



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA FÍSICA**

**SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE GELATINA  
METACRILATO (GelMA) VARIANDO PARÁMETROS FÍSICO-  
QUÍMICOS PARA APLICACIONES EN REGENERACIÓN DE  
TEJIDOS**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**FÍSICA**

**AUTORA: SHIRLEY DAYANA CUZCO VARGAS**

**DIRECTORA: Biof. MARÍA FERNANDA HEREDIA MOYANO Mtr.**

Riobamba- Ecuador

2022

**©2022, Shirley Dayana Cuzco Vargas**

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, SHIRLEY DAYANA CUZCO VARGAS declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos del documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 15 de junio de 2022



**Shirley Dayana Cuzco Vargas**

**060532738-6**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA FÍSICA**

El Tribunal de Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, “**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE GELATINA METACRILOILA (GelMA) VARIANDO PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS PARA APLICACIONES EN REGENERACIÓN DE TEJIDOS**”, realizado por la señorita: **SHIRLEY DAYANA CUZCO VARGAS**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Mat. Luis Marcelo Cortez Bonilla, Mgs. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-06-15
Biof. María Fernanda Heredia Moyano Mtr. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>	 -----	2022-06-15
Dr. Alexander Alfredo Morocho Amboya <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	 -----	2022-06-15

## **DEDICATORIA**

Este trabajo de integración curricular es dedicado:

A Dios que me ha guiado por un camino excelente, que me ha brindado día a día la salud, vida y sabiduría lo cual me ha llevado al momento en el que me encuentro.

A mis padres Segundo y Luzmila quienes con su amor y paciencia me han criado y apoyado en cada una de mis decisiones, siempre han confiado en mis habilidades y en que lograré mis metas, a ellos que con un solo abrazo me hacen sentir segura.

A mis hermanas Valeria y Paola que siempre me han animado en mis peores momentos, ellas que nunca han dudado de lo que soy capaz ni de todo lo que pueda llegar a realizar y ser.

A mi sobrina Samantha que con su sonrisa me da esperanza de que cualquier mal momento mejorará y que me observa como su ejemplo a seguir.

En fin, a toda mi familia por sus consejos y buenos deseos.

*Shirley*

## **AGRADECIMIENTO**

En primer instante quiero dar gracias a Dios por darme la vida y salud para llegar a este momento. Posteriormente agradezco a las autoridades de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por el acceso a los distintos laboratorios y uso de equipos necesarios que se encuentran en la Facultad de Ciencias y a cada técnico docente y personal por su ayuda y por transmitirme sus conocimientos en diferentes áreas.

De igual modo expreso mi gratitud a la Biofísica Caterine Carrasco quien fue mi cotutora externa que con su conocimiento me enseñó y asesoró en todo el proceso de síntesis y por aconsejarme el método más eficiente. A la Biofísica Gabriela Ureña por estar pendiente a cada instante de mis necesidades en el transcurso de mi trabajo de integración curricular y por su disponibilidad de tiempo para los tesistas.

Mis agradecimientos a la Biofísica Fernanda Heredia por su dirección y colaboración durante todo este proceso.

*Shirley*

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

## CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	6
1.1. Hidrogeles.....	6
1.2. Biopolímeros.....	7
1.2.1. <i>Colágeno (col)</i> .....	8
1.2.2. <i>Gelatina (gel)</i> .....	9
1.3. Anhidrido metacrilico.....	12
1.4. Gelatina metacrililoila.....	13
1.4.1. <i>Grado de sustitución</i> .....	14
1.4.2. <i>Morfología</i> .....	14
1.4.3. <i>Propiedades mecánicas</i> .....	15
1.4.4. <i>Grupos químicos</i> .....	16
1.4.5. <i>Mojabilidad</i> .....	16
1.5. Pruebas de Caracterización.....	18
1.5.1. <i>Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	18
1.5.2. <i>Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)</i> .....	19
1.5.3. <i>Técnica de la gota sésil (SD)</i> .....	21
1.6. Aplicaciones de la gelatina metacrililoila.....	22
1.6.1. <i>Andamios para cultivo celular 3-D</i> .....	22
1.6.2. <i>Regeneración ósea</i> .....	23
1.6.3. <i>Regeneración de tejidos</i> .....	24

## CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO.....	25
----------------------------	----

2.1.	<b>Materiales</b> .....	25
2.2.	<b>Equipos</b> .....	26
2.3.	<b>Síntesis de tampón fosfato salino (PBS)</b> .....	30
2.4.	<b>Síntesis de gelatina metacrilato</b> .....	30
2.5.	<b>Pruebas de caracterización</b> .....	31

### **CAPÍTULO III**

3.	<b>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	34
3.1.	<b>Gelatina metacrilato</b> .....	34
3.2.	<b>Resultados de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)</b> ...	35
3.2.1.	<i>Muestras variando la proporción del anhídrido metacrilato</i> .....	35
3.2.2.	<i>Muestras variando el tiempo de reacción</i> .....	36
3.3.	<b>Resultados de la microscopía electrónica de barrido</b> .....	37
3.3.1.	<i>Muestras variando la proporción del anhídrido metacrilato</i> .....	37
3.3.2.	<i>Muestras variando el tiempo de reacción</i> .....	42
3.4.	<b>Resultados de la gota de sésil (ángulo de contacto)</b> .....	47
3.4.1.	<i>Muestras variando la proporción del anhídrido metacrilato</i> .....	47
3.4.2.	<i>Muestras variando el tiempo de reacción</i> .....	50
3.5.	<b>Análisis Estadístico</b> .....	52

	<b>CONCLUSIONES</b> .....	53
--	---------------------------	----

	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	54
--	------------------------------	----

### **GLOSARIO**

### **BIBLIOGRAFÍA**

### **ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1.</b>	Clasificación de los polímeros naturales con respecto a su origen .....	7
<b>Tabla 2-1.</b>	Clasificación de los polímeros naturales con respecto a su funcionalidad.....	8
<b>Tabla 3-1.</b>	Clasificación de los polímeros naturales según la carga de sus superficies.....	8
<b>Tabla 4-1.</b>	Ángulo de contacto y grado de mojabilidad.....	17
<b>Tabla 5-2.</b>	Instrumentos que conforman el equipo de filtración al vacío.....	28
<b>Tabla 6-2.</b>	Concentraciones de sal requerida para la síntesis de PBS .....	30
<b>Tabla 7-2.</b>	Muestras con variación en sus parámetros.....	31
<b>Tabla 8-3.</b>	Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 1) .....	38
<b>Tabla 9-3.</b>	Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 2).....	40
<b>Tabla 10-3.</b>	Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 3).....	41
<b>Tabla 11-3.</b>	Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 4).....	43
<b>Tabla 12-3.</b>	Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 5).....	45
<b>Tabla 13-3.</b>	Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 6).....	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b>	Hidrogel. Derecha: estructura del hidrogel. Izquierda: Diferenciación entre monómero, polímero.....	6
<b>Figura 2-1.</b>	SEM del colágeno vista transversal. ....	7
<b>Figura 3-1.</b>	Cadenas polipeptídicas de dos aminoácidos glicina, hidroxiprolina y prolina que conforman el colágeno.....	9
<b>Figura 4-1.</b>	Estructura de GelMA con aminoácidos cargado a pH 4.8.....	10
<b>Figura 5-1.</b>	(a) Imágenes de gelatina de peces de aguas frías, (b) de peces de aguas cálidas y (c) bovina.....	11
<b>Figura 6-1.</b>	Estructura del anhídrido metacrílico. ....	12
<b>Figura 7-1.</b>	Síntesis de gelatina metacrililo (GelMA). (A) La gelatina reacciona con anhídrido metacrílico (MAA). (B) Fotocruzamiento de GelMA. ....	14
<b>Figura 8-1.</b>	Morfología de la gelatina metacrililo. ....	15
<b>Figura 9-1.</b>	(A). Propiedades mecánicas de GelMA B) Módulo de compresión para GelMA al 5%, 10% y 15% (p/v) a bajo, medio y alto grado de metacrilación. ....	15
<b>Figura 10-1.</b>	Esquema del ángulo formado entre el interfaz sólido/líquido y líquido/vapor ..	17
<b>Figura 11-1.</b>	a) Superficie hidrófila b) superficie hidrófoba. ....	17
<b>Figura 12-1.</b>	Espectros FTIR de gelatina, anhídrido metacrílico y GelMA. ....	19
<b>Figura 13-1.</b>	Imágenes de microscopía electrónica de barrido de hidrogeles 3D con 15% de gelatina metacrililo. De 1mm, 500µm, 10 µm.....	20
<b>Figura 14-1.</b>	Esquema de interacción de los electrones con la muestra. ....	20
<b>Figura 15-1.</b>	Representación del ángulo de contacto y las tensiones de interfases. ....	21
<b>Figura 16-1.</b>	(a) Esquema de la fabricación de microestructuras tubulares. (b) Cultivo celular en microestructura de gelatina metacrililo luego de ser expuesta a UV por dos días.....	22
<b>Figura 17-1.</b>	(Ai) Representación de GelMA en microesferas y su aplicación. (Aii) Por dispositivos microfluídicos se crean microesferas GelMA y su morfología.....	23
<b>Figura 18-1.</b>	Esquema que muestra la fabricación y aplicación en una herida.....	24
<b>Figura 19-2.</b>	Derecha: gelatina de piel porcina, izquierda: anhídrido metacrílico. ....	25
<b>Figura 20-2.</b>	Suministros otorgados en la ESPOCH para el PBS. ....	26
<b>Figura 21-2.</b>	Agitador magnético con placa calefactora. ....	26
<b>Figura 22-2.</b>	Sorbona o campana de extracción.....	27
<b>Figura 23-2.</b>	Estufa.....	29
<b>Figura 24-2.</b>	Liofilizador.....	29
<b>Figura 25-2.</b>	Equipo de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier. ....	32
<b>Figura 26-2.</b>	Equipo de microscopia electrónica de barrido (SEM).....	33

<b>Figura 27-2.</b>	Portaobjetos con muestras para SEM.....	33
<b>Figura 28-3.</b>	Izquierda: muestra 1; medio: muestra 2; derecha: muestra 3 .....	34
<b>Figura 29-3.</b>	Izquierda: muestra 4; medio: muestra 5; derecha: muestra 6 .....	34
<b>Figura 30-3.</b>	SEM micrografía de Gelma 8% v/v (muestra 1).....	38
<b>Figura 31-3.</b>	SEM micrografía de Gelma 10% v/v (muestra 2).....	39
<b>Figura 32-3.</b>	SEM micrografía de Gelma 3% v/v (muestra 3).....	41
<b>Figura 33-3.</b>	SEM micrografía de Gelma 8% v/v, 3 horas de tiempo de reacción (muestra 4) .....	43
<b>Figura 34-3.</b>	SEM micrografía de Gelma 8% v/v, 2 horas de tiempo de reacción (muestra 5) .....	44
<b>Figura 35-3.</b>	SEM micrografía de Gelma 8% v/v, 1 horas de tiempo de reacción (muestra 6) .....	45
<b>Figura 36-3.</b>	Ángulo de contacto de muestra 1 .....	48
<b>Figura 37-3.</b>	Ángulo de contacto de muestra 2 .....	48
<b>Figura 38-3.</b>	Ángulo de contacto de muestra 3.....	49
<b>Figura 39-3.</b>	Ángulo de contacto de muestra 4.....	50
<b>Figura 40-3.</b>	Ángulo de contacto de muestra 5.....	50
<b>Figura 41-3.</b>	Ángulo de contacto de muestra 6.....	51

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3.</b>	Espectros FTIR de las muestras 1, 2, 3gelatina.....	36
<b>Gráfico 2-3.</b>	Espectros FTIR de las muestras 1, 2, 3 y gelatina.....	37
<b>Gráfico 3-3.</b>	Porosidad en base al análisis de las micrografías SEM.....	42
<b>Gráfico 4-3.</b>	Porosidad en base al análisis de las micrografías SEM.....	47
<b>Gráfico 5-3.</b>	Comparación del ángulo de contacto de las muestras 1,2,3.....	49
<b>Gráfico 6-3.</b>	Comparación del ángulo de contacto de las muestras 4,5,6.....	51

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A: MUESTRAS FINALES**

**ANEXO B: PROCESO DE SÍNTESIS DE LA GELATINA METRACRILOILA**

**ANEXO C: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN SALINA DE FOSFATO**

**ANEXO D: ANOVA**

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>MA</b>	Anhidrido metacrílico
<b>GeMA</b>	Gelatina metacrilóila
<b>CB</b>	Carbonato-bicarbonato
<b>ml</b>	Mililitros
<b>g</b>	Gramos
<b>w</b>	Peso
<b>v</b>	Volumen
<b>C</b>	Grados Celsius
<b>DS</b>	Grado de sustitución
<b>COL</b>	Colágeno
<b>GEL</b>	Gelatina
<b>EEB</b>	Encefalopatía Espongiforme Bovina
<b>RGD</b>	Glicina-aspártico
<b>MMP</b>	Matriz de metaloproteinasa
<b>SEM</b>	Microscopía electrónica de barrido
<b>FTIR</b>	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
<b>MEB</b>	Microscopía Electrónica de Barrido
<b>SED</b>	Solid State Detector
<b>SD</b>	Técnica de la gota sésil
$\gamma_{SG}$	Sólido/gas
$\gamma_{SL}$	Sólido/líquido
$\gamma_{LG}$	Líquido/gas
<b>CSP</b>	Células del lado cardiaco
<b>PDMS</b>	Polidimetilsiloxano
<b>PBS</b>	Solución salina de fosfato
<b>COOH</b>	Ácido carboxílico
<b>um</b>	Micrómetro
<b>mm</b>	Milímetros
<b>w/v</b>	Proporción peso/ volumen
<b>v/v</b>	Proporción volumen/volumen
<b>L</b>	Litro
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>Kv</b>	Kilovoltio
<b>min</b>	Minutos

## RESUMEN

La finalidad de este estudio fue sintetizar gelatina metacrilóila (GelMA) mediante la modificación de la gelatina de piel de porcino tipo A con ayuda del anhídrido metacrílico basándonos en la técnica de reacción con la solución salina de fosfato (PBS) este proceso se realizó variando el anhídrido metacrílico en 12ml, 2.5 ml y 0.75ml, también se varió el tiempo de reacción en 180 min, 120 min, 60 min, todo se realizó con una temperatura constante de 50° C, en total se obtuvieron seis muestras que fueron estudiadas en tres pruebas de caracterización, la primera fue la espectroscopía infrarrojo con transformada de Fourier que nos muestra los grupos químicos de cada muestra resaltando los picos de los grupos aminos funcionales NH, grupo de estiramiento (amida I), las amidas II y la amida III. En la microscopía electrónica de barrido se analizó la morfología de gelatina metacrilóila y su naturaleza porosa, con el uso de los programas ImagenJ y OriginPro 9 se conoció que la muestra que tiene 12 ml de anhídrido metacrílico y 15 gramos de gelatina tiene el mayor tamaño promedio de poro siendo de 150 micras lo que beneficia a la difusión de oxígeno y apoyo al crecimiento celular y con la técnica de la gota de sésil se obtuvieron imágenes de interacción entre la gota y las muestras que posteriormente se estudió con Kinovea los ángulos de contacto los cuáles dio a conocer que todas las muestras tiene un alto grado de mojabilidad pues el fluido se extiende sobre la superficie del sólido (muestra). Se recomienda analizar las proporciones de la gelatina, anhídrido metacrílico y solución salina de fosfato para que la síntesis pues esto afectará al resultado final.

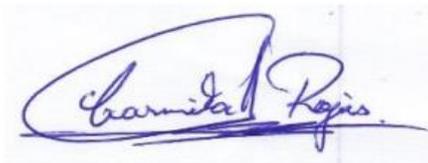
**Palabras clave:** <GELATINA METACRIOILA>, <ANHÍDRIDO METACRÍLICO>, <REACCIÓN>, <CARACTERIZACIÓN>, <ESPECTROSCOPIA>, <MICROSCOPIA ELECTRÓNICA>.



## ABSTRACT

The purpose of this study was to synthesize methacryloyl gelatine (GelMA) by modifying porcine skin gelatine type A with the help of methacrylic anhydride based on the reaction technique with phosphate buffered saline (PBS) this process was performed by varying the methacrylic anhydride in 12ml, 2.5 ml and 0.75ml, also the reaction time was varied in 180 min, 120 min, 60 min, everything was carried out with a constant temperature of 50° C, in total six samples were obtained that were studied in three characterisation tests, the first one was the infrared spectroscopy with Fourier transform that shows us the chemical groups of each sample highlighting the peaks of the amine functional groups NH, stretching group (amide I), amide II and amide III. Scanning electron microscopy analysed the morphology of methacryloyl gelatine and its porous nature, using ImagenJ and OriginPro 9 software, it was found that the sample containing 12 ml of methacrylic anhydride, and 15 grams of gelatine has the largest average pore size of 150 microns, which benefits oxygen diffusion and supports cell growth. sessile drop technique, images of interaction between the drop and the samples were obtained, which were subsequently studied with Kinovea contact angles which showed that all the samples have a high degree of wettability as the fluid spreads over the surface of the solid (sample). It is recommended to analyse the proportions of gelatine, methacrylic anhydride and phosphate salt solution for the synthesis as this will affect the final result.

Keywords: <GELATINEE METHACRYOYL>, <METHACRYLIC ANHYDRIDE>, <REACTION>, <CHARACTERISATION>, <SPECTROSCOPY>, <MICROSCOPY ELECTRONIC>.

A handwritten signature in blue ink, reading "Carmela Rojas". The signature is written in a cursive style with a large, sweeping initial 'C'.

## INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles en los últimos años se comenzaron a considerar en las aplicaciones en diversas áreas principalmente en la biomedicina esto se debe a que tiene propiedades ajustables ya que se trata de una red tridimensional de polímero hidrofílicos. La gelatina se crea por hidrólisis del colágeno, esta elección es muy importante debido a que la gelatina tiene varias propiedades como biocompatibilidad, solubilidad y es un producto de fácil acceso, pero tiene desventajas como su rápida degradación y poca resistencia mecánica entonces lo que se procede hacer en este estudio es combinar el hidrogel a base de gelatina con el anhídrido metacrílico con la técnica de reacción de PBS aquello fue mencionado por primer instante por Van Den Bulcke et al. estos cambios o reacción ayudaron a la regulación del grado de degradación y propiedades mecánicas obteniendo así el hidrogel GelMA que es perfecto para aplicaciones como la ingeniería de tejidos, la medicina regenerativa y etc. Existen otros métodos de síntesis por ejemplo en el que emplearon el tampón de carbonato-bicarbonato, pero el anterior es el más rentable (Rameah y Ramalingam, 2022, pp.6270).

El GelMA final se caracterizó por sus propiedades fisicoquímicas por varias técnicas.

El Capítulo I abarca temas sobre biopolímeros con su clasificación entre ellos se especificaron el colágeno y la gelatina con sus dos tipos mamífera y de pescado, hidrogeles, anhídrido metacrílico, en que consiste la síntesis de GelMA, sus propiedades y las pruebas de caracterización con las que serán estudiadas y las aplicaciones de la gelatina metacrilato como regeneración de tejidos, regeneración ósea, etc.

El Capítulo II, marco metodológico, se describen tanto los materiales y equipos que son utilizados en el proceso de síntesis de GelMA además se establece cuantas muestras y los parámetros que variaran, se especifica los pasos para realizar el PBS y sus concentraciones, conocimiento sobre las pruebas de caracterización y como se realizan.

El Capítulo III abarca los resultados que son conseguidos en las pruebas de caracterización su análisis y comparación entre ellos además de presentar gráficas que sustenten lo enunciado.

## ANTECEDENTES

GelMA fue mencionado por primera vez en 2000 por Van Den Bulcke et al. implicó una reacción directa entre gelatina y anhídrido metacrílico (MA). Los grupos resultantes de esta reacción son grupos metacrilamida y grupos metacrilato. En comparación con los grupos de metacrilato, la proporción de grupos de metacrilamida aumenta. Como resultado, el nombre completo de GelMA que es metacrilato de gelatina (Zhu et al., 2019, pp.1).

En el 2016 se realizó una investigación por parte de Shirahama, Bae Hoon Lee, Lay PohTan y Nam-Joon Cho la que tenía como nombre “Precise Tuning of Facile One-Pot Gelatin Methacryloyl (GelMA) Synthesis” todo el procedimiento consistió en la disolución de la gelatina de tipo A de tejido porcino en tampón Carbonato-bicarbonato (CB), ajustando el pH con 5M de sodio hidróxido o 6M de ácido clorhídrico. Luego procedieron añadir anhídrido metacrílico (MA) en un 94% a la solución de gelatina bajo una agitación magnética a 500 rpm, ajustaron el pH a 7,4 y hubo un tiempo de 3 horas de reacción, almacenaron las muestras a -20°C hasta su posterior utilización después de varios procedimientos realizados. Estudiaron varios parámetros experimentales como son molaridades de CB (0,1, 0,25, 0,5, 0,75 y 1M), pHs iniciales (pH 8, 9, 10 y 11), relaciones de MAA/gelatina (MAA/gelatina: 0,0125, 0,25, 0,5, 0,1 y 0,2ml/g), concentraciones de gelatina (1, 2,5, 5, 10 y 20w/v%) y temperaturas de reacción (35, 40, 45 y 50 °C), (Shirahama et al., 2016, pp.9), con respecto a este último parámetro no se encontraron muchas variaciones al variar la temperatura. Otro de los resultados reveló que el grado de sustitución (DS) disminuía significativamente con el aumento de la concentración del tampón CB, al variar el pH notaron que cuando este es más bajo (pH 8) se obstaculiza por una mayor protonación de los grupos amino libres y con un pH más alto (pH 10 y 11) se obstaculiza por un exceso de hidrólisis de MAA catalizada por una base fuerte, analizaron cada cambio que se produjo al momento de variar los parámetros obteniendo resultados que ayudan en el progreso de esta área (Shirahama et al., 2016, pp.4)

Nicole Zoratto junto con varios compañeros en el 2020 dieron a conocer un informe de investigación sobre la Formación in situ de andamios de hidrogel de metacrilato de gelatina microporosa a partir de microgeles termoestables para ingeniería de tejidos en donde hablan sobre un gran avance el cuál trata sobre las microperlas de GelMA que se reticularon parcialmente en una fase oleosa, impartiendo termoestabilidad a los bloques de construcción, Demostraron que al aumentar el tiempo de semifotoreticulación de los microgeles GelMA aumentaba la termoestabilidad al tiempo que se comprometía la capacidad de recocido de los bloques de construcción para los andamios de hidrogel. Esta tecnología e investigación beneficia a las aplicaciones biomédicas de los andamios de partículas recocidas microporosas a base de gelatina (Zoratto, et al., 2020, pp.2).

