

Universidad Nacional de Mar del Plata
Facultad de Ingeniería

**DESARROLLO Y
CARACTERIZACIÓN MECÁNICA
DE HIDROGELES BIOMÉDICOS
BASADOS EN ALMIDÓN Y
POLI(VINIL ALCOHOL)**

Proyecto final de Ingeniería en Materiales
presentado por Marianela Ruffa

Directora: Dra. Laura A. Fasce

Co-Director: Dr. Pablo C. Caracciolo

Mar del Plata, Agosto de 2015



RINFI se desarrolla en forma conjunta entre el INTEMA y la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Tiene como objetivo recopilar, organizar, gestionar, difundir y preservar documentos digitales en Ingeniería, Ciencia y Tecnología de Materiales y Ciencias Afines.

A través del Acceso Abierto, se pretende aumentar la visibilidad y el impacto de los resultados de la investigación, asumiendo las políticas y cumpliendo con los protocolos y estándares internacionales para la interoperabilidad entre repositorios



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

ÍNDICE

Resumen.....	4
Capítulo 1. Introducción y objetivos	6
1.1. Introducción	6
1.1.1. Los biomateriales y la ingeniería de tejidos	6
1.1.2. Hidrogeles	7
1.1.2.1. Hidrogeles formulados con polímeros naturales: Almidón de papa	8
1.1.2.2. Hidrogeles formulados con polímeros sintéticos: Poli(vinil alcohol)	10
1.2 Hipótesis de trabajo y objetivos	11
Capítulo 2. Materiales y métodos	13
2.1. Materiales	13
2.2. Obtención de hidrogeles	13
2.2.1. Técnicas fisicoquímicas	15
2.2.1.1. SEM.....	16
2.2.1.2. FTIR.....	16
2.2.1.3. Hinchamiento.....	16
2.2.2. Ensayos mecánicos.....	17
2.2.2.1. Ensayos de Reometría Oscilatoria.....	17
2.2.2.2. Ensayos de macroindentación.....	18
2.2.2.3. Ensayos de compresión uniaxial.....	19
2.3. Modelado constitutivo.....	20
Capítulo 3. Resultados y Discusión.....	22
3.1. Obtención de los hidrogeles.....	22
3.2. Caracterización fisicoquímica	26
3.2.1. Análisis de la ultraestructura de los hidrogeles.....	26
3.2.2. Análisis de la estructura química	29
3.2.3. Grado de Hinchamiento	31
3.2.3.1. Cinética de hinchamiento de los hidrogeles.....	33
3.3. Caracterización mecánica de los hidrogeles	35
3.3.1. Comportamiento reológico a bajas deformaciones	35
3.3.1.1. Análisis del módulo de almacenamiento en función de la temperatura para los distintos hidrogeles	40
3.3.2. Respuesta a la macroindentación	41

3.3.3.	Comportamiento tensión – deformación en compresión uniaxial	46
3.3.3.1.	Hidrogeles de almidón	46
3.3.3.2.	Hidrogeles de PVA	48
3.3.3.3.	Hidrogeles de almidón-PVA con entrecruzamiento físico	50
3.3.3.4.	Hidrogeles de almidón-PVA con entrecruzamiento químico.....	51
3.3.3.5.	Comparación del comportamiento tensión-deformación y modelado constitutivo.....	52
Capítulo 4.	Conclusiones y aplicaciones potenciales de los hidrogeles formulados	59
4.1.	Conclusiones generales.....	59
4.2.	Aplicaciones potenciales	61
Referencias.....		65

Agradecimientos

Quiero agradecer a todas aquellas personas que, de una forma u otra, me han ayudado tanto en este trabajo como en el total de mi formación profesional y personal:

- A mi Directora y mi Co-Director, Dra. Laura A. Fasce y Dr. Pablo C. Caracciolo, por el apoyo, la confianza, la colaboración y el interés que mostraron durante todo el proyecto.
- A Marina Czerner, Viviana Cyras, Ulises Casado, Fabricio Pietrani, Lucas Sanchez Fellay, y Oscar Casemayor, por su gran ayuda en la parte experimental de este trabajo.
- A Pablo R. Cortez Tornello, Florencia Montini Ballarin, Guadalupe Rivero, Gustavo A. Abraham, Vanesa Muñoz, y Agustina Aldana, por sus aportes, ideas, interés y predisposición a lo largo de todo el proyecto.
- A la Dra. Candela Armijo Fernández, por su aporte de conocimiento y bibliografía para este trabajo.
- A mis compañeros y amigos que me llevo de la Facultad, por haber compartido conmigo esta excelente experiencia de ser universitario.
- A mi familia, porque sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

Resumen

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales e hidrofílicas, capaces de retener grandes cantidades de agua o fluidos biológicos en su espacio intersticial. Estos materiales se asemejan a muchos tejidos vivos debido a su baja rigidez ($E \sim \text{kPa}$) y comportamiento hiperelástico. Por ello, se han convertido en materiales de gran interés en biomedicina, tanto para la regeneración de tejidos como para la liberación controlada de fármacos.

En este proyecto se desarrollan y caracterizan cuatro hidrogeles en base a almidón comercial y poli(vinil Alcohol) (PVA) con potenciales aplicaciones biomédicas. Se preparan hidrogeles físicos de los polímeros puros y de la mezcla almidón-PVA en relación 1:1 en masa, por el proceso de congelamiento-descongelamiento. Además, se prepara un hidrogel mezcla almidón-PVA (1:1) entrecruzado químicamente empleando glutaraldehído como agente de entrecruzamiento modelo. Todos los hidrogeles preparados poseen la misma concentración total de polímero (20% p/v).

Una vez puesto a punto el método de preparación que conduce a la obtención de materiales reproducibles, se lleva a cabo la caracterización físico-química, la evaluación del comportamiento mecánico y la comparación del desempeño de los cuatro tipos de hidrogeles. Para ello, se emplean técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM) y de espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), ensayos de hinchamiento, y ensayos mecánicos de reometría oscilatorios a baja deformación, ciclos de carga y descarga de macroindentación, y compresión uniaxial.

Los hidrogeles preparados presentan ultraestructuras porosas diferentes, dependientes de la composición, el procesamiento y el tipo de entrecruzamiento. Los hidrogeles de almidón muestran una mayor capacidad de absorber agua que los de PVA procesados en las mismas condiciones. El grado de hinchamiento de equilibrio y la cinética de hinchamiento resultan marcadamente diferentes entre los hidrogeles de las mezclas entrecruzadas física y químicamente. El alto grado de hinchamiento así como la elevada velocidad a la que se alcanza el equilibrio en los hidrogeles químicos sugieren que poseen una estructura de poros interconectada.

Según los ensayos de reometría oscilatoria a bajas deformaciones, los hidrogeles de almidón resultan los más rígidos y los de PVA los de menor rigidez, exhibiendo las mezclas un comportamiento intermedio. En macroindentación, los hidrogeles de almidón puro y los de la mezcla física presentan histéresis entre las curvas carga-desplazamiento, registradas en los distintos ciclos. Por otra parte, los hidrogeles de PVA y de la mezcla con entrecruzamiento químico muestran un comportamiento reversible, lineal y no-lineal, respectivamente. Estos comportamientos pueden describirse adecuadamente con el modelo Neo-Hookeano (PVA) y de Ogden de primer orden (mezcla entrecruzada químicamente). En compresión uniaxial, los hidrogeles que contienen almidón y puntos de entrecruzamiento físico se comportan de manera poroviscoelástica. Debido a los fenómenos de retrogradación y sinéresis que sufre el almidón en los ciclos de congelamiento-descongelamiento, estos geles contienen una gran cantidad de agua libre, que es capaz de fluir a través de los poros. Este fenómeno es visible desde bajos niveles de tensión. Los hidrogeles de PVA con entrecruzamiento físico y los de las mezclas entrecruzados con glutaraldehído muestran un comportamiento hiperelástico con endurecimiento por deformación más allá de lo predicho por el modelo Neo-Hookeano. El endurecimiento por deformación en los hidrogeles entrecruzados químicamente se manifiesta a menores deformaciones que el hidrogel de PVA.

El intervalo de módulo (rigidez) de los hidrogeles preparados, así como el comportamiento mecánico poroviscoelástico que presentan, hacen de estos materiales, candidatos potenciales para el reemplazo total o parcial del núcleo pulposo, tejido que forma parte de los discos intervertebrales.

Capítulo 1. Introducción y objetivos

1.1. Introducción

1.1.1. Los biomateriales y la ingeniería de tejidos

Con el paso de los años, el concepto de biomaterial ha ido evolucionando hasta llegar a la definición que propuso David F. Williams, 2009. Un biomaterial se considera una sustancia diseñada para tomar una forma en la que, sola o como parte de un sistema complejo, se emplea para dirigir, mediante el control de las interacciones con los componentes de sistemas vivos, el curso de un procedimiento terapéutico o de diagnóstico, en medicina humana o veterinaria. Asimismo, existen materiales que, sin haber sido específicamente diseñados como biomateriales, son considerados como tales debido a que presentan propiedades que los hacen aptos para aplicaciones biomédicas.

Anualmente se realizan millones de procedimientos quirúrgicos para reparar o reemplazar tejidos u órganos dañados o gravemente afectados que requieren el uso de sustitutos. El crecimiento de la esperanza de vida se ha convertido en un factor importante en esta ampliación de la demanda de biomateriales (G.A. Abraham y col., 2007).

La ingeniería de tejidos surgió cerca de los años noventa, con el fin de encontrar una solución a las limitaciones de las terapias tradicionales, principalmente el empleo de implantes biológicos (autoinjerto, aloinjerto o transplante, y xenoinjerto). La aplicación clásica de esta aproximación consiste en el empleo de células y/o proteínas, como factores de crecimiento, en un biomaterial poroso y biocompatible que actúa como matriz extracelular. Para estimular la reparación del tejido se agregan factores biológicos. Lejos de ser componentes pasivos, las matrices juegan un papel muy importante, ya que preservan el volumen del tejido, proveen funciones mecánicas similares a las del tejido reemplazado, y funcionan como transportadoras de diversas sustancias biológicas. El éxito en el desempeño de este tipo de matrices recae en el balance entre las funciones mecánicas del tejido que intenta regenerar o sustituir, y la capacidad de transporte de nutrientes, desechos y productos de degradación (S. J. Hollister, 2005).

El rol principal de los biomateriales (matrices, sustratos, andamiajes o *scaffolds*) en ingeniería de tejidos consiste en replicar las funciones biológicas y mecánicas de la matriz extracelular nativa encontrada en el organismo humano, sirviendo como matriz extracelular artificial. En esta aplicación los biomateriales cumplen una serie de funciones importantes: i) proporcionan un espacio tridimensional y una superficie adecuada para la adhesión, proliferación, migración y diferenciación celular, funciones celulares que permiten estructurar espacialmente poblaciones de células de tejidos concretos; ii) favorecen la liberación de factores bioactivos en los lugares deseados; iii) proporcionan un soporte mecánico temporario contra las fuerzas a las que está sometido *in vivo*, manteniendo la integridad de la estructura tridimensional predefinida durante el desarrollo del tejido y degradando sin impedir el crecimiento del tejido.

En ingeniería de tejidos, la primera y crucial decisión que debe tomarse es la elección de un material apropiado. Dado que la biocompatibilidad es un requisito esencial, el material no debe provocar potencialmente ninguna respuesta biológica indeseada en células o tejidos y debe poseer una calidad química superficial que promueva la fijación y función celular. Asimismo, los productos de degradación no deben ser tóxicos y deben eliminarse del organismo en sincronización con la regeneración del tejido. Entre los materiales que reúnen estas características básicas y que pueden emplearse potencialmente en ingeniería de tejidos se incluyen polímeros naturales, sintéticos o semisintéticos, algunos cerámicos y materiales compuestos polímero/cerámico. La necesidad de biodegradabilidad y naturaleza frágil excluye el uso de metales y la mayoría de los cerámicos, que además poseen una procesabilidad muy limitada para este tipo de aplicaciones (P.C. Caracciolo y col., 2013).

1.1.2. Hidrogeles

La ingeniería de tejidos requiere de diversos tipos de biomateriales, dependiendo de las características del tejido a regenerar.

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales e hidrofílicas, capaces de retener grandes cantidades de agua o fluidos biológicos en su espacio intersticial (R. Zargar y col., 2014). Estos materiales se caracterizan por su

consistencia suave y elástica, asemejándose a los tejidos vivos (L.M. Zhang y col., 2005), por lo que son de gran utilidad en ingeniería de tejidos, en especial para el reemplazo de cartílagos articulares. Los hidrogeles pueden presentar un comportamiento mecánico muy similar al de este tipo de tejidos por la capacidad de difusión del fluido a través de la matriz porosa en presencia de gradientes de presión. Este comportamiento se conoce como poroviscoelasticidad (S. Kalyanam y col., 2009; A.E. Forte y col., 2015). Además, muchos otros tejidos biológicos se comportan como sólidos hiperelásticos, es decir, soportan grandes deformaciones de manera reversible (J. Sparrey y T.M. Keaveny, 2011; K. Comley y N. Fleck, 2012). Los hidrogeles también pueden presentar esta característica mecánica, análoga a la de los elastómeros.

Dentro de la familia de los hidrogeles, se pueden distinguir los llamados “geles físicos”, los cuales poseen una estructura entrecruzada físicamente y por ello son reversibles. En estos geles, el entrecruzamiento se produce por fuerzas secundarias tales como puentes de hidrógeno. La disposición espacial de las cadenas no es uniforme en este tipo de hidrogeles, lo cual conduce a heterogeneidades y a la presencia de defectos, que afectan el comportamiento mecánico.

A su vez, también existen hidrogeles que poseen moléculas entrecruzadas químicamente. Este tipo de hidrogeles son irreversibles y se los llama “geles químicos”. Las moléculas que conforman la red polimérica de este tipo de hidrogeles están enlazadas covalentemente (A.S. Hoffman, 2001).

Existe una gran variedad de materiales sintéticos y naturales que pueden emplearse para obtener hidrogeles potencialmente aplicables en ingeniería de tejidos. Entre ellos, en este proyecto se eligió trabajar con el almidón y el poli(vinil alcohol) (PVA) como materiales de partida para la preparación de hidrogeles biomédicos.

1.1.2.1. Hidrogeles formulados con polímeros naturales: Almidón de papa

Los hidrogeles obtenidos a partir de polímeros derivados de la naturaleza se han usado con frecuencia en ingeniería de tejidos, debido a que forman parte de matrices extracelulares, o bien, presentan propiedades macromoleculares similares a ellas (J. L. Drury y D. J. Mooney, 2003).

El almidón es un polisacárido biodegradable de muy bajo costo, presente en los alimentos de origen vegetal. Se encuentra en forma de partículas discretas, cuyo tamaño, forma, morfología y composición dependen de su origen botánico. Estos gránulos poseen un diámetro de entre 0,5µm y 175µm, y pueden tener formas regulares (esféricas, ovoidales, prismáticas) o irregulares. En el caso del almidón de papa, se ven principalmente gránulos ovoidales.

Este polímero natural está compuesto básicamente por dos tipos diferentes de homopolímeros de glucosa: la amilosa y la amilopectina. En la **Figura 1** se muestra la estructura química de estos dos polímeros. La amilosa se considera un polímero lineal, con unidades de glucosa unidas por enlaces de tipo α -1,4. Por su parte, la amilopectina es un polímero ramificado, y posee uno de los pesos moleculares más elevados entre los polímeros naturales conocidos. Este polímero presenta enlaces α -1,4 y ramificaciones debidas a la presencia de enlaces α -1,6. Generalmente, la mezcla de estos dos homopolímeros ronda entre un 20-30% de amilosa y un 70-80% de amilopectina, relación que puede variar dependiendo del origen del almidón (E. Bertoft y A. Blennow, 2009; A. Imberty y col., 1991; A. Abd Karim y col., 2000; J. W. Donovan, 1979).

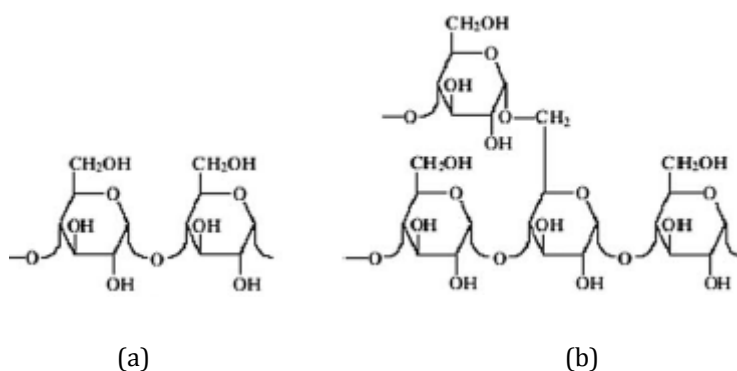


Figura 1. Estructura química de la amilosa **(a)** y la amilopectina **(b)**.

Los polisacáridos como el almidón se emplean para la producción de hidrogeles debido a ventajas tales como no-toxicidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad y abundancia en la naturaleza (K. Pal y col., 2008).

La preparación de redes entrecruzadas a partir de almidón requiere la disrupción de su estructura mediante un proceso denominado gelatinización. Cuando los gránulos se encuentran en presencia de agua y se someten

simultáneamente a mezclado mecánico y calor, se hinchan, aumentando varias veces su tamaño (J. Lelievre, 1976). Cuando la temperatura llega a un valor crítico, usualmente entre 70 y 82°C, el hinchamiento es máximo y los gránulos comienzan a romperse, liberando la amilosa y la amilopectina que poseen en su interior (J. Lelievre, 1973). De esta forma, se obtiene el almidón gelatinizado. Al retornar a temperatura ambiente, ocurre un proceso que se denomina retrogradación, donde las moléculas se reordenan y forman una estructura de gel (A.M. Hermansson y K. Svegmark, 1996). Los hidrogeles de almidón tienen como particularidad que el proceso de rotura de los gránulos es irreversible, y por lo tanto, no cumplen con el concepto de reversibilidad que caracteriza a los hidrogeles de tipo físico (C.G. Biliaderis y B.O. Juliano, 1993).

Los hidrogeles de almidón han sido propuestos en varios trabajos para aplicaciones biomédicas, como es el caso de piel artificial (K. Pal y col., 2006), liberación controlada de fármacos (J. Chen y col., 1995) y cementos óseos (S. Pereira y col., 1998).

1.1.2.2. Hidrogeles formulados con polímeros sintéticos: Poli(vinil alcohol)

Los hidrogeles sintéticos, es decir, los obtenidos a partir de polímeros sintéticos, son atractivos para aplicaciones en ingeniería de tejidos debido a que sus propiedades y su química son controlables y reproducibles. Luego, estas propiedades definen la dinámica de formación del gel, la densidad de entrecruzamiento, la mecánica y sus propiedades de degradación. Las siliconas, el poli(óxido de etileno) (PEO), y el poli(vinil alcohol) (PVA) son algunos ejemplos de polímeros sintéticos.

El PVA es un polímero hidrofílico y soluble en agua, proveniente de la hidrólisis parcial o total del poli(vinil acetato) (PVAc) (H.B. Chen y col., 2014). Posee una estructura química muy sencilla (**Figura 2**), con grupos OH capaces de formar puentes de hidrógeno.

