



I N T E M A



Desarrollo de hidrogeles cargados con cannabinoides para curación de heridas

Trabajo Final de Grado
Ingeniería en Materiales

Autora: Rodríguez Gerpe, Paula. paulirodriguez1198@gmail.com

Directora: Dra. González, Jimena S. jimena.s.gonzalez@gmail.com

Co-Directora: Dra. Álvarez, Vera A. veraalejandraalvarez@gmail.com

Fecha: 27 de noviembre de 2023, Mar del Plata

Lugar de desarrollo de las actividades experimentales:

Grupo de Materiales Compuestos Termoplásticos (CoMP)

Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA)

CONICET-UNMDP

Tel:+542236260627



RINFI es desarrollado por 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/).



I N T E M A



Desarrollo de hidrogeles cargados con cannabinoides para curación de heridas

Trabajo Final de Grado
Ingeniería en Materiales

Autora: Rodríguez Gerpe, Paula. paulirodriguez1198@gmail.com

Directora: Dra. González, Jimena S. jimena.s.gonzalez@gmail.com

Co-Directora: Dra. Álvarez, Vera A. veraalejandraalvarez@gmail.com

Fecha: 27 de noviembre de 2023, Mar del Plata

Lugar de desarrollo de las actividades experimentales:

Grupo de Materiales Compuestos Termoplásticos (CoMP)

Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA)

CONICET-UNMDP

Tel:+542236260627

Agradecimientos

Primero que nada, me gustaría agradecerle a Jimena, la directora de mi Trabajo Final, por enseñarme, acompañarme y dejarme desarrollar los conocimientos que ella me dio durante este año. Gracias Jime por la buena onda desde el principio, siempre fuiste positiva y me diste las energías suficientes para seguir con el proyecto durante todo este tiempo. También a Vera, mi Co-Directora y profesora durante la carrera, que hizo las conexiones posibles para que tenga un tema que me guste. Agradecer a Andy que estuvo en todo momento para ayudarme en todos los problemas que tuve con una excelente predisposición, mucha sabiduría e información. No me quiero olvidar de todos los que integran el grupo CoMP que me recibieron con los brazos abiertos y muy alegres siempre, tanto en el laboratorio como en la oficina.

A mis amigas de la facultad, gracias por estar siempre cuando había llantos, alegría y todos los sentimientos que te atraviesa en los años de carrera. Son lo más lindo que me dejan estos años transcurridos por la facultad y no habría sido lo mismo sin ustedes. A Caro y Nati, por estos últimos dos años de esfuerzo que nos unieron mucho más, gracias.

Sol, Mili, Nacho, Ro, Juli, Vicky y Carla gracias por todo. No me alcanzan las palabras para agradecer cuanto me bancaron en estos años, cuando no podía ir a las juntadas y alegrarse por cada materia que avanzaba hasta hoy. Por todo eso y más, gracias.

A Nico, mi amor, por acompañarme, estudiar juntos, apoyarme en todos mis proyectos y estar ahí siempre. Te agradezco porque la carrera no hubiera sido lo mismo sin tu apoyo y siempre puedo contar con vos.

Marcela, Diego, Lautaro, Lucia, Morrison, Manolo y Chola, mi familia, mis incondicionales, los amo y no tengo palabras de agradecimiento. Gracias por darme los valores del esfuerzo y el trabajo duro, gracias a ustedes soy así y estoy acá. Abuelo, te extraño y ojalá estés mirando donde sea que estés y estés orgulloso.

A todos los que nombré, muchísimas gracias.

1. Resumen	4
2. Introducción	6
2.1 Objetivos	10
2.1.1 Objetivo general	10
2.1.2 Objetivos específicos	10
3. Experimental	12
3.1 Materiales	12
3.1.1 Obtención de los hidrogeles de Quitosano/Goma Arábica (QuiGA)	12
3.2 Métodos	16
3.2.1 Técnicas de caracterización térmica, química, física y morfológica.	16
3.2.2 Métodos de evaluación de las propiedades físicas.	19
3.2.3 Permeabilidad al Vapor de Agua (WVTR)	21
3.2.4 Análisis dinámico mecánico (DMA)	22
3.2.5 Ensayos Antimicrobianos	22
3.2.6 Ensayos de liberación	22
4. Resultados y discusión	24
4.1 Caracterización térmica	24
4.1.1 Análisis termogravimétrico (TGA)	24
4.1.2 Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)	29
4.2 Caracterización física, química y morfológica	33
4.2.1 Análisis por espectroscopia infrarroja por transformada de fourier (FTIR)	33
4.2.2 Análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM)	39
4.3 Evaluación de la capacidad de hinchamiento	42
4.3.1 Determinación del grado de hinchamiento	42
4.3.2 Determinación de la fracción de gel	44
4.4 Permeabilidad al vapor (WVTR)	45
4.5 Caracterización mecánica	47
4.5.1 Análisis mecánico dinámico (DMA)	47
4.6 Ensayos microbianos	52
4.7 Ensayos de liberación	58
5. Estudio de la factibilidad económica	63
5.1 Resumen ejecutivo	63
5.2 Antecedentes	63

5.3 Estudio de mercado	64
5.3.1 Producto	64
5.3.2 Mercado objetivo	64
5.3.3 Oferta y demanda	65
5.3.4 Precio de venta	66
5.3.5 Comercialización	67
5.4 Ingeniería de producción	67
5.4.1 Capacidad de la planta	67
5.4.2 Proceso de producción	68
5.4.3 Localización	68
5.4.4 Especificaciones de los equipos	69
5.4.5 Impacto social y ambiental	74
5.4.6 Marco legal	74
5.5 Evaluación económica	74
5.5.1 Análisis de la inversión requerida	74
5.5.2 Análisis de costos	77
5.5.4 Análisis de sensibilidad	84
6. Conclusiones y consideraciones finales	87
7. Trabajo a futuro	89
8. Bibliografía	90
Anexo 1	97

Desarrollo de hidrogeles cargados con cannabinoides para curación de heridas

1. Resumen

Este trabajo de investigación está impulsado por la visión de poder desarrollar un apósito tecnológico que sea amigable con el ambiente con eso la utilización de polímeros naturales. La adición del cannabis a estos geles surge de la innovación que tiene el cannabis dentro de la medicina hoy en día y su promesa para el alivio de heridas y dolores.

En el marco de esta investigación, se logró la obtención de hidrogeles a partir de quitosano (Qui), goma arábica (GA) y extracto de cannabis (Cannabis). Estos hidrogeles se obtuvieron mediante una metodología sencilla que involucra interacciones electrostáticas y entrecruzamiento mediante tripolifosfato de sodio (TPP). Posteriormente, se efectuaron varias caracterizaciones que abarcó sus propiedades morfológicas, físicas, térmicas, mecánicas, de barrera, antimicrobianas y de liberación de sustancias activas.

Se generaron varios tipos de hidrogeles, entre los que destacan el hidrogel de quitosano (QuiGA), el hidrogel de quitosano cargado con cannabis (QuiGACannabis), el hidrogel de quitosano entrecruzado con TPP (QuiGATPP) y el QuiGACannabis entrecruzado con TPP (QuiGACannabisTPP). Se analizó el impacto tanto del extracto de cannabis como del entrecruzamiento en las propiedades de los hidrogeles de quitosano. Se llevaron a cabo análisis termogravimétricos (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC) que permitieron destacar la estabilidad térmica de las distintas muestras. Las propiedades morfológicas, físicas y químicas se estudiaron a través de ensayos de Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) y microscopía electrónica de barrido (SEM).

La evaluación de la capacidad de hinchamiento, determinada mediante la medición del grado de hinchamiento y la fracción de gel, reveló una notable aptitud de los hidrogeles para hincharse, lo que los posiciona favorablemente para su aplicación como vendajes en el tratamiento de heridas, gracias a su capacidad de absorber exudados. Los ensayos de permeabilidad de vapor (WVTR) indicaron una tasa de transmisión de vapor de agua relativamente baja, lo que resulta adecuado para las aplicaciones buscadas, con la excepción de la muestra QuiGACannabis, que se sitúa cerca del umbral admisible.

La evaluación de la actividad antimicrobiana arrojó resultados prometedores, destacando la capacidad de los hidrogeles para actuar como barrera contra diversos microorganismos. Los ensayos de liberación de sustancias activas confirmaron la capacidad de las muestras para lograr una liberación controlada de los compuestos. Finalmente, el análisis dinámico

mecánico (DMA) demostró que la inclusión de extracto de cannabis y el proceso de entrecruzamiento con TPP contribuyen al mejoramiento de las propiedades mecánicas de los hidrogeles.

Desde una perspectiva económica, se llevó a cabo un análisis de factibilidad para la producción industrial del hidrogel QuiGACannabisTPP. Se emplearon dos métodos de evaluación: la tasa interna de retorno (TIR) en conjunto con el valor presente (VP) y el tiempo de repago (nR). Los resultados concluyeron que el proyecto es económicamente rentable.

En síntesis, los hallazgos de este estudio resaltan la prometedora utilidad de los hidrogeles compuestos por quitosano, goma arábica, extracto de cannabis y tripolifosfato de sodio como materiales potenciales en la fabricación de vendajes para el tratamiento de heridas.

2. Introducción

La piel, al ser el órgano más grande del cuerpo humano, es el más expuesto a los daños, ya que se quema o se lesiona con facilidad [1]. Las heridas cutáneas son una de las lesiones más frecuentes en el ámbito médico. La incidencia de enfermedades cutáneas y lesiones accidentales ha aumentado drásticamente en las últimas décadas, lo que se traduce en un incremento del número de pacientes con enfermedades en la piel [2].

La cicatrización de las heridas es uno de los procesos más complejos en los organismos multicelulares, que implica múltiples fases (es decir, hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación) [1]. Aunque se han desarrollado muchos materiales para facilitar la cicatrización de heridas en la piel, aún quedan muchos desafíos por delante, en particular en heridas abiertas [3]. La infección bacteriana es uno de los problemas más graves durante la cicatrización de las heridas y ha supuesto una importante amenaza para la salud humana. Por lo tanto, el tratamiento de las heridas con el fin de mitigar la infección bacteriana ha atraído mucho la atención [2].

La respuesta inflamatoria exagerada en el lugar de la herida debería considerarse rigurosamente en el proceso de cicatrización de heridas cutáneas. Esta desencadena la liberación de metaloproteinasas de matriz que responden a la degradación tisular y aumentan significativamente el riesgo de formación de cicatrices fibróticas. Además, se suele producir una gran cantidad de especies reactivas del oxígeno (ROS) alrededor de los tejidos dañados. Las ROS acumuladas provocan daños en el ADN y las proteínas, restringen la angiogénesis y dificultan la regeneración tisular. Por tanto, los materiales multifuncionales con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antibacterianas y de angiogénesis deberían favorecer en gran medida la cicatrización de heridas [2].

Los apósitos para heridas se han utilizado durante mucho tiempo para ayudar a la cicatrización proporcionando una barrera física contra la infección, manteniendo un entorno húmedo y absorbiendo los exudados alrededor de la herida. Un apósito ideal para heridas debe cumplir los siguientes criterios (i) absorber y eliminar el exudado y las toxinas, (ii) mantener una humedad elevada en la interfaz apósito-herida, (iii) permitir el intercambio gaseoso, (iv) proporcionar aislamiento térmico, (v) evitar la infección secundaria, y (vi) no tener citotoxicidad [1].

Por otro lado, la durabilidad, las propiedades mecánicas, la rentabilidad e incluso la biodegradabilidad de los materiales de los apósitos son otras cuestiones importantes que deben tenerse en cuenta. La aplicación clínica de apósitos basados en biomateriales también está restringida debido a los problemas de toxicidad y a la falta de estudios clínicos. Por lo tanto, un sistema de cicatrización de heridas totalmente bioactivo, biodegradable y

sostenible para la cicatrización de heridas es importante para garantizar los efectos curativos positivos de las heridas, minimizar la toxicidad y la reacción inflamatoria [1].

Los hidrogeles, como redes hidrofílicas tridimensionales (3D), pueden absorber una gran cantidad de agua sin solubilizarse [4]. La red confiere un comportamiento insoluble al sistema polimérico y permite que los hidrogeles absorban desde un 10-20% (un límite inferior arbitrario) hasta miles de veces su peso equivalente en agua hasta que el proceso alcanza un estado de equilibrio [4]. Los hidrogeles totalmente hinchados tienen una serie de propiedades físicas comunes a los tejidos vivos, como son la elasticidad y baja tensión interfacial. Las propiedades elásticas del hidrogel pueden reducir la estimulación de los tejidos circundantes. La baja tensión interfacial entre la superficie del hidrogel y el cuerpo fluido puede disminuir la absorción de proteínas y la adhesión celular al máximo, con lo que se reduce la posibilidad de una respuesta inmune negativa [5]. Los hidrogeles realizados a partir de polímeros naturales, como el quitosano (Qui) y la goma arábiga (GA), son biomateriales y polielectrolitos especialmente prometedores para el vendaje de heridas debido a su excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad [1].

Se define como polielectrolito (PE) a cualquier material macromolecular que tiene unidades repetitivas y se disocia en una molécula polimérica altamente cargada en cualquier disolvente ionizante (por ejemplo, H₂O), formando una molécula polimérica cargada positiva o negativamente [6]. El quitosano es un PE con carga positiva [6], se debe a los numerosos grupos amino de la cadena polisacárida que hacen que tenga carga positiva y se solubiliza fácilmente en una solución acuosa de ácido acético con un pH inferior a 6,5 [7]. Los PE ofrecen un amplio espectro de aplicaciones como por ejemplo en la industria farmacéutica, la biomedicina y la medicina. También se utilizan como polímeros hinchables, materiales de recubrimiento y tensioactivos, debido a su biocompatibilidad y a sus propiedades bioadhesivas [6].

El quitosano es el segundo polisacárido más abundante en el mundo y se obtiene por N-desacetilación alcalina de la de la quitina. Es un polisacárido binario heterogéneo que consiste principalmente de poly[(1→4)-β-linked 2-amino-2-deoxy-d-glucose (Figura 1), siendo este último residuo el responsable de su carga catiónica en valores de pH ácidos [8].

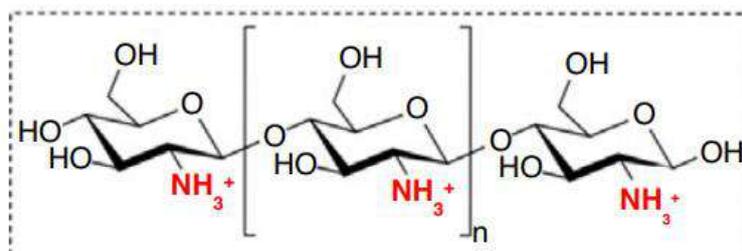


Figura 1. Estructura química del quitosano protonado en pH ácidos [6].

El quitosano es un polímero biodegradable y biocompatible que se ha utilizado en biomedicina en forma de suturas, recubrimientos de heridas y como piel artificial [9]. En

general, se considera que es un producto, no antigénico, no tóxico, biológicamente adhesivo, antimicrobiano, con actividad biológica y efecto hemostático [5]. Diferentes formulaciones de apósitos de hidrogel a base de quitosano pueden promover la cicatrización de heridas en diferentes periodos y aliviar los factores desfavorables que afectan a la cicatrización. Por su capacidad de acelerar contracción y cicatrización de heridas, los hidrogeles a base de quitosano se consideran apósitos oclusivos para la cicatrización de heridas [4].

La goma arábica (GA) es un polielectrolito débil cargado negativamente una vez superado el pH 1,89 correspondiente a la disociación de sus grupos carboxílicos [10]. Se utiliza ampliamente en la industria debido a su alta solubilidad y baja viscosidad a altas concentraciones [8]. La composición de la GA se basa en una cadena principal de galactano (con cadenas laterales de galactosa (gal)/arabinosa (ara) muy ramificadas, cómo se muestra en la Figura 2 [11]. Se ha sugerido que este polisacárido tiene una estructura de tipo "flor de mimbre" con un número unidades de polisacárido unidas a una cadena polipeptídica común. Esta característica es responsable de su buena actividad superficial y su capacidad viscoelástica para formar películas [8].

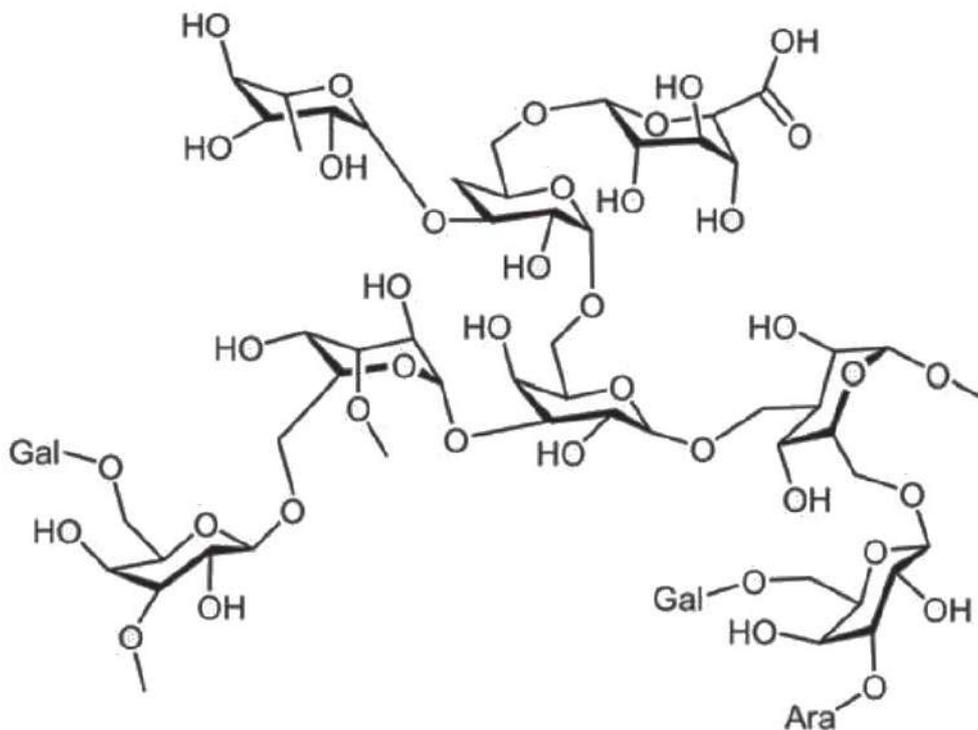


Figura 2. Estructura química de la goma arábica [11].

Los polielectrolitos tienden a formar complejos con uno o más iones de carga opuesta formando complejos polielectrolitos (PECs) (Figura 3). Un PEC se forma mediante interacciones electrostáticas cooperativas, que son predominantes entre policationes y polianiones, al mezclar soluciones acuosas de PEs de carga opuesta que conducen a la formación de una fase densa que se separa del disolvente [6]. Por consiguiente, el uso

combinado de goma arábica, polianión, con quitosano, policación, podría proporcionar un material complejo que podría formar fuertes películas viscoelásticas, como apósitos, alrededor de las heridas y proporcionarles buenas propiedades de barrera contra infecciones [8]. Este trabajo tiene como propósito investigar y analizar las interacciones entre ambos polímeros naturales; cómo también estudiar la incorporación del extracto de cannabis y agentes entrecruzantes en la formación del gel.

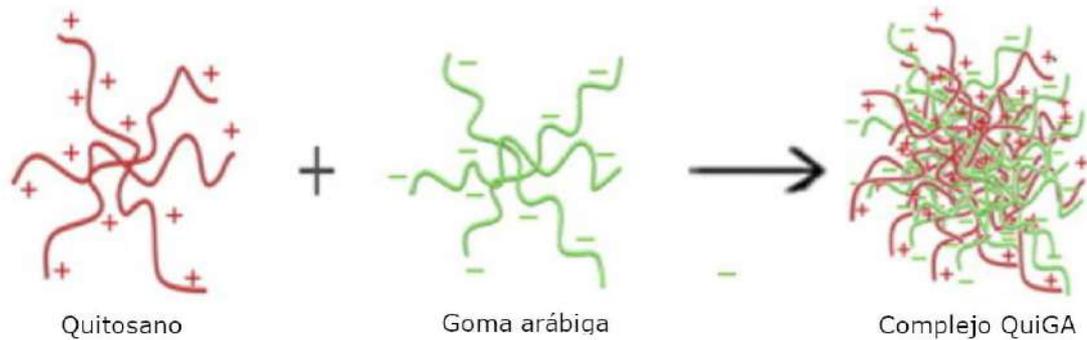


Figura 3. Unión electrostática de un polielectrolito complejo.

La *Cannabis sativa* L. es la única especie en el género del cannabis. Las variedades de cannabis suelen diferir en la proporción de los principios activos como los cannabinoides, que incluyen el tetrahidrocannabinol (THC), el cannabidiol (CBD) y los terpenos (Figura 4), lo que las hace útiles para diversos fines médicos o industriales. Basándose en su relación THC/CBD, las plantas de cannabis se clasifican en tres quimiotipos: quimiotipo I (alto THC), quimiotipo II (relación 1:1) y quimiotipo III (alto CBD).[12]

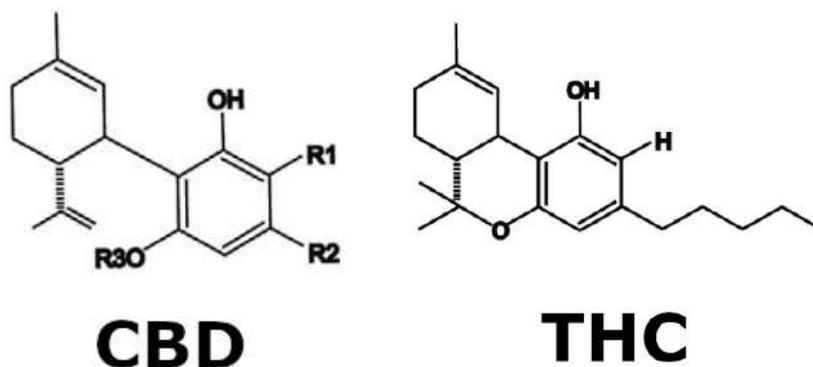


Figura 4. Estructura química del CBD y THC [13].

Los cannabinoides son compuestos lipofílicos que interactúan con los receptores cannabinoides presentes en las células de los mamíferos. El cannabis es una de las principales fuentes de fitocannabinoides y se sintetiza principalmente en la glándula secretora de las flores femeninas. Actualmente se conocen más de 100 fitocannabinoides diferentes y entre los más importantes se encuentran el delta-9-tetrahidrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), ácido cannabidiol (CBDA), cannabinol (CBN) y cannabigerol (CBG) [13].

Muchas de estas moléculas sirven como agentes farmacéuticos debido a sus propiedades anticancerígenas, antimicrobianas y antiinflamatorias. Existe un creciente cuerpo de evidencia sobre una sinergia biológica entre los cannabinoides y las moléculas secundarias extraídas de la planta de cannabis, como los terpenos. Esto también se puede extrapolar a la actividad antimicrobiana y refuerza la idea de utilizar extractos en lugar de cannabinoides purificados para lograr los mejores resultados. En esta línea, evidencias recientes indican que los extractos de cannabis presentan una actividad antibacteriana selectiva, dependiendo de su composición química [14].

Para los materiales biopoliméricos, como el quitosano y la goma arábiga, es especialmente útil el uso de agentes de entrecruzamiento. Estos agentes ayudan al bajo rendimiento mecánico y de barrera en comparación con los polímeros derivados del petróleo [15]. El tripolifosfato de sodio (TPP), Figura 5, es un compuesto aniónico no tóxico capaz de formar un gel mediante interacciones iónicas con los grupos amino cargados positivamente del quitosano. En este trabajo se analizan los beneficios de utilizar un agente entrecruzante en los hidrogeles.

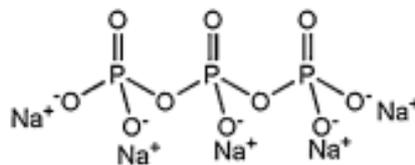


Figura 5. Estructura química del tripolifosfato de sodio [15].

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo general

El objetivo general de este trabajo es desarrollar hidrogeles utilizando polielectrolitos naturales con cannabinoides para obtener apósitos con propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias.

2.1.2 Objetivos específicos

- Optimizar la obtención de hidrogeles de quitosano/goma arábiga. Se estudiarán los efectos de concentraciones iniciales de los polímeros, pH del medio, tiempo de secado, etc.
- Estudiar la incorporación del extracto de cannabis durante el proceso de construcción del hidrogel mediante su incorporación previa al entrecruzamiento y/o con la red formada por hinchamiento.
- Caracterizar física, química y estructuralmente los materiales obtenidos.

- Evaluar el comportamiento de los materiales obtenidos en ensayos de transmisión de vapor, antimicrobianos y propiedades mecánicas para la aplicación como apósitos.

3. Experimental

3.1 Materiales

- Qitosano, bajo peso molecular, Glentham Life Sciences, Mar del Plata, Argentina.
- Goma arábica, Biopack, Mar del Plata, Argentina.
- Extracto de cannabis, provisto por la Dra Débora Nercessian, IIB (CONICET), Mar del Plata, Argentina [12].
- Ácido acético glacial, Cicarelli, Mar del Plata, Argentina.
- Bicarbonato de sodio, Q.B.S Reactivos Analíticos, Mar del Plata, Argentina.
- Tripolifosfato de Sodio, Q.B.S Reactivos Analíticos, Mar del Plata, Argentina.
- Agua destilada, provista por el Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Materiales, Mar del Plata, Argentina.

3.1.1 Obtención de los hidrogeles de Qitosano/Goma Arábica (QuiGA)

Se prepararon soluciones buffers de pH=4.5, entre el ácido débil, ácido acético, y la sal, bicarbonato de sodio, que contiene su ácido conjugado [16]. El pH de una solución amortiguadora puede calcularse según la ecuación de Henderson-Hasselbach ($pH=pK_a + \log \frac{[base]}{[ácido]} = pK_a + \log \frac{[bicarbonato\ de\ sodio]}{[ácido\ acético]}$ Ecuación 1) [17].

$$pH = pK_a + \log \frac{[base]}{[ácido]} = pK_a + \log \frac{[bicarbonato\ de\ sodio]}{[ácido\ acético]} \quad \text{Ecuación 1}$$

[] se refiere a concentración molar

K_a constante de disociación del ácido

La concentración de ácido acético fue de 1 M, al igual que la solución de bicarbonato de sodio. Con la utilización de la fórmula para buffers, se logró medir las cantidades exactas de ambos reactivos para realizar las soluciones amortiguadoras. Luego se midió el valor de pH en un pHmetro para corroborar que sea 4,5, de lo contrario se podría afectar negativamente a la precisión y resultado.

Se prepararon soluciones de quitosano con una concentración de 5 mg/ml y soluciones de goma arábica con una concentración de 20 mg/ml ambas en buffer pH 4,5 [16]. Previamente se realizaron ajustes en las concentraciones de ambas soluciones como se detalla en el *Anexo 1*, para alcanzar las concentraciones deseadas. El proceso de homogeneización se llevó a cabo mediante la adición gota a gota de ambas soluciones en un vaso de precipitado con agitación magnética a 200 rpm hasta lograr los 100 ml totales. El procedimiento se ilustra en la Figura 6.



