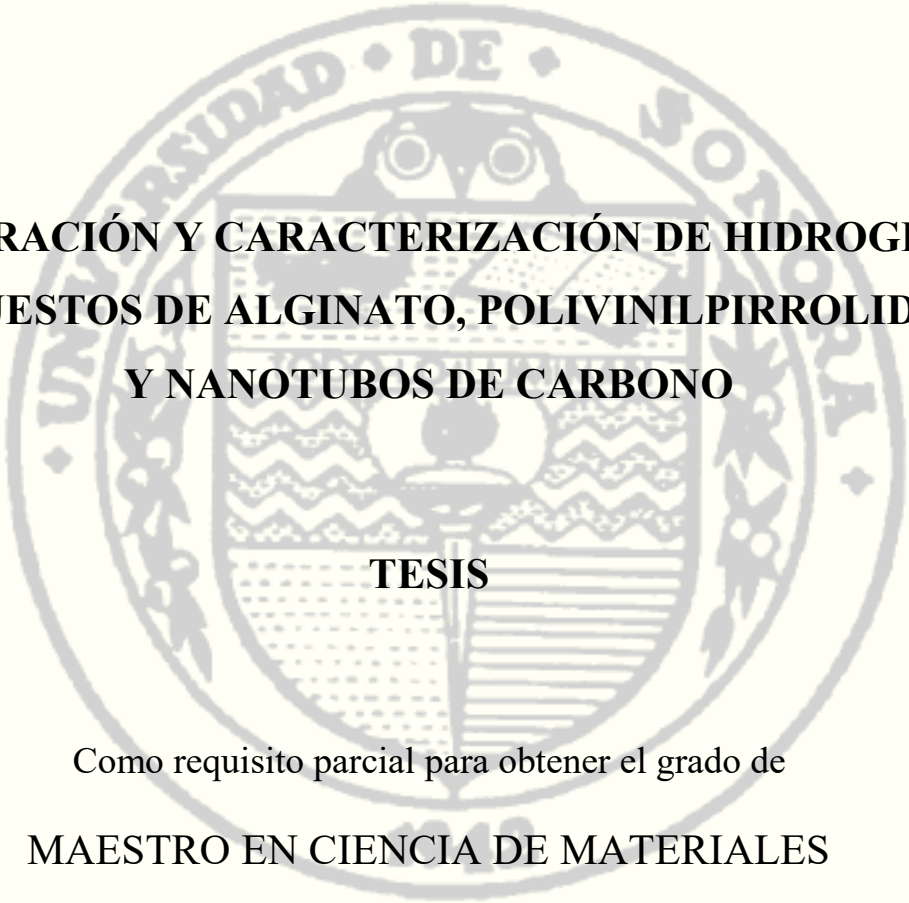


Universidad de Sonora

División de Ingeniería

Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales



**PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES
COMPUESTOS DE ALGINATO, POLIVINILPIRROLIDONA
Y NANOTUBOS DE CARBONO**

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIA DE MATERIALES

Presenta

I.Q. Manuel Gutiérrez Porchas

Hermosillo, Sonora

Octubre, 2018

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

A mis padres, por darme su apoyo y herramientas para cumplir mis sueños y metas

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de Sonora y al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales por mi formación académica y por permitirme estudiar un posgrado en Ciencia de Materiales. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca y el apoyo otorgados.

A mi directora de tesis Teresa del Castillo, por permitirme ser su alumno, por su paciencia y todas sus enseñanzas.

A mis sinodales Dr. Carmelo Encinas, Dra. Dora Rodríguez, Dr. Amir Maldonado, Dr. Pedro Herrera por sus revisiones, críticas, consejos y ayuda.

Al Dr. Daniel Fernández, Dr. Diego Hernández, Dra. Erika Silva, Dra. Judith Tanori y a los alumnos Caree García y Alan Mendoza, Dra. Lerma Chan Chan, Dra. Silvia Burruel por su ayuda y paciencia en los estudios de caracterización del material.

A mis compañeros y amigos de laboratorio Abraham Leyva, Adilene Grijalva, Annel Orduño, Arsenio Félix, Damian Plascencia, Daniel Puentes, Claudia Hernández, Itzel López, Lauren Lizárraga, Vianey Quevedo que me ayudaron y compartieron sus conocimientos a lo largo de estos dos años.

A mis amigos, con los que comparto grandes recuerdos de esta etapa, Andrea Choza, Analila Luna, Astrid Hernández, Bruno Zavala, Diana Domínguez, Karla López, Luis López, Moisés Vera.

Finalmente agradezco a mi familia especialmente a mis padres y hermana por brindarme su afecto y apoyo incondicional.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| LISTA DE FIGURAS | 1 |
| LISTA DE TABLAS | 3 |
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | 4 |
| ABSTRACT | 5 |
| RESUMEN..... | 6 |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 7 |
| 2. HIPÓTESIS | 9 |
| 3. OBJETIVOS..... | 9 |
| 3.1 Objetivo general..... | 9 |
| 3.2 Objetivos particulares | 9 |
| 4. ANTECEDENTES | 10 |
| 4.1 Generalidades de los hidrogeles | 10 |
| 4.2 Clasificación de hidrogeles..... | 10 |
| 4.3 Aplicaciones de los hidrogeles | 13 |
| 4.3.1 Liberación de fármacos | 13 |
| 4.3.2 Andamios en ingeniería de tejidos | 14 |
| 4.4 Alginato de sodio | 15 |
| 4.4.1 Generalidades..... | 15 |
| 4.4.2 Hidrogeles de alginato..... | 16 |
| 4.4.3 Aplicaciones..... | 18 |
| 4.5 Polivinilpirrolidona..... | 19 |
| 4.5.1 Generalidades..... | 19 |
| 4.5.2 Aplicaciones..... | 20 |

| | |
|---|----|
| 4.5.3 Hidrogeles compuestos con polivinilpirrolidona | 20 |
| 4.6 Nanotubos de carbono | 21 |
| 4.6.1 Generalidades | 21 |
| 4.6.2 Funcionalización | 21 |
| 4.6.3 Nanotubos de carbono en hidrogeles nanocompuestos..... | 22 |
| 4.7 Técnicas de caracterización | 22 |
| 4.7.1 Cinética de hinchamiento | 22 |
| 4.7.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (IR-TF)..... | 24 |
| 4.7.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB)..... | 25 |
| 4.7.4 Microscopía confocal láser de barrido (MCLB) | 27 |
| 4.7.5 Análisis termogravimétrico (ATG) | 28 |
| 4.7.6 Ensayos mecánicos..... | 29 |
| 4.7.7 Análisis reológico..... | 30 |
| 5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL | 32 |
| 5.1 Reactivos..... | 32 |
| 5.2 Funcionalización de los nanotubos de carbono de pared múltiple | 32 |
| 5.3 Preparación de los hidrogeles | 32 |
| 5.3.1 Preparación de hidrogeles de alginato de sodio | 32 |
| 5.3.2 Preparación de hidrogeles de alginato de sodio/PVP..... | 34 |
| 5.3.3 Preparación de hidrogeles de alginato de sodio/NTCPMF y alginato de sodio/PVP/NTCPMF..... | 36 |
| 5.4 Caracterización | 39 |
| 5.4.1 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier..... | 39 |
| 5.4.2 Cinética de hinchamiento | 39 |
| 5.4.3 Microscopía electrónica de barrido | 39 |

| | |
|---|----|
| 5.4.4 Microscopía confocal | 39 |
| 5.4.5 Análisis termogravimétrico | 40 |
| 5.4.6 Análisis mecánico | 40 |
| 5.4.7 Análisis reológico..... | 40 |
| 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 41 |
| 6.1 Análisis de espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier..... | 41 |
| 6.2 Cinética de hinchamiento..... | 48 |
| 6.3 Microscopía electrónica de barrido..... | 55 |
| 6.4 Microscopía confocal de barrido | 57 |
| 6.5 Análisis termogravimétrico..... | 58 |
| 6.6 Análisis mecánico | 65 |
| 6.7 Análisis reológico | 68 |
| 7. CONCLUSIONES..... | 71 |
| 8. PERSPECTIVAS | 72 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA | 73 |
| ANEXOS | 80 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Ácido β -D-manurónico (M) y 1C4 del ácido α -L-gulurónico (G). b) La composición de bloques del alginato con bloques G, bloques M, y bloques MG. [19] | 16 |
| Figura 2. Unión de cationes divalentes por el alginato – modelo de “caja de huevo”. a) Quelación de cationes divalentes. b) formación de uniones entre cadenas. [19] | 17 |
| Figura 3. Estructura química de la polivinilpirrolidona | 19 |
| Figura 4. Estructura química de un nanotubo de carbono de pared simple..... | 21 |
| Figura 5. Estructura química de NTC funcionalizado –COOH. | 22 |
| Figura 6. Diagrama esquemático del sistema de microscopía confocal láser de barrido | 27 |
| Figura 7. Diagrama esquemático del sistema de análisis termogravimétrico. | 29 |
| Figura 8. Diagrama esquemático de prueba reológica en esfuerzo cortante para barrido de frecuencia..... | 31 |
| Figura 9. Diagrama esquemático de la reacción de oxidación ácida de los NTC | 32 |
| Figura 10. Esquema de la preparación de hidrogeles de alginato | 34 |
| Figura 11. Esquema de preparación de hidrogeles de alginato/PVP..... | 36 |
| Figura 12. Esquema de la preparación de hidrogeles de alginato/PVP/NTCPMF..... | 38 |
| Figura 13. Espectros de IR-TF de alginato de sodio utilizando la técnica ATR y pastilla de KBr. | 41 |
| Figura 14. Espectros de IR-TF de la polivinilpirrolidona utilizando la técnica ATR y pastilla de KBr. | 42 |
| Figura 15. Espectros de IR-TF de NTCPM prístinos y funcionalizados mediante tratamiento ácido. | 43 |
| Figura 16. Espectros IR-TF-KBr de alginato de sodio y de hidrogeles con diferentes proporciones de CaCO ₃ | 44 |
| Figura 17. Espectros IR-TF-KBr de polivinilpirrolidona, alginato de sodio, hidrogel de alginato de sodio e hidrogel de alginato de sodio/PVP. | 45 |
| Figura 18. Espectros IR-TF-KBr de hidrogeles alginato de sodio con diferentes proporciones de PVP | 46 |

| | |
|---|----|
| Figura 19. Espectros IR-TF-KBr de hidrogeles alginato de sodio al 2%, con diferentes proporciones (peso/peso) NTCPM/Alginato y de muestra de hidrogel de alginato/PVP/NTCPM..... | 47 |
| Figura 20. Cinética de hinchamiento a pH 7.4 para los diferentes hidrogeles | 49 |
| Figura 21. Cinética de hinchamiento a pH 1.2 para los diferentes hidrogeles..... | 50 |
| Figura 22. Ajustes de los datos de hinchamiento a modelos cinéticos de orden n, orden $\frac{1}{2}$ y orden 2 para el hidrogel A2P2C3 | 52 |
| Figura 23. Micrografías MEB de diferentes magnificaciones para diferentes muestras de hidrogeles a) y b) A2P0C0, c) y d) A2P1C0, e) y f) A2P0C5, g) y h) A2P2C5..... | 56 |
| Figura 24. Micrografías confocales de diferentes muestras de hidrogeles a) A2P0C0, b) A2P2C0, c) A2P0C5 y d) A2P2C5 | 58 |
| Figura 25. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG para el alginato de sodio y su hidrogel | 59 |
| Figura 26. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG de polivinilpirrolidona .. | 60 |
| Figura 27. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG para los NTCPMF..... | 61 |
| Figura 28. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG de carbonato de calcio .. | 62 |
| Figura 29. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG de D-Glucono- δ -lactona | 63 |
| Figura 30. Termogramas de análisis termogravimétrico de los diferentes hidrogeles | 64 |
| Figura 31. Efecto de añadir polivinilpirrolidona y/o nanotubos de carbono en el módulo elástico de los diferentes hidrogeles | 65 |
| Figura 32. Efecto de añadir polivinilpirrolidona y/o nanotubos de carbono en el grado de deformación a la ruptura para los diferentes hidrogeles..... | 66 |
| Figura 33. Efecto de añadir polivinilpirrolidona y/o nanotubos de carbono en el esfuerzo máximo soportado por los diferentes hidrogeles..... | 67 |
| Figura 34. Módulo de almacenamiento y de pérdida de análisis reológico en barrido de frecuencia para los diferentes hidrogeles..... | 69 |
| Figura 35. Factor de pérdida de análisis reológico en barrido de frecuencia para los diferentes hidrogeles..... | 70 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Clasificación de hidrogeles..... | 10 |
| Tabla 2. Mecanismos de transporte de agua y coeficientes difusionales n para hidrogeles [45] | 23 |
| Tabla 3. Proporciones utilizadas en la preparación de hidrogeles AS/PVP/NTCPMF. | 35 |
| Tabla 4. Ajuste de los parámetros obtenidos de los datos de hinchamiento para el modelo de orden n | 53 |
| Tabla 5. Ajuste de los parámetros obtenidos de los datos de hinchamiento para el modelo de orden $1/2$ | 54 |
| Tabla 6. Ajuste de los parámetros obtenidos de los datos de hinchamiento para el modelo de orden 2 | 55 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------|--|
| PVP | Polivinilpirrolidona |
| NTC | Nanotubos de carbono |
| NTCPS | Nanotubos de carbono de pared simple |
| NTCPM | Nanotubos de carbono de pared múltiple |
| NTCPMF | Nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados |
| GDL | Glucono- δ -lactona |
| MEB | Microscopía electrónica de barrido |
| MCLB | Microscopía confocal láser de barrido |
| ATR | Reflectancia total atenuada |
| FT-IR | Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier |
| ATG | Análisis termogravimétrico |

ABSTRACT

Alginate is a polysaccharide derived from some brown algae species, it is composed by β -D-mannuronic acid α -L-guluronic acid. Alginate hydrogels are utilized in several biomedical applications, such as transplanted cell encapsulation for tissue engineering, due to its resemblance to the extracellular matrix and capacity to maintain the cellular phenotype. These hydrogels use to be mechanically unstable, making it difficult their application as robust scaffolds for bone and cardiac tissue regeneration. The incorporation of a reinforcing phase consisting in carbon nanotubes (CNT) homogeneously dispersed could result in hydrogels with improved mechanical, physical and biological properties. Otherwise, polyvinylpyrrolidone (PVP) has been used in interpenetrated networks with polysaccharides such as chitosan, alginate, carrageenan, agar, in order to improve hydrophilicity, swelling and biocompatibility properties in hydrogels.

In this work, composite hydrogels based in alginate, functionalized multiwall carbon nanotubes and PVP were prepared with an effective ionic crosslinking with calcium carbonate using a gradual and controlled coordination reaction in presence of glucono- δ -lactone (GDL), which allowed to achieve homogeneous tridimensional hydrogels with different compositions. The composite hydrogels were characterized using scanning electron microscopy and Confocal laser scanning microscopy, it was observed an irregular sized fibrous morphology with a lot of separation volume which changed with the hydrogel composition. Mechanical and rheological properties were analyzed where it was found that the elastic modulus almost doubled by adding FMWCNT, and a significative increase in rupture stress when FMWCNT and PVP were added. The hydrogels swelling behavior was tasted at physiological pH (7.4 and 1.2) and adjusted to kinetics models. Swelling kinetics were dependent on the composition and pH, it suggests that the studied system has potentiality as an intelligent stimuli-responsive framework.

RESUMEN

El alginato es un polisacárido derivado de algunas especies de algas marrones, está compuesto por ácido β -D-manurónico y α -L-gulurónico. Los hidrogeles de alginato han sido utilizados en numerosas aplicaciones biomédicas, tales como la encapsulación de células trasplantadas para la ingeniería de tejidos, específicamente cartílago, debido a su similitud con la estructura natural de la matriz extracelular y a su capacidad de mantener el fenotipo celular. Estos hidrogeles de alginato suelen ser mecánicamente inestables, dificultando su aplicación como andamios robustos para la regeneración de tejido óseo, o cardíaco. La incorporación de una fase de refuerzo que consista en nanotubos de carbono (NTC) dispersados homogéneamente puede resultar en hidrogeles con propiedades mecánicas, físicas y biológicas mejoradas. Por otro lado, la polivinilpirrolidona (PVP) se ha usado en la formación de redes interpenetradas con polisacáridos como el quitosano, alginato, carragenina, agar, entre otros, para mejorar propiedades de hidrofiliidad, hinchamiento y biocompatibilidad.

En este trabajo se prepararon hidrogeles compuestos basados en alginato de sodio, nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados (NTCPMF) y PVP, mediante un entrecruzamiento efectivo del polisacárido con carbonato de calcio usando una reacción controlada y gradual de coordinación con la presencia de glucono- δ -lactona (GDL), lo que permitió obtener hidrogeles homogéneos de forma tridimensional con diferentes composiciones. Los materiales se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido y microscopía confocal láser de barrido, observándose una morfología de fibras de tamaños irregulares con un gran volumen de separación entre estas que cambia en función de la composición del material. Se realizaron análisis mecánicos y reológicos en donde se encontró un aumento de prácticamente el doble en el módulo elástico al incorporar NTCPMF, y un aumento significativo en el esfuerzo máximo al incorporar simultáneamente NTCPMF y PVP. Se obtuvo el comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles a diferentes pH fisiológicos (7.4 y 1.2) los cuales se ajustaron a distintos modelos cinéticos. La cinética de hinchamiento varió de acuerdo con la composición y el pH, lo que sugiere la potencialidad del sistema estudiado en sistemas inteligentes de estímulo respuesta.

1. INTRODUCCIÓN

El campo de la ingeniería y bioingeniería, frecuentemente requiere de materiales con propiedades específicas y modulables para un amplio rango de aplicaciones[1]. Los hidrogeles constituyen un grupo de materiales poliméricos con una estructura hidrofílica capaz de captar y retener grandes cantidades de agua dentro de su estructura tridimensional, este grupo de materiales son considerados uno de los más promisorios[2]

Se ha utilizado una amplia variedad técnicas y polímeros para fabricar hidrogeles, tanto naturales como sintéticos y modificados. Adicionalmente, se han preparado hidrogeles compuestos, lo que permite adecuar las propiedades específicas de estos materiales a los requerimientos de cada aplicación, incluyendo sus propiedades mecánicas, biodegradabilidad, capacidad de interactuar con células, entre otras.[3]

Wichterle y Lim fueron los primeros en describir un hidrogel en 1954, el cual estaba basado en poli(2-hidroxietil metacrilato) (pHEMA), un material biocompatible utilizado en aplicaciones de fabricación de lentes de contacto permanentes.[4] La primera aplicación biológica del alginato se reportó en 1992 por Soon-Shiong *et al.* donde se trasplantaron islotes pancreáticos encapsulados para el estudio de la diabetes y de la respuesta inmunológica ante este material [5].

La característica física más importante de los alginatos es su capacidad para formar uniones con iones multivalentes, lo cual es la base para formar sus geles. Sin embargo, mediante una mezcla directa de cationes divalentes con una solución de alginato difícilmente se producen hidrogeles tridimensionales homogéneos.

Los hidrogeles de alginato se han estudiado y utilizado ampliamente para diversas aplicaciones biomédicas tales como encapsulación y trasplante de células, tejidos, ADN, proteínas, fármacos, entre otros, así como aplicaciones externas en la fabricación de apósitos para heridas.[6]

El alginato posee propiedades favorables para estas aplicaciones tales como biocompatibilidad, baja toxicidad y bajo costo; sin embargo, no posee la capacidad de interactuar con células de mamíferos ni posee una ruta de degradación enzimática[1],

Además, el alginato presenta resistencia y estabilidad mecánica relativamente bajas para su aplicación como andamio de tejidos.

En este trabajo se prepararon hidrogeles compuestos de matriz semi-interpenetrada formados por alginato de sodio y/o polivinilpirrolidona (PVP) con cargas de nanotubos de carbono (NTC) con el objetivo de combinar las funcionalidades inherentes a sus componentes individuales, así como de mejorar las propiedades generales del sistema.

El capítulo 1 está compuesto por los antecedentes de la investigación, en el cual se detallan las características, propiedades y aplicaciones de los distintos materiales utilizados para la síntesis de los hidrogeles. Se describen los principios de las técnicas de caracterización empleadas para medir sus diferentes propiedades (térmicas, mecánicas, caracterización morfológica y comportamiento de hinchamiento).

En el capítulo 2 se detalla la metodología seguida para la obtención de los hidrogeles, así como las condiciones específicas utilizadas en las distintas técnicas de caracterización

En el capítulo 3 se presentan los resultados y discusiones obtenidas del análisis de espectroscopía de infrarrojo, sus propiedades mecánicas (tensión y compresión) y reológicas, comportamiento de hinchamiento a diferentes pH y su estabilidad térmica.

Por último, se muestran las conclusiones obtenidas durante esta investigación, así como las perspectivas a seguir en futuras investigaciones.

2. HIPÓTESIS

Mediante la incorporación de polivinilpirrolidona y nanotubos de carbono se mejoran las propiedades mecánicas de los hidrogeles de alginato de sodio, soportando cargas similares a las que son sometidos los tejidos biológicos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Preparar y caracterizar hidrogeles compuestos de alginato, nanotubos de carbono (NTC) y/o polivinilpirrolidona (PVP).

3.2 Objetivos particulares

- Preparar hidrogeles compuestos homogéneos de alginato, NTC y/o PVP, en diferentes proporciones de sus componentes.
- Caracterizar los hidrogeles de materiales compuestos mediante las técnicas FTIR, ATG, MEB.
- Determinar la cinética de hinchamiento.
- Determinar sus propiedades mecánicas y reológicas.

4. ANTECEDENTES

4.1 Generalidades de los hidrogeles

Los hidrogeles son redes poliméricas capaces de embeber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos. Las redes pueden estar compuestas de homopolímeros o copolímeros, y son insolubles debido a la presencia de entrecruzamientos químicos o físicos que proveen integridad física y estructura de red. Los hidrogeles exhiben una compatibilidad termodinámica con el agua lo que conduce a su hinchamiento en medio acuoso [7]

Un hidrogel es una red tridimensional (3D) de polímeros hidrofílicos que se hinchan en agua y pueden retener grandes cantidades de agua manteniendo su estructura debido a entrecruzamientos químicos o físicos entre las cadenas de polímeros. Por definición, el agua debe constituir al menos el 10% del peso o volumen total para que un material sea considerado hidrogel. [8]. Los hidrogeles además poseen un grado de flexibilidad muy similar a los tejidos naturales debido a su significativo contenido de agua. La hidrofiliidad de las redes es debida a la presencia de grupos hidrofílicos tales como $-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-CONH_2$, $-CONH-$, y $-SO_3H$.