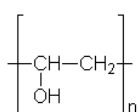


Figura 2. Estructura química del poli(vinil alcohol) (PVA).

Este polímero es un material de bajo costo que ha sido ampliamente estudiado en sistemas de ingeniería de tejidos a partir de diferentes técnicas de procesamiento.

Los hidrogeles producidos a partir del PVA poseen propiedades que los hacen muy interesantes para su uso como materiales biomédicos. Entre estas propiedades se encuentran su biocompatibilidad, biodegradabilidad y fácil procesabilidad por medio de la técnica de congelamiento-descongelamiento (*freeze-thaw*). Las variables más importantes de esta técnica son la cantidad total de ciclos, y el tiempo de duración de cada uno. La modificación de estas variables conduce a diferencias en las propiedades de estos hidrogeles. Por ejemplo, al aumentar la cantidad de ciclos, se produce un incremento en sus propiedades mecánicas pero, al mismo tiempo, se reduce su capacidad de hinchamiento (T. Mitsumata y col., 2008; C.M. Hassan y N.A. Peppas, 2000).

Los hidrogeles de PVA producidos por congelamiento-descongelamiento presentan buena estabilidad a temperatura ambiente y elevada elasticidad. Sin embargo, este método de gelación no es apropiado para la gelación *in vivo* (hidrogeles inyectables). Los hidrogeles de PVA han sido utilizados en ingeniería de tejidos para regeneración artificial de cartílagos articulares (G. Zheng-Qiu y col., 1998), de lentes de contacto blandas (S.H. Hyon y col., 1994), y en formaciones de hueso (T. Taguchi y col., 1999).

1.2 Hipótesis de trabajo y objetivos

La hipótesis de este proyecto es que es posible obtener hidrogeles con potenciales aplicaciones en ingeniería de tejidos a partir de un polímero natural comercial (almidón de papa) y un polímero sintético (PVA). Estos hidrogeles constituyen las estructuras temporarias necesarias para la regeneración de tejidos biológicos.

El presente trabajo contribuye al conocimiento general en el área de Ciencia de Biomateriales, en lo referente a diversos aspectos del procesamiento y del comportamiento mecánico de hidrogeles.

Se plantea como objetivo general, la obtención de hidrogeles reproducibles basados en almidón y PVA que presenten propiedades mecánicas y funcionales

adecuadas para aplicaciones en medicina regenerativa. Para alcanzarlo, se ponen en práctica distintas estrategias de síntesis en la preparación de los hidrogeles. Debido a la naturaleza experimental, en el proyecto se afrontan las dificultades asociadas al desarrollo de nuevos materiales, como son el ajuste de numerosas variables para lograr reproducibilidad. Una vez obtenidos, los hidrogeles se caracterizan físico-químicamente y se evalúa su comportamiento mecánico bajo distintos estados de sollicitación.

A continuación se presentan los objetivos específicos a alcanzar:

- Obtener hidrogeles físicos reproducibles a partir de soluciones de almidón soluble comercial y de PVA.
- Obtener hidrogeles entrecruzados física y químicamente a partir de una mezcla de almidón y PVA.
- Caracterizar la ultraestructura de los distintos hidrogeles.
- Caracterizar la respuesta al hinchamiento en agua.
- Evaluar experimentalmente la respuesta mecánica a bajas y altas deformaciones.
- Realizar el modelado constitutivo hiperelástico de la respuesta mecánica.
- Establecer lineamientos para futuras formulaciones y sus posibles aplicaciones.

Capítulo 2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Se emplearon almidón de papa soluble p.a. (BioPack / Zárate, Argentina) y poli(vinil alcohol) (PVA), 98-99% hidrolizado (Sigma-Aldrich / Argentina), como materiales de partida.

En la preparación de hidrogeles químicos se utilizó una solución acuosa de glutaraldehído (50 % p/p, KIC Chemicals, Inc. / FCC, Kosher, NY, USA) como entrecruzante, y ácido clorhídrico concentrado (37 % p/v, Cicarelli / Santa Fe, Argentina) como catalizador de la reacción de entrecruzamiento.

2.2. Obtención de hidrogeles

Se prepararon hidrogeles entrecruzados físicamente a partir de almidón, PVA, y mezcla almidón-PVA (50/50), e hidrogeles entrecruzados químicamente a partir de mezcla almidón-PVA (50/50). A continuación se describen las condiciones empleadas, obtenidas luego de una extensa tarea de optimización del proceso.

Para obtener hidrogeles a partir de almidón comercial, se colocó inicialmente una cantidad exacta en un vaso de precipitados y se agregó agua destilada hasta lograr una suspensión de concentración igual a 20% p/v. Inmediatamente, se colocó el vaso de precipitados en un baño de aceite de siliconas a 75°C y el sistema se sometió a agitación mecánica (**Figura 3**) durante 45 min a 850 rpm.



Figura 3. Equipamiento utilizado para la obtención de hidrogeles.

Luego de esta etapa, la suspensión blancuzca inicial evolucionó hacia una solución incolora, lo cual es indicativo del proceso de gelatinización del almidón. La solución obtenida se coló en caliente en moldes de poliacetal (Delrin®), de altura y diámetro iguales a 25 mm (**Figura 4**). Estos moldes fueron cubiertos con papel film y se los sometió a tres ciclos de congelamiento-descongelamiento, conservándose a -18°C por 12 h y luego a temperatura ambiente durante otras 12 h.



Figura 4. Hidrogel en el molde de poliacetal.

En el caso de la obtención de hidrogeles de PVA, se preparó una suspensión en agua destilada al 20 % p/v, y se llevó a una estufa a 75°C durante 3 h para lograr su disolución completa. La solución fue colada como se indicó anteriormente y se le realizaron los mismos ciclos térmicos.

Los hidrogeles mezcla almidón-PVA se obtuvieron agregando una solución de PVA en agua destilada al 20% p/v a una solución de almidón de igual concentración, ambas preparadas como se detalló anteriormente. La solución mezcla resultante se agitó mecánicamente durante 45 minutos a 75°C y fue finalmente colada y tratada del mismo modo que los otros materiales.

En el caso de hidrogeles mezcla entrecruzados químicamente (almidón-PVA (q)), se procedió de la misma manera que con la mezcla con entrecruzamiento físico (almidón-PVA (f)), con la diferencia que la solución de PVA agregada a la suspensión de almidón en este caso fue del 33,3% p/v. Esta modificación se realizó con el objetivo de emplear una solución diluida de glutaraldehído como entrecruzante (0,6ml glutaraldehído, 0,1ml HCl, 3ml EtOH, 10ml agua destilada), para evitar una reacción inmediata al verterla en el vaso de precipitado. El agregado de esta solución se realizó luego de los 45 minutos de agitación mecánica de la mezcla de almidón y PVA a temperatura, y se agitó todo el conjunto durante 5 segundos, previamente a la colada. Por último, los moldes se colocaron en una estufa a 75°C durante 1 h y finalmente se llevaron a temperatura ambiente.

2.2.1. Técnicas fisicoquímicas

La caracterización fisicoquímica de los distintos hidrogeles se llevó a cabo luego del liofilizado de las probetas durante 2 días. En la **Figura 5** se muestran los dos tipos de probetas, post-liofilizado, utilizadas en los distintos ensayos.



Figura 5. Muestras liofilizadas utilizadas para la caracterización fisicoquímica.

2.2.1.1. SEM

La evaluación de la microestructura de las matrices porosas se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Las muestras se recubrieron con Au/Pd y se observaron empleando un microscopio SEM (JEOL Modelo JSM-6460LV Denton Vacuum Desk II, JEOL USA, Inc., Peabody, MA, USA).

2.2.1.2. FTIR

La técnica de espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) se empleó para identificar los grupos funcionales presentes en el material. Se empleó un espectrómetro FTIR Nicolet 6700 (Nicolet Instrument Inc., Madison, WI, USA) con un accesorio de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR). Los espectros de las muestras se obtuvieron a temperatura ambiente realizando 64 barridos con una resolución de 2 cm^{-1} .

2.2.1.3. Hinchamiento

El hinchamiento de los hidrogeles se evaluó colocando las muestras liofilizadas en agua destilada, en una incubadora a 37°C . Las muestras se retiraron del medio periódicamente a tiempos determinados, y luego de remover el exceso de agua superficial con un papel secante, se pesaron y se colocaron nuevamente en el agua destilada.

El grado de hinchamiento (ϕ) se determinó empleando la siguiente ecuación:

$$\phi = \frac{m_t - m_0}{m_0} \quad (1)$$

Donde m_0 es la masa inicial de la muestra liofilizada, y m_t es la masa de la muestra luego de un tiempo t de hinchamiento (A.D. Drozdov y col., 2015).

El ensayo se realizó durante un período de 7 días y por triplicado, para cada tipo de hidrogel estudiado.

2.2.2. Ensayos mecánicos

La caracterización mecánica de los distintos hidrogeles obtenidos se llevó a cabo posteriormente a los ciclos de congelamiento-descongelamiento.

2.2.2.1. Ensayos de Reometría Oscilatoria

Los ensayos de reometría de tipo oscilatorio se realizaron en un reómetro Anton Paar tipo Physica MCR-301. Las mediciones fueron realizadas en muestras cortadas en forma de cilindros de 1,5 mm de altura. Estas probetas fueron colocadas en el equipo, bajo la configuración de platos paralelos, donde la máxima deformación aplicada viene dada por $\theta r/h$ (**Figura 6**) (G.M. Kavanagh y S.B. Ross-Murphy, 1998).

Para asegurar el contacto entre el plato y la muestra, se aplicó una pequeña fuerza normal sobre ella. A fin de prevenir la deshidratación de las muestras, se cubrió el borde de los platos con silicona de baja densidad.

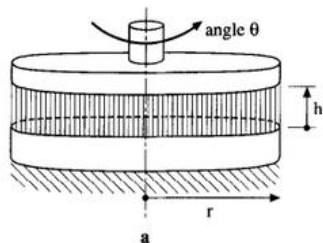


Figura 6. Configuración de platos paralelos empleada en los ensayos de reometría oscilatorios.

A partir de este ensayo, fue posible obtener el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') de los distintos hidrogeles estudiados.

Inicialmente, se realizaron ensayos exploratorios para determinar el valor máximo de deformación en el que los geles se comportan en el rango viscoelástico lineal. Esto es, se obtiene un valor G^* constante al incrementar la deformación aplicada. Estos ensayos se hicieron a 37°C , y el valor de deformación máximo resultó $\gamma_M = 0,1 \%$.

En estas condiciones, se realizaron ensayos a 37°C variando la frecuencia entre 0,1 y 100 Hz. Además, se realizaron ensayos variando la temperatura entre 10 y 45°C a una frecuencia de 1Hz.

2.2.2.2. Ensayos de macroindentación

Los ensayos de indentación a escala macroscópica se llevaron a cabo en una máquina universal de ensayos Instron modelo 4469. La configuración se muestra en la **Figura 7**. Como indentador, se empleó una punta cilíndrica de base plana de 10 mm de diámetro fabricada en polimetilmetacrilato (PMMA). Los ensayos se realizaron a una velocidad de 5 mm/min y consistieron en la aplicación de tres ciclos consecutivos de carga-descarga. La profundidad de indentación máxima en cada ciclo fue de 3 mm.



Figura 7. Configuración usada en los ensayos de macroindentación.

2.2.2.3. Ensayos de compresión uniaxial

Los ensayos de compresión uniaxial se llevaron a cabo empleando probetas cilíndricas de relación de esbeltez unitaria ($L_0/D_0=1$) en una máquina universal de ensayos Instron modelo 4469. La configuración del ensayo se observa en la **Figura 8**. Se empleó una celda de carga de 0,5kN y una velocidad de travesa de 5mm/min. Se aplicó una capa de teflón como lubricante para disminuir la fricción entre los platos de compresión y la superficie de la probeta. Los ensayos se llevaron a cabo hasta la rotura de la probeta.



Figura 8. Configuración usada en los ensayos de compresión uniaxial.

Los datos de carga-desplazamiento (F vs. d) se convirtieron a tensión-deformación nominal (σ vs. ϵ) y a tensión-relación de estiramiento (σ vs. λ) mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Tensión nominal:} \quad \sigma_n = \frac{F}{A_0} \quad (2)$$

$$\text{Deformación nominal:} \quad \epsilon_n = \frac{d}{l_0} \quad (3)$$

$$\text{Relación de estiramiento:} \quad \lambda = \frac{l_0 - d}{l_0} \quad (4)$$

donde F es la carga aplicada, A_0 es el área inicial de la probeta, d es el desplazamiento de la travesa y l_0 es la altura inicial de la probeta.

2.3. Modelado constitutivo

Uno de los modelos más simples y más utilizados en la bibliografía para describir el comportamiento mecánico de hidrogeles y materiales biológicos blandos que presentan comportamiento hiperelástico es el modelo de Ogden de primer orden. Por ejemplo, se han descrito satisfactoriamente con este modelo hidrogeles de quitosano (A. Sasson y col., 2012), almidón (C. Gamonpilas y col., 2010), y gelatina (M. Czerner y col., 2013). También se han modelado con Ogden tejidos vivos como la médula espinal (C.J. Sparrey y T.M. Keaveny, 2011) o el tejido adiposo de origen porcino (K. Comley y N. Fleck, 2012).

Este modelo, desarrollado para sólidos hiperelásticos isotrópicos, se encuentra dentro del grupo de modelos constitutivos en los cuales la relación tensión-deformación deriva de una función de densidad de energía de deformación, U, que viene dada por:

$$U = \sum_{i=1}^n \frac{2\mu_i}{\alpha_i^2} (\lambda_1^{-\alpha_i} + \lambda_2^{-\alpha_i} + \lambda_3^{-\alpha_i} - 3) + \sum_{i=1}^n K_i (J^{el} - 1)^{2i} \quad (5)$$

donde α , μ y K son los parámetros constitutivos, λ_1 , λ_2 y λ_3 son las relaciones de estiramiento en los ejes principales y J es el determinante del tensor de λ . Se asume $K \sim 10^5$ MPa para materiales incompresibles y la deformación debe satisfacer la condición $J=1$, de manera que el segundo término de la Ecuación (5) es nulo. Para

el caso particular del modelo de Ogden de primer orden ($n = 1$), y la relación entre la tensión nominal y la relación de estiramiento para un dado estado compresivo uniaxial se reduce a:

$$\sigma = \frac{2\mu}{\alpha} \left(\lambda^{(\alpha-1)} - \lambda^{\left(-\frac{\alpha}{2}-1\right)} \right) \quad (6)$$

siendo μ , el módulo de corte, y α , un parámetro relacionado con la capacidad de endurecimiento por deformación del material. Valores de α más negativos implican mayor capacidad de endurecimiento por deformación.

El modelo de Ogden de primer orden se reduce al del sólido Neo-Hookeano para $\alpha = 2$. El modelo constitutivo Neo-Hookeano es un modelo de un solo parámetro (μ) que puede ser usado para describir el cambio entre una relación inicialmente lineal a una no-lineal de tensión-deformación, y es el modelo hiperelástico más simple que puede usarse para describir el comportamiento hiperelástico.

Capítulo 3. Resultados y Discusión

3.1. Obtención de los hidrogeles

Inicialmente, se intentó lograr el proceso de apertura de los granos de almidón a partir de la agitación magnética de suspensiones acuosas de este material a distintas temperaturas. Se observó que las suspensiones sufrían un cambio de color y viscosidad mediante la agitación a una temperatura igual o superior a 75°C, mientras que a temperaturas inferiores no se apreciaban modificaciones en el tiempo.

Por otra parte, en el caso de las suspensiones tratadas a mayores temperaturas, la viscosidad mostró un marcado incremento en función del tiempo, hasta llegar a una instancia tal que la agitación magnética no fue posible. Por lo tanto, se comenzó a trabajar con agitación mecánica a 850 rpm, manteniendo la temperatura en 75°C, buscando una viscosidad tal, que permitiera realizar el colado de las soluciones en los moldes.

A su vez, se prepararon soluciones de almidón de distintas concentraciones, y se llevó a cabo el proceso de agitación mecánica hasta lograr la apertura de granos. Este fenómeno pudo ser observado en microscopio óptico, como se muestra en la **Figura 9**. El proceso de gelatinización coincidió con el aumento de la transparencia de la solución, y llevó típicamente un tiempo de 45 minutos.

Se encontró que no fue posible procesar soluciones de concentración mayor al 20% p/v, ya que la viscosidad de la soluciones alcanzada al finalizar esta etapa resultó tal que impidió su manipulación.

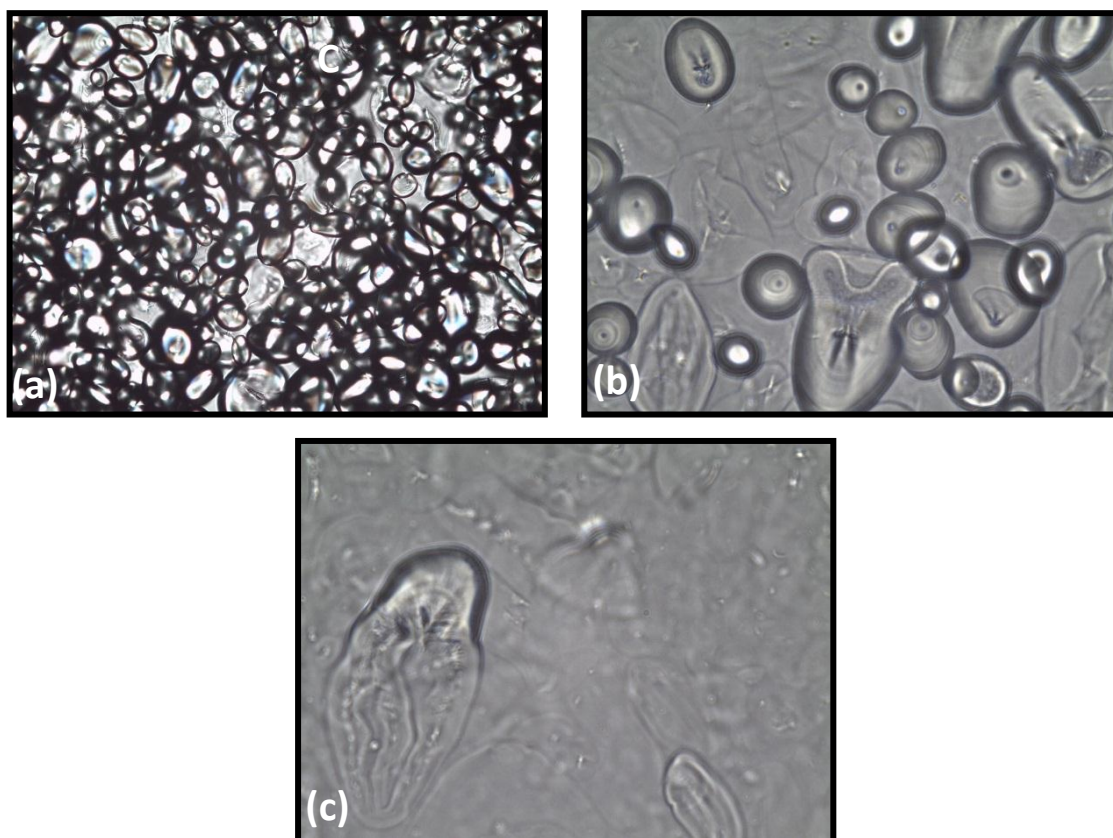


Figura 9. Microscopía óptica del proceso de gelatinización de una solución de almidón (aumento 50x). **(a)** Antes del procesamiento. **(b)** Luego de 20 minutos de agitación a 850 rpm y 75°C. **(c)** Luego de 45 minutos de agitación a 850 rpm y 75°C.