Figura 6. Imagen del proceso de obtención de hidrogel QuiGA.

Posteriormente, se deja en agitación durante 30 minutos hasta lograr que ambos polielectrolitos interaccionen y formen un gel. Para obtener el gel final (compacto), se coloca la mezcla en tubos falcon de centrifuga de 50 mL y se centrifuga a alta velocidad (8000 rpm) durante 30 minutos. En la Figura 7 se puede observar cómo queda el gel en forma de coacervado y con el sobrenadante luego del proceso de centrifugado.



Figura 7. Gel de QuiGA y sobrenadante.

Por último, el precipitado que se formó (Figura 7) se separa del sobrenadante (Figura 8 a) y se deja secar al aire durante 24 horas en moldes de plástico (Figura 8 b) para regular la forma y el espesor.

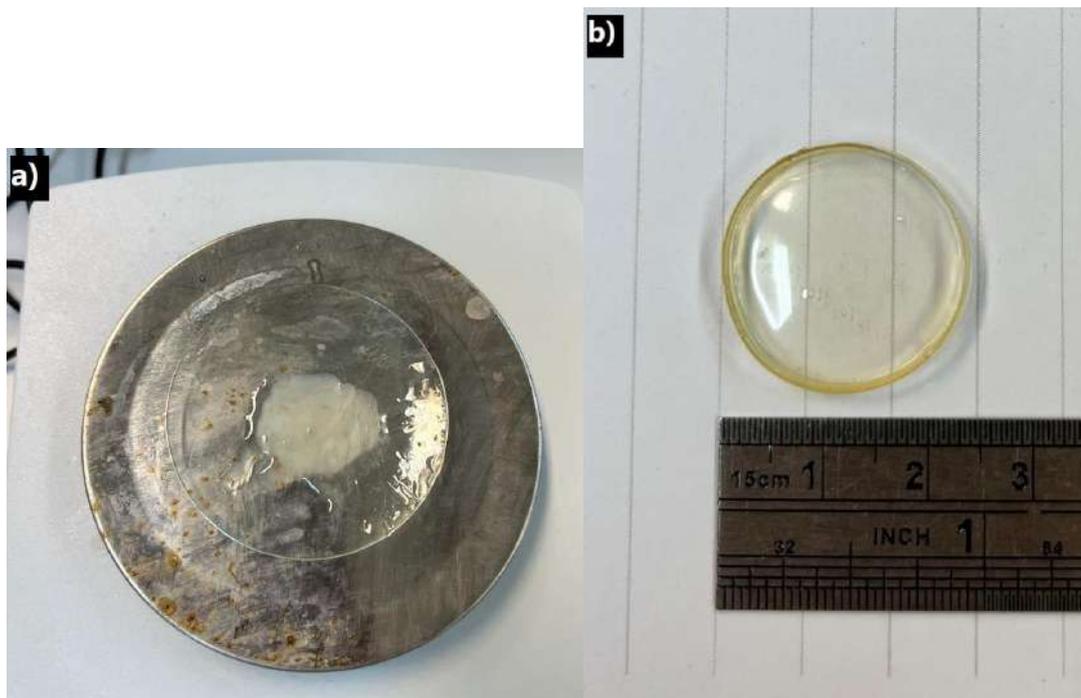


Figura 8. Hidrogel QuiGA a) luego del centrifugado y b) 24 horas después del secado en molde.

Se observó que los polielectrolitos, quitosano y goma arábica, no llegaban a interactuar de la manera deseada para formar un gel en todas las condiciones experimentales que se probaron (ver *anexo 1*). Por esta razón se buscaron otras formas de entrecruzar a ambos polímeros. Estudios informan que el tripolifosfato de sodio (TPP) es útil como entrecruzante iónico ya que los grupos amina del quitosano reaccionan con la negatividad del TPP. Además presenta ventajas de un rendimiento estable, un control sencillo del proceso y seguridad [18].

Algunas muestras de los geles de QuiGA se sumergieron en una solución de tripolifosfato de sodio (TPP) (5% p/v) durante 15 minutos [19]. Se lavaron posteriormente para sacar el exceso de TPP y se secaron en aire durante 24 horas. [19].

El extracto de cannabis provisto por la el IIB (CONICET-UNMdP) debidamente caracterizado. se clasifica como quimiotipo I, de alto contenido de THC [12]. Las plantas que se utilizaron para el extracto de este trabajo fueron cultivadas bajo condiciones controladas en una sala de cultivo con un 60% de humedad, 25 °C y un fotoperíodo de 18/6 (luz/oscuridad) para el crecimiento vegetativo y 12/12 para la floración. Las inflorescencias femeninas fueron secadas a 18 °C en la oscuridad durante 15 a 20 días y luego fueron procesadas mediante trituración mecánica con etanol en una proporción de 1:10 (p/v). Posteriormente, el solvente fue eliminado por evaporación rotatoria al vacío a baja temperatura. Las resinas obtenidas fueron resuspendidas en dimetilsulfóxido (DMSO) para obtener la misma

concentración final (1 μg de resina/ μL de DMSO) [12]. El contenido de THC en las plantas oscila entre menos del 0,2% (en variedades fibrosas) e incluso el 30% en las flores femeninas de otras variedades de cannabis. Los fitocannabinoides también incluyen el CBD, que, a diferencia del THC, no activa los receptores endocannabinoides relacionados con la proteína G, por lo que no causa psicoestimulación. Además, el CBD puede potenciar los efectos beneficiosos del THC aumentando su rango terapéutico [13].

Los extractos de cannabis en base alcohol, los mismos se usaron en este trabajo, fueron sometidos a estudios de actividad antimicrobiana en varias investigaciones. Mostraron una notable actividad de inhibición del crecimiento bacteriano [12].

La incorporación del extracto de cannabis al gel de QuiGA se realizó de dos maneras diferentes. La primera forma fue por hinchamiento en el extracto de cannabis, es decir, luego de la formación del gel se sumergieron los hidrogeles QuiGA en el extracto de cannabis. De esta manera no produjo cambios en el material, no se pudo apreciar cambios en su masa, color o aspecto macroscópico. Por lo que no se continuó explorando esta forma. Esto puede ser debido a que el extracto de cannabis está en etanol y los hidrogeles en general tienen menor afinidad con el alcohol por ende no se hincharon en el extracto.

El extracto de cannabis se puede incorporar antes de la formación del gel por incorporación a las soluciones originales, de esta manera se llevaron a cabo la obtención de los hidrogeles QuiGACannabis. Se incorporó el extracto de cannabis a la solución de goma arábica, utilizando una proporción de 5 ml de extracto en 50 ml de solución de goma. En otras palabras, se logró una concentración de cannabis del 4,76% en volumen con respecto al peso total de la muestra. Posteriormente se procedió a realizar la síntesis del mismo modo que los hidrogeles de QuiGA. Asimismo, algunas muestras de los geles QuiGACannabis se sumergieron en una solución de TPP como se explicó anteriormente y se las menciona durante el trabajo cómo QuiGACannabisTPP.

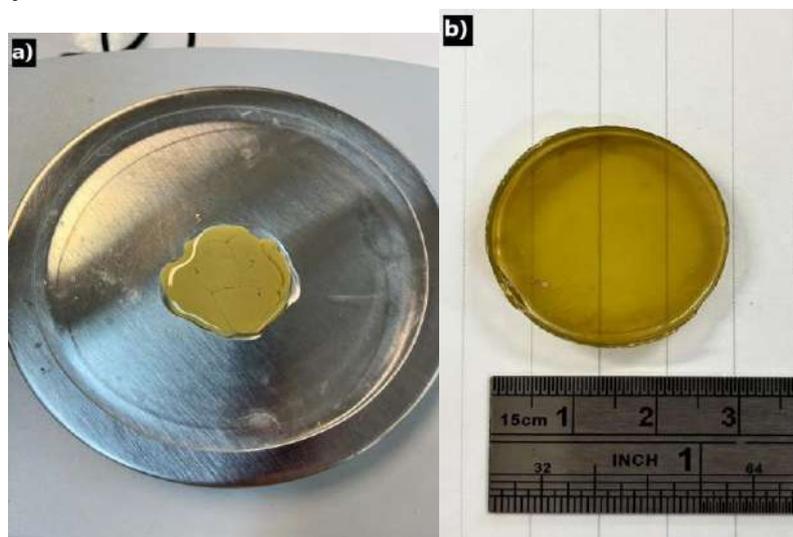


Figura 9. Hidrogel QuiGACannabis a) luego del centrifugado y b) después del secado en molde.

3.2 Métodos

3.2.1 Técnicas de caracterización térmica, química, física y morfológica.

En este apartado se van a mencionar las técnicas utilizadas para caracterizar las muestras de hidrogeles de QuiGA y QuiGACannabis con y sin TPP de forma térmica, química, física y morfológica.

3.2.1.1 Ensayos termogravimétricos (TGA)

Para evaluar la estabilidad térmica de los hidrogeles, se llevaron a cabo ensayos termogravimétricos utilizando un equipo Shimadzu TGA-DTGA50, como se muestra en la Figura 10. Estos ensayos se realizaron en un rango de temperatura que abarcó desde 25 °C hasta 800 °C, con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min, en una atmósfera de nitrógeno. Previo al análisis, las muestras se sometieron a un proceso de secado a 20 °C durante 48 horas. Las materias primas y el extracto de cannabis, en polvo, también se analizaron mediante esta técnica.



Figura 10. Shimadzu TGA-DTGA50.

A partir del análisis de la derivada de la masa residual en función de la temperatura (DTGA), se identificaron los picos correspondientes a la temperatura de máxima velocidad de degradación térmica del polímero (Tdeg).

3.2.1.2 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Se analizaron en el espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700, con el accesorio de ATR (attenuated total reflectance) Figura 11, con una resolución de 4 cm⁻¹ realizando 32 barridos de cada muestra, desde 4000 a 400 cm⁻¹ [16].

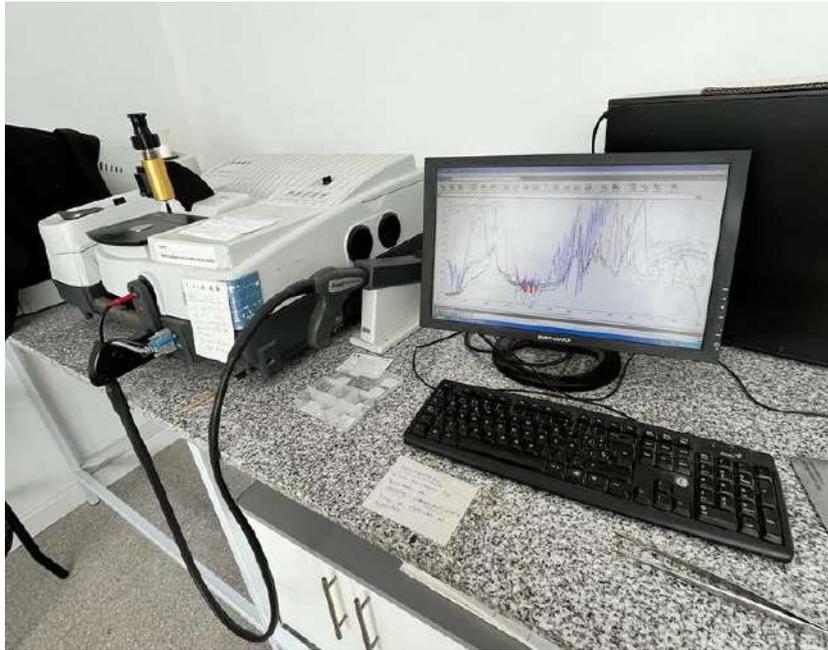


Figura 11. Thermo Scientific Nicolet 6700.

Las materias primas, es decir, el quitosano y la goma arábica, se analizaron en forma de polvo, mientras que el extracto de cannabis fue sometido a un proceso de secado en estufa para obtener un polvo. Como se ve en la Figura 12, el extracto se colocó en un vidrio óptico y luego en la estufa, se repitió el proceso para obtener un buen contenido de polvo de cannabis. Los hidrogeles, por otro lado, se analizaron después de haber sido secados durante 48 horas.

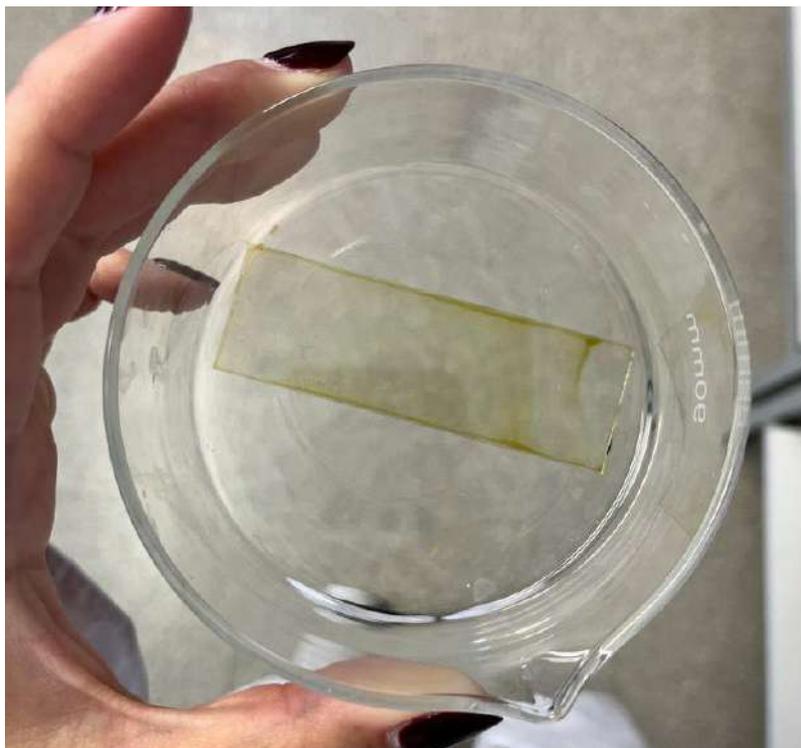


Figura 12. Extracto de cannabis seco en estufa.

3.2.1.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido se utilizó para determinar y analizar las propiedades térmicas de los hidrogeles de QuiGA y QuiGACannabis. Se realizó en un equipo DSC Q200 TA instruments Figura 13. Los ensayos se realizaron desde $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Las muestras se secaron a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante las 48 horas previas a ser analizadas, todas pesaron entre 5-10 mg.



Figura 13. DSC Q200 TA.

3.2.1.4 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica de barrido (SEM) se utilizó para obtener información acerca de la morfología y porosidad de los hidrogeles. El equipo que se empleó para ello fue el microscopio Crossbeam 350 de la empresa ZEISS, Figura 14.



Figura 14. Equipo SEM-Crossbeam 350.

Las condiciones iniciales de operación fueron un voltaje de aceleración de 5 kV y la selección del modo de señal SE2 para el SignalA. El término "voltaje de aceleración" hace referencia al potencial aplicado entre el cañón de electrones y el condensador de lentes, mientras que "SignalA" se refiere al flujo de corriente que surge entre el cañón de electrones y el condensador de lentes después de que los electrones han sido acelerados mediante la alta tensión.

Previamente, las muestras fueron congeladas, liofilizadas y criofracturadas con nitrógeno líquido. Este proceso se realiza con el objetivo de que los hidrogeles no experimenten deformación plástica y así poder observar su microestructura. Se expuso la parte fracturada en el microscopio, con un metalizado para aumentar su conductividad.

3.2.2 Métodos de evaluación de las propiedades físicas.

3.2.2.1 Determinación de la Fracción de Gel

El ensayo de fracción (FG%) de gel se llevó a cabo en paralelo con el ensayo de grado de hinchamiento. Inicialmente, se secaron las muestras durante un período de 48 horas y luego se pesaron antes de sumergirlas en solución fisiológica. Estas muestras se mantuvieron en una estufa a 37 °C durante tres días consecutivos, garantizando que alcanzaran el equilibrio. Una vez alcanzado el peso constante la fracción de gel se determina cómo:

$$FG\% = \frac{M_{final}}{M_{inicial}} * 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

dónde $M_{inicial}$ y M_{final} son las masas de la muestra seca, antes y después del hinchamiento respectivamente. Cabe aclarar que es importante determinar la FG% ya que la misma está directamente relacionada con el grado de entrecruzamiento del material.

3.2.2.2 Determinación del grado de hinchamiento

Para analizar esta propiedad se prepararon tres muestras de cada gel a analizar, QuiGA, QuiGATPP, QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP. En primera instancia se pesaron las muestras de cada hidrogel completamente secas ($M_{inicial}$). A continuación, se sumergieron los geles en solución fisiológica a 37 °C, Figura 15, la cual simula las condiciones fisiológicas del cuerpo humano.



Figura 15. Muestras sumergidas en solución fisiológica.

Todos los geles se mantienen en una estufa de cultivo para mantener la temperatura de 37 °C, Figura 16.



Figura 16. Estufa de cultivo.

Luego fueron extraídos de la solución a diferentes tiempos, secados cuidadosamente en la superficie del papel absorbente y pesados (M_t). Este procedimiento se repitió hasta que la

muestra alcance un peso constante ($M_{equilibrio}$). El porcentaje de hinchamiento para cada tiempo se calculó como:

$$Porcentaje\ de\ hinchamiento_t\ (\%) = \frac{M_t - M_{inicial}}{M_{inicial}} * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

3.2.3 Permeabilidad al Vapor de Agua (WVTR)

Estos análisis se realizaron según normas farmacopeas europeas [20]. Los hidrogeles fueron adheridos con pegamento Éccole (Cianoacrilato) en forma de disco en la parte superior de un recipiente que contenía 10 ml de agua destilada, como se muestra en la Figura 17. Los sistemas compuestos por el hidrogel, el recipiente, el agua destilada y el pegamento fueron pesados previamente y colocados a 37 °C en una cámara de humedad constante a 90 % HR. Pasadas 48 horas, se retiraron de la cámara y se registró nuevamente el peso de cada sistema en particular.

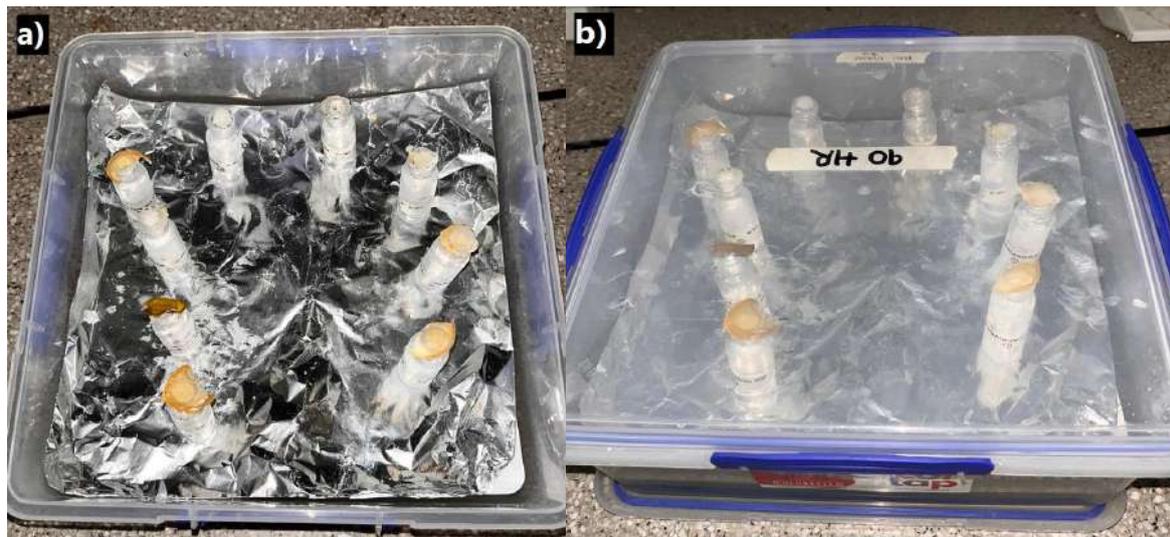


Figura 17. a) Disposición del sistema en la cámara de humedad. b) Cámara de humedad.

A partir de la pérdida de masa del sistema, se calculó el índice de la tasa de transmisión de vapor de agua según la siguiente ecuación:

$$WVTR\left(\frac{g}{m^2 \times h}\right) = \frac{M_0 - M_1}{72 \times A} \times 10^6 \quad \text{Ecuación 4}$$

donde A es el área del hidrogel en contacto con vapor (mm^2), M_0 y M_1 son las masas del sistema (frasco, pegamento, agua e hidrogel) antes y después de colocarlo en la cámara de humedad. Y, la permeabilidad, \mathfrak{R} , según la siguiente ecuación

$$\mathfrak{R}\left(\frac{g \times mm}{h \times m^2}\right) = WVTR * e \quad \text{Ecuación 5}$$

donde e es el espesor de las muestras en mm.

3.2.4 Análisis dinámico mecánico (DMA)

Se procedió a evaluar el módulo elástico y la deformación alcanzada por los hidrogeles, lo que permitió comprender su comportamiento mecánico en diversas condiciones de compresión. Estos análisis se llevaron a cabo, en modo estático, a una temperatura de 20 °C, utilizando placas paralelas y aplicando una compresión de 10 mm. La fuerza inicial fue de 50 nN hasta 6000 nN, con una tasa de compresión de 50 nN/min, hasta alcanzar una fuerza final de 8000 nN, empleando el equipo Perkin Elmer DMA 7e.

Cabe mencionar que previo a estas pruebas, las muestras se prepararon en forma de discos de 10 mm de diámetro y se hincharon en agua para garantizar las condiciones adecuadas de ensayo.

3.2.5 Ensayos Antimicrobianos

Se llevaron a cabo precultivos de dos tipos de bacterias, tanto Gram positivas como Gram negativas, en cultivos que contenían 3 ml de medio LB (caldo de Lisogenia) como volumen final, con una densidad óptica inicial (DO_{600nm}) de 0,05. Posteriormente, los hidrogeles se cortaron en discos de 3-4 mm de diámetro, y se agregaron o no aproximadamente 30 mg de compuestos a los cultivos.

Las bacterias que se analizaron en este estudio fueron *Bacillus thuringiensis*, que es de tipo Gram positiva, y *Escherichia coli*, que es de tipo Gram negativa. Los cultivos con los hidrogeles con cannabis y sin cannabis se incubaron a diferentes temperaturas: a 30°C para *Bacillus thuringiensis* y a 37 °C para *Escherichia coli*, ambas con agitación controlada.

Cada 40 minutos, se realizaron mediciones de la densidad óptica a 600 nm (DO_{600nm}) para registrar el crecimiento bacteriano a lo largo del tiempo. Estos experimentos fueron realizados en colaboración con el grupo de la Dra Débora Nercessian, como parte del proceso de investigación. El seguimiento de la DO_{600nm} permitió obtener las curvas de crecimiento de ambas bacterias bajo la influencia de los compuestos evaluados.

3.2.6 Ensayos de liberación

Los hidrogeles y los sobrenadantes se analizaron utilizando espectroscopía ultravioleta. Esta metodología nos permite determinar las concentraciones reales de cannabis en los geles luego de la síntesis, así se comprende la capacidad de encapsulamiento.

La capacidad de encapsulamiento se calcula primero realizando una curva de calibración según la Ley de Lambert Beer [21]. Esta ley establece la relación entre la concentración de una sustancia absorbente en una solución y la cantidad de luz absorbida por esa solución a una longitud de onda específica. $A = \epsilon * c * l$ [21] Ecuación 6 [21]

$$A = \varepsilon * c * l \text{ [21]} \quad \text{Ecuación 6}$$

donde A es la absorbancia de la solución, ε es la absortividad molar o coeficiente de extinción molar, c es la concentración de la sustancia en la solución y l es la longitud del camino óptico a través de la solución.

Con la realización de la curva de calibración de conocen los valores constantes ε y l , y se puede relacionar la concentración de cannabis en solución con la absorbancia. Una vez realizada la curva, se realizan espectroscopias ultravioletas a los sobrenadantes de los hidrogeles para saber la concentración que tienen y así conocer la capacidad de encapsulamiento.

Además, se realizaron ensayos con hidrogeles sumergidos en agua y solución fisiológica, manteniéndolos a 37 °C durante un período determinado. Mediante espectroscopia ultravioleta, se analizaron tanto el agua como la solución fisiológica para cuantificar la cantidad de cannabis liberada en cada medio con la Ecuación 7. Este enfoque permite evaluar la liberación controlada del cannabis en condiciones biomiméticas.

$$\text{Ecuación 7} \quad \text{Porcentaje de cannabis liberado} = \frac{M_{\text{Cannabis}_{\text{medio}}}}{M_{\text{Cannabis}_{\text{gel}}}} = \frac{C_{\text{Cannabis}_{\text{medio}}} * V_{\text{medio}}}{M_{\text{muestra}} * C_{\text{Cannabis}_{\text{gel}}}}$$

Donde $M_{\text{Cannabis}_{\text{medio}}}$ la cantidad de cannabis en miligramos en el medio, $M_{\text{Cannabis}_{\text{gel}}}$ la cantidad de cannabis en miligramos en el gel, $C_{\text{Cannabis}_{\text{medio}}}$ la concentración de cannabis en el medio, V_{medio} el volumen del medio que fue siempre 10 ml, M_{muestra} la cantidad de miligramos de la muestra de gel sumergida y $C_{\text{Cannabis}_{\text{gel}}}$ la concentración de cannabis en el gel.

4. Resultados y discusión

4.1 Caracterización térmica

4.1.1 Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico se realizó sobre los componentes principales de los geles, es decir, el quitosano, la goma arábica y el extracto de cannabis. En esta caracterización se determina la pérdida o ganancia de masa en función de la temperatura.

El objetivo principal de la técnica es, que, al ser polímeros naturales, es preciso hacerles una caracterización de las propiedades térmicas a la materia prima del hidrogel producto. Luego poder informar sus parámetros para que pueda ser reproducible el proceso.

También como objetivo secundario, se puede evaluar la estabilidad térmica del quitosano, la goma arábica, el extracto de cannabis y de los hidrogeles.

A su vez podremos evaluar la temperatura de degradación química para poder confirmar la presencia de los biopolímeros. Primeramente, se realizaron los ensayos termogravimétricos de las materias primas utilizadas para su fabricación.