Con respecto a nuestro país no se presentan investigaciones en este tema en específico en general la temática de los biopolímeros es poco acogida esto se debe a que no existen suficientes investigadores específicos en esta área y también a que es un área actual de estudio.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En el último medio siglo, el desarrollo de materiales poliméricos biodegradables para aplicaciones biomédicas ha avanzado significativamente, es importante recalcar que estos favorecen en el desarrollo de dispositivos terapéuticos, incluidos los implantes temporales y los andamios tridimensionales para la ingeniería de tejidos. Se han producido avances adicionales en la utilización de materiales poliméricos biodegradables para aplicaciones farmacológicas tales como vehículos de administración para la liberación controlada / sostenida de fármacos (Sneha et al., 2016, párr.8).

El método de síntesis de GelMA fue pronunciado y creado por Van Den Bulcke en el año 2000. Los monómeros anhídridos metacrílico (MA) se colocaron para que reaccionaran con los grupos lisina e hidroxilo de la gelatina diluyendo la misma en una solución salina tamponada con fosfato (PBS) a una temperatura de 50 °C (Zhu et al., 2019, pp.1). En la actualidad estos se han logrado consolidar como la mejor revolución en la terapéutica médica y se comenzaron a utilizarse en campos amplios desde la rehabilitación y el bienestar, hasta la conveniencia sanitaria y la estética, por lo que este sector aumenta un 22,1% anualmente, aunque , en el Ecuador la aplicación de la gelatina metacrililoila está en un nivel bajo o casi nula, por lo que con este proyecto se logrará fomentar una base para que futuros investigadores comiencen a extender ideas alrededor de esta rama.

La biocompatibilidad que presentan estos biomateriales involucra que el material no le cause daño al cuerpo y que no sea alterado por los tejidos de su alrededor. Al realizar este proyecto se tratará de obtener la gelatina metacrililoila variando parámetros físicos-químicos esto nos lleva a la identificación de parámetros de reacción óptimos que controlen el esquema de síntesis de GelMA, dando lugar así a un esquema más eficaz en términos de coste, tiempo y trabajo. Con los resultados de la investigación se podrá tener una visión clara sobre que valores y que parámetros se deben mantener o variar para que la gelatina metacrililoila sea útil debido a que todavía no se establece el porcentaje o valores exactos con los que se debe trabajar en este tipo de síntesis.

## **FORMULACIÓN**

¿Al variar los parámetros físicos- químicos el esquema de la síntesis y caracterización de la gelatina metacrililoila es eficaz para la aplicación en regeneración de tejidos?

## JUSTIFICACIÓN

En el mundo entero el tema de los biomateriales ha llegado a estar entre las temáticas de investigación más sustanciales obteniendo así un desarrollo activo, debido a que son considerados como nuevos materiales para la regeneración de tejidos como huesos, tendones, cartílagos, músculo esquelético, piel, tejidos vasculares, que por varias enfermedades se han desgastado o por la mínima cicatrización que estos presentan por eso englobamos los motivos de estudio de los biomateriales en dos puntos importantes que son la aceleración en el proceso de cicatrización y la regeneración de tejidos que de forma autónoma no pueden hacerlo debido a sus características morfológicas. Al adentrarnos en el estudio de los biomateriales debemos considerar que algunos problemas fundamentales tienen relación con otras ciencias pues los fenómenos que suscitan al momento de caracterizarlo o describirlos están dentro de los conceptos de las disciplinas de la físico-química básica, entre otras (Sáenz, 2004, pp.36). Este proyecto traerá beneficios a la Facultad de Ciencias y a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo pues se tendrá intercambios útiles con investigadores de campos diferentes tanto de esta institución como de otras diferentes, creando vínculos entre todas ellas.

Una gelatina metacrilato (GelMA) se obtiene a través de la hidrólisis parcial del colágeno. Tiene propiedades como biocompatibilidad, biodegradabilidad, es apropiada para varios tipos de células, y es excelente para la adhesión celular. En la proliferación celular, la función y la diferenciación este biomaterial tienen una función importante. Además, la gelatina metacrilato es más cómoda de obtener y de bajo costo en comparación con otros materiales naturales (Shirahama et al., 2016, pp.3). Se debe destacar, a partir de las investigaciones pertinentes que aún no se conoce en profundidad la influencia de cómo parámetros de reacción como la concentración de gelatina, la temperatura, tiempo, etc. influyen en la metacrilación de biomacromoléculas. Con este motivo, se lleva a cabo este trabajo de integración curricular para la identificación de los parámetros óptimos de reacción para controlar el proceso de metacrilación de biomacromoléculas. El proyecto se considera en varios aspectos viable debido a que los reactivos serán otorgados o facilitados por la Biofísica Caterine Carrasco docente de la institución y proponente del tema, los equipos de la Facultad de Ciencias se encontraran a disposición para el proceso experimental pero previamente se realizará las peticiones pertinentes y el trabajo en algunos casos se puede considerar complejo pero la docente se encuentra capacitada brindar el apoyo respectivo evitando así las deficiencias en el conocimiento sobre el tema a tratarse y se ayudará a tener nuevas perspectivas a estudiar.

## **OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Sintetizar y caracterizar Gelatina Metacriloila variando parámetros físico-químicos para aplicaciones en regeneración de tejidos.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Sintetizar GelMa con diferentes parámetros de porcentaje de anhídrido y tiempo.
- Evaluar la cantidad de anhídrido para verificar la alteración de propiedades del GelMA
- Evaluar la cantidad de anhídrido para verificar la alteración de tiempo de síntesis.
- Comparar los resultados obtenidos de la síntesis de GelMa en los diferentes parámetros.
- Establecer aplicaciones del GelMA obtenido.

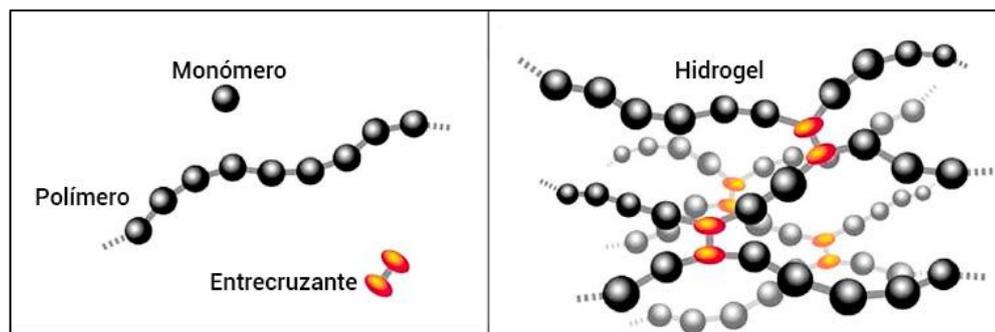
# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Hidrogeles

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales con cadenas flexibles de polímeros que logran absorber líquidos como agua o fluidos corporales sin disolverse y pueden liberarlos con el tiempo figura 1-1 (Soto, Oliva, 2011, pp. 2).

Entre las características de estos polímeros se encuentran que son hidrófilos, blandos, elásticos e insolubles en agua y se abultan con ella, manteniendo su forma mientras que aumenta su volumen hasta que este logre alcanzar el equilibrio químico y contribuyendo así que ciertas soluciones orgánicas puedan ser absorbidas, retenidas y liberadas bajo circunstancias controladas. Esta primera característica se da por la presencia de hidrófilos. Dependiendo del método que se utilice para su obtención este puede obtener una característica más la cuál es la resistencia. En soluciones acuosas concentradas ocurre la red tridimensional esto cuando el primer polímero pueda gelificar formando así redes espaciales no covalentes (Arredondo, Londoño, 2009, pp.84).



**Figura 1-1.** Hidrogel. Derecha: estructura del hidrogel. Izquierda: Diferenciación entre monómero, polímero.

**Fuente:** Soto, Oliva, 2012, pp.2.

Uno de los beneficios de los hidrogeles es que tiene una excelente interacción con los tejidos vivos por lo que son adecuados para aplicarlos en la medicina debido a que poseen propiedades de biocompatibilidad esto se debe a que son blandos, elásticos, solubles en el agua, además de tener bajo coeficiente de fricción y permeabilidad. Células y proteínas no se adhieren a la superficie esto se debe a que nos referimos a materiales inertes (Arredondo, Londoño, 2009, pp.84).

## 1.2. Biopolímeros

Biopolímeros o también llamados polímeros naturales se trata de compuestos que los organismos vivos sintetizan, estos desempeñan funciones biológicas, estructurales como los polisacáridos y de defensa o mantenimiento de la actividad acuosa (figura 2-1). Las algas, plantas, animales, bacterias y hongos son un grupo biológico que puede ser considerado como algunas de las fuentes naturales de biopolímeros. La biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja antigenicidad son ventajas que tienen estos polímeros naturales y además son renovables. En estos momentos aquellos se les puede combinar con moléculas sintéticas influyendo en su resistencia y flexibilidad (Rodríguez et al., 2020, pp.109).



**Figura 2-1.** SEM del colágeno  
vista transversal.

Fuente: Jega, 2010, pp.612.

Los biopolímeros se clasifican según su: origen, funcionalidad, la carga de sus superficies como se observa en las tablas 1-1, 2-1, 3-1.

**Tabla 1-1.** Clasificación de los polímeros naturales con respecto a su origen.

ORIGEN	BIOPOLÍMERO
VEGETAL	Algarrobo, Almidón, Celulosa, Goma Arábica, Goma Ghatti, Goma Guar, Guaran, Goma Karaya, Goma Tragacanto, Pectinas.
ALGAS	Agar, Agarosa, Alginato, Carragenina, Fucoidan.
ANIMAL	Ácido hialurónico, Colágeno, Gelatina, Quitosano, Quitina
MICROBIANO	Ácido itacónico, Schizofilano, Ácido poliglicólico (PGA), Ácido poliláctico (PLA), Exopolisacáridos (EPS), Curdlano, Dextrano, Gelano, Kefiran, Levano, Polihidroxialcanoatos (PHAs), Pululano, Xanthana.

Fuente: ECORFAN, 2020, pág. 109.

**Tabla 2-1.** Clasificación de los polímeros naturales con respecto a su funcionalidad.

<b>FUNCIÓN</b>	<b>BIOPOLÍMEROS</b>
Gelificante	Agar, agarosa, alginato, schizofilano, gelatina, quitosano, pectinas, curdlano
Espesante	Gomas guar, arábiga, xantana, tragacanto, guar, algarrobo, alginato, dextrano
Emulsificador	Alginato, goma xantana, pectinas
Estabilizador	Gomas arábigas, algarrobo, xantana, carragenina, alginato
Empleados en el tratamiento de heridas	Celulosa, alginato, ácido hialurónico, colágeno, goma guar, fucoidan, quitosano.

Fuente: ECORFAN, 2020, pág. 109.

**Tabla 3-1.** Clasificación de los polímeros naturales según la carga de sus superficies.

	<b>BIOPOLÍMEROS</b>
Aniónicos	gomas tragacanto, arábiga, karaya, xantana, carragenina, gelano, agar, pectina y alginato
Catiónicos	goma guar modificada
No-iónicos	goma de tamarindo, arábiga, celulosa y algarrobo

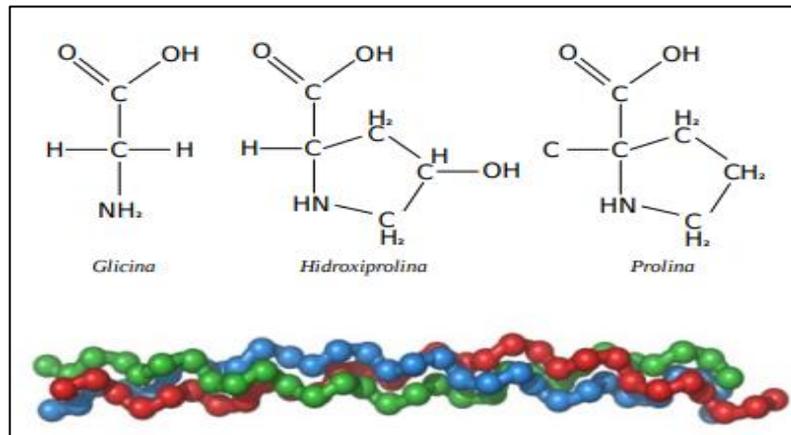
Fuente: ECORFAN, 2020, pág. 109.

Los biopolímeros tienen otra clasificación la cuál es en base a su estructura lineal como pectina, celulosa y algarrobo, o ramificada como gomas arábigas, guar, karaya y amilopectina (Villada et al, 2007, pp-6).

### **1.2.1. Colágeno (col)**

El colágeno es una proteína fibrosa y se trata del conjunto de 27 familias de proteínas isoformas que se encuentran en animales multicelulares y distribuidos en el tejido no conectivo del cuerpo, como huesos, cartílagos, venas, piel, tendones, los vasos sanguíneos, los dientes, la córnea y otros músculos (Fratzl, 2008, pp.1). El colágeno está conformado por cadenas polipeptídicas de dos aminoácidos glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina y alanina, las cuales forman fibras de colágeno pues están organizadas en paralelo y tienen como función la resistencia y elasticidad de la estructura presente, figura 3-1. El colágeno forma el 25% de la proteína inorgánica total del cuerpo, convirtiéndose así en la proteína humana inorgánica más abundante y tiene como principal responsabilidad el contribuir y ayudar en la integración y unión de las células en la matriz extracelular. Tiene varias aplicaciones como películas biodegradables,

apósitos cutáneos implantes, en la industria cosmética, alimenticia, farmacéutica, etc. esto se debe a que tiene propiedades mecánicas únicas como excelente biocompatibilidad, biodegradabilidad y antigenicidad débil (Lima, 2015, pp.18).



**Figura 3-1.** Cadenas polipeptídicas de dos aminoácidos glicina, hidroxiprolina y prolina que conforman el colágeno.

Fuente: Lima, 2015, pp.18.

El colágeno tiene una estructura simple con presencia de aminoácidos hidrófobos lo que hace que este sea insoluble en el agua y su molécula tiene un largo de 280 nm.

El colágeno hidrolizado se encuentra conformado por aminoácidos con un gran nivel de glicina y prolina que sirven para la estabilidad y regeneración del cartílago. La ingesta de colágeno hidrolizado ayuda a una mejor firmeza de la piel, protege del daño articular, mejora el tratamiento de la osteoporosis, previene el envejecimiento, es antihipertensivo y protege contra la úlcera gástrica (Pompa, 2017, pp.16).

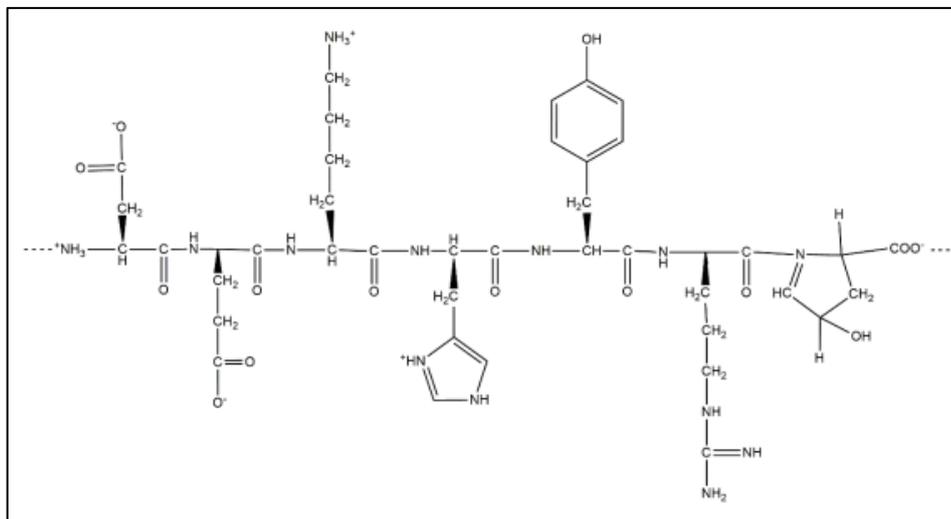
### 1.2.2. *Gelatina (gel)*

Gelatina viene de 'gelatus' que es una palabra latina con significado referente a congelada o firme (Usman, 2021, pp.154). La gelatina se obtiene por hidrólisis del colágeno y sus propiedades son afectadas por factores intrínsecos como la fuente, edad del animal y el tipo de colágeno. El colágeno nativo es insoluble y para ser un producto disponible para una posterior extracción tiene que sufrir un pretratamiento por calentamiento en agua a temperaturas superiores a 45 °C. Un pretratamiento químico provoca un hinchamiento y solubilización del colágeno debido a que se rompe los enlaces no covalentes y se desorganiza la estructura proteica. Posteriores tratamientos por calor provocarán la desestabilización de la triple hélice, desarrollándose y dando lugar a gelatina soluble. La severidad del pretratamiento y del procedimiento de extracción en agua

caliente, el pH, la temperatura y tiempo de extracción están relacionados con el grado de conversión del colágeno en gelatina (Banks, 1990, pp.234).

Obtenemos así dos tipos de gelatinas una con punto isoeléctrico entre pH=8 y pH=9, obtenidas con un tratamiento anterior ácido, y otro punto isoeléctrico entre pH=4 y pH=5, siendo estas de tipo A y B respectivamente, el primer tipo se le obtiene a través de un pretratamiento ácido mientras que el otro por un pretratamiento alcalino (figura 4-1.). La fuerza de gel y su estabilidad térmica definen la calidad comercial de una gelatina (Pompa, 2017, pp.17).

El test de Bloom ayuda a determinar las medidas de fuerza de gel, todo el procedimiento consiste en estandarizar y normalizar estos valores se realiza un protocolo con una concentración de gelatina aproximadamente de 6,67 %, temperatura de 10 °C y con una maduración de 17 horas. La fuerza de gel y termoestabilidad son dependientes de las propiedades moleculares de la gelatina (Usman, 2021, pp.156).



**Figura 4-1.** Estructura de GelMA con aminoácidos cargado a pH 4.8.

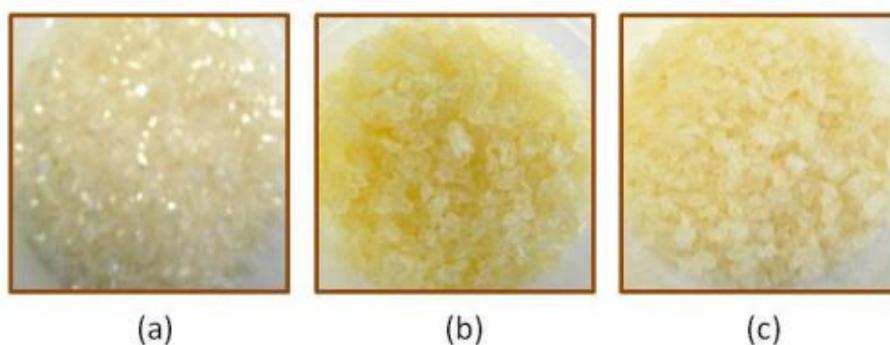
Fuente: Pompa, 2017, pp.18.

La gelatina se la obtiene a partir del colágeno que se encuentra en la piel o huesos de animales de especie mamífero, por lo que respecta a su extracción en su mayoría es a partir de piel de cerdo en un 46%, en un 29,4% de pieles de bovino, 23,1 de huesos y de otras fuentes 1,5%, (Miano, Rojas y Barraza, 2014, pp. 140).

sin embargo, al pasar el tiempo se ha considerado otras especies debido a tabús con respecto algunas religiones (hindú, musulmana, etc.) y enfermedades que son provenientes de los mamíferos. Apareciendo así la gelatina proveniente del pescado.

### 1.2.2.1. *Gelatina de mamífero*

Aproximadamente en el período de los 30 los primeros materiales de desecho usados en la realización de gelatina fueron la piel porcina y el cuero bovino y se posicionaron como los más importantes en la escala de la producción industrial (Pompa, 2017, pp.17). Tanto como la prolina, hidroxiprolina y aminoácidos del colágeno original se encuentran relacionados con la temperatura de fusión y gelificación de la gelatina por ende generan zonas de nucleación que por consiguiente forman las estructuras de triple hélice las cuales están a cargo de las propiedades reológicas y mecánicas. El contenido en estos aminoácidos suele ser del 24 % para los mamíferos y del 16-18 % para la mayoría de los peces (Gilsenan, 2000, pp.192), por lo que existen grandes diferencias entre estos tipos de gelatinas que se puede observar en la figura 5-1.