Por lo tanto, para la obtención de los hidrogeles de almidón, se procesaron 50 ml de soluciones a una concentración de 20% p/v, y luego se colocaron en moldes cilíndricos de altura y diámetro iguales a 25 mm. Inicialmente, se los dejó enfriar a temperatura ambiente durante 24 h. Al extraerlos del molde se observó que los mismos no poseían auto-soporte. Este es un resultado no deseado, ya que las probetas deben resistir su propio peso para poder ser ensayadas mecánicamente. Además, propiedades mecánicas tan bajas resultan inadecuadas para aplicaciones en ingeniería de tejidos. Por ello, se sometió a los hidrogeles a 3 ciclos de congelamiento-descongelamiento de 12 h a -18°C y temperatura ambiente, respectivamente.

Los ciclos de congelamiento-descongelamiento conducen a un fenómeno propio del almidón conocido como retrogradación. Este fenómeno se basa en la asociación por puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de las moléculas del almidón, principalmente las de amilosa (M. Tako y col., 2014), favoreciendo el

entrecruzamiento físico. Si la fase de amilosa es continua, el incremento de la concentración que se produce durante el enfriamiento (debido al crecimiento de los cristales de hielo), puede resultar en la formación de un gel resistente. Este gel puede luego contraerse y perder agua, fenómeno conocido como sinéresis (A.M. Hermansson y K. Svegmarm, 1996). Cuando se efectúan los ciclos de congelamiento-descongelamiento, se acelera la retrogradación de las moléculas en la fase más rica en almidón. Luego, los cristales de hielo formados se encuentran embebidos en una estructura tipo “esponja” de almidón. Cuando se produce el descongelamiento, el agua es fácilmente separada de la matriz, dando lugar a la sinéresis (S. Srichuwong y col., 2012). Por lo tanto, los ciclos de congelamiento-descongelamiento dejan una estructura similar a la de una esponja, con agua libre en su interior.

Por otro lado, se prepararon hidrogeles de PVA de concentración 20% p/v con fines comparativos. La forma de producirlos fue muy sencilla. Se preparó la solución y se la dejó en estufa durante 3 h, para lograr la solubilización del polímero. Luego, se vertió en moldes de Delrin[®] y se llevaron a cabo 3 ciclos de congelamiento-descongelamiento, análogamente a los efectuados a los hidrogeles almidón.

Luego, se prepararon hidrogeles físicos agregando soluciones de PVA al 20% p/v a las soluciones de almidón obtenidas anteriormente. En una primera instancia la solución mezcla fue agitada mecánicamente a 850 rpm durante 1 minuto a 75°C y se la coló en los moldes. Estos materiales resultaron muy heterogéneos. Por ello, incrementó el tiempo de agitación de la mezcla a 35 minutos. De este modo, luego de llevar a cabo los ciclos de congelamiento-descongelamiento, se obtuvo un material mucho más homogéneo, como puede observarse en la **Figura 10**.



Figura 10. Hidrogel de almidón-PVA físico, luego de los ciclos de congelamiento-descongelamiento.

En la preparación de hidrogeles químicos, luego de llevar a cabo el mezclado de las soluciones como se explicó anteriormente, se agregó una solución de glutaraldehído en medio ácido. Si bien este compuesto es tóxico, se empleó como agente entrecruzante modelo debido a su disponibilidad, bajo costo y elevada reactividad. Dada su reactividad, el glutaraldehído libre sería mínimo, el cual podría eliminarse luego de lavados sucesivos. El presente proyecto contempla la puesta a punto de la técnica de obtención de hidrogeles químicos. En un proyecto posterior, se prevé emplear un agente de entrecruzamiento natural no tóxico de costo más elevado como la genipina (V.M. Bispo, 2010), a partir del conocimiento obtenido en este trabajo sobre la síntesis de hidrogeles.

Se evaluaron distintas concentraciones de entrecruzante, entre el 0,3 y el 2% v/v de la solución total, encontrando que con una concentración igual a 1% v/v de entrecruzante la colada del material en los moldes era posible.

Sin embargo, se observó que el mezclado y la homogeneización de la solución final resultó muy difícil de lograr, tanto mediante agitación mecánica como empleando un Ultraturrax a distintas velocidades. Esto se debió a que la reacción de entrecruzamiento ocurrió muy rápidamente en algunas zonas, produciendo un incremento de la viscosidad en regiones localizadas y dando lugar a pequeños hidrogeles aislados. Esto produjo como resultado hidrogeles heterogéneos y claramente poco reproducibles.

Por ello, se modificaron las condiciones para lograr materiales más homogéneos. De este modo, se emplearon soluciones de PVA más concentradas (33,3% p/v), con el objeto de emplear una solución de glutaraldehído más diluida, sin modificar la concentración total del sistema. Así, se logró disminuir la velocidad de la reacción de entrecruzamiento, facilitando el mezclado y manipulación de la solución previamente al colado en los moldes. Por último, los moldes fueron colocados en una estufa a 75°C durante 1 h, para favorecer la reacción de entrecruzamiento. Luego de este tiempo, los geles se dejaron a temperatura ambiente y se logró obtener muestras homogéneas y reproducibles.

Por otra parte, no fue posible obtener geles químicos puros a partir de soluciones de almidón, empleando concentraciones entre 5 y 20% p/v. Esto se debió a que la viscosidad de las soluciones, luego de agregar el entrecruzante, fue tan elevada que imposibilitó la manipulación y el vertido en los moldes de modo homogéneo.

3.2. Caracterización fisicoquímica

Los hidrogeles fueron liofilizados durante 2 días para llevar a cabo la caracterización que se presenta a continuación. Entre los ensayos realizados se encuentran: microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía infrarroja (FTIR) y comportamiento de hinchamiento.

3.2.1. Análisis de la ultraestructura de los hidrogeles

La técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) se empleó para analizar la morfología de los distintos hidrogeles obtenidos luego de su liofilizado. Las micrografías obtenidas se presentan en la **Figura 11**.

En las micrografías **(a)** y **(b)** puede observarse que los hidrogeles de almidón puro presentan una ultraestructura de porosidad elevada, con tamaño de poros entre 50 y 150 μm , formados por finas paredes de material. Las micrografías **(c)** y **(d)**, muestran claramente que los hidrogeles de PVA puro presentan una porosidad inferior, con tamaño de poros del orden de 10 – 30 μm , y paredes de mayor espesor. Por su parte, los hidrogeles producto de la mezcla física de almidón

y PVA (micrografías **(e)** y **(f)**) muestran una estructura más abierta que la obtenida para el PVA, con paredes delgadas y un rango de tamaño de poros más amplio, entre 5 y 50 μm . Los hidrogeles obtenidos a partir de la mezcla entrecruzada químicamente (micrografías **(g)** y **(h)**), presentan una estructura con mayor tamaño de poros, del orden de 50 – 100 μm , y paredes de mayor espesor que los hidrogeles de la mezcla física.

Las ultraestructuras porosas obtenidas para los distintos hidrogeles con entrecruzamiento físico son producto del procesamiento en ciclos de congelamiento-descongelamiento (L. Wang, 2013). Estas estructuras se producen debido a la formación de cristales de agua durante la etapa de congelamiento, lo cual genera zonas ricas en los polímeros, donde se favorecen las interacciones entre las moléculas por puente de hidrógeno, que conducen finalmente a la morfología observada. El tratamiento repetitivo produce la agregación de moléculas, formando finas membranas conteniendo hielo en sus cavidades. Durante la etapa de descongelamiento, principalmente el lixiviado de amilosa en las formulaciones que contienen almidón, favorece la formación de una red tridimensional.

La ultraestructura porosa de los hidrogeles de almidón y PVA entrecruzados con glutaraldehído se debe a la formación de una red tridimensional donde los puntos de entrecruzamiento son enlaces químicos. En este tipo de materiales, tanto la porosidad total como el tamaño medio de poros disminuyen con el aumento de la concentración de entrecruzante, debido al incremento del grado de entrecruzamiento (H.V. Chavda y C.N. Patel, 2011).

En general, la morfología de los hidrogeles depende de la composición, del peso molecular, del tipo de entrecruzamiento entre cadenas y del procesamiento. Estos factores condicionan e influyen sobre el proceso de formación de los puntos de entrecruzamiento en la red. Por ello, los cuatro hidrogeles presentaron diferentes ultraestructuras.

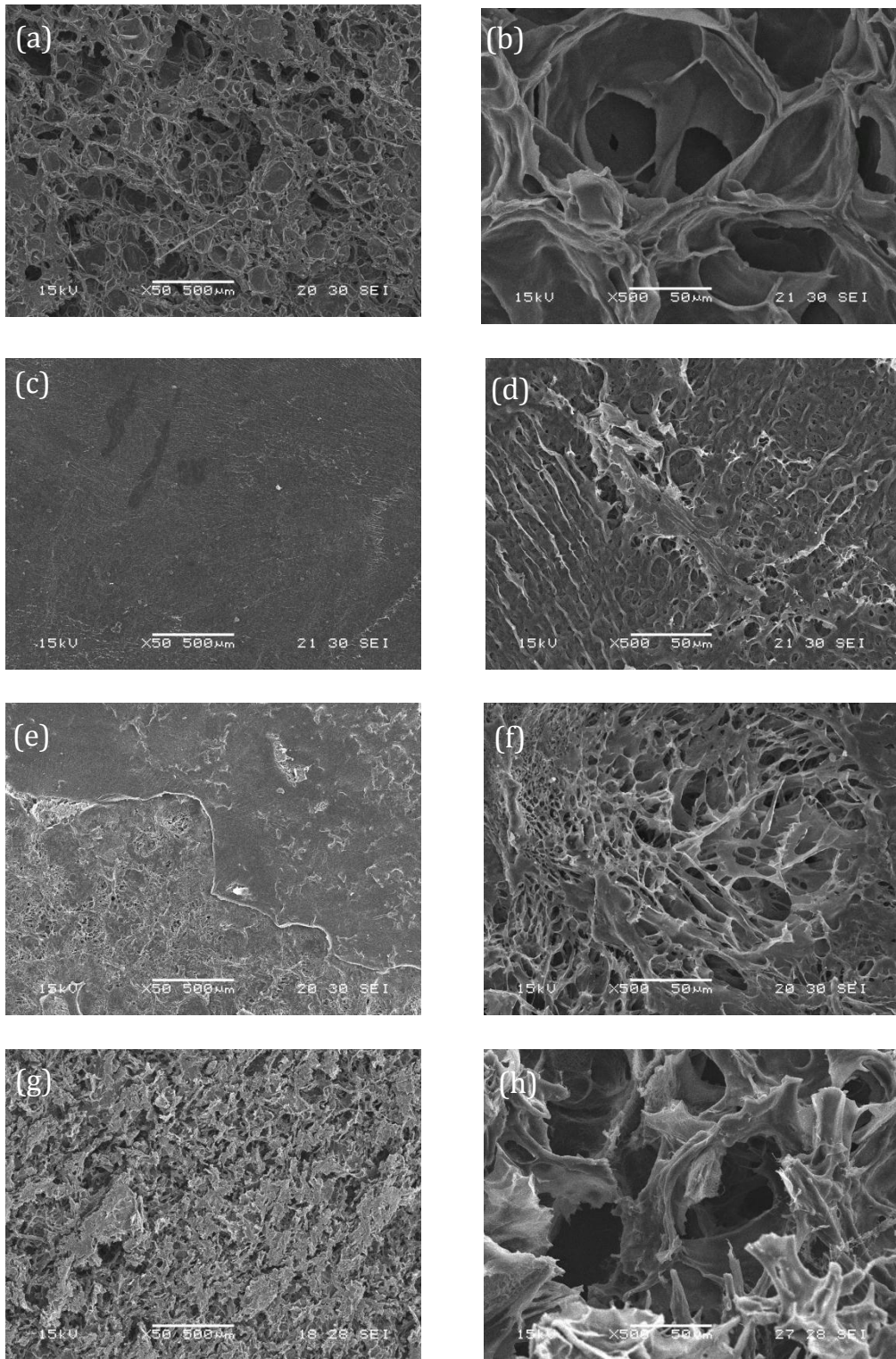


Figura 11. Micrografías SEM de los hidrogeles liofilizados: **(a)** almidón 50x, **(b)** almidón 500x, **(c)** PVA 50x, **(d)** PVA 500x, **(e)** almidón-PVA (f) 50x, **(f)** almidón-PVA (f) 500x, **(g)** almidón-PVA (q) 50x, **(h)** almidón-PVA (q) 500x.

Cabe aclarar que las morfologías observadas sólo permiten estimar la ultraestructura de los hidrogeles, pero no son necesariamente las mismas que tendrían éstos antes del liofilizado. Para poder observar la ultraestructura real los hidrogeles deberían estudiarse empleando FE-SEM, dado que esta técnica permite analizar muestras sin la necesidad de liofilizarlas.

3.2.2. Análisis de la estructura química

Los hidrogeles liofilizados se analizaron por FTIR en modo ATR. Esta técnica permite estudiar las muestras directamente en estado sólido sin ninguna preparación adicional. Una vez obtenidos los espectros, se normalizaron a partir de las bandas de metileno. Los espectros normalizados se muestran en las **Figura 12 y 13**.

En la **Figura 12** se puede observar la banda asociada a grupos hidroxilo (ν O-H) para los distintos materiales. El área de esta banda resultó máxima para el almidón (3290 cm^{-1}), indicando que éste posee una mayor abundancia relativa de grupos OH que PVA (3265 cm^{-1}) (**Figura 12-a**). Estos grupos funcionales son potenciales formadores de puentes de hidrógeno, que constituyen los puntos de entrecruzamiento físico del hidrogel.

Por su parte, el área del pico ν O-H asociado a grupos hidroxilo fue menor en el caso de los hidrogeles mezcla entrecruzados químicamente respecto de los geles físicos (**Figura 12-b**). Esto se debe a que la reacción de entrecruzamiento químico en presencia de glutaraldehído consume grupos hidroxilo, más precisamente, un máximo de 4 grupos OH por cada molécula de glutaraldehído.

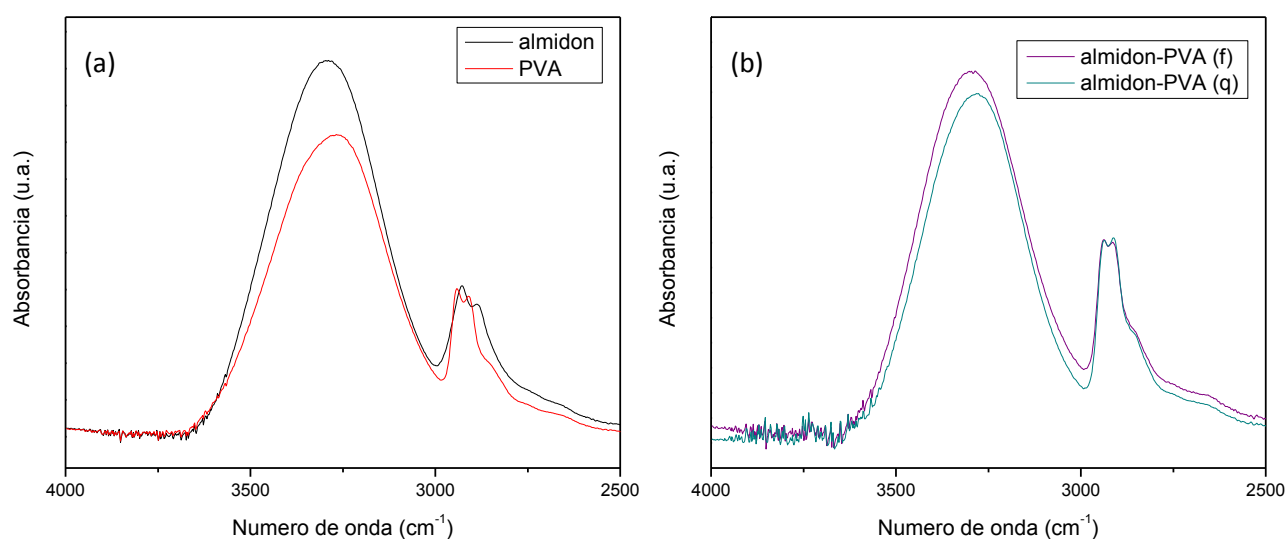


Figura 12. Espectros infrarrojos de los hidrogeles liofilizados: **(a)** almidón y PVA, **(b)** almidón-PVA (f) y almidón-PVA (q). Intervalo: 4000 – 2500 cm^{-1} .

Las bandas asociadas a grupos metileno se observan a 2942 - 2928 cm^{-1} ($\nu_{\text{a}}\text{C-H}$ en CH_2) y 2914 - 2888 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{C-H}$ en CH_2) (**Figura 12**). En el espectro del hidrogel químico también puede apreciarse la ausencia de bandas a 1715 cm^{-1} y 1645 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$) asociadas a grupos carbonilo presentes en el glutaraldehído empleado como agente entrecruzante (**Figura 13**). Las bandas presentes entre 1088 y 1078 cm^{-1} ($\delta\text{C-O}$) refieren al enlace C-O presente en alcoholes. Por su parte, la muestra de almidón exhibe además una banda a 995 cm^{-1} ($\delta\text{C-C}$), que en el caso de los otros materiales se aprecia como un hombro.

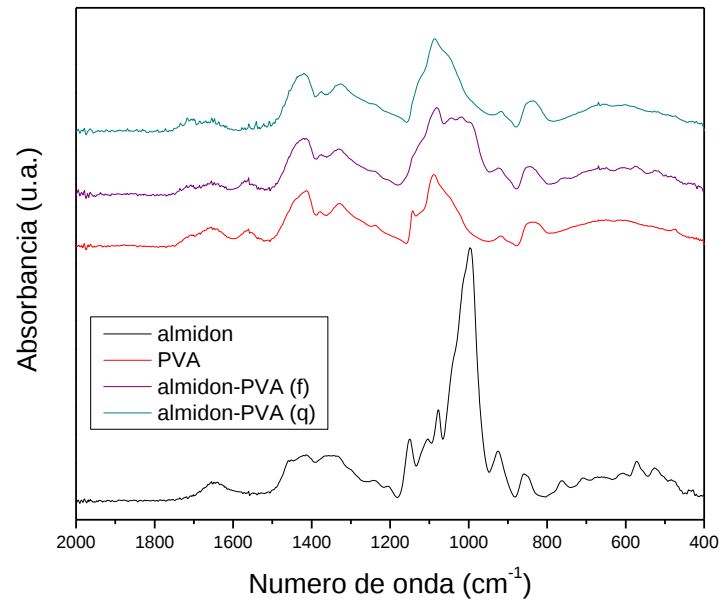


Figura 13. Espectros infrarrojos de los hidrogeles liofilizados: almidón, PVA, almidón-PVA y almidón-PVA (q). Intervalo: 2000 – 400 cm^{-1} .