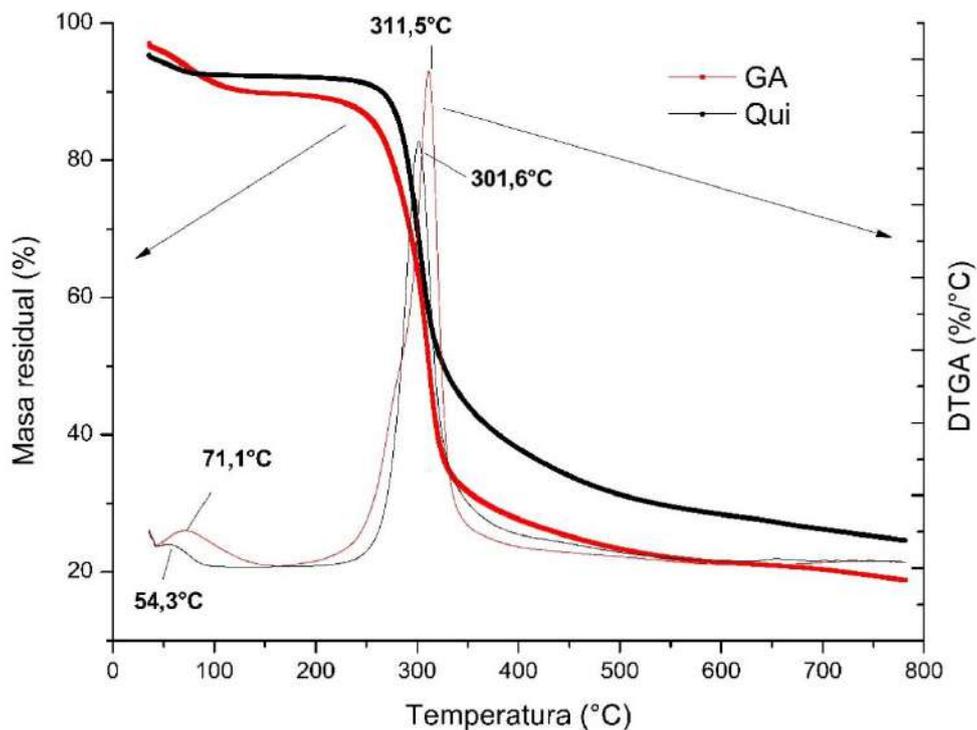


Figura 18. Curvas de masa residual y derivada en función de la temperatura para quitosano y goma arábica.

La curva negra de la Figura 18 muestra los datos de porcentaje de masa residual y la derivada correspondiente del quitosano con un peso molecular medio. El primer pico en la curva de DTGA con la máxima descomposición es a 54,3°C. El segundo pico en la curva de DTGA alcanza un máximo de 301,6°C relacionado con el 45,8% de pérdida de masa.

Para la goma arábiga el gráfico de termogravimetría corresponde a la curva roja, donde se puede también diferenciar la masa residual y la derivada correspondiente. La primera pérdida de masa representativa es de 7,2% y el pico máximo de velocidad de descomposición es de 71,1°C. La segunda pérdida de masa es de 54,1%, y el pico máximo de velocidad de descomposición es de 311,5°C.

La primera pérdida de masa tanto en el quitosano como en la goma arábiga corresponde a la liberación de agua residual [22]. En el análisis termogravimétrico del quitosano, la segunda pérdida de masa corresponde a la descomposición térmica y oxidativa del quitosano, vaporización y eliminación de volátiles. El polímero natural quitosano sufre la pirólisis de los polisacáridos con una primera ruptura aleatoria de los enlaces glicosídicos seguida de una descomposición posterior formando ácidos acético y butírico y una serie de ácidos grasos inferiores [23].

En la goma arábiga, el segundo cambio en el porcentaje de masa corresponde a la deshidratación y descarboxilación del polímero, lo que conduce a la formación de anhídrido inter e intramolecular [24]. Se atribuye la pérdida de masa a la degradación de los polisacáridos [25].

La Figura 19 corresponde a la termogravimetría del extracto de cannabis, la curva negra muestra los datos de pérdida de masa y la curva verde la muestra los datos de la velocidad de degradación.

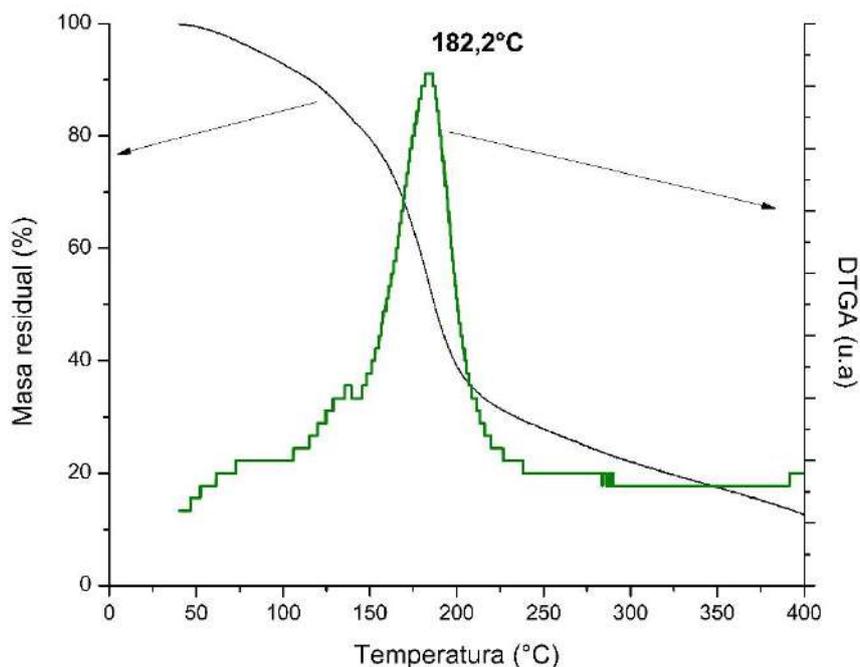


Figura 19. Curvas de masa residual y derivada en función de la temperatura para el extracto de cannabis.

La primera disminución de masa corresponde al 45,6% y el pico de la velocidad de degradación es 182,2°C. La primera pérdida de masa se da a una temperatura similar a la temperatura de ebullición del cannabis.

Las Figura 20 y Figura 21 corresponden a los análisis termogravimétricos de los cuatro geles analizados durante este trabajo, QuiGA, QuiGATPP, QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP. La Figura 20 corresponde a los gráficos de pérdida de masa durante el ensayo para las cuatro muestras. La derivada de la masa residual en función de la temperatura para los cuatro geles se muestra en la Figura 21.

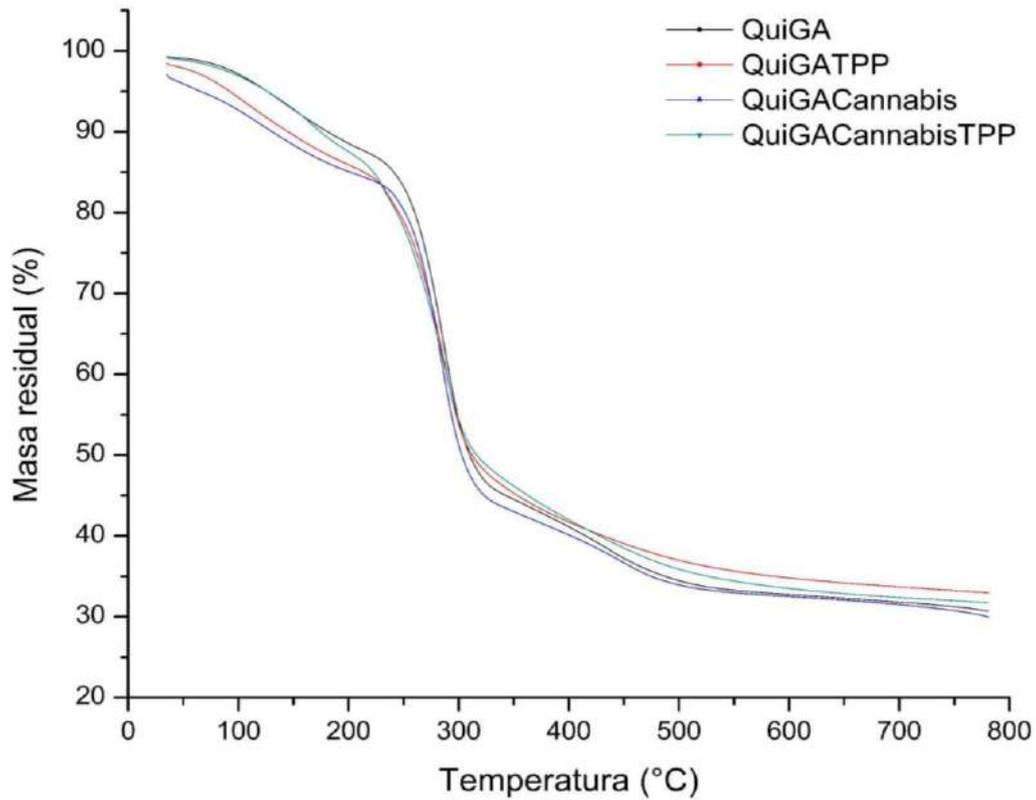


Figura 20. Curva de masa residual para QuiGA, QuiGACannabis, QuiGATPP y QuiGACannabisTPP.

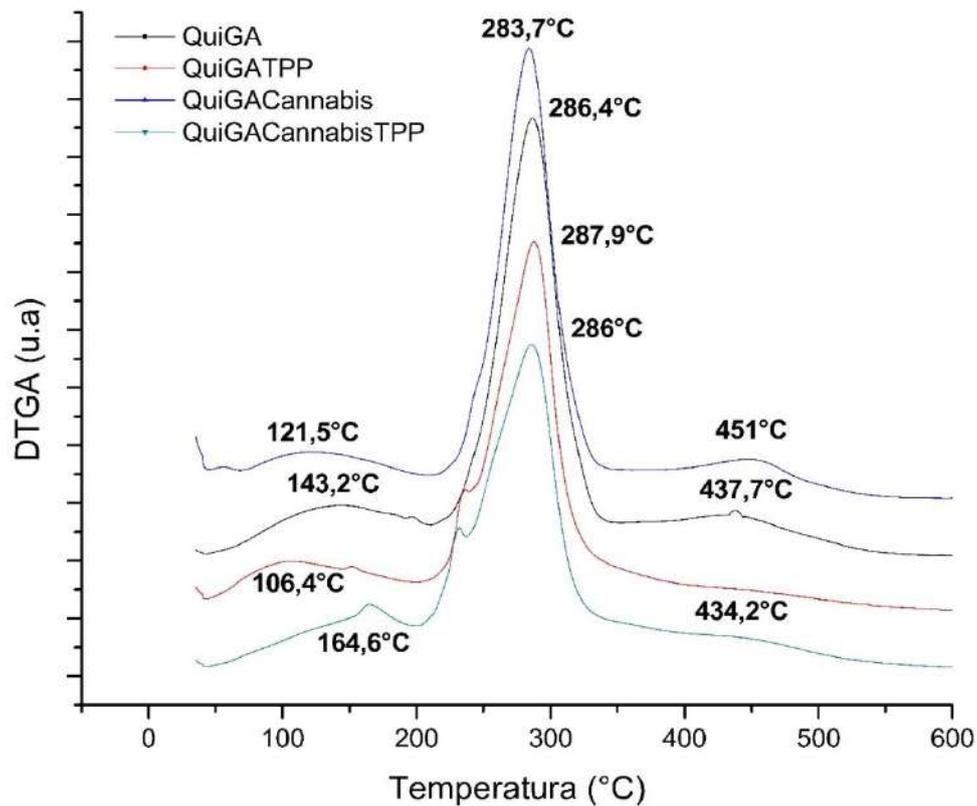


Figura 21. Curva de la derivada de la masa residual en función de la temperatura para QuiGA, QuiGACannabis, QuiGATPP y QuiGACannabisTPP.

El hidrogel conformado por quitosano y goma arábica únicamente (QuiGA) muestra tres pérdidas de masas significativas durante el proceso (Figura 20). La primera transición es de 13% y el pico de velocidad de degradación se da a 143,2°C. El segundo pico significativo en la derivada de la temperatura es a 286,4°C y corresponde a la pérdida de masa más importante de 42,9%. La última pérdida de masa que se puede observar en la (Figura 20) es de 14,5% y se asocia a un pico de velocidad de degradación a 437,7°C.

Para el gel compuesto por quitosano, goma arábica y entrecruzado con tripolifosfato de sodio (QuiGATPP) se pueden observar tres cambios en la pérdida de masa. La primera pérdida de masa es de 14,7% y el pico de velocidad de degradación es a la temperatura de 106,4°C. El pico más significativo en la velocidad de degradación se da a 287,9°C y la pérdida de masa asociada a este pico es de 42,2%.

En el caso de la muestra QuiGACannabis, el hidrogel compuesto por quitosano, goma arábica y cargado con extracto de cannabis muestra en la Figura 20 que tiene tres pérdidas de masa significativas durante el proceso. La primera transición en el porcentaje de masa residual es de 14,2% y se relaciona con el pico de velocidad de degradación a 121,5°C. El pico más representativo en la derivada de la temperatura es a 283,7°C y se asocia a la pérdida de masa del 43,7%. La última transición es de un 13,1% de pérdida de masa y se da a una temperatura de 451°C.

El último gel analizado por termogravimetría es el conformado por quitosano, goma arábica, cargado con extracto de cannabis y entrecruzado con tripolifosfato de sodio (QuiGACannabisTPP). Éste muestra tres transiciones de pérdida de masa, éstas son 13,6%, 41,7%, 16,1%. Las tres pérdidas están relacionadas con tres picos en la velocidad de degradación que se dan a tres temperaturas diferentes. Éstas son 164,6°C, 286°C, 434,2°C.

Cómo se dijo previamente para el análisis de las materias primas de estas muestras, la primera pérdida de masa siempre está asociada a la liberación de agua libre. Además, estamos hablando de hidrogeles, materiales con una gran capacidad de retener agua [26].

Los geles que incorporan extracto de cannabis exhiben un comportamiento análogo al de matrices que contienen quitosano y goma arábica. Se ha observado que la adición de extracto de cannabis a geles que carecen de entrecruzamiento con tripolifosfato de sodio no resulta en un aumento de la estabilidad térmica. En el caso de geles entrecruzados con tripolifosfato de sodio, la inclusión de extracto de cannabis tampoco tiene un incremento de la estabilidad térmica.

En conclusión, los cambios entre ellos no son significativos los cuatro geles se encuentran en el mismo rango de temperatura de descomposición y tienen una buena resistencia térmica, esto es un buen indicio para el uso en aplicaciones biomédicas [27].

4.1.2 Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido se realizó en principio sobre las materias primas de los hidrogeles, es decir, quitosano y goma arábica. También se analizó el extracto de cannabis por DSC. Luego, se llevaron a cabo las calorimetrías de los cuatro hidrogeles analizados durante todo el trabajo, estos son QuiGA, QuiGATPP, QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP.

La técnica empleada se utilizó para realizar las curvas DSC de cada materia prima y cada hidrogel. Con ello se pueden mostrar las transiciones térmicas de los materiales y así relacionarlas con cada proceso físico o químico de cada material en particular. En primer lugar, se llevaron a cabo las curvas DSC del quitosano y la goma arábica, cuya representación gráfica se presenta en la Figura 22.

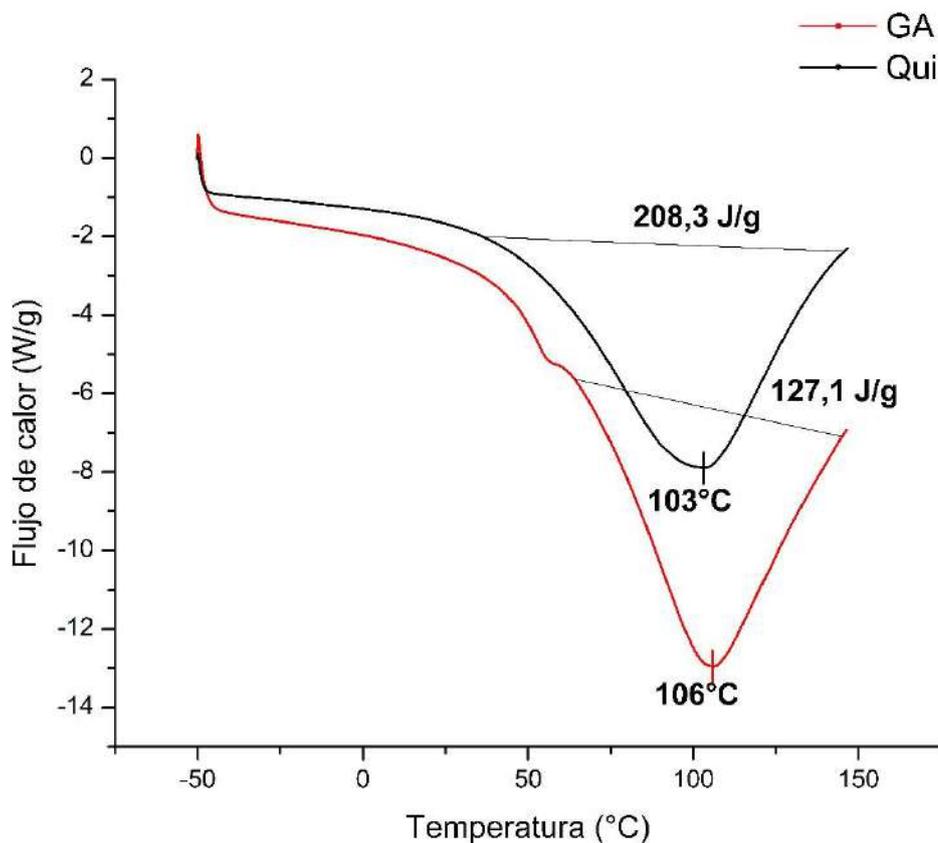


Figura 22. Flujo de calor por unidad de masa en función de la temperatura (DSC) para el quitosano y la goma arábica.

En esta curva DSC del quitosano, se observa un pico endotérmico que se manifiesta a una temperatura de 103°C y tiene una entalpía de 208,3 J/g.

Según la bibliografía [28], este pico endotérmico a 103°C se atribuye a la pérdida de agua presente en el quitosano. La calorimetría diferencial de barrido se limitó hasta los 150 °C en este análisis, y no se registró ninguna otra transición térmica. Sin embargo, es relevante señalar que, si la corrida se hubiera extendido, posiblemente se habría observado un pico exotérmico alrededor de los 300°C, correspondiente a la descomposición del polímero [28]. No se prosiguió la corrida hasta los 400°C debido a que, durante la degradación del polímero, se liberan compuestos volátiles que podrían dañar el equipo utilizado en el análisis.

En relación a la temperatura de transición vítrea, es importante destacar que el quitosano es un polímero natural que presenta ciertas controversias en esta propiedad. Estas discrepancias suelen estar vinculadas a la fuente de origen del quitosano y al método de extracción utilizado, factores que pueden influir significativamente en la determinación de la temperatura de transición vítrea [29].

En el contexto de este estudio, es relevante mencionar que en la curva de DSC del quitosano analizado, no se observó la aparición de la temperatura de transición vítrea. Esto podría atribuirse a las particularidades de la muestra específica de quitosano utilizada en este trabajo, que puede diferir en sus propiedades térmicas con respecto a otras fuentes o métodos de extracción.

La Figura 22, también, exhibe la curva DSC de la goma arábiga, en la cual se aprecia un pico endotérmico que se manifiesta a una temperatura de 106°C, con una entalpía registrada de 127,1 J/g.

De acuerdo con la literatura científica [30], este pico endotérmico a 106°C se atribuye al proceso de deshidratación de la goma arábiga. Similar al caso del quitosano, la descomposición de la goma arábiga suele ocurrir alrededor de los 300°C, lo cual impide la observación del correspondiente pico exotérmico en la Figura 22, tal como se mencionó previamente.

Es relevante destacar que en el análisis termogravimétrico y en la calorimetría diferencial de barrido, ambos polímeros naturales, el quitosano y la goma arábiga, muestran valores coincidentes. Esto se refleja en las temperaturas donde ocurre la deshidratación, que son muy similares en ambas técnicas, mientras que la descomposición no pudo ser visualizada en el DSC debido a las razones mencionadas anteriormente.

La Figura 23 exhibe la curva DSC del extracto de cannabis, en la cual se destaca la presencia de un pico endotérmico que se manifiesta a una temperatura de 71°C, con una entalpía correspondiente de 142,3 J/g.

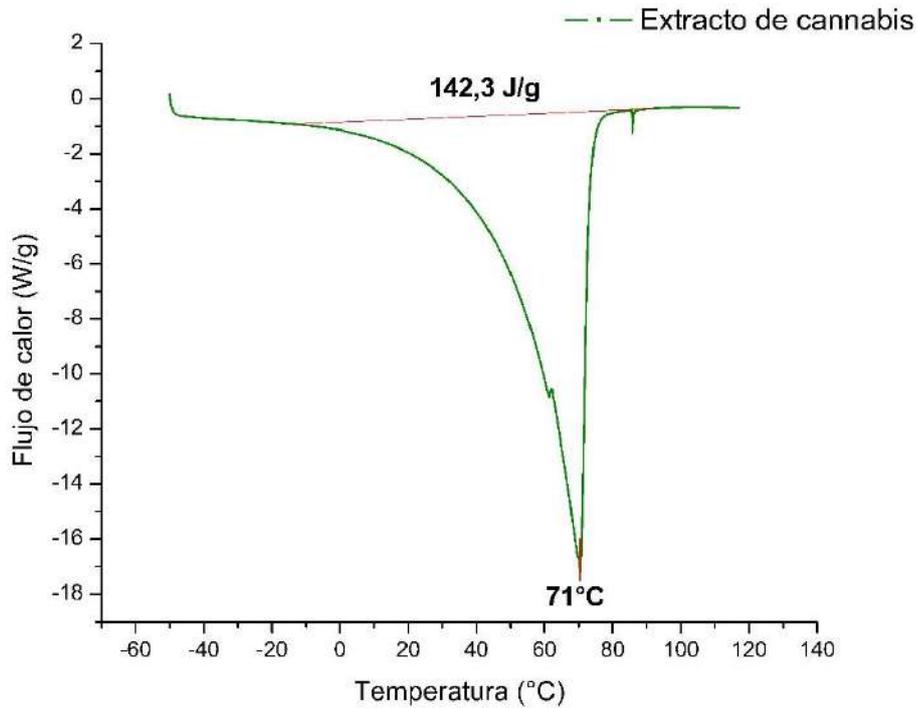


Figura 23. Flujo de calor por unidad de masa en función de la temperatura (DSC) para el extracto de cannabis.

Este pico endotérmico se asocia con el proceso de fusión del extracto de cannabis, y esta interpretación concuerda con los datos encontrados en la literatura científica [31]. Esto podría indicarnos que el extracto de cannabis tiene una fase cristalina con un punto de fusión a 70 °C aproximadamente.

La Figura 24 presenta las curvas de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) correspondientes a todas las muestras analizadas en este estudio, resaltando características distintivas para cada hidrogel.

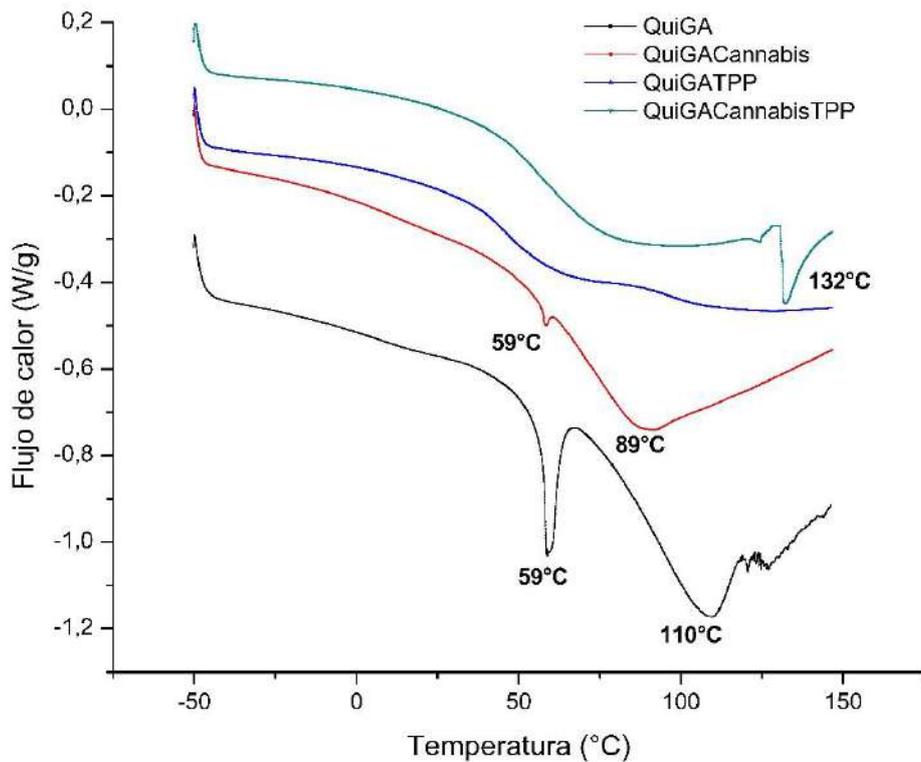


Figura 24. Flujo de calor por unidad de masa en función de la temperatura para las muestras QuiGA, QuiGATPP, QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP.

En el caso de QuiGA, se aprecian dos picos endotérmicos notables, uno a 59°C y otro a 110°C. Por otro lado, QuiGATPP muestra un primer pico endotérmico a 59°C y un segundo pico a 89°C. Sin embargo, en el caso de QuiGACannabisTPP, la Figura 24 no revela picos significativos, excepto por un pico abrupto endotérmico a 132°C.

En primer lugar, es importante señalar que el gel formado a partir de las materias primas (QuiGA) exhibe dos picos endotérmicos, los cuales se pueden atribuir a la presencia de agua en la red. Estos picos presentan un área menor que la encontrada en el DSC de la goma arábiga y el quitosano. Lo que nos está indicando una interacción más intensa con el agua. La formación de la red y la disminución de la estructura ordenada, debido a la modificación química, pueden contribuir de manera significativa al aumento en la absorción de agua [23].

El hidrogel cargado con extracto de cannabis y entrecruzado con tripolifosfato de sodio (QuiGACannabisTPP), muestra la ausencia del pico de cristalinidad característico del extracto de cannabis. Esto sugiere que el cannabis está unido formando enlaces con el polímero en lugar de mantenerse en su estado cristalino [31].

Respecto a los hidrogeles entrecruzados con tripolifosfato de sodio (TPP), se aprecia una disminución en los picos asociados a la deshidratación. En el hidrogel de quitosano (QuiGATPP) se refleja una ausencia de picos característicos, indicando un estado completamente amorfo para este gel. Es importante decir que el tripolifosfato de sodio

modifica la naturaleza cristalina del quitosano [32]. En contraste, el gel cargado con extracto de cannabis (QuiGACannabisTPP) no exhibe una reducción total en los picos endotérmicos, lo que sugiere una posible falta de completa compatibilidad con el TPP.

Los análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) revelan comportamientos térmicos consistentes con las observaciones obtenidas a través de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y análisis termogravimétrico (TGA) para todas las muestras.

4.2 Caracterización física, química y morfológica

4.2.1 Análisis por espectroscopía infrarroja por transformada de fourier (FTIR)

Los espectros FTIR se utilizaron para confirmar los grupos funcionales y las interacciones quitosano, goma arábica y cannabidiol. A continuación se estudiaron y analizaron los espectros de todos los hidrogeles, QuiGA, QuiGATPP, QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP.

En primer lugar, en la Figura 25, se muestran las espectroscopías de los polímeros iniciales, quitosano y goma arábica, utilizados para formar la matriz de todas las muestras que se estudiaron durante este trabajo.