**Figura 5-1.** (a) Imágenes de gelatina de peces de aguas frías, (b) de peces de aguas cálidas y (c) bovina.

**Fuente:** Flores, 2013, pp.25.

### 1.2.2.2. *Gelatina de pescado*

Una fuente de gelatina es el pescado en vista de que su piel contiene colágeno se convierte en un subproducto con gran potencial para aquello como pueden ser también las escamas, espina y vísceras, (Usman, 2021, pp.155) tratando de sustituir de esta manera a la gelatina proveniente del ganado bovino dado que está asociado con la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), no obstante, su producción comercial no supera el 1% globalmente. La extracción de esta nueva gelatina desde su inicio ha sido reportada y cronológicamente se registra que en 1997 fue demostrada su viabilidad por Gudmundsson y Hafsteinsson inmediatamente se presentaron más antecedentes sobre este tema tales como Schriebery y Gareis (2007) y Jamilah y Harvinder en 2002 (Miano, Rojas y Barraza, 2014, pp. 141).

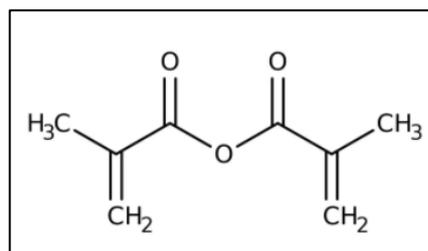
Las especies de peces más utilizadas son: dorada (*Pagrus major*), carpa común (*Cyprinus carpio*), la calta (*Calta calta*), carpa cabezona (*Hypophthalmichthys nobilis*), la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y carpa mrigal (*Cirrhinus mrigala*) (Boran y Regenstein, 2010, pp. 129)

Al igual que el anterior tipo la síntesis y preparación de la gelatina de pescado se realiza a partir de la modificación de la estructura de la gelatina, en la que se necesita de copolímeros sintéticos como redes precursoras. Todo este proceso consta de cinco fases: preparación de gelatina de pescado, reacción de copolímero, desespumado, diálisis y reticulación y finalmente la polimerización (Atma, 2021, pp. 3968).

### 1.3. Anhídrido metacrílico

El Anhídrido de ácido metacrílico (MA) o conocido por anhídrido metacrílico es considerado un monómero reactivo que es empleado en la elaboración de vario tipos de monómeros, pero estos deben tener una reacción leve. Su aplicación se engloba el recubrimiento de curado ligero y materiales de entrecruzamiento por ejemplo la resina sintética pues el anhídrido intermediario en el proceso (Carbajal, 2021, párr.1).

Es un líquido que reacciona de forma exotérmica con el agua. Su fórmula molecular es  $C_8H_{10}O_3$ , tiene un peso molecular de 154.16. Su estructura se encuentra representada en la figura 6-1, dentro de sus propiedades experimentales podemos encontrar que su punto de ebullición es de  $89^\circ C$  a 5mm Hg, su solubilidad es 10% en éter y etanol, tiene una densidad específica de 1.035 y su viscosidad es de 3 mPa. (Brown, 2021, párr.1).



**Figura 6-1.** Estructura del anhídrido metacrílico.

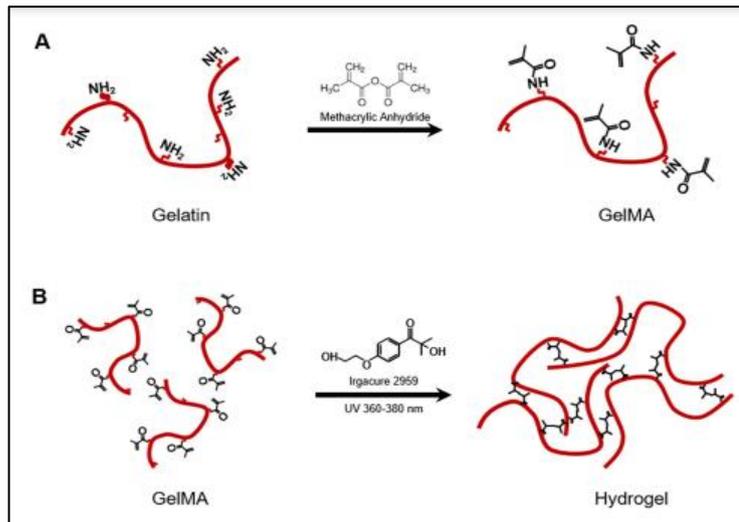
Fuente: Fisher scientific, 2021.

Además, reacciona con grupos hidroxilo y amino que se encuentran en ciertos compuestos orgánicos. Tienen gran eficacia al ser usados en polimerizaciones siguientes o reacciones con tioles. Por ejemplo, la gelatina reacciona con el anhídrido metacrílico y luego se retícula ópticamente con fotoiniciadores para lograr finalmente la modificación de la gelatina (Carrasco y Salazar, 2021, pp.817).

#### **1.4. Gelatina metacrililoila**

La gelatina al reaccionar con el anhídrido metacrílico (MA) da como resultado la gelatina metacrililoila ver figura 7-3. Este procedimiento consiste en que una gran cantidad de grupos aminos que están en las cadenas laterales de la gelatina sean sustituidos por grupos metacrililoila en el anhídrido metacrílico obteniendo así la gelatina modificada, pero, en la transición sólido-líquido hay similitud entre la gelatina modificada y la gelatina, la temperatura es un parámetro que tiene bastante influencia en aquella transición. La presencia de los grupos metacrililoila provoca la fotoreticulación en la gelatina modificada, así esta solución acuosa cuando se añade el fotoiniciador se retícula en un instante mínimo bajo luz ultravioleta, consiguiendo hidrogeles de este tipo con buena termoestabilidad, aportando propiedades físicas y estructurales y una cinética de gelificación rápida. El hidrogel soporta comportamiento celular debido a que la parte bioactiva de la gelatina la cuál es el ácido arginina-glicina-aspártico (RGD) se encarga de incitar la adhesión y el crecimiento de las células, mientras que para el proceso de remodelación celular es necesario la matriz de metaloproteinasas (MMP), (Carrasco, Salazar 2021, pp.8), tanto la biocompatibilidad y la propiedad de degradación se mantiene de la gelatina. En estos hidrogeles GelMA las propiedades físicas y químicas que se encuentran en toda la estructura del péptido son ajustables flexiblemente para que concuerde con las necesidades de varias aplicaciones con respecto a células pues así incitan a la unión celular y al desarrollo a lo largo de la unión de la integrina (Sun et al., 2018, pp.8).

Los hidrogeles de gelatina metacrililoila (GelMA) tienen como precursor a la proteína con mayor abundancia en el cuerpo siendo este el colágeno, aunque el hidrogel tiene menor inmunogenicidad a comparación con este y varias células sembradas internamente o sobre sus superficies han logrado su crecimiento debido al apoyo que este aporta. En circunstancias fisiológicas los enlaces responsables de la reticulación y los enlaces amida en la cadena peptídica están dispuestos a la degradación hidrolítica. GelMA es considerado uno de los materiales más utilizados para la formación de hidrogeles que son utilizados en aplicaciones médicas por la facilidad de manufactura que presenta (Cladera, 2016, pp.2).



**Figura 7-1.** Síntesis de gelatina metacrililoilo (GelMA). (A) La gelatina reacciona con anhídrido metacrílico (MAA). (B) Fotocruzamiento de GelMA.

Fuente: Yoon et al., 2016.

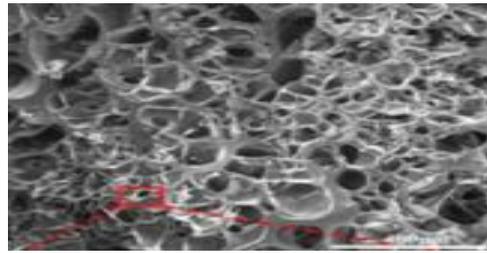
#### 1.4.1. Grado de sustitución

El grado de sustitución de la gelatina metacrililoila y la cantidad de MA añadido tienen una relación de proporcionalidad. El espectrómetro de resonancia magnética nuclear  $^1\text{H}$  ( $^1\text{H NMR}$ ) es utilizado habitualmente para corroborar la sustitución de grupos amino libres por grupos metacrilato, y examinar el grado de sustitución de GelMA. El grado de sustitución puede ser medido a través del cálculo del área de los picos de los grupos amino modificados en relación a los grupos amino primarios (Bae et al., 2011, pp.5).

#### 1.4.2. Morfología

La estructura y morfología de la gelatina metacrililoila la mayoría de veces se le caracteriza por medio de microscopía electrónica de barrido o conocido por sus iniciales SEM. Para eliminar los componentes no polimerizados de los hidrogeles GelMA que poseen magnitudes específicas como forma y volumen se debe liofilizar el material. En la gelatina metacrililoila en SEM se observa una estructura de red poliporosa figura 8-1. Al presentar una alta porosidad beneficiará a la difusión de nutrientes y oxígeno a las células y vaciado de desechos de la matriz y con respecto al tamaño de poro si este es adecuado ayudará en el crecimiento celular, estos dos factores son propicios para el cultivo celular, la porosidad puede ser ajustable a los tamaños de los poros mientras que estos pueden ser influenciados por el grado de sustitución pues ambos son

inversamente proporcionales. Mientras la concentración de GelMA aumente, la porosidad disminuirá y se tendrá tamaño medio de los poros (Kirsch et al., 2019, pp.3).

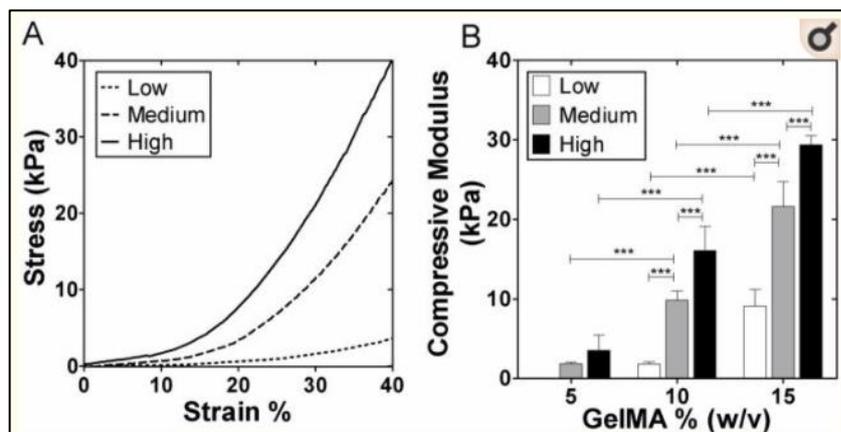


**Figura 8-1.** Morfología de la gelatina metacrililoila.

Fuente : Wu et al., 2018, pp.1646.

### 1.4.3. Propiedades mecánicas

Para regular las propiedades mecánicas del hidrogel GelMA se le debe cambiar tanto la concentración del anhídrido, el tiempo y la temperatura durante el proceso de síntesis, el grado de metacrilación en GelMA controla también el módulo de compresión. Chen. Nichol JW. informó que el grado de metacrilación y la concentración de GelMA está ligado a las propiedades mecánicas (figura 9-1). Si mantenemos una misma concentración y aumentamos el grado de metacrilación aumentará el módulo de compresión del hidrogel GelMA, esta situación sucede también de manera contraria (Sun et al., 2018, pp.4).



**Figura 9-1.** (A). Propiedades mecánicas de GelMA B) Módulo de compresión para GelMA al 5%, 10% y 15% (p/v) a bajo, medio y alto grado de metacrilación.

Fuente: Sun et al., 2018, pp.4.

#### **1.4.4. Grupos químicos**

Los grupos químicos que se encuentren en los hidrogeles y polímeros pueden ser identificados a través de la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), que además es utilizada para conocer sobre la relación que existe entre la consecuencia de los nanoliposomas o nanogotas aumentados en los polímeros y los que son combinados (Rahali et al., 2017, pp.3). En general la FTIR es utilizada para garantizar una excelente síntesis del prepolímero GelMA y los hidrogeles GelMA (Sun et al., 2018, pp.3).

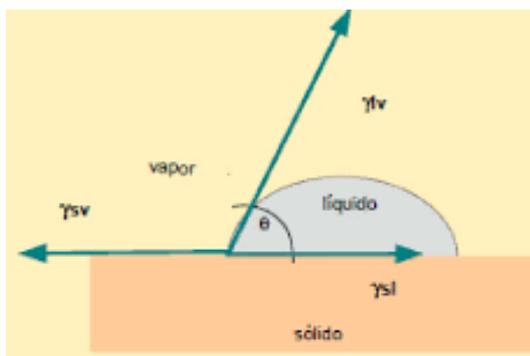
#### **1.4.5. Mojabilidad**

Esta propiedad se refiere a la adhesión de un fluido en una zona sólida, este fluido intenta invadir la mayor porción de dicho sólido, por lo que es una función del tipo de fluido y de la zona sólida. La mojabilidad o humectabilidad de un hidrogel es evaluada a través de ángulo de contacto que se trata de un procedimiento sensible a la superficie y se consiste en medir el ángulo de contacto entre una gota de líquido y la superficie del hidrogel. Para conocer en cierto punto el alcance que tienen las modificaciones que se hicieron en el hidrogel se usa como referencia la densidad que tiene la superficie del agua absorbida pues estos valores se relacionan con los de energía libre de la superficie (Asadinezhad et al., 2010, pp.1011).

La mojabilidad es directamente proporcional a la adhesión de los osteoblastos humanos debido a que si uno de ellos aumenta el otro también lo hará, afirmando que los materiales con afinidad al agua son una mejor opción para la ingeniería de tejido óseo (Sun et al., 2018, pp.4).

##### **1.4.5.1. Ángulo de contacto**

El ángulo de contacto es aquel ángulo que existe o se forma entre la superficie y la línea tangente creada por la interacción de la anterior mencionada con la gota (figura 10.1). La energía superficial del sólido y la tensión superficial del líquido son parámetros indispensables que tienen dependencia con el ángulo de contacto (Prato, 2009, párr.3).



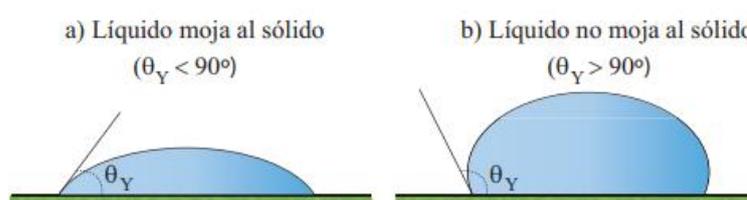
**Figura 10-1.** Esquema del ángulo formado entre el interfaz sólido/líquido y líquido/vapor.

Fuente: Gimenez et al., 2018, pp.9.

Este ángulo nos ayuda en la determinación de la mojabilidad (tabla 4-1) producida por un líquido en un sólido. Se forma una interfase común cuando una fase líquida y sólida están relacionadas a esta capacidad se le llama mojabilidad (Salgado, 2019, pp.22).

Los ángulos de contacto se clasifican en: ángulos de equilibrio y de no equilibrio, este último es medido en un periodo de tiempo en el que intenta hallar el equilibrio y son relacionados a las fases finales. Los ángulos obtenidos al inicio del experimento y los hallados después del equilibrio son muy diferentes (Rodríguez, 2010, pp.8).

Cuando el valor del ángulo de contacto es menor  $90^\circ$  y el líquido es agua afirmamos que la superficie es hidrófila o superficie mojada (wetting). Si este es mayor que  $90^\circ$  y se trabaja con agua la superficie es hidrófoba o no mojada (not wetting) (figura 11-1) (Santos, 2012, pp.32).



**Figura 11-1.** a) Superficie hidrófila b) superficie hidrófoba.

Fuente: Santos., 2012, pp.32.

**Tabla 4-1.** Ángulo de contacto y grado de mojabilidad.

ÁNGULO DE CONTACTO	GRADO DE MOJABILIDAD	FUERZAS INTERMOLECULARES	
		S/L INTERACCIONES	L/L INTERACCIONES
$\Theta = 0$	Perfecta	Fuerte	Débil
$0 < \Theta < 90^\circ$	Alta	Fuerte	Fuerte
		Débil	Débil
$90^\circ \leq \Theta < 180^\circ$	Baja	Débil	Fuerte

$\Theta = 180^\circ$	Nula	Débil	Fuerte
----------------------	------	-------	--------

Fuente: Santos., 2012, pp.32.

## 1.5. Pruebas de Caracterización

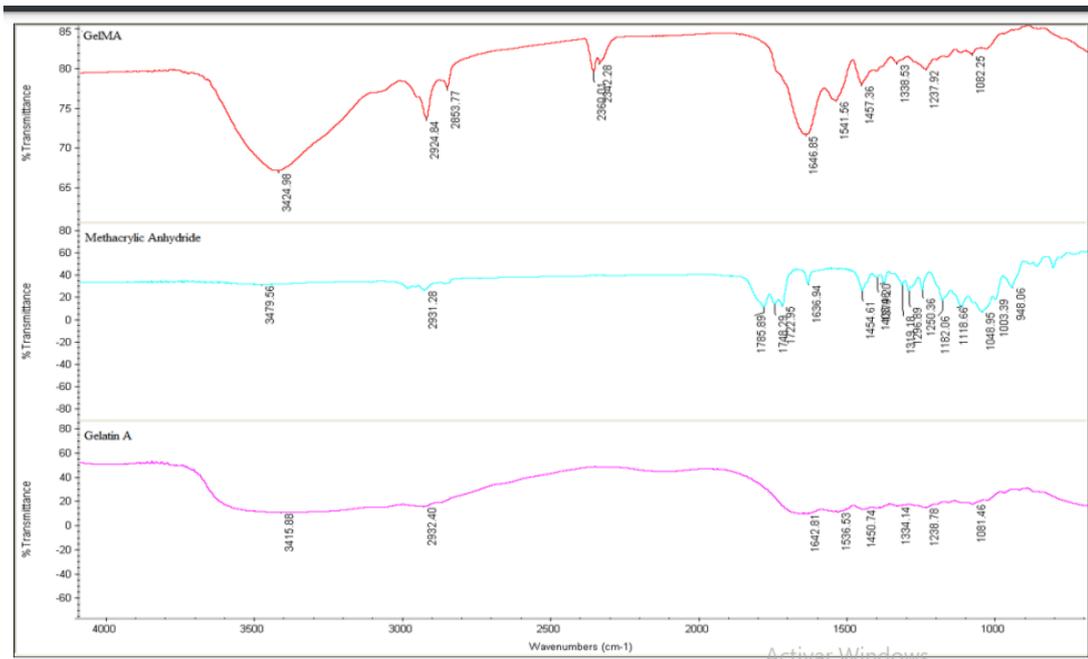
### 1.5.1. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier o conocida por sus siglas FTIR se le usa para el estudio de la estructura de hidrogeles y la verificación de la incorporación de monómeros en ella, permitiendo la observación de los grupos funcionales característicos que se encuentran en los monómeros. Esta técnica ayuda a estudiar las interacciones presentes o que suceden entre los contaminantes y la matriz reticulada siendo esto de gran utilidad para el aprendizaje y análisis que se realizan en la rama ambiental para el tratamiento de muestras acuosas con la utilización de los hidrogeles en la remoción de contaminantes tales como los iones de metales pesados, colorantes, aniones, etc. (Ramirez et al., 2016, pp.114).

La FTIR tiene como base la espectroscopia de infrarrojo la cual se trata de la lectura de transiciones vibracionales y rotacionales, las que son provocadas por la interacción entre un haz de luz del espectro infrarrojo y el analito. El uso de esta prueba de caracterización se da de forma cualitativa y cuantitativa debido a que ayuda a la identificación de grupos funcionales y a la determinación de la concentración de la muestra (Barraza et al., 2013, pp.6).

Se debe analizar los espectros de absorción, emisión, y reflexión infrarroja como transiciones de un estado de energía vibracional a otro debido a que esta técnica se fundamenta en la vibración de las moléculas. Las moléculas no lineales tienen un número de  $3N-6$  vibraciones y las moléculas lineales poseen  $3N-5$ , considerando que  $N$  representa al número de átomos concurrentes en la molécula. En ciertas ocasiones aparece una disminución en las señales del espectro esto se debe a que algunas vibraciones no producen cambios en el momento dipolar (Villada, 2015, pp.11).

En el detector la señal resultante está representada por un espectro que es una huella digital molecular de la muestra ver figura 12-1. Se presentan algunos problemas con respecto a las señales de infrarrojo por el ruido instrumental y la presencia de cambios en las vibraciones esto sucede por su naturaleza anchas, sin embargo, se solucionan con la ayuda de equipos actuales que manipulan modelos matemáticos por ejemplo la transformada de Fourier, a través de esto se conoce la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier mejorando así la resolución de la señal emitida (Villada, 2015, pp.13).