Los ensayos de FTIR indican que en los hidrogeles químicos no existe glutaraldehído sin reaccionar, por lo que no serían hidrogeles tóxicos, pudiéndose manipular sin inconvenientes.

3.2.3. Grado de Hinchamiento

Los ensayos de hinchamiento fueron realizados por triplicado para todos los hidrogeles. La evolución temporal del grado de hinchamiento promedio para las tres muestras se presenta en la **Figura 14**.

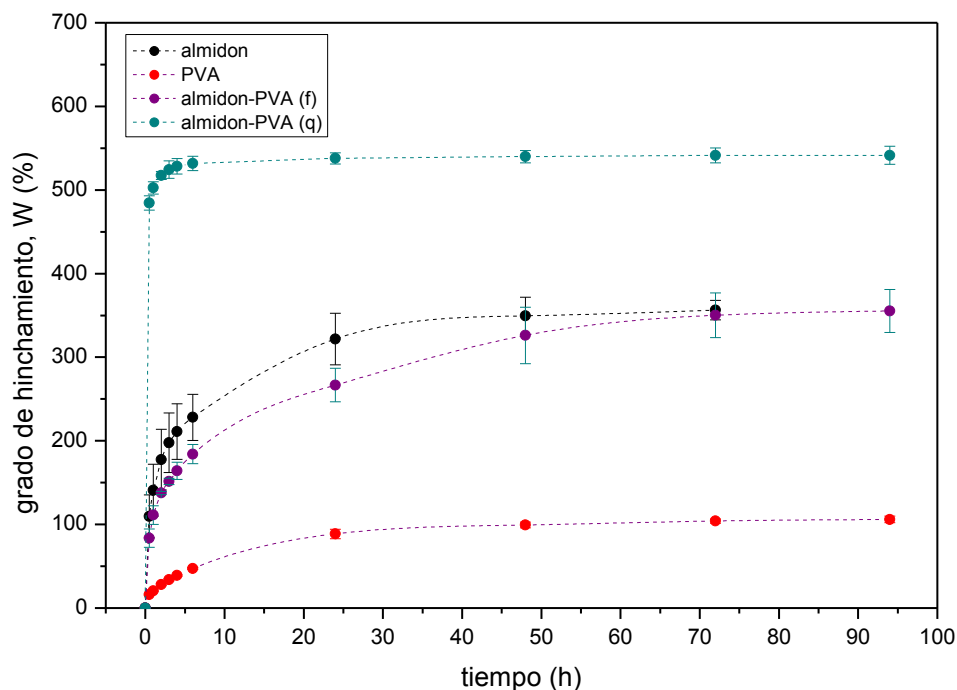


Figura 14. Curvas de hinchamiento en función del tiempo, de hidrogeles de almidón, PVA, almidón-PVA con entrecruzamiento físico y almidón-PVA con entrecruzamiento químico.

Las curvas de la **Figura 14** muestran que existen diferencias importantes en el comportamiento al hinchamiento de los hidrogeles, especialmente entre los entrecruzados físicamente y los entrecruzados químicamente.

Si bien los ensayos fueron realizados durante 7 días, se encontró que los hidrogeles de almidón comenzaron a perder integridad luego del tercer día. Este fenómeno puede atribuirse a una heterogeneidad en el entrecruzamiento físico del material, que genera zonas de mayor inestabilidad estructural. Sin embargo, todos los materiales alcanzaron un valor constante de hinchamiento en el tiempo mostrado en la **Figura 14**. El valor del plateau observado en las curvas de hinchamiento vs. tiempo se tomó como el valor de equilibrio. Estos valores se reportan en la **Tabla 1** para los cuatro hidrogeles.

Tabla 1. Valores de equilibrio de hinchamiento para los hidrogeles de almidón, PVA, almidón-PVA (f) y almidón-PVA (q).

Hidrogel	Grado de hinchamiento en el equilibrio
Almidón	356% $\pm$ 8.18%
PVA	104% $\pm$ 1.76%
Almidón-PVA (f)	355% $\pm$ 18.88%
Almidón-PVA (q)	541% $\pm$ 6.27%

Se observa que el PVA resultó el hidrogel con menor capacidad de hinchamiento. Sin embargo, su mezcla física con almidón exhibió un hinchamiento de equilibrio tres veces mayor. Este comportamiento ha sido observado anteriormente para mezclas similares (E.R. Kenawy y col., 2013), y se ha atribuido a la capacidad del almidón para generar un incremento en la capacidad de mojado y en la hidrofiliidad del hidrogel mezcla, conduciendo a un grado de hinchamiento prácticamente igual que el mismo almidón.

Por otro lado, la mezcla química presentó un comportamiento distinto al de los demás hidrogeles, mostrando un hinchamiento superior al 500% de su peso en seco luego de 1 h en agua a 37°C. Además, alcanzó su condición de equilibrio luego de 6 h, mientras que los otros materiales necesitaron tiempos de 48-72 h. Este comportamiento se asemeja al que presentan los hidrogeles superporosos, los cuales tienen la capacidad de absorber agua a muy bajos períodos de tiempo. Este fenómeno se debe a la presencia de poros interconectados en su estructura. De esta forma, la absorción del solvente se produce principalmente por capilaridad, y en menor grado por difusión (H. Omidian y col., 2005). Por lo tanto, los resultados sugieren que los hidrogeles almidón-PVA entrecruzados con glutaraldehído presentan una ultraestructura de poros grandes e interconectados muy diferente a la de los hidrogeles de la mezcla entrecruzada físicamente. Esta diferencia podría cuantificarse mediante la técnica de porosimetría por extrusión de líquidos (LEP).

En base a los valores obtenidos a partir de este ensayo, los hidrogeles presentan el siguiente orden de grado de hinchamiento:

$$W_{\text{al-PVA (q)}} > W_{\text{almidón}} \sim W_{\text{al-PVA (f)}} > W_{\text{PVA}}$$

3.2.3.1. Cinética de hinchamiento de los hidrogeles

Generalmente, el proceso de hinchamiento de geles se describe con una ecuación de segundo orden (M.M. Welz y C.M. Ofner, 1992). El modelo de segundo orden propone que la velocidad de hinchamiento del gel está controlada tanto por la difusión del solvente como por la relajación de las macromoléculas (H. Schott, 1992). En base a esto, se propone que la velocidad de hinchamiento de los hidrogeles sigue la ley:

$$\frac{dW}{dt} = K (W_{\infty} - W)^2 \quad (7)$$

donde W es la cantidad de solvente absorbido a un tiempo t , W_{∞} es el máximo hinchamiento en el equilibrio, y K es la constante cinética de hinchamiento. Al integrar la Ecuación (7) entre los límites: $W(t=0) = 0$ y $W(t) = W$, se llega a

$$t/W = A + Bt \quad (8)$$

donde A y B son la ordenada al origen y la pendiente de un gráfico de t/W vs. t , $A = 1/K(W_{\infty})^2$, que es la recíproca de la velocidad inicial de hinchamiento, y $B=1/W_{\infty}$, que es la inversa del máximo hinchamiento en el equilibrio.

Los valores de hinchamiento obtenidos para todos los hidrogeles pudieron describirse adecuadamente utilizando la Ecuación (8). En la **Figura 15** se grafican los valores de t/W vs. t , junto con la regresión lineal para cada tipo de hidrogel. Los valores de la constantes cinéticas de hinchamiento K , que surgieron de este análisis se presentan en la **Tabla 2** para cada tipo de hidrogel. Los valores del coeficiente de regresión lineal R^2 (**Tabla 2**) evidencian la validez del modelo cinético propuesto.

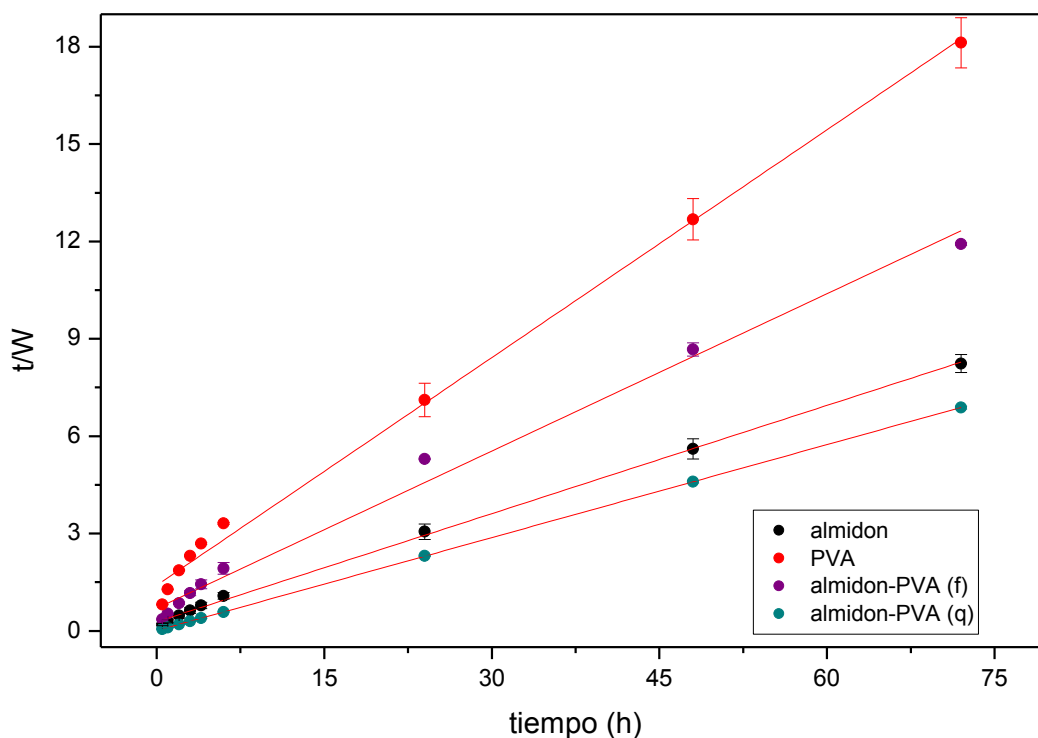


Figura 15. Regresión lineal de las curvas de hinchamiento de acuerdo a la Ecuación (8).

Tabla 2. Valores de la constante cinética de hinchamiento y del coeficiente de regresión lineal para los hidrogeles de almidón, PVA, almidón-PVA (f) y almidón-PVA (q).

Hidrogel	K	R ²
Almidón	0,283 ± 0,053	0,999
PVA	0,658 ± 0,098	0,996
Almidón-PVA (f)	0,115 ± 0,039	0,991
Almidón-PVA (q)	3,519 ± 0,74	1,000

Los valores de K obtenidos para los hidrogeles físicos se encuentran en el mismo orden, lo cual indica que su cinética de hinchamiento es similar. Por otro lado, el valor de K obtenido para la mezcla con entrecruzamiento químico muestra nuevamente que se trata de un tipo de hidrogel con características de superporoso, capaz de absorber gran cantidad de agua en poco tiempo.

En base a los resultados del ajuste, los hidrogeles presentan el siguiente orden de constante cinética de hinchamiento:

$$K_{\text{al-PVA (q)}} \gg K_{\text{PVA}} > K_{\text{almidón}} > K_{\text{al-PVA (f)}}$$

3.3. Caracterización mecánica de los hidrogeles

Al manipular las muestras preparadas, se evidenciaron diferencias marcadas en su rigidez y en la capacidad de recuperar la forma luego de una deformación impuesta, así como también cierta adhesividad. La caracterización mecánica comprendió tres estados de sollicitación diferentes: experimentos oscilatorios de baja deformación en corte, macroindentación y compresión uniaxial.

3.3.1. Comportamiento reológico a bajas deformaciones

En los ensayos de reometría de tipo oscilatorio se sometió a los materiales a una deformación sinusoidal. Esto da lugar a describir el comportamiento mediante números complejos; en tal sentido, el esfuerzo puede descomponerse en dos componentes, uno en fase y otro fuera de fase. Se define un módulo de elasticidad complejo:

$$G^* = G' + iG'' \quad (9)$$

La parte real (en fase) del módulo se representa por G' , y se denomina módulo de almacenamiento elástico, o energía almacenada por ciclo, y hace referencia a la respuesta elástica del material. La parte imaginaria (fuera de fase) de G^* viene dada por G'' , que es el módulo de pérdida o energía disipada por ciclo, y tiene que ver con el comportamiento viscoso del material (O. Rojas y col., 2012).

A partir de los ensayos oscilatorios realizados en el reómetro, se obtuvieron los valores de módulo de almacenamiento y módulo de pérdida (G' y G'' , respectivamente) en función de la frecuencia a 37°C para los cuatro hidrogeles. Los resultados de estos ensayos se muestran en la **Figura 16**. Los valores de G' y G'' se graficaron en el intervalo de 0,1 a 50 Hz debido a que a frecuencias mayores se obtuvieron valores con dispersión elevada. Esto pudo deberse a problemas de contacto entre los platos del reómetro y las muestras.

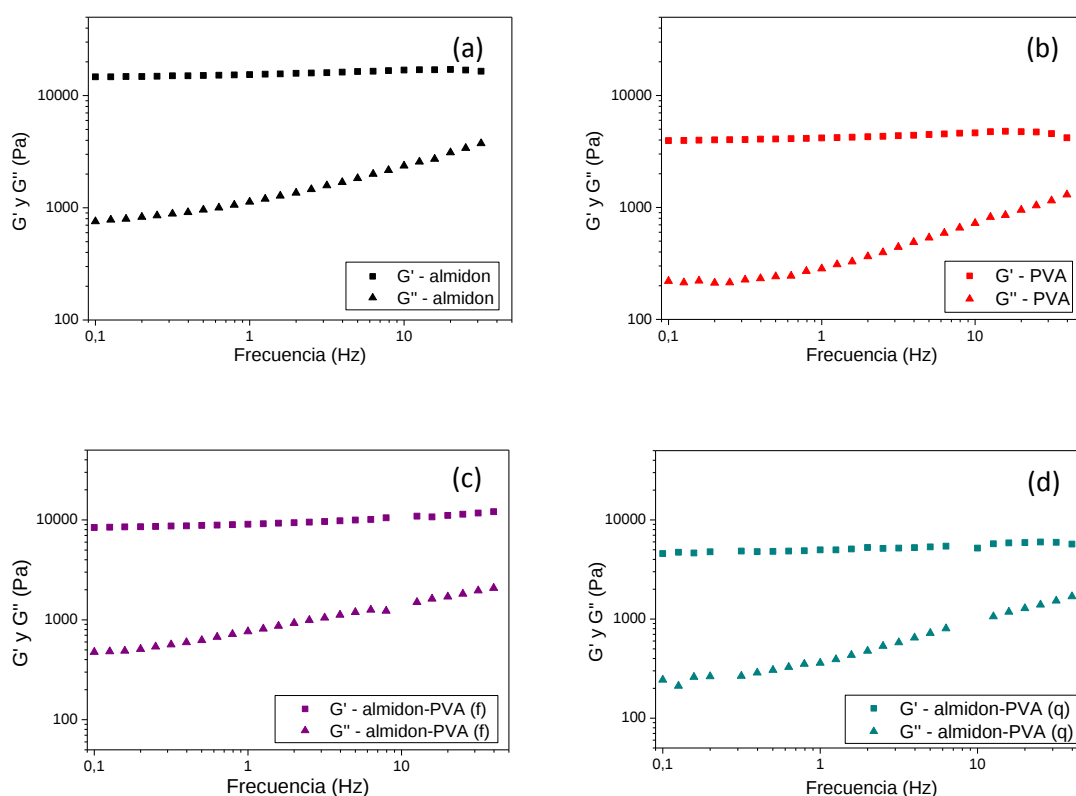


Figura 16. Curvas de los módulos de almacenamiento y de pérdida en función de la frecuencia: **(a)** almidón, **(b)** PVA, **(c)** almidón-PVA (f), y **(d)** almidón-PVA (q).

Como se esperaba, todos los hidrogeles mostraron un G' mayor a G'' , lo que indica que los materiales se comportan como sólidos. A su vez, todas las curvas del

módulo de almacenamiento presentaron un plateau en el intervalo de frecuencias analizado. Por otro lado, el módulo de pérdida presentó un aumento con la frecuencia para todos los hidrogeles en el rango estudiado.

En la **Figura 17** se muestra la respuesta esperada de un material real ante un ensayo oscilatorio de baja deformación (O. Rojas y col., 2012). El comportamiento observado para los hidrogeles corresponde a la zona III de esta gráfica y se conoce como “comportamiento gomoso”. Cuando G' exhibe la meseta que puede verse en las curvas de la **Figura 16**, se afirma que el material se comporta predominantemente como un sólido elástico. Por otra parte, si la pendiente con la que disminuye G'' al comienzo de la zona III es pequeña y luego sigue un aumento, como es el caso de los hidrogeles en estudio en el intervalo de frecuencias mostrado, es posible considerar que el comportamiento se aproxima al de un sólido viscoelástico lineal.

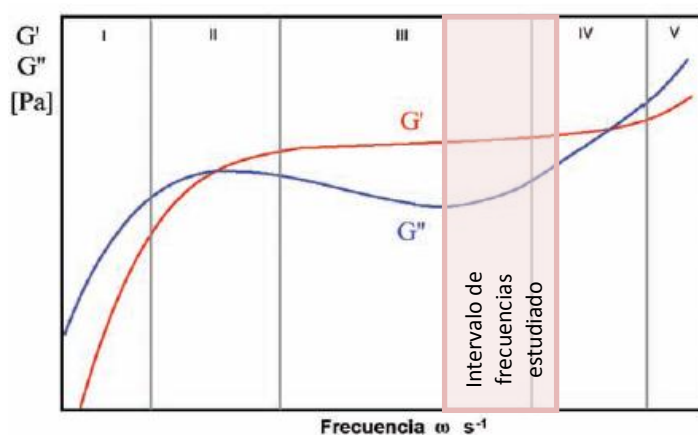


Figura 17. Respuesta de un material real sometido a un ensayo oscilatorio. Región I: Zona de fluido; Región II: Transición, Región III: Comportamiento gomoso, Región IV: Transición vítrea; Región V: Zona cristalina.

A modo comparativo, se confeccionó el gráfico de la **Figura 18**, donde se indica el orden de rigidez obtenido a partir de los ensayos de reometría a 37°C para los distintos hidrogeles preparados.