4.2 Clasificación de hidrogeles

La Tabla 1 resume los diferentes tipos de clasificaciones establecidas para los hidrogeles.

Tabla 1. Clasificación de hidrogeles.

| Criterio | Clasificación |
|------------------------|---|
| Origen | Naturales, sintéticos |
| Resistencia mecánica | Redes afines, redes fantasma |
| Distribución de cargas | Iónicos, neutros, electrolitos, zwitterionicos |
| Estructura física | Amorfos, semicristalinos, cristalinos, supramoleculares |
| Método de preparación | Homopolímero, copolímero |

A continuación se describen las particularidades de los tipos de hidrogeles según las diferentes clasificaciones.

a) Fuente

Naturales

Son hidrogeles que se han usado en su estado natural para estudiar sus propiedades y aplicaciones. En esta categoría se encuentran los hidrogeles basados en gomas naturales, proteínas, péptidos, materiales celulósicos, colágeno, ácido hialurónico, polisacáridos tales como alginatos, celulosa, xiloglucanos, entre otros.

Sintéticos

Los hidrogeles sintéticos puros son aquellos hechos por el hombre que han encontrado grandes aplicaciones en la ciencia y tecnología, la mayoría de ellos son biocompatibles y han sido investigados para aplicaciones médicas y productos para la salud. Algunos ejemplos son los hidrogeles de polihidroxietilmetacrilato, polivinil alcohol, ácido poliacrílico, polivinilpirrolidona, etc. [9].

b) Distribución de cargas

Los hidrogeles forman cuatro grupos dependiendo de la presencia o ausencia de cargas eléctricas localizadas en las cadenas entrecruzadas [10].

No iónicos (neutros) y iónicos (aniónicos o catiónicos)

Electrolitos anfotéricos (anfotéricos) que contiene tanto grupos ácidos como básicos.

Zwitteriónicos (*polybetaines*) que contiene grupos aniónicos y catiónicos en cada unidad estructural repetitiva.

c) Resistencia mecánica

Red fantasma y afín

La diferencia entre ambos modelos es la fluctuación de los puntos de entrecruzamiento, cuando el hidrogel es sometido a deformaciones. El modelo afin asume que los puntos de entrecruzamiento están firmemente conectados al cuerpo macroscópico y las hebras de la red se deforman de la misma manera con la deformación macroscópica. Por otro lado, el modelo de red fantasma asume que el entrecruzamiento fluctúa, y la deformación de las cadenas de la red es suprimida por la fluctuación [11].

d) Método de preparación

Homopolímero

Se refiere a aquellas redes poliméricas derivadas de una sola especie de monómero, la cuál es la unidad básica estructural que compone a cualquier polímero. Los homopolímeros pueden tener entrecruzamientos en su estructura principal dependiendo de la naturaleza del monómero y del método de polimerización[12].

Copolímeros

Estos consisten en dos o más especies distintas de monómeros, en las que al menos uno tiene carácter hidrofílico. Las diferentes unidades repetitivas se ensamblan aleatoriamente, en bloque o en una configuración alternada, formando la red polimérica[13].

Multipolímero

También llamados redes interpenetradas (IPN), constituyen una clase importante de hidrogeles. Estos sistemas están compuestos de dos polímeros (naturales o sintéticos) entrecruzados independientemente confinados en una sola red. En los Semi-IPN, solo uno de los componentes está entrecruzado mientras que el otro se encuentra disperso dentro de la matriz[14].

e) Estructura física

Cristalino, amorfo (no cristalino) y semicristalino: Una mezcla compleja de fases amorfas y cristalinas.

Supramoleculares: contienen interacciones no covalentes tales como interacciones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno, interacciones catión- π y π - π [15].

f) Método de entrecruzamiento

Entrecruzamiento físico

El entrecruzamiento físico o reversible ha ganado significancia debido a su relativa facilidad de producción y a la ventaja de que no se utilizan agentes entrecruzantes potencialmente tóxicos durante síntesis del hidrogel. La solvatación de estos hidrogeles es evitada debido a las interacciones físicas que existen entre las cadenas del polímero. [16]. La generación del entrecruzamiento físico se puede lograr mediante procesos de congelamiento/descongelamiento, formación de estereo-complejo, interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, agregación inducida por calor, etc.

Entrecruzamiento químico

En el entrecruzamiento químico, se forman enlaces covalentes entre las diferentes cadenas de polímeros. Los hidrogeles entrecruzados químicamente se consideran estables ya que no pueden ser disueltos en ningún solvente, a menos que los puntos de entrecruzamiento covalente sean rotos. Las principales técnicas de entrecruzamiento químico son injerto por agentes químicos, injerto por radiación, polimerización por radicales, reacción de condensación, reacción enzimática, entre otros[17].

4.3 Aplicaciones de los hidrogeles

Los hidrogeles son usados en diferentes campos debido a sus estructuras específicas y compatibilidad con diferentes condiciones de uso. Su flexibilidad se relaciona con su alto contenido de agua, lo que, en conjunto al resto de sus propiedades, hace posible que sean usados en diferentes ámbitos, desde lo industrial a lo biológico. La biocompatibilidad de los materiales usados para producirlos e incluso su comportamiento químico en ambientes biológicos, los cuales pueden ser no tóxicos, extiende sus aplicaciones a las ciencias médicas[8].

4.3.1 Liberación de fármacos

Los sistemas de liberación controlada de fármacos (DDS), los cuales son usados para suministrar fármacos a una tasa controlada en intervalos definidos de tiempo, han sido utilizados para superar las limitaciones de los fármacos tradicionales. Las excelentes propiedades de los hidrogeles, los convierten en una gran opción en aplicaciones de

liberación. Las estructuras con alta porosidad pueden ser obtenidas controlando principalmente dos factores: el grado de entrecruzamiento en la matriz y la afinidad del hidrogel con el medio acuoso dentro del cual ocurre el hinchamiento. Debido a su estructura porosa, los hidrogeles son altamente permeables a diferentes tipos de fármacos y estos pueden ser cargados y liberados. La posibilidad de liberar farmacéuticos por largos periodos de tiempo (liberación prolongada) es la principal ventaja obtenida de las investigaciones de liberación de fármacos en hidrogeles, la cual persigue proporcionar una concentración terapéutica del fármaco activo en una región específica, por largos periodos de tiempo.[18]

Tanto estrategias físicas (interacciones electrostáticas) como químicas (enlaces covalentes) pueden ser usadas para mejorar la unión entre el fármaco cargado y la matriz del hidrogel y consecuentemente extender la duración de la liberación. Los hidrogeles pueden almacenar y proteger varios tipos de fármacos de ambientes hostiles, y liberarlos a las cinéticas de liberación deseadas. La liberación puede ser activada por cambios locales en el pH, temperatura, presencia de enzimas específicas o por un estímulo remoto.

4.3.2 Andamios en ingeniería de tejidos

La ingeniería de tejidos se define como la combinación de materiales, ingeniería, y células para mejorar o reemplazar órganos. Esto necesita de tipos de células específicas que sean cultivadas en un andamio adecuado, bajo las condiciones apropiadas. Los hidrogeles son un material de andamio destacado debido a su estructura similar a la matriz extracelular de muchos tejidos, pueden a menudo ser procesados bajo condiciones moderadas, y deben ser implantados de la manera menos invasiva posible. El diseño de un andamio adecuado y selección de material para cada aplicación específica depende de numerosas variables, incluyendo sus propiedades físicas, propiedades de transporte de masa, propiedades biológicas especificadas por la aplicación y el ambiente en el cual se pretende colocar el andamio.

Se pueden usar tanto materiales derivados de polímeros naturales como sintéticos para formar hidrogeles con uso como andamios en la ingeniería de tejido. Los hidrogeles sintéticos son interesantes debido al fácil control de su estructura química y con esto, de sus propiedades. Entre los materiales sintéticos utilizados para formar hidrogeles con este fin se encuentran el

poli(óxido de etileno) (PEO), el poli(vinil alcohol) (PVA) y el poli(propileno fumarato) (PPF).

Los polímeros naturales que forman hidrogeles son candidatos para su uso en andamios de ingeniería de tejidos debido a que son componentes naturales de la matriz extracelular o tienen propiedades similares a estas matrices, por lo que pueden interactuar de manera favorable *in vivo*. En este grupo se incluyen el alginato y el quitosano.

Los hidrogeles son usados en la ingeniería de tejidos con tres propósitos principales; para rellenar espacios vacíos, como acarreadores de moléculas bioactivas, y como estructuras tridimensionales que actúan como soporte para las células y ayuda a la formación de un tejido ideal.

4.4 Alginato de sodio

4.4.1 Generalidades

En términos de su estructura molecular, el alginato es una familia de copolímeros binarios no ramificados compuestos por ácido β -(1 \rightarrow 4)-D-manurónico (M) y residuos de ácido α -(1 \rightarrow 4)-L-gulurónico (G), con una composición y estructura secuencial variadas (Figura 1.). El alginato disponible comercialmente es extraído principalmente de las algas marrones (*Phaeophyceae*), incluyendo *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japónica*, *Ascophyllum nodosum* y *macrocystis pyrifera* mediante tratamientos con soluciones alcalinas, típicamente con NaOH. [19].

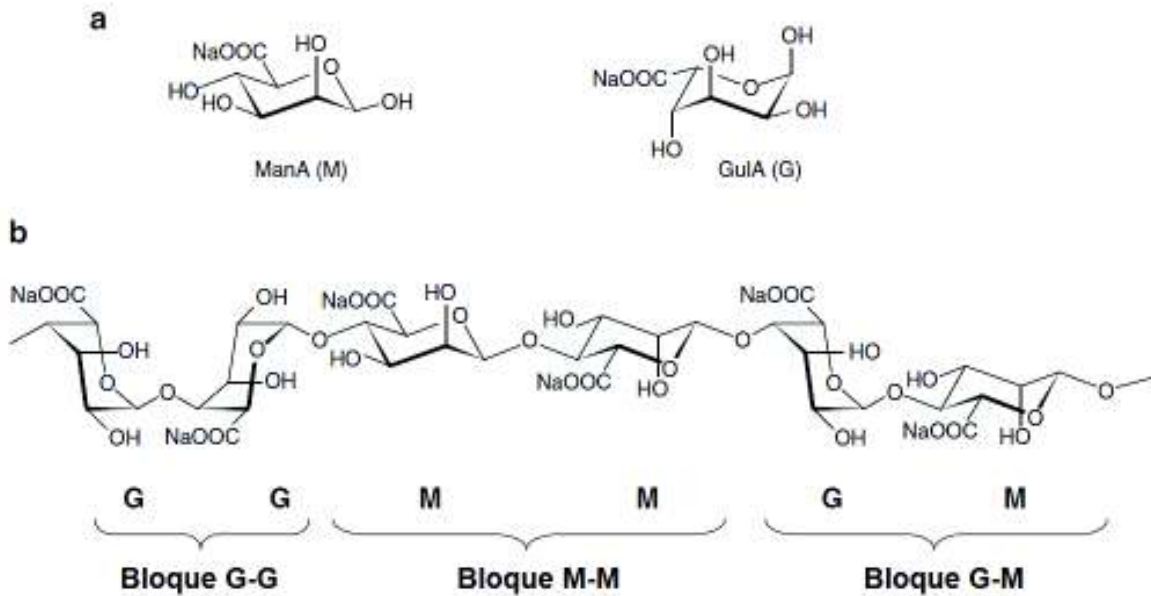


Figura 1. Ácido β -D-manurónico (M) y 1C4 del ácido α -L-gulurónico (G). b) La composición de bloques del alginato con bloques G, bloques M, y bloques MG. [19]

4.4.2 Hidrogeles de alginato

La manera más común para preparar hidrogeles a partir de una solución acuosa de alginato es combinar dicha solución con agentes de entrecruzamiento iónico tales como cationes divalentes (Ca^{2+}). Los cationes divalentes forman entrecruzamientos exclusivamente con los bloques de guluronato en las cadenas de alginato, ya que solo la estructura de estos permite un alto grado de coordinación con los iones divalentes. Los bloques guluronato de una cadena de polímero forman uniones con los bloques de la cadena adyacente, formando lo que se conoce como modelo de entrecruzamiento de caja de huevo, resultando en una estructura de gel, tal como se muestra en la Figura 2. [20]

El CaCl_2 es uno de los agentes entrecruzantes iónicos más utilizado, aunque debido a su alta solubilidad, conlleva a una gelificación demasiado rápida y descontrolada. Por lo que comúnmente se opta por utilizar soluciones buffer con iones que compitan con el calcio y así retardar la gelificación o el combinar compuestos como el CaSO_4 y el CaCO_3 , los cuales, debido a su baja solubilidad en agua, conducen también a una gelificación más lenta. Otra

alternativa consiste en mezclar la solución de alginato con CaCO_3 , el cual no es soluble en agua a pH neutro, y añadir glucono- δ -lactona a la mezcla anterior, de esta manera se logra disociar gradualmente los iones Ca^{2+} para formar el hidrogel[21].

Existen otros métodos de gelificación covalente mediante el uso de agentes entrecruzantes, por ejemplo las polietilenglicol diaminas, poli(acrilamida-co-hidrazida) [22] o mediante foto entrecruzamiento con láser ion argón [23].

Los hidrogeles de alginato suelen no ser degradables en mamíferos, ya que carecen de las enzimas capaces de descomponer las cadenas del polímero, por otro lado, los geles por entrecruzamiento iónico pueden disolverse al liberar los iones divalentes que lo entrecruzan en el medio que los rodea debido al ser intercambiados con otros iones monovalentes como el sodio. Incluso en su forma disuelta, por su peso molecular, el alginato supera el umbral límite de eliminación de los riñones[24].

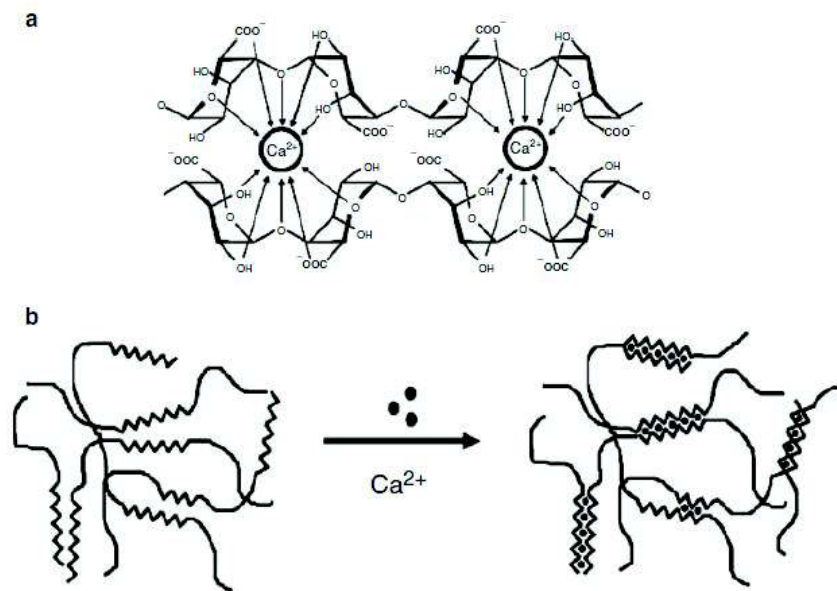


Figura 2. Unión de cationes divalentes por el alginato – modelo de “caja de huevo”. a) Quelación de cationes divalentes. b) formación de uniones entre cadenas. [19]

4.4.3 Aplicaciones

Se han desarrollado hidrogeles adaptados para distintas aplicaciones, incluyendo material de relleno, vehículos para trasplante de células, y sistemas de liberación controlada de fármacos.[1]

Los geles de alginato pueden ser usados como agentes de volumen. Los requerimientos de estos materiales incluyen ser biocompatibles o bioinertes además de mantener su tamaño y forma una vez colocados en el cuerpo. Los hidrogeles de alginato se han aplicado exitosamente como material de relleno *in vivo*, incluso con agentes de reconocimiento celular tales como péptidos (RGD) acoplados, soportando el crecimiento de tejido y la vascularización, manteniendo su tamaño por varios meses[25]. Mientras que los hidrogeles entrecruzados con iones de calcio proveen una química simple y pueden ser introducidos en el cuerpo de manera mínimamente invasiva, normalmente son asociados con una pobre definición de forma y una baja estabilidad de volumen después de largos intervalos de tiempo. [26]

En general estos hidrogeles pueden ser útiles para la liberación prolongada y localizada de fármacos tradicionales de bajo peso molecular y macromoléculas para la regeneración celular. Es altamente deseable una liberación altamente localizada de pequeñas cantidades de fármaco desde el polímero encapsulado, para alcanzar altas concentraciones locales durante largos periodos de tiempo, con mínima exposición en otros sitios.[25]

La cinética de liberación de fármacos con bajo peso molecular puede ser controlada regulando las interacciones fármaco-alginato. Cuando no hay interacciones químicas entre el fármaco y el polímero, la liberación depende mayormente de la naturaleza de la molécula, es decir, las moléculas hidrofílicas pueden difundirse rápidamente mientras que los fármacos hidrofóbicos se difunden lentamente a través de los poros del hidrogel. [6]

Existen numerosas aplicaciones y patentes reportadas con hidrogeles de alginato, utilizado para crear andamios y promover la regeneración de tejidos, [27] P.Stagnaro *et al.* fabricaron un hidrogel híbrido de alginato-polimetilmetacrilato con potencial para la regeneración de tejido osteocondral, HonghyunPark *et al.* fabricaron un hidrogel de alginato de sodio con hialuronato de bajo peso molecular el cual presentó propiedades mecánicas y biológicas

adecuadas para regular la diferenciación celular, lo cual puede resultar útil para la regeneración de cartílago[28].

4.5 Polivinilpirrolidona

4.5.1 Generalidades

La polivinilpirrolidona es un polímero sintético formado por la repetición de grupos derivados de la 1-vinil-pirrolidona. Este polímero tiene una cadena carbonada que contiene grupos amida en sus sustituyentes, teniendo una estructura de poli-N-vinilamida. La Figura 3. muestra la estructura química de la PVP.

La PVP fue obtenida en 1938 por Walter Reppe [29], este polímero fue utilizado ampliamente durante la Segunda Guerra Mundial, como un sustituto de plasma sanguíneo.

Entre sus propiedades se destaca que es soluble en agua, biocompatible, no tóxico, químicamente inerte, resistente a la temperatura, estable en un intervalo amplio de pH, no iónico e incoloro. En estado seco es un polvo ligero, higroscópico, de color blanco a amarillento, el cual absorbe hasta el 40 % de su peso en agua.

Dependiendo de su peso molecular promedio, la temperatura de transición vítrea (Tg) de la PVP puede estar entre 100 °C (para $PM=2.5 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$) a 175 °C (para $PM 10^6 \text{ g mol}^{-1}$). Los valores de Tg pueden estar por debajo de los 100 °C para muestras de bajos pesos moleculares, al igual que la humedad lleva a un drástico descenso de su Tg.[30]

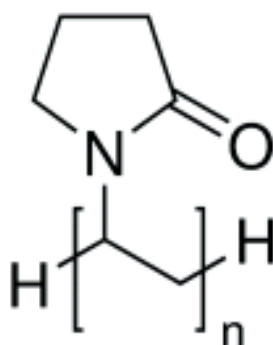


Figura 3. Estructura química de la polivinilpirrolidona

4.5.2 Aplicaciones

La industria médica y farmacéutica fueron las primeras en ser beneficiadas por la PVP, debido a su excelente biocompatibilidad y capacidad para formar asociaciones estables con otros compuestos y complejos con diversas sustancias activas. Poco después de su síntesis por Walter Reppe en 1938, la PVP fue el primer polímero utilizado ampliamente durante la Segunda Guerra Mundial como un sustituto de plasma sanguíneo.[29]

Otros aspectos importantes que hacen de la PVP una buena opción en estos rubros son su alta solubilidad en la mayoría de los solventes convencionales, poder de adhesivo, capacidad de formar películas, afinidad con superficies tanto hidrofílicas como hidrofóbicas, crioprotector y lioprotector, lo cual lo hace elegible para prevenir la agregación de nanopartículas después de la liofilización, espesante, inhibidor de recristalización, y su disponibilidad en diferentes pesos moleculares.[30]

4.5.3 Hidrogeles compuestos con polivinilpirrolidona

Existen numerosos estudios acerca del uso de PVP con polisacáridos (quitosano, carboximetil celulosa, carragenina, agar, alginato de sodio, etc.) formando redes ya sea interpenetradas o semi-interpenetradas. Se ha reportado que cuando el PVP es mezclado con polisacáridos, las propiedades mecánicas, de hinchamiento y de liberación de los hidrogeles son mejoradas. Nuran Işıklan et al. sintetizaron un hidrogel de PVP-alginato de sodio mediante entrecruzamiento químico, obteniendo estructuras más densas y compactas utilizadas para la liberación de indometacina [31], Oya Şanlı et al. fabricaron un hidrogel de estos mismos componentes utilizando entrecruzamiento iónico para la liberación de diltiazem y se determinó la dependencia del grado de entrecruzamiento y del pH en el grado de liberación[32].

Los hidrogeles basados en PVP son generalmente sintetizados incorporando un agente entrecruzante en la matriz polimérica [33]. También se han sintetizado utilizando radiación γ [34], entrecruzamiento por radiación UV, ciclos de congelamiento- descongelamiento, tratamiento con calor húmedo, etc. [35] .

