. y FAURA, M. Principios básicos del Microscopio Electrónico de Barrido 1.- Introducción. [en línea]. 2009. S.l.: [Consulta: 15 enero 2019]. Disponible en: https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/9313/CC-011_art_5.pdf;sequence=1.

ROBINSON, M. *Asimilación del método de focalización isoeléctrica en agarosa y aplicación del ELISA al estudio de la respuesta de anticuerpos en SNC de personas con esclerosis múltiple* [en línea]. 2010, S.l.: s.n. [Consulta: 12 diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/323737740>.

RUIZ, G. Desarrollo de un sistema de liberación de fármacos basado en nanopartículas magnéticas recubiertas con polietilenglicol para el tratamiento de diferentes enfermedades, 2014, pp. 181.

SANZ, S. Tipos de emulsión. [en línea]. 2016, S.l.: Disponible en: <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/tecnofarma/wp-content/uploads/2010/04/Emulsiones.pdf>.

SEYMOUR, R.B. y CARRAHER, C.E. *Introducción a la química de los polímeros*, 1995. S.l.: Reverté. ISBN 9788429179262.

SHURVELL, H.F. Spectra- Structure Correlations in the Mid- and Far-Infrared. *Handbook of Vibrational Spectroscopy* [en línea]. 2006, DOI 10.1002/0470027320.s4101. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/0470027320.s4101>.

TARTAJ, P., et all. Advances in magnetic nanoparticles for biotechnology applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 290-291 PA, 2005, pp. 28-34. ISSN 03048853. DOI 10.1016/j.jmmm.2004.11.155.

VÁZQUEZ, G. y ECHEVERRÍA, O. *Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas*. S.l.: Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, 2000. ISBN 9789681662400.

VEGA, A. y MIRANDA, J. Emulsiones Farmacéuticas. [en línea]. 2009, S.l.: [Consulta: 5 mayo 2019]. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Emulsiones_5452.pdf.

VERA, F., 2018. *Síntesis Y Caracterización De Nanopartículas Magnéticas De Hierro (Magnetita)*. S.l.: s.n.

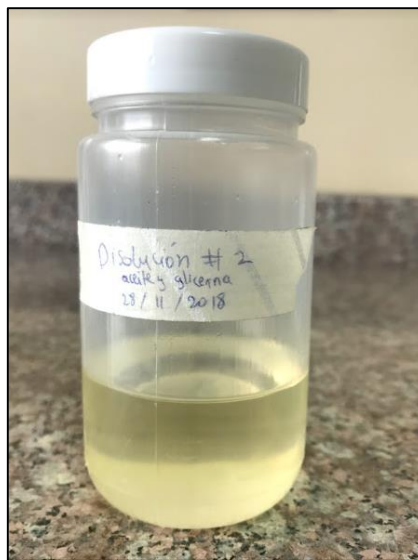
XU, Z., et all. Fabrication and biocompatibility of agarose acetate nanofibrous membrane by electrospinning. *Carbohydrate Polymers* [en línea] 2018, vol. 197, pp. 237-245. [Consulta: 29 marzo 2019]. ISSN 01448617. DOI 10.1016/j.carbpol.2018.06.004. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861718306507>.