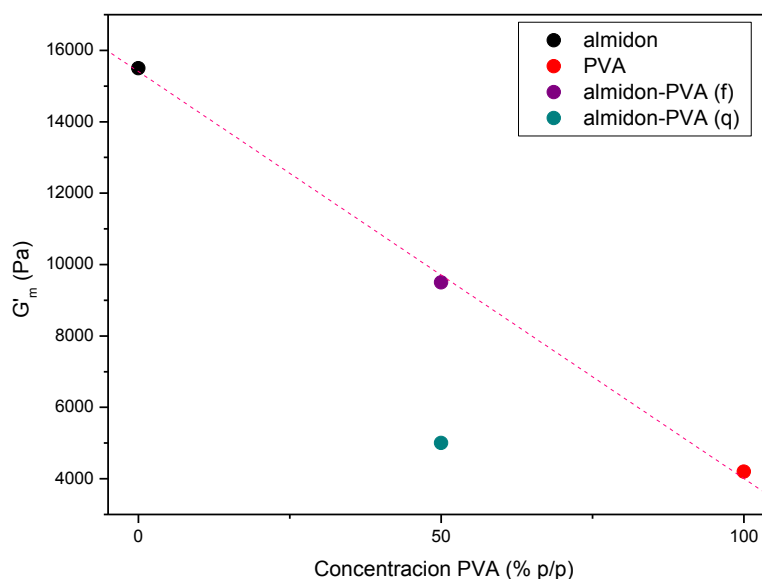


Figura 18. Valores de G' promedio estimados de las curvas de reometría oscilatoria para los hidrogeles estudiados.

En este gráfico puede observarse una clara diferencia entre los valores de módulo del hidrogel de almidón y el de PVA, siendo el almidón casi 4 veces más rígido que el polímero sintético. En el caso de las mezclas preparadas a partir del polímero natural y del sintético, se aprecia un comportamiento intermedio para el hidrogel con entrecruzamiento físico. En base a este resultado, los valores parecen seguir la regla de las mezclas directa. Es decir, las mezclas responden a la condición de isodeformación, donde la tensión total del sistema es la suma de las tensiones de cada fase.

Por otra parte, la mezcla con entrecruzamiento químico muestra una rigidez claramente inferior a la mezcla física. Esta diferencia puede deberse a que los hidrogeles físicos fueron expuestos a ciclos térmicos, los cuales favorecen el entrecruzamiento físico de la red conduciendo a un aumento de la rigidez en el material. Por el contrario, los hidrogeles entrecruzados químicamente no fueron sometidos a los ciclos de congelamiento-descongelamiento que generan los puntos de entrecruzamiento físico, lo que lleva a que la rigidez esté determinada únicamente por los enlaces químicos entre el glutaraldehído y los grupos hidroxilo presentes en el almidón y el PVA.

Los resultados de los ensayos de reometría, sugieren que los hidrogeles presentan el siguiente de rigidez:

$$G'_{\text{almidón}} > G'_{\text{al-PVA (f)}} > G'_{\text{al-PVA (q)}} > G'_{\text{PVA}}$$

Se ha reportado en bibliografía que el módulo de los hidrogeles de PVA varía con el número de ciclos de congelamiento-descongelamiento efectuados, así como con la concentración de polímero. A mayor cantidad de ciclos, mayor es la rigidez que estos hidrogeles alcanzan (W.K. Wan y col., 2002) debido a que aumenta la densidad de entrecruzamientos físicos en el material. Lo mismo ocurre con el aumento del porcentaje de PVA (T. Mitsumata y col., 2008).

En el caso de los hidrogeles de almidón, la rigidez depende fuertemente del origen del almidón y de su concentración. El material de partida que se utilizó en este trabajo proviene de papa. En este caso, al igual que para los hidrogeles de almidón de trigo y maíz, existe una relación lineal entre G' y la concentración de polímero (C.G. Biliaderis y B.O. Juliano, 1993). Por otra parte, el tipo de procesamiento también influye en el valor del módulo de corte, ya que al aumentar el número de ciclos térmicos realizados a los hidrogeles, aumenta la rigidez de los mismos (A.C. Eliasson y H.R. Kim, 1992).

Los valores de módulo determinados para el hidrogel de almidón se compararon con otros reportados en la bibliografía para almidón de distintos orígenes. H. Carrillo-Navas y col. (2014) analizaron el comportamiento reológico del almidón proveniente de maíz, papa, banana y trigo, encontrando una amplia variación de G' con la naturaleza del almidón. Por ejemplo, el almidón de maíz mostró un G' de alrededor de 200 Pa y el de papa un valor cercano a los 10000 Pa. Este último valor es algo menor al resultado encontrado para el almidón de papa estudiado en este proyecto. Esto puede deberse al método de procesamiento del material, ya que en este caso, el almidón fue sometido a ciclos térmicos, a diferencia del estudio de H. Carrillo-Navas y col. (2014). Además, debe tenerse en cuenta el efecto de la biodiversidad, ya que estos materiales son polímeros naturales, los cuales dependen fuertemente del origen del vegetal (existen más de 4000 variedades de papa). Por lo tanto, los valores de rigidez obtenidos en este

proyecto para el hidrogel conteniendo 20% p/v, son válidos únicamente para el almidón comercial utilizado y el método de procesamiento empleado.

3.3.1.1. Análisis del módulo de almacenamiento en función de la temperatura para los distintos hidrogeles

Con el fin de analizar la dependencia del comportamiento mecánico de los hidrogeles con la temperatura, se obtuvieron las curvas de módulo de almacenamiento en función de la temperatura, a partir de ensayos reológicos a una frecuencia de 0,1Hz. En la **Figura 19** se observa la relación $G'/G'_{37^{\circ}\text{C}}$ en un rango de temperaturas entre los 20°C a los 45°C. Se eligió esta relación con $G'_{37^{\circ}\text{C}}$ debido a que estos materiales, estarían expuestos a temperatura corporal.

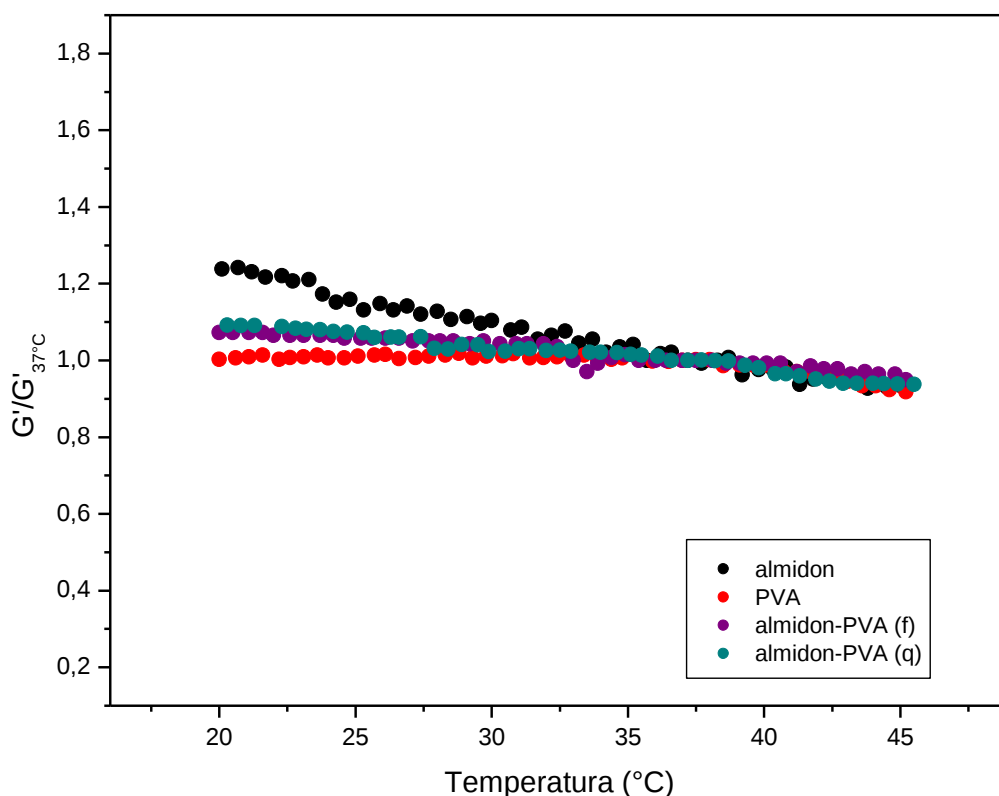


Figura 19. Curvas $G'/G'_{37^{\circ}\text{C}}$ en función de la temperatura para hidrogeles de almidón, PVA, almidón-PVA (f) y almidón-PVA (q).

En las curvas de la **Figura 19**, se observa una leve disminución en la relación $G'/G'_{37^{\circ}\text{C}}$ con el aumento de la temperatura para todos los materiales. El

almidón y el PVA se encuentran nuevamente en los extremos, siendo los hidrogeles puros de almidón los que mayor variación del módulo presentan con la temperatura. Por el contrario, los hidrogeles de PVA presentan una dependencia muy baja en el intervalo evaluado, mientras que las mezclas muestran un comportamiento muy similar entre ellas e intermedio entre los hidrogeles puros.

Debido a la baja dependencia de la respuesta mecánica de los hidrogeles con la temperatura, y a la complejidad experimental asociada a realizar ensayos en cámara termostática, se decidió llevar a cabo el resto de la caracterización mecánica a temperatura ambiente.

3.3.2. Respuesta a la macroindentación

Se realizaron ensayos de macroindentación empleando una punta cilíndrica plana y tres ciclos consecutivos de carga y descarga. Las curvas carga-desplazamiento registradas para los cuatro hidrogeles se muestran en la **Figura 20**.

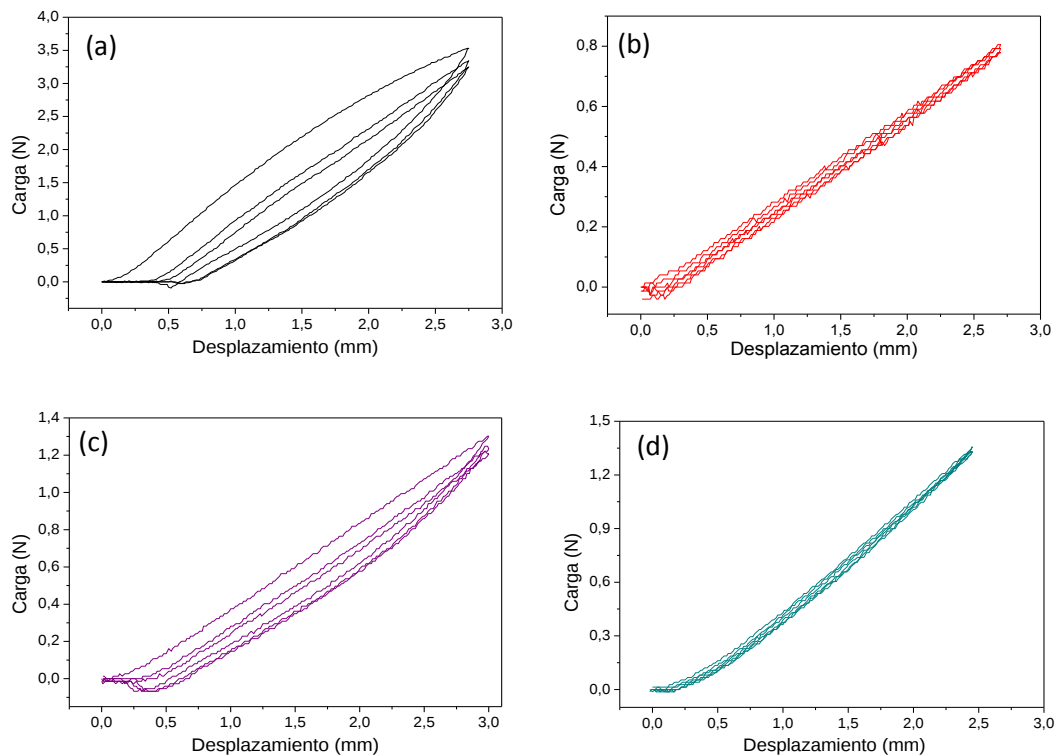


Figura 20. Curvas típicas de 3 ciclos de carga-desplazamiento obtenidas del ensayo de macroindentación para hidrogeles de: **(a)** almidón, **(b)** PVA, **(c)** almidón-PVA (f), y **(d)** almidón-PVA (q).

Se observa que los hidrogeles presentaron una respuesta a la indentación cíclica diferente. Por un lado, el hidrogel de almidón mostró una histéresis muy marcada entre los tres ciclos de carga, siendo la respuesta al primer ciclo notoriamente diferente al resto (**Figura 20-a**). Por otra parte, el hidrogel de PVA no presentó diferencias apreciables entre los distintos ciclos de carga-descarga, es decir, mostró un comportamiento reversible y prácticamente lineal (**Figura 20-b**). El hidrogel de la mezcla PVA-almidón (f) presentó un comportamiento similar al del almidón, aunque con un efecto de histéresis más atenuado (**Figura 20-c**). Por último, el hidrogel entrecruzado químicamente mostró un comportamiento reversible, pero con una relación carga-desplazamiento no lineal (**Figura 20-d**).

El origen de la histéresis en las curvas podría deberse a procesos disipativos que cambian la estructura del material, como la disrupción de puentes de hidrógeno, o al movimiento del fluido entre los poros del gel. En los materiales que mostraron histéresis, se observó la presencia de una pequeña cantidad de agua en la zona de contacto entre la punta y el hidrogel. Además, estos geles mostraron un leve efecto de adhesión entre la punta y el gel, como se evidencia a partir de los valores de carga negativos registrados en el final de las curvas de descarga y la forma convexa de la curva de carga (**Figura 20-a y c**).

El nivel de carga alcanzado para el valor de desplazamiento máximo impuesto fue diferente en cada material, y para aquellos que mostraron histéresis, también fue diferente entre cada ciclo. Los valores de resistencia del gel (*gel strength*), evaluados como la carga alcanzada durante la etapa de carga a un desplazamiento de 2,25 mm, se listan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Valores de resistencia del gel en función del número de ciclo para los cuatro hidrogeles.

Hidrogel	Gel Strength (N)		
	1° ciclo	2° ciclo	3° ciclo
Almidón	3,087	2,671	2,523
PVA	0,663	0,644	0,631
Almidón-PVA (f)	0,953	0,852	0,810
Almidón-PVA (q)	1,215	1,208	1,187

A partir de estos datos, surge el siguiente orden de resistencia (RG) en los hidrogeles:

$$RG_{\text{almidón}} > RG_{\text{al-PVA (q)}} > RG_{\text{al-PVA (f)}} > RG_{\text{PVA}}$$

En la literatura, la resistencia de los hidrogeles físicos se ha asociado directamente a la rigidez de la estructura (J. Eystukard y col., 2009; R.M. Hafidz y col., 2012). Se observa una notable diferencia entre la resistencia que presentó el hidrogel de almidón sobre el resto de los materiales. Esto indica que la rigidez de este hidrogel es superior a la de los otros, lo cual se soporta también a partir de los valores de G' determinados en los ensayos de reometría oscilatoria.

La comparación de los valores de RG con los de G' de la sección 3.3.1 mostró que al aumentar el nivel de deformación impuesta, la rigidez del hidrogel entrecruzado químicamente aumenta por encima del hidrogel mezcla físico. Es decir, que el hidrogel químico tiene una capacidad de endurecimiento por deformación mayor al físico.

Las curvas de indentación obtenidas se modelaron inicialmente, asumiendo una situación de contacto elástico ideal entre un cilindro y un medio semi-infinito. En este análisis, el valor del módulo elástico o rigidez viene dado por (S. Timoshenko y J. Goodier, 1970):

$$E = 3\mu = \frac{P(1-\nu^2)}{2Rh} \quad (10)$$

donde R es el radio del indentador, P es la carga, h la profundidad de penetración y ν el módulo de Poisson. Se asume que el hidrogel es incompresible, entonces $\nu = 0,5$. Los resultados de este análisis se muestran en la **Tabla 4**. Los valores de P/h se obtuvieron de la pendiente de la regresión lineal de las curvas de carga-desplazamiento de la **Figura 20**.

Tabla 4. Valores de módulo elástico (E) obtenidos del análisis de contacto elástico ideal para los hidrogeles de almidón, PVA, almidón-PVA (f), y almidón-PVA (q). Se reportan los valores del coeficiente de regresión lineal para el ajuste de la Ec. (10) y el módulo de corte que surge de la igualdad $E=3\mu$.

Hidrogel	E (kPa)	μ (kPa)	R^2
Almidón	$53,25 \pm 0,11$	$17,75 \pm 0,04$	0,999
PVA	$11,63 \pm 0,05$	$3,87 \pm 0,02$	0,999
Almidón-PVA (f)	$17,25 \pm 0,07$	$5,75 \pm 0,03$	0,998
Almidón-PVA (q)	$22,50 \pm 0,11$	$7,50 \pm 0,04$	0,967

Este análisis aproximado sugiere el siguiente orden de módulo para los hidrogeles:

$$E_{\text{almidón}} > E_{\text{al-PVA (q)}} > E_{\text{al-PVA (f)}} > E_{\text{PVA}}$$

Los valores de E mostraron el mismo orden que los valores de RG. Sin embargo, al observar los coeficientes de regresión lineal de los distintos hidrogeles, se encontró que el valor para el ajuste del hidrogel almidón-PVA (q) resultó ligeramente inferior a 1. Por ello, puede decirse que este modelo elástico lineal no ajusta correctamente a la mezcla química.

Comparando los resultados de este análisis ($E = 3\mu$) con los valores de módulo de corte obtenidos en los ensayos de reometría oscilatoria, se aprecia que, con excepción de la mezcla almidón-PVA (q), el orden de rigidez se mantiene. Los valores de módulo de corte resultan del orden de los valores promedio del módulo de almacenamiento obtenido en los ensayos de reometría.

Recientemente, se estudió en profundidad la respuesta a la indentación de materiales que se comportan de manera hiperelástica mediante ensayos experimentales y simulaciones numéricas (L. Sanchez Fellay y col., 2015). Se demostró que la respuesta a la indentación con punta cilíndrica plana de un sólido Neo-Hookeano presenta una curva carga-desplazamiento lineal, mientras que un material de Ogden, muestra una curva no-lineal con endurecimiento por deformación evidente si el valor del parámetro α es bastante menor a 2. Basándose en estos resultados y en las características de la respuesta experimental (**Figura 19-b y d**), el comportamiento del hidrogel de PVA fue modelado como el de un sólido Neo-Hookeano, mientras que del hidrogel entrecruzado químicamente fue

modelado mediante el modelo de Ogden de primer orden. En ambos casos se asumió un comportamiento incompresible.

Dado que en la configuración de los ensayos de macroindentación el estado tensional impuesto es complejo, no se puede obtener una relación simple entre la tensión y la deformación para un material de Ogden. Por lo tanto, para extraer los parámetros constitutivos de estos modelos, se empleó una metodología desarrollada previamente que combina la técnica del método inverso con simulación numérica. El método emplea el algoritmo de optimización de Trust Region (A.R. Conn y col., 1982) para minimizar la diferencia entre los datos experimentales obtenidos en los ensayos de macroindentación y los datos simulados por elementos finitos utilizando el paquete comercial ABAQUS. En el modelado numérico la punta se considera como un sólido infinitamente rígido y se desprecia la fricción y la adhesión entre la punta y la superficie del gel. El ajuste de los parámetros constitutivos se inicia con la selección de valores para ambos parámetros (μ y α), los cuales se mejoran iterativamente mediante el algoritmo Trust Region. En la **Figura 21** se muestra el mallado empleado en las simulaciones de ABAQUS.