4.6 Nanotubos de carbono

4.6.1 Generalidades

Los NTC son grandes moléculas cilíndricas que consisten en un arreglo hexagonal de átomos de carbono con hibridación sp^2 . La pared de los NTC está compuesta por una o múltiples capas de grafeno, debido a esto es posible clasificar estos materiales en nanotubos de pared simple (NTCPS), formado al enrollar una sola lámina de grafeno, y de pared múltiple (NTCPM) enrollando varias capas. Ambos, los NTCPS y los NTCPM, son cerrados en ambos extremos por un arreglo semiesférico en red de carbono llamado fullereno que es deformado por la lámina de grafeno. La separación entre las capas de grafeno de los NTCPM es aproximadamente 0.34 nm en promedio, cada capa formando un tubo individual con un diámetro exterior que puede estar entre 2.5 a 100 nm, mientras que en los NTCPS este valor está entre 0.6 a 2.4 nm. Los NTCPS se caracterizan por tener una pared mejor definida y un menor diámetro que los hace elegibles como acarreadores de fármacos. Los NTCPM pueden presentar defectos en su nanoestructura que resultan en menor estabilidad, al mismo tiempo que facilita la modificación superficial de los nanotubos. [36]. La Figura 4 ilustra la estructura de un NTC.

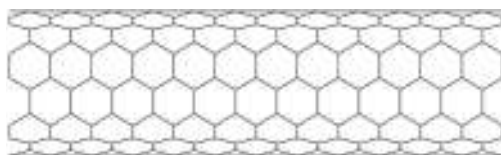


Figura 4. Estructura química de un nanotubo de carbono de pared simple.

4.6.2 Funcionalización

A pesar de sus relevantes propiedades, el carácter hidrofóbico e inerte químicamente de los NTC frecuentemente obstaculiza su aplicación. Para sobrellevar esta limitación, la superficie de los NTC es comúnmente adaptada, usando estrategias de modificación ya sea covalentes o no covalentes. La modificación covalente de su superficie involucra la directa incorporación de nuevos elementos (oxígeno, nitrógeno, flúor) o grupos funcionales orgánicos derivados de biomoléculas a las paredes de los NTC. [37] Las propiedades de superficie pueden ser modificadas sin alterar la estructura intrínseca del nanotubo mediante la funcionalización no covalente que incluye principalmente la adsorción de surfactantes, polímeros o macromoléculas biológicas. Ambas estrategias de modificación (covalente y no

covalente) pueden ser implementadas para usar los NTC en la formación de materiales compuestos poliméricos, en dispositivos electrónicos y aplicaciones medicinales.[38]. La Figura 5. ejemplifica la funcionalización de los NTC.

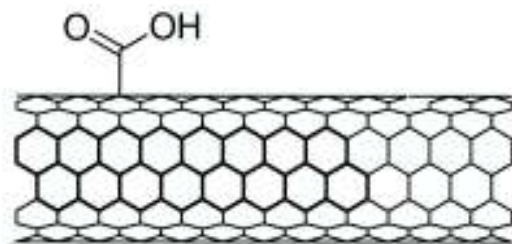


Figura 5. Estructura química de NTC funcionalizado $-COOH$.

4.6.3 Nanotubos de carbono en hidrogeles nanocompuestos

Los NTC han sido de gran interés desde que fueron reportados por primera vez en 1991[39]. Debido a su estabilidad química y térmica, y sus excelentes propiedades mecánicas y eléctricas, los NTC pueden mejorar de manera importante las propiedades mecánicas de los hidrogeles, su estabilidad, así como conferirles capacidad de respuesta ante estímulos de los sistemas híbridos [40].

Se han reportado hidrogeles nanocompuestos de alginato de sodio con nanotubos de carbono para distintas aplicaciones como lo son membranas de filtración[41], tratamiento de residuos y aplicaciones biomiméticas de andamios de tejidos. La presencia de los NTC mejoró sus propiedades mecánicas haciéndolos más rígidos y estables además de favorecer la viabilidad celular [42].

4.7 Técnicas de caracterización

4.7.1 Cinética de hinchamiento

La difusión en estructuras poliméricas es un proceso complejo dependiente de numerosos elementos, tales como las propiedades de las partículas, de la red polimérica y del solvente, y del grado de hinchamiento. Existen numerosas teorías y modelos matemáticos que se han desarrollado para explicar la dinámica de la cinética de hinchamiento de los hidrogeles. La

mayoría de los modelos cinéticos son derivados del tratamiento matemático de la primera ley de Fick para difusión de fluidos. [43]

Las cinéticas de hinchamiento de los hidrogeles pueden ser clasificadas como controladas por difusión (Fickiana) o por la relajación controlada (no Fickiana). Cuando la difusión del solvente hacia el hidrogel ocurre mucho más rápido que la relajación de la red polimérica, la cinética será controlada por la difusión. Otros modelos se concentran en cambios en la difusividad del solvente a través de una sección absorbente vítrea y regiones más elásticas o en cambios en el comportamiento del agua o relajación viscoelástica del polímero dependiente del tiempo mientras se hincha.[44]

La ecuación más simple usada para describir la cinética de hinchamiento de un hidrogel se conoce como modelo de ley de potencia:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde el término $\frac{M_t}{M_\infty}$ representa la fracción de solvente absorbido normalizado con respecto a las condiciones de equilibrio. Las variables k y n son constantes que pueden estar relacionadas con los coeficientes de difusión y el mecanismo específico de transporte. Esta ecuación toma en cuenta los efectos acoplados de difusión de Fick y de la relajación viscoelástica de los sistemas poliméricos.

Tabla 2. Mecanismos de transporte de agua y coeficientes difusionales n para hidrogeles [45]

| Tipo de transporte | Exponente difusional (n) | Dependencia del tiempo |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Difusión Fickiana inferior | $n < 0.5$ | |
| Difusión Fickiana | $n = 0.5$ | $t^{1/2}$ |
| No Fickiano (anómalo) | $0.5 < n < 1.0$ | t^{n-1} |
| caso II | $n = 1.0$ | Independiente del tiempo |
| Super caso II | $n > 1.0$ | |

En el caso en el que se asume que el hinchamiento del hidrogel es controlado por un proceso de difusión, se utiliza la ecuación 2 derivada del método de aproximación de corto tiempo[46]. A partir de la constante cinética k y de valores geométricos sería posible estimar el valor del coeficiente de difusión D aparente a partir de la Ley de Fick[47].

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{1/2} \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde:

$$k = 4 \left(\frac{Dt}{\pi \cdot r^2} \right)^{1/2} \quad \text{Ec. (3)}$$

Adicionalmente se han aplicado modelos de segundo orden, donde el peso es dependiente del tiempo y se expresa como sigue en la ecuación 4, donde el grado de hinchamiento en cualquier tiempo es directamente proporcional al cuadrado de la capacidad de hinchamiento aún disponible [48]

$$\frac{t}{M_t} = \frac{1}{M_{eq}} t + \frac{1}{k \cdot M_{eq}^2} \quad \text{Ec. (4)}$$

Donde M_t es el peso del polímero al tiempo t , M_{eq} es el peso del hidrogel en el equilibrio, y k es la constante de tasa hinchamiento de segundo orden

4.7.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (IR-TF)

Este análisis se realizó con el objetivo de caracterizar los principales grupos funcionales de cada uno de los elementos de los hidrogeles, así como determinar las posibles interacciones que forman las cadenas poliméricas al entrecruzarse y formar una red semi-interpenetrada.

Casi todos los compuestos que contienen enlaces covalentes, ya sea orgánicos o inorgánicos, absorben varias frecuencias de la radiación electromagnética en la región del infrarrojo del espectro electromagnético, especialmente la porción vibracional que incluye longitudes de

onda entre 2.5 μm y 25 μm (4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1}). La absorción de la radiación en el espectro infrarrojo corresponde a cambios de energía en el orden de 8 a 40 kJ/mol. Este rango de longitudes de onda abarca las frecuencias vibracionales de estrechamiento y de flexión de los enlaces covalentes en la mayoría de las moléculas. En el proceso de absorción, aquellas frecuencias que coinciden con las frecuencias vibracionales naturales de la molécula en cuestión son absorbidas, y la energía sirve para aumentar la amplitud de los movimientos vibracionales en los enlaces de la molécula. No todos los enlaces en una molécula son capaces de absorber energía infrarroja, incluso si la frecuencia de la radiación coincide con la del enlace en cuestión, solo aquellos enlaces con un momento dipolar que cambia en función del tiempo son capaces de absorber radiación infrarroja.[49]

4.7.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

El microscopio electrónico se puede considerar como un canal de comunicación entre un objeto (problema) y el observador. La información que se dé de los distintos procesos físicos de interacción del haz de electrones de alta energía con dicho objeto.

En un microscopio electrónico de barrido (MEB), el haz pasa a través de las lentes condensadoras y de objetivo, y es barrido a lo largo de la muestra por las bobinas de barrido, mientras que un detector cuenta el número de electrones secundarios de baja energía emitidos por cada punto de la superficie.

Los lentes en un microscopio electrónico de barrido no son parte del sistema de formación de imagen, sino que se usan para ampliar y enfocar el haz de electrones sobre la superficie de la muestra. Estas son, precisamente las dos grandes ventajas del microscopio de barrido: el rango de ampliación y la profundidad de campo de la imagen. La profundidad de campo es la propiedad por la cual las imágenes de MEB pueden enfocar a la vez superficies que se encuentran a diferentes alturas. La profundidad de campo depende de la divergencia del haz de electrones, el cual viene definido por el diámetro de la apertura del lente objetivo y la distancia entre la muestra y dicha apertura.

La señal procedente del detector de electrones secundarios (o retrodispersados) se usa para modular la intensidad del haz de electrones del monitor, el cual a su vez es barrido sobre la pantalla del monitor de manera sincronizada con el barrido del haz de electrones sobre la

muestra, formándose así la imagen. No existen lentes proyectoras y en realidad, el lente objetivo no es más que una lente condensadora.

El voltaje de aceleración generalmente se encuentra entre 20 y 40 kV, y su resolución entre 50 y 20 Å. Aunque hoy en día se llega a 15 Å gracias al empleo de fuentes de electrones de emisión de campo (FEG). La mayor ampliación es función del sistema de barrido más que de las lentes, es decir, cuanto menor sea el área barrida mayor es la ampliación, y por tanto una superficie en foco puede ser ampliada entre 3 X y 150000 X.

Dentro de los fenómenos que tienen lugar en la muestra bajo el impacto de los electrones, el más importante en MEB es la emisión de electrones secundarios con energías de unas cuantas decenas de eV, seguido de la emisión de electrones retrodispersados con mayores energías. Hay detectores adecuados que discriminan los electrones en función de su energía permitiendo por tanto formar imágenes tanto con electrones secundarios como retrodispersados.

Los electrones secundarios son emitidos por la muestra en procesos inelásticos de ionización debido a la colisión el haz incidente, altamente energético. Estos electrones, al ser de baja energía (hasta 50 eV) vuelven a ser absorbidos por átomos adyacentes pudiendo escapar del espécimen tan solo los electrones secundarios generados cerca de la superficie. Debido a esto las imágenes formadas por electrones secundarios representan las características de la superficie de la muestra.

Una fracción de los electrones del haz incidente pueden abandonar el material como electrones retrodispersados (BSE) con su energía reducida por interacciones inelásticas con el espécimen. Por convenio, se consideran BSE aquellos electrones con energía entre 50 eV y la energía del haz incidente. La intensidad de los electrones retrodispersados depende del número atómico promedio de la muestra pues elementos más pesados producirán más electrones retrodispersados. Esta es una señal útil en el microscopio de barrido ya que se pueden generar imágenes en las que las fases con un mayor número atómico promedio ($\langle Z \rangle$) aparecen más brillantes que las fases de menor ($\langle Z \rangle$).[50]

4.7.4 Microscopía confocal láser de barrido (MCLB)

El MCLB está construido alrededor de un microscopio óptico, y utiliza un láser en lugar de una lámpara como fuente de luz, un tubo fotodetector multiplicador, y una computadora para controlar los espejos de barrido y facilitar la recolección de imágenes. En el MCLB, la iluminación y la detección son confinados a un solo punto en la muestra con difracción limitada, este punto es concentrado en la muestra mediante una lente de objetivos, y barrido utilizando un dispositivo de escaneo. Los puntos de luz del espécimen son detectados por un fotodetector, el cual está posicionado detrás del punto estenopeico “*pinhole*”, la señal de salida del fotodetector es convertida en imagen a través de una computadora. [51] La Figura 6 muestra una representación de los elementos básicos de un MCLB.

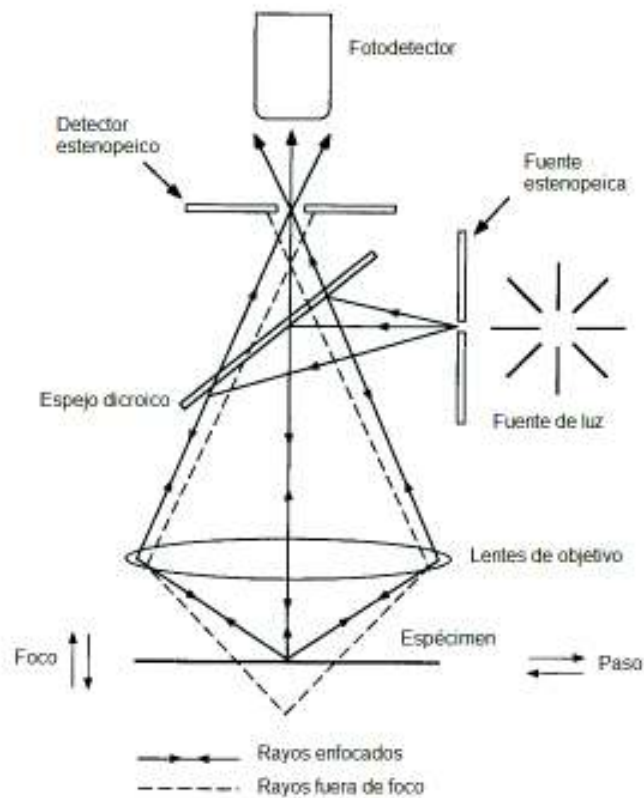


Figura 6. Diagrama esquemático del sistema de microscopía confocal láser de barrido

4.7.5 Análisis termogravimétrico (ATG)

La termogravimetría examina el cambio de masa de una muestra en función de la temperatura en un modo de escaneo o como función del tiempo en modo isotérmico. [56]. De manera general, un polímero a mayor grado de entrecruzamiento presenta una mayor estabilidad térmica, es decir presenta degradaciones menores o a temperaturas más altas[52, 53] Aunque pueden darse casos en los que el grado de entrecruzamiento no modifica significativamente la estabilidad o incluso la disminuye debido a su interacción con el agente entrecruzante [54], al volumen libre de la red polimérica durante el entrecruzamiento[55], entre otros.

En la investigación de polímeros, el ATG se utiliza para obtener la siguiente información:

- 1) Temperaturas de descomposición
- 2) Temperatura en el pico de las curvas de la primera derivada de los termogramas
- 3) Masa del residuo a cierto rango de temperatura
- 4) Pérdida de masa por evaporación de sustancias de bajo peso molecular
- 5) Energía de activación de descomposición y la tasa de descomposición

La Figura 7 ilustra los elementos básicos de un ATG.

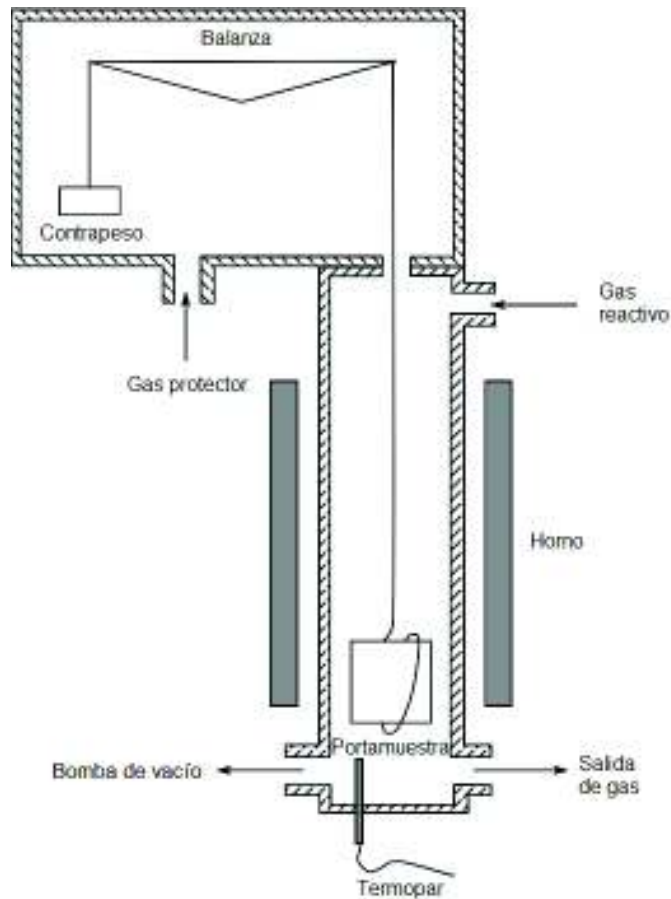


Figura 7. Diagrama esquemático del sistema de análisis termogravimétrico.

4.7.6 Ensayos mecánicos

Los ensayos mecánicos a tensión y compresión miden la resistencia de un material a una fuerza estática o gradualmente aplicada. La probeta se coloca en la máquina de pruebas y se aplica una fuerza F , que se conoce como carga. Para medir el alargamiento o compresión del material, causado por la aplicación de la fuerza, en la longitud calibrada, se utiliza un extensómetro.

A partir de los resultados de la carga aplicada y el cambio dimensional, se determina el esfuerzo y la deformación ingenieril para un material dado. Los resultados de un ensayo son

aplicables a todo tamaño y formas de muestras, si se convierte la fuerza en esfuerzo y la distancia de las marcas en deformación:

$$\text{Esfuerzo}=\sigma=\frac{F}{A_0} \quad \text{Ec. (3)}$$

$$\text{Deformación}=\varepsilon=\frac{l-l_0}{l_0} \quad \text{Ec. (4)}$$

Dónde A_0 es el área original de la sección transversal de la probeta antes de iniciarse el ensayo, l_0 es la distancia original entre marcas calibradas y l es la distancia entre las mismas, después de haberse aplicado la fuerza F . La curva esfuerzo-deformación se utiliza para registrar los resultados del ensayo a tensión y compresión.

La resistencia a la tensión y a la compresión se define como el esfuerzo obtenido de la fuerza más alta aplicada, que es el esfuerzo máximo sobre la curva esfuerzo-deformación ingenieril.

El módulo de elasticidad o módulo de Young, E , es la pendiente de la curva esfuerzo-deformación en su región elástica. Esta relación es la ley de Hooke. Este módulo está relacionado con la energía de enlace de los átomos y es una medida de la rigidez del material.[57]

$$E=\frac{\sigma}{\varepsilon} \quad \text{Ec. (5)}$$

4.7.7 Análisis reológico

Un reómetro es un instrumento que mide tanto viscosidad como viscoelasticidad de fluidos, semi-sólidos y sólidos. La viscosidad es la resistencia de un material a fluir y es una función de la tasa de deformación o de la magnitud del esfuerzo cortante, también en dependencia de la temperatura. La viscoelasticidad exhibe el carácter viscoso y elástico de un material. La medición del módulo de almacenamiento G' , de pérdida G'' y la $\tan \delta$ con respecto al tiempo, temperatura, frecuencia y esfuerzo/deformación, se realiza para evaluar el comportamiento viscoelástico del material.

Durante un barrido de frecuencia, la amplitud de la deformación (o alternativamente la amplitud del esfuerzo cortante) se mantiene constante. Para el análisis, el módulo de almacenamiento y de pérdida son graficados con respecto a la frecuencia. La información a bajas frecuencias describe el comportamiento de la muestra ante pequeños cambios de esfuerzo, mientras que a altas frecuencias se obtiene información sobre el comportamiento de la muestra ante cambios rápidos de carga. La Figura 8 representa un experimento reológico típico.

El barrido de frecuencia es importante para los polímeros ya que midiendo barridos a diferentes temperaturas se puede obtener el punto de fusión, temperatura de transición vítrea, características viscoelásticas, densidad de entrecruzamiento y capacidad de procesamiento, así como simular las condiciones de esfuerzo a las que podrían estar sometidos los materiales durante su aplicación.[58]

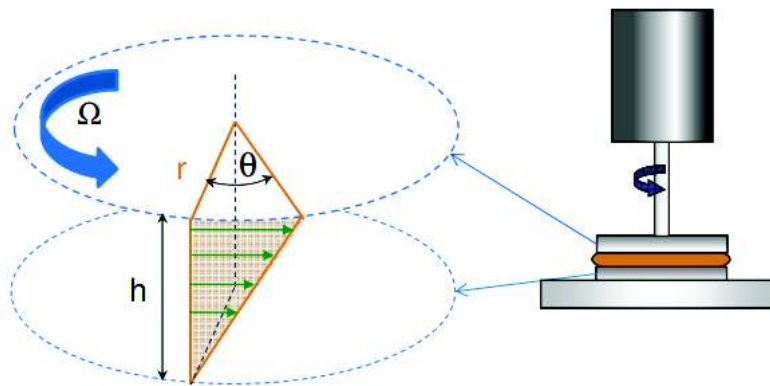


Figura 8. Diagrama esquemático de prueba reológica en esfuerzo cortante para barrido de frecuencia

5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

5.1 Reactivos

- Alginato de sodio Sigma Aldrich
- Polivinilpirrolidona PM 360,000 Sigma Aldrich
- Nanotubos de carbono de pared múltiple ≥ 98 % Sigma Aldrich
- Carbonato de calcio Sigma Aldrich
- Ácido D-(+)-Glucono- δ -lactona ≥ 99 % Sigma Aldrich
- Ácido sulfúrico 95-97 % Emsure
- Ácido nítrico Reactivo analítico Faga lab

5.2 Funcionalización de los nanotubos de carbono de pared múltiple

El proceso de funcionalización de los NTCPM se realizó según metodología reportada por el grupo de investigación [59]. Se tomaron lotes de 6 mg y fueron inmersos sin pretratamiento en 6 mL de una mezcla de HNO_3 (60 %)/ H_2SO_4 (97 %) en proporción 1:3 y se colocaron en un reactor de microondas CEM Discover por 1 hora a 70 °C y a una potencia de 150 W. Posteriormente, los nanotubos se purificaron usando tubos de diálisis de acetato de celulosa (25 mm de diámetro, corte de peso molecular 12kDa) frente a agua desionizada, con cambios frecuentes de la solución de lavado hasta obtener un pH neutro. Finalmente, las muestras fueron secadas por liofilización. Este proceso permite incorporar grupos carboxílicos en la superficie del nanotubo, tal como se muestra en la Figura 9.