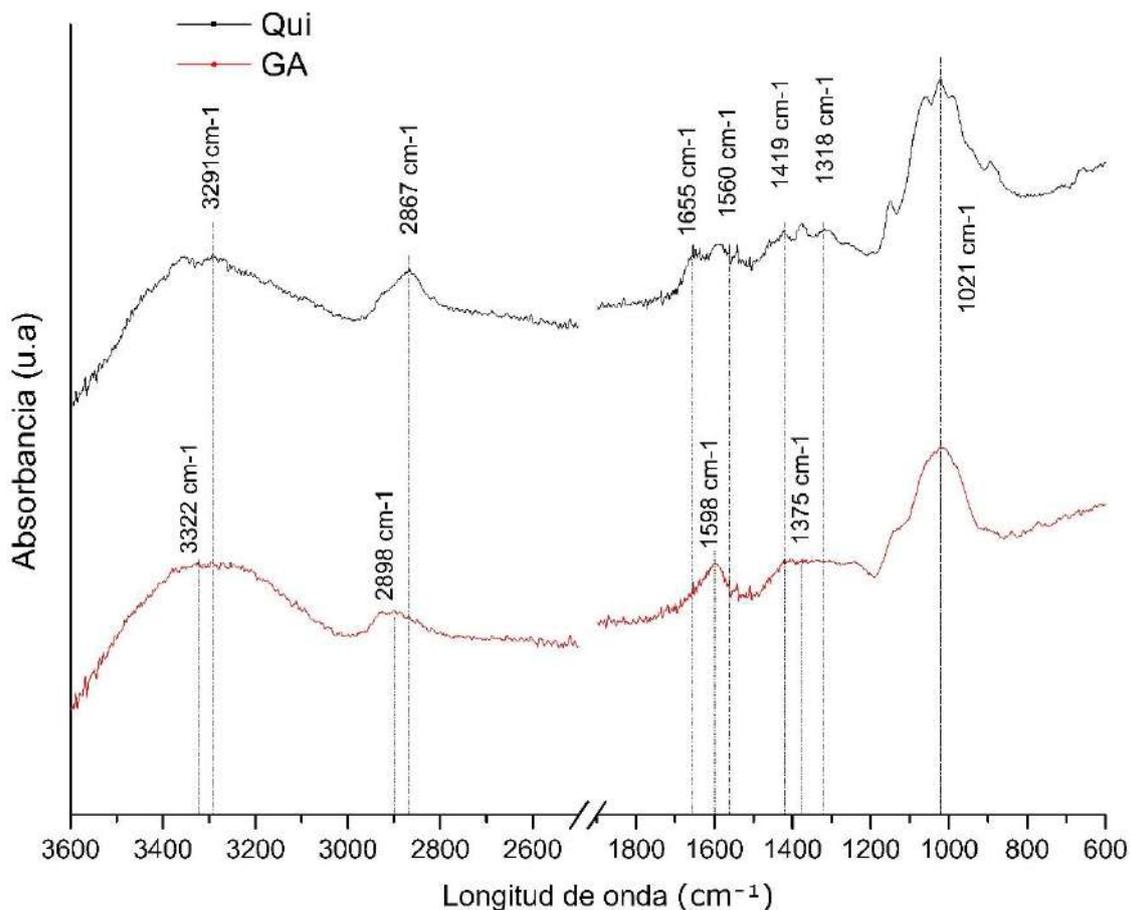


Figura 25. Espectro FTIR de quitosano y goma arábica.

Se resaltan para cada polímero los picos principales, que se compararon con los picos de bibliografía. En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos por bibliografía para el quitosano y aquellos obtenidos durante la espectroscopía por Transformada de Fourier.

Tabla 1. picos característicos del quitosano.

Número de onda según bibliografía (cm ⁻¹)	Número de onda obtenido (cm ⁻¹)	Grupos funcionales
3400-3450 [33][34]	3291	Vibración del estiramiento de -OH- y -NH-
2880-2923 [33][34]	2867	Estiramiento del enlace -CH-
1655 [34]	1655	Absorbancia del enlace C=O del grupo amida
1560-1590 [34]	1560	Absorbancia del enlace -NH- con una disminución de la intensidad del pico en la banda correspondiente al el grupo amino -NH ₂ -
1320-1415 [34]	1419	Flexión de -CH ₂ - en el anillo
1380 [34]	1318	Deformación del enlace CH ₃
1040-1150 [34]	1021	Vibración del enlace -C-O-C- para los grupos amino y amida

Se muestran, en la Tabla 2, los valores obtenidos por bibliografía para la goma arábica y aquellos obtenidos durante la espectroscopía por Transformada de Fourier.

Tabla 2. Picos característicos de la goma arábica.

Número de onda según bibliografía (cm ⁻¹)	Número de onda obtenido (cm ⁻¹)	Grupos funcionales
3000-3500 [35][36]	3322	Vibración del estiramiento de -OH- del anillo glicosídico
2889-2922 [35][36]	2898	Vibración del enlace -CH-
1586-1612[36][35]	1598	Vibración del estiramiento de -C=O-O- de los grupos carboxilo y de la vibración de la flexión de -NH-
1424 [35]	1375	Flexión del enlace -OH- del grupo ácido

1074 [35]	1021	Vibración asignada al estiramiento de -C-OH- en la molécula de polisacárido
-----------	------	-----------------------------------------------------------------------------

En la Figura 26, se muestran las espectroscopías de los hidrogeles QuiGA y QuiGATPP, el primero se trata de la matriz de todas las muestras y el segundo es el entrecruzado con tripolifosfato de sodio. Se resaltan para cada muestra los picos principales, que se compararon con los picos de bibliografía.

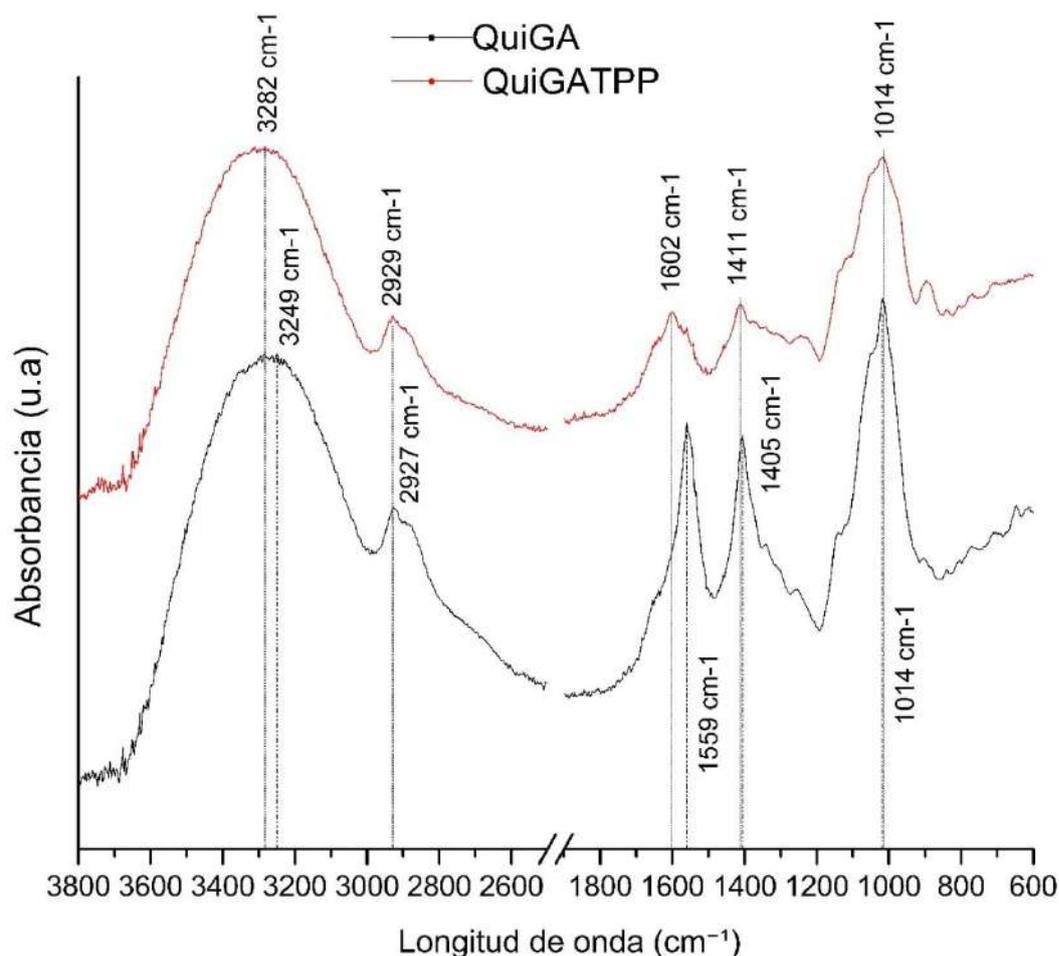


Figura 26. Espectro FTIR de las muestras QuiGA y QuiGATPP.

En la Tabla 3 se indican los valores obtenidos por bibliografía para el sistema QuiGA y aquellos obtenidos durante la espectroscopía por Transformada de Fourier, ambas fueron analizadas en su estado sólido y seco.

Tabla 3. Picos característicos del QuiGA.

Número de onda según bibliografía para QuiGA (cm ⁻¹)	Número de onda obtenido (cm ⁻¹)		Grupos funcionales
	QuiGA	QuiGATPP	
3295 [37]	3249	3282	Vibración de estiramiento de los

			grupos -NH ₂ - y -OH-
2889-2922 [35][36]	2927	2929	Vibración del enlace -CH-
1550-1635 [37]	1559	1602	Interacción electrostática entre los grupos amina del quitosano y los grupos carboxilo de la goma arábica
1405 [37]	1405	1411	
1020 [37]	1018	1014	Estiramiento del enlace -C-O-

A partir de lo observado en las espectroscopias de la Figura 25 y la Figura 26, podemos decir que la muestra de QuiGA posee un cambio significativo en la zona entre 1400 cm⁻¹ y 1600 cm⁻¹. Este rango de longitudes de onda corresponde a la región carboxilo-amida, de los grupos carboxilo de la goma arábica y los grupos amina del quitosano [37]. La variación percibida es el resultado de la interacción de los biopolímeros respectivamente, indicaría una interacción electrostática entre ellos.

En continuidad con lo anteriormente analizado, en la Figura 26 se puede evidenciar la comparación de espectros FTIR entre las muestras QuiGA y QuiGATPP. En todo el intervalo de longitudes de onda se observa la disminución de la intensidad de los picos en el espécimen QuiGATPP con respecto al espécimen de QuiGA. Esta variación en la absorción se relaciona con la interacción entre los grupos amino del quitosano y las moléculas del tripolifosfato de sodio [37]. Podríamos deducir que el tripolifosfato de sodio interacciona con todo el QuiGA.

En la Figura 27 se muestra la espectroscopía del extracto de cannabis, el cual fue secado en estufa previamente para hacer el análisis de la muestra en polvo. A continuación, en la Tabla 4, se enseñan los valores por bibliografía para el extracto de cannabis y aquellos obtenidos durante la espectroscopía por Transformada de Fourier.

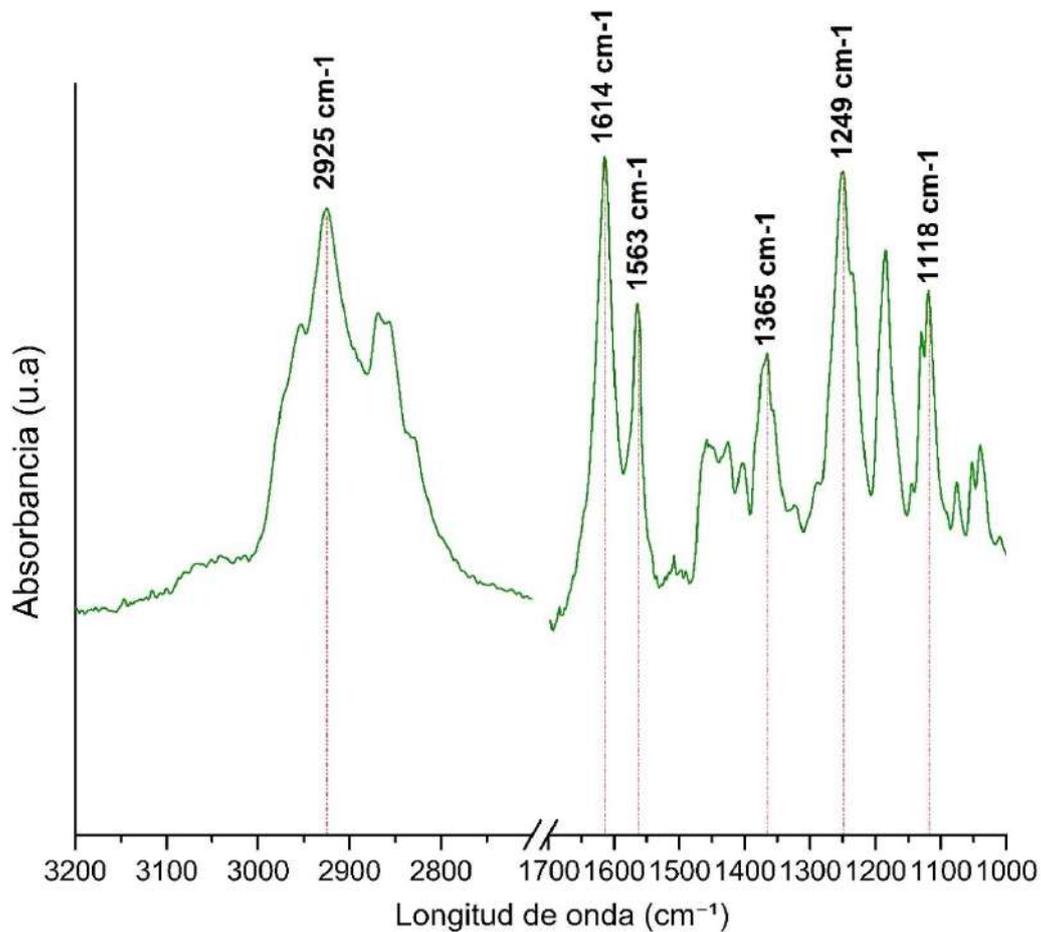


Figura 27. Espectro FTIR de la muestra de extracto de cannabis.

Tabla 4. Picos característicos del extracto de cannabis.

Número de onda según bibliografía (cm ⁻¹)	Número de onda obtenido (cm ⁻¹)	Grupos funcionales
2900-2926 [38]	2925	Vibración de los grupos -OH-
1653 [39]	1614	Vibración del enlace C=C de los grupos acíclicos insaturados
1582-1627 [38]	1563	Vibración del enlace -CH- pertenecientes a los grupos alifáticos
1300-1000 [39]	1365	Vibración de los ésteres
1250 [38]	1249	Vibración del estiramiento asimétrico de -C-O-C-
1120-1090 [39]	1118	Vibración del estiramiento

		del enlace -C-O-
--	--	------------------

Se grafican en la Figura 28 las espectroscopías de las muestras QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP, aquellos gels formados con extracto de cannabis y entrecruzados con tripolifosfato de sodio.

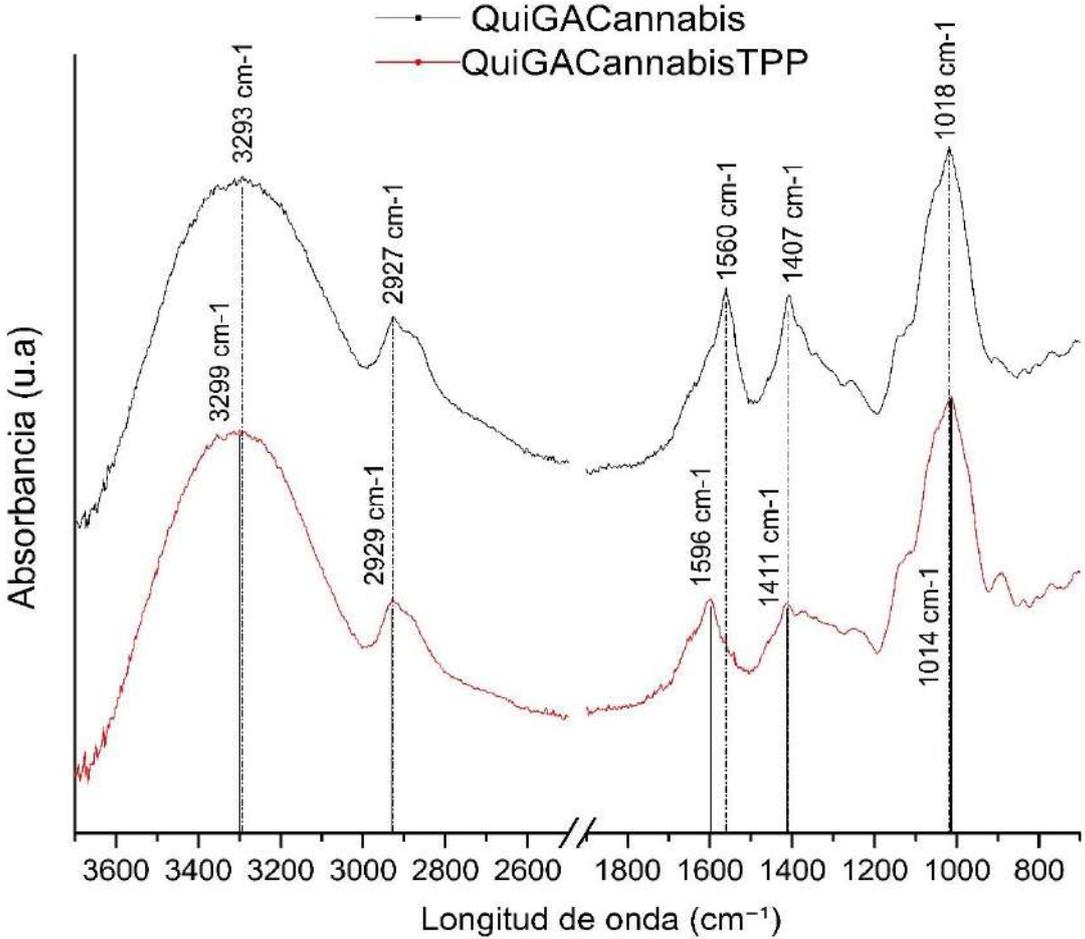


Figura 28. Espectro FTIR de QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP.

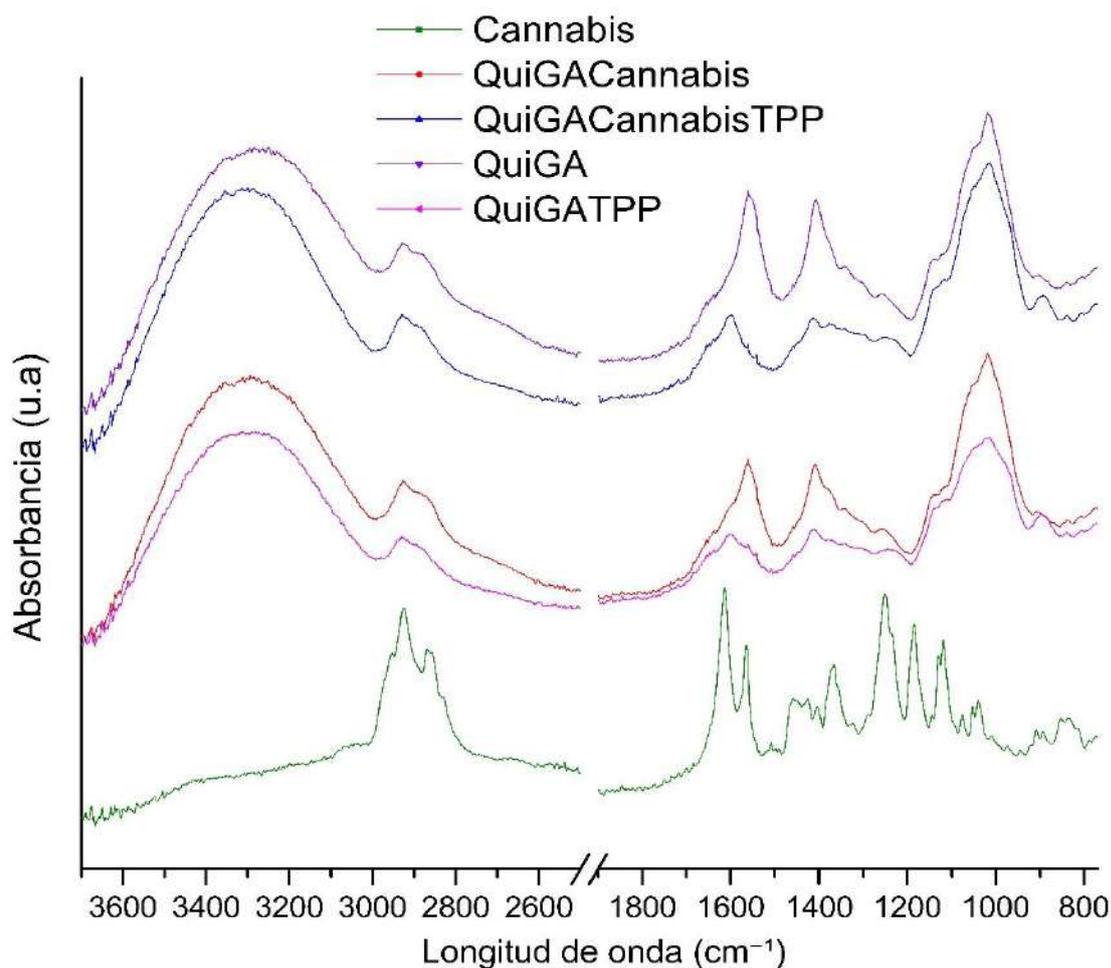


Figura 29. Espectro FTIR de Cannabis, QuiGA, QuiGACannabis, QuiGATPP y QuiGACannabisTPP.

La observación que se puede hacer en la Figura 28, es que los valores picos de longitud de onda se pueden comparar con la Tabla 3. Como se dijo anteriormente, la variación percibida en el rango entre 1400 cm^{-1} y 1600 cm^{-1} es el resultado de la interacción de los biopolímeros respectivamente [37].

Al incorporar el extracto de cannabis al hidrogel de quitosano y goma arábiga, las bandas características del extracto de cannabis 2925 cm^{-1} , 1614 cm^{-1} , 1563 cm^{-1} y 1118 cm^{-1} se pueden notar en las dos muestras de la Figura 29. Algunos de estos picos característicos del extracto de cannabis están desplazados en las muestras de QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP debido a la interacción molecular entre el extracto y el quitosano [27].

4.2.2 Análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La porosidad, la estructura de los poros y las características de las paredes internas son elementos de vital importancia que ejercen una influencia significativa sobre las propiedades fundamentales de los hidrogeles. Estas propiedades clave, como la capacidad de absorción de agua, la velocidad de liberación de sustancias y la permeabilidad, entre

otras, están directamente vinculadas a la microestructura del material. Un análisis detallado de esta microestructura resulta esencial para comprender a fondo la posible aplicabilidad biomédica del hidrogel.

Las propiedades mecánicas están relacionadas con la interconexión y las particularidades de las paredes internas. Estas interrelaciones se manifestarán claramente durante la realización de ensayos mecánicos dinámicos. A partir de las imágenes SEM se analizaron la morfología y el tamaño de poros, cómo también la adición de extracto de cannabis y TPP a los hidrogeles. Todas las muestras fueron liofilizadas y criofracturadas previo a la microscopía electrónica de barrido con el motivo de evitar la deformación plástica.

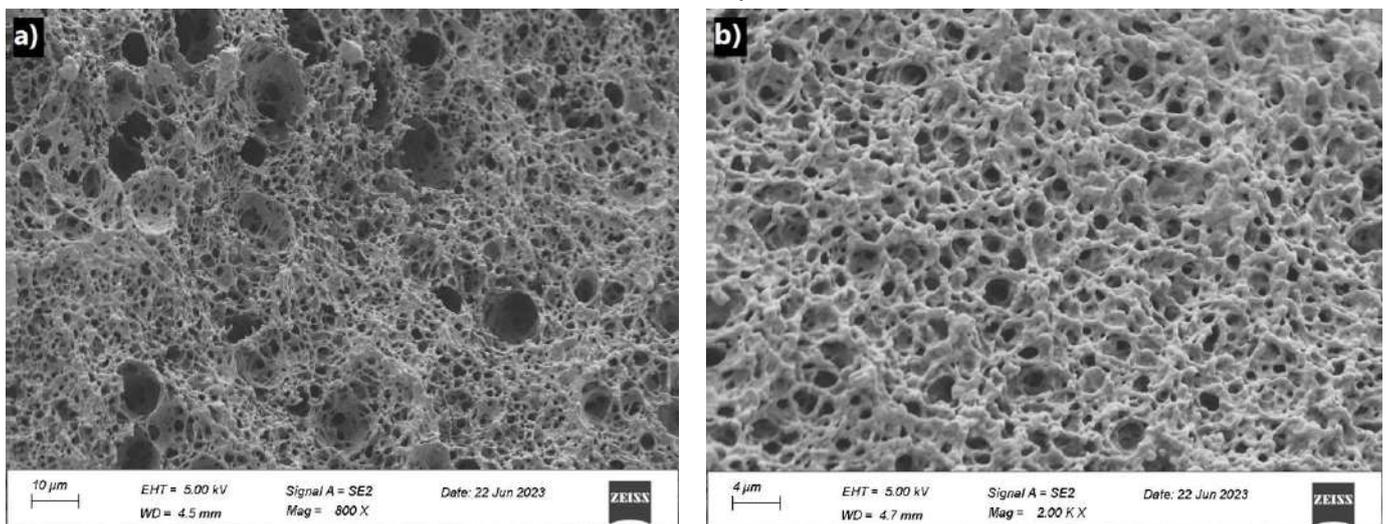


Figura 30. Micrografía SEM de la muestra QuiGA a) 800X b) 2000X.

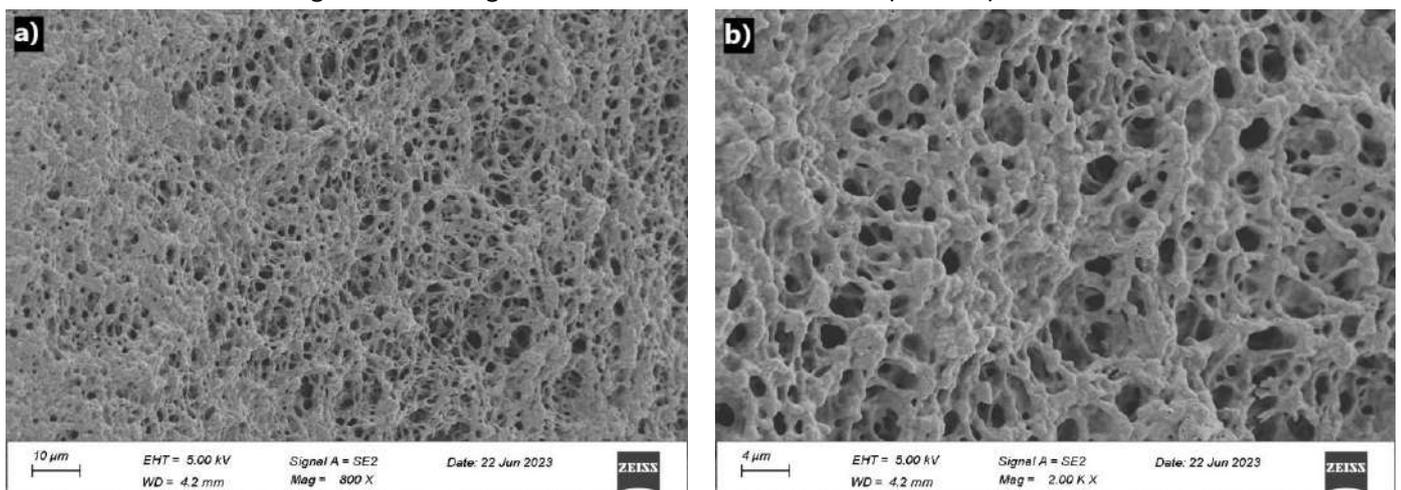


Figura 31. Micrografía SEM de la muestra QuiGACannabis a) 800X b) 2000X.