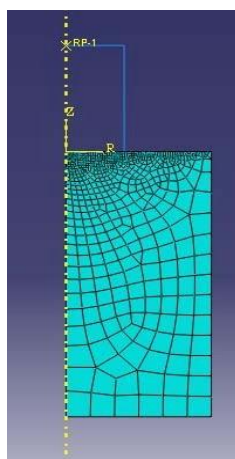


Figura 21. Mallado empleado en las simulaciones de ABAQUS.

Los parámetros constitutivos obtenidos se listan en la **Tabla 5**. Los valores presentados se calcularon como el promedio entre los valores identificados a partir de la segunda y tercera curva de carga de los ciclos.

Tabla 5. Parámetros constitutivos obtenidos a partir de las curvas de macroindentación analizadas por el método inverso.

Hidrogel	μ (kPa)	α
PVA	$9,00 \pm 0,43$	2,00
Almidón-PVA (q)	$13,67 \pm 0,02$	$-5,27 \pm 0,43$

Puede observarse que los hidrogeles de almidón-PVA (q) mostraron mayor módulo de corte que los de PVA. A su vez, los hidrogeles químicos presentaron endurecimiento por deformación por encima del sólido Neo-Hookeano, como lo demuestra el valor del parámetro α (mucho menor a 2). Este último hecho, explica las diferencias encontradas entre las tendencias en G' y RG. Al aumentar el nivel de deformación impuesta, el hidrogel entrecruzado químicamente endurece por deformación, aumentando paulatinamente su rigidez.

En este caso, se observa que los valores extraídos a partir del método inverso resultan superiores a los obtenidos mediante reometría oscilatoria, aunque éstos son del mismo orden, siendo el almidón-PVA (q) más rígido que el PVA. La diferencia entre ambos métodos puede deberse a aspectos no tenidos en cuenta en la idealización del problema (fricción, adhesión), así como a las diferencias en el estado tensional de cada ensayo.

3.3.3. Comportamiento tensión – deformación en compresión uniaxial

Las probetas de los hidrogeles fueron ensayadas en compresión uniaxial para estudiar su respuesta mecánica a grandes deformaciones. Primero se describen las características cualitativas del comportamiento observado para cada tipo de hidrogel y luego se extraen los parámetros constitutivos y se comparan entre sí.

3.3.3.1. Hidrogeles de almidón

Los hidrogeles de almidón mostraron un comportamiento singular. Al ser ensayados en compresión, se evidenció la liberación creciente de agua con el aumento de la carga. La humedad de la superficie se incrementó hasta el momento de la falla, donde se produjo la expulsión de una gran cantidad de agua contenida en su estructura. En todas las probetas, la falla final se produjo como una fisura

longitudinal, como la que se muestra en la **Figura 22**. Más aún, este comportamiento resultó reversible: al retirar la carga de la probeta, la misma recuperó casi totalmente su forma y el agua volvió al interior del material.

El comportamiento antes detallado puede atribuirse a la sinéresis que sufre el almidón por la retrogradación de sus moléculas, fenómeno que se ve favorecido por los ciclos de congelamiento-descongelamiento realizados. Junto con el fenómeno de la sinéresis se genera una estructura tipo “esponja”, donde el agua que es expulsada del material puede fluir fácilmente por los poros al aplicarle un esfuerzo. Este comportamiento se conoce como poroviscoelástico y se ha observado en otro tipo de geles como hidrogeles de gelatina (S. Kalyanam y col., 2009) y de ácido algínico (S. Cai y col., 2010).

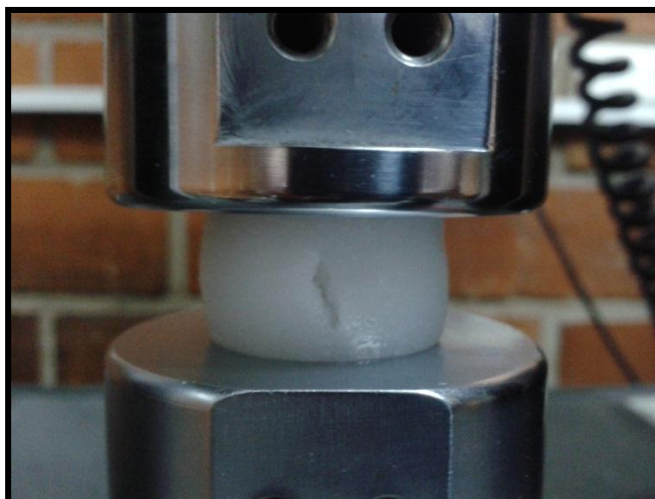


Figura 22. Hidrogel de almidón ensayado en compresión uniaxial.

Cuando un material se comporta como un sólido poroviscoelástico, el comportamiento tensión-deformación a grandes deformaciones es dependiente del tiempo o de la velocidad de deformación. Esta característica es el resultado de dos procesos moleculares: la deformación elástica que sufre la red polimérica (parte sólida del hidrogel) y la migración del fluido (Y. Hu y Z. Suo, 2009). A velocidades de deformación elevadas, el fluido no llega a migrar entre los poros, por lo que soporta carga junto con la red. En cambio, a bajas velocidades de deformación, el solvente tiene tiempo para fluir entre los poros. Por lo tanto, las propiedades mecánicas finales (σ_b y ε_b) cambian con el aumento de la velocidad de deformación. Cuando el solvente soporta carga, la σ_b es mayor pero la deformación

máxima (ϵ_b) se ve disminuida, ya que el fluido no llega a desplazarse y la deformación queda restringida. Por el contrario, cuando las velocidades de deformación son bajas, el solvente fluye por los poros, logrando una deformación a la rotura mayor, pero soportando una tensión máxima menor (A. E. Forte y col., 2015).

Tres de las curvas σ_N - ϵ_N típicas obtenidas del ensayo de compresión del almidón se presentan en la **Figura 23**. Las curvas σ_N - ϵ_N mostraron distintos cambios de pendiente a medida que aumenta el nivel de tensión aplicada. Este fenómeno, que se repitió en todas las probetas ensayadas, puede atribuirse a un posible reacomodamiento de la estructura debido a la pérdida del agua libre contenida en los poros, o bien, a heterogeneidades en la probeta. De hecho, la presencia de solvente exudado en la superficie fue notoriamente visible luego del primer cambio de pendiente, aproximadamente a una deformación nominal del 10%.

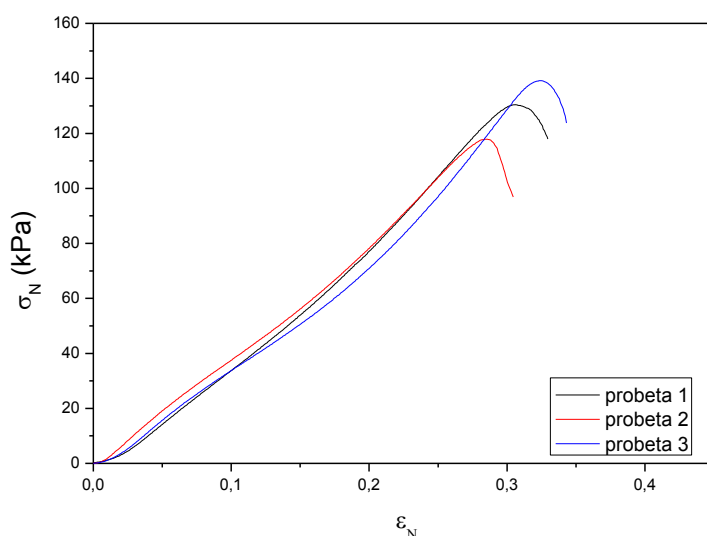


Figura 22. Curvas σ_N - ϵ_N para hidrogeles de almidón.

3.3.3.2. Hidrogeles de PVA

Los hidrogeles de PVA mostraron una gran capacidad de deformación. En la **Figura 24** se presentan dos imágenes del ensayo de compresión de un hidrogel de PVA, en el inicio del ensayo y antes de la ruptura. No se observó exudación de agua durante el ensayo.

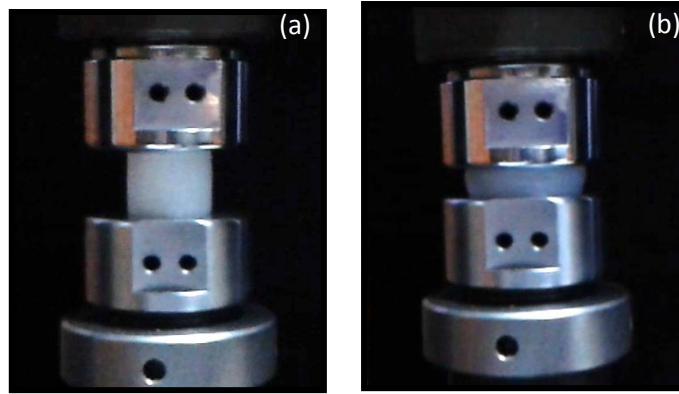


Figura 23. Hidrogel de PVA ensayado en compresión uniaxial: **(a)** al comienzo del ensayo, y **(b)** antes de la ruptura de la probeta.

En la **Figura 25** se presentan las curvas σ_N - ϵ_N para los hidrogeles de PVA. El comportamiento que muestran estos materiales puede considerarse hiperelástico con endureciendo por deformación. La curva de tensión resultó creciente y altamente no lineal. No se observaron oscilaciones en la curva, como en el caso de los hidrogeles de almidón. Este tipo de comportamiento se ha observado también en otros hidrogeles, como los de quitosano (A. Sasson y col., 2012), los de gelatina bovina y porcina (M. Czerner y col., 2013), e hidrogeles de almidón modificados (C. Gamonpilas y col., 2010).

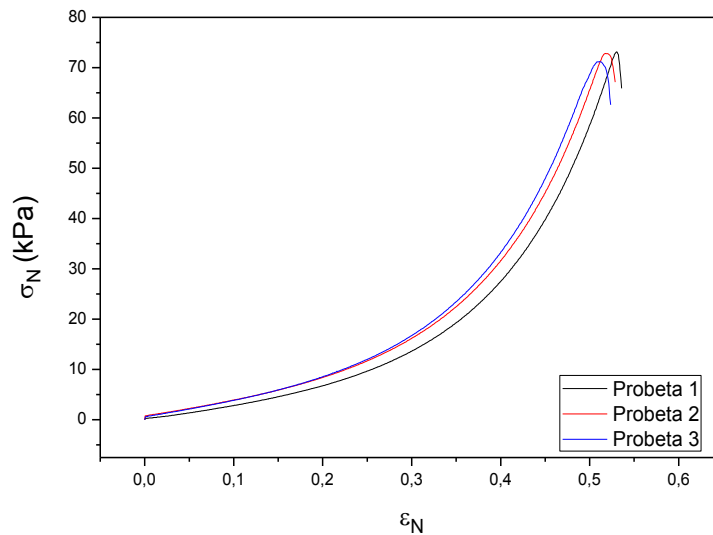


Figura 24. Curvas σ_N - ϵ_N para hidrogeles de PVA.

3.3.3.3. Hidrogeles de almidón-PVA con entrecruzamiento físico

Los hidrogeles mezcla con entrecruzamiento físico presentaron un comportamiento a la compresión particular, observándose un pequeño exudado en la superficie de las probetas, menos pronunciado que el de los hidrogeles de almidón. La **Figura 26** muestra una imagen de este hidrogel durante el ensayo de compresión.



Figura 25. Hidrogel de almidón-PVA (f) ensayado en compresión uniaxial.

Las curvas σ_N - ϵ_N de los hidrogeles almidón-PVA (f) (**Figura 27**) mostraron una variación de la pendiente con el aumento de la deformación, al igual que los hidrogeles puros de almidón. Este comportamiento resultó más significativo antes de evidenciarse la presencia de agua en la superficie de las probetas. Por lo tanto, puede decirse que esta oscilación en la curva de carga se debe a un reacomodamiento de la estructura del hidrogel, debida al movimiento hacia la superficie del agua libre dentro de los poros.

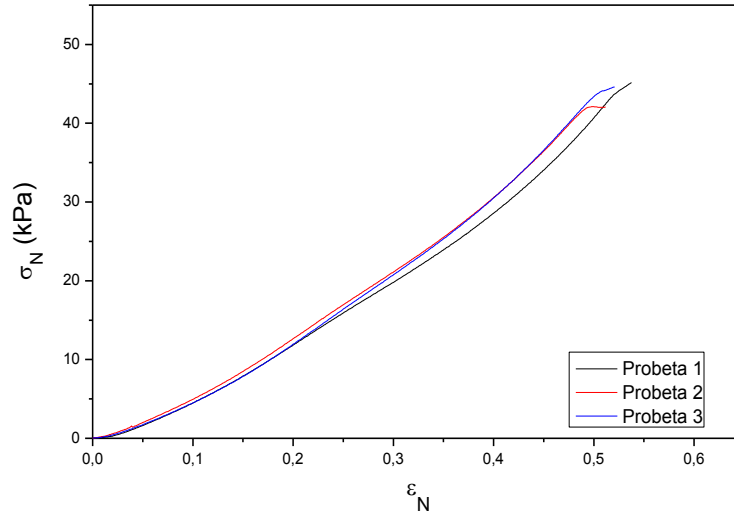


Figura 26. Curvas σ_N - ϵ_N para hidrogeles de almidón-PVA con entrecruzamiento físico.

3.3.3.4. Hidrogeles de almidón-PVA con entrecruzamiento químico

Si bien la mezcla de almidón con PVA entrecruzada químicamente presentó algo de adherencia con los moldes, no se observó ese comportamiento con los platos de la máquina de ensayos, por lo que los estudios de compresión uniaxial se pudieron realizar sin problemas.

Como puede evidenciarse en la **Figura 28**, estos hidrogeles mostraron una gran capacidad de deformación. A su vez, no se apreció exudación de solvente. Este hecho fortalece la justificación del porqué del exudado de los hidrogeles de almidón como los de almidón-PVA (f), ya que los hidrogeles mezcla con entrecruzamiento químico no se sometieron a ciclos de congelamiento-descongelamiento.

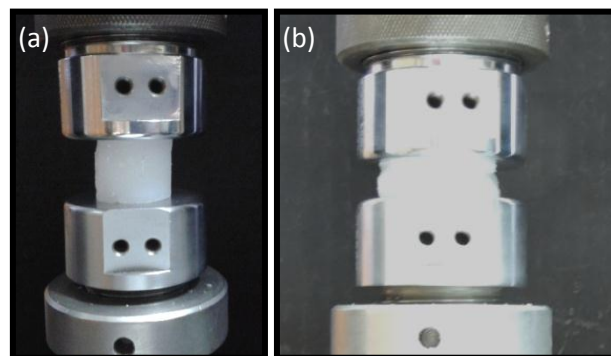


Figura 27. Hidrogel de almidón-PVA con entrecruzamiento químico ensayado en compresión uniaxial: **(a)** al comienzo del ensayo, y **(b)** antes de la ruptura de la probeta.

Las curvas experimentales de σ_N - ϵ_N para este tipo de hidrogeles se muestran en la **Figura 29**. El comportamiento de estos materiales fue típicamente hiperelástico con endurecimiento por deformación, presentando una curva de tensión creciente con la deformación, sin oscilaciones.

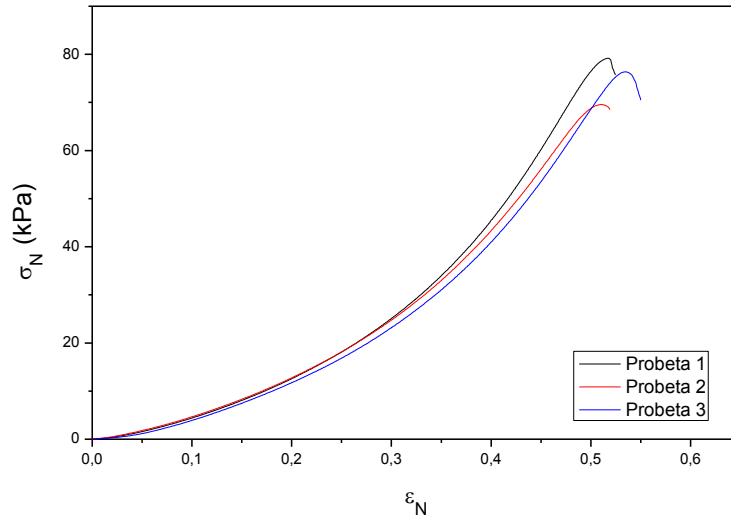


Figura 28. Curvas σ_N - ϵ_N para hidrogeles de almidón-PVA con entrecruzamiento químico.

3.3.3.5. Comparación del comportamiento tensión-deformación y modelado constitutivo.

Si se comparan las curvas completas de tensión-deformación (**Figuras 23, 25, 27 y 29**), pueden observarse nuevamente, al igual que en los ensayos de macroindentación, dos tipos de comportamiento bien marcados. Tanto los hidrogeles de PVA como los hidrogeles entrecruzados químicamente mostraron un comportamiento hiperelástico, mientras que los geles que contienen almidón entrecruzado físicamente mostraron un comportamiento poroviscoelástico, donde el flujo de solvente a través de los poros ocurre desde bajos niveles de deformación.

Los datos experimentales expresados en términos de tensión vs. relación de estiramiento (σ - λ) se muestran en la **Figura 30**. A partir de estas gráficas, se caracterizó el comportamiento inicial (bajas deformaciones) de todos los hidrogeles ajustando las curvas experimentales al modelo Neo-Hookeano (Ecuación (6)), con $\alpha=2$). El ajuste se realizó en el intervalo de $0.95 < \lambda < 1$. Los

valores de módulo de corte (μ_{NH}) obtenidos se presentan en la **Tabla 6** junto con el coeficiente de regresión (no lineal) del ajuste de cada curva.