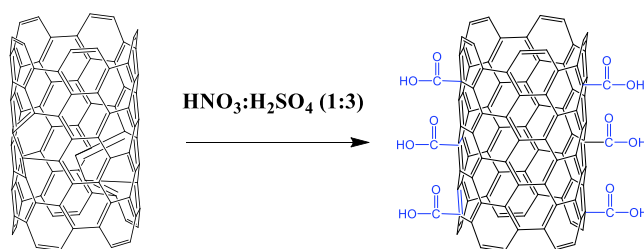


Figura 9. Diagrama esquemático de la reacción de oxidación ácida de los NTC

5.3 Preparación de los hidrogeles

5.3.1 Preparación de hidrogeles de alginato de sodio

Se preparó una solución acuosa de alginato de sodio al 2 % (peso/volumen) mediante

agitación a 60 °C por 1 hora, posteriormente se añadió CaCO₃ en una proporción molar de iones de calcio y grupos carboxílicos de los segmentos G contenidos en el alginato de 1.5X, siendo X la relación definida en la ecuación 6 [21]. Preliminarmente, se obtuvieron hidrogeles usando otras proporciones de reticulante, 2X, 3X y 4X; sin embargo, la relación 1.5X fue la adecuada para obtener hidrogeles transparentes homogéneos, los cuales conservaron la forma cilíndrica inicial del molde.

$$\frac{\text{Ca}^{2+}}{(\text{G})} = X = 0.18 \quad \text{Ec. (6)}$$

La suspensión formada se sonicó por 15 minutos, después fue sometida a vacío durante 15 minutos para evitar la formación de burbujas. Posteriormente se añadió a la suspensión una solución acuosa de GDL recién preparada en una concentración 4.95 % en proporción molar Ca²⁺: GDL de 1: 2 como se ha reportado en trabajos anteriores[21, 48]. La suspensión final se agitó durante 5 minutos y finalmente se vertieron 5 mL en moldes cilíndricos de 3 cm de diámetro, los cuales fueron sellados para permitir el entrecruzamiento durante 48 horas a temperatura ambiente. Un diagrama de flujo del proceso de preparación de los hidrogeles de alginato se muestra en la Figura 10.

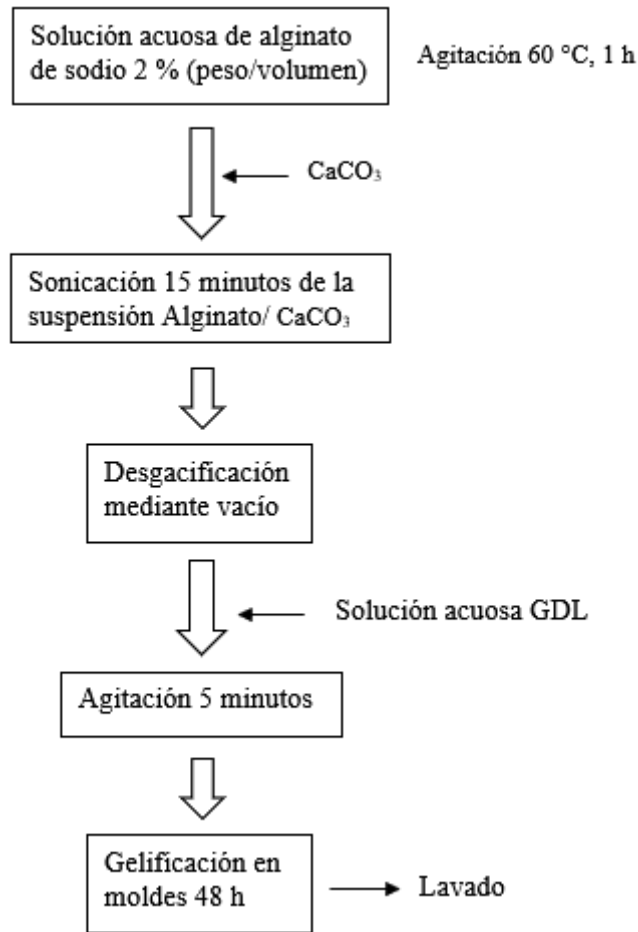


Figura 10. Esquema de la preparación de hidrogeles de alginato

5.3.2 Preparación de hidrogeles de alginato de sodio/PVP

De manera similar a los hidrogeles de alginato, se preparó una solución de alginato de sodio al 2 % en la cual se disolvieron diferentes concentraciones de PVP mediante agitación durante 90 minutos. Posteriormente se agregó CaCO₃ observándose la formación de una suspensión, la cual fue sonicada y desgasificada mediante vacío. Seguidamente se adicionó la solución de GDL y se agitó durante 5 minutos. Finalmente, la suspensión resultante fue vaciada en moldes sellados durante 48 h a temperatura ambiente para su posterior

caracterización. La Figura 11 muestra un esquema de la preparación de los hidrogeles de alginato y PVP. La Tabla 2 resume la composición de los hidrogeles preparados.

Tabla 3. Proporciones utilizadas en la preparación de hidrogeles AS/PVP/NTCPMF.

| Hidrogel | AS (peso/volumen) | PVP (peso/volumen) | NTCPMs/AS (peso/peso) |
|----------|----------------------|-----------------------|--------------------------|
| A2P0C0 | 2 % | 0 % | 0 % |
| A2P1C0 | 2 % | 1 % | 0 % |
| A2P2C0 | 2 % | 2 % | 0 % |
| A2P3C0 | 2 % | 3 % | 0 % |
| A2P0C1 | 2 % | 0 % | 1 % |
| A2P0C3 | 2 % | 0 % | 3 % |
| A2P0C5 | 2 % | 0 % | 5 % |
| A2P2C1 | 2 % | 2 % | 1 % |
| A2P2C3 | 2 % | 2 % | 3 % |
| A2P2C5 | 2 % | 2 % | 5 % |

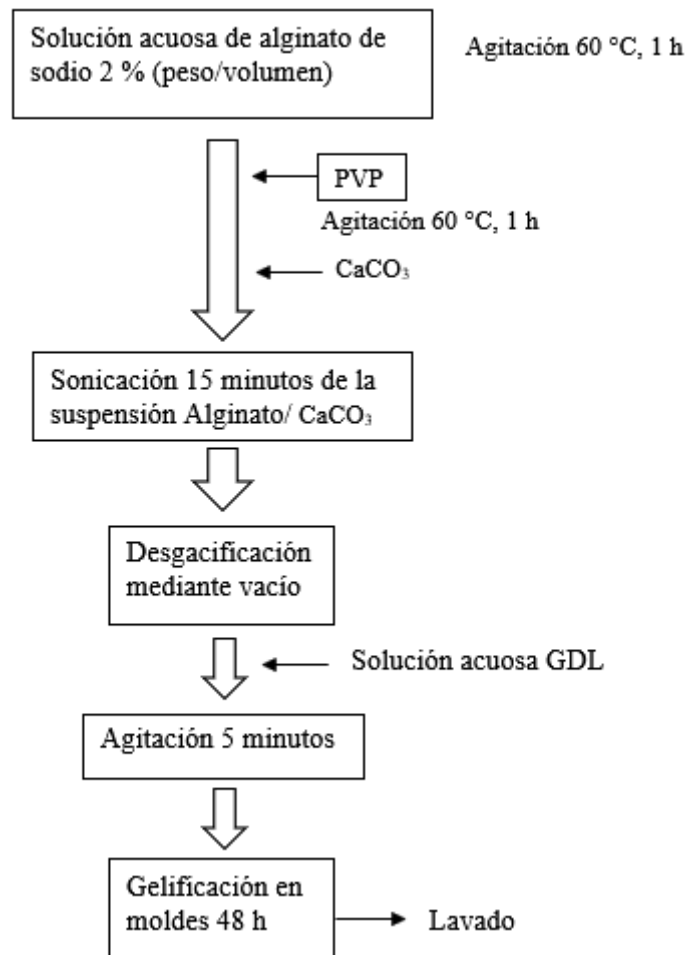


Figura 11. Esquema de preparación de hidrogeles de alginato/PVP

5.3.3 Preparación de hidrogeles de alginato de sodio/NTCPMF y alginato de sodio/PVP/NTCPMF

En el caso de los hidrogeles compuestos de alginato de sodio/NTCPMF, se pesaron cuidadosamente distintas cantidades de NTCPMF dentro de viales para minimizar las pérdidas, se añadió una solución de alginato de sodio al 2 % y se agitó por 15 minutos para después ser sonicada por al menos 30 minutos o hasta obtener una dispersión homogénea de los nanotubos, enseguida se añadió CaCO₃, se sonicó y desgasificó. De manera similar a las preparaciones anteriores, se agregó la solución recién preparada de GDL, se agitó durante 5 minutos y se vertió en moldes que fueron sellados por 48 horas para permitir el

entrecruzamiento.

Para la preparación de los hidrogeles de alginato de sodio/PVP/NTCPMF se utilizó la solución de alginato de sodio 2% y PVP 2%, preparada como se mencionó anteriormente. En esta solución se dispersaron las distintas cantidades de NTCPMF mediante agitación y sonicación de manera similar que a los hidrogeles alginato de sodio/NTCPMF, posteriormente se agregó CaCO_3 , se sonicó y desgasificó la suspensión mediante vacío, se agregó la solución recién preparada de GDL, se agitó durante 5 minutos y se vertió en moldes que fueron sellados por 48 horas para permitir el entrecruzamiento. La Figura 12 muestra un esquema de la preparación de los hidrogeles de alginato de sodio/PVP/NTCPMF.

Todos los tipos de hidrogeles que se prepararon en este trabajo fueron retirados de los moldes y lavados en agua destilada por 15 minutos para eliminar porciones no entrecruzadas de alginato.

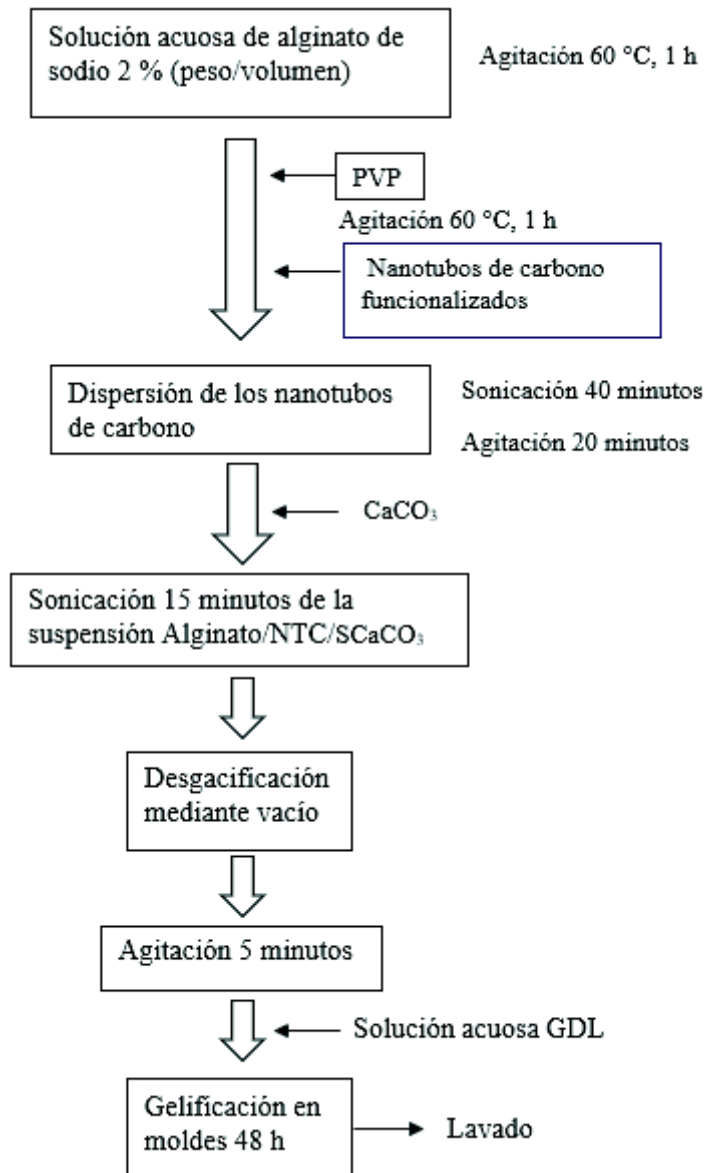


Figura 12. Esquema de la preparación de hidrogeles de alginato/PVP/NTCPMF

5.4 Caracterización

5.4.1 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Se obtuvieron espectros de FTIR en un espectrofotómetro FT-IR/FIR Frontier marca PerkinElmer en un rango de 4000 a 400 cm^{-1} . utilizando pastillas de KBr para cada uno de los componentes y los hidrogeles compuestos. Las muestras de hidrogeles fueron secadas en estufa 45 °C por 24 h. También se obtuvieron espectros usando el modo de reflectancia total atenuada (ATR).

5.4.2 Cinética de hinchamiento

Para evaluar el comportamiento de hinchamiento de los diferentes hidrogeles, las muestras se secaron en estufa a 50 °C por 25 h y se monitoreó la cantidad de agua que los geles absorbieron con el paso del tiempo, para ello se colocaron los hidrogeles completamente secos en buffer Trizma base-HCl 0.01 M (pH 7.4) y HCl 0.1 M (pH 1.2) y se pesaron por intervalos de 15 minutos. El porcentaje de hinchamiento se calculó de la siguiente manera.

$$\text{Porcentaje de hinchamiento (\%)} = 100 \times \frac{w - w_s}{w_s} \quad \text{Ec. (7)}$$

Donde w es el peso del hidrogel en el tiempo t y w_s el peso del hidrogel completamente seco.

5.4.3 Microscopía electrónica de barrido

Se obtuvieron las imágenes en un microscopio electrónico JEOL 5410V, usando un haz de electrones de 15 kV. Se prepararon hidrogeles los cuales fueron cortados en láminas delgadas, congelados con nitrógeno líquido y secados mediante liofilización, las muestras fueron recubiertas con oro antes de ser examinadas en el microscopio.

5.4.4 Microscopía confocal

Para complementar la microscopía electrónica de barrido, se obtuvieron imágenes mediante microscopía confocal láser de las muestras utilizando una cámara de captura Nikon C2plus con una apertura numérica de 0.3, un microscopio Ti-Nikon Instruments, con láseres de longitudes de onda de 525.0 y 785 nm y un radio de “pinhole” de 150 μm . Se barrió la muestra a profundidad con un paso de 2 μm a una profundidad de 50 μm y obteniendo imágenes de 423.14x423.14 μm . Los hidrogeles fueron cortados en láminas delgadas, congelados con nitrógeno líquido y secadas mediante liofilización.

5.4.5 Análisis termogravimétrico

Se llevó a cabo un análisis termogravimétrico de los hidrogeles en un equipo marca Perkin Elmer Pyris 1 TGA. Se prepararon muestras de hidrogeles secados en estufa a 45 °C por 24 horas, aproximadamente 5 mg, las cuales fueron sometidas a calentamiento en un rango de temperatura de 25 °C a 900 °C, a una velocidad de 10 °C/min, con flujo de nitrógeno de 20 mL/min.

5.4.6 Análisis mecánico

Se obtuvieron curvas esfuerzo deformación de los diferentes hidrogeles hidratados para lo cual se cortaron muestras cilíndricas de 10 mm de diámetro por 6 mm y se sometieron a prueba de compresión uniaxial a una velocidad de deformación de 1 mm/minuto, utilizando un equipo TA ElectroForce Sistema BioDynamic 5110 con una celda de carga de 225 N.

5.4.7 Análisis reológico

Se monitoreó el comportamiento de los hidrogeles hidratados ante un esfuerzo cortante en un barrido de frecuencia 0.20-100 Hz con un porcentaje de deformación máximo de 1 %, para lo cual se prepararon muestras en forma de disco de 2.0 mm de grosor y 50 mm de diámetro. Se monitoreó el módulo de almacenamiento y de pérdida en un equipo Anton Paar MCR 502.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Análisis de espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier

Se utilizó la técnica de IR-TF para identificar la presencia de los componentes en cada sistema y analizar las posibles interacciones entre los componentes.

En el espectro IR-TF del alginato de sodio (Figura 13.), usando la técnica de pastilla de KBr, se aprecian sus principales bandas características; a 3437 cm^{-1} el estiramiento OH^- , a 2926 cm^{-1} el estiramiento CH, a 1617 cm^{-1} el estiramiento simétrico del COO^- , a 1417 cm^{-1} el estiramiento asimétrico del COO^- y a 1034 cm^{-1} el estiramiento C-O-C característico de la estructura de los sacáridos.[60] El espectro obtenido usando el modo ATR se aprecia una menor definición de las bandas así como un ligero desplazamiento de las mismas.

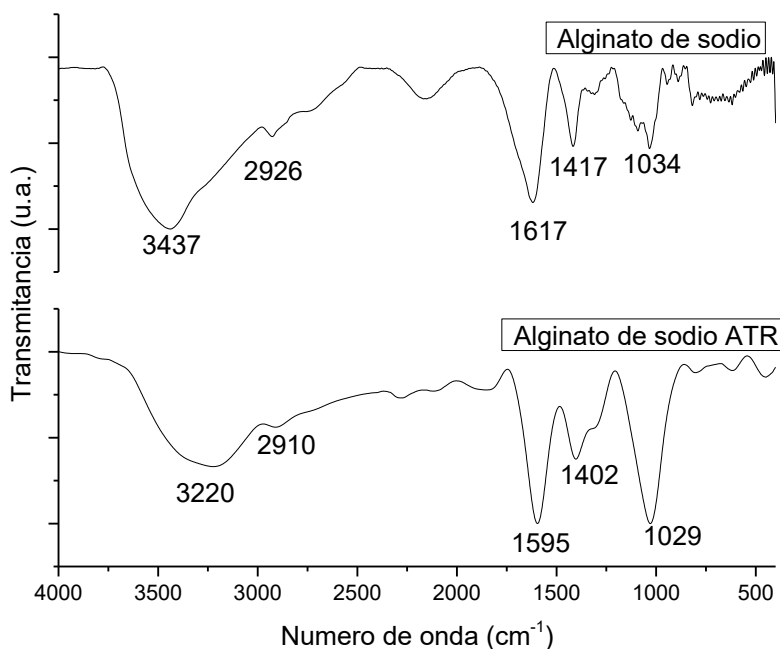


Figura 13. Espectros de IR-TF de alginato de sodio utilizando la técnica ATR y pastilla de KBr.

En la Figura 14. se presenta el espectro infrarrojo de la polivinilpirrolidona, donde se pueden apreciar sus principales bandas características de acuerdo con su estructura. En el espectro

obtenido a partir de pastilla de KBr, a 3467 cm^{-1} se aprecia la banda del estiramiento -OH, a 2920 cm^{-1} el estiramiento C-H, a 1661 cm^{-1} el estiramiento C=O, a 1494 , 1464 y 1438 cm^{-1} (CH₂), 1292 cm^{-1} estiramiento C-N.[61] Análogamente a la Figura 13, en el espectro de modo ATR se aprecian solamente las bandas más significativas. El resto de los espectros de IR-TR mostrados en este trabajo se obtuvieron por la técnica de pastilla de KBr.

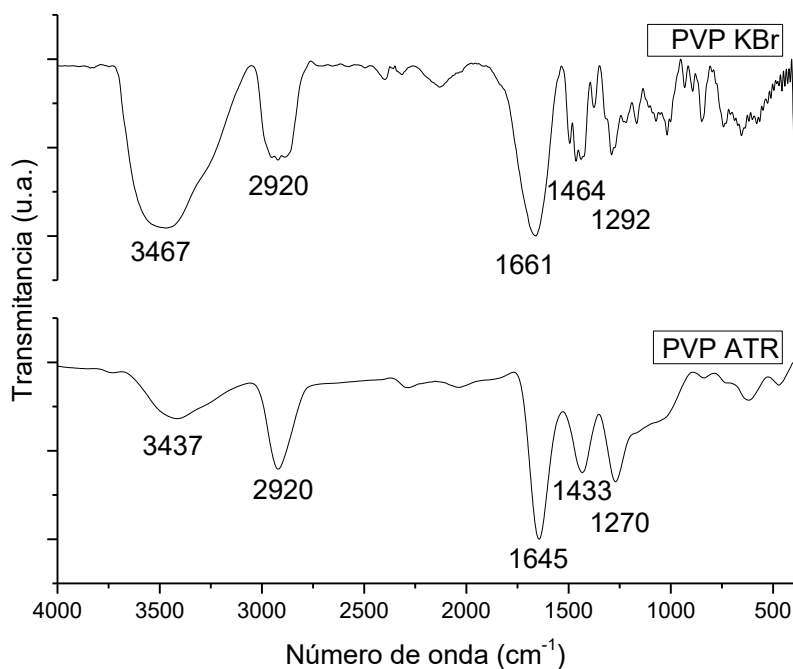


Figura 14. Espectros de IR-TR de la polivinilpirrolidona utilizando la técnica ATR y pastilla de KBr.

La Figura 15 muestra los espectros de los NTCPM prístinos y tratados. En el espectro de los nanotubos tratados se distinguen bandas significativas en las regiones de $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ (estrechamiento O-H), $1760\text{-}1690\text{ cm}^{-1}$ (estrechamiento C=O) y $1320\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ (estrechamiento C-O), lo que confirma la funcionalización de los nanotubos con grupos carboxílicos.