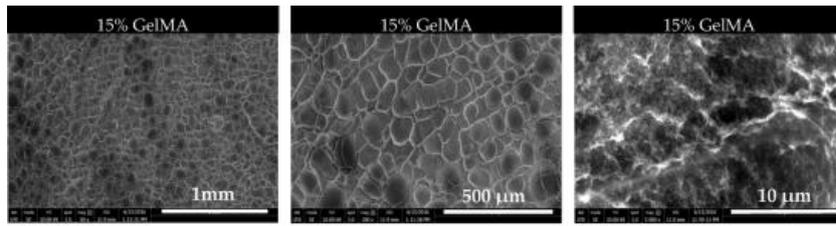


**Figura 12-1.** Espectros FTIR de gelatina, anhídrido metacrílico y GelMA.

**Fuente:** Platinum Journal, 2022, pp. 6274.

### 1.5.2. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Manfred von Ardenne (1937) a través del escaneo de un ráster diminuto que tiene un haz de electrones de magnificado y pulidamente enfocado inventó un microscopio con alta resolución. Esta técnica de microscopía electrónica se basa en la formación de imágenes a través de la utilización de electrones. También se le conoce a esta técnica por SEM de las siglas provenientes de su nombre en inglés Scanning Electron Microscopy, el funcionamiento de un equipo de SEM es el siguiente: se crea un haz de electrones que tengan muy alta energía o de electrones incidentes y para focalizar el haz y hacerlos incidir sobre una muestra se utiliza un sistema de lentes, por el impacto electrónico se formarán electrones y lo que emergen de la muestra son detectados con la ayuda del dispositivo EverhartThornley y Solid State Detector (SED), los cuales se encargan de registrar cada uno la cantidad de electrones detectados para posteriormente convertirlos en una señal digital que será descifrada como intensidad de color, finalmente se prosigue a construir una “imagen” aunque no se usen fotones (Clavijo, 2010, pp.5). En SEM por cada pixel se origina un valor único, siendo este el número de electrones recogidos por el detector en el tiempo de exploración, cuando el haz se va a la posición de píxel (x, y) y está representando por un nivel de gris para así formar una imagen monocromática (figura 13-1) (Nanakoudis, 2019, párr.6).

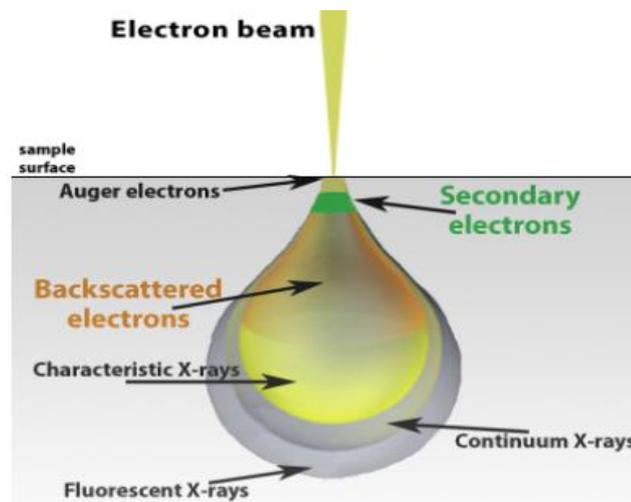


**Figura 13-1.** Imágenes de microscopía electrónica de barrido de hidrogeles 3D con 15% de gelatina metacrilóila. De 1mm, 500μm, 10 μm.

**Fuente:** Molecular Sciences, 2017, pp.4.

A través de la microscopía electrónica de barrido se puede caracterizar varios tipos de materiales, por ejemplo nano-estructurados, aleaciones metálicas, polímeros, minerales, películas delgadas, biomateriales y en ciertas circunstancias hasta muestras con gran humedad, sin embargo, existen excepciones en el uso de esta técnica como los materiales que tienen propiedades magnéticas, pero si se logra fijarles en alguna matriz de contención aún puede realizarse esta técnica (Rosas, 2019, párr.6).

En la interacción de los electrones con la muestra causan electrones secundarios, electrones retrodispersados y rayos X propios de ella, que son recogidas por detectores para la creación de imágenes que serán visualizadas en la computadora. El haz de electrones penetra la muestra hasta cierta profundidad (pocas micras) (figura 14-1) esto dependerá de la densidad de la muestra y voltaje de aceleración (Kossek, 2021, párr.9).



**Figura 14-1.** Esquema de interacción de los electrones con la muestra.

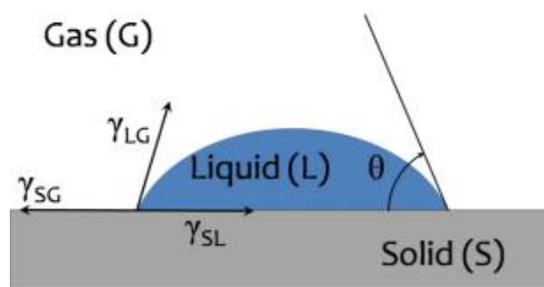
**Fuente:** Nanoscience instruments, 2021.

En SEM las muestras para ser analizadas deben cumplir con dos circunstancias la primera es que necesita ser libre de humedad y la otra que sean conductivas. Muestras orgánicas, biológicas, polímeros, etc. son no conductivas por lo que son recubiertas con oro o carbono para obtener su respectiva observación a diferencia de las conductivas que no presentan ningún conflicto (Rosas, 2019, párr.5).

### 1.5.3. Técnica de la gota sésil (SD)

Esta técnica es utilizada para hallar la tensión superficial líquido-vapor y el ángulo de contacto y se trata de una gota sésil de líquido que se encuentra en equilibrio en un espacio sólido (superficie). Esa gota es visualizada claramente a través de imágenes que se obtiene por medio de fotográficas, video, TV o rayos X para así poder determinar las trascendentales dimensiones de su perfil. Existen dos formas en que la gota se puede producir in situ o de un capilar, es decir, la gota en el sustrato, es así como finalmente evaluamos matemáticamente aquellas dimensiones y encontramos el ángulo de contacto  $\theta$ . La técnica SD es simple comparada con otros métodos como el método de la placa inclinada, burbujas, etc. tanto en la parte experimental como en el tratamiento matemático (Rodríguez, 2010, pp.10).

También se puede utilizar este método con diferentes temperaturas. No obstante, la técnica tiene contras que son en ciertos casos las causantes de obtener datos dispersos con respecto al ángulo de contacto. Una solución para el problema anterior es el empleo de materiales puros en la superficie sólida y gota. La tensión superficial puede ser modificada por solutos activos que estén presentes en la superficie. El ángulo de contacto se relaciona con las tensiones de interfases sólido/gas ( $\gamma_{SG}$ ), sólido/líquido ( $\gamma_{SL}$ ), y líquido/gas ( $\gamma_{LG}$ ) (figura 15-1) (Montes, 2019, pp. 10).



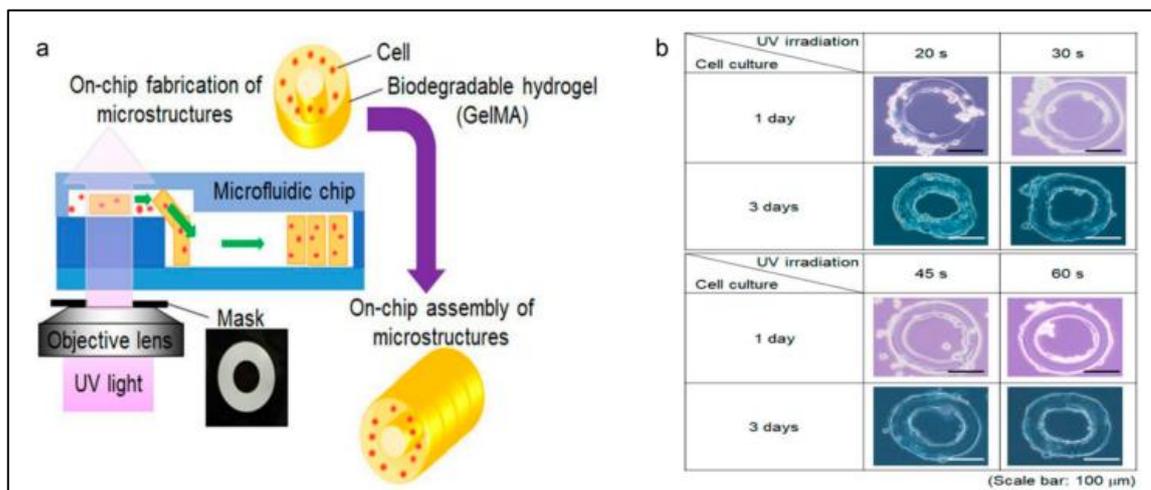
**Figura 15-1.** Representación del ángulo de contacto y las tensiones de interfases.

**Fuente:** Rodríguez, 2010, pp.10.

## 1.6. Aplicaciones de la gelatina metacrilóila

### 1.6.1. Andamios para cultivo celular 3-D

Los hidrogeles GelMA ayudan en la adhesión, desarrollo y proliferación de las células, además de proporcionarles un ambiente sintonizable por ello son usados en infraestructuras de microfluidos de cocultivo de células 3D. Takeuchi y col. inventaron un artefacto de cultivo celular con microestructuras GelMA que fueron autoensambladas en el interior de un chip de microfluidos. El procedimiento de fabricación de estructuras de células tubulares utilizando hidrogel GelMA se muestra en figura 16-1 literal a. Un dato relevante es que las células de rata fueron esparcidas en las microestructuras de GelMA con el fin de mejorar el crecimiento celular (figura 16-1 (b)) (Liu et al., 2020, pp.6). Para los microgeles GelMA core-shell se empleó un dispositivo microfluídico con enfoque de flujo para controlar su tamaño amplio, esto fue afirmado por Cha et al. Quienes aplicaron un tipo caparazón que consistía en un manto de hidrogel de sílice con el propósito de preservar las células cultivadas en estos microgeles. Una característica de los microgeles GelMA es que pueden ser usados como plataformas in vitro para el cultivo de células del lado cardiaco (CSP) esto se debe a que proveen de un microambiente celular apropiado (Cha et al., 2013, pp.285). La plataforma de papel Janus / polidimetilsiloxano (PDMS) que se fundamenta en los principios de hidrogeles GelMA fue propuesta por Rahimi y col. la idea consistió en primer lugar en adherir al sustrato de PDMS que tiene canales microfluídicos incrustados, los que tienen como función dar a la célula nutrientes y medicamentos, un papel Janus que contenía una parte hidrófoba y otra higroscópica. Posteriormente, la cara hidrófoba contiene una red porosa que beneficia a la siembra de células (Rahimi, 2015, pp.3).

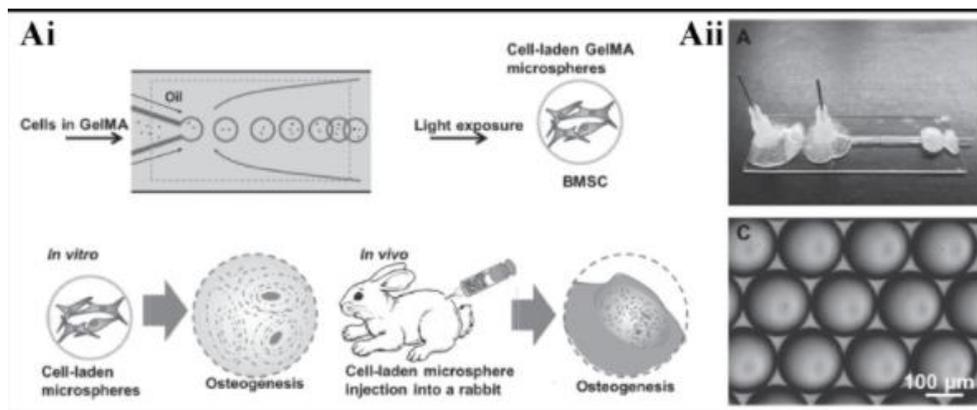


**Figura 16-1.** (a) Esquema de la fabricación de microestructuras tubulares. (b) Cultivo celular en microestructura de gelatina metacrilóila luego de ser expuesta a UV por dos días.

Fuente: Liu et al., 2020, pp.6.

### 1.6.2. Regeneración ósea

Las complicaciones en la inyección de células madre son varias las más comunes son: daño en la membrana de las células en el momento de inyección debido a mínima retención de células que es causado por las fuerzas de cizallamiento mecánicas, inexistencia de una estructura 3D para descansar el trasplante, sin embargo para solucionar estos problemas Zhao et al. propuso una estrategia que acoge los factores de crecimiento en microesferas GelMA con tecnología asistida por microfluidos (figura 17-1 ). Llegando a demostrar que las microesferas GelMA apoyan en la conservación, proliferación y migración, además favorecen a la liberación de BMP-2 e inician la formación de hueso. Celikkin et al. investigó las consecuencias de la concentración del hidrogel sobre la mineralización del andamio. Hallando como resultado que la concentración de GelMA al 5% tiene una calcificación más elevada y uniforme que el 10%. Wang et al. aumentó poli diacrilato (PEGDA) foto-reticulado en GelMA. Controlando las porciones tanto de GelMA como de PEGDA, se obtuvo resultados donde el hidrogel GelMA 30% / PEGDA 5% (p / v) no se degradó rápido pues conservo su forma por un mes a diferencia de GelMA puro que lo hizo completamente. Liu et al. para originar angiogénesis y osteogénesis creó nanofibras formadas por CaPs / GelMA biomiméticos a través de electrohilado, pues ha demostrado tener excelentes propiedades mecánicas., biocompatibilidad y citocompatibilidad. En general, al variar ciertos parámetros de GelMA como la combinación de polímero, distintos factores de crecimiento y componentes orgánicos ayuda a convertirse en un hidrogel potencial para la ingeniería de tejido óseo (Piao et al., 2021, pp.50).



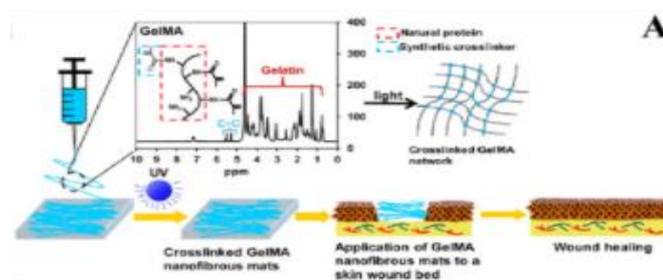
**Figura 17-1.** (Ai) Representación de GelMA en microesferas y su aplicación. (Aii) Por dispositivos microfluídicos se crean microesferas GelMA y su morfología.

**Fuente:** Piao et al., 2021, pp.50.

### 1.6.3. Regeneración de tejidos.

La ingeniería de tejidos se basa en la combinación de materiales tales como biocompatibles, células vivas y factores de crecimiento con los cuáles se trabaja para construir implantes que aporten al crecimiento correcto y normal del tejido. La fabricación por adición que consiste en el proceso en el cual el material se coloca capa por capa de una forma tranquila se ha vinculado a la perfección en la ingeniería de tejidos, debido a que admite la fabricación de modelos impresos en 3D para la reproducción de la red microscópica de tejido conectivo (Yue et al., 2015, pp.6).

La ingeniería de tejidos en 3D presenta la capacidad para realizar estructuras geométricamente complejas es decir que estén potencialmente compuestas siendo esta una de las principales ventajas de este tema, pero estas estructuras se deben hacer mediante la colocación de un material dentro de un sitio tridimensional. La ingeniería de tejidos embarca temáticas desde implantes porosos que puedan iniciar la regeneración ósea hasta complejos organoides tridimensionales compuestos de células (Piao et al., 2021, pp.49).



**Figura 18-1.** Esquema que muestra la fabricación y aplicación en una herida.

Fuente: ScienceDirect, 2021.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Materiales

Gelatina de piel de porcino en polvo, tipo A con fuerza de gelificación de 300g Bloom, adecuado para electroforesis y para cultivo celular, Anhidrido metacrílico contiene 2000 ppm, topanol A como inhibidor 94% estos dos materiales fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (EE. UU) (figura 19-2). Membranas de diálisis de 50 pies de largo por 1-5/16 pulgadas de ancho, código 41131902, de material de membrana de celulosa sin costuras fue adquirido de Estado Unidos de la marca Frey Scientific. El cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato monopotásico y el fosfato disódico fueron otorgados por el técnico docente de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo se muestra en la figura 20-2.



**Figura 19-2.** Derecha: gelatina de piel porcina, izquierda: anhidrido metacrílico.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.



**Figura 20-2.** Suministros otorgados en la ESPOCH para el PBS.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

## 2.2. Equipos

### Agitador Magnético.

Este equipo está conformado por un campo magnético para mezclar automáticamente un soluto y solvente, que en este caso es la gelatina con el PBS y luego esa solución con el anhídrido, pero se debe considerar previamente que el agitador magnético tenga una placa calefactora o termopar debido a que es necesario tener una temperatura constante (ver figura 21-2), por ello si no se tiene claramente establecida la escala de temperatura se debe colocar un vaso de precipitación con agua y establecer la temperatura correcta que se utilizará. Tenemos que equilibrar la intensidad de agitación en donde la barra de agitación que es colocada en la solución se mueva constantemente y se encuentre centrada, aproximadamente unos 500 rpm.



**Figura 21-2.** Agitador magnético con placa calefactora.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

## Sorbona

La Sorbona es utilizada para ventilar y restringir la exposición de sustancias tóxicas, peligrosas, etc. Cada momento que se agregaba el anhídrido metacrilico se colocaba la muestra en el dispositivo (figura 22-2) debido a que el anhídrido tenía un olor demasiado fuerte siendo este nocivo. También se utilizaba para el proceso de filtración y cuando la mezcla se encontraba expuesta para agregar alguna sustancia.



**Figura 22-2.** Sorbona o campana de extracción.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

## Filtración al vacío.

El equipo de filtración al vacío está compuesto por diferentes implementos los cuales se encuentran nombrados en la tabla 5-2. Su proceso consiste en la separación de mezclas sólido-líquido, la mezcla se coloca en el embudo de vidrio el cual está sobre el matraz y tiene el papel filtro en el fondo acoplado con una pinza de pato y con la ayuda de una bomba se succiona la mezcla separando así el líquido del sólido el cuál quedará en el papel filtro. Se cambia el papel filtro cuando este se satura pues la mezcla ya no podrá pasar por él, la solución puede regresar por la manguera que conecta el Kitasato y la bomba para evitar debemos desconectar la misma cuando se crea conveniente o vaciar el líquido ya filtrado a otro recipiente.

**Tabla 5-2.** Instrumentos que conforman el equipo de filtración al vacío.

N°	Descripción	Imagen
1	Embudo de vidrio	
1	Base de vacío	
1	Matraz de vidrio con boca esmerilada	
1	Bomba	

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### Estufa

Las membranas que se encontraban sumergidas en el agua se les colocó en un equipo llamado estufa que se observar en la figura 23-2, es usada para secar y esterilizar varios materiales del laboratorio. Se tiene que colocar la temperatura de 50°C y mantenerle constante, las muestras deben permanecer por cinco días sin que el dispositivo sea apagado.



**Figura 23-2.** Estufa.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### Liofilizador

Las muestras son congeladas a temperaturas bajo cero eso es realizado por el propio sistema del liofilizador conservando así la estructura molecular del material. Debido a una bomba de vacío la presión dentro del equipo se reduce permitiendo de esta manera que se sublime el agua presente en la muestra logrando finalmente el secado de la muestra. Dependiendo del tipo de liofilizador si se mantiene encendido durante todo el proceso será más rápido o se puede apagar durante la noche y la muestra debe ser llevada directamente al congelador puesto que si esta se descongela nunca se llegará al fin de la liofilización. En este caso utilizamos el liofilizador de la marca Labconco del modelo 7670520 con serie 191084517 que pertenece a la Universidad de Investigación de Tecnología Experimental Yachay (ver figura 24-2).



**Figura 24-2.** Liofilizador.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### 2.3. Síntesis de tampón fosfato salino (PBS)

El tampón fosfato salino es una solución acuosa y salina que se realizó a través de la combinación de cloruro de sodio (NaCl), cloruro de potasio (KCl), fosfato disódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) y fosfato monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en concentraciones de g/L como se observa en la tabla 6-2.

**Tabla 6-2.** Concentraciones de sal requerida para la síntesis de PBS.

Sal	Concentración (g/L)
Cloruro de sodio (NaCl)	8.0
Cloruro de potasio (KCl)	0.2
Fosfato disódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	1.44
Fosfato monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.24

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

En primer instante se pesó cada sal que se necesitó para el PBS, posteriormente se colocó en un vaso de precipitación con 800 ml de agua natural vivand debido a que esta es más pura que el agua potable, aunque se puede utilizar agua destilada. Agitamos constantemente hasta que diluir totalmente las sales. Después se aumentó agua hasta llegar a tener un litro de la solución; se repitió este proceso pues es necesario dos litros para la síntesis de GelMA.

Finalmente se llevó la solución a medir el pH y como este era menor a 7.4 se comenzó agregar de manera lenta hidróxido de sodio (NaOH) hasta llegar a tener el pH adecuado y fue almacenado en una botella de plástico a temperatura ambiente.

### 2.4. Síntesis de gelatina metacrilóila.

Se realizaron seis muestras: las muestras 1, 2 y 3 tuvieron el tiempo de reacción constante mientras que el anhídrido metacrílico se varió, en las muestras 4, 5 y 6 se realizó lo contrario es decir el MA es un parámetro constante tabla 7-2. Se pesó la gelatina de piel porcina, para la mayoría de muestras se utilizó 2,5 g sin embargo para la muestra 1 se usó 15 g, luego en vasos de precipitación se colocó la gelatina junto a 25 ml de PBS para todas las muestras a excepción de la 1 que se empleó 150 ml.

**Tabla 7-2.** Muestras con variación en sus parámetros.

Muestras	Anhidrido metacrílico (ml)	Tiempo de reacción (minutos)	% v/v
Muestra 1	12	180	8%
Muestra 2	2.5		10%
Muestra 3	0.75		3%
Muestra 4	2	180	8%
Muestra 5		120	8%
Muestra 6		60	8%

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Posteriormente se mezcló durante una hora con una temperatura constante de 50° C hasta que la gelatina se disuelva completamente para ello se utilizó un agitador magnético, después de ese tiempo se llevó a la Sorbona a colocar gota a gota en las mezclas el anhidrido metacrílico correspondiente para cada una de ellas.