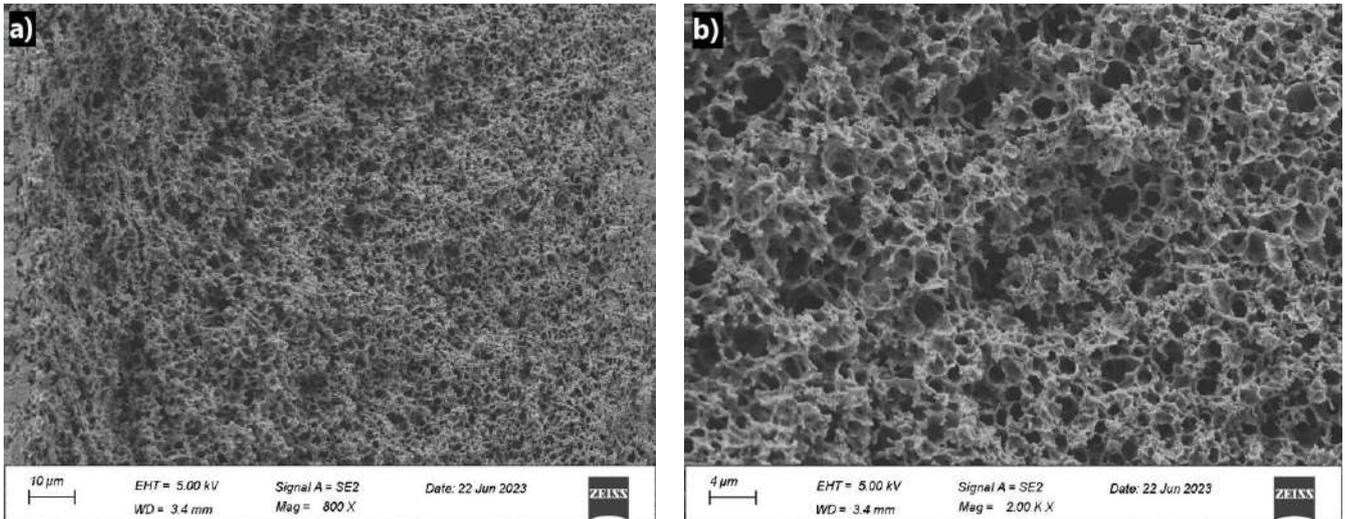


Figura 32. Micrografía SEM de la muestra QuiGACannabisTPP a) 800X b) 2000X.

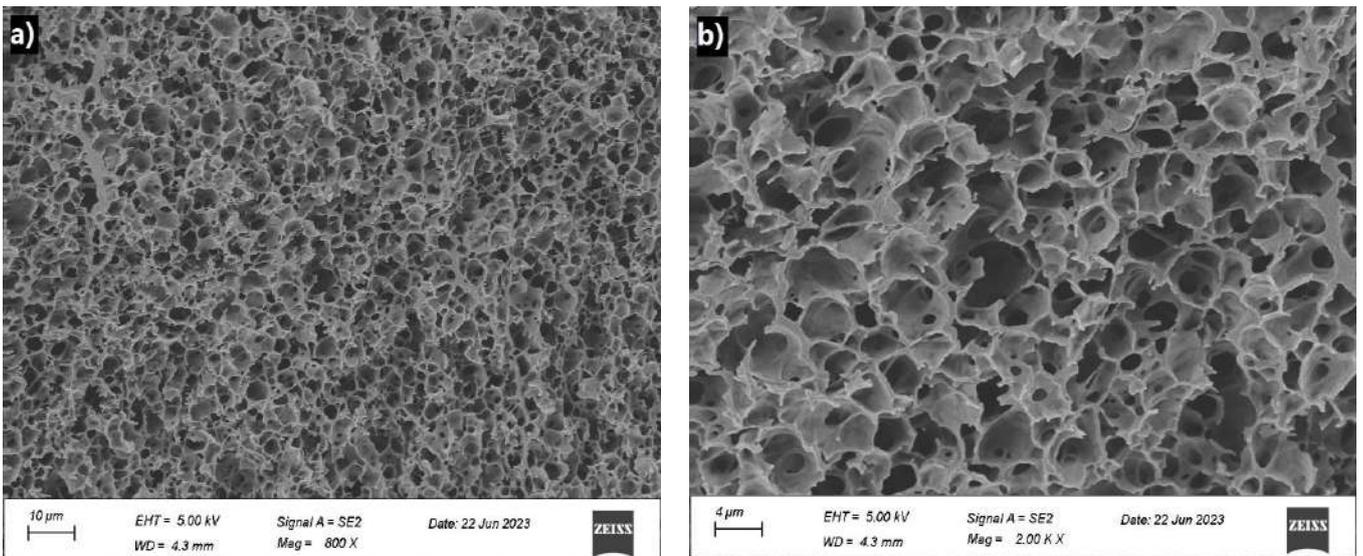


Figura 33. Micrografía SEM de la muestra QuiGATPP a) 800X b) 2000X.

Las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) revelaron que todos los hidrogeles presentan una estructura tridimensional de poros interconectados con una disposición regular. Estos poros se caracterizan por tener una configuración abierta y un tamaño reducido, similar a una estructura tipo esponja. Específicamente, los resultados muestran que la muestra QuiGA tiene un tamaño de poro de 0,26 micrones, mientras que la cargada con extracto de cannabis, QuiGACannabis, un tamaño de poro de 0,27 micrones. Agregando a lo anterior, el hidrogel QuiGATPP presenta un tamaño de poro de 0,42 micrones y el que contiene cannabis, QuiGACannabisTPP tiene un tamaño de poro de 0,2 micrones.

Los hidrogeles que contienen el agente entrecruzante, tripolifosfato de sodio, exhibieron una microestructura más uniforme de poros que aquellos que no lo contienen. En el caso particular del hidrogel de quitosano (QuiGA), Figura 30 a), se puede apreciar la presencia de algunos poros de mayor tamaño en comparación con los demás. Estos poros de mayor

tamaño pueden traer consecuencias negativas en la resistencia mecánica del material, generando una concentración de tensiones y ruptura en esas zonas.

Por otro lado, la muestra de hidrogel de quitosano cargado con extracto de cannabis (QuiGACannabis), Figura 31, evidenció una microestructura homogénea. Pero en el lado izquierdo de la imagen se puede ver cómo está deformada plásticamente. La estructura se ve barrida, esto se debe a que la criofractura no fue del todo precisa y condujo a la deformación plástica del hidrogel durante el proceso de corte.

Se puede afirmar, observando los resultados y las imágenes, que el agregado de extracto de cannabis y tripolifosfato de sodio influyeron en la microestructura de los hidrogeles de quitosano.

Además, utilizando el software ImageJ, se procedió a medir los espesores de las paredes en las cuatro muestras analizadas. Inicialmente, el hidrogel de quitosano (QuiGA) exhibe un espesor de pared de 620,6 nm, mientras que el gel cargado con extracto de cannabis (QuiGACannabis) presenta un espesor de 954 nm. En cuanto a los hidrogeles entrecruzados con tripolifosfato de sodio, la muestra cargada con cannabis (QuiGACannabisTPP) muestra un espesor de pared de aproximadamente 172,2 nm, mientras que el que no contiene cannabis (QuiGATPP) tiene un espesor de pared cercano a los 400 nm.

4.3 Evaluación de la capacidad de hinchamiento

4.3.1 Determinación del grado de hinchamiento

Los hidrogeles tienen la habilidad de hincharse en agua o en cualquier sistema que contenga una solución acuosa. La estructura del polímero tiene como característica retener solventes formando una fase de gel hinchado y, en estos sistemas entrecruzados, es capaz de no disolverse [40].

En la siguiente figura (Figura 34) se muestran las curvas de *swelling* para los cuatro tipos de hidrogeles.

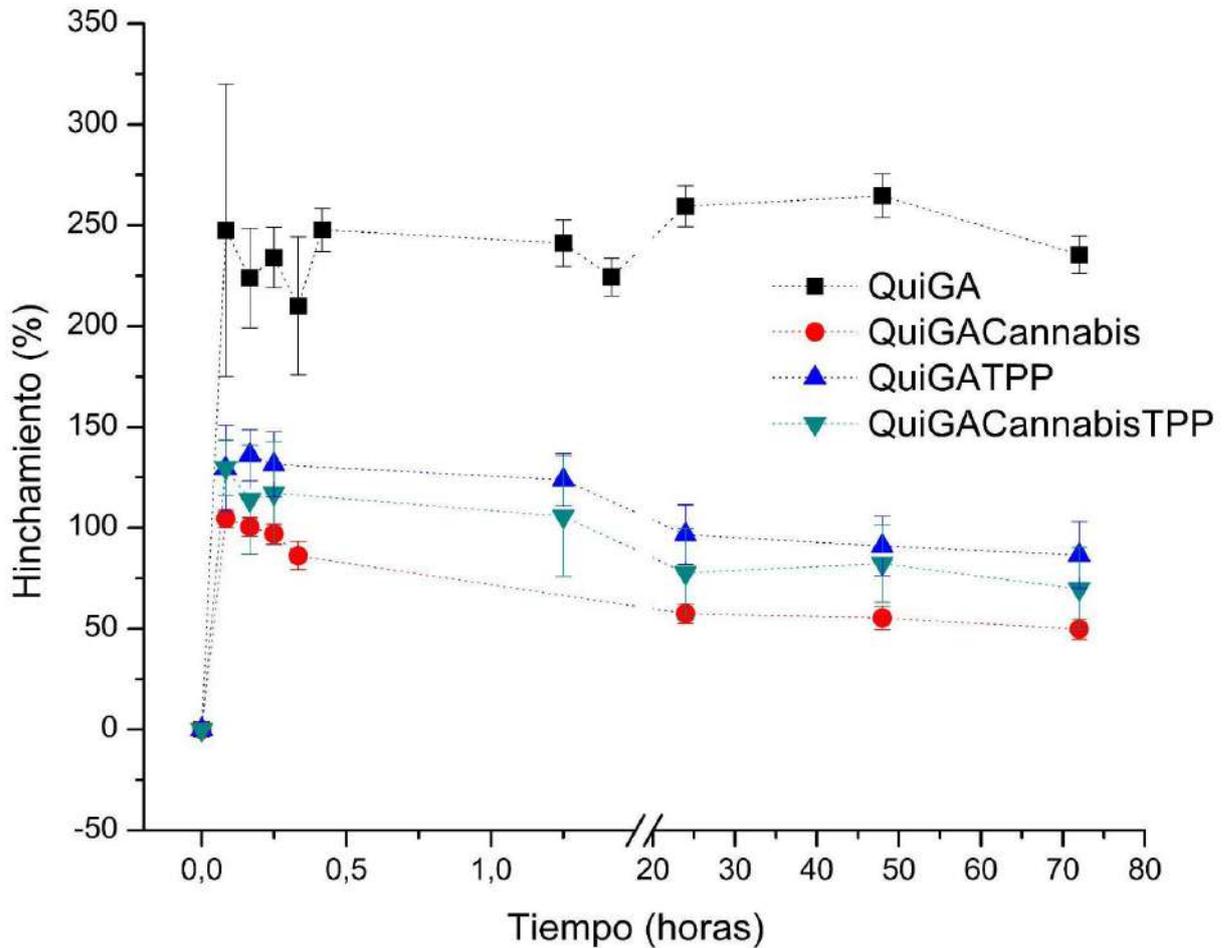


Figura 34. Gráfica de *swelling* para QuiGA, QuiGATPP, QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP.

Se puede observar de la Figura 34 que los geles QuiGATPP, QuiGACannabisTPP y QuiGACannabis alcanzan el equilibrio a las 28 horas, aproximadamente un día después del inicio del ensayo. En cambio, el gel llamado matriz de quitosano y goma arábica (QuiGA) alcanzó el equilibrio a los 6500 segundos, aproximadamente 2 horas.

La característica que también se puede observar del gráfico de *swelling* es que todos los hidrogeles cargados con extracto de cannabis (QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP) alcanzan un menor porcentaje de hinchamiento que los geles sin Cannabis. Otra cualidad de este gráfico a resaltar es que los geles que no están entrecruzados con tripolifosfato de sodio tienen un mayor porcentaje de entrecruzamiento.

Los grupos carboxílicos y amino desempeñan un papel importante en la absorción de agua, un papel importante en la captación de agua debido a su naturaleza hidrofílica. En los hidrogeles basados en combinaciones entre polímeros de carga opuesta, los grupos amino del quitosano interactúan con los grupos carboxílicos de los polímeros aniónicos, goma arábica en este caso. Estas interacciones probablemente redujeron el número de grupos

amino y grupos carboxílicos libres, disminuyendo la capacidad de retención de agua de estas matrices [41].

A continuación en la Tabla 5 se enseñan los porcentajes de hinchamiento máximos para los hidrogeles analizados en el trabajo, QuiGA, QuiGACannabis, QuiGATPP y QuiGACannabisTPP.

Tabla 5. Porcentajes de hinchamiento en el equilibrio para todas las muestras.

QuiGA	QuiGATPP	QuiGACannabis	QuiGACannabisTPP
236,7 ± 10,8 %	93,0 ± 14,5 %	55,6 ± 5,9%	80,8 ± 20,2%

Las diferencias en el porcentaje de hinchamiento entre los geles sin cannabis (QuiGA y QuiGATPP) y los geles con cannabis (QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP) se supone que se debe principalmente a la densidad de entrecruzamiento y la composición del gel [42].

En el caso de los hidrogeles de quitosano entrecruzados con tripolifosfato de sodio, el grado de hinchamiento fue menor. Esto se relaciona ya que el tripolifosfato de sodio es el agente entrecruzante. El comportamiento de *swelling* disminuye porque el entrecruzamiento es mayor por ende la capacidad de absorber solución fisiológica disminuye.

Sin embargo, para los geles de cannabis el comportamiento con tripolifosfato de sodio no fue similar a los geles de quitosano. El añadido de agente entrecruzante no mostró una diferencia importante con respecto al gel sin tripolifosfato de sodio. El grado de entrecruzamiento en un material polimérico puede estar vinculado al uso de tripolifosfato de sodio como agente entrecruzante, y la modificación del tiempo de entrecruzamiento tiene un efecto directo en la variación del grado de entrecruzamiento [43]. Por ello no se encuentra una diferencia marcada en el grado de hinchamiento de los geles QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP.

4.3.2 Determinación de la fracción de gel

Los resultados de la determinación de la fracción de gel para las cuatro muestras analizadas durante el trabajo se representan en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados de la fracción de gel para los hidrogeles en estudio.

QuiGATPP	QuiGACannabis	QuiGACannabisTPP
42±4 %	41±1 %	47±7 %

La fracción de gel se encuentra directamente correlacionada con el grado de entrecruzamiento del material, aunque con una relación inversa con el máximo hinchamiento. Se observa que el hidrogel de quitosano (QuiGA), no presenta resultados de fracción de gel, es importante señalar que no se pudieron obtener resultados precisos para el ensayo debido a las dificultades encontradas durante el ensayo. La muestra mostró una tendencia a romperse y demostró ser especialmente difícil de manipular. Por lo tanto, cualquier resultado obtenido de las pruebas con esta muestra no sería representativo ni confiable, los resultados se muestran en Figura 35.

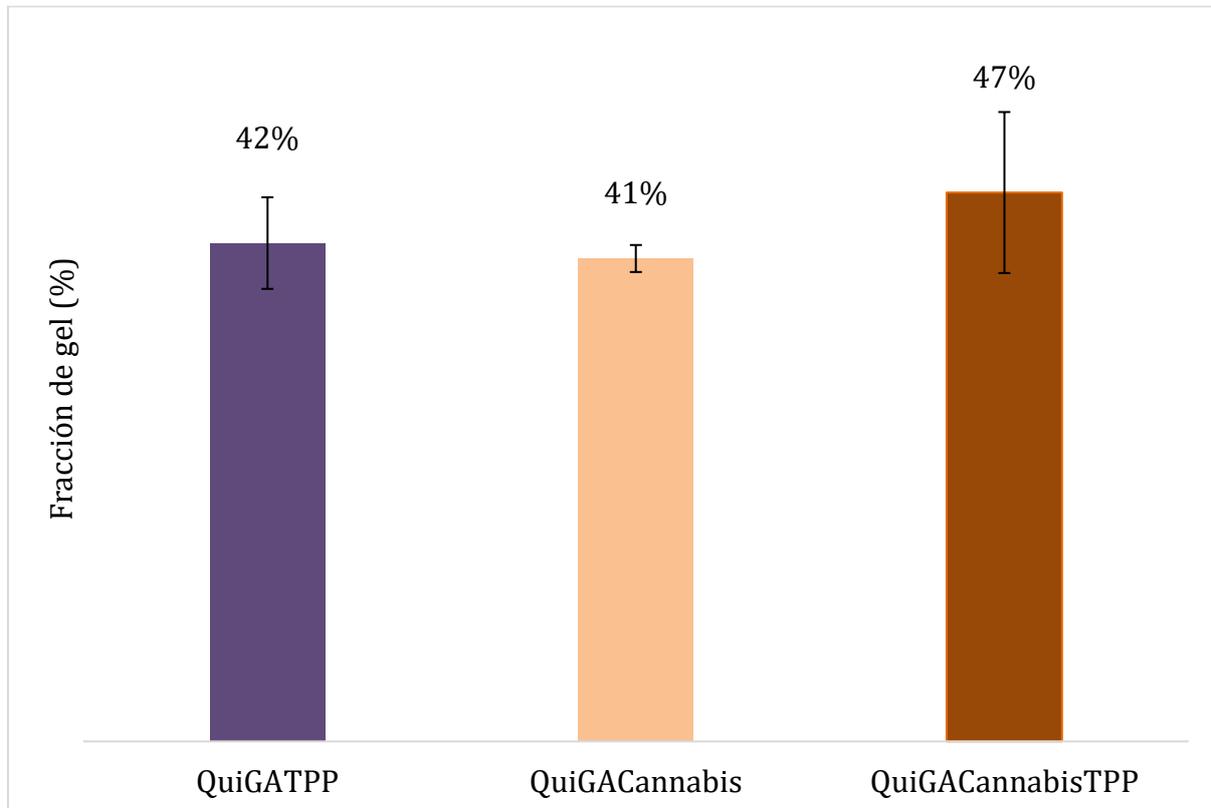


Figura 35. Fracción de gel para todos los geles en estudio.

Se observa que los hidrogeles cargados con cannabis y el hidrogel de quitosano con tripolifosfato de sodio presentan una fracción de gel similar, así como un grado de hinchamiento parecido. Esto respalda la validez del cálculo y la comparación de la fracción de gel entre estas tres muestras, sugiriendo que la metodología utilizada es adecuada para estos casos.

4.4 Permeabilidad al vapor (WVTR)

Un vendaje ideal debe controlar la pérdida de agua de una herida a un ritmo óptimo, por ello es importante evaluar la tasa de permeabilidad al vapor [44]. La pérdida de agua por evaporación para la piel normal es menor que la tasa para la piel lesionada, que puede ser de 279 g/m²por día para una herida granulada. Si la piel se encuentra quemada, la tasa de pérdida puede ser de hasta 20 veces mayor que la de la piel normal [44]. El apósito debe

evitar tanto la deshidratación como la acumulación de exudado, sino éste puede facilitar la infección microbiana lo que puede perjudicar el proceso de cicatrización [7].

En la Tabla 7 se muestran los resultados de la tasa de transmisión de vapor de agua dependiente (WVTR) e independiente (\mathfrak{R}) del espesor.

Tabla 7. Valores de permeabilidad al vapor dependiente e independiente del espesor.

Muestra	WVTR ($\frac{g}{m^2 \times h}$)	\mathfrak{R} ($\frac{g \times mm}{m^2 \times h}$)
QuiGA	3,0±0,7	4,5±2,0
QuiGATPP	3,9±1,1	5,9±2,5
QuiGACannabis	5,1±1,2	7,65±3,0
QuiGACannabisTPP	2,7±0,8	4,05±1,9

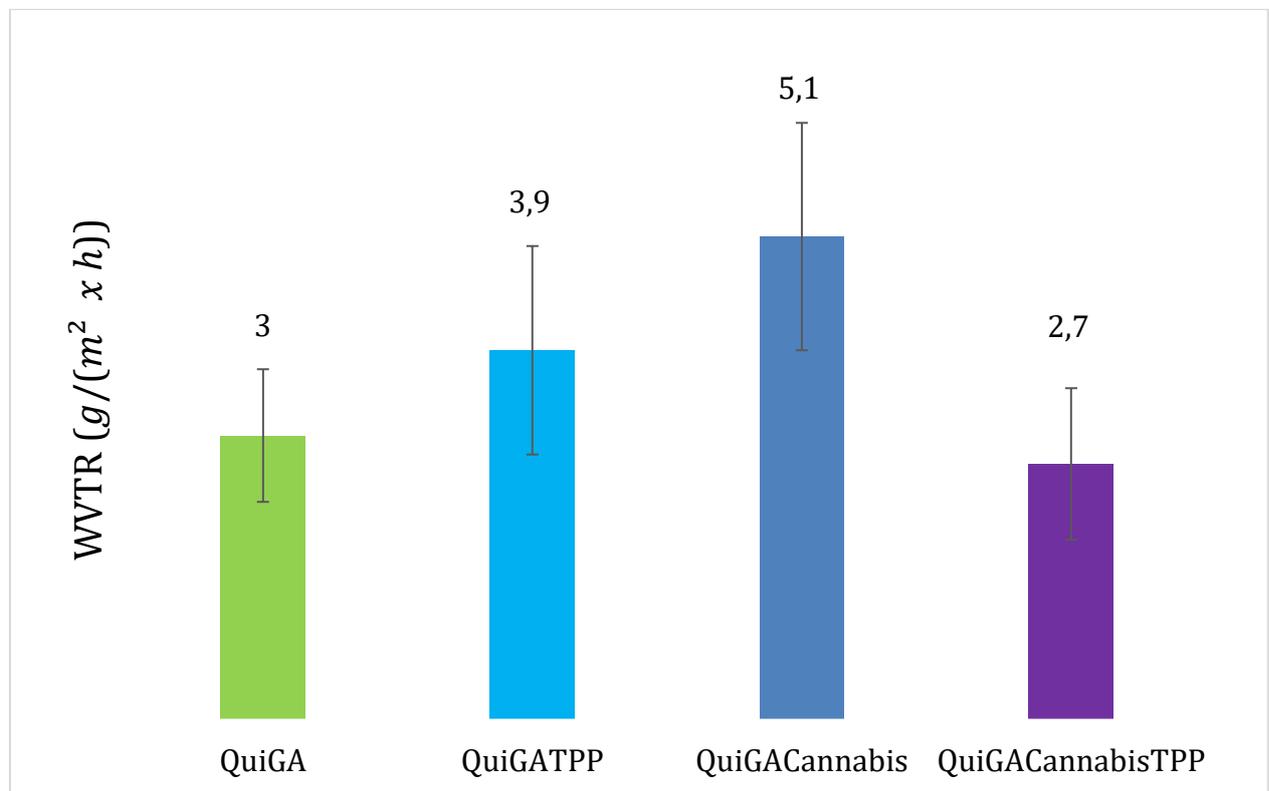


Figura 36. Tasa de transmisión de vapor de los hidrogeles en estudio.

Según lo mencionado anteriormente en relación con la tasa de transmisión de vapor de agua (WVTR) en la piel normal y la piel lesionada, se observa que estos hidrogeles no alcanzan la WVTR necesaria para la piel normal y mucho menos para la piel lesionada. De todos los hidrogeles evaluados, el hidrogel cargado con cannabis muestra la tasa más alta a

lo largo del ensayo y se acerca a la tasa deseada. En un apósito ideal, se espera que la WVTR se encuentre en un rango específico entre 8,33 y 10,42 g/m²·h para favorecer la cicatrización de heridas [27].

Es importante destacar que la incorporación del extracto de cannabis parece haber aumentado la permeabilidad al vapor de agua de los hidrogeles de quitosano. Este fenómeno se ha investigado y podría estar relacionado con la interacción del extracto de cannabis con las cadenas poliméricas. Este proceso podría haber reducido la interacción entre las cadenas poliméricas y las moléculas de agua, generando un aumento en la interacción interfacial entre la matriz y el extracto [27].

4.5 Caracterización mecánica

4.5.1 Análisis mecánico dinámico (DMA)

Las propiedades mecánicas de los hidrogeles se definen principalmente usando las teorías de elasticidad de la goma y la viscoelasticidad dependiente del tiempo para analizar la estructura de los hidrogeles y estimar la densidad efectiva de reticulación. Los hidrogeles pueden actuar como goma en su estado hinchado, en el que sus propiedades mecánicas dependen del tiempo y de la recuperación de las cadenas poliméricas en la red. Lo que permite deducir que los hidrogeles en su estado gomoso responden a las tensiones instantáneamente, con una recuperación completa tras la retirada de carga [45]. Sin embargo, en determinadas ocasiones pueden mostrar comportamientos viscoelásticos debido a sus propiedades mecánicas intrínsecas o a la naturaleza del movimiento mecánico impuesto.

Las técnicas más utilizadas para medir propiedades mecánicas de los hidrogeles son los ensayos de tensión para caracterizar los comportamientos elásticos y el análisis mecánico dinámico para estimar los comportamientos viscoelásticos [45]. En esta sección del trabajo se evaluará el módulo de Young y la deformación alcanzada por los hidrogeles; esto permite conocer el comportamiento mecánico bajo diferentes condiciones de compresión.

En las Figura 37 a) y b) se presentan las curvas tensión-deformación correspondientes a los cuatro geles analizados en este estudio: QuiGA, QuiGATPP, QuiGACannabis y QuiGATPP.