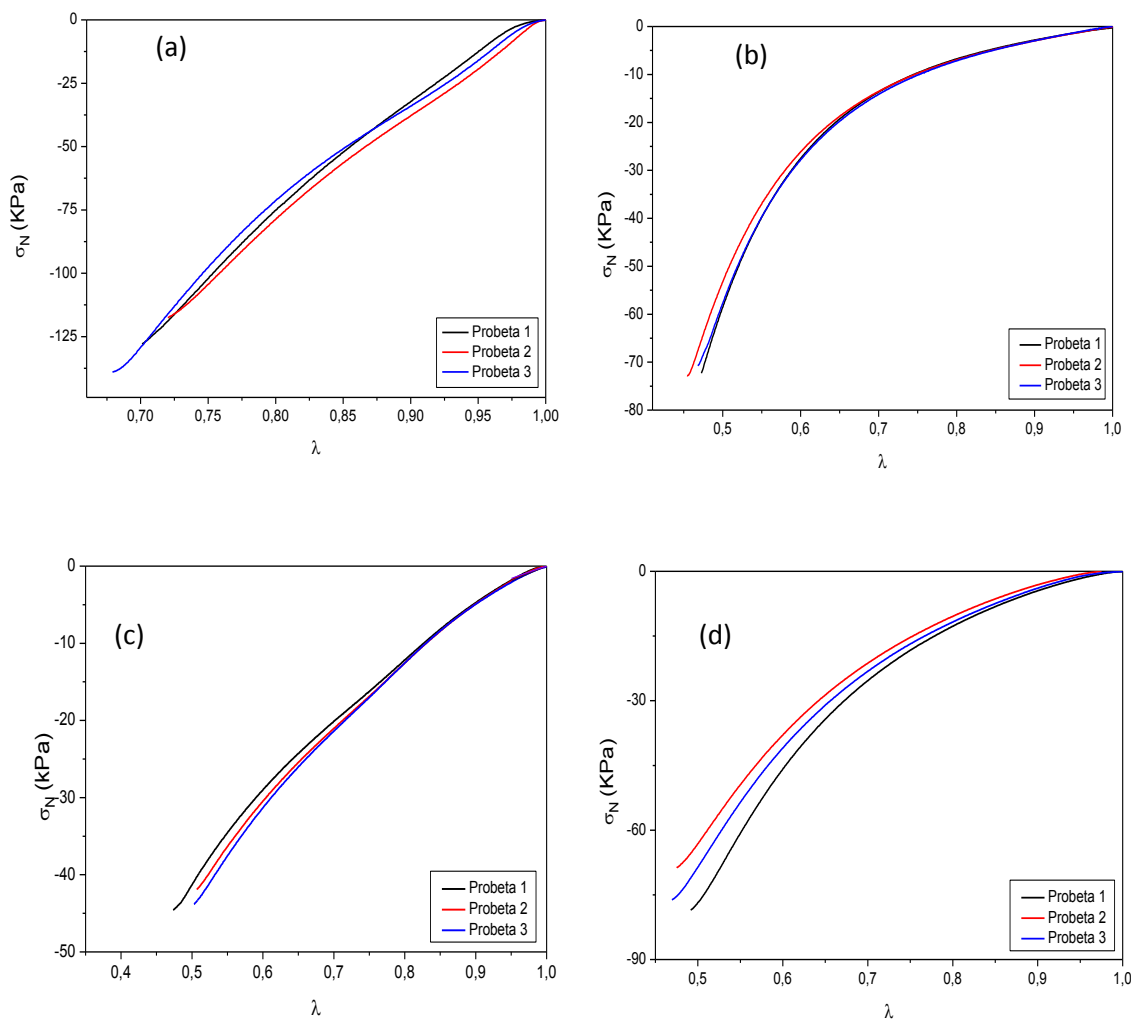


Figura 29. Curvas σ - λ para hidrogeles de **(a)** almidón, **(b)** PVA, **(c)** almidón-PVA (f) y **(d)** almidón-PVA (q).

Tabla 6. Valores del módulo de corte inicial promedio y coeficientes de regresión para el ajuste del modelo Neo-Hookeano a bajas deformaciones.

Hidrogel	Modelo constitutivo Neo-Hookeano			
	μ_{NH} (kPa)	R^2_1	R^2_2	R^2_3
Almidón	90,82 ± 22,33	0,887	0,951	0,944
PVA	8,80 ± 0,51	0,999	0,996	0,997
Almidón-PVA (f)	11,26 ± 1,03	0,942	0,966	0,953
Almidón-PVA (q)	8,57 ± 1.75	0,987	0,991	0,985

A juzgar por los valores del coeficiente de regresión, el ajuste del modelo Neo-Hookeano resultó aceptable para los hidrogeles de PVA y almidón-PVA (q). Consistentemente con la respuesta observada, ambos hidrogeles presentan una rigidez similar. Por otra parte, el ajuste para los hidrogeles de almidón y almidón-PVA (f) mostró un coeficiente de regresión con mayor desviación. Esto puede deberse a que la respuesta mecánica se ve influenciada por la migración del agua libre en la estructura. Por lo tanto, el modelo Neo-Hookeano no es capaz de describir adecuadamente el comportamiento inicial. Los valores de módulo de corte inicial de la **Tabla 6** son sólo estimativos para los hidrogeles que contienen almidón entrecruzado físicamente. De todos modos, estos valores sugieren que el almidón es el hidrogel más rígido, al igual que lo encontrado en los otros ensayos a bajas deformaciones.

El ajuste del modelo Neo-Hookeano se extendió al intervalo completo de relación de estiramiento experimental para los hidrogeles de PVA y de almidón-PVA (q). En este caso, el ajuste se hizo en forma concatenada, es decir, se encontró el parámetro que mejor ajusta las tres curvas a la vez. Los resultados del módulo de corte se encuentran en la **Tabla 7**. Los valores del coeficiente de regresión (R^2) resultaron menores a los hallados para el ajuste a bajas deformaciones. Por lo que el modelo Neo-Hookeano no fue capaz de predecir la respuesta de estos hidrogeles a grandes deformaciones.

Tabla 7. Valores del módulo de corte y coeficientes de regresión para el ajuste del modelo Neo-Hookeano en todo el intervalo de deformación.

Hidrogel	Modelo constitutivo Neo-Hookeano	
	μ_{NH} (kPa)	R^2
PVA	14.17 ± 0.05	0.943
Almidón-PVA (q)	19.76 ± 0.03	0.951

Para mejorar el modelado constitutivo de estos hidrogeles, las curvas tensión-relación de estiramiento se ajustaron con el modelo de Ogden de primer orden, de acuerdo a la Ecuación (6). Para realizar el ajuste se utilizó como valores semilla el par $\mu_0 = 10$, $\alpha = -2$. Los valores de los parámetros μ y α que surgieron de estos ajustes se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Valores de los parámetros del modelo de Ogden de primer orden para los hidrogeles de PVA y almidón-PVA (q).

Hidrogel	OGDEN		
	μ_0 (kPa)	α	R^2
PVA	$6,91 \pm 0,02$	$-2,4 \pm 0,01$	0,997
Almidón-PVA (q)	$15,08 \pm 0,07$	$-0,69 \pm 0,02$	0,992

Los valores de R^2 mejoraron respecto a los obtenidos con el modelo Neo-Hookeano (**Tabla 7**), siendo muy cercanos a 1, lo que indica que el modelo de Ogden de primer orden aplica a este tipo de hidrogeles.

Los valores de α inferiores a 2 indican que a grandes deformaciones se produce endurecimiento por deformación más allá del que presentaría un sólido Neo-Hookeano. El parámetro α es un indicador de esta capacidad de endurecimiento por deformación. A diferencia de los resultados anteriores, el modelo de Ogden sugiere que el módulo de corte inicial del hidrogel de PVA es bastante menor que el del hidrogel de almidón-PVA (q), y que el PVA posee una mayor capacidad de endurecimiento por deformación. Por lo tanto, a medida que aumenta la deformación, su rigidez se incrementa, pudiendo alcanzar los valores de rigidez del hidrogel de almidón-PVA (q) a deformaciones elevadas.

Puede apreciarse que los resultados obtenidos a partir de este modelo constitutivo mantienen el orden de módulo que surgió de los ensayos de reometría oscilatoria y macroindentación. Sin embargo, a diferencia de lo que se observó en macroindentación, el comportamiento del PVA a grandes deformaciones se ajustó mejor con el modelo de Ogden de primer orden que con el modelo Neo-Hookeano. Esto indica que existe un endurecimiento por deformación mayor al que predice el modelo Neo-Hookeano y se manifiesta a deformaciones mayores en el hidrogel de PVA que en el hidrogel entrecruzado químicamente.

También se realizaron ensayos exploratorios para evaluar el comportamiento del hidrogel entrecruzado químicamente en la condición de hinchamiento de equilibrio. En la **Figura 31** se comparan las curvas de σ_N - ϵ_N para el hidrogel tal como fue sintetizado (20% p/v) y el hidrogel hinchado (18,5% p/v).

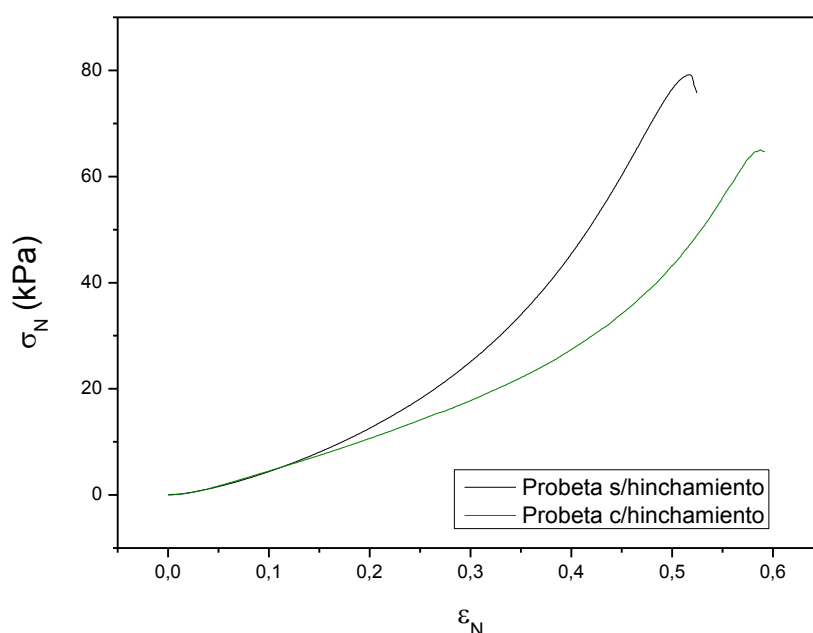


Figura 30. Comparación del comportamiento tensión-deformación en compresión uniaxial del hidrogel almidón-PVA (q) original (20% p/v) y el mismo hidrogel en las condiciones de hinchamiento en agua de equilibrio.

Pudo observarse que la presencia de una mayor cantidad de “agua libre” contenida en la estructura del hidrogel, incrementó su capacidad de fluir fuera de la estructura, tal como se había encontrado en los hidrogeles físicos que contenían almidón. En la **Figura 31** se aprecia que, a bajas deformaciones, el hidrogel se comportó de modo similar en ambas condiciones. Cuando el nivel de deformación aumentó más allá del 15%, la tensión desarrollada en el hidrogel hinchado fue menor que la del hidrogel original (a un mismo nivel de deformación), lo que puede deberse a que el agua que escapa de la estructura deja de soportar carga, y por lo tanto el material se debilita. El nivel de deformación máxima alcanzado resultó similar en ambas condiciones.

El ajuste de un modelo constitutivo poroviscoelástico, capaz de describir el comportamiento de los hidrogeles de almidón y de almidón-PVA (f), como posiblemente también el de los hidrogeles químicos, no es tan simple como el de un modelo hiperelástico. La teoría del comportamiento poroviscoelástico fue desarrollada por Biot (M.A. Biot, 1962). Esta teoría puede ser adaptada para diferentes materiales. Existen diversos modelos matemáticos disponibles en literatura, como por ejemplo el modelo BPE (Biphasic Polymeric Media), el cual

emplea para su ajuste valores experimentales tales como porosidad real del material, tamaño de poros, viscosidad, tensión superficial y fracción volumétrica del solvente, (S. Kalyanam y col., 2009), entre otros. Estos parámetros no fueron determinados en el marco de este proyecto, debido a la complejidad experimental y a la no disponibilidad de las técnicas adecuadas. Cabe aclarar que el ajuste de estos parámetros sólo puede hacerse empleando el método inverso junto al modelado por elementos finitos. Un trabajo de estas características fue desarrollado recientemente por A.E. Forte y col., (2015) para hidrogeles de gelatina.

Por último, con el fin de comparar la capacidad máxima de deformación y de soportar carga de los cuatro hidrogeles, se determinaron los valores de tensión y deformación a la rotura a partir de las curvas σ_N - ϵ_N presentadas en las **Figuras 23, 25, 27 y 29**. Estos valores se listan en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Valores de tensión y deformación últimas en compresión uniaxial para los cuatro tipos de hidrogeles.

Hidrogel	ϵ_b	σ_b (kPa)
Almidón	$0,30 \pm 0,01$	$129,18 \pm 8,76$
PVA	$0,52 \pm 0,01$	$72,39 \pm 0,86$
Almidón-PVA (f)	$0,51 \pm 0,01$	$43,22 \pm 0,79$
Almidón-PVA (q)	$0,52 \pm 0,01$	$75,02 \pm 4,04$

Todos los hidrogeles que contienen PVA alcanzaron una deformación máxima similar ($\sim 50\%$) y muy superior a la de los hidrogeles de almidón. Por su parte, el hidrogel de almidón mostró el mayor valor de tensión a la rotura. Las propiedades finales de los hidrogeles de PVA y almidón-PVA (q) fueron muy similares entre sí. Los hidrogeles de almidón-PVA (f) presentaron la menor tensión a la rotura.

En cuanto a la comparación entre las propiedades últimas de los hidrogeles formulados a partir de las mezclas, puede observarse que la capacidad de deformación máxima fue similar. Sin embargo, la tensión alcanzada en los geles químicos fue muy superior a la de los geles entrecruzados físicamente. La similitud en la capacidad de deformación resulta una coincidencia, no era de esperar un

comportamiento semejante entre hidrogeles con puntos de entrecruzamiento de naturaleza diferente. En los hidrogeles físicos, el proceso de fractura se produce por desenredo de las cadenas poliméricas, donde la fricción polímero/solvente y la velocidad de deformación juegan un rol muy importante (T. Baumberger y col., 2006 (a)). Generalmente, en estos geles se encuentra que la tenacidad es proporcional a la rigidez. En los hidrogeles químicos, la fractura se da por la rotura de enlaces covalentes y la relación entre rigidez y tenacidad es inversamente proporcional, al igual que ocurre en los elastómeros (T. Baumberger y col., 2006 (b)).

Capítulo 4. Conclusiones y aplicaciones potenciales de los hidrogeles formulados

4.1. Conclusiones generales

Luego de un extenso período de experimentación, se lograron poner a punto las condiciones de procesamiento que permitieron obtener hidrogeles entrecruzados tanto física como químicamente. Estas condiciones condujeron a materiales reproducibles. El control del proceso de gelatinización del almidón comercial, junto con el procesamiento de los hidrogeles entrecruzados con glutaraldehído, presentaron las mayores dificultades experimentales.

Manteniendo una concentración total de polímero igual al 20% p/v, se lograron obtener hidrogeles físicos de los dos polímeros puros (almidón y PVA) y de la mezcla almidón-PVA en relación 1:1 en masa, empleando tres ciclos de congelamiento-descongelamiento. También se prepararon hidrogeles de la mezcla almidón-PVA (1:1) entrecruzados químicamente con glutaraldehído. Los resultados de FTIR mostraron que el entrecruzamiento químico fue efectivo, puesto que se evidenció una reducción en el número de grupos hidroxilo presentes, respecto de la mezcla entrecruzada físicamente, debido a la reacción química.

Los materiales presentaron una ultraestructura porosa, cuya morfología dependió de la composición, del tipo de entrecruzamiento (físico o químico) y del procesamiento. Los hidrogeles de almidón presentaron el mayor tamaño de poros, mientras que los de PVA el menor. Las mezclas mostraron tamaños intermedios.

Consistentemente con el tamaño de los poros, los hidrogeles liofilizados de almidón mostraron una mayor capacidad de absorber agua en su estructura que los hidrogeles de PVA. La mezcla entrecruzada físicamente presentó un comportamiento similar al del almidón puro. Puede decirse que en las mezclas, el almidón gobernó el proceso de hinchamiento, debido a su alta capacidad de mojado e hidrofiliidad. Los hidrogeles de la mezcla química presentaron una alta velocidad de absorción y un grado de hinchamiento de equilibrio mucho mayor al de los otros materiales. Estas características cinéticas se condicen con el comportamiento de un hidrogel superporoso, con una estructura de poros interconectada. No se encontró una relación directa entre el grado de

hinchamiento de equilibrio (W) y la constante cinética del proceso (K), como se observó a partir de la comparación de los siguientes órdenes:

$$W_{\text{al-PVA (q)}} > W_{\text{almidón}} \sim W_{\text{al-PVA (f)}} > W_{\text{PVA}}$$

$$K_{\text{al-PVA (q)}} \gg K_{\text{PVA}} > K_{\text{almidón}} > K_{\text{al-PVA (f)}}$$

En los ensayos de reometría oscilatoria a bajas deformaciones, el comportamiento de todos los hidrogeles correspondió a la zona de “comportamiento gomoso”. Esto indica que en todos los hidrogeles predominó el comportamiento de sólido elástico. Los valores de módulo de almacenamiento (G') indicaron el siguiente orden de rigidez:

$$G'_{\text{m almidón}} > G'_{\text{m al-PVA (f)}} > G'_{\text{m al-PVA (q)}} > G'_{\text{m PVA}}$$

Se observó además, que la mezcla almidón-PVA (f) (1:1) siguió la regla de mezclas directa respecto de los hidrogeles de almidón y PVA puros preparados bajo el mismo método. Todos los materiales presentaron una leve dependencia del módulo de almacenamiento con la temperatura entre 20 y 45°C.

Los valores de resistencia del gel evaluados en macroindentación sugirieron el siguiente orden de resistencia (RG):

$$RG_{\text{almidón}} > RG_{\text{al-PVA (q)}} > RG_{\text{al-PVA (f)}} > RG_{\text{PVA}}$$

La comparación de los valores de RG con los de G' obtenidos de los ensayos de reometría oscilatoria, mostró que al aumentar el nivel de deformación impuesta, la rigidez del hidrogel entrecruzado químicamente se incrementó por encima de la del hidrogel físico. Es decir, que el hidrogel químico presentó una capacidad de endurecimiento por deformación mayor a la del físico.

Los hidrogeles físicos que contenían almidón presentaron histéresis entre las curvas carga-desplazamiento de los distintos ciclos registrados en los ensayos de macroindentación y evidenciaron efectos de adhesión entre el indentador y la superficie de la muestra. Por otra parte, los hidrogeles de PVA y de la mezcla entrecruzada químicamente mostraron un comportamiento hiperelástico reversible. La respuesta a la indentación de estos últimos hidrogeles fue modelada constitutivamente empleando el método inverso asistido por simulación numérica (FEM). El comportamiento de los hidrogeles de PVA se describió con el modelo Neo-Hookeano, mientras que el de la mezcla entrecruzada químicamente con el

modelo de Ogden de primer orden. Esto indicó que el hidrogel químico posee una capacidad de endurecimiento por deformación mayor al hidrogel físico de PVA.

Los ensayos de compresión uniaxial mostraron nuevamente dos tipos diferentes de comportamiento. Los hidrogeles conteniendo almidón y entrecruzados físicamente se comportaron de manera notoriamente poroviscoelástica. Este resultado fue atribuido a la gran cantidad de agua libre presente en estos geles, debido a los fenómenos de retrogradación y sinéresis que sufre el almidón durante los ciclos de congelamiento-descongelamiento. El agua resultó capaz de fluir a través de la estructura de poros de los hidrogeles, desde bajos niveles de tensión aplicados. Por otro lado, los hidrogeles de PVA con entrecruzamiento físico y los de la mezcla almidón-PVA entrecruzados con glutaraldehído, mostraron un comportamiento hiperelástico con endurecimiento por deformación más allá del sólido Neo-Hookeano. La respuesta a la compresión uniaxial se modeló constitutivamente empleando el modelo de Ogden de primer orden. La comparación entre el modelado constitutivo realizado en indentación y en compresión uniaxial indicó que la capacidad de endurecimiento por deformación más allá del sólido Neo-Hookeano se manifiesta a un nivel de deformación mayor en el PVA que en los hidrogeles químicos.