Las muestras se agitan utilizando el agitador magnético por el tiempo adecuado observar tabla 1. Después de ese periodo se agregó a la solución final el doble de cantidad de PBS del inicio del proceso y se filtró a través de un filtro al vacío.

Se llenó membranas de diálisis de aproximadamente 30 cm de largo con la solución final, anteriormente las membranas se colocaron en agua para ablandarlas así se logra hacer un nudo en cada extremo de ellas y que la muestra no se riegue.

A las membranas se les colocó en vasos de precipitación con agua destilada suficiente para que se encuentren totalmente sumergidas. Por aproximadamente cinco días se mantuvieron así las membranas, pero el agua se cambia diariamente.

Luego de ese tiempo se transfirió la solución de las membranas a tubos falcón de 50 ml.

Finalmente se comenzó con el proceso de liofilización lo que tomó aproximadamente 15 días hasta obtener la muestra final.

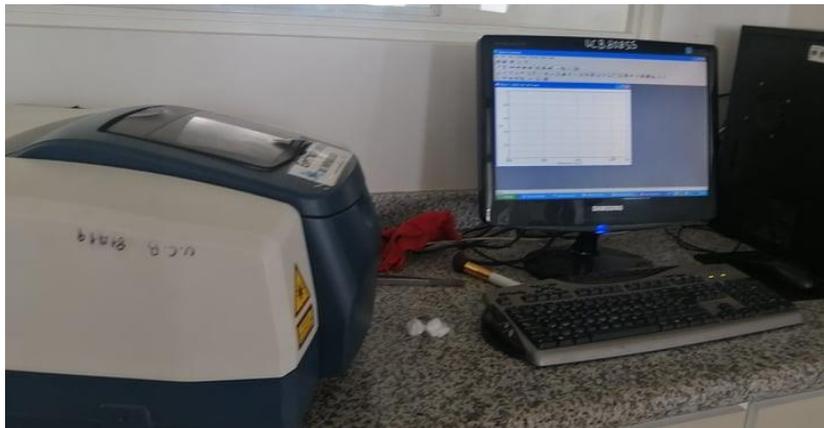
## **2.5. Pruebas de caracterización.**

-Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

Este equipo se encuentra en el laboratorio de química instrumental de la Facultad de ciencias de la institución de la marca Jasco FT/IR-4100, ver figura 24-2. El proceso a seguir para su utilización es un poco complejo y se debe realizar junto con el técnico docente consiste en conectar el equipo a un tomacorriente de 110 V, se le enciende presionando el botón de la parte superior derecha power y debemos esperar un cierto tiempo hasta que los parámetros de análisis

estén listos en nuestro caso se esperó 40 minutos. Limpiar el área donde se colocará la muestra con un algodón. Colocar la muestra sobre el cristal del área de muestra y presionar Start para realizar el barrido espectral. Utiliza el programa Spectra Analysis para procesar el espectro, es decir, corregir las escalas y línea de base y eliminar el CO<sub>2</sub>. Identificar y etiquetar los picos más relevantes esto se puede realizar automáticamente o manualmente. Eliminar los picos menos relevantes seleccionando el número de onda en la parte izquierda y la opción Delete posteriormente ok.

Finalmente guardar el archivo seleccionando File/Save as y para almacenar el espectro como imagen se escoge Edit/Copy as/Bitmap y pegamos en un procesador de texto en esta situación se utilizó Word y el archivo se obtuvo en el formato CSV para que posteriormente sea tratada en el programa OriginPro 9.0.



**Figura 25-2.** Equipo de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

Este equipo está en el laboratorio de Materiales de la Facultad de Mecánica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo se visualiza en la figura 26-2, su uso lo llevo a cabo el técnico docente a cargo en primer instante se prendió el equipo y se procedió a extraer el portaobjetos posteriormente se limpió, se situó pequeños pedazos de cinta conductora de doble cara, dos en cada sector y se colocó todas las muestras en el anterior nombrado situándolas de una manera correcta como se observa en la figura 27-2, luego se roció aire comprimido para evitar el polvo e inmediatamente se volvió a poner el portaobjetos donde corresponde y se comenzó con la prueba obteniendo imágenes que fueron guardadas en un CD, finalmente fueron tratadas en el programa ImageJ donde se encuentra el perímetro de cada poro y estos datos obtenidos son graficados en OriginPro 9.0.



**Figura 26-2.** Equipo de microscopia electrónica de barrido (SEM).

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.



**Figura 27-2.** Portaobjetos con muestras para SEM.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

-Técnica de la gota sésil (SD).

El equipo fue acoplado en la Universidad de Investigación de Tecnología Experimental Yachay y el proceso a seguir para comenzar es colocar la muestra dentro del equipo y ya posicionada con la ayuda de una micropipeta se deja caer una gota de agua sobre ella, durante todo este tiempo se realiza una serie de fotografías o imágenes las cuáles son guardadas para posteriormente medir el ángulo, esto es posible con el software Kinovea.

## CAPITULO III

### 3. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1. Gelatina metacrilato

Durante el proceso de síntesis se logró presenciar ciertos aspectos en las muestras, en la etapa de filtración las muestras que contenían menor cantidad de anhídrido metacrilato se filtraban en menor tiempo, debido a que, el papel filtro no colapsa constantemente, el color de las muestras antes de ser liofilizadas varía dependiendo de su concentración mientras menor anhídrido metacrilato contenían su color se minimizaba siendo más cristalino esto se observa en la figura 28-3 además las muestras 4,5 y 6 no presentan mucha diferencia en su color se visualiza en la figura 29-3.



**Figura 28-3.** Izquierda: muestra 1; medio: muestra 2; derecha: muestra 3.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.



**Figura 29-3.** Izquierda: muestra 4; medio: muestra 5; derecha: muestra 6.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Las muestras finales tienen un color blanco y su textura es viscosa y consistentes.

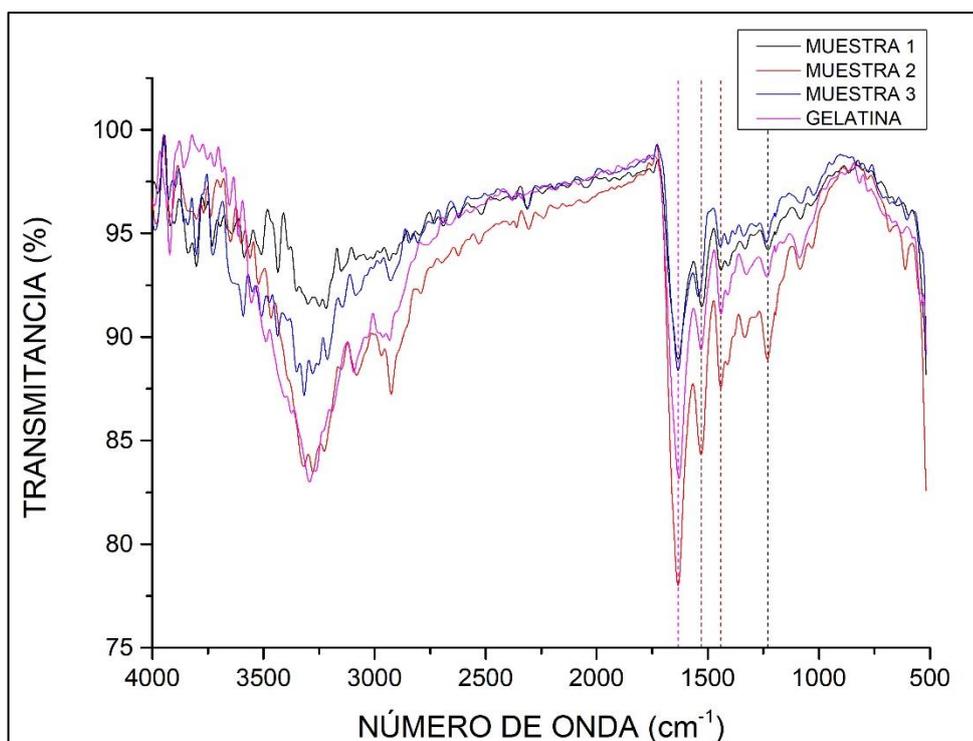
### **3.2. Resultados de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).**

El espectro FTIR de la gelatina metacrilato muestra en general los grupos funcionales químicos y los grupos funcionales metacrílicos injertados en el residuo de lisina de la gelatina. Los picos que se encuentran entre  $2923.56\text{ cm}^{-1}$  y  $2800\text{ cm}^{-1}$  en el hidrogel indican la presencia de los grupos funcionales de gelatina y entre los puntos  $3500$  a  $3700\text{ cm}^{-1}$  están ubicados los del anhídrido metacrílico.

#### **3.2.1. Muestras variando la proporción del anhídrido metacrilato.**

Se presentan tres líneas de graficas negra, roja y azul que representan los espectros FTIR de las muestras 1, 2 y 3 respectivamente. En las tres muestras se encuentra presente un pico que representa al grupo amino funcional con estiramiento N-H, sin embargo, se distingue una diferencia pues tienen una transmitancia distinta observando así que la muestra 2 tiene la menor transmitancia del grupo teniendo un pico más fuerte entre ellos este pico se le puede visualizar entre  $3216.68$  y  $3312.96\text{ cm}^{-1}$ .

El pico de  $1635.34\text{ cm}^{-1}$  en las tres gráficas es el C=O (grupo de estiramiento) y está relacionado con la amina I (línea entrecortada rosa), este es similar en las muestras 1 y 3 pero en la 2 el pico es más fuerte, la línea entrecortada de color negro es donde se ubica el pico de la amida terciaria en el punto de  $1230.36\text{ cm}^{-1}$  para las muestras 1 y 2, y  $1234,22\text{ cm}^{-1}$  para la muestra 3. Con respecto a la amida II está representada por el color café y esta entre  $1528.77$  y  $1442.49\text{ cm}^{-1}$ , el segundo valor es constante para las tres muestras mientras que el primer varía, el espectro en estas dos últimas tiene la misma forma, pero con diferentes valores de transmitancia para estas muestras, aunque es más notorio para la muestra 2 que presenta picos distinguibles fácilmente. Se observa que además en  $2923.56\text{ cm}^{-1}$  hay un pico de un OH, aunque es más fuerte en el espectro rojo. Toda esta información se puede corroborar en el gráfico 1-3.



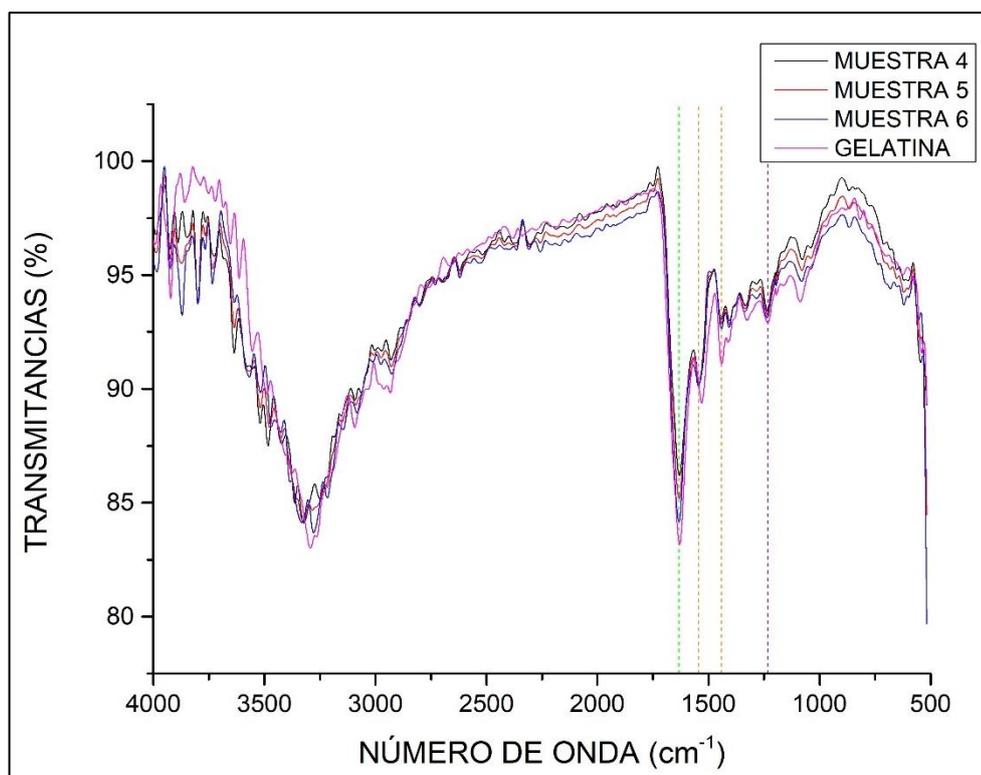
**Gráfico 1-3.** Espectros FTIR de las muestras 1, 2, 3 y gelatina.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### 3.2.2. Muestras variando el tiempo de reacción

Para realizar estas muestras se partió de la muestra 1 que tiene un porcentaje de 8% v/v porque es la mejor según Zhou et al. en el trabajo que por nombre tiene 3D Bioprinting a Cell-Laden Bone Matrix for Breast Cancer Metastasis Study. Se presentan cuatro líneas de graficas negra, roja y azul que representan los espectros FTIR de las muestras 4,5 y 6 y gelatina respectivamente. En los espectros de las muestras podemos notar que son similares tanto como a su forma como a sus valores tal vez pueda haber una variación, pero no muy significativos, se observa el pico representativo del grupo amino funcional con estiramiento N-H que se encuentra alrededor del punto  $3324\text{ cm}^{-1}$  con una transmitancia de 84%.

El pico del grupo de estiramiento C=O se encuentra en entre  $1631\text{ a }1635\text{ cm}^{-1}$  aproximadamente para las muestras este se relaciona con la amina I representada con la línea entrecortada verde con una transmitancia de 84% igual que el anterior grupo funcional, la línea entrecortada de color morado es donde se ubica el pico de la amida terciaria que esta entre  $1234\text{ y }1232\text{ cm}^{-1}$ . Con respecto a la amida II está representada por el color naranja, tiene dos picos el uno levemente más fuerte que el otro y el primero está entre  $1543\text{ a }1545\text{ cm}^{-1}$ , el segundo valor está en el punto  $1442\text{ cm}^{-1}$ , los valores de transmitancia para las muestras son similares (ver gráfico 2-3).



**Gráfico 2-1.** Espectros FTIR de las muestras 4,5,6 y gelatina.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### 3.3. Resultados de la microscopía electrónica de barrido

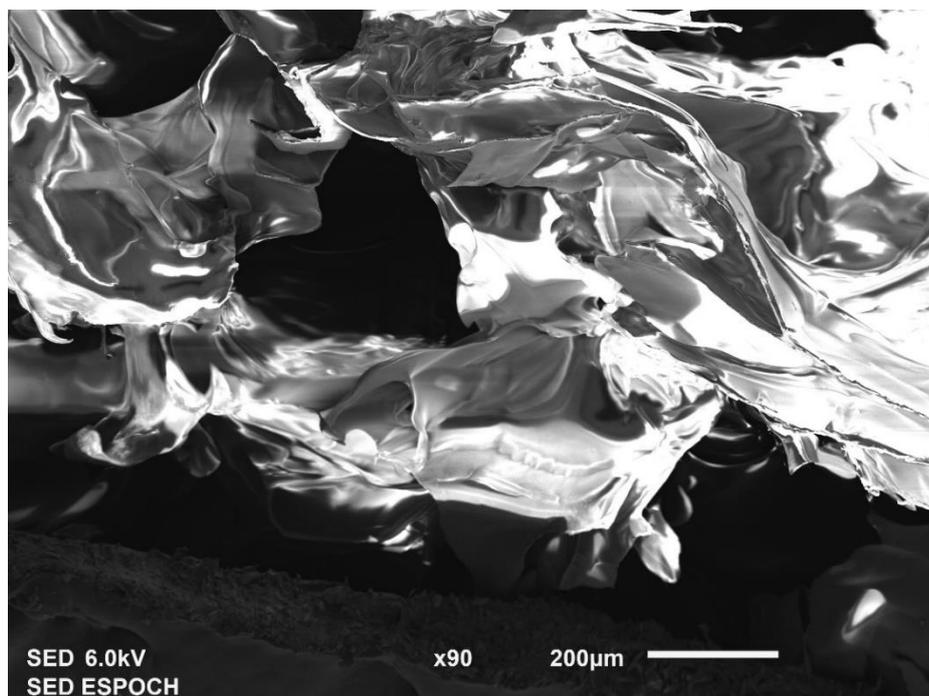
El resultado que se obtuvo no fue muy satisfactorio esto se debe a que las imágenes no muestran en su totalidad la estructura de cada muestra pues al no ser conductoras el sistema no las analiza perfectamente ya que el haz de electrones no se centra en el área debida para evitar esto se debe recubrirlas de oro (Au) pero esto no se logró realizar por la falta del equipo por lo que los resultados posteriores no son totalmente certeros y podrían variar.

Con el software ImagenJ se obtuvo 12 datos al azar o los más pertinentes de cada muestra del perímetro y ángulo del poro, también el promedio, desviación estándar, máximo y mínimo del grupo de datos. Los datos más relevantes serán los del perímetro.

#### 3.3.1. Muestras variando la proporción del anhídrido metacrilato

Muestra 1.

Se realizó la medida con un lente x90, una escala de 200  $\mu\text{m}$  y un voltaje de aceleración de 6 Kv; en la imagen se percibe un poro que sobresalta en el centro y otros minúsculos alrededor como se observa en la figura 30-3.



**Figura 30-3.** SEM micrografía de Gelma 8% v/v (muestra 1).

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Nos centramos en la tabla 8-3 podemos afirmar que el perímetro máximo es 601.899  $\mu\text{m}$  mientras que el mínimo es de 32.877  $\mu\text{m}$  también verificamos que los datos se encuentran dispersos debido a que la desviación estándar es de 168.164  $\mu\text{m}$ , entonces el promedio es de 151.020  $\mu\text{m}$  lo que nos verifica que la muestra es buena para la difusión de oxígeno debido a que Ramesh y Ramalingam en su estudio obtienen el hidrogel GelMA con un tamaño promedio de poro de 80  $\mu\text{m}$  y aseveran que mientras mayor sea este dato (porosidad) mejor difusión existirá.

**Tabla 8-3.** Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 1).

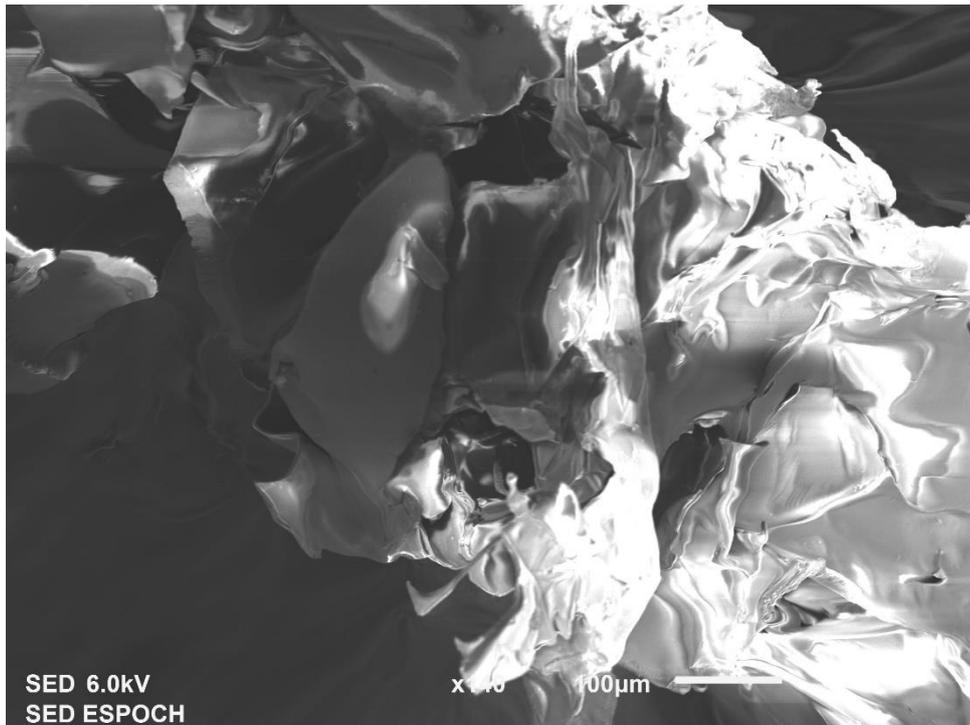
	ÁNGULO (grados)	PERÍMETRO ( $\mu\text{m}$ )
1	-156.038	53.966
2	-110.854	61.568
3	-83.830	101.961
4	-109.904	168.999
5	-118.610	34.329
6	-120.379	92.097
7	-92.603	60.336
8	22.479	601.899
9	18.232	245.186
10	-78.690	41.910
11	39.742	317.111
12	-90.000	32.877
Promedio	-73.371	151.020

Desviación estándar	63.951	168.164
Mínimo	-156.038	32.877
Máximo	39.742	601.899

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Muestra 2.

La figura 31-3 tiene una escala de 100  $\mu\text{m}$  y se realizó con un lente x140. Su voltaje de aceleración es de 6 Kv al igual que la muestra anterior. La parte derecha de la imagen se encuentra más clara mientras que la izquierda es un poco distorsionada sin embargo se puede notar algunos poros.