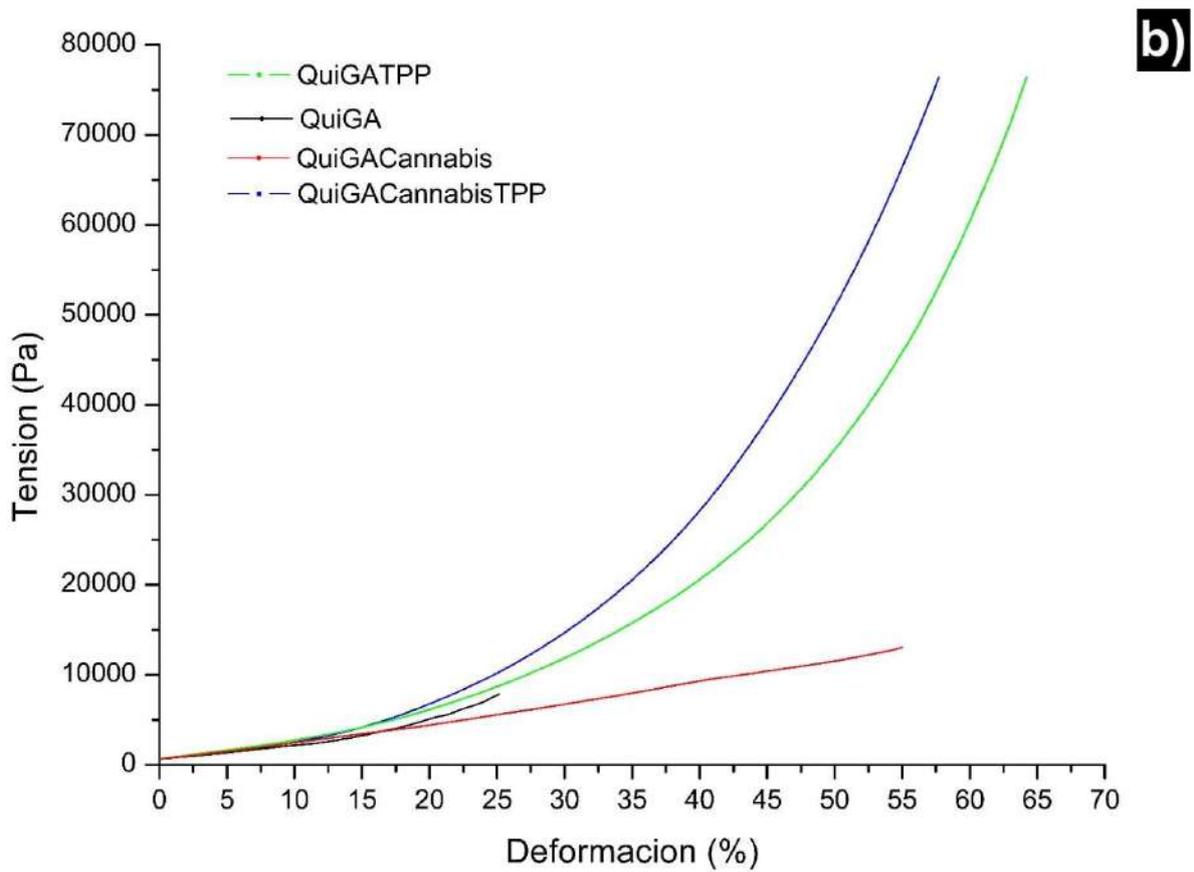
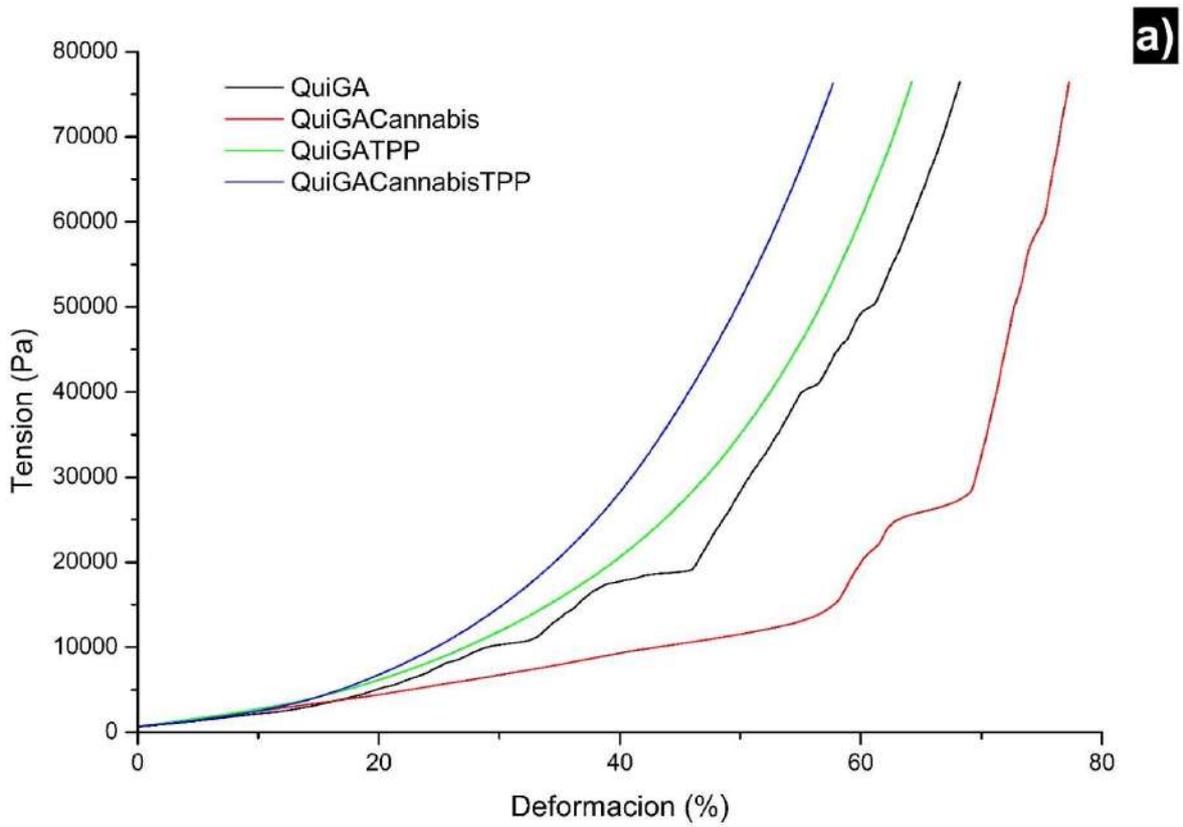
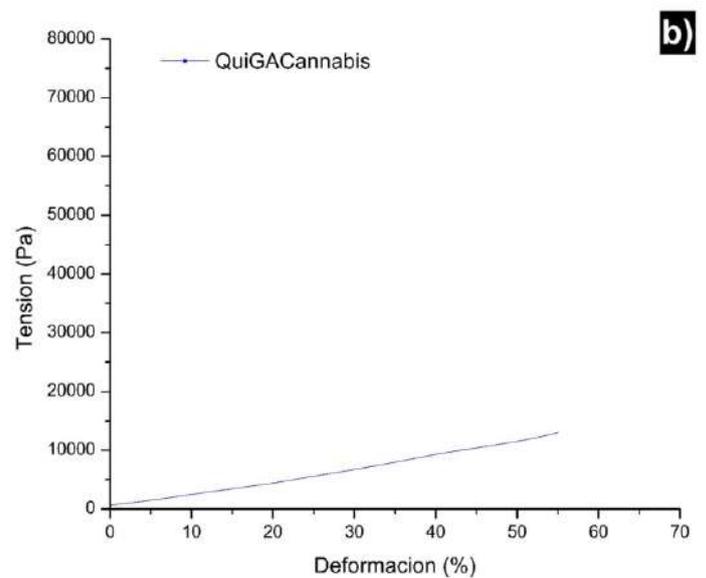
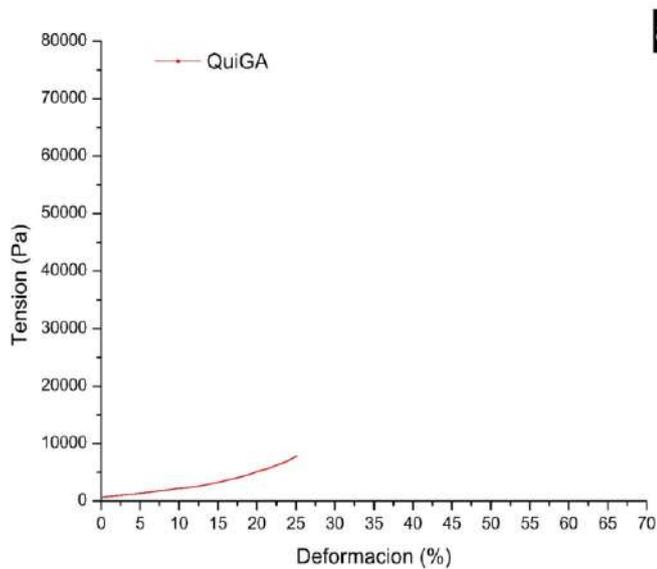


Figura 37. a) Curva tensión deformación en compresión para todos los hidrogeles b) Curva tensión deformación hasta discontinuidades.

La diferencia principal entre las Figuras a) y b) radica en que, en la primera imagen, las curvas del gel de quitosano (QuiGA) y del gel cargado con cannabis (QuiGACannabis) exhiben escalones distintivos. Estos escalones son consecuencia de una discontinuidad en la mezcla, un efecto de compresión llamado *squeeze* o una ruptura en la misma. Cabe destacar que el ensayo de compresión es válido únicamente hasta el punto donde aparece el primer escalón. Por esta razón, en la Figura 37 b), se han truncado las curvas de estos dos gels hasta los puntos de discontinuidad correspondientes.

A simple vista se puede observar que tienen comportamientos distintos, la muestra QuiGA y el hidrogel cargado con extracto de cannabis (QuiGACannabis) muestran bajas propiedades mecánicas comparado con los entrecruzados con tripolifosfato de sodio (TPP). En las siguientes figuras, Figura 38 a), b), c) y d) se mostrarán en detalles las curvas tensión-deformación específicas para cada hidrogel.



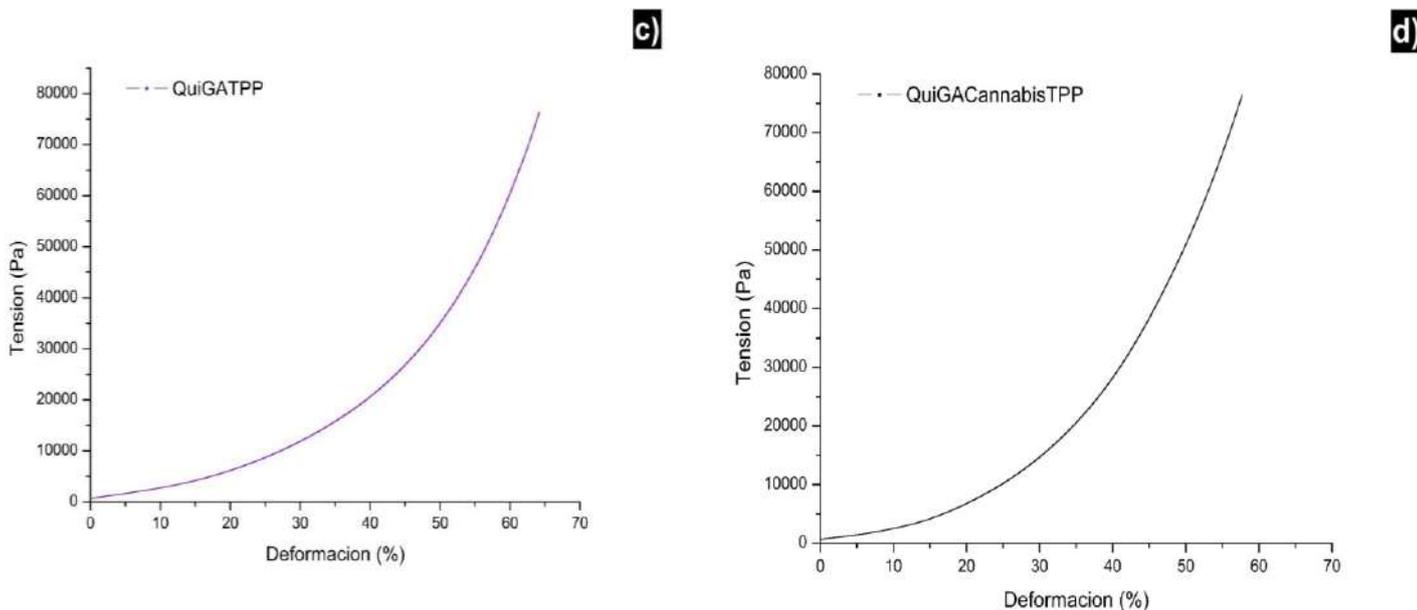


Figura 38. Curvas tensión deformación a) QuiGA b) QuiGACannabis c) QuiGATPP d) QuiGACannabisTPP.

La Tabla 8 presenta el resumen de las propiedades mecánicas de los cuatro hidrogeles analizados, QuiGA, QuiGACannabis, QuiGATPP y QuiGACannabisTPP.

Tabla 8. Resumen de propiedades mecánicas.

Propiedad	QuiGA	QuiGACannabis	QuiGATPP	QuiGACannabisTPP
Módulo de compresión(Pa)	30.390±7.802	20.894±1.735	22.842 ±4.664	30.619±1.266
Resistencia a la compresión (Pa)	10.034±2.191,7	16.1401±3.415	76.387±1,2	76.389±6,1
Deformación máxima (%)	25,4±0,3	56,8±2,6	61,0±3,22	57,4±0,4

El módulo de compresión es una medida de la resistencia de un material elástico a la compresión y se define como la relación entre la tensión aplicada y la deformación resultante [45]. El cálculo del módulo de compresión se realizó con la pendiente de la curva en la zona de mayor linealidad, entre 0-20% de deformación. Según bibliografía consultada, los hidrogeles tienen módulos de aproximadamente 100-200 kPa [47,48]. En el contexto de biomateriales viscoelásticos, la resistencia a la compresión se refiere a la capacidad del material para soportar cargas que reducen su tamaño [45].

La rigidez se define como la resistencia del material a deformarse cuando se somete a una carga mecánica. En el caso de los hidrogeles, la rigidez se determina mediante la pendiente de la región lineal en la curva de tensión-deformación. Es importante destacar que la resistencia, a diferencia de la rigidez, representa la capacidad del material para resistir la fractura o rotura debido a deformaciones excesivas. Estos parámetros son fundamentales en la caracterización y comprensión de los materiales biomédicos y su comportamiento mecánico [45].

De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 8, se observa que la muestra de QuiGA exhibe el menor valor de módulo de Young, mientras que QuiGACannabis muestra el valor más alto. Estos resultados sugieren que el hidrogel que contiene extracto de cannabis sin tripolifosfato de sodio posee una mayor elasticidad intrínseca en comparación con las demás muestras. Además, se pudo constatar esta característica luego del proceso de secado, donde estos geles demostraron una notable capacidad de recuperación elástica y maleabilidad. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la inclusión de extracto de cannabis en la matriz del hidrogel contribuye a su mayor elasticidad y flexibilidad.

Se observó que los hidrogeles que incluyen el agente entrecruzante tripolifosfato de sodio mostraron una mayor resistencia a la compresión, con un valor de 80000 Pa aproximadamente. Esto indica que las muestras QuiGATPP y QuiGACannabisTPP presentan una capacidad destacada para soportar cargas que inducen una reducción en su tamaño. Estos resultados demuestran la eficacia del tripolifosfato de sodio como agente entrecruzante en la mejora de las propiedades mecánicas de los hidrogeles. La tendencia de la elongación a la rotura es similar, con un valor entre 55% y 65%, para las muestras QuiGACannabis, QuiGACannabisTPP y QuiGATPP. Pero no es así para la muestra de QuiGA que con un valor de elongación menor de 25,14%.

Las conclusiones indican que la adición inicial de extracto de cannabis parece haber generado una mejora en las propiedades mecánicas de los hidrogeles de quitosano, en consonancia con los hallazgos de otros estudios previamente reportados en la literatura [27]. Además, el proceso de entrecruzamiento utilizando tripolifosfato de sodio ha tenido un impacto significativo en la mejora de las propiedades mecánicas, aunque es importante señalar que los geles resultantes, una vez secos, presentan una mayor fragilidad en comparación con aquellos que no han sido entrecruzados. De acuerdo con la literatura, se destaca que la concentración del agente entrecruzante tiene una influencia crucial en la morfología del gel, lo que repercute directamente en sus propiedades mecánicas [47].

Los resultados obtenidos en el ensayo dinámico mecánico pueden correlacionarse con las observaciones realizadas mediante microscopía electrónica de barrido. En el caso de los hidrogeles de quitosano (QuiGA), la microscopía reveló una microestructura heterogénea y la presencia de algunos poros de mayor tamaño. Estos poros pueden actuar como

concentradores de tensión y, como se observó en el ensayo de compresión, pueden llevar a una disminución en las propiedades mecánicas del material. Por otro lado, los hidrogeles cargados con extracto de cannabis (QuiGACannabis) mostraron propiedades mecánicas superiores, lo que sugiere que su menor tamaño de poro y mayor homogeneidad pueden haber contribuido a este resultado.

En el caso de los geles que contenían tripolifosfato de sodio (TPP), tanto QuiGATPP como QuiGACannabisTPP exhibieron un comportamiento mecánico muy similar. Además, su microestructura es análoga, con diferencias mínimas en la estructura de las paredes de los poros.

En resumen, los hidrogeles de quitosano y sus variantes cargadas con extracto de cannabis y entrecruzadas con tripolifosfato de sodio presentan propiedades mecánicas prometedoras para el uso como apósitos en el tratamiento de heridas.

4.6 Ensayos microbianos

El quitosano se considera uno de los materiales preferidos a la hora de elegir un polímero base para apósito para la piel debido a sus excelentes propiedades, entre ellas su actividad antimicrobiana [27]. Sin embargo, sigue existiendo el riesgo de infección y existen muchas sustancias activas naturales que revelan propiedades antibacterianas que podrían tener un uso potencial en el tratamiento de infecciones de heridas. El extracto de cannabis es conocido por su comportamiento antimicrobiano natural [12]. En esta sección, se presentan los resultados de los ensayos realizados con hidrogeles que contienen extracto de cannabis en bacterias Gram positivas y Gram negativas. Si bien, no son las bacterias patógenas comúnmente encontradas en heridas, se utilizaron como modelo y por la disponibilidad de cepario que se tenía.

La figura siguiente, Figura 39, muestra la curva de crecimiento en medio LB de *Bacillus thuringiensis* con muestras de hidrogeles y sin ellas.

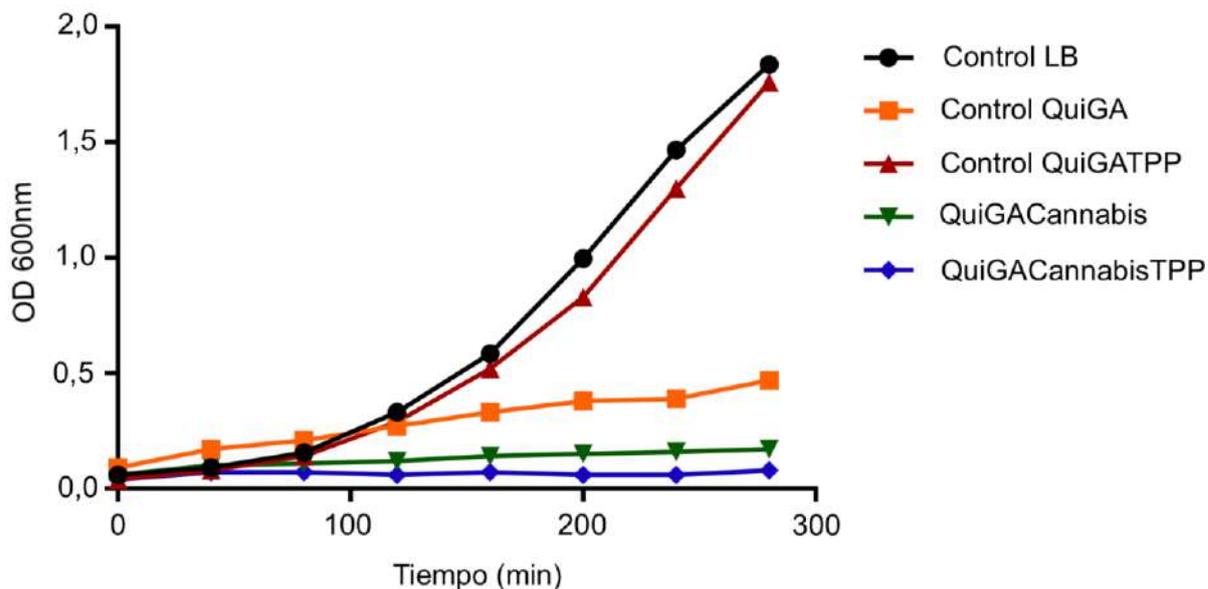


Figura 39. Curva de crecimiento en medio LB de *Bacillus thuringiensis* con o sin hidrogeles.

La curva de crecimiento de *Bacillus thuringiensis* en el medio de cultivo se representa en color negro como el Control LB de referencia. Cuando cualquiera de las curvas de crecimiento en el medio LB se aleja de este Control LB, indica un efecto antimicrobiano. Se destaca en esta Figura que la muestra de control QuiGA, resaltada en color naranja, revela un efecto antibacteriano notable del hidrogel de quitosano por sí solo, sin necesidad de añadir extracto de cannabis.

Por otro lado, la curva resaltada en color rojo en la Figura 39 del hidrogel QuiGATPP, no muestra diferencias significativas en comparación con el Control LB, que es el cultivo estándar. En otras palabras, este compuesto no presenta un efecto antibacteriano marcado.

La Figura 40 muestra la curva de crecimiento en medio LB del ensayo diseñado con el propósito de determinar la concentración mínima necesaria de hidrogel cargado con cannabis para lograr un efecto bactericida.

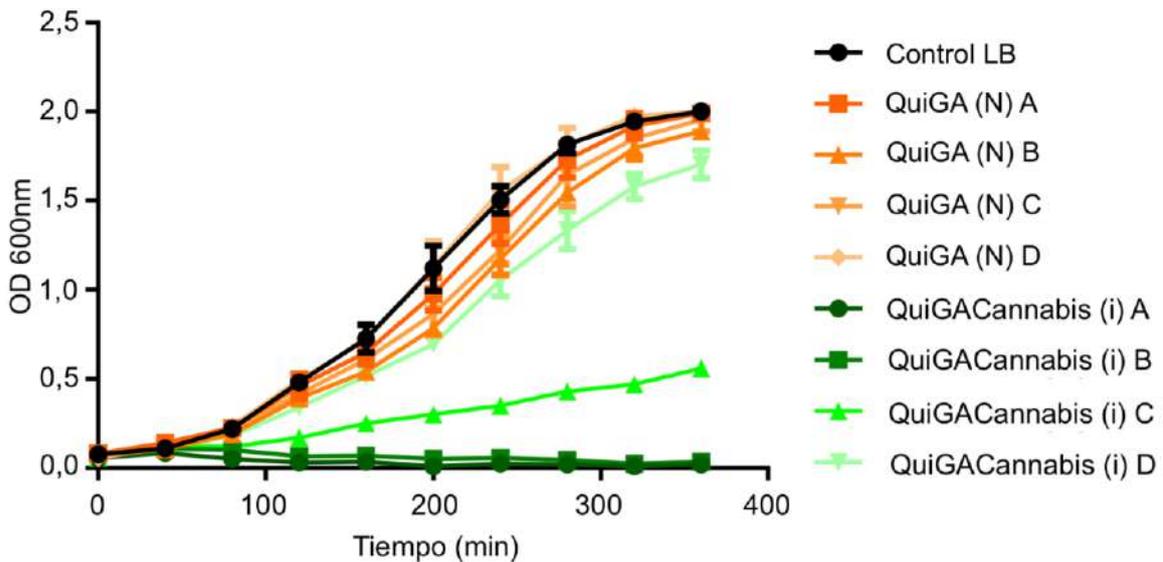


Figura 40. Curva de crecimiento en medio LB de *Bacillus thuringiensis* de los hidrogeles cargados con cannabis en diferentes cantidades.

El experimento fue realizado por el grupo de la Dra. Nercessian utilizando aproximadamente 15 mg de los hidrogeles, y en esta etapa, se observó un efecto bactericida total. Posteriormente, se dividió las cantidades de compuestos que se incorporaron al medio LB en cuatro grupos:

- La muestra A contenía 7 mg de hidrogel.
- La muestra B tenía 3.5 mg de hidrogel.
- La muestra C poseía 2 mg de hidrogel.
- La muestra D incluía 1 mg de hidrogel.

Como se aprecia en la Figura 40, el hidrogel de quitosano, en las cuatro cantidades analizadas, presenta un comportamiento similar al del Control LB. En otras palabras, no exhibe un efecto bactericida. Es fundamental resaltar que estas muestras, designadas como QuiGA (N), se elaboraron utilizando goma arábica de un lote recién adquirido, siendo el término "(N)" una referencia al nuevo lote de goma arábica.

En el caso de los hidrogeles cargados con cannabis, se observan distintos comportamientos a medida que varía la cantidad en el medio LB. Las muestras A y B, que contienen cannabis, muestran curvas de crecimiento prácticamente idénticas, lo que sugiere que su efecto bactericida se mantiene constante incluso al duplicar la cantidad de hidrogel.

Por otro lado, las muestras C y D presentan un comportamiento significativamente diferente entre 1 mg y 2 mg. La curva correspondiente a la muestra D se asemeja al comportamiento

del medio LB, lo que sugiere una falta de efecto bactericida. Sin embargo, al aumentar la cantidad de muestra a 2 mg, se observa un efecto marcado. Esto podría indicar que nos acercamos a la concentración mínima requerida para lograr un efecto bactericida.

La Figura 41 muestra la curva de crecimiento en medio LB de *Bacillus thuringiensis* con muestras de hidrogeles entrecruzados con TPP y sin ellas.

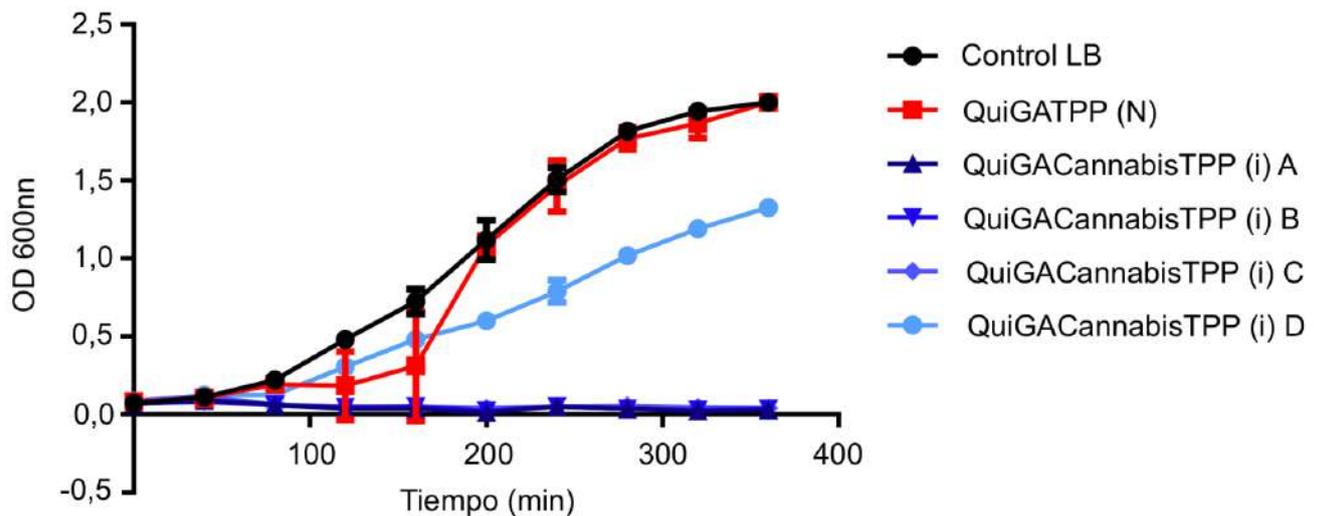


Figura 41. Curva de crecimiento en medio LB de *Bacillus thuringiensis* con o sin el agregado de los geles con TPP, en diferentes cantidades.