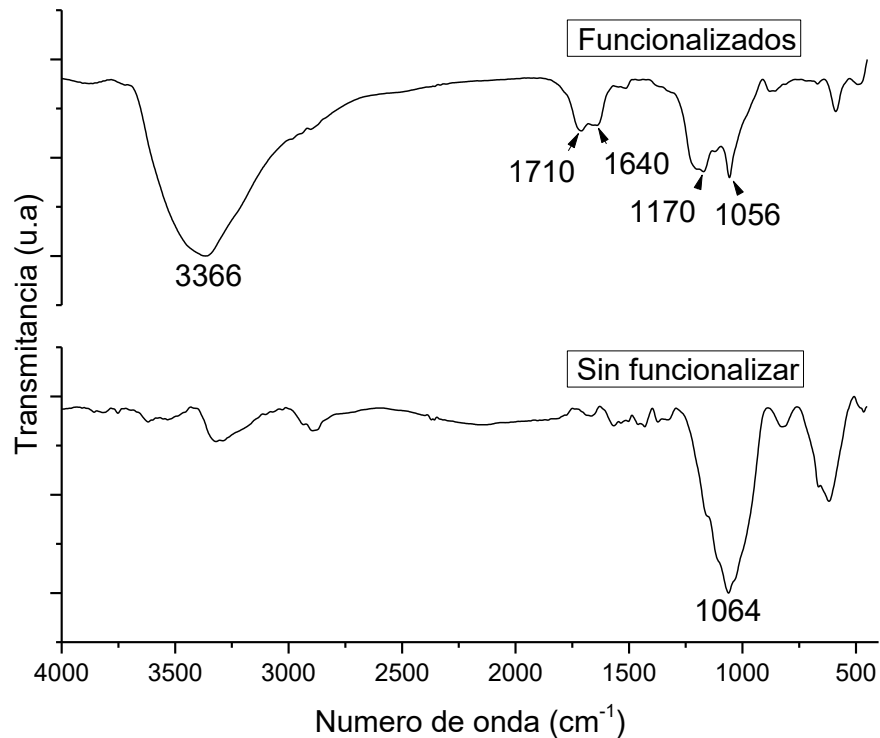


Figura 15. Espectros de IR-TF de NTCPM prístinos y funcionalizados mediante tratamiento ácido.

En la figura 16. se muestra una comparativa del espectro IR-TF del alginato de sodio y de hidrogeles entrecruzados con CaCO_3 y Glucono delta-lactona (GDL) en diferentes proporciones. Se observa que la banda a 3437 cm^{-1} del estiramiento OH se desplazó a mayores números de onda ($3440, 3448, 3516 \text{ cm}^{-1}$) a medida que aumentó el contenido del reticulante, para el hidrogel con mayor concentración de CaCO_3 , esta banda es más estrecha. Este cambio se atribuye a la participación del grupo hidroxilo y carboxilato en la formación de la estructura quelante, lo que disminuye los puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilos[62]. Las señales correspondientes al estiramiento C-H en el alginato de sodio (2926 cm^{-1}) se desplazaron hacia mayores números de onda para los hidrogeles 2X y 3X. Se observa un ensanchamiento de la banda asociada al estiramiento simétrico del COO^- localizada en 1617 cm^{-1} para los hidrogeles, manteniendo su posición excepto para la concentración 4X donde se observa un desplazamiento a 1633 cm^{-1} . A 1417 cm^{-1} , el pico del

estiramiento asimétrico del COO- presentó un desplazamiento a 1427 cm^{-1} en los hidrogeles, lo que se atribuyó al reemplazo de los iones de sodio por iones de calcio en los grupos COO- provocando un cambio en la densidad de carga, tamaño de radio y peso atómico del catión[63]. La señal del estiramiento C-O-C a 1034 cm^{-1} se mantuvo en una posición similar para el alginato de sodio y los hidrogeles con diferentes proporciones de CaCO_3 .

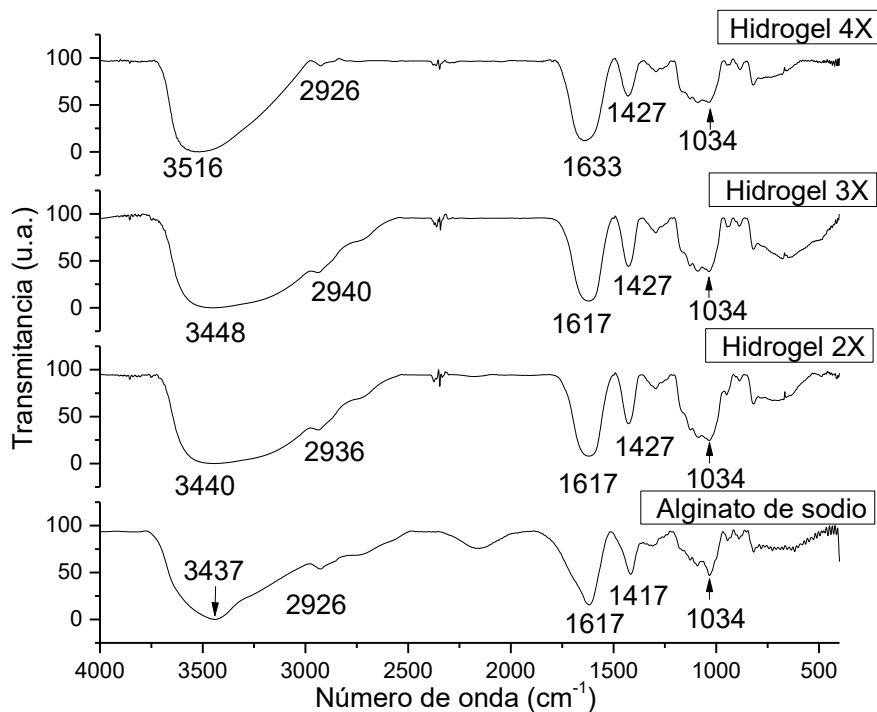


Figura 16. Espectros IR-TF-KBr de alginato de sodio y de hidrogeles con diferentes proporciones de CaCO_3 .

La Figura 17. muestra los espectros IR-TF del hidrogel de alginato 1.5X (A2P0C0) y de un hidrogel compuesto de alginato/PVP (A2PAC0).

Al comparar el espectro del hidrogel de alginato 1.5X con el del hidrogel Alginato/PVP, se observa un corrimiento a menor número de onda del estiramiento -OH (de 3434 a 3407 cm^{-1}) para el Alginato/PVP lo que se asocia a la existencia de interacción por puentes de hidrógeno entre ambos componentes. Se observa que la intensidad relativa de la banda correspondiente al estiramiento C=O es mayor para el PVP reactivo (1661 cm^{-1}) que en el alginato de sodio (1617 cm^{-1}) debido a la presencia de C=C-N. Estas señales se superponen en un número de onda menor (1610 cm^{-1}) para el hidrogel alginato/PVP. Este cambio

espectral se atribuye a las interacciones entre los grupos C=O del PVP y los grupos -OH del alginato que pueden formar puentes de hidrógeno[64].

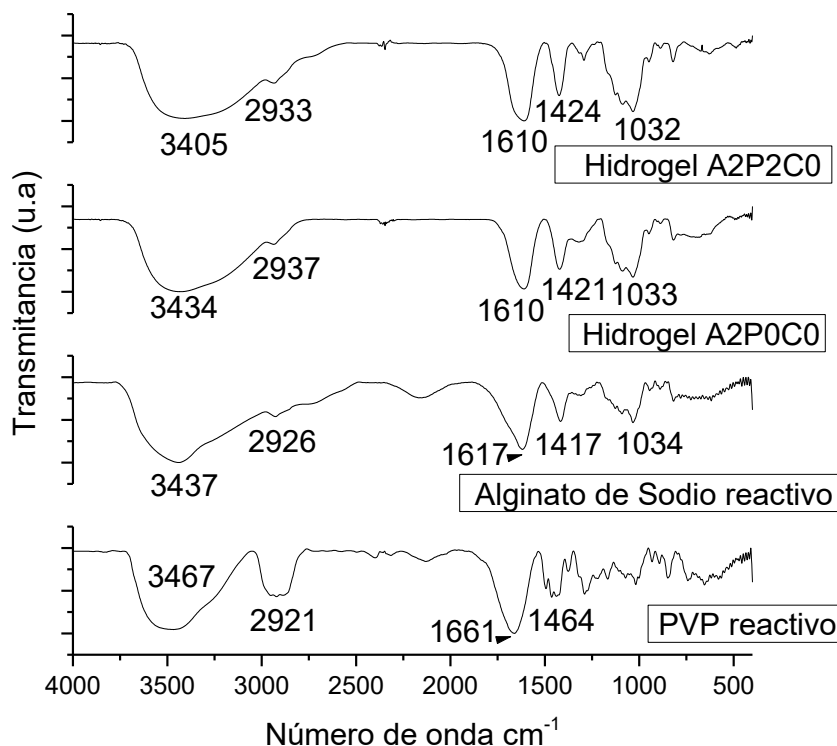


Figura 17. Espectros IR-TF-KBr de polivinilpirrolidona, alginato de sodio, hidrogel de alginato de sodio e hidrogel de alginato de sodio/PVP.

Los espectros IR-TF de los hidrogeles de alginato/PVP en diferentes proporciones (Figura 18) muestran un corrimiento en el pico -OH de 3434 cm⁻¹ a 3407 cm⁻¹ a medida que aumenta el contenido de PVP, lo que corrobora el establecimiento de interacciones de puentes de hidrógeno entre los componentes. Adicionalmente, el pico a aproximadamente 1293 cm⁻¹ asignado al PVP, aumenta su intensidad relativa conforme aumenta la proporción de éste.

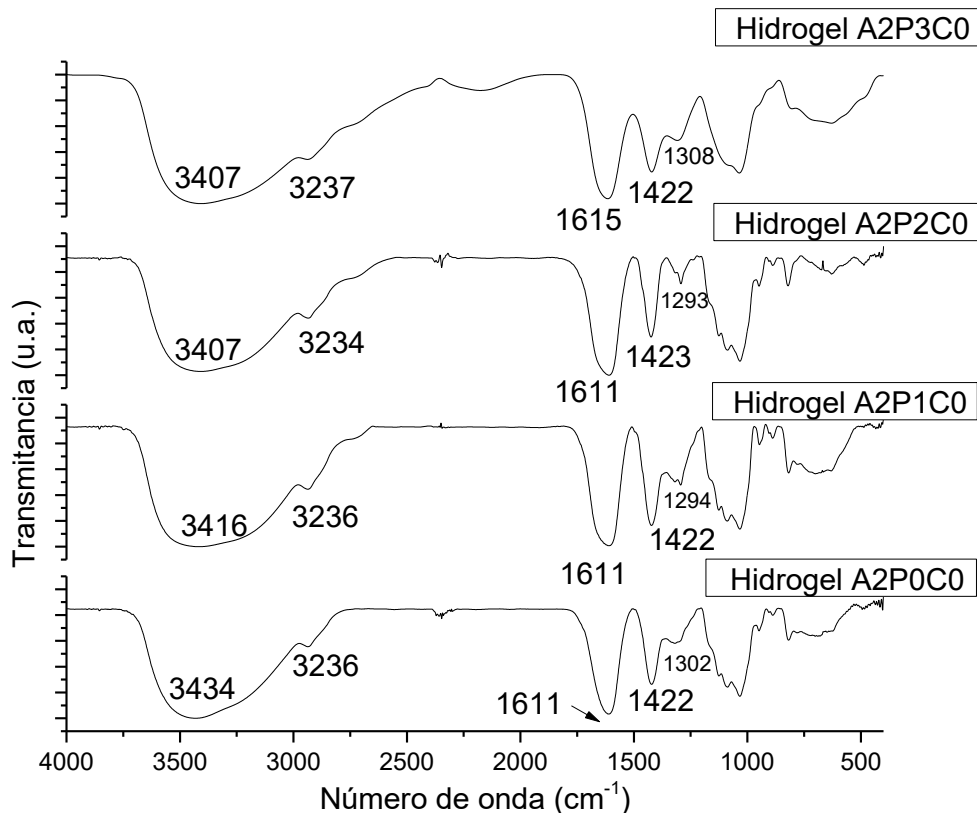


Figura 18. Espectros IR-TF-KBr de hidrogeles alginato de sodio con diferentes proporciones de PVP

La Figura 19. presenta los espectros IR-FT de hidrogeles de alginato de sodio entrecruzados con CaCO_3 : GDL 1.5X y con NTCPM incorporados en diferentes proporciones NTCPM/Alginato (peso/peso), los espectros mostraron los picos característicos de cada uno de los componentes. Las composiciones 1 y 5 mg/100 mg (A2P0C1 y A2P0C5, respectivamente) mantuvieron los valores del estiramiento simétrico del COO^- a 1610 cm^{-1} del hidrogel sin NTCPM, mientras que la composición 3 mg/100 mg (A2P0C3) mostró desplazamientos a valores menores (1605 cm^{-1}). Las bandas del estiramiento OH^- se muestran más anchas en la proporción 1 mg/100 mg con 3284 cm^{-1} , valor menor que el hidrogel sin NTCPM (3437 cm^{-1}) mientras que las proporciones 3 y 5 mg/100 mg muestran bandas más estrechas con valores en 3476 y 3425 cm^{-1} , respectivamente. Para todos los hidrogeles, las posiciones del estiramiento C-O-C a 1033 cm^{-1} y el estiramiento asimétrico del COO^- a 1425 cm^{-1} se mantuvieron constantes.

La Figura 19 incluye también el espectro del hidrogel de alginato que contiene PVP 2 % y NTCPM 3 mg/100 mg (A2P2C3). En este espectro, la banda OH⁻ muestra un mínimo a 3515 cm⁻¹, dicho valor es superior a los hidrogeles anteriores, lo que sugiere un cambio en el modo de interacción entre los componentes, cuando se encuentran simultáneamente el alginato, la polivinilpirrolidona y los nanotubos de carbono en el material, esto con respecto a los hidrogeles bicomponentes. Por otra parte, se distinguen las señales individuales correspondientes al estiramiento asimétrico C=O del PVP y del alginato a 1663 y 1610 cm⁻¹, respectivamente.

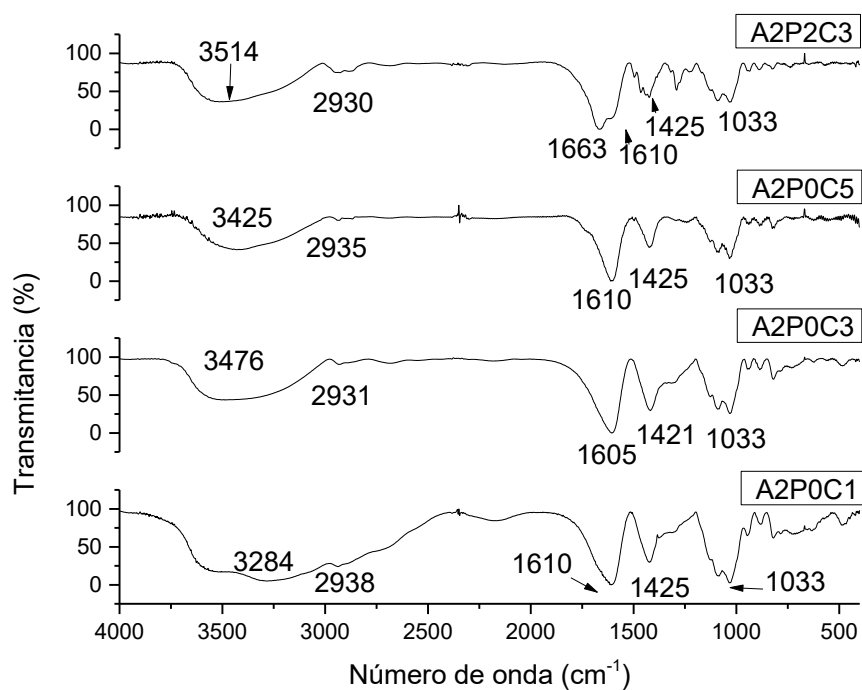


Figura 19. Espectros IR-TF-KBr de hidrogeles alginato de sodio al 2%, con diferentes proporciones (peso/peso) NTCPM/Alginato y de muestra de hidrogel de alginato/PVP/NTCPM.

6.2 Cinética de hinchamiento

En la Figura 20. se observa el efecto que tiene la incorporación de PVP y/o NTCPM en el comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles a pH 7.4. En la figura 20. (a) se observan cinéticas muy similares al añadir PVP, aunque con un ligero aumento en el hinchamiento en aquellas con PVP incorporado, Esto de acuerdo a lo esperado debido a la naturaleza hidrofílica del PVP, la cual brinda un carácter más hidrofílico a la matriz polimérica del hidrogel[32] [65], además de actuar como un dispersante, favoreciendo la formación de una matriz polimérica más regular[66].

En la figura 20 (b) se aprecia una clara disminución en el comportamiento de hinchamiento al añadir los NTCPM. Se han reportado estudios de hinchamiento para hidrogeles basados en alginato con cargas añadidas, funcionalizadas con grupos carboxilatos, tales como óxido de grafeno[67] y específicamente con NTCPMF en los cuales el grado de hinchamiento suele disminuir considerablemente[68]. Esto sugiere la formación de interacciones de puentes de hidrógeno e incluso la formación de puntos de entrecruzamiento junto con el alginato mediante la coordinación de iones Ca^{2+} [41, 47].

El efecto de añadir nanotubos al hidrogel de alginato con una cantidad fija de PVP (figura 20 c)) igualmente es de una disminución en el grado de hinchamiento. Sin embargo, la disminución es ligera si se compara con el comportamiento de los hidrogeles sin PVP. Lo anterior puede resultar favorable para el diseño de hidrogeles compuestos que incorporen las funcionalidades inherentes a los nanotubos (conducción eléctrica, resistencia mecánica, conversión fototérmica), y que conserven la alta capacidad de hinchamiento del polisacárido.

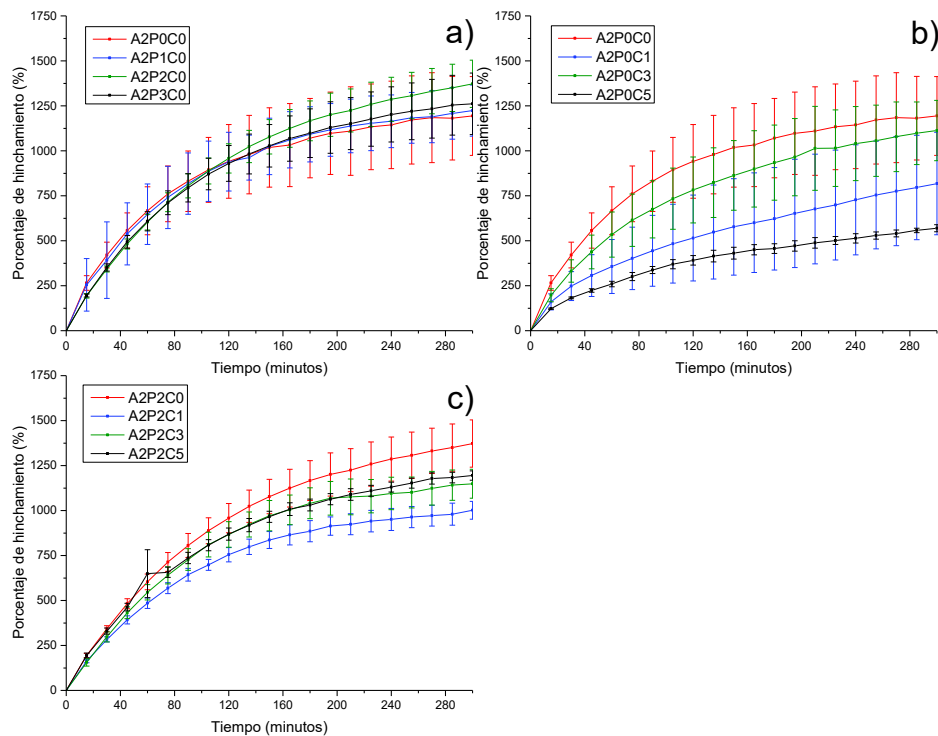


Figura 20. Cinética de hinchamiento a pH 7.4 para los diferentes hidrogeles

El medio ácido produce una disminución drástica del hinchamiento de los hidrogeles, alcanzándose el equilibrio alrededor de los 90 minutos (Figura 21). Este comportamiento se atribuye a la protonación de los grupos carboxilatos del alginato que ocurre en valores de pH <4 disminuyendo la repulsión entre estos grupos, lo cual desfavorece el hinchamiento.[69]

El comportamiento del hinchamiento al incorporar PVP y NTCPM es similar al observado a pH neutro, aunque se aprecia un efecto más intenso de aumento del grado de hinchamiento al incorporar PVP (Figura 21-a). Lo anterior corrobora que la presencia del PVP incrementa el carácter hidrofílico del material y/o modifica la estructura de la red reticulada de alginato. Se observa un efecto de disminución del grado de hinchamiento al añadir NTCPM en donde se aprecia también una disminución del porcentaje de hinchamiento después de 40 minutos figura 21 (b) esto debido a la pérdida de los componentes en el medio de hinchamiento.

Al incorporar ambos componentes se obtienen cinéticas muy similares entre las muestras, mostrando un balance entre la hidrofiliicidad que aporta el PVP y el efecto de disminución del hinchamiento debido a los NTCPM.

La sensibilidad del hinchamiento del material con respecto al pH evidencia su potencialidad para un sistema estímulo-respuesta basado en la ionización de los grupos ácidos de la matriz reticulada.

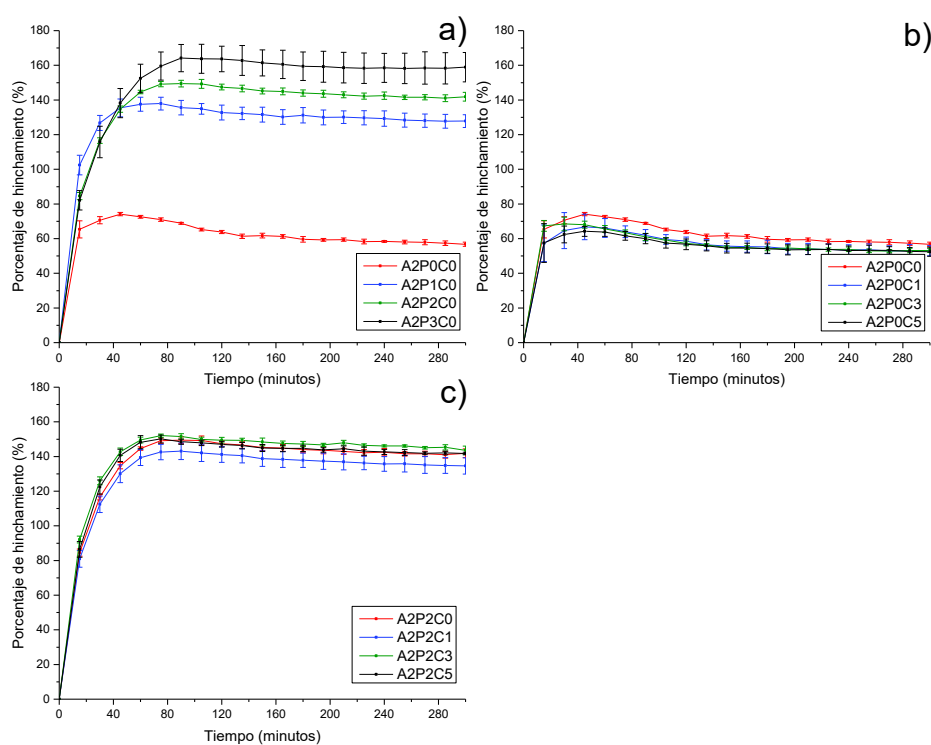


Figura 21. Cinética de hinchamiento a pH 1.2 para los diferentes hidrogeles.