**Figura 31-3.** SEM micrografía de Gelma 10% v/v (muestra 2).

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

En esta muestra se tiene un promedio del perímetro de 56.527  $\mu\text{m}$  al ser una cantidad menor puede no ser eficiente para la difusión del oxígeno y transferencia de masa, con una desviación estándar de 47.722  $\mu\text{m}$ , tanto el máximo como mínimo son 182.235  $\mu\text{m}$  y 13.317  $\mu\text{m}$  respectivamente. Con respecto a los datos del ángulo tienen un promedio de -47.809 con una desviación estándar de 58.453, se observa en la tabla 9-3 que el ángulo máximo es 41.403 y el mínimo es -135.000.

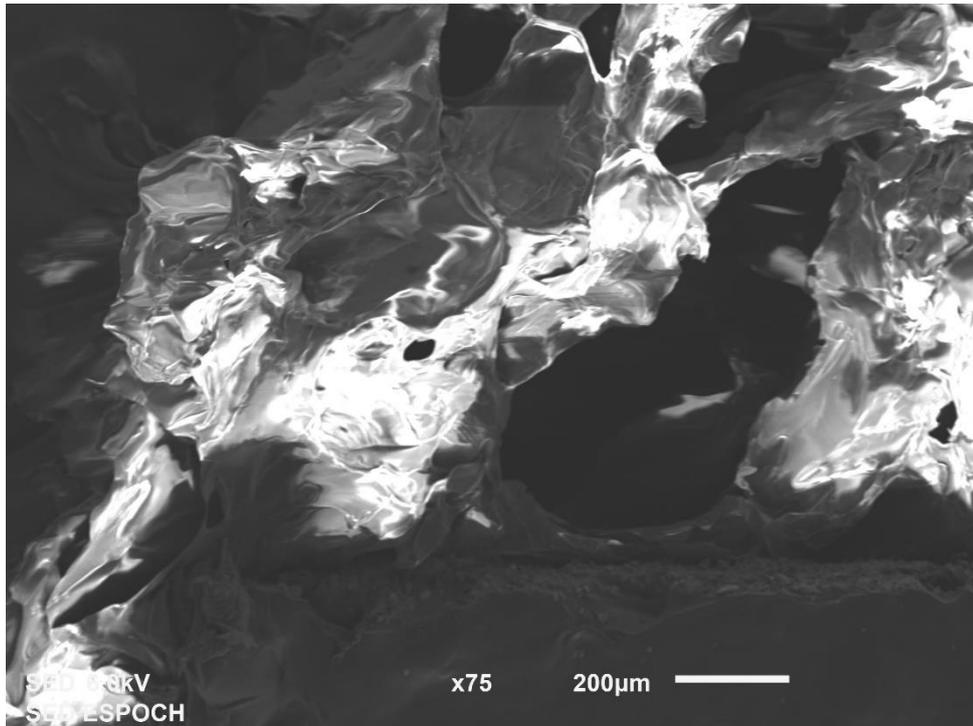
**Tabla 9-3.** Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 2).

	ÁNGULO (grados)	PERÍMETRO (um)
1	-65.462	74.363
2	-105.255	33.535
3	-62.103	28.287
4	-62.103	28.287
5	-90.000	48.529
6	6.340	13.317
7	-135.000	18.718
8	-42.109	103.078
9	27.072	74.319
10	41.403	182.335
11	-104.931	45.659
12	18.435	27.902
Promedio	-47.809	56.527
Desviación estándar	58.453	47.722
Mínimo	-135.000	13.317
Máximo	41.403	182.335

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### Muestra 3.

La muestra 3 se encuentra representada por la figura 32-3 que se realizó con un lente x74 a una escala de 200 um con el mismo voltaje de aceleración que las muestras anteriores. Visualizamos un poro de un tamaño enorme en la parte derecha de la imagen y otros pequeños poros alrededor de la misma.



**Figura 32-3.** SEM micrografía de Gelma 3% v/v (muestra 3).

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

En la tabla 10-3 se observa datos del ángulo y perímetro de 12 poros elegidos, nos centramos en los datos del perímetro por lo que tenemos un promedio de 125.975  $\mu\text{m}$  significa que tiene un tamaño promedio del poro alto y es eficiente para la difusión de oxígeno y otras funciones más, con una desviación estándar de 116.350  $\mu\text{m}$ , el valor mínimo del grupo de datos es 24.545  $\mu\text{m}$  mientras que el máximo es 286.692  $\mu\text{m}$ .

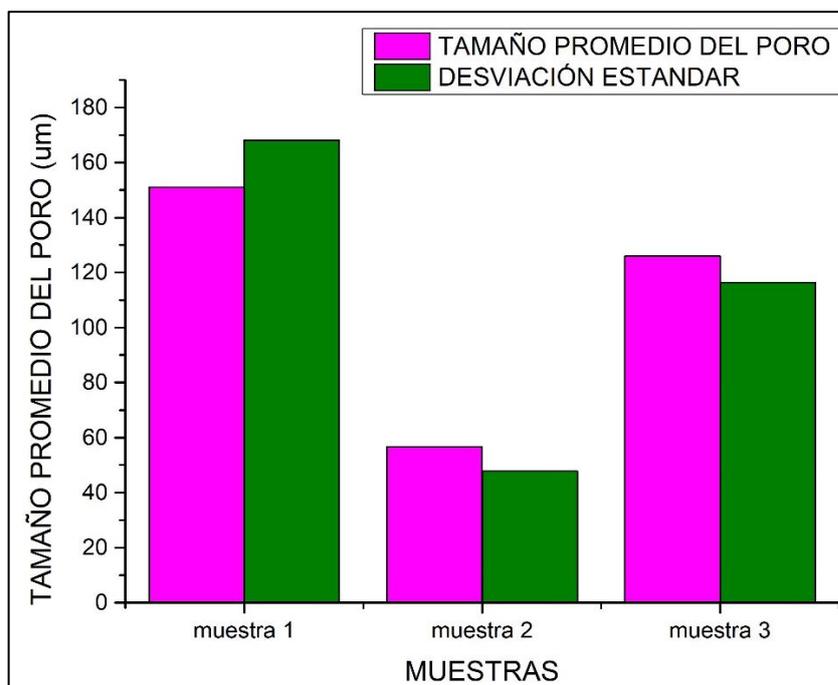
**Tabla 10-3.** Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 3).

	ÁNGULO (grados)	PERÍMETRO ( $\mu\text{m}$ )
1	-36.961	280.889
2	-0.659	386.692
3	-84.806	24.545
4	-43.531	61.303
5	1.193	106.690
6	-37.304	176.005
7	7.481	221.889
8	0.000	86.667
9	-42.274	33.036
10	-22.620	28.889
11	-85.030	51.304
12	-38.290	53.794
Promedio	-31.900	125.975

Desviación estándar	31.168	116.350
Mínimo	-85.030	24.545
Máximo	7.481	386.692

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

En el gráfico 3-3 se puede observar la diferencia que existe entre las muestras con respecto a su porosidad visualizando que la muestra 2 tiene un tamaño promedio de poro menor, mientras que la 1 es la que tiene mayor promedio.



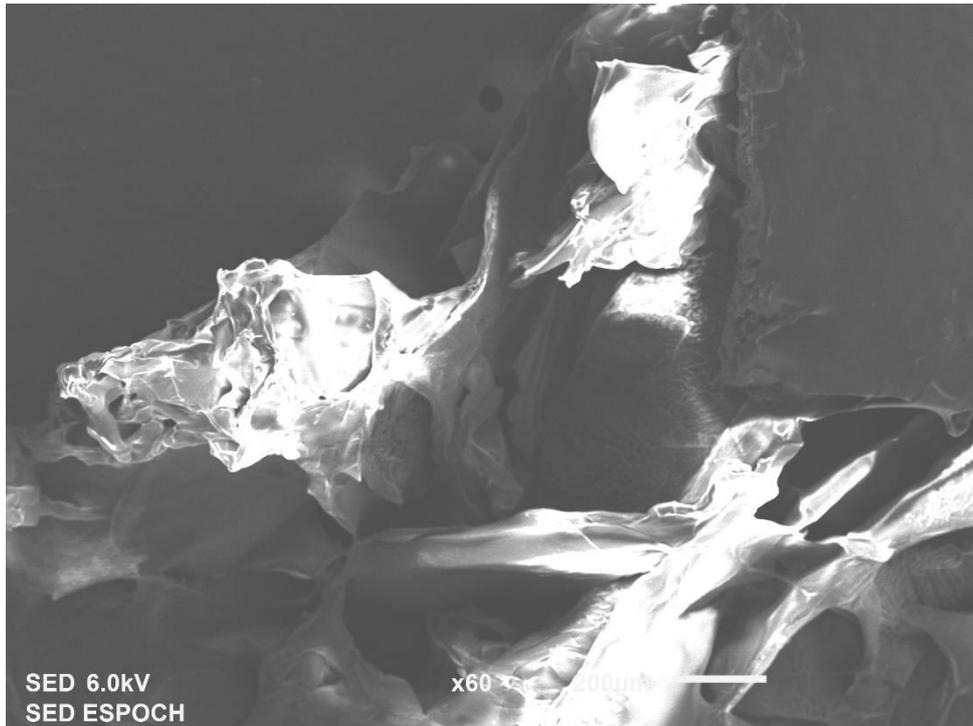
**Gráfico 3-3.** Porosidad en base al análisis de las micrografías SEM.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### 3.3.2. Muestras variando el tiempo de reacción.

Muestra 4.

La muestra tiene una escala de 200 um y fue realizado con un lente x60. El voltaje de aceleración fue de 6 kv tanto la para esta muestra como para la 5 y 6. En la figura 33-3 se visualiza aproximadamente de tres secciones en donde la imagen es más clara y a sus alrededores es opaca.



**Figura 33-3.** SEM micrografía de Gelma 8% v/v, 3 horas de tiempo de reacción (muestra 4).

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Se encontró un poro con un perímetro máximo de 371.601  $\mu\text{m}$  y uno mínimo de 30,860  $\mu\text{m}$ . El promedio de todo el grupo de datos con respecto al perímetro es de 129.915  $\mu\text{m}$  entonces se puede decir que es eficiente para la difusión de oxígeno, tiene una desviación estándar de 116.567  $\mu\text{m}$  eso observamos en la tabla 11-3.

**Tabla 11-3.** Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 4).

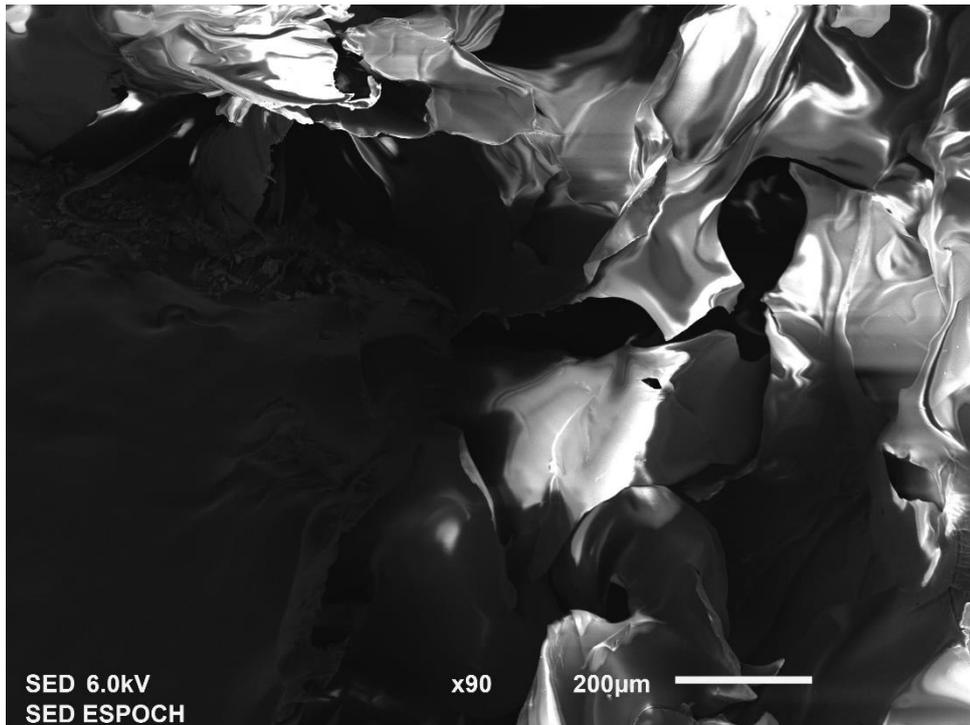
	ÁNGULO (grados)	PERÍMETRO ( $\mu\text{m}$ )
1	54.462	287.944
2	51.170	252.340
3	21.194	101.915
4	-102.529	30.860
5	48.814	35.582
6	65.556	40.445
7	19.440	60.344
8	45.000	47.338
9	-84.644	107.583
10	14.931	371.601
11	52.125	38.165
12	-5.194	184.860
Promedio	15.027	129.915

Desviación estándar	54.815	116.567
Mínimo	-102.529	30.860
Máximo	65.556	371.601

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Muestra 5.

Esta imagen tiene una escala de 200  $\mu\text{m}$ , se usó un lente x90. En el lado izquierdo de la figura 34-3 está presente una mancha negra mientras que en la derecha se encuentra la sección de la cual se consideró los poros.



**Figura 34-3.** SEM micrografía de Gelma 8% v/v, 2 horas de tiempo de reacción (muestra 5).

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Con respecto a los datos del perímetro se tiene un promedio de 118.682  $\mu\text{m}$  como esta cantidad se relaciona con el tamaño promedio del poro conocemos que la muestra difundirá bien el oxígeno, se tiene una desviación estándar de 69.581  $\mu\text{m}$ , un máximo y mínimo de 271.049  $\mu\text{m}$  y 18.117  $\mu\text{m}$  respectivamente. El grupo de los valores de los ángulos se tiene una desviación de 63.584, con un promedio de -37.132, -130.236 es el mínimo y 63.435 es el máximo. Esto apreciamos en la tabla 12-3.

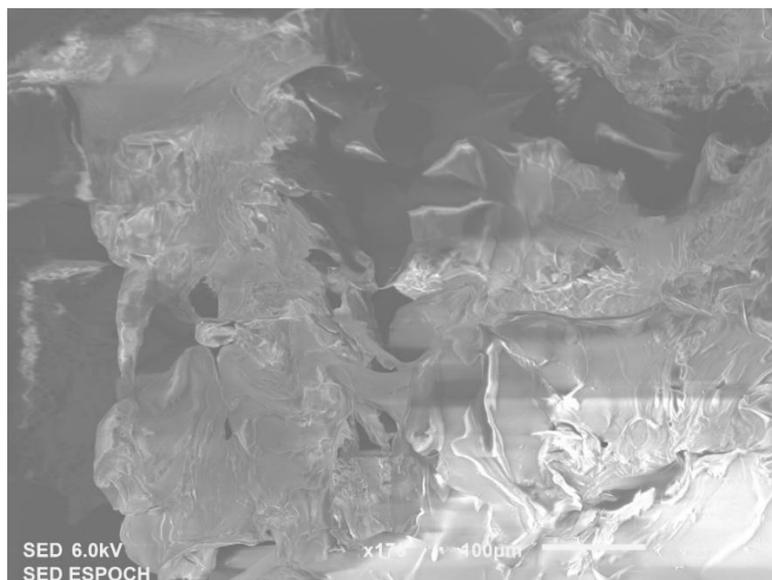
**Tabla 12-3.** Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 5).

	ÁNGULO (grados)	PERÍMETRO (um)
1	-45.000	104.874
2	-130.236	114.805
3	59.859	161.110
4	-85.601	58.600
5	63.435	120.597
6	-2.291	168.674
7	-29.745	18.117
8	-5.064	178.224
9	-88.025	65.207
10	-105.945	114.519
11	-84.560	47.405
12	7.595	272.049
Promedio	-37.132	118.682
Desviación estándar	63.584	69.581
Mínimo	-130.236	18.117
Máximo	63.435	272.049

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Muestra 6.

La muestra 6 presenta la estructura que se observa en la figura 35-3 con una escala de 100 um y un lente de x170. La imagen es opaca, en tono gris y blanco.



**Figura 35-3.** SEM micrografía de Gelma 8% v/v, 1 hora de tiempo de reacción (muestra 6).

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

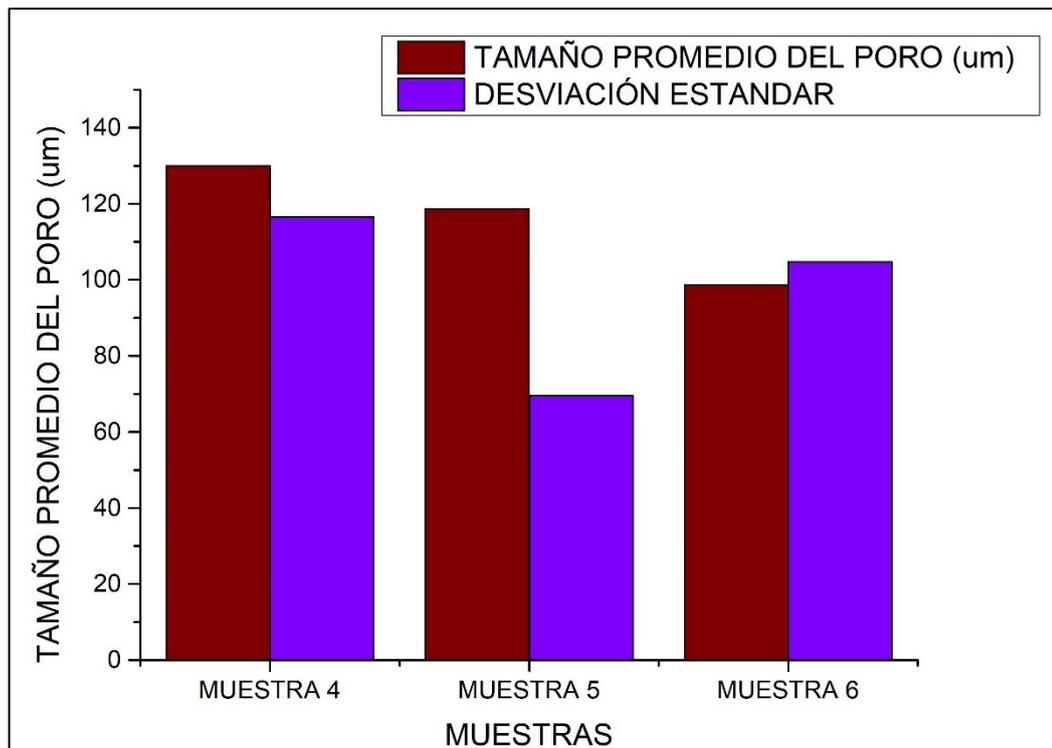
El promedio de los 12 datos del perímetro es de 98.603um por lo que la muestra 6 es eficiente para la difusión de oxígeno y otras funciones más según el artículo “Aqueous-mediated synthesis and characterization of gelatin methacryloyl for biomedical application”, la desviación estándar es de 104.695 um, el valor máximo del perímetro es de 321.978 um y el mínimo es de 11.161 um (tabla 13-3).

**Tabla 93-3.** Perímetro y ángulos de 12 poros de SEM (muestra 6).

	ÁNGULO (grados)	PERÍMETRO (um)
1	-66.251	32.133
2	-74.476	321.978
3	-65.225	16.844
4	-65.772	25.802
5	-63.435	28.937
6	-71.565	11.161
7	29.650	87.992
8	45.000	94.957
9	55.751	166.894
10	62.526	33.151
11	107.354	278.885
12	-103.736	84.500
Promedio	-17.515	98.603
Desviación estándar	71.470	104.695
Mínimo	-103.736	11.161
Máximo	107.354	321.978

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

En el gráfico 4-3 se muestra que la porosidad va reduciendo mientras el tiempo de reacción es menor, pero su variación o diferencia entre ellas no es muy amplia. La muestra 6 es la que tiene menor tamaño promedio del poro con respecto a las demás esto considerando los resultados de la microscopia electrónica de barrido con un promedio de 98.603 micras.



**Gráfico 4-3.** Porosidad en base al análisis de las micrografías SEM.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

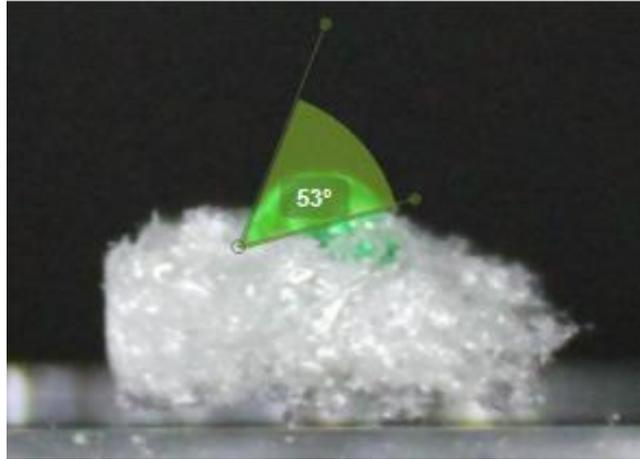
### 3.4. Resultados de la gota de sésil (ángulo de contacto).

Las medidas de los ángulos fueron fáciles de encontrarlos esto se debe a que las fotografías fueron claras y se lograba observar claramente la línea de unión entre el sólido (muestra) y el líquido (agua), sin embargo, el software escogido para el estudio facilitó el proceso debido a que se podía maximizar la imagen y estudiarla con detalle con ayuda de la tabla 4-1.

#### 3.4.1. Muestras variando la proporción del anhídrido metacrilato.

Muestra 1.