ANEXOS

Anexo A. Preparación de materiales



Materiales

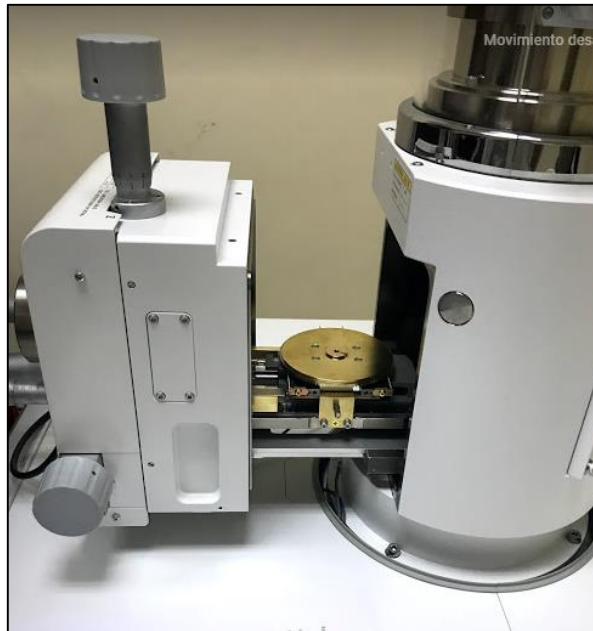


Almacenamiento y apariencia de la disolución 2

Anexo B. Caracterización

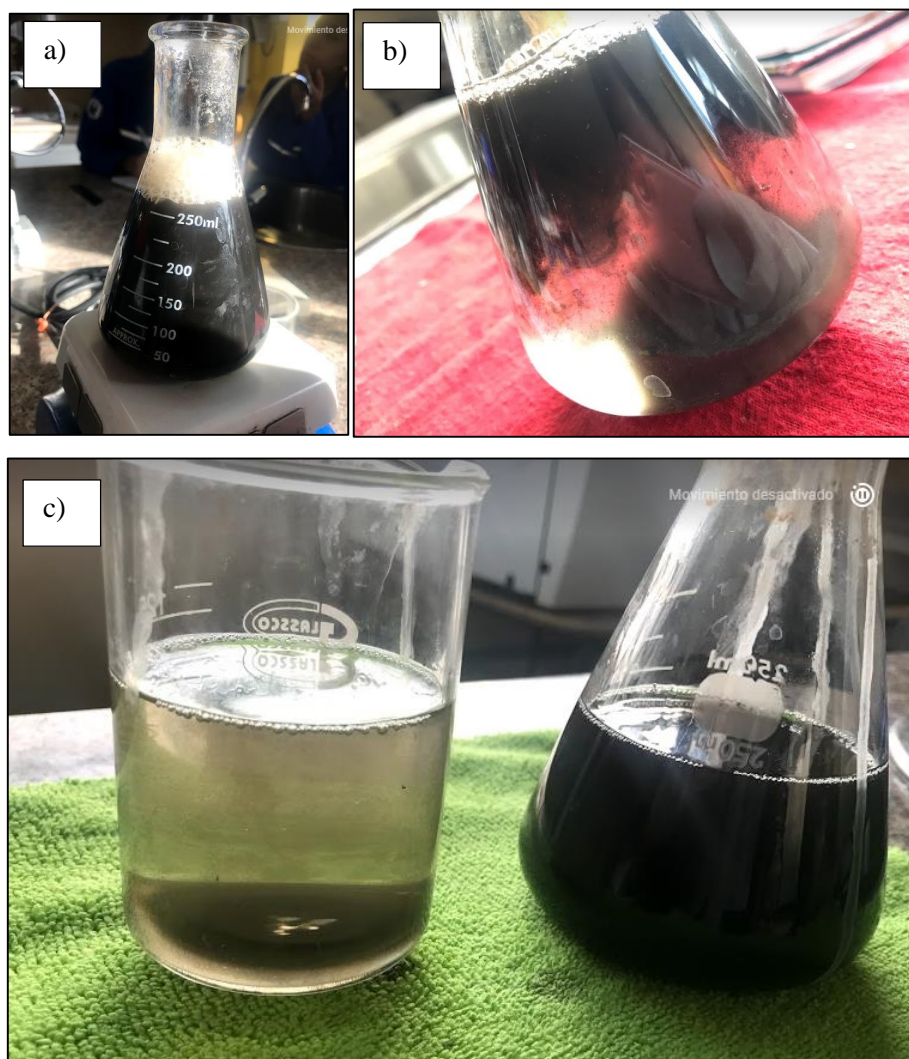


Espectroscopia IR



Colocación de muestra en el SEM

Anexo C. Obtención de NPMs



- a) Proceso de síntesis de las NPMs
- b) Resultado obtenido luego de la síntesis
- c) Proceso de purificación de las NPMs (izquierda purificadas, derecha: sin purificar)

Anexo D. Síntesis del hidrogel



Control de la temperatura para cada síntesis



Mezcla de disoluciones 1 y 2

Anexo E. Hidrogel obtenido



Prueba para la síntesis sin NPMs



Hidrogel obtenidos para el tratamiento 12

Anexo F. Muestras obtenidas aplicando el diseño experimental

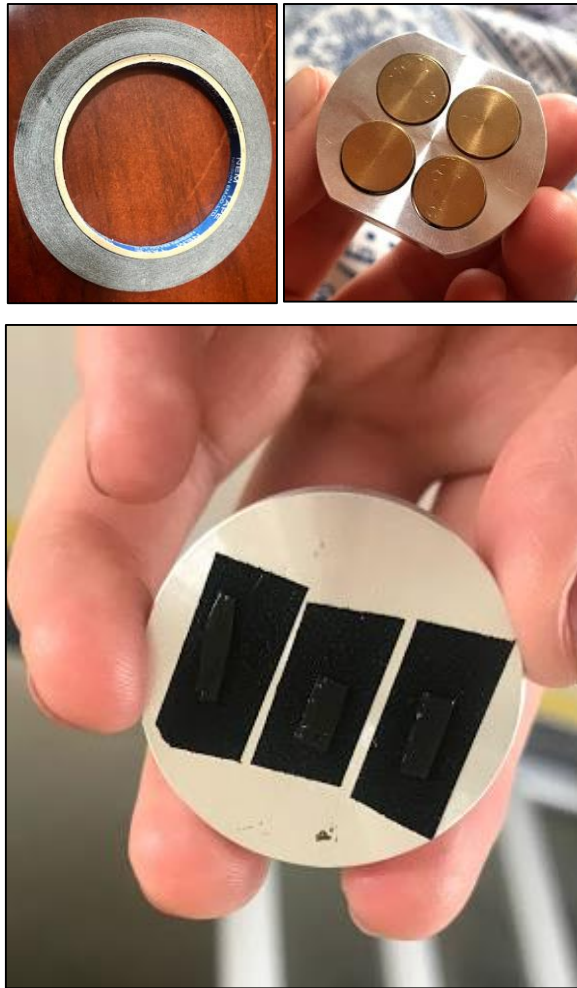


Paquete de muestras sintetizadas para niveles bajo y medio



Medición de las muestras en el refractómetro

Anexo G. Preparación de muestras para el SEM



- a) Cinta de carbono utilizada para análisis en SEM
- b) Placa porta-muestras metálica del SEM
- c) Muestras de hidrogeles analizadas en SEM