Los ensayos de compresión uniaxial exploratorios realizados en una probeta del hidrogel de la mezcla almidón-PVA entrecruzado químicamente e hinchado hasta su valor de equilibrio, mostraron que en presencia de “agua libre” el comportamiento se vuelve poroviscoelástico. Es decir, al aplicar un esfuerzo mecánico, el agua es capaz de fluir fácilmente a través los poros de la estructura.

Los hidrogeles de almidón entrecruzados físicamente perdieron integridad estructural luego de alcanzar el máximo nivel de hinchamiento, por lo que su aplicación biomédica potencial se encontraría limitada a liberación controlada de fármacos.

4.2. Aplicaciones potenciales

Las aplicaciones de los hidrogeles en el campo de los materiales biomédicos son muy diversas. Los hidrogeles basados en polímeros naturales, como el almidón, o en polímeros sintéticos como el PVA, han sido de gran interés en

liberación controlada de fármacos y la encapsulación de células. Los hidrogeles también son atractivos en el campo de la ingeniería de tejidos, especialmente como matrices reparadoras y regeneradoras de una variedad amplia de tejidos y órganos (A.S. Hoffman, 2002).

Los hidrogeles estudiados en este proyecto encuentran aplicaciones potenciales dentro del campo de la ingeniería de tejidos. Específicamente, se puede destacar su uso en la regeneración de cartílago. Sin embargo, se debe garantizar una correcta respuesta mecánica frente a las sollicitaciones que estos tejidos experimentan. El módulo de algunos tejidos biológicos se muestra en la **Tabla 10** (R.S. Lakes, 1998).

Tabla 10. Valores de módulo de algunos materiales biológicos, obtenidos a 1,6 Hz.

Material	G'
Hueso	4 GPa
Cartílago articular	0,6 - 1 MPa
Meniscos	100 kPa
Núcleo pulposo	11 kPa

Según los valores presentados en la **Tabla 10**, la rigidez de los hidrogeles obtenidos en este proyecto es del orden del tejido de los núcleos pulposos. Estos tejidos biológicos forman parte de los discos intervertebrales. El disco intervertebral es una combinación de tejidos conectivos resistentes que actúan como amortiguadores entre una vértebra y otra. El disco está formado por una capa externa dura llamada anillo fibroso y un centro similar al gel llamado núcleo pulposo. A medida que una persona envejece, el núcleo pulposo puede empezar a perder su contenido, disminuyendo su eficacia. Esto puede ocasionar el desplazamiento del centro del disco (llamado hernia de disco o disco roto) a través de una fisura en la capa externa (<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/herniateddisk.html>). Se considera que la causa principal de los dolores de espalda agudos se debe a cambios degenerativos en los discos intervertebrales. Existen evidencias que indican que la degeneración de estos tejidos se origina en los núcleos pulposos, los cuales no poseen capacidad propia de regeneración (I.M. Sebastine y D.J. Williams, 2007).

Hoy en día, el tratamiento quirúrgico que se utiliza para las hernias de disco consiste en su reemplazo por una pieza ósea extraída de la parte superior de la cadera (**Figura 32-a**). El injerto de hueso se usa para unir las dos vértebras afectadas, y se ajusta en el sitio con clavos, placas o tornillos, anulando la movilidad de las dos piezas vertebrales afectadas (**Figura 32-b**) (http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_presentations/100136_1.htm).

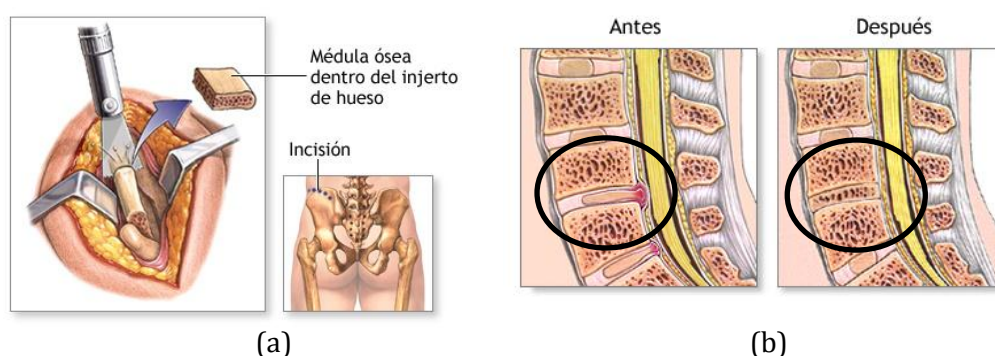


Figura 31. Procedimiento quirúrgico de hernia de disco. **(a)** Extracción del hueso de cadera (injerto). **(b)** Imágenes ilustrativas: antes del procedimiento y luego del mismo.

La ingeniería de tejidos ofrece un cambio de paradigma en el tratamiento de esta patología. Los discos intervertebrales diseñados mediante esta aproximación podrían reemplazar el tejido degenerado y superar las limitaciones de los tratamientos que se realizan actualmente, los cuales alteran las propiedades biomecánicas de la columna vertebral (D.G.T. Strange y M.L. Oyen, 2011), como se mostró anteriormente.

Este proyecto sugiere que los hidrogeles obtenidos presentarían propiedades mecánicas acordes a las de los núcleos pulposos de discos intervertebrales.

En primer lugar, como se indica en la **Tabla 10**, la rigidez de los núcleos pulposos es del orden de los hidrogeles desarrollados en este trabajo. El valor de módulo puede ajustarse manipulando el contenido de polímero en la solución que formará el hidrogel, como también el grado de entrecruzamiento físico (ciclos de congelamiento-descongelamiento) o químico (agentes entrecruzantes).

Por otro lado, los discos intervertebrales son avasculares, por lo que carecen de capacidad de regeneración. La forma de nutrición de estos tejidos es

mediante una membrana semipermeable, por donde las sustancias se transportan por difusión. Sin embargo, la función de esta membrana se encuentra influida por los esfuerzos de compresión a las que está sometida. Por ejemplo, un aumento la tensión compresiva produce la salida de las sustancias intradiscales, y lo inverso ocurre durante la descompresión. Cuando la tensión a la que está sometido un disco es demasiado alta, la difusión de sustancias desde el sistema venoso se paraliza, produciéndose el retardo del metabolismo celular (G.L.J. García, 2009).

El fenómeno antes descrito se condice con el comportamiento poroviscoelástico que presentaron los hidrogeles que conteniendo almidón tratados mediante ciclos de congelamiento-descongelamiento. En estos materiales, el agua libre contenida puede fluir fácilmente por los poros hacia el exterior al aplicarles presión, y la misma es capaz de retornar al interior al cesar la sollicitación. A su vez, al aplicar una tensión a velocidades altas, el agua no alcanza a fluir a través de los poros de la estructura y pasa a soportar carga. Este comportamiento es análogo al del disco intervertebral cuando se somete a una fuerza demasiado rápido y se paraliza la difusión de sustancias.

En conclusión, los resultados de la caracterización llevada a cabo en este proyecto muestran que los hidrogeles obtenidos presentarían un comportamiento mecánico semejante al de los núcleos pulposos de los discos intervertebrales. Por consiguiente, al haber sido producidos a partir de polímeros biocompatibles y no tóxicos, poseen un gran potencial en el campo de la ingeniería de tejidos para el reemplazo parcial o total de este tipo de tejidos.

En esta dirección, la estrategia para hallar la formulación más adecuada involucraría el estudio de mezclas almidón-PVA en otras proporciones y la variación de la cantidad de ciclos en el procesamiento, así como la generación de redes interpenetradas (IPNs). El agente de entrecruzamiento químico debería reemplazarse por uno de origen natural, tal como la genipina. Por otra parte, la caracterización mecánica en condiciones de compresión confinada sería relevante en esta aplicación. La investigación debería incluir estudios de degradación y ensayos *in vitro* de viabilidad celular.

Referencias

Abd Karim A., Norziah M.H., Seow C.C., "Methods for the study of starch retrogradation". Food Chemistry, Vol. 71: 9-36, 2000.

Abraham G.A., Caracciolo P.C., Buffa F., Cuadrado T.R., "Diseño y Preparación de Matrices Poliméricas Porosas para Ingeniería de Tejidos Biológicos". Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de Buenos Aires, Vol. 59, 2007

Bertoft E., Blennow A., "Structure of potato starch, in Advances in potato chemistry and technology". Academic Press, 83-98, 2009.

Biliaderis C.G., Juliano B.O., "Thermal and mechanical properties of concentrated rice Storch gels of varying composition". Food Chemistry, Vol. 48: 243-250, 1993.

Biot M.A., "Mechanics of deformation and acoustic propagation in porous media. Journal of Applied Physics, Vol. 33: 1482-1497, 1962.

Bispo V.M., Mansur A.A., Barbosa-Stancioli E.F., Mansur H.S., "Biocompatibility of nanostructured chitosan/ poly(vinyl alcohol) blends chemically crosslinked with genipin for biomedical applications". Journal of Biomedical Nanotechnology, Vol. 6: 166-175, 2010.

Buamberger T., Caroli C., Martina D., "Fracture of a biopolymer gel as a viscoplastic disentanglement process". The European Physical Journal, Vol. 21: 81-89, 2006 (b).

Buamberger T., Caroli C., Martina D., "Solvent control of crack dynamics in a reversible hydrogel". Nature Materials, Vol. 5: 552-555, 2006 (a).

Cai S., Hu Y., Zhao X., Suo Z., "Poroelasticity of covalently crosslinked alginate hydrogels under compression". Journal of Applied Physics, Vol. 108, 2010.

Caracciolo P.C., Cortez Tornello P.R., Montini Ballarin F., Abraham G.A., "Development of electrospun nanofibers for biomedical applications: State of the

art in Latin America", Journal Biomaterials and Tissue Engineering: Vol. 3: 39-60, 2013.

Carrillo-Navas H., Hernández-Jaimes C., Utrilla-Coello R.G., Meraz M., Vernon-Carter E. J., Alvarez-Ramirez J., "Viscoelastic relaxation spectra of some native starch gels". Food Hydrocolloids, Vol. 37, 2014.

Chavda H.V., Patel C.N., "Effect of crosslinker concentration on characteristics of superporous hydrogel". International Journal of Pharmaceutical Investigation, Vol. 1: 17-21, 2011.

Chen H.B., Hollinger E., Wang Y.Z., Schiaraldi D.A., "Facile fabrication of poly(vinyl alcohol) gels and derivative aerogels". Polymer, Vol. 55: 380-384, 2014.

Chen J., Jo S., Park K., "Polysaccharide hydrogels for protein drug delivery". Carbohydrate Polymers, Vol. 28: 69-76, 1995.

Comley K., Fleck N., "The compressive response of porcine adipose tissue from low to high strain rate". International Journal of Impact Engineering, Vol. 46: 1-10, 2012.

Conn A.R., Gould N.I.M., Toint P.L., "Trust Region Methods", Siam, Philadelphia, 1982.

Czerner M., Fasce L.A., Sanchez-Fellay L., Suárez M.P., Frontini P.M., "Indentación de geles de gelatina: Determinación del módulo elástico mediante ensayos a distinta escala". Simposio internacional sobre materiales lignocelulósicos, 2013.

Donovan J.W., "Phase transitions of the starch-water system". Biopolymers, Vol. 18: 263-275, 1979.

Drozdov A.D., Sanporean C.G., Christiansen J.C., "Mechanical response of HEMA gel under cyclic deformation: Viscoplasticity and swelling-induced recovery". International Journal of Solids and Structures, 2015.

Drury J. L., D. J. Mooney, "Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications". Biomaterials, Vol. 24: 4337-4351, 2003.

Eliasson A.C., Kim H.R., "Changes in rheological properties of hydroxypropyl potato starch pasts during freeze-thaw treatments: I. A rheological approach for evaluation of freeze-thaw stability". *Journal of Texture Studies*, Vol. 23: 279-295, 1992.

Eystukard J., Haug, I.J., Ulset, A.-S., Draget, K.I., "Mechanical properties of mammalian and fish gelatins based on their weight average molecular weight and molecular weight distribution". *Food Hydrocolloids*, Vol. 23: 2315-2321, 2009

Forte A.E., D'Amico F., Charalambides M.N., Dini D., Williams J.G., "Modelling and experimental characterization of the rate dependent fracture properties of gelatin gels". *Food Hydrocolloids*, Vol. 46: 180-190, 2015.

Gamonpilas C. Charalambides M.N., Williams J.G., Dooling P.J., Gibbon S.R., "Predicting the mechanical behavior of starch gels through inverse analysis of indentation data". *Applied Rheology*, Vol. 20: 1-9, 2010.

García E.L.J., "Biomecánica de la columna vertebral". *Cirugía ortopédica y traumatológica*, Zaragoza, 2009.

Hafidz R.M., Yaakob C.M., Amin I., Noorfaizan A., "Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin". *Int. Food Res. J.*, Vol. 18: 813-817, 2012.

Hassan C.M., Peppas N.A., "Cellular PVA hydrogels produced by freeze/thawing". *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 76, 2075-2079, 2000.

Hermansson A.M., Svegmarm K., "Developments in the understanding of starch functionality". *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 7: 345-353, 1996.

Hoffman A.S., "Hydrogels for biomedical applications". *Bioengineering Department*, University of Washington, Seattle, 2001.

Hollister S.J., "Porous scaffold design for tissue engineering", *Nature Materials*, Vol. 4, 2005.

Hu Y., Suo Z., "Viscoelasticity and poroelasticity in elastomeric gels". *Acta Mechanica Sinica*, Vol. 25, No. 5, 2012.

Hyon S.H., Cha W.I., Ikada Y., Kita M., Ogura Y., Honda Y., "Poly(vinyl alcohol) hydrogels as soft contact lens material". Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, Vol. 5: 397-406, 1994.

Imberty A., Buléon A., Tran V., Pérez S., "Recent advances in knowledge of starch structure". Starch-Stärke, Vol. 43: 375-384, 1991.

Kalyanam S., Yapp R.D., Insana M.F., "Poro-Viscoelastic Behavior of Gelatin Hydrogels Under Compression-Implications for Bioelasticity Imaging". Journal of Biomechanical Engineering, Vol. 131, 2009.

Kavanagh G. M., Ross-Murphy S. B., "Rheological characterisation of polymer gels". Prog. Polym. Sci., Vol. 23: 533-562, 1998.

Kenawy E.R., Kamoun E.A., Eldin M.S.M., El-Meligy M.A., "Physically crosslinked poly(vinyl alcohol)-hydroxyethyl starch blend hydrogel membranes: Synthesis and characterization for biomedical applications". Arabian Journal of Chemistry, 2013.

Lakes R.S., "Viscoelastic solids". Mechanical Engineering. 1998

Lelievre J., "Starch gelatinization". Journal of Applied Polymer Science, Vol. 18: 293-296, 1973.

Lelievre J., "Theory of gelatinization in a starch-water-solute system". Polymer, Vol. 17: 854-858, 1976.

Mitsumata T., Hasegawa C., Kawada H., Kaneko T., Takimoto J., "Swelling and viscoelastic properties of poly(vinyl alcohol) physical gels synthesized using sodium silicate". Reactive & Functional Polymers, Vol. 68: 133-140, 2008.

Omidian H., Rocca J.G., Park K., "Advances in superporous hydrogels". Journal of Controlled Release, Vol. 102: 3-12, 2005.

Pal K., Banthia A.K., Majumdar D.K., "Effect of heat treatment of starch on the properties of the starch hydrogels". Materials Letters, Vol. 62: 215-218, 2008.

Pal K., Banthia A.K., Majundar D.K., “Starch based hydrogel with potential biomedical application as artificial skin”. African Journal of Biomedical Research, Vol. 9: 26-29, 2006.

Pereira S., Cunha A.M., Reis R.L., Vazquez B., San Roman J., “New starch-based thermoplastic hydrogels for use as bone cements or drug delivery carriers”. Journal of Material Science, Materials in Medicine, Vol. 9: 825-833, 1998.

Rojas O., Briceño M.I., Avendaño J., “Fundamentos de Reología”, Universidad de los Andes, 2012.

Sanchez Fellay L., Fasce L.A., Czerner M., Pardo E., Frontini P.M., “On the Feasibility of Identifying First Order Ogden Constitutive Parameters of Gelatin Gels from Flat Punch Indentation Tests”. Soft Materials, 2015.

Sasson A., Patchornik S., Eliasy R., Robinson D., Haj-Ali R., “Hyperelastic mechanical behavior of chitosan hydrogels for nucleus pulposus replacement- Experimental testing and constitutive modeling”, Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, Vol. 8, 2012.

Schott H., “Swelling kinetics of polymers”. Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics, Vol. 31, 1992.

Sebastine I.M., Williams D.J., “Current developments in tissue engineering of nucleus pulposus for the treatment of intervertebral disc degeneration”. Proceedings of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS, 2007.

Sparrey C.J., Keaveny, T.M., “Compression behavior of porcine spinal cord white matter”. Journal of Biomechanics, Vol. 44: 1078-1082, 2011.

Srichuwong S., Isono N., Jiang H., Mishima T., Hisamatsu M., “Freeze-thaw stability of starches from different botanical sources: Correlation with structural features”. Carbohydrate Polymers, Vol. 87: 1275-1279, 2012.

Strange D.G.T., Oyen M.L., “Composite hydrogels for nucleus pulposus tissue engineering”. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, Vol. 11: 16-26, 2012

Taguchi T., Kishida A., Akashi M., "Apatite formation on/in hydrogel matrices using an alternate soaking process: II. Effect of swelling ratios of PVA hydrogel matrices on apatite formation". Journal of Biomaterials Science, Vol. 10, 1999.

Tako M., Tamaki Y., Teruya T., Takeda Y., "The principles of Starch Gelatinization and Retrogradation". Food and Nutrition Sciences, Vol. 5, No. 3, 2014.

Timoshenko S., Goodier J., "Theory of Elasticity". Mac Graw Hill Higher Education, 1970.

Wan W.K., Campbell G., Zang Z.F, Hui A.J., Boughner D.R., "Optimizing the Tensile properties of Polyvinyl Alcohol Hydrogel for the Construction of a Bioprosthetic Heart Valve Stent". University Medical Discoveries Incorporation and Heart y Stroke Foundation of Ontario, 2002.

Wang L., Xie B., Xiong G., Wu W., Wang J., Qiao Y., Liao L., "The effect of freeze-thaw cycles on microstructure and physicochemical properties of four starch gels". Food Hydrocolloids Vol. 31: 61-67, 2013.

Welz M.M., Ofner C.M., "Examination of self-crosslinked gelatin as a hydrogel for controlled release". Pharm J. Sci.,1992.

Zargar R., Ghasem A., Zhomak N., "Aspects of the preparation of starch hydrogel crosslinking with glutaraldehyde using in drug delivery systems." 6th Iranian controlled release society conference (ICRC 2014) y 1st middle east controlled release conference (MECRC 2014), Tehran, 2014.

Zhang LM., Yang C., Yan L., "Perspectives on: Strategies to fabricate sarch-based hydrogels with potential biomedical applications" Journal of Bioactive and Compatible Polymers, Vol. 20: 297-314, 2005.

Zheng-Qiu G., Jiu-Mei X., Xiang-Hong Z., "The development of artificial articular cartilage-PVA hydrogels". Biomedical Materials and Engineering, Vol. 8: 75-81, 1998.