La curva en color rojo representa la muestra QuiGATPP, tal como se menciona a lo largo de este trabajo. Esta muestra consiste en un hidrogel de quitosano entrecruzado con tripolifosfato de sodio. Se observa que este hidrogel exhibe un comportamiento similar al del medio LB, lo que significa que no presenta un efecto antimicrobiano apreciable.

Sin embargo, se observa una diferencia significativa al comparar esta muestra QuiGATPP (D) con otras tres (A, B, y C). En el primer hidrogel (D), se aprecia un efecto antimicrobiano, ya que la curva de crecimiento se aleja del comportamiento del medio LB. No obstante, este efecto es relativamente menor en comparación con las muestras A, B y C, donde la diferencia con el control es mucho más marcada.

Cuando se compara la Figura 41 con la Figura 40, se observa que las curvas de crecimiento para la misma cantidad de 1 mg en los hidrogeles de quitosano, con TPP y sin TPP, arrojan resultados diversos. Los hidrogeles sin TPP no presentan un efecto antibacteriano significativo, a diferencia de los hidrogeles entrecruzados con TPP, que muestran un efecto antibacteriano más pronunciado. También se destaca que, en las concentraciones C, el hidrogel QuiGA, sin TPP exhibe un menor efecto antimicrobiano que el hidrogel con TPP.

Esto sugiere que la concentración mínima necesaria para observar un efecto bactericida es menor en el caso de los hidrogeles entrecruzados con tripolifosfato de sodio.

La Figura 42 muestra las curvas de crecimiento en medio LB de *Escherichia coli* con muestras de hidrogeles cargados con cannabis y sin ellas.

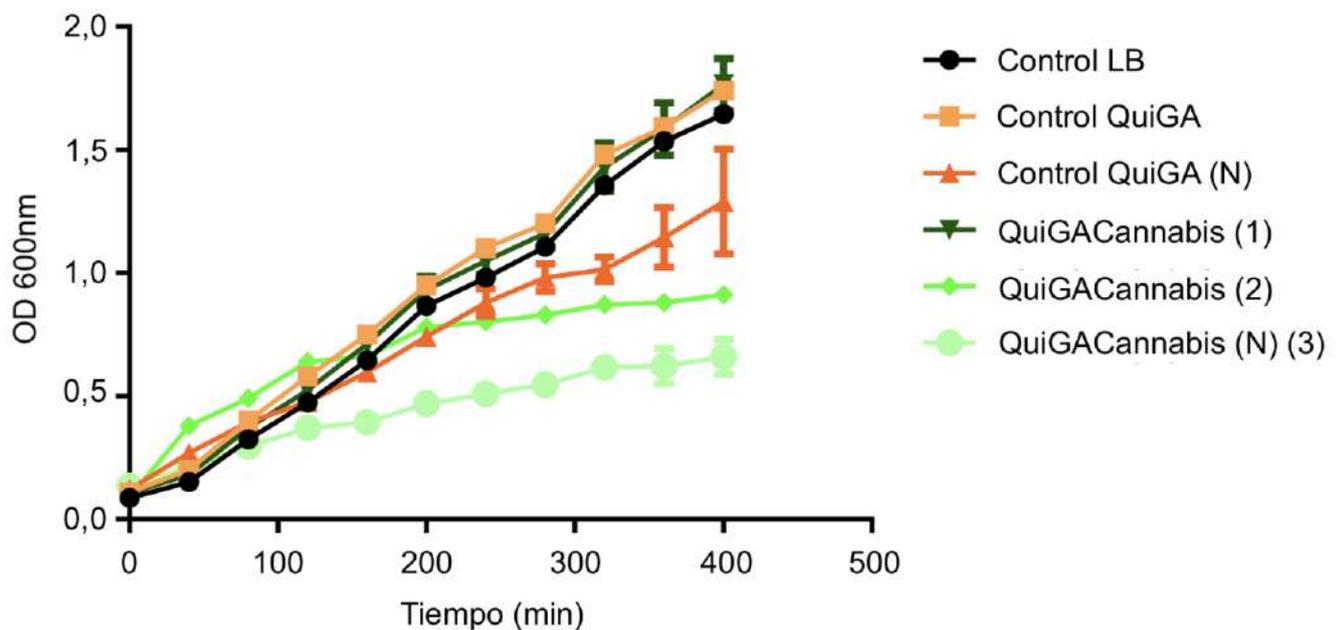


Figura 42. Curva de crecimiento en medio LB de *Escherichia coli* con o sin el agregado de diferentes compuestos.

Para analizar el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* se evaluaron tres concentraciones diferentes, que corresponden a las curvas en color verde QuiGACannabis.

- QuiGACannabis (1) = 0,65 mg/ml
- QuiGACannabis (2) = 0,89 mg/ml
- QuiGACannabis (N) (3) = 1,55 mg/ml

La observación general en la Figura 42 es la relación entre la concentración de extracto de cannabis y el efecto bactericida de los hidrogeles de quitosano, cuanto mayor es la concentración de cannabis mayor es el efecto. Además, se puede concluir que se requiere una concentración mayor de extracto de cannabis para lograr un efecto bactericida en *Escherichia coli* en comparación con *Bacillus thuringiensis*.

En la Figura 43 se enseña la curva de crecimiento en medio9 LB de *Escherichia coli* con el agregado de muestras de hidrogeles entrecruzados con tripolifosfato de sodio y sin ellas.

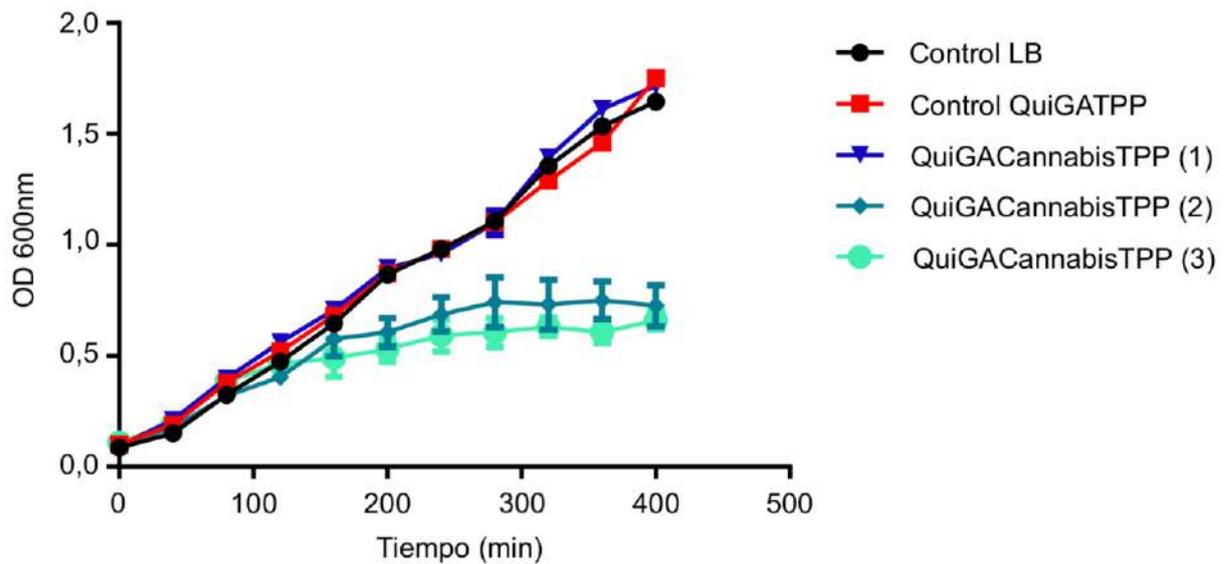


Figura 43. Curva de crecimiento en medio LB de *Escherichia coli* con o sin el agregado de diferentes compuestos con hidrogel entrecruzados con TPP.

La curva en color rojo representa el control de los hidrogel de quitosano entrecruzados con tripolifosfato de sodio, QuiGATPP. Sin embargo, no se observa un efecto bactericida en esta muestra, y lo mismo ocurre en la muestra de QuiGACannabisTPP, que es un hidrogel de quitosano entrecruzado con tripolifosfato de sodio cargado con cannabis.

El aumento de la concentración de cannabis en los hidrogel de quitosano entrecruzados con tripolifosfato de sodio es notable, ya que el efecto antimicrobiano se incrementa. Las concentraciones dos (QuiGACannabisTPP (2)) y tres (QuiGACannabisTPP (3)) muestran resultados similares, no obstante, esta tendencia no se observa en el caso de los hidrogel que no están entrecruzados con tripolifosfato de sodio (QuiGACannabis (2) y QuiGACannabis (3)).

El aumento de concentración de cannabis en los hidrogel de quitosano entrecruzados con tripolifosfato de sodio se ve notorio ya que el efecto antimicrobiano aumenta. La concentración dos y tres se mantienen cerca con respecto al efecto sobre la bacteria *Escherichia coli*, no es así para el caso de los hidrogel que no están entrecruzados con tripolifosfato de sodio.

Cómo resultados generales se pueden decir que el efecto antimicrobiano de los hidrogel cargados con cannabis es muy marcado y presenta un comportamiento dosis dependiente. Su efecto es más notorio sobre *Bacillus thuringiensis* que sobre *Escherichia coli*. Se observan en algunos ensayos un efecto sinérgico con el quitosano.

4.7 Ensayos de liberación

Los hidrogeles basados en quitosano son adecuados para la liberación de agentes, que pueden ser agentes antimicrobianos, factores de crecimiento, células madre y demás. El rendimiento de estos geles depende no sólo de las propiedades físicas y químicas, sino también de las vías de carga entre los agentes y el hidrogel. Existen tres métodos principales de carga fármacos: permeación (difusión), encapsulamiento y unión química [8].

Los hidrogeles con propiedades antibacterianas tienen un gran potencial de aplicación clínica, en este caso los geles están cargados con extracto de cannabis. En el ensayo de liberación se examinó la potencial liberación del extracto de cannabis con el propósito de aliviar cualquier dolor o inflamación, ya que cada vez hay más pruebas de que los cannabinoides son beneficiosos para distintas afecciones [49].

Una vez calculada la curva de calibración y medidos los sobrenadantes por espectroscopia ultravioleta, se estimaron las concentraciones de los hidrogeles después de la síntesis, que se enseñan en la Tabla 9.

Tabla 9. Medidas de concentración de cannabis en sobrenadantes de hidrogeles de cannabis.

N	Absorción	Concentración (mg/ml)
1	0,57	0,024
2	0,423	0,014
3	0,585	0,025
4	0,523	0,021

Tal como se indicó anteriormente, en la etapa inicial de la síntesis, las concentraciones iniciales de extracto de cannabis en los geles se establecieron en un 4,76% V/V antes del proceso de centrifugado. Además, gracias a la información proporcionada por Dr Nercessian, sabemos que el extracto de cannabis tiene una concentración de 14 mg/ml. Basándonos en estos datos, podemos deducir que los hidrogeles tienen una concentración de 0,67 mg/ml antes de la etapa de centrifugado.

De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 9, la concentración promedio de los cuatro sobrenadantes que se obtienen de una síntesis es de $0,021 \pm 0,004$ mg/ml. En este contexto, podemos asegurar que la concentración final de extracto de cannabis en el hidrogel es de 0,649 mg/ml. Esto implica que se ha encapsulado el 97% del extracto de cannabis que se introdujo durante la mezcla inicial.

Posteriormente, se analizó por espectroscopía ultravioleta el agua y la solución fisiológica donde estuvieron sumergidos los hidrogeles de cannabis durante distintos tiempos. Los resultados se muestran en las siguientes tablas, Tabla 10 y Tabla 11.

Tabla 10. Medidas de concentración de cannabis liberado en agua destilada.

Muestra	Tiempo de inmersión en agua destilada	Absorbancia	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de cannabis liberado
QuiGACannabis	8 semanas	0,919	0,046	17%
QuiGACannabis	4 semanas	0,86	0,043	16%
QuiGACannabis*	3 semanas	0,877	0,044	14%
QuiGACannabisTPP	8 semanas	1,032	0,053	19%

Tabla 11. Medidas de concentración de cannabis liberado en solución fisiológica.

Muestra	Tiempo de inmersión en solución fisiológica	Absorbancia	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de cannabis liberado
QuiGACannabis	16 semanas	0,936	0,047	17,4%
QuiGACannabis	8 semanas	0,938	0,047	17,5%
QuiGACannabis	4 semanas	0,832	0,041	15,2%
QuiGACannabis*	3 semanas	0,925	0,047	10%
QuiGACannabis (3)*	3 semanas	1,071	0,055	5,8%
QuiGACannabisTPP	8 semanas	0,76	0,037	13,7%
QuiGACannabisTPP*	3 semanas	1,15	0,059	14,5%

Antes de analizar los resultados, es importante aclarar que las muestras marcadas con un asterisco (*) fueron realizadas utilizando una goma arábica diferente. Además, la muestras que contiene el número (3) en su nombre fue cargada con una cantidad superior de extracto de cannabis, lo que significa que su concentración de extracto es mayor, alcanzando los 1,552 mg/ml. Esto se logró después de que el gel seco encapsulara el 97% del cannabis agregado inicialmente a la mezcla.

Utilizando el equipo de espectroscopía UV, se pudo observar una presencia leve de lo que podría interpretarse como polímero en el agua. Todo el gráfico de absorción en relación a la longitud de onda se encontraba por encima de un valor de 0,3 de absorbancia.

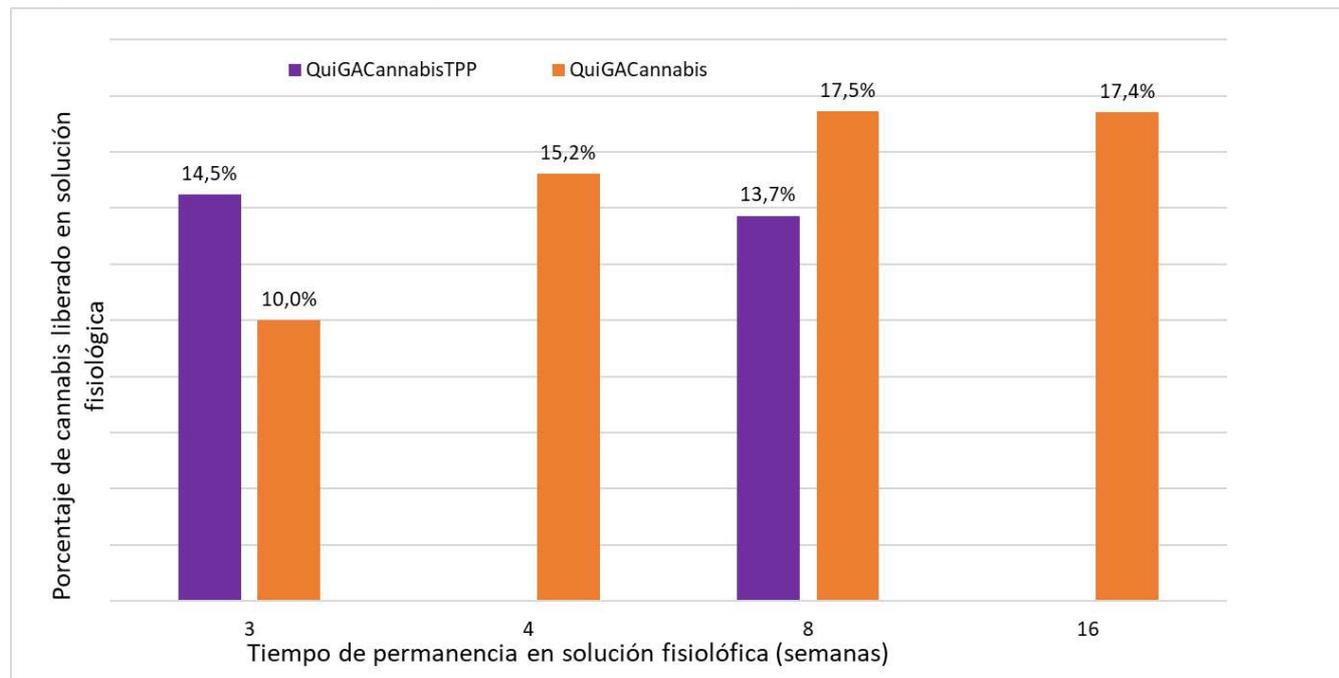


Figura 44. Gráfico comparativo de liberación para QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP en agua destilada.

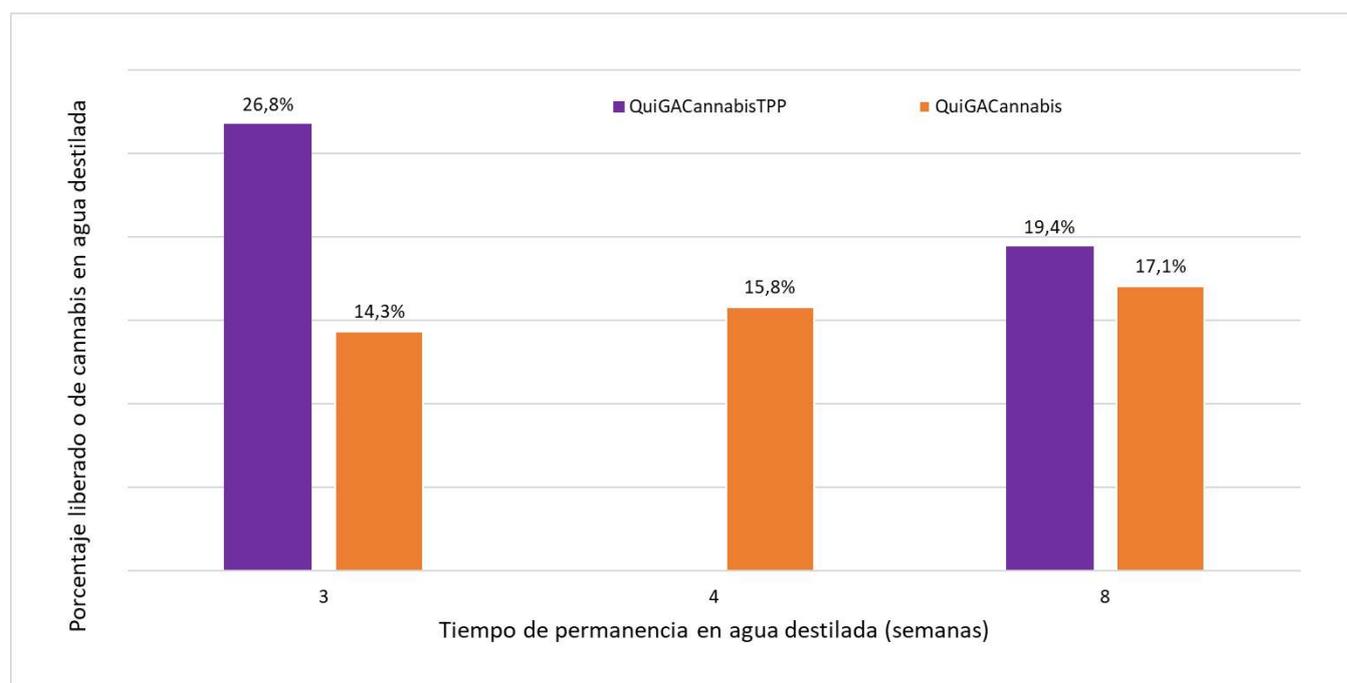


Figura 45. Gráfico comparativo de liberación para QuiGACannabis y QuiGACannabisTPP en solución fisiológica.

Según la Tabla 10, se puede decir que el porcentaje máximo de liberación de los hidrogel fue de 26,8% aproximadamente de extracto de cannabis en 8 semanas en agua destilada, sin experimentar desintegración. Estos resultados son aplicables para los hidrogel que

están entrecruzados con tripolifosfato de sodio. El porcentaje de liberación máxima de estos hidrogeles en solución fisiológica resultó de 14,5%.

En el caso de los hidrogeles sin entrecruzar, QuiGACannabis, se registró un porcentaje de liberación máximo mayor, alcanzando un valor de 17,5% en solución fisiológica. Resultó de la misma manera cambiando de medio a agua destilada, siendo su máximo porcentaje de liberación un valor de 17,1% de cannabis.

Lo que se observa principalmente en los geles de QuiGACannabisTPP es que a medida que aumenta el tiempo de permanencia en el medio disminuye el porcentaje liberado. Esto puede relacionarse a que no se trata de la misma muestra analizada a distintos intervalos de tiempo, lo que podría introducir un error debido a la falta de homogeneidad en las muestras. Puntualmente con esta muestra, en ambos medios, se observa que en el tiempo de permanencia de 3 semanas la muestra posee un valor de porcentaje de cannabis liberado mayor que en el tiempo de 4 semanas. Esto podría estar directamente relacionado con el cambio de goma arábica que se mencionó previamente. Al realizar los geles con la nueva materia prima se observó que el gel a simple vista mostraba propiedades diferentes, se podría decir que su grado de entrecruzamiento es menor por ende facilitaría la difusión del fármaco al medio.

En relación a los hidrogeles cargados con cannabis, QuiGACannabis, se observa un aumento en el porcentaje de liberación a medida que aumenta el tiempo de permanencia en el medio. Este aumento es evidente tanto en agua como en solución fisiológica. Finalmente, se observó que el aumento de concentración de extracto de cannabis en el hidrogel, QuiGACannabis (3), resultó en una disminución en el porcentaje de liberación en comparación con la concentración inicial analizada.

Resulta importante destacar que las concentraciones máximas de cannabis mostradas no son insignificantes ni demasiado altas. En la literatura, se ha observado que los hidrogeles cargados con cannabis han liberado hasta un 19% de la concentración en tan sólo 85 horas [50]. Lo que representa un porcentaje mayor en un período de tiempo más corto en comparación a lo observado en nuestro estudio.

La liberación depende de la unión polímero y fármaco, en este caso extracto de cannabis, y debe tenerse en cuenta a la hora de analizar la liberación [5]. En este escenario el extracto de cannabis se encuentra unido químicamente a las cadenas poliméricas antes de la formación del gel. En este tipo de enlaces entre polímeros y fármacos, el grado de liberación de producto puede extenderse desde días hasta meses. El mecanismo de liberación se basa en la degradación o disolución gradual del polímero [5]. Sin embargo, cabe cuestionar si este enfoque es el más adecuado para su uso como material de apósito, dado que la función

deseada sería liberar la máxima concentración en un período breve para aliviar el dolor o la inflamación en una herida específica del cuerpo.

5. Estudio de la factibilidad económica

5.1 Resumen ejecutivo

El estudio de factibilidad analiza la rentabilidad de la producción nacional de hidrogeles basados en polímeros naturales para la utilización como apósitos con el agregado de la liberación de cannabis. Este proyecto se enfoca en el prometedor mercado de los apósitos médicos, un sector de vital importancia en el ámbito de la salud. Estos apósitos, con un precio de venta de 5,3 USD por unidad y una capacidad anual de 1,260,500 unidades en el primer año y luego aumentará un 5,9% a cada año. Esto responde a una demanda constante y creciente en el mercado sanitario. Para evaluar su viabilidad, se ha llevado a cabo un análisis de factibilidad económica de la producción.

El análisis requirió del cálculo de costos fijos, variables, ventas del producto y estimaciones del precio de venta para que sea lo suficientemente competitivo en el mercado. El proyecto demuestra un potencial sólido en términos de rentabilidad, se estimó una vida útil de 5 años. La inversión total inicial de 308856,41 USD se recupera en un tiempo menor a la mitad de vida del proyecto, sólo 2 años y 2 meses. El Valor Presente, que asciende a 32,119.78 USD, junto con una Tasa Interna de Retorno del 24%, indican una alta rentabilidad en relación con la inversión. Sin embargo, el análisis de sensibilidad resalta la importancia del costo de las materias primas, como el extracto de cannabis y el tripolifosfato de sodio, y sugiere la posibilidad de producirlo internamente para reducir costos o eliminarlo de su producción. En resumen, este proyecto se erige como una oportunidad sólida respaldada por su rentabilidad, con un potencial para mejorar aún más la eficiencia y los costos a través de una gestión de las materias primas.

5.2 Antecedentes

La producción de hidrogeles a base de polímeros naturales para su utilización en vendajes para heridas, surgió de la clara necesidad de desarrollar este mercado a nivel nacional. En la actualidad, el país importa vendajes avanzados y no capitaliza los avances tecnológicos disponibles en la investigación [51].

Estos hidrogeles basados en polímeros naturales representan una alternativa inteligente y sostenible a los vendajes convencionales. Su uso tiene el potencial de mejorar la salud de numerosas personas gracias a sus múltiples ventajas en la curación de heridas. Además, contribuiría a mitigar los impactos ambientales negativos derivados del uso de insumos provenientes de fuentes fósiles. Es importante destacar que la goma arábiga, el quitosano y su carga con cannabis pueden obtenerse a partir de recursos naturales altamente renovables disponibles en Argentina. Por lo tanto, justifica esta inversión en el país,

especialmente en el contexto del creciente interés en la investigación del uso del cannabis medicinal y el valor añadido que esta carga puede aportar en el tratamiento de heridas.

5.3 Estudio de mercado

Antes de adentrarnos en un análisis exhaustivo de rentabilidad, es esencial realizar un análisis de mercado para determinar la viabilidad de llevar a cabo la idea inicial de inversión. Este análisis implica cuantificar la demanda que respalde la implementación del proceso productivo del producto, considerando sus especificaciones [52]. Asimismo, se evalúa la oferta y se realiza un análisis de los precios.

El objetivo primordial es confirmar la viabilidad de introducir el producto en el mercado al verificar la existencia de una necesidad no satisfecha que justifique su producción y comercialización.

5.3.1 Producto

El producto a comercializar es un apósito de hidrogel con extracto de cannabis diseñado para su liberación controlada. Un apósito se refiere a cualquier producto sanitario utilizado para cubrir y proteger una herida, con el objetivo de fomentar la reepitelización del tejido dañado y, por ende, la cicatrización de la herida.

Los biopolímeros, como el quitosano y la goma arábiga, se utilizan para encapsular fármacos con beneficios para la dermis del usuario. En el caso del apósito propuesto, al entrar en contacto con la piel, permite la liberación controlada de cannabis, actuando como un agente antiinflamatorio que proporciona alivio en la zona afectada. Este producto estará disponible en forma de discos de 10 cm x 10 cm.