Los datos de las cinéticas de hinchamiento se ajustaron a los modelos de orden n , orden $\frac{1}{2}$ y segundo orden. La Figura 22. muestra un ejemplo de los ajustes realizados para una muestra específica de hidrogel. Las Tablas 4, 5 y 6 resumen los parámetros obtenidos para cada modelo, incluyendo los coeficientes de correlación.

De manera general se aprecia que las cinéticas de hinchamiento realizadas a pH 7.4 presentan un ajuste óptimo al modelo de orden n con valores del coeficiente cercanos a 0.5 para las muestras con bajo contenido de PVP, por lo que estas tuvieron también un buen ajuste para el modelo de orden 0.5. Lo anterior indica que el proceso de hinchamiento ocurre principalmente bajo un mecanismo de difusión Fickiana para estas muestras. Por otro lado, las muestras con alto contenido de PVP Obtuvieron un ajuste óptimo para el modelo de orden n con valores de coeficiente ligeramente mayores, indicando además un mecanismo de relajación de las redes poliméricas dentro del hidrogel que contribuye a su hinchamiento.

Por otro lado, los datos de hinchamiento a pH 1.2 presentan un buen ajuste en el modelo de orden 2, debido a su menor hinchamiento y menor tiempo en alcanzar su hinchamiento máximo en comparación con las cinéticas llevadas a cabo a pH 7.4.

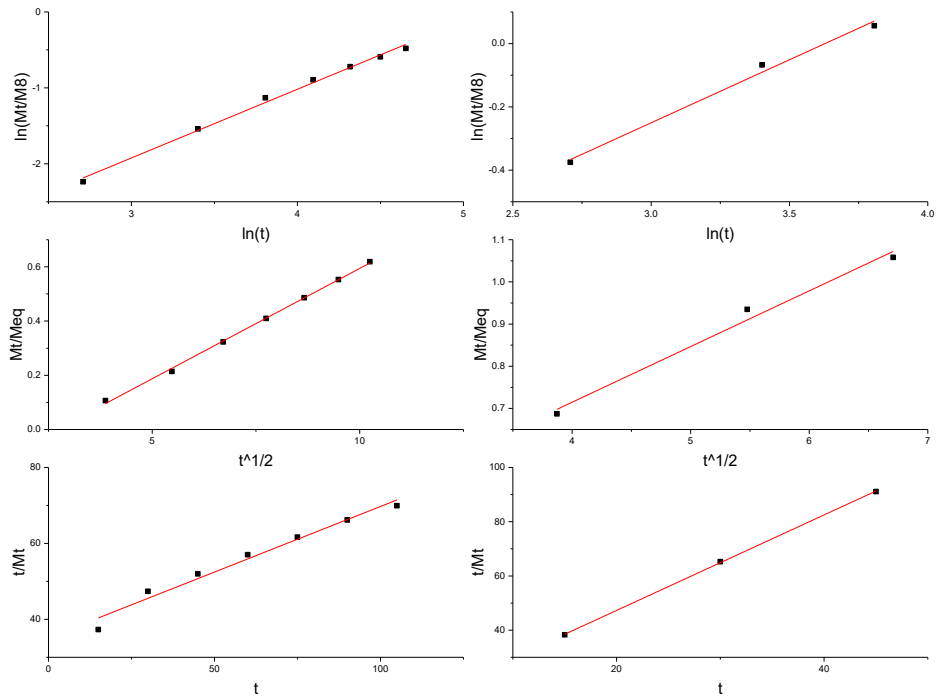


Figura 22. Ajustes de los datos de hinchamiento a modelos cinéticos de orden n , orden $1/2$ y orden 2 para el hidrogel A2P2C3

Tabla 4. Ajuste de los parámetros obtenidos de los datos de hinchamiento para el modelo de orden n

| | k | n | R ² |
|----------|--------------|---------------|----------------|
| pH (7.4) | | | |
| A2P0C0 | 0.035±0.0084 | 0.62±0.05 | 0.9972 |
| A2P1C0 | 0.036±0.033 | 0.55±0.11 | 0.9847 |
| A2P2C0 | 0.015±0.0041 | 0.76±0.068069 | 0.9964 |
| A2P3C0 | 0.017±0.0021 | 0.76±0.005 | 0.9952 |
| A2P0C1 | 0.028±0.0026 | 0.54±0.06 | 0.9936 |
| A2P0C3 | 0.026±0.0049 | 0.64±0.07 | 0.9936 |
| A2P0C5 | 0.026±0.0010 | 0.50±0.01 | 0.9902 |
| A2P2C1 | 0.018±0.0016 | 0.76±0.01 | 0.9989 |
| A2P2C3 | 0.012±0.0030 | 0.84±0.05 | 0.9960 |
| A2P2C5 | 0.019±0.0021 | 0.73±0.01 | 0.9969 |
| pH (1.2) | | | |
| A2P0C0 | 0.81±0.20 | 0.11±0.05 | 0.9888 |
| A2P1C0 | 0.44±0.068 | 0.25±0.01 | 0.9785 |
| A2P2C0 | 0.21±0.040 | 0.42±0.01 | 0.9957 |
| A2P3C0 | 0.16±0.036 | 0.47±0.009 | 0.9983 |
| A2P0C1 | 0.71±0.30 | 0.14±0.06 | 0.9136 |
| A2P0C3 | 1.47±0.10 | 0.010±0.03 | 0.7438 |
| A2P0C5 | 0.82±0.43 | 0.20±0.25 | 0.9800 |
| A2P2C1 | 0.20±0.079 | 0.43±0.01 | 0.9951 |
| A2P2C3 | 0.67±0.68 | 0.75±0.59 | 0.9911 |
| A2P2C5 | 0.16±0.18 | 0.45±0.04 | 0.9913 |

Tabla 5. Ajuste de los parámetros obtenidos de los datos de hinchamiento para el modelo de orden 1/2

| | k | R ² |
|----------|---------------|----------------|
| pH (7.4) | | |
| A2P0C0 | 0.063±0.004 | 0.9916 |
| A2P1C0 | 0.062±0.028 | 0.9799 |
| A2P2C0 | 0.056±0.009 | 0.9784 |
| A2P3C0 | 0.062±0.002 | 0.978 |
| A2P0C1 | 0.034±0.002 | 0.9946 |
| A2P0C3 | 0.056±0.007 | 0.9890 |
| A2P0C5 | 0.029±0.01 | 0.9905 |
| A2P2C1 | 0.064±0.002 | 0.9731 |
| A2P2C3 | 0.064±0.007 | 0.9650 |
| A2P2C5 | 0.061±0.002 | 0.9794 |
| pH (1.2) | | |
| A2P0C0 | 0.2523±0.005 | 0.9510 |
| A2P1C0 | 0.1961±0.001 | 0.9884 |
| A2P2C0 | 0.1635±0.0007 | 0.9995 |
| A2P3C0 | 0.1559±0.002 | 0.9999 |
| A2P0C1 | 0.2584±0.02 | 0.9421 |
| A2P0C3 | 0.2364±0.06 | 0.9563 |
| A2P0C5 | 0.2479±0.01 | 0.6776 |
| A2P2C1 | 0.1689±0.002 | 0.9996 |
| A2P2C3 | 0.1613±0.01 | 0.9993 |
| A2P2C5 | 0.1633±0.008 | 0.9995 |

Tabla 6. Ajuste de los parámetros obtenidos de los datos de hinchamiento para el modelo de orden 2

| | M_{eq} | k | R^2 |
|----------|-------------|----------------|--------|
| pH (7.4) | | | |
| A2P0C0 | 1.63±0.326 | 0.0018±0.0006 | 0.9866 |
| A2P1C0 | 2.53±0.6970 | 0.0050±0.0040 | 0.9344 |
| A2P2C0 | 3.56±0.43 | 0.0050±0.0001 | 0.9798 |
| A2P3C0 | 3.45±0.119 | 0.0070±0.0015 | 0.9857 |
| A2P0C1 | 1.17±0.428 | 0.0004±0.0004 | 0.9739 |
| A2P0C3 | 1.99±0.85 | 0.0020±0.0018 | 0.9867 |
| A2P0C5 | 0.92±0.06 | 0.0001±0.00004 | 0.9870 |
| A2P2C1 | 2.13±0.55 | 0.0047±0.0020 | 0.9357 |
| A2P2C3 | 2.98±0.22 | 0.0030±0.0006 | 0.9764 |
| A2P2C5 | 2.88±0.09 | 0.0050±0.0002 | 0.9771 |
| pH (1.2) | | | |
| A2P0C0 | 0.20±0.001 | 0.9403±0.041 | 0.9996 |
| A2P1C0 | 0.37±0.004 | 1.3838±0.093 | 0.9998 |
| A2P2C0 | 0.52±0.012 | 30.077±6.94 | 0.9994 |
| A2P3C0 | 0.66±0.010 | 0.6998±0.12 | 0.9993 |
| A2P0C1 | 0.19±0.005 | 1.2186±0.16 | 0.9998 |
| A2P0C3 | 0.29±0.176 | 6.4539±9.11 | 0.9997 |
| A2P0C5 | 0.19±0.005 | 1.4782±0.21 | 0.9998 |
| A2P2C1 | 0.50±0.006 | 11.417±5.32 | 0.9994 |
| A2P2C3 | 0.50±0.004 | 11.212±4.17 | 0.9995 |
| A2P2C5 | 0.47±0.026 | 9.4827±13.83 | 0.9995 |

6.3 Microscopía electrónica de barrido

La Figura 23. muestra imágenes por MEB de la sección transversal de los hidrogeles.

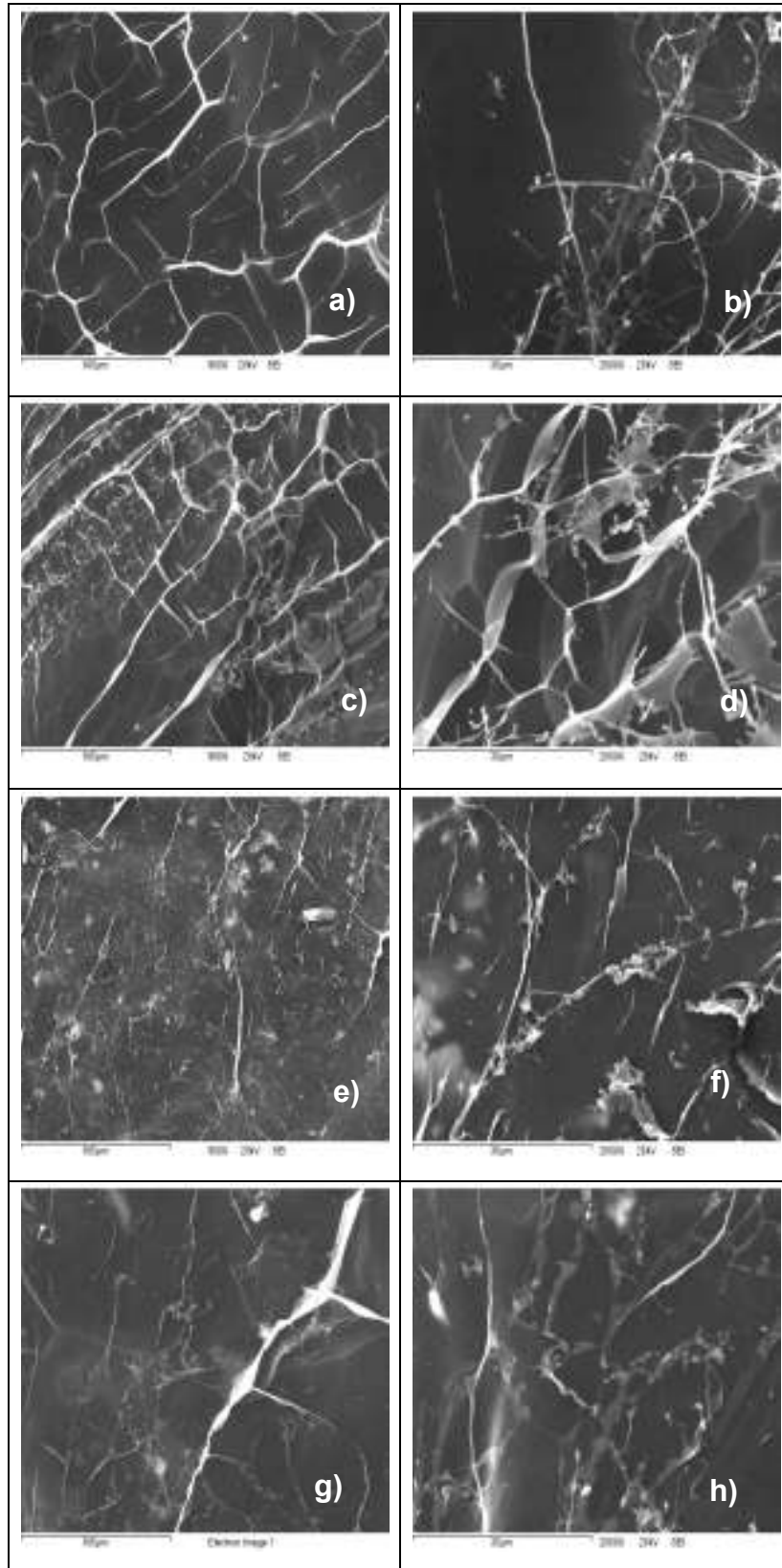
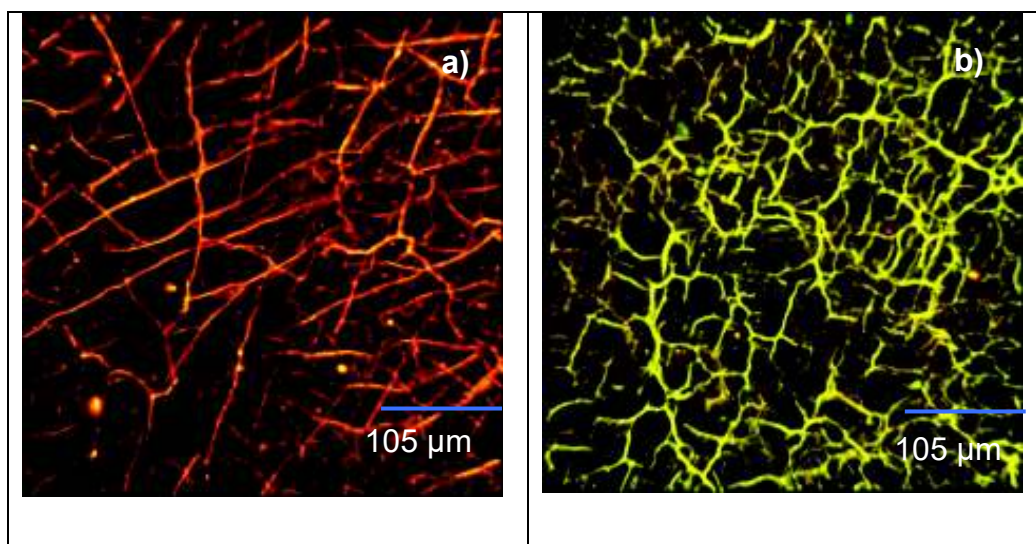


Figura 23. Micrografías MEB de diferentes magnificaciones para diferentes muestras de hidrogeles a) y b) A2P0C0, c) y d) A2P1C0, e) y f) A2P0C5, g) y h) A2P2C5.

Se observa una morfología formada a partir de una red fibrosa con un gran volumen vacío, tal como obtuvieron Schuster E *et al.* [70]. Al añadir polivinilpirrolidona se observa un aumento de densidad en la red figura 6. (c) y d)), se observa también que al añadir NTC las fibras se presentan ligeramente más delgadas y se distinguen aglomeraciones de los nanotubos e)-h).

6.4 Microscopía confocal de barrido

Los resultados obtenidos por MEB se corroboraron mediante MCLB, analizando una profundidad de 50 μm en las muestras. Las imágenes por MCLB de las muestras a) A2P0C0, b) A2P2C0, c) A2P0C5 y d) A2P2C5 se presentan en la Figura 24. Se observa que la estructura fibrosa es más densa en el hidrogel con polivinilpirrolidona incorporada (Figura 7 a y b) En el caso de los hidrogeles con nanotubos de carbono, la imagen perdió contraste debido al oscurecimiento de la muestra; sin embargo, puede observarse la formación de aglomeraciones de NTCPMF de tamaños irregulares dentro de la estructura (Figura 7 c y d).



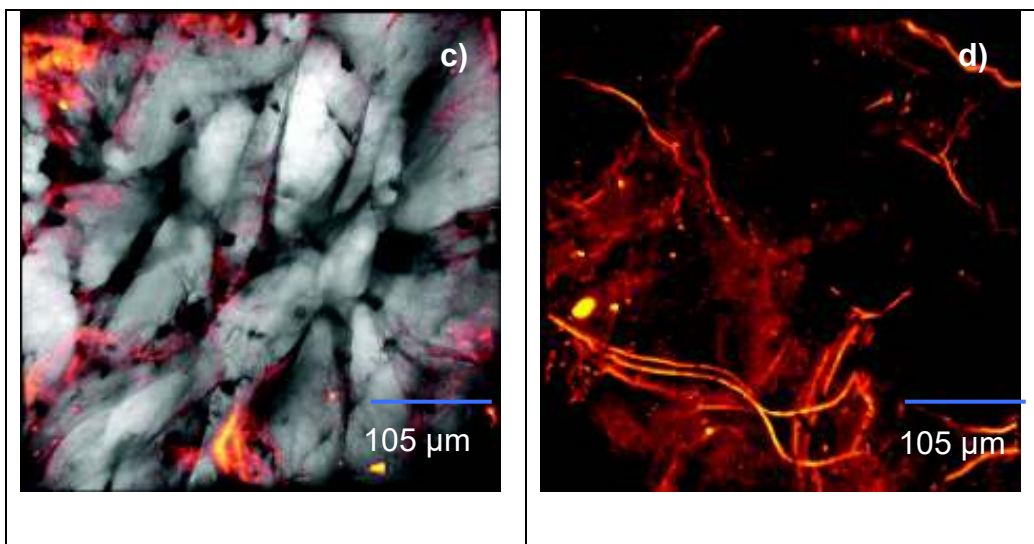


Figura 24. Micrografías confocales de diferentes muestras de hidrogeles a) A2P0C0, b) A2P2C0, c) A2P0C5 y d) A2P2C5

6.5 Análisis termogravimétrico

En la figura 25. se muestra el termograma ATG y DATG del alginato de sodio y de su hidrogel. El alginato de sodio presenta una pérdida inicial de peso debido a la deshidratación de la muestra, existen tres tipos de deshidratación, (40-60 °C) pérdida de agua libre, (80-120 °C) ruptura de puentes de hidrógeno y (hasta 160 °C) pérdida de interacciones polares con los grupos carboxílicos. [71]. Una segunda pérdida, que presenta máximos a 228 °C y 252 °C corresponde a una descomposición carbonácea de dos pasos que resulta en Na_2CO_3 , el cual se descompone en una tercera caída formando un máximo a 773.5 °C.[72]

Generalmente, el entrecruzamiento de un material polimérico aumenta su estabilidad térmica. Se observa que el hidrogel absorbe menor cantidad de agua comparado con la muestra sin entrecruzar. Además, la primera caída de degradación del hidrogel ocurre a 213 °C mientras que la segunda degradación ocurre a 726 °C, en ambos casos a temperaturas menores que el alginato de sodio reactivo. Russo, Malinconico, & Santagata, 2007 explican este comportamiento de disminución de temperaturas de degradación en términos de volumen libre de las cadenas del polímero, ya que el entrecruzamiento al ocurrir en estado hidratado,

una vez seco el hidrogel no pudo restablecer la conformación de cadenas existente antes del entrecruzamiento, dejando segmentos de cadenas más vulnerables a la oxidación [55].