Se observa figura 36-3 que el ángulo de contacto es de  $65^\circ$  por lo que se afirma que el grado de mojabilidad es alta, con respecto a las fuerzas intermoleculares sabemos que del sólido es fuerte y del líquido es débil.

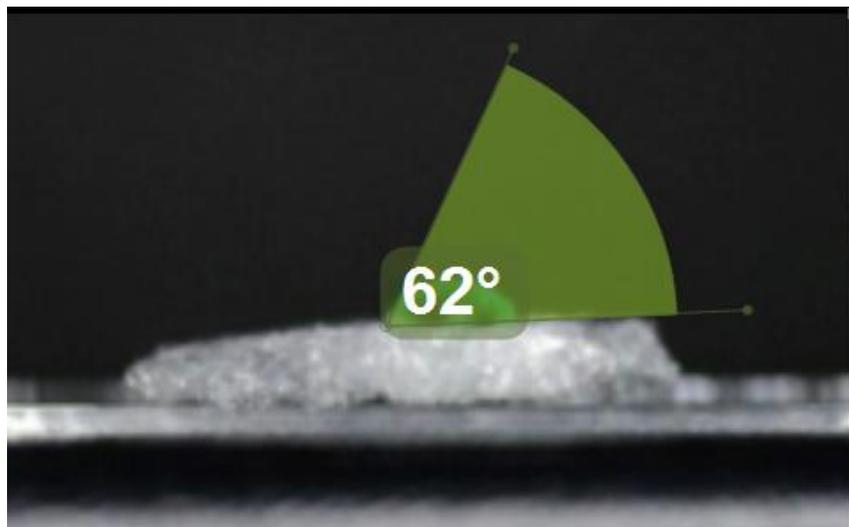


**Figura 36-3.** Ángulo de contacto de muestra 1.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Muestra 2.

En esta muestra tenemos un ángulo de contacto de  $62^\circ$  por lo que tiene un alto grado de mojabilidad y sus fuerzas intermoleculares son para el sólido fuerte y para el líquido es débil (ver figura 37-3).

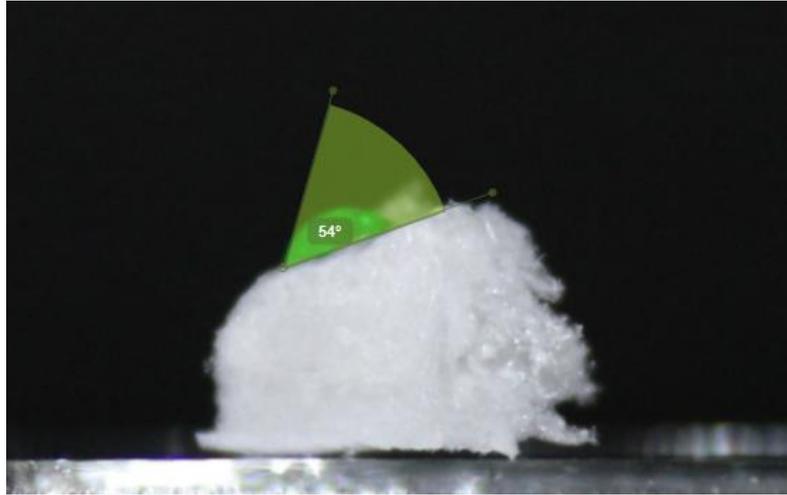


**Figura 37-3.** Ángulo de contacto de muestra 2.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Muestra 3.

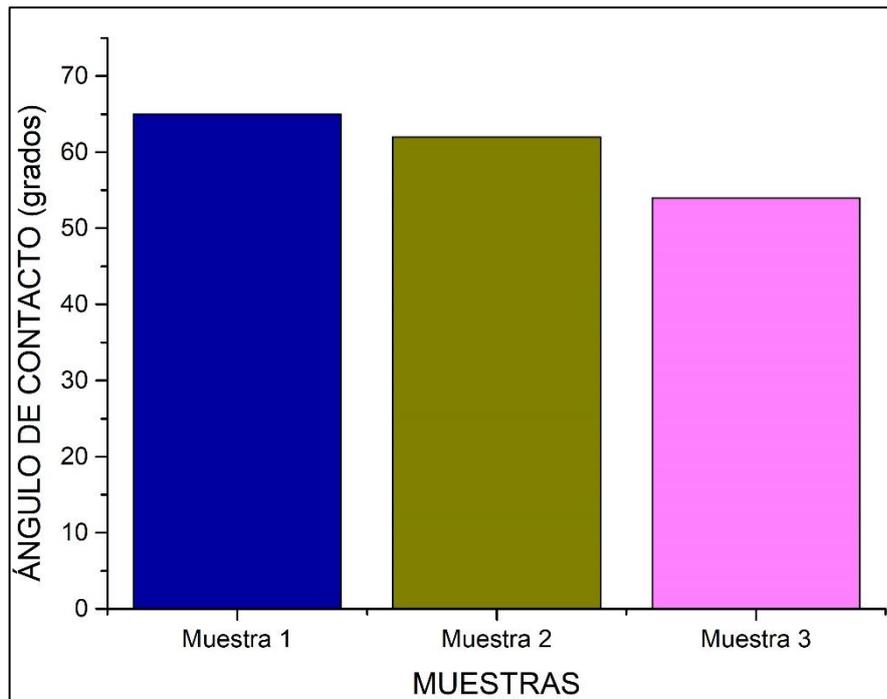
En la figura 38-3 visualizamos que en la muestra tres se tiene un ángulo de contacto de  $54^\circ$ , se percibe que la gota se encuentra de una manera inclinada en la muestra. El sólido tiene una fuerza intermolecular fuerte y el líquido una débil esto se debe a que el grado de mojabilidad es alto.



**Figura 38-3.** Ángulo de contacto de muestra 3.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Las tres muestras anteriores tienen alto grado de mojabilidad debido a que su ángulo es menor a  $90^\circ$ , sin embargo, podemos observar que la muestra 1 tiene un ángulo de contacto de  $65^\circ$  siendo mayor para las demás muestras por lo que resulta ser la mejor porque mientras mayor sea este valor menor será su mojabilidad, pero su hidrofobicidad es mayor por lo que su degradación será lenta. Los ángulos de contacto no presentan gran diferencia porque los ángulos se encuentran en un rango de  $65^\circ$  a  $54^\circ$  ver gráfico 5-3.



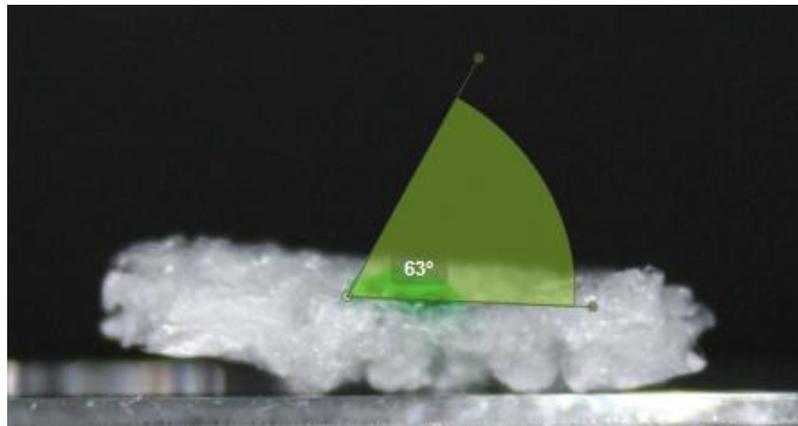
**Gráfico 5-3.** Comparación del ángulo de contacto de las muestras 1,2,3.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### 3.4.2. Muestras variando el tiempo de reacción.

Muestra 4.

La mojabilidad es muy alta esto lo confirmamos al observar la figura 39-3 donde el ángulo de contacto encontrado es de  $63^\circ$  por esa razón las fuerzas intermoleculares son fuerte para el sólido y débil para el líquido.

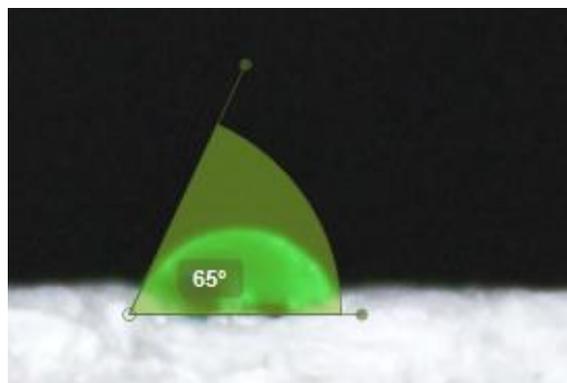


**Figura 39-3.** Ángulo de contacto de muestra 4.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Muestra 5.

Las fuerzas intermoleculares son para el sólido fuerte mientras que para el líquido se débil esto se debe a que tenemos un ángulo de contacto de  $65^\circ$  menor a  $90^\circ$  por esta razón también el grado de mojabilidad es alto ver figura 40-3.

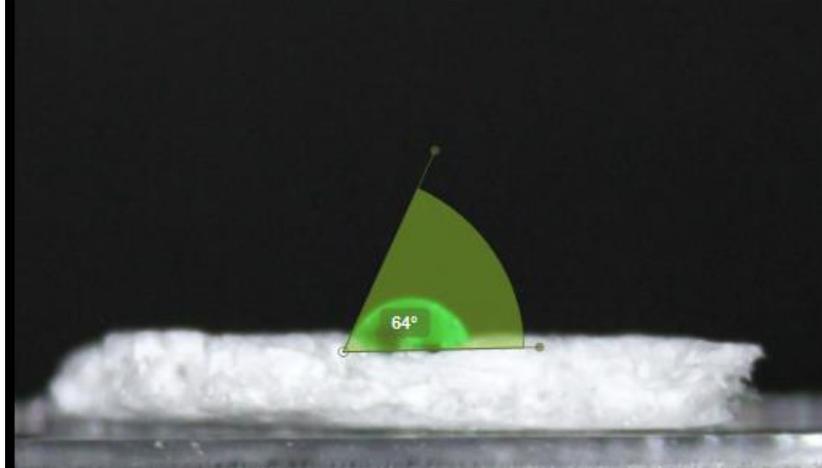


**Figura 40-3.** Ángulo de contacto de muestra 5.

**Realizado por:** Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

Muestra 6.

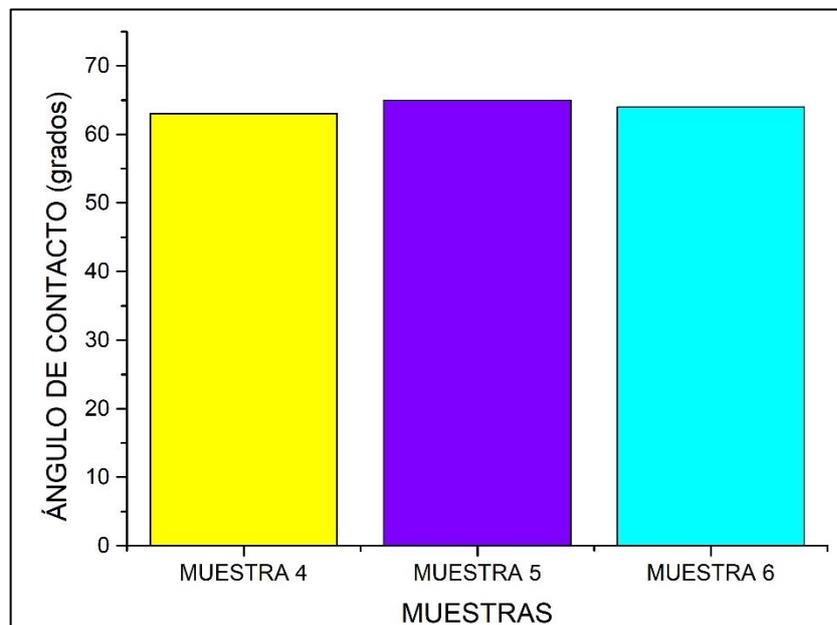
El ángulo de contacto es de  $64^\circ$  pues el fluido se extiende sobre la superficie es decir tiene alto grado de mojabilidad. La muestra tiene una fuerza intermolecular fuerte y el líquido una débil ver figura 41-3.



**Figura 41-3.** Ángulo de contacto de muestra 6.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

El gráfico 6-3 nos muestra que los ángulos de contacto de estas muestras son menores a  $90^\circ$  por lo que todas tienen alto grado de mojabilidad, pero se puede visualizar que entre las tres la mayor es la muestra 5 con  $66^\circ$  por lo que está tendrá menor mojabilidad de las demás y por ende su hidrofobicidad será mayor entonces su degradación en el tiempo será más lenta.



**Gráfico 6-3.** Comparación del ángulo de contacto de las muestras 5,6,7.

Realizado por: Cuzco Vargas, Shirley, 2022.

### 3.5. Análisis estadístico.

Para las muestras del primer grupo en las que se varía el anhídrido metacrílico se tiene las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula  $H_0$ : Las medias de todos los niveles son iguales.

Hipótesis alternativa: la media de uno o más niveles son diferentes.

Regla de decisión:

Si  $P \leq 0.05$  se rechaza  $H_0$ .

Si  $P > 0.05$  No se rechaza  $H_0$

Se obtiene un valor de  $p=0.07286$  entonces como es mayor al valor del nivel de significancia de 0.05 por lo tanto se concluye que las medias de la población no son significativamente diferentes.

Para las muestras del segundo grupo en las que el tiempo de reacción varía se tiene las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula  $H_0$ : Las medias de todos los niveles son iguales.

Hipótesis alternativa: la media de uno o más niveles son diferentes.

Regla de decisión:

Si  $P \leq 0.05$  se rechaza  $H_0$ .

Si  $P > 0.05$  No se rechaza  $H_0$

Se obtiene un valor de  $p=0.13639$  entonces como es mayor al valor del nivel de significancia de 0.05 se concluye que las medias de la población no son significativamente diferentes. Todo esto lo podemos confirmar con el ANOVA ubicado en ANEXO D.

## CONCLUSIONES

Se sintetizó gelatina metacrilóila a través del uso del anhídrido metacrílico (MA) para modificar la gelatina basándonos en la técnica de reacción con solución salina de fosfato con pH 7.4 (PBS) variando parámetros que son el anhídrido metacrílico de 12 ml, 2.5 ml y 0.75 ml y el tiempo de reacción de 3, 2 y 1 horas, considerando que se utilizó 25 ml de PBS en 5 de las 6 muestras, en la muestra 1 fue 150 ml debido a que no tenía la misma cantidad de gelatina pues se necesita para otra investigación sin embargo se encuentran en las mismas proporciones obteniendo unas muestras de color blanco con una textura viscosa y consistentes.

Al variar la cantidad de anhídrido metacrílico su primera diferencia se presenció en los grupos químicos a través de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier pues la muestra con mayor cantidad de este parámetro (muestra 2) presenta los picos más relevantes en el grupo amino funcional NH al igual que en las aminas I, II y III, la muestra 3 que contiene menor MA no presenta los picos tan relevantes como la 2 sin embargo la que más se apega a los grupos funcionales de la gelatina y anhídrido es la muestra 1 que tiene una concentración de 8% v/v con 15 gr de gelatina. Con la microscopía electrónica de barrido se analizó la morfología y la naturaleza porosa de GelMA se concluyó que la muestra 1 tiene la porosidad adecuada para difusión de oxígeno ya que aquella tuvo un tamaño promedio de poro de 151 micras siendo mayor que las demás esto se corroboró también con la técnica de la gota de sésil que mientras el MA era menor el ángulo de contacto igualmente lo sería; pero estos ángulos se encontraban entre 0 y 90° aunque la muestra 3 presento un ángulo de 54° siendo el menor de su grupo, sin embargo, todas las muestras tienen alto grado de mojabilidad.

El tiempo de reacción con respecto a la cantidad de anhídrido son relativamente parecidos, sin embargo, al variar el tiempo se presentaron cambios notorios pero no muy dispersos, en los resultados los espectros FTIR presentan el pico del grupo funcional NH al igual que los picos de las aminas I, II y II mientras que la porosidad no tiene mucha diferenciación entre ellos se encuentra en un rango de 90 a 130um y en la propiedad de mojabilidad todos tienen una mojabilidad alta debido a que sus ángulos de contacto son menores a 90° pero la muestra 5 (120 min de reacción) es el mayor por lo que se considera mejor porque tiene mayor hidrofobicidad.

Para la aplicación en regeneración de tejidos estas propiedades de estas muestras pero en especial de la 1 resultarán beneficiosas, pues al tener una estructura altamente porosa mejorará la difusión de oxígeno y liberación del mismo por más tiempo, el apoyo al desarrollo celular, aportación de nutrientes a las células, la expulsión de residuos de la matriz y la transmisión de masa también la degradabilidad lenta en el tiempo es necesaria para que se pueda utilizar como biomaterial en esta aplicación al momento de ser cargada con nanopartículas y esto se encuentra relacionado con la hidrofobicidad, es decir, con la mojabilidad.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda que durante el proceso de agitación cubrir los recipientes que contengan la muestra ya con el anhídrido pues expulsa un olor demasiado fuerte y cuando se desee abrir para agregar el PBS realizarlo dentro de la sorbona. Después de que el anhídrido este colocado se debe colocar la mezcla en el agitador en donde el imán quede en el medio y hallar las revoluciones en las cuales se mezcle todo homogéneamente.
- Recomiendo que durante el proceso de filtración la muestra se encuentre a una temperatura de 50° C pues si con lleva mucho tiempo realizarlo y la muestra se enfría comenzara a gelificarse siendo este paso a seguir demasiado complicado debido a que la solución no pasará por los filtros y el equipo empezará a fallar, también es preciso cambiar el papel filtro cada cierto momento cuando se observe que no pase el líquido como en un inicio.
- Se debe cubrir los recipientes que contengan las membranas cubiertas de agua antes de colocarlos en la estufa esto para evitar que las membranas floten y se procedan hacer agujeros pequeños en ellas lo cual hará que se pierda líquido que posteriormente puede ser indispensable.
- Cuando se coloque el anhídrido metacrílico se recomienda hacerlo gota a gota se podría que decir unas 15 gotas por minuto aproximadamente esto para que se distribuya el MA de manera dispersa.

## GLOSARIO

**Antigenicidad:** se trata de una capacidad para combinarse con anticuerpos, receptores de células (Láñez, 2014, parr.4).

**Espectro:** La gama completa de todos los tipos de radiación que tienen tanto campos eléctricos como magnéticos, y que se desplazan en ondas. Este espectro abarca desde la radiación de energía baja que se traslada en ondas largas (por ejemplo, las ondas de radio, las microondas etc.) hasta la radiación de energía alta con frecuencia alta que se mueve en ondas cortas (por ejemplo, los rayos X y los rayos gamma) (Lopez, 2014, párr. 3).

**Espectroscopía:** es el estudio de la descomposición de la luz midiendo de esa manera distintas longitudes de onda de luz visible y no visible (IEQFB, 2021, parr.2)

**Hidrofilicidad:** capacidad que tiene un cuerpo de atraer el agua (Cuzco Vargas, Shirley, 2022).

**Hidrofobicidad:** capacidad que tiene un cuerpo de repeler el agua (Cuzco Vargas, Shirley, 2022).

**Liofilización:** es un proceso donde se congela el material y se reúne el agua, luego lo disminuye por medio de la sublimación y desorción, hasta el punto de no mantener el desarrollo biológico o las reacciones químicas (Ramírez, 2006, pp.2).

**Micrografía:** son las imágenes fotográficas que se obtienen por medio de instrumentos electrónicos u ópticos de objetos no visibles.

**Mojabilidad:** es la capacidad de un líquido para extenderse por una superficie, este depende de las fuerzas intermoleculares de las áreas que se encuentran en contacto (González, 2014, pp.32).

**Morfología:** ciencia que estudia las estructuras de los organismos (Cuzco Vargas, Shirley, 2022).

**Sésil:** se refiere a algo que se mantiene fijado a una superficie (Cuzco Vargas, Shirley, 2022).

**Transmitancia:** es la razón de la luz transmitida respecto a la luz incidente, esto se lleva a cabo basándonos en contextos geométricos determinados (Ibáñez et al., 2006, pp. 47).