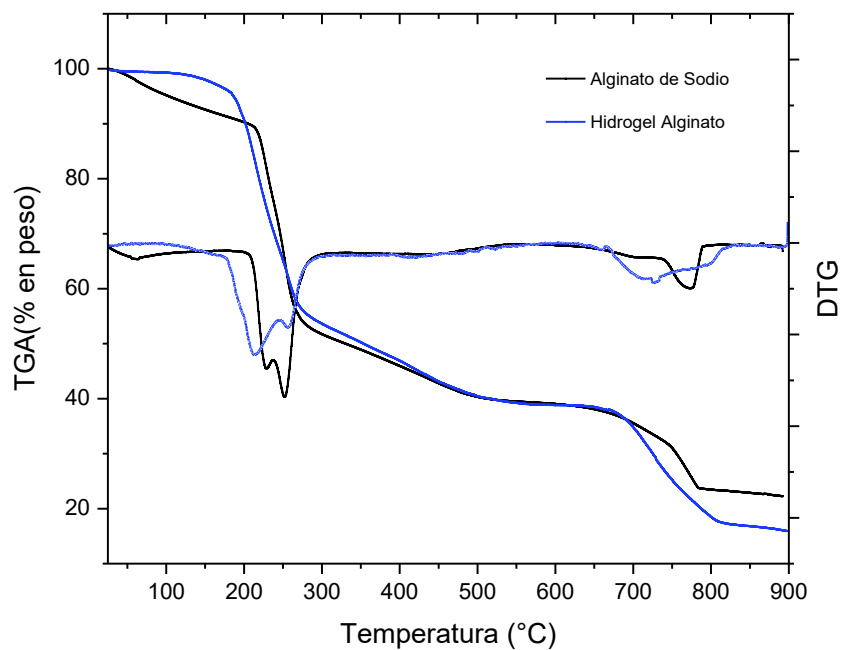


Figura 25. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG para el alginato de sodio y su hidrogel

Las curvas ATG y DATG de degradación de la PVP bajo atmósfera de nitrógeno se muestra en la figura 26. El termograma muestra una pequeña caída con un máximo a 51 °C correspondiente a deshidratación debido a su naturaleza higroscópica, posteriormente presenta una degradación de un solo paso con un máximo a 436 °C y cuyo residuo a 500 °C es 3.4 %. [73]

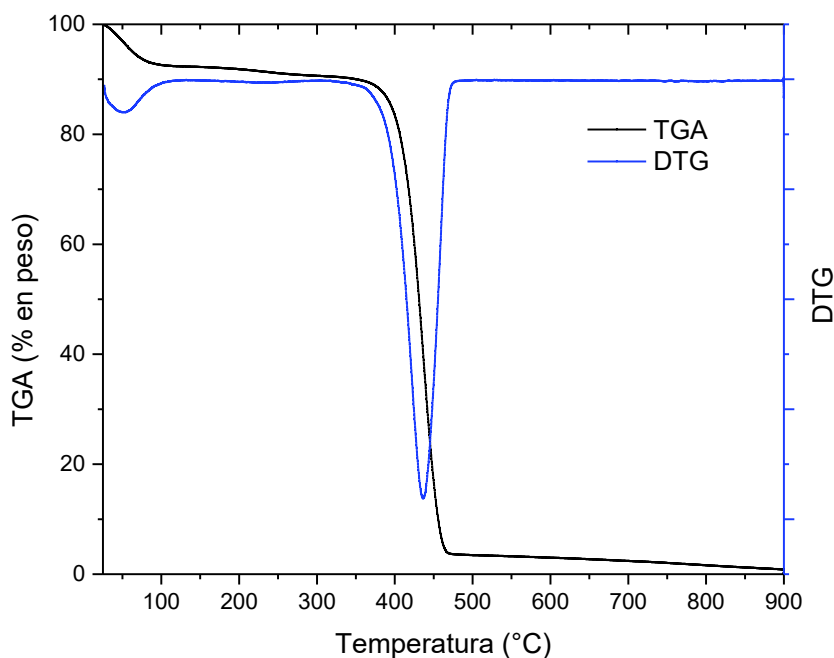


Figura 26. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG de polivinilpirrolidona

La figura 27. muestra los termogramas ATG y DATG de los NTCPMF . El proceso de oxidación crea defectos en la superficie de los nanotubos creando puntos reactivos y haciéndolos menos estables térmicamente [74]. La curva DATG presenta un primer máximo alrededor de 50 °C correspondiente a una pérdida de humedad adsorbida, seguido por un pico a 255 °C correspondiente a la degradación de los grupos carboxílicos (descarboxilación), finalmente a 613 °C ocurre una degradación de carbono amorfo y de impurezas[75], obteniendo a 700 °C un residuo de 3.2 %.

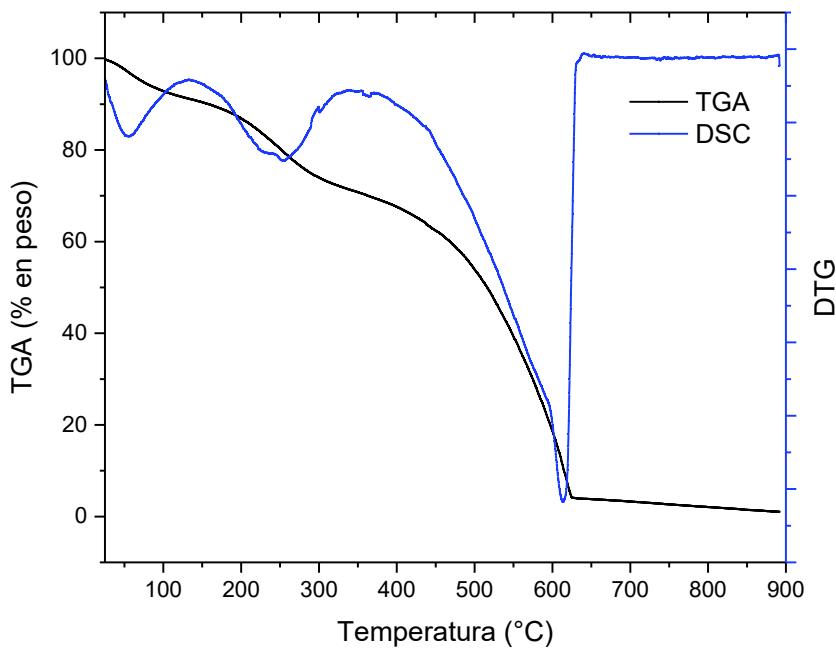


Figura 27. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG para los NTCPMF

En la figura 28. se muestran los termogramas ATG y DATG del carbonato de calcio. Se observa una descomposición de una sola etapa que inicia aproximadamente a 600 °C y termina a 750 °C la cual corresponde a una reacción de calcinación $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO(s)} + \text{CO}_2\text{(g)}$. Debido a que el residuo sólido CaO se produjo en proporciones considerables, se obtuvo un residuo de 54 % a 750 °C[76].

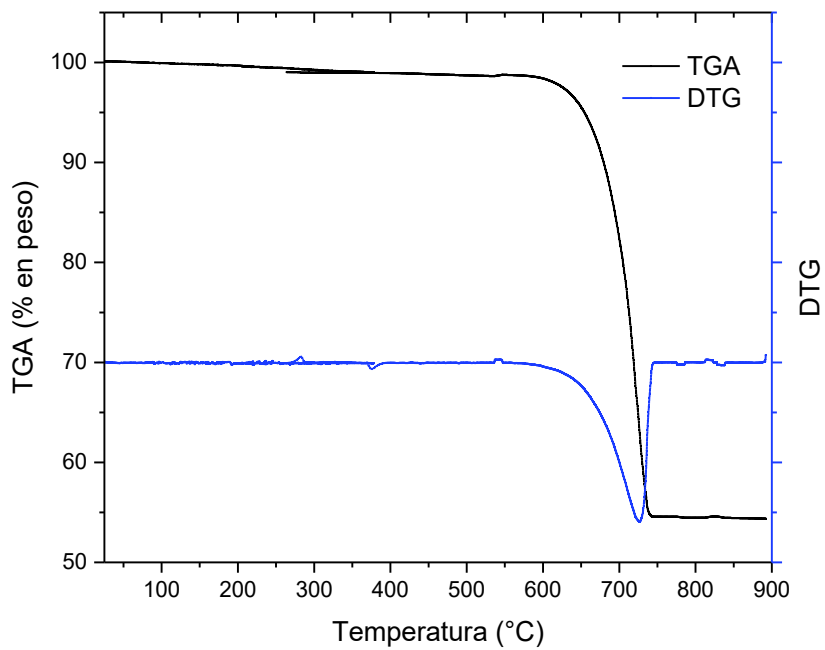


Figura 28. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG de carbonato de calcio

La figura 29. muestra los termogramas ATG y DATG de la D-Glucono- δ -lactona la cual exhibe una degradación de un solo paso que comienza aproximadamente a los 200 °C y una velocidad máxima de degradación a 295 °C.

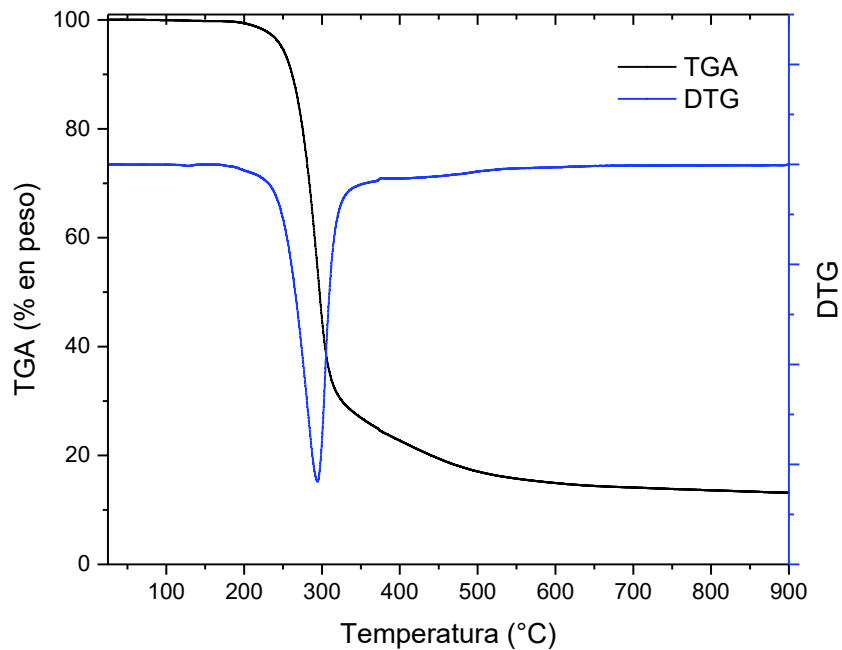


Figura 29. Termograma de análisis termogravimétrico y DATG de D-Glucono- δ -lactona

En la figura 30. a) se muestran los termogramas ATG de los hidrogeles donde se observa el efecto de la incorporación de PVP en diferentes proporciones, en general se observan las mismas caídas del hidrogel de A2P0C0, con la aparición de una nueva caída con el máximo a, 420 °C, 422 °C, 436 °C, respectivamente, correspondientes a la caída de degradación del PVP de un paso. Se observa una mayor presencia de humedad en las muestras conforme aumenta el contenido de PVP (95.96 %, 95.06 %, 94.87 %, 94.00 %, respectivamente, de residuos a 180 °C). Se observa que después de la primera caída de degradación, el residuo restante es mayor conforme aumenta el contenido de PVP, de manera contraria en la segunda degradación el orden se invierte, debido a que es característica del PVP y la degradación será mayor entre más contenido exista de este.

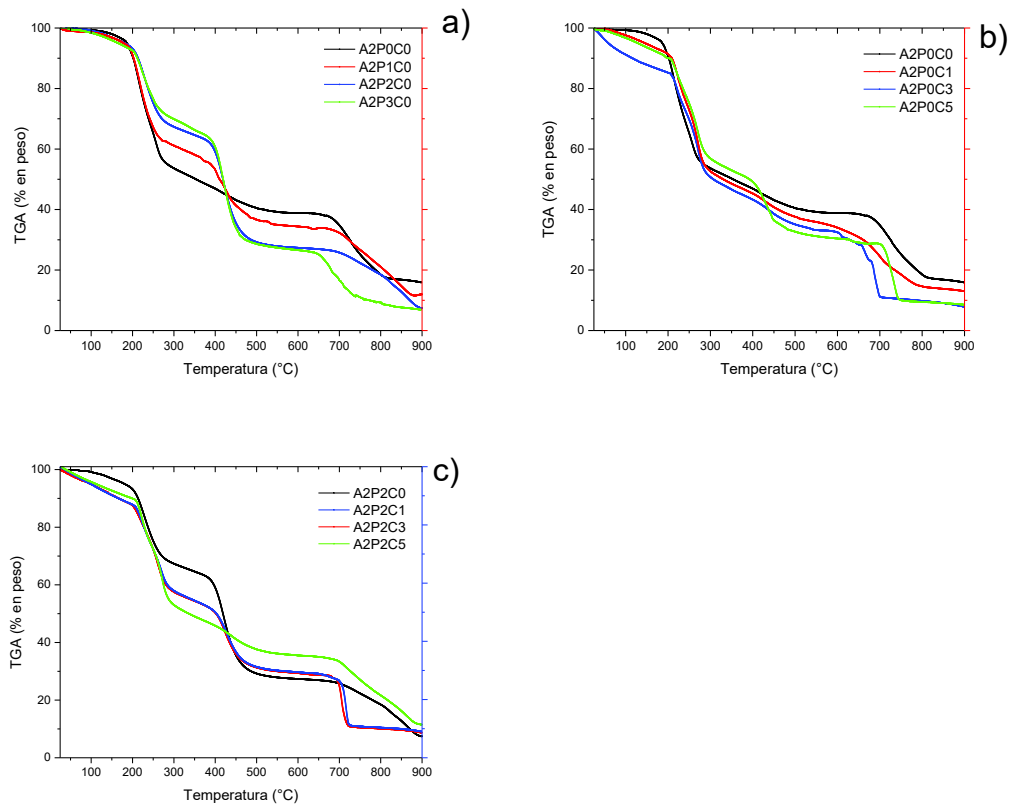


Figura 30. Termogramas de análisis termogravimétrico de los diferentes hidrogeles

6.6 Análisis mecánico

Al evaluar las propiedades mecánicas de los hidrogeles se compararon sus módulos elásticos (figura 31.) en donde se encontró que el añadir la PVP tiene un efecto plastificante, mientras que el añadir NTCPMF aumenta el módulo elástico, por otra parte, no se apreció un cambio significativo al añadir diferentes cantidades de NTCPMF a una matriz con PVP en una proporción constante.

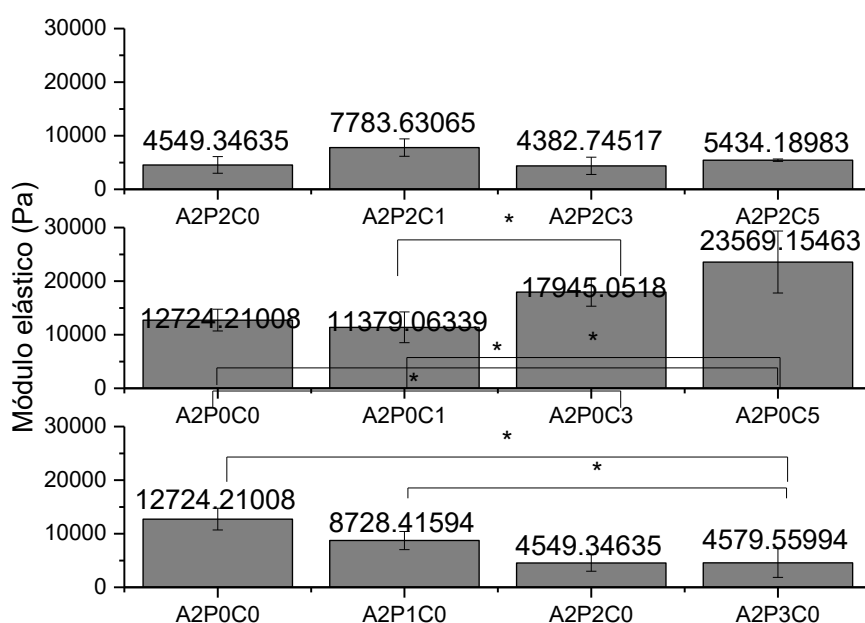


Figura 31. Efecto de añadir polivinilpirrolidona y/o nanotubos de carbono en el módulo elástico de los diferentes hidrogeles

Se observa poca influencia de las diferentes proporciones utilizadas en el grado de deformación en el punto de ruptura de los hidrogeles (figura 32.), se aprecia un ligero aumento al incorporar polivinilpirrolidona, lo cual concuerda con el efecto plastificante. Por otra parte, existe una ligera disminución del grado de deformación al incorporar nanotubos de carbono. En cuanto al máximo esfuerzo soportado (figura 33.), tanto la polivinilpirrolidona como los nanotubos de carbono ejercen un efecto de refuerzo,

aumentando la resistencia mecánica a la compresión al incorporar mayores concentraciones de estos a la matriz de los hidrogeles (figura 18.)

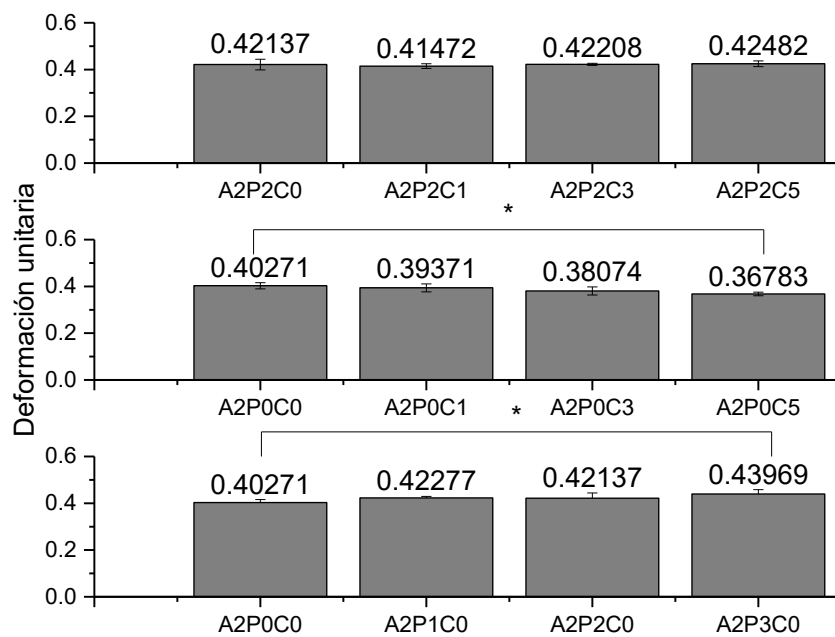


Figura 32. Efecto de añadir polivinilpirrolidona y/o nanotubos de carbono en el grado de deformación a la ruptura para los diferentes hidrogeles

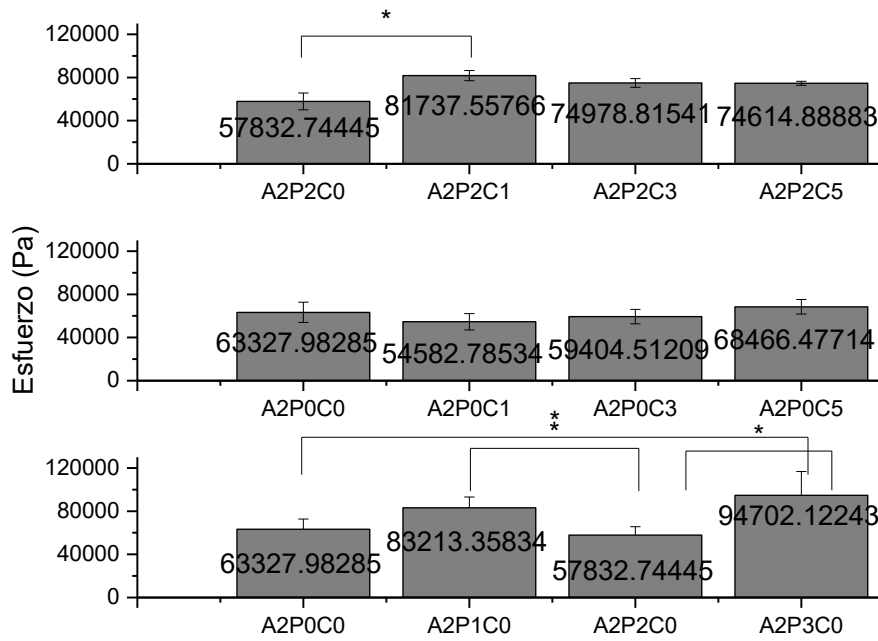


Figura 33. Efecto de añadir polivinilpirrolidona y/o nanotubos de carbono en el esfuerzo máximo soportado por los diferentes hidrogeles

6.7 Análisis reológico

La figura 34. muestra los resultados típicos para las diferentes muestras del análisis reológico en modo barrido de frecuencia a deformación constante de 1% (dentro de un régimen elástico) en un rango de frecuencia de 0.1 a 100 rad/s. De manera general, el módulo de almacenamiento (E') de todos los hidrogeles presenta aumento al aumentar la frecuencia. El módulo de pérdida (E'') se mantuvo prácticamente constante, aunque con una ligera disminución a partir de 10 rad/s para los hidrogeles que contienen PVP, es decir que la energía disipada disminuye a altas frecuencias. En todos los casos el módulo de almacenamiento superó varias veces el módulo de pérdida, lo que indica que la energía almacenada por el hidrogel supera a la energía disipada, comportándose mayormente como un sólido elástico que como un fluido a pesar de su alto contenido de agua.[77]

En el caso de la incorporación de PVP (figura 34. a)), los módulos de almacenamiento tienen comportamientos similares en función de la frecuencia, pero con valores ligeramente mayores comparados a aquellos sin PVP. Se obtuvieron resultados similares al incorporar solamente NTCPMF (figura 34 b)).

Para los hidrogeles compuestos con PVP y NTCPMF (figura 34. c)), la variación del módulo de almacenamiento con respecto a la frecuencia aumenta considerablemente, además de obtener los valores más altos (A2P2C5) en comparación con las demás muestras, esto puede reflejar el efecto combinado de ambos elementos aumentando así su rigidez. Los valores de las magnitudes de estos hidrogeles concuerdan con los observados en estudios similares para hidrogeles compuestos basados en alginato (alrededor de 1KPa)[78, 79].

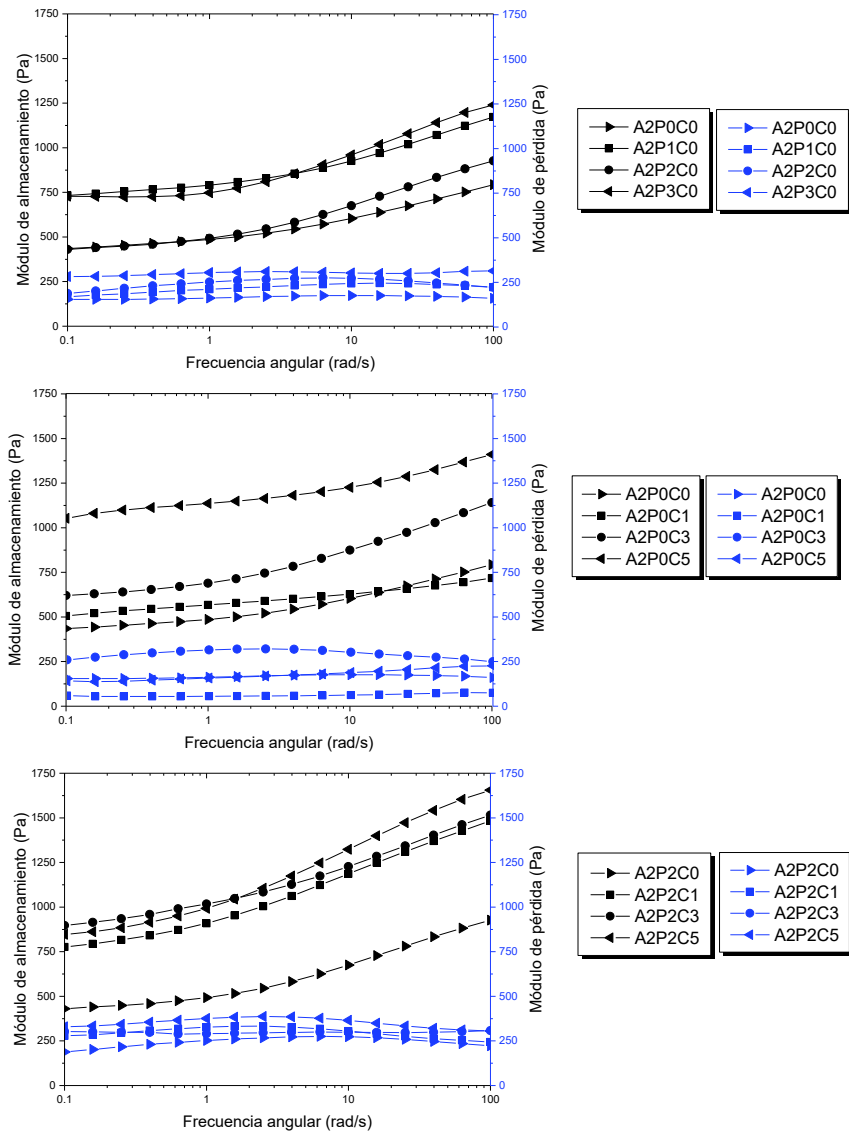


Figura 34. Módulo de almacenamiento y de pérdida de análisis reológico en barrido de frecuencia para los diferentes hidrogeles

El factor de pérdida o $\tan \delta$ (E''/ E') aumenta a frecuencias bajas hasta alcanzar un máximo, después de esta frecuencia $\tan \delta$ disminuye con respecto aumenta la frecuencia para la mayoría de las muestras con excepción de A2P0C1 Y A2P0C5 las cuales se mantienen en valores estables para las frecuencias analizadas y A2P2C3 cuya $\tan \delta$ disminuyó con el

aumento de la frecuencia en el rango analizado. Todos los valores del factor de pérdida son menores a 0.6 lo que indica que el módulo (E') es mayor que (E'') y el decremento de $\tan \delta$ con la frecuencia indica un aumento del módulo de almacenamiento con respecto al de pérdida.

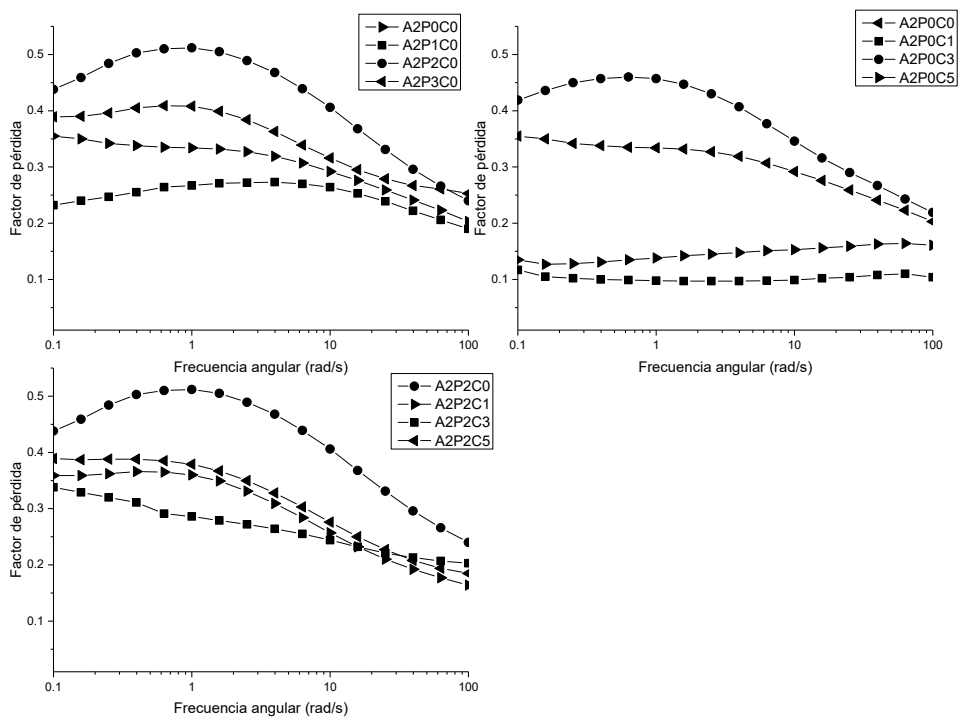


Figura 35. Factor de pérdida de análisis reológico en barrido de frecuencia para los diferentes hidrogeles

7. CONCLUSIONES

- Se prepararon hidrogeles de alginato de sodio, homogéneos y con geometría cilíndrica, mediante la combinación de CaCO_3 como agente entrecruzante y glucono-delta-lactona como regulador de la hidrólisis del carbonato, a los cuales se les incorporó polivinilpirrolidona y/o nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados.
- Los estudios de microscopía reflejaron cambios en la morfología de los hidrogeles en función de su composición, observándose en general una morfología fibrosa y aglomeraciones de NTC.
- Los estudios de hinchamiento evidenciaron que los NTC disminuyen la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles, mientras que la polivinilpirrolidona incrementa la razón de hinchamiento en el equilibrio, siendo más significativo este efecto en los hidrogeles que contienen nanotubos. Lo anterior se fundamenta en la naturaleza de los componentes y la interacción establecida entre los mismos, comprobada por FTIR. Este comportamiento puede ser utilizado para modular la cinética de hinchamiento de los hidrogeles, en función de su uso. Todos los tipos de hidrogeles preparados fueron altamente sensibles al pH, efecto atribuido a la ionización de los grupos carboxílicos del alginato.
- Los estudios reológicos demostraron que el comportamiento elástico de los hidrogeles predomina sobre su comportamiento viscoso.
- La adición de los nanotubos aumenta significativamente el módulo de Young a compresión de los hidrogeles, lo que amplía las posibilidades de uso de los hidrogeles basados en alginato, de acuerdo con su comportamiento mecánico.
- Se confirmó la presencia e interacción de los componentes de los hidrogeles, así como su estabilidad térmica mediante análisis termogravimétrico.

8. PERSPECTIVAS

En futuras investigaciones enfocadas en aplicaciones en ingeniería de tejidos, es recomendable establecer pruebas en condiciones de cultivo celular, tales como propiedades de transporte, proliferación e inmovilización celular y formación de nuevos tejidos, así como estudios antimicrobianos. También es conveniente estudiar su posible aplicación en liberación sostenida de fármacos y establecer modelos de interacción con estos, además de analizar sus posibles propiedades eléctricas y de liberación bajo estímulos.

9. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Augst Alexander D, Kong Hyun J, Mooney David J. Alginate Hydrogels as Biomaterials. *Macromolecular Bioscience*. 2006;6:623-33.
- [2] Hoffman AS. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012;64:18-23.
- [3] Zhu J, Marchant RE. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert review of medical devices*. 2011;8:607-26.
- [4] Wichterle O, LÍM D. Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature*. 1960;185:117.
- [5] Soon-Shiong P, Otterlie M, Skjak-Braek G, Smidsrod O, Heintz R, Lanza RP, et al. An immunologic basis for the fibrotic reaction to implanted microcapsules. *Transplantation Proceedings*. 1991;23:758-9.
- [6] Lee KY, Mooney DJ. Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in polymer science*. 2012;37:106-26.
- [7] Peppas NA, Bures P, Leobandung W, Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2000;50:27-46.
- [8] Bahram M, Mohseni N, Moghtader M. An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications. In: Majee SB, editor. *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*. Rijeka: InTech; 2016. p. Ch. 02.
- [9] Kalia S. *Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials*: Springer International Publishing; 2015.
- [10] Ahmed EM. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*. 2015;6:105-21.
- [11] Akagi Y, Gong JP, Chung U-i, Sakai T. Transition between Phantom and Affine Network Model Observed in Polymer Gels with Controlled Network Structure. *Macromolecules*. 2013;46:1035-40.
- [12] Iizawa T, Taketa H, Maruta M, Ishido T, Gotoh T, Sakohara S. Synthesis of porous poly(N-isopropylacrylamide) gel beads by sedimentation polymerization and their morphology. *Journal of Applied Polymer Science*. 2007;104:842-50.
- [13] Garg S, Garg A. *Hydrogel: Classification, Properties, Preparation and Technical Features* 2016.

- [14] Ajiro H, Takemoto Y, Akashi M. Interpenetrating polymer networks of poly(N-vinylacetamide) and stimuli responsive polymers applied to novel amphiphilic gel. *J Nanosci Nanotechnol.* 2011;11:7047-9.
- [15] Harada A. Supramolecular Hydrogels. In: Kobayashi S, Müllen K, editors. *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2021. p. 1-7.
- [16] Varaprasad K, Raghavendra GM, Jayaramudu T, Yallapu MM, Sadiku R. A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications. *Materials Science and Engineering: C.* 2017;79:958-71.
- [17] Slaughter BV, Khurshid SS, Fisher OZ, Khademhosseini A, Peppas NA. Hydrogels in Regenerative Medicine. *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla).* 2009;21:3307-29.
- [18] Bahram M, Nurallahzadeh N, Mohseni N. pH-sensitive hydrogel for coacervative cloud point extraction and spectrophotometric determination of Cu (II): optimization by central composite design. *Journal of the Iranian Chemical Society.* 2015;12:1781-7.
- [19] M Stephen A. *Food polysaccharides and their applications / edited by Alistair M. Stephen*2018.
- [20] Grant Gregor T, Morris Edwin R, Rees David A, Smith Peter JC, Thom D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters.* 2002;32:195-8.
- [21] Kuo CK, Ma PX. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials.* 2001;22:511-21.
- [22] Yong Lee K, Bouhadir K, J Mooney D. *Controlled Degradation of Hydrogels Using Multi-Functional Cross-Linking Molecules*2004.
- [23] Smeds Kimberly A, Grinstaff Mark W. Photocrosslinkable polysaccharides for in situ hydrogel formation. *Journal of Biomedical Materials Research.* 2000;54:115-21.
- [24] Al-Shamkhani A, Duncan R. Radioiodination of Alginate via Covalently-Bound Tyrosinamide Allows Monitoring of its Fate In Vivo. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers.* 1995;10:4-13.
- [25] Lee KY, Bouhadir KH, Mooney DJ. Degradation Behavior of Covalently Cross-Linked Poly(aldehyde guluronate) Hydrogels. *Macromolecules.* 2000;33:97-101.

- [26] Lansdown AB, Payne MJ. An evaluation of the local reaction and biodegradation of calcium sodium alginate (Kaltostat) following subcutaneous implantation in the rat. *J R Coll Surg Edinb.* 1994;39:284-8.
- [27] Stagnaro P, Schizzi I, Utzeri R, Marsano E, Castellano M. Alginate-polymethacrylate hybrid hydrogels for potential osteochondral tissue regeneration. *Carbohydrate Polymers.* 2018;185:56-62.
- [28] Park H, Lee HJ, An H, Lee KY. Alginate hydrogels modified with low molecular weight hyaluronate for cartilage regeneration. *Carbohydrate Polymers.* 2017;162:100-7.
- [29] Haaf F, Sanner A, Straub F. Polymers of N-Vinylpyrrolidone: Synthesis, Characterization and Uses. *Polymer Journal.* 1985;17:143.
- [30] Teodorescu M, Bercea M. Poly(vinylpyrrolidone) – A Versatile Polymer for Biomedical and Beyond Medical Applications. *Polymer-Plastics Technology and Engineering.* 2015;54:923-43.
- [31] Işıklan N, İnal M, Yiğitoğlu M. Synthesis and characterization of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) grafted sodium alginate hydrogel beads for the controlled release of indomethacin. *Journal of Applied Polymer Science.* 2008;110:481-93.
- [32] Şanlı O, Biçer E, Işıklan N. In vitro release study of diltiazem hydrochloride from poly(vinyl pyrrolidone)/sodium alginate blend microspheres. *Journal of Applied Polymer Science.* 2007;107:1973-80.
- [33] Kalyani S, Smitha B, Sridhar S, Krishnaiah A. Separation of Ethanol–Water Mixtures by Pervaporation Using Sodium Alginate/Poly(vinyl pyrrolidone) Blend Membrane Crosslinked with Phosphoric Acid. *Industrial & Engineering Chemistry Research.* 2006;45:9088-95.
- [34] Singh R, Singh D. Radiation synthesis of PVP/alginate hydrogel containing nanosilver as wound dressing. *J Mater Sci Mater Med.* 2012;23:2649-58.
- [35] Roy N, Saha N. PVP-based hydrogels: Synthesis, properties and applications 2012.
- [36] Cirillo G, Hampel S, Gianfranco Spizzirri U, Ilaria Parisi O, Picci N, Iemma F. Carbon Nanotubes Hybrid Hydrogels in Drug Delivery: A Perspective Review 2014.
- [37] Wepasnick KA, Smith BA, Bitter JL, Howard Fairbrother D. Chemical and structural characterization of carbon nanotube surfaces. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* 2010;396:1003-14.

- [38] Cheng J, Fernando KAS, Veca LM, Sun Y-P, Lamond AI, Lam YW, et al. Reversible Accumulation of PEGylated Single-Walled Carbon Nanotubes in the Mammalian Nucleus. *ACS Nano*. 2008;2:2085-94.
- [39] Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*. 1991;354:56.
- [40] Song F, Li X, Wang Q, Liao L, Zhang C. Nanocomposite Hydrogels and Their Applications in Drug Delivery and Tissue Engineering. *J Biomed Nanotechnol*. 2015;11:40-52.
- [41] Guo J, Zhao KY, Zhang XX, Cai ZJ, Chen M, Chen T, et al. Preparation and characterization of carboxyl multi-walled carbon nanotubes/calcium alginate composite hydrogel nano-filtration membrane. *Materials Letters*. 2015;157:112-5.
- [42] Joddar B, Garcia E, Casas A, Stewart CM. Development of functionalized multi-walled carbon-nanotube-based alginate hydrogels for enabling biomimetic technologies. *Scientific Reports*. 2016;6:12.
- [43] Masaro L, Zhu XX. Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids. *Progress in Polymer Science*. 1999;24:731-75.
- [44] Brazel CS, Peppas NA. Modeling of drug release from Swellable polymers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2000;49:47-58.
- [45] Gierszewska M, Ostrowska-Czubenko J. Mechanism of water diffusion into noncrosslinked and ionically crosslinked chitosan membranes 2012.
- [46] Barati A, Norouzi H, Sharafoddinzadeh S, Davarnejad R. Swelling kinetics modeling of cationic methacrylamide-based hydrogels 2010.
- [47] Serrano-Aroca Á, Iskandar L, Deb S. Green synthetic routes to alginate-graphene oxide composite hydrogels with enhanced physical properties for bioengineering applications. *European Polymer Journal*. 2018;103:198-206.
- [48] Davidovich-Pinhas M, Bianco-Peled H. A quantitative analysis of alginate swelling. *Carbohydrate Polymers*. 2010;79:1020-7.
- [49] Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS, Vyvyan JA. *Introduction to Spectroscopy*: Cengage Learning; 2008.
- [50] Faraldos M, Goberna C. *Técnicas de análisis y caracterización de materiales* 2003.
- [51] Paddock SW. Principles and practices of laser scanning confocal microscopy. *Molecular Biotechnology*. 2000;16:127-49.

- [52] F. Levchik G, Si K, Levchik S, Camino G, Wilkie C. Correlation between cross-linking and thermal stability: Cross-linked polystyrenes and polymethacrylates 1999.
- [53] Dash R, Foston M, Ragauskas AJ. Improving the mechanical and thermal properties of gelatin hydrogels cross-linked by cellulose nanowhiskers. *Carbohydrate Polymers*. 2013;91:638-45.
- [54] Pieróg M, Ostrowska-Czubenko J, Gierszewska M. Thermal degradation of double crosslinked hydrogel chitosan membranes 2012.
- [55] Russo R, Malinconico M, Santagata G. Effect of Cross-Linking with Calcium Ions on the Physical Properties of Alginate Films. *Biomacromolecules*. 2007;8:3193-7.
- [56] Hatakeyama T, Hatakeyama H. *Thermal Properties of Green Polymers and Biocomposites*: Springer Netherlands; 2006.
- [57] Askeland DR, Fulay PP, Wright WJ. *Ciencia e ingeniería de materiales*, sexta edición. México D.F: Cengage Learning; 2012.
- [58] Mezger TG. *The Rheology Handbook: For Users of Rotational and Oscillatory Rheometers*: Vincentz Network; 2006.
- [59] Daniel Puentes-Camacho and Enrique FVaDER-FaMC-OaRRS-MaTdC-C. Functionalization of multiwalled carbon nanotubes by microwave irradiation for lysozyme attachment: comparison of covalent and adsorption methods by kinetics of thermal inactivation. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 2017;8:045011.
- [60] Rajesh R, Dominic Ravichandran Y. Development of a new carbon nanotube–alginate–hydroxyapatite tricomponent composite scaffold for application in bone tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*. 2015;10:7-15.
- [61] Mondal D, Mollick MMR, Bhowmick B, Maity D, Bain MK, Rana D, et al. Effect of poly(vinyl pyrrolidone) on the morphology and physical properties of poly(vinyl alcohol)/sodium montmorillonite nanocomposite films. *Progress in Natural Science: Materials International*. 2013;23:579-87.
- [62] Daemi H, Barikani M. Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. *Scientia Iranica*. 2012;19:2023-8.

- [63] Voo W-P, Lee B-B, Idris A, Islam A, Tey B-T, Chan E-S. Production of ultra-high concentration calcium alginate beads with prolonged dissolution profile. *RSC Advances*. 2015;5:36687-95.
- [64] Nayak AK, Khatua S, Hasnain MS, Sen KK. Development of diclofenac sodium-loaded alginate-PVP K 30 microbeads using central composite design. *DARU : Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*. 2011;19:356-66.
- [65] Yiğitoğlu M, Aydın G, Işıklan N. Microwave-assisted synthesis of alginate-g-polyvinylpyrrolidone copolymer and its application in controlled drug release. *Polymer Bulletin*. 2014;71:385-414.
- [66] Wang WB, Wang AQ. Synthesis and swelling properties of pH-sensitive semi-IPN superabsorbent hydrogels based on sodium alginate-g-poly(sodium acrylate) and polyvinylpyrrolidone. *Carbohydrate Polymers*. 2010;80:1028-36.
- [67] Fan J, Shi Z, Lian M, Li H, Yin J. Mechanically strong graphene oxide/sodium alginate/polyacrylamide nanocomposite hydrogel with improved dye adsorption capacity. *Journal of Materials Chemistry A*. 2013;1:7433-43.
- [68] Yan LY, Chen H, Li P, Kim D-H, Chan-Park MB. Finely Dispersed Single-Walled Carbon Nanotubes for Polysaccharide Hydrogels. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2012;4:4610-5.
- [69] Pasparakis G, Bouropoulos N. Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate–chitosan beads. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;323:34-42.
- [70] Schuster E, Eckardt J, Hermansson AM, Larsson A, Loren N, Altskar A, et al. Microstructural, mechanical and mass transport properties of isotropic and capillary alginate gels. *Soft Matter*. 2014;10:357-66.
- [71] Lencina MMS, Andreucetti NA, Gómez CG, Villar MA. Recent Studies on Alginates Based Blends, Composites, and Nanocomposites. In: Thomas S, Visakh PM, Mathew AP, editors. *Advances in Natural Polymers: Composites and Nanocomposites*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 193-254.
- [72] Soares JP, Santos JE, Chierice GO, Cavalheiro ETG. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. *Eclética Química*. 2004;29:57-64.

- [73] Peniche C, Zaldívar D, Pazos M, Páz S, Bulay A, Román Julio S. Study of the thermal degradation of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) by thermogravimetry–FTIR. *Journal of Applied Polymer Science*. 2003;50:485-93.
- [74] Silva WM, Ribeiro H, Seara LM, Calado HDR, Ferlauto AS, Paniago RM, et al. Surface properties of oxidized and aminated multi-walled carbon nanotubes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2012;23:1078-86.
- [75] Ahmad Zawawi N, Abdul Majid Z, Aini N, Rashid A, Bahru J. Effect of acid oxidation methods on multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) for drug delivery application 2016.
- [76] Frost RL, Hales MC, Martens WN. Thermogravimetric analysis of selected group (II) carbonate minerals — Implication for the geosequestration of greenhouse gases. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2008;95:999.
- [77] Baniyadi M, Minary-Jolandan M. Alginate-Collagen Fibril Composite Hydrogel. *Materials*. 2015;8.
- [78] Yan J, Miao Y, Tan H, Zhou T, Ling Z, Chen Y, et al. Injectable alginate/hydroxyapatite gel scaffold combined with gelatin microspheres for drug delivery and bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*. 2016;63:274-84.
- [79] Draget KI, Skjåk Bræk G, Smidsrød O. Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight. *Carbohydrate Polymers*. 1994;25:31-8.

ANEXOS

2017 Presentación de cartel “PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES COMPUESTOS POR NANOTUBOS DE CARBONO (CNT), POLIVINILPIRROLIDONA (PVP) Y ALGINATO” en el XII Coloquio Bienal en Ciencia de Materiales, Manuel Gutiérrez Porchas, Teresa del Castillo Castro, Daniel Puentes Camacho. Hermosillo Sonora, México.

2017 Presentación de cartel “PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF NANOCOMPOSITE HYDROGELS BASED ON ALGINATE, POLYVINYLPIRROLIDONE AND CARBON NANOTUBES” Manuel Gutiérrez Porchas, Teresa del Castillo Castro, Daniel Puentes Camacho.

- Congreso Polymat 2017, Huatulco, Oaxaca, México
- XV Semana Cultural de Ingeniería, en el departamento de Ingeniería Química y Metalúrgica del 13-17 de noviembre del 2017.
- XII Reunión Universitaria de Investigación en Materiales, en Hermosillo, Sonora, México del 22 al 24 de noviembre del 2017.