## **BIBLIOGRAFÍA:**

**APOLINAR, Yolanda.** Síntesis, caracterización y evaluación de hidrogeles de sacarosa. Trabajo de grado, Centro de Investigación en Química Aplicada, 2010 [consultado el 19 de diciembre de 2021]. Disponible

en: <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/419/1/Yolanda%20Apolinar%20Ramirez.pdf>

**ARREDONDO PEÑARANDA, Alejandro y LONDOÑO LÓPEZ Marta Elena.** Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. Revista Ingeniería Biomédica [en línea]. 2009, 3(5), 84. 1909–9762 [consultado el 1 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rinbi/v3n5/v3n5a13.pdf>

**ASADINEZHAD, Ahmad et al.** Polysaccharides Coatings on Medical-Grade PVC: A Probe into Surface Characteristics and the Extent of Bacterial Adhesion. International Journal of Molecular Sciences [en línea]. 2010, 15(2), 1007–1027. ISSN 1420-3049 [consultado el 12 de diciembre de 2021]. Disponible en: [doi:10.3390/molecules15021007](https://doi.org/10.3390/molecules15021007)

**ATMA, Yoni.** Synthesis and application of fish gelatin for hydrogels/ composite hydrogels: a review. Biointerface Research in Applied Chemistry [en línea]. 2021, 12(3), 3966–3976. ISSN 2069-5837 [consultado el 21 de diciembre de 2021]. Disponible en: [doi:10.33263/briac123.39663976](https://doi.org/10.33263/briac123.39663976)

**BAE, Hojae et al.** Cell-laden microengineered pullulan methacrylate hydrogels promote cell proliferation and 3D cluster formation. Soft Matter [en línea]. 2011, 7(5), 1903. ISSN 1744-6848 [consultado el 22 de diciembre de 2021]. Disponible en: [doi:10.1039/c0sm00697a](https://doi.org/10.1039/c0sm00697a)

**BALVANTÍN, Antonio.** Ensayo de trancción. Dicus [en línea]. Agosto de 2016 [consultado el 11 de enero de 2022]. Disponible en: <http://www.dicis.ugto.mx/profesores/balvantin/documentos/Ciencia%20de%20Materiales%20para%20Ingenieria%20Mecanica/Unidad%20I%20-%201.%20Ensayos%20y%20Propiedades%20de%20Materiales.pdf>

**BARRAZA GARZAA, Guillermo et al.** La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. Revista latinoamericana de química [en línea]. 2013, 41(3), 6–7. ISSN 0370-5943 [consultado el 30 de agosto de 2021]. Disponible

en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-59432013000300001](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432013000300001)

**BORAN, Gokhan y REGENSTEIN Joe.** Advances in food and nutrition research [en línea]. Editado por Steve L. TAYLOR. 2010. ISBN 978-0-12-380944-5 [consultado el 18 de diciembre de 2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/45536574\\_Chapter\\_5\\_-\\_Fish\\_Gelatin/citation/download](https://www.researchgate.net/publication/45536574_Chapter_5_-_Fish_Gelatin/citation/download)

**BROWN, Yuna.** Methacrylic anhydride. PubChem [en línea]. Octubre de 2021 [consultado el 4 de enero de 2022]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methacrylic-anhydride#section=Non-Human-Toxicity-Values>

**CARBAJAL, Luis.** Anhídrido metacrílico. Thermo Fisher Scientific Inc. [en línea]. Noviembre de 2021 [consultado el 21 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.fishersci.es/shop/products/methacrylic-anhydride-94-stab-ca-0-2-2-4-dimethyl-6-tert-butylphenol-1/11446820/en>

**CARRASCO, Caterine y SALAZAR Paola.** Hidrogeles inteligentes que entregan oxígeno para la regeneración del tejido cartilaginoso: Una revisión. Polo de conocimiento [en línea]. 2021, 6(7), 805–823. ISSN 2550 - 682X [consultado el 22 de diciembre de 2021]. Disponible en: [doi:10.23857/pc.v6i7.2889](https://doi.org/10.23857/pc.v6i7.2889)

**CHA, Chaenyung et al.** Microfluidics-Assisted Fabrication of Gelatin-Silica Core–Shell Microgels for Injectable Tissue Constructs. Biomacromolecules [en línea]. 2013, 15, 283–290 [consultado el 19 de diciembre de 2021]. Disponible en: [doi:10.1021/bm401533y](https://doi.org/10.1021/bm401533y)

**GILSENAN, P.** Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. Food Hydrocolloids [en línea]. 2000, 14(3), 191–195. ISSN 0268-005X [consultado el 1 de diciembre de 2021]. Disponible en: [doi:10.1016/s0268-005x\(99\)00050-8](https://doi.org/10.1016/s0268-005x(99)00050-8)

**INFINITIA RESEARCH.** Ensayos de propiedades mecánicas: materiales puestos a prueba. Infinitia Research [en línea]. Marzo de 2015 [consultado el 9 de enero de 2022]. Disponible en: [https://www.infinitiaresearch.com/noticias/ensayos-propiedades-mecanicas-materiales/#Pruebas\\_de\\_tension\\_y\\_compresion\\_estaticas](https://www.infinitiaresearch.com/noticias/ensayos-propiedades-mecanicas-materiales/#Pruebas_de_tension_y_compresion_estaticas)

**KIRSCH, Marline et al.** Gelatin-Methacryloyl (GelMA) Formulated with Human Platelet Lysate Supports Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Differentiation and Enhances the Hydrogel's Mechanical Properties. *Bioengineering* [en línea]. 2019, 6(3), 76. ISSN 2306-5354 [consultado el 13 de noviembre de 2021]. Disponible en: doi:10.3390/bioengineering6030076

**KOSSEK, Sebastián.** Scanning Electron Microscopy. *Nanoscience Instruments* [en línea]. 2021 [consultado el 22 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.nanoscience.com/techniques/scanning-electron-microscopy/>

**LÁÑEZ PAREJA, Enrique.** Curso de inmunología general. [sin fecha] [consultado el 26 de mayo de 2022]. Disponible en: [https://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap\\_04.htm](https://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_04.htm)

**LIMA SILVA, Francisleia Maria.** Estudo da difusão de luz em amostras aquosas de colágeno na presença de nanopartículas de CaWO<sub>4</sub>, BaWO<sub>4</sub>, CaMoO<sub>4</sub>, BaMoO<sub>4</sub> e de pigmento de cúrcuma. En: repositorio [base de datos en línea]. 47 [consultado el 28 de noviembre de 2021]. Tesis de masterado, Universidade Federal do Piauí, 2015. Disponible en: <https://repositorio.ufpi.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/1137/Dissertação%20Francisleia%20Silva.pdf?sequence=1>

**LIU, Taotao et al.** Applications of Gelatin Methacryloyl (GelMA) Hydrogels in Microfluidic Technique-Assisted Tissue Engineering. *Molecules* [en línea]. 2020, 25(22), 16. ISSN 1420-3049 [consultado el 6 de enero de 2022]. Disponible en: doi:10.3390/molecules25225305

**LOPEZ, Ernesto.** El espectro electromagnético. Campus de Gipuzkoa - UPV/EHU [en línea]. 2014 [consultado el 26 de mayo de 2022]. Disponible en: <http://www.sc.ehu.es/sbweb/fisica/cuantica/negro/espectro/espectro.htm>

**MIANO, Alberto, ROJAS Carmen y BARRAZA Gabriela.** Influence of temperature and extraction time on gel strength and yield of gelatin from speckled smooth-hound skin (*Mustelus* mento). *Scientia agropecuaria* [en línea]. 2014, 140–147. ISSN 2306-6741 [consultado el 4 de enero de 2022]. Disponible en: doi:10.17268/sci.agropecu.2014.03.04

**MONTES, Javier.** Efecto de la rigurosidad y heterogeneidad superficial en fenómenos de mojado. Tesis doctoral, Universidad de Granada, 2019 [consultado el 12 de enero de 2022]. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/18197759.pdf>

**OTO, Diana y OLIVA Haydée.** Métodos para preparar hidrogeles químicos y físicos basados en almidón: Una revisión. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* [en línea]. 2012, 32(2), 2. ISSN 0255-6952 [consultado el 9 de diciembre de 2021]. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0255-69522012000200002](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0255-69522012000200002)

**POMPA MONROY, Daniela Alejandra.** Estudio de Nanofibras de Gelatina/Colágeno con potenciales aplicaciones médicas y biotecnológicas. En: repositorio [base de datos en línea] [consultado el 28 de noviembre de 2021]. Tesis de masterado, Universidad Autónoma de Baja California, 2017. Disponible en: <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/bitstream/20.500.12930/901/1/ENS086712.pdf>

**PRATO, Gustavo.** Mojabilidad de los fluidos. *La Comunidad Petrolera – Todas las noticias de la Industria Petrolera* [en línea]. 28 de enero de 2009 [consultado el 10 de enero de 2022]. Disponible en: <https://lacomunidadpetrolera.com/2009/01/la-hora-de-hacer-el-estudio-de-algun.html>

**RAHALI, Kamel et al.** Synthesis and Characterization of Nanofunctionalized Gelatin Methacrylate Hydrogels. *International Journal of Molecular Sciences* [en línea]. 2017, 18(12), 2675. ISSN 1422-0067 [consultado el 19 de diciembre de 2021]. Disponible en: [doi:10.3390/ijms18122675](https://doi.org/10.3390/ijms18122675)

**RAHIMI, Rahim et al.** A Janus-paper PDMS platform for air–liquid interface cell culture applications. *Journal of Micromechanics and Microengineering* [en línea]. 2015, 25(5), 25 [consultado el 15 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0960-1317/25/5/055015>

**RAMIREZ, Arnaldo et al.** Materiales polímeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante FTIR, DSC, MEB Y MET. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* [en línea]. 2016, 36(2), 114. ISSN 0255-6952 [consultado el 6 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/rlmm/v36n2/art02.pdf>

**RAMÍREZ NAVAS, Juan Sebastián.** Liofilización de alimentos. *Revista ReCiTeIA* [en línea]. 2006, 6(2), 2 [consultado el 24 de mayo de 2022]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/259620189\\_Liofilizacion\\_de\\_alimentos](https://www.researchgate.net/publication/259620189_Liofilizacion_de_alimentos)

**RODRIGUEZ, Divanery et al.** Chapter 9 Biopolymers: from beginning to end. ECORFAN [en línea]. 2020, 107–115 [consultado el 11 de diciembre de 2021]. Disponible en: doi:10.35429/H.2020.9.107.129

**RODRÍGUEZ GARCÍA, Álvaro.** Estudio del ángulo de contacto y de la mojabilidad a alta temperatura de fases líquidas en la sinterización de metales. Trabajo de grado, Escuela Politécnica Superior, 2010 [consultado el 13 de enero de 2022]. Disponible en: [https://e-archivo.uc3m.es/bitstream/handle/10016/10046/PFC\\_Alvaro\\_Rodriguez\\_Garcia-;jsessionid=DF56F3A5868C8B19A12805F86CEE680C?sequence=1](https://e-archivo.uc3m.es/bitstream/handle/10016/10046/PFC_Alvaro_Rodriguez_Garcia-;jsessionid=DF56F3A5868C8B19A12805F86CEE680C?sequence=1)

**ROSAS SAITO, Greta Hanako.** Microscopía electrónica de barrido y microanálisis de elementos del Clúster Científico y Tecnológico BioMimic®. Inecol [en línea]. 3 de agosto de 2019 [consultado el 13 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/723-microscopia-electronica-de-barrido-y-microanalisis-de-elementos-del-cluster-cientifico-y-tecnologico-biomimic>

**SÁENZ RAMÍREZ, Andrés.** Biomateriales. Revista Tecnología En Marcha [en línea]. 2004, 17(1), 34–45 [consultado el 10 de noviembre de 2021]. Disponible en: [https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/1432](https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1432)

**SANTOS SÁNCHEZ, María Jesús.** Teoría y Simulación de Histéresis Angular en Gotas Sésiles. Tesis doctoral, Universidad de Salamanca, 2012 [consultado el 13 de enero de 2022]. Disponible en: <https://gtfe.usal.es/pdfs/tesis/tesisChus.pdf>

**SHIRAHAMA, Hitomi et al.** Precise Tuning of Facile One-Pot Gelatin Methacryloyl (GelMA) Synthesis. Scientific reports [en línea]. 2016, 9 [consultado el 8 de agosto de 2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/306008620\\_Precise\\_Tuning\\_of\\_Facile\\_One-Pot\\_Gelatin\\_Methacryloyl\\_GelMA\\_Synthesis](https://www.researchgate.net/publication/306008620_Precise_Tuning_of_Facile_One-Pot_Gelatin_Methacryloyl_GelMA_Synthesis)

**SNEHA, Mohan et al.** Biopolymers – Application in Nanoscience and Nanotechnology. IntechOpen [en línea]. 2016 [consultado el 12 de noviembre de 2021]. Disponible en: doi:10.5772/62225

**SUN, Mingyue et al.** Synthesis and Properties of Gelatin Methacryloyl (GelMA) Hydrogels and Their Recent Applications in Load-Bearing Tissue. Polymers [en línea]. 2018, 10(11), 4-5. ISSN 2073-4360 [consultado el 18 de diciembre de 2021]. Disponible en: doi:10.3390/polym10111290

**USMAN, Muhammad et al.** Gelatin Extraction from Fish Waste and Potential Applications in Food Sector. *International Journal of Food Science & Technology* [en línea]. 2021, 57, 154. ISSN 1365-2621 [consultado el 13 de diciembre de 2021]. Disponible en: doi:10.1111/ijfs.15286

**VILLADA MORALES, Juan David.** Obtención y caracterización estructural por ftir de los materiales ionoméricos clorhidrato, acetato y formiato de eudragit e-100 con diferentes grados de ionización. En: repositorio [base de datos en línea] [consultado el 5 de agosto de 2021]. Trabajo de grado, Universidad ICESI, 2015. Disponible en: [https://repository.icesi.edu.co/biblioteca\\_digital/bitstream/10906/78071/1/villada\\_obtención\\_caracterizacion\\_2014.pdf](https://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/78071/1/villada_obtención_caracterizacion_2014.pdf)

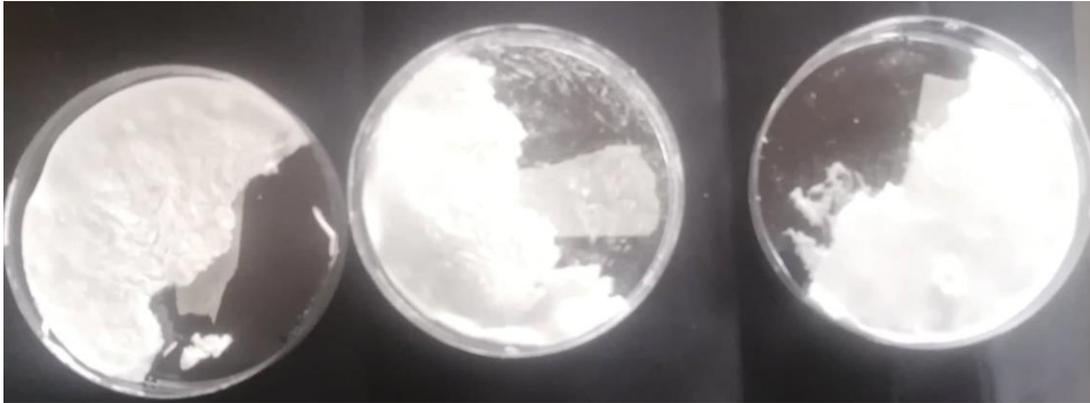
**YUE, Kan et al.** Synthesis, properties and biomedical applications of gelatin methacryloyl hydrogels (GelMA). *ScienceDirect* [en línea]. 2015, 73, 254–271 [consultado el 1 de septiembre de 2021]. Disponible en: doi:10.1016/j.biomaterials.2015.08.045

**ZHU, Mengxiang et al.** Gelatin methacryloyl and its hydrogels with an exceptional degree of controllability and batch-to-batch consistency. *Scientific Reports* [en línea]. 2019, 9(1), 1–9. ISSN 2045-2322 [consultado el 12 de octubre de 2021]. Disponible en: doi:10.1038/s41598-019-42186-x

**ZORATTO, Nicole et al.** In situ forming microporous gelatin methacryloyl hydrogel scaffolds from thermostable microgels for tissue engineering. *Bioengineering & Translational Medicine* [en línea]. 2020, 5(3), 1–12. ISSN 2380-6761 [consultado el 10 de octubre de 2021]. Disponible en: doi:10.1002/btm2.10180

## ANEXOS:

### ANEXO A: MUESTRAS FINALES



Gelatina metracriloila

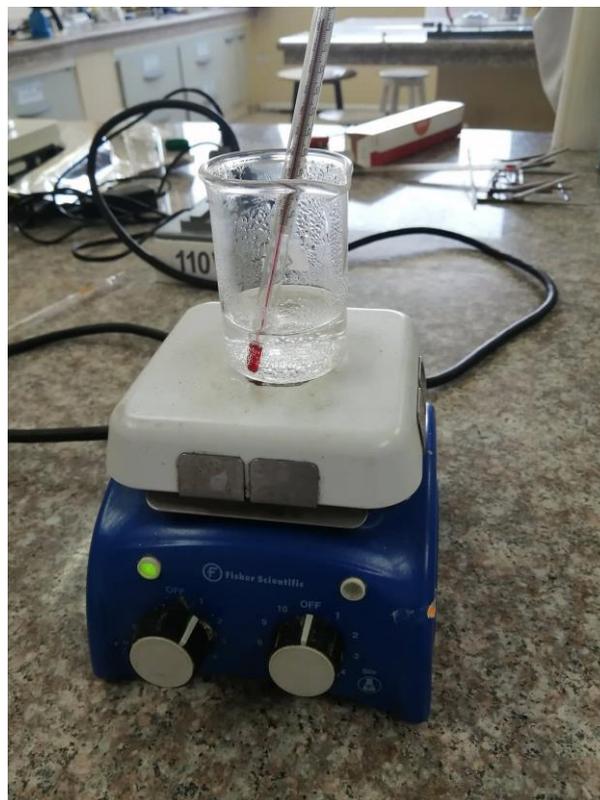
### ANEXO B: PROCESO DE SÍNTESIS DE LA GELATINA METRACRILLOILA



Medición de la gelatina



Colocación de la gelatina y el PBS



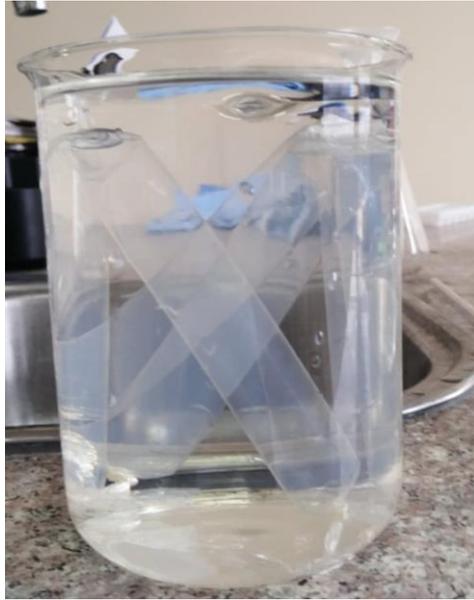
Corroboración de la temperatura



Filtración de la solución



Colocación de la muestra en la membrana de diálisis



Membranas con la solución en agua destilada



Membranas en la estufa a 50°

## ANEXO C: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN SALINA DE FOSFATO



Agitación de las sales



Medición del pH del PBS

## ANEXO D: ANOVA

ANOVAOneWay (26/4/2022 20:46:26)

### Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
TRANSITANCIA M1	907	37	96,41886	26,95269	0,89495
TRANSITANCIA M2	907	37	94,03158	27,29632	0,90636
TRANSITANCIA M3	905	0	95,2873	2,73094	0,09078

### One Way ANOVA

#### Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	2	2586,8743	1293,43715	2,62171	0,07286
Error	2716	1,33995E6	493,35562		
Total	2718	1,34254E6			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.

Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.

At the 0.05 level, the population means are not significantly different.

#### Fit Statistics

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
	0,00193	0,2332	22,21161	95,24588

### Means Comparisons

#### Tukey Test

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
TRANSITANCIA M2 TRANSITANCIA M1	-2,38728	1,04302	3,23688	0,05736	0,05	0	-4,8318	0,05724
TRANSITANCIA M3 TRANSITANCIA M1	-1,13155	1,04359	1,53341	0,52383	0,05	0	-3,57742	1,31432
TRANSITANCIA M3 TRANSITANCIA M2	1,25573	1,04359	1,70169	0,4512	0,05	0	-1,19014	3,7016

Sig equals 1 indicates that the difference of the means is significant at the 0,05 level.

Sig equals 0 indicates that the difference of the means is not significant at the 0,05 level.

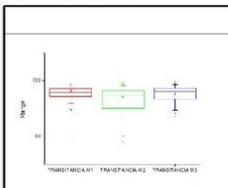
### Homogeneity of Variance Test

#### Levene's Test(Absolute Deviations)

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	2	2249,32129	1124,66065	2,32641	0,09784
Error	2716	1,313E6	483,4319		

At the 0.05 level, the population variances are not significantly different.

### Box Charts



ANOVA de las muestras que presentan variación de anhídrido metacrílico

ANOVA OneWay (29/5/2022 20:43:02)

Input Data

	Data	Range
TRANSMITANCIA 4	[Book1]Sheet1!B	[1*:905*]
TRANSMITANCIA 5	[Book1]Sheet1!C	[1*:905*]
TRANSMITANCIA 6	[Book1]Sheet1!D	[1*:944*]

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
B	905	0	94,42497	3,71778	0,12358
C	905	0	94,13817	3,63661	0,12089
D	909	35	5506,38003	115307,44349	3824,50649

One Way ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	2	1,77241E10	8,86206E9	1,99372	0,13639
Error	2716	1,20726E13	4,44499E9		
Total	2718	1,20903E13			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.

Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.

At the 0,05 level, the population means are not significantly different.

Fit Statistics

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Data Mean
	0,00147	35,0231	66670,75685	1903,62232

Means Comparisons

Tukey Test

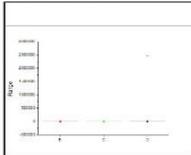
	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig	LCL	UCL
TRANSMITANCIA 5 TRANSMITANCIA 4	-0,28679	3134,19558	1,29406E-4	1	0,05	0	-7345,90383	7345,33025
TRANSMITANCIA 6 TRANSMITANCIA 4	5411,95506	3130,74572	2,44468	0,19447	0,05	0	-1925,57654	12749,48666
TRANSMITANCIA 6 TRANSMITANCIA 5	5412,24185	3130,74572	2,44481	0,19444	0,05	0	-1925,28975	12749,77346

Sig equals 1 indicates that the difference of the means is significant at the 0,05 level.

Sig equals 0 indicates that the difference of the means is not significant at the 0,05 level.

Homogeneity of Variance Test

Box Charts



ANOVA de las muestras que presentan variación de tiempo de reacción.