5.3.2 Mercado objetivo

El producto está dirigido a las industrias de apósitos avanzados, que busquen un vendaje tecnológico y con funcionalidad. Se buscará que las empresas asociadas compartan valores ambientales, con el fin de evitar o mitigar el daño ambiental. El mercado de vendajes se divide en dos segmentos principales, los apósitos tradicionales y los avanzados. Los productos convencionales llevan un largo tiempo en el mercado, habiendo surgido con la expansión de la producción textil en los tiempos de la revolución industrial. En la actualidad se consideran productos de bajo desarrollo tecnológico, o que no se sigue investigando dentro de ese campo quedaron estancados. A diferencia de los apósitos avanzados, no interactúan con la herida ni ayudan a acelerar el proceso de curación. Su función se reduce a proporcionar un ambiente seco para la protección de factores externos. Se caracterizan por tener bajos costos y alta disponibilidad [1,64].

La estrategia clave adoptada se centra en la diferenciación, con la empresa aspirando a posicionarse como líder exclusiva en su sector industrial, valorada por la integración de tecnología en sus productos. La distinción del producto frente a la competencia radica en su capacidad para proporcionar tecnología al consumidor.

En el contexto de los vendajes avanzados, que surgieron en la última década como respuesta a la necesidad de innovación en un mercado estancado, estos se destacan por brindar un ambiente activo a la herida, interactuar y acelerar el proceso de curación y cicatrización, además de implicar la sustitución de insumos derivados de fuentes fósiles [54]. A pesar de sus múltiples ventajas, este mercado aún está en crecimiento, no siendo ampliamente adoptado por los profesionales de la salud debido a costos elevados y limitado conocimiento sobre estos avances. No obstante, esta posición refleja un potencial de crecimiento significativo, señalando la posibilidad de penetrar en este mercado si se ejecuta una adecuada promoción y distribución, aprovechando su ventaja superior respecto al mercado tradicional [53].

En Argentina, el mercado de apósitos avanzados está dominado por empresas europeas y estadounidenses, y la producción local de apósitos está aún en sus primeras etapas de desarrollo [55].

En América Latina, el crecimiento del mercado es moderado. En 2017, la región representó solo el 10,2% de los ingresos del mercado mundial de productos para el cuidado de heridas. Sin embargo, se prevé que crecerá a una tasa compuesta anual del 6,4%, alcanzando un valor de USD 2400 millones para 2045 [53]. En Argentina, se estima que el mercado de gestión del cuidado de heridas experimentará una tasa compuesta anual de crecimiento del 5,9% durante el período 2023-2028 [56].

Algunas de las empresas que actualmente dominan el mercado argentino son 3M Company, Medtronic PLC, Smith & Nephew, Johnson and Johnson, ConvaTec Group PLC, B. Braun Melsungen AG, Coloplast A/S y Molnlycke Health Care [56]. Estos productos se comercializan y distribuyen a mayoristas y minoristas (droguerías, ortopedias y farmacias) según la demanda de la zona, y estos a su vez abastecen a otras empresas o centros de salud (clínicas y hospitales) y a clientes finales.

5.3.3 Oferta y demanda

Debido a que el mercado en el país aún está en una etapa inicial de desarrollo, la obtención de datos e información específica sobre la demanda de este producto ha sido un desafío. Por esta razón, para estimar el tamaño del mercado objetivo, se han empleado enfoques aproximados.

De acuerdo con datos proporcionados por dos empresas líderes en la distribución de apósitos de hidrocoloides en Argentina, se identificó un promedio de demanda de 12 millones de unidades en 2017 [57]. Teniendo en cuenta que entre 2017 y 2022 hubo un CAGR de 8,1% a nivel mundial, se estima que la demanda nacional de vendajes actualmente es de 16.860.000 unidades anuales.

Según las estadísticas oficiales de un grupo de empresas se espera que el mercado argentino de tratamiento de heridas registre una tasa de crecimiento compuesta del 5,9% durante el período 2023-2028. Es importante tener en cuenta que en el mercado existen vendajes de diversos tamaños, y esta cifra no discrimina entre las diferentes medidas. De acuerdo con las mismas fuentes de la industria [58], el 50% de la demanda de los consumidores corresponde a vendajes de 10 cm x 10 cm.

Se puede concluir que, en el año 2023, el mercado anual de apósitos avanzados de 10 cm x 10 cm fue de aproximadamente 8,430,000 unidades anuales. Para este proyecto, se busca capturar el 15% de este mercado nacional, lo que equivale a una estimación de ventas anuales de aproximadamente 1,264,500 unidades en el primer año. Considerando la Tasa de Crecimiento Anual Compuesta (CAGR) estimada del 5,9% para el período de 2023-2028 [3], se proyecta el volumen de ventas a lo largo de los 5 años de inversión. La Tabla 12 detalla las ventas anuales estimadas durante la vida útil de 5 años del proyecto.

Tabla 12. Cantidad de ventas por cada año de vida útil del proyecto.

Año de proyecto	1	2	3	4	5
Cantidad de ventas anuales (millón de unidades/año)	1,264,500	1,339,635	1,418,674	1,502,375	1,591,015

5.3.4 Precio de venta

La determinación del precio de venta se basó en datos de referencia del mercado, reflejando la cantidad monetaria a la que los productores están dispuestos a vender un bien y los consumidores a adquirirlo, logrando así un equilibrio en el mercado [52]. El objetivo principal era alinear el precio con los parámetros del mercado para satisfacer las necesidades y expectativas del comprador, considerándose el elemento más crucial en la estrategia comercial para determinar la rentabilidad del proyecto. La información obtenida del mercado proporciona la perspectiva del precio que el consumidor está dispuesto a pagar por un bien. Sin embargo, el precio al que la empresa venderá el producto dependerá de los intermediarios presentes en la cadena de comercialización y de la combinación de tácticas

de la mezcla de marketing. Esta última se refiere al conjunto de herramientas tácticas que la empresa integra para obtener la respuesta deseada en su mercado objetivo.

Los precios observados en el mercado oscilan entre aproximadamente \$1500 a \$3500 (equivalente a USD 4-10). Considerando que la comercialización del producto se enfocará en mayoristas, tales como farmacias, droguerías y ortopedias, se debe reducir el precio en un porcentaje (ya que se vende al por mayor y luego los mayoristas obtienen cierta ganancia). Además, se optó por utilizar una estrategia de marketing que consiste en reducir el costo en comparación con los precios de mercado, dada la novedad del producto en la industria nacional. Finalmente, esto resultó en un precio de 5,3 USD por unidad.

5.3.5 Comercialización

El principal objetivo es alinear el producto con los parámetros del mercado para satisfacer plenamente las necesidades y expectativas de los compradores.

Dado que el mercado es limitado y altamente selecto, se ha considerado implementar un canal de distribución directo, es decir, sin intermediarios, que implica la venta directa de los apósitos a las farmacias. Esta estrategia se fundamenta en la premisa de que al reducir la cantidad de intermediarios, se logrará un mayor control sobre el producto y su precio.

5.4 Ingeniería de producción

La ingeniería de la producción contempla todas las acciones que llevan a la operación del proyecto. Además, cuantifica todas las variables involucradas [52].

5.4.1 Capacidad de la planta

La capacidad de la planta se refiere a la capacidad instalada al 100% y se expresa en unidades de producción por año. Posteriormente, la planta podría operar a diferentes porcentajes de utilización. Esta capacidad estimada se fundamenta en la demanda prevista del producto, la disponibilidad de insumos, la ubicación de la planta y el plan de ventas proyectado. Es esencial dimensionar la planta con una capacidad superior al punto máximo de operación, que se estima en 1.59 millones de unidades por año. Esto se debe a la presencia de ciertos procesos y técnicas que requieren una escala mínima de producción para evitar costos excesivos. A su vez, se deben considerar posibles eventualidades y picos de demanda imprevistos [52]. Por consiguiente, la capacidad de la planta se fija en 2 millones de unidades por año, asumiendo una operación durante 16 horas al día, 28 días al mes y durante los 12 meses del año.

5.4.2 Proceso de producción

El proceso de producción de hidrogeles inicia con la preparación de soluciones de quitosano al 5 mg/ml y goma arábiga al 20 mg/ml, ambas en soluciones buffer con un pH de 4,5. En primer lugar, se preparan las soluciones buffer utilizando ácido acético al 1% (v/v) y bicarbonato de sodio al 1% (v/v) para facilitar la disolución de los biopolímeros. Posteriormente, se agregan las materias primas en forma de polvo y se mantienen en constante agitación a temperatura ambiente hasta que se disuelvan por completo en las soluciones mencionadas. Este proceso de disolución de las materias primas lleva aproximadamente 5 horas, por lo que se recomienda comenzar la dilución al inicio de la jornada para asegurar una producción continua.

Una vez que las soluciones están homogéneas, se añade el extracto de cannabis a la solución de goma arábiga en una proporción del 9% (v/v) y se agita vigorosamente para asegurar una adecuada mezcla. Luego, estas soluciones se vierten gota a gota en un recipiente con agitación a aproximadamente 200 rpm. Permanecen en agitación durante media hora y luego se someten a centrifugación. A continuación, se colocan en una cinta transportadora para llevar a cabo el secado industrial. Posteriormente, los hidrogeles secos se sumergen en una solución de tripolifosfato de sodio al 5% (p/v) para aumentar su grado de entrecruzamiento y finalmente se lavan con agua destilada.

En la etapa siguiente, después del entrecruzamiento, se procede al corte para obtener vendajes de dimensiones de 10 cm x 10 cm. Luego, se lleva a cabo un lavado industrial para eliminar el agua superficial. Finalmente, los vendajes se almacenan en lugares frescos, protegidos de la radiación solar.

Es importante mencionar que la esterilización de los productos envasados se terceriza [59], ya que requiere el uso de un autoclave especializado y representa un costo elevado en maquinaria para llevarlo a cabo.

5.4.3 Localización

La planta estará ubicada en el Parque Industrial General Manuel Salvio, situado sobre la Ruta Provincial N°88 en Mar del Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

La elección estratégica de esta ubicación responde principalmente a consideraciones comerciales. Estar cerca de terminales de trenes, el puerto y el aeropuerto facilitará la conectividad con mercados locales e internacionales. El propio Parque Industrial ya dispone de servicios que aseguran una rápida puesta en marcha y operación de las instalaciones, lo que crea condiciones iniciales altamente favorables. Además, en el Parque se ofrecen lotes de distintas superficies, adecuados para satisfacer cualquier requerimiento específico.

Además de las consideraciones comerciales, se ha tenido en cuenta la proximidad a fuentes de abastecimiento relevantes. Es importante resaltar que en este mismo Parque Industrial se está llevando a cabo el desarrollo de una planta para la obtención de Quitosano en GIHON - Laboratorios Químicos SRL, lo cual añade un valor estratégico adicional a la ubicación de nuestra planta.

En la Figura 46, se muestra el diagrama de flujo del proceso de fabricación de los apósitos de cannabis.

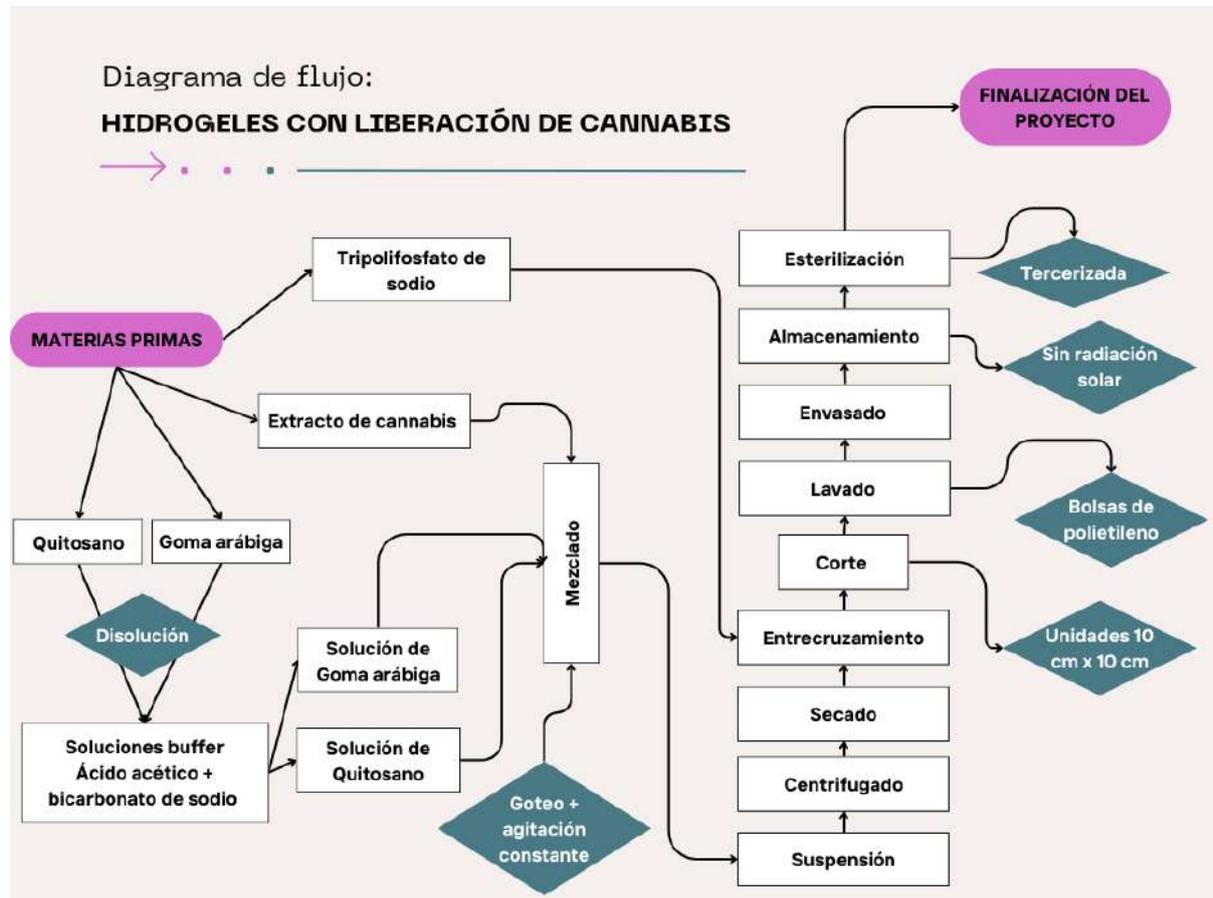


Figura 46. Diagrama de flujo del proceso.

5.4.4 Especificaciones de los equipos

En esta sección, se detallan los equipos necesarios para la producción de hidrogeles a escala industrial con el objetivo de abastecer el mercado previamente mencionado:

Reactor Industrial Tipo Batch:

Tres reactores con una capacidad de 500 litros cada uno y agitación de flujo radial a diferentes velocidades.

a. Capacidad de 500 litros y agitación a 700 rpm: para la preparación de las soluciones buffer de ácido acético y bicarbonato de sodio, y la incorporación del 5% (p/v) de quitosano.

b. Capacidad de 500 litros y agitación a 700 rpm: para la preparación de las soluciones buffer de ácido acético y bicarbonato de sodio, la incorporación del 20% (p/v) de goma arábica, y el 9% (v/v) de extracto de cannabis.

c. Capacidad de 500 litros y agitación a 200 rpm: para la incorporación de las soluciones homogeneizadas de quitosano y goma arábica con extracto de cannabis, simulando el goteo realizado a escala de laboratorio con pipetas Pasteur.

d. Capacidad de 500 litros y agitación a 100 rpm: para la preparación de la solución de tripolifosfato de sodio utilizada en la etapa de entrecruzamiento.



Figura 47. Reactor tipo Batch.

Centrifugadora Industrial:

Una centrifugadora con capacidad suficiente que centrifugará a 8,000 rpm durante 30 minutos, 30 minutos después de mezclar gota a gota las soluciones de quitosano y goma arábica con extracto de cannabis.



Figura 48. Centrífuga industrial.

Cintas Transportadoras:

Cuatro cintas transportadoras serán utilizadas para el transporte de los hidrogeles desde la centrifugadora hacia el secador industrial, luego hacia la etapa de entrecruzamiento, al secador industrial nuevamente y, por último, a la máquina empaquetadora.



Figura 49. Cinta transportadora industrial.

Secadora Industrial:

Se emplea una secadora industrial de bandeja para las primeras etapas de secado.



Figura 50. Secadora de bandejas.

Cortadora Industrial:

Una cortadora industrial será utilizada para transformar los hidrogeles en vendajes individuales de 10 cm x 10 cm.



Figura 51. Cortadora industrial.

Máquina Empaquetadora:

Se encargará de sellar los vendajes en bolsas individuales de polietileno para su posterior distribución. Es importante mencionar que se requiere la esterilización de los sistemas de vendaje-empaque posteriormente.



Figura 52. Máquina de embalaje de polietileno.

Esta configuración de equipos permitirá llevar a cabo eficientemente todas las etapas del proceso de producción de los hidrogeles a escala industrial, desde la preparación de las soluciones hasta el empaquetado final de los vendajes para su distribución.

5.4.5 Impacto social y ambiental

En los últimos años, ha surgido un interés creciente en materiales derivados de fuentes renovables y sostenibles, impulsado por la creciente conciencia ambiental, la problemática de la acumulación y gestión de residuos, así como la inminente disminución de los recursos fósiles. Este proyecto propone la utilización de quitosano y goma arábiga como polímeros biodegradables, sostenibles, fácilmente disponibles y de bajo costo, confiriendo así un valor y utilidad significativos al producto final. El quitosano se extrae de residuos provenientes de los exoesqueletos de crustáceos, lo que representa un enfoque motivador para la producción al reducir la cantidad de desechos generados en la industria pesquera.

Este producto se destaca por su avanzada aplicación en la curación de heridas, contribuyendo así a mejorar la salud y el bienestar de los pacientes. La biocompatibilidad de los biopolímeros utilizados como materias primas y la adición de extracto de cannabis amplifican los beneficios para la salud y el bienestar de los consumidores.

Se proyecta que en los próximos años, los consumidores aumentarán su apreciación por el consumo de materiales más biodegradables y tecnológicamente avanzados, como es el caso de los apósitos propuestos en este estudio. Este cambio refleja una evolución en las preferencias del consumidor hacia productos que no solo sean efectivos en su función, sino que también minimicen su impacto ambiental y contribuyan a un futuro más sostenible.

5.4.6 Marco legal

La fabricación de apósitos debe llevarse a cabo en instalaciones que cumplan con los requisitos legales establecidos por el ente regulador correspondiente en Argentina, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Es fundamental que estas instalaciones estén debidamente aprobadas y cumplan con todos los requisitos legales aplicables para garantizar la calidad, seguridad y eficacia de los productos médicos fabricados.

5.5 Evaluación económica

5.5.1 Análisis de la inversión requerida

La inversión total (IT) requerida representa la cantidad de capital necesaria para poner en operación un proyecto. Se compone de dos componentes principales: la inversión fija total (IFT) y la inversión en capital de trabajo (IW). La fórmula para calcular la inversión total es la siguiente:

$$IT = IFT + IW \quad \text{Ecuación 8}$$

La inversión fija total comprende la cantidad de fondos necesarios para la construcción completa de una planta de procesamiento, incluyendo sus servicios auxiliares, con el objetivo de comenzar la producción. Se desglosa en la inversión fija (IF) y el valor del terreno. La inversión fija se determina mediante el Método de Estimación por Factores:

$$IF = IE * (1 + \sum f_i) * (1 + \sum f_{ii}) \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

- IE es el valor de los equipos instalados.
- f_i son los factores de multiplicación para estimar los componentes de la inversión directa, como cañerías e instrumentación.
- f_{ii} son los factores de multiplicación para estimar los componentes de la inversión indirecta, como ingeniería, supervisión y contingencias.

En la Tabla 13 se detallan los costos de los equipos instalados (IE). Es importante mencionar que no se consideró la variabilidad del tipo de cambio en ninguno de los costos del análisis económico.

Tabla 13. Costos de los equipos de la planta sin instalación.

Equipo		Marca	Unidades	Costo por unidad (USD)
Reactor industrial tipo batch	500 L	PKW [60]	4	6.090
Centrifuga industrial		GEA [61]	1	3.600
Cinta transportadora		ULTIMATION [62]	4	1.670
Secadora industrial		FIMAR [63]	1	3.500
Cortadora industrial		STYLENC [64]	1	9.500
Máquina empaquetadora		CORETAMP [65]	1	5.200
Inversión total de equipos sin instalar (USD)				52.840

Además, se tomó en cuenta un costo adicional del 20% del valor de los equipos para cubrir los gastos de instalación, dado que se trata de equipos que requieren ingeniería inmediata [52]. En última instancia, la inversión total en equipos instalados (IE) asciende a USD 63.408.

En la Tabla 14 se detallan los factores considerados para calcular la inversión fija, junto con sus respectivos valores.

Tabla 14. Factores directos e indirectos asumidos para el cálculo de la inversión fija.

Componentes directos	Criterio de elección	Factor f_i
Tuberías de proceso	Proceso mixto	0,2
Instrumentación	Control parcialmente automatizado	0,075
Edificios de fabricación	Construcción cerrada	0,8
Plantas de servicios	Plantas de servicio totalmente nuevas	0,625
Conexiones entre unidades	Entre las unidades de servicios	0,025
Σf_i		1,725
Componentes indirectos	Criterio de elección	Factor f_{ii}
Ingeniería y construcción	Ingeniería inmediata	0,275
Factores de tamaño	Unidad comercial pequeña	0,1
Contingencias	Variaciones imprevistas	0,25
Σf_{ii}		0,625

Posteriormente, basándonos en la $IF = IE * (1 + \Sigma f_i) * (1 + \Sigma f_{ii})$ Ecuación 9 y los datos de la Tabla 14, se determinó que la inversión fija asciende a USD 280.778,6

Con respecto al terreno, el Municipio de General Pueyrredón otorga lotes en el Parque Industrial General Savio de forma gratuita para proyectos que contribuyan al desarrollo económico de la región [67]. Por esta razón, se considera que el terreno no implica costos adicionales, y la inversión fija total equivale a la inversión fija.

En la etapa final, es esencial calcular la inversión en capital de trabajo (IW), también conocida como "capital de giro". Este capital comprende los fondos necesarios para que, una vez que la planta esté instalada y operando en régimen normal, pueda funcionar según los niveles planificados en los estudios técnico-económicos. Los principales componentes de la IW incluyen materias primas, repuestos, créditos a compradores y proveedores, entre

otros. Para una estimación aproximada en industrias químicas, se suele considerar el 10% de la inversión fija total. Este cálculo se realiza dado la falta de otros datos disponibles. En conclusión, el valor estimado de la IW es de USD 28.077,9 y la inversión total alcanza los USD 308.856,4.

5.5.2 Análisis de costos

5.5.2.1 Costos variables

Materia prima

Para la producción de los hidrogeles, se necesitan los siguientes materiales y sustancias: quitosano, goma arábiga, extracto de cannabis, ácido acético, bicarbonato de sodio, tripolifosfato de sodio y agua destilada. En la Tabla 15 se encuentran especificadas las cantidades requeridas de cada uno de estos elementos, así como sus respectivos precios.

Tabla 15. Materias primas utilizadas, cantidades requeridas y sus costos.

Materia prima	Costo	Costo por unidad de vendaje (USD)
Quitosano	8474 USD/kg	0,71
Goma arábiga	106 USD/kg	0,04
Extracto de cannabis	1103,1 USD/kg	1,84
Ácido acético	36,4 USD/L	0,04
Bicarbonato de sodio	26,9 USD/kg	0,03
Tripolifosfato de sodio	4079 USD/kg	2,04
Agua destilada	0,13 USD/L	0,05

El costo de materia prima por unidad de vendaje asciende a USD 4,74. Es importante señalar que se ha contemplado la posibilidad de reutilizar el agua destilada y/o llevar a cabo un proceso de destilación utilizando agua corriente.

Envases/empaque

Los envoltorios para los apósitos consisten en bolsas de polietileno, con un costo individual de 2,6 USD/m². [68] Se estima que se emplea aproximadamente 0,15 m² de polietileno por cada unidad de vendaje, lo que da como resultado un costo por unidad de vendaje de USD 0,13. Adicionalmente, se incluye el costo correspondiente a la esterilización de los sistemas

de vendaje y empaque, que es subcontratada. El costo por unidad para este proceso es de aproximadamente USD 0,03.

En resumen, el costo total por unidad, considerando empaquetado y esterilización, se sitúa en USD 0,16.

Mano de obra

El costo de la mano de obra abarca los sueldos de los operarios y/o empleados que desempeñan tareas directamente relacionadas con la fabricación del producto. En situaciones en las que la empresa está operando al 100% de su capacidad, se requieren 3 operarios por turno, con una jornada laboral de 8 horas diarias y 2 jornadas diarias. La planta, en estas condiciones, funciona durante 20 días al mes y durante los 12 meses del año. Con base en los datos proporcionados por la Unión de Obreros y Empleados Plásticos [66], se determina el costo de la hora hombre de un operario calificado, incluyendo las cargas sociales, siendo este de USD 4,26. El cálculo del costo anual de la mano de obra, considerando la planta operando a su máxima capacidad de diseño, asciende a USD 68.731,27. Por consiguiente, el costo unitario se establece en USD 0,034.

Supervisión

El costo de supervisión se considera como el 20% de la mano de obra directa [52], resultando así 0,007 USD/unidad.

Servicios

Los costos variables de servicios, contempla los necesarios para realizar la producción del bien, incluyendo energía eléctrica, agua y gas natural. Los últimos dos mencionados se consideran para el consumo personal de la empresa, por lo cual se asemeja al típico de una vivienda. El consumo eléctrico de los equipos utilizados se calculó a partir del cuadro tarifario de Edea para medianas demandas. Se debe pagar un cargo fijo mensual de 7,49 USD y uno variable de 0,04 USD/kW [69]. En la Tabla 16 se detallan las potencias de las maquinarias utilizadas durante el proceso de confección del vendaje.

Tabla 16. Potencia de los equipos utilizados

Equipo	Potencia [kW/h]
Reactor industrial tipo batch	25
Centrifuga industrial	10

Cinta transportadora	2
Secadora industrial	1,5
Cortadora industrial	0,15
Máquina empaquetadora	2,2
Total de consumo equipos por hora	40,85 kW
Total de consumo de equipos por año	219.609,6 kW

Además del costo de energía eléctrica, se suman los costos de gas y agua, estimados en línea con el consumo típico de una vivienda. Así, se obtiene un costo total por servicios cuando la planta opera a su máxima capacidad de diseño de USD 1.157,06. Seguidamente, el costo por unidad de vendaje se establece en 0,0006 USD.

Mantenimiento

Los costos de mantenimiento para la planta operando a su capacidad de diseño, es decir al 100%, se estiman como el 5% de la inversión fija. Por lo tanto, el costo de mantenimiento es de 0,007 USD/unidad.

Suministros

Los suministros están compuestos por los materiales utilizados por la planta excluyendo las materias primas y demás, que fueron mencionados anteriormente. Se puede estimar el costo de suministros como un 0,75% de la inversión fija para la planta operando a su máxima capacidad [52]. Por ende, el costo variable de suministros resulta de USD 2.105,84 y de 0,001 USD/unidad.

Laboratorio

Dentro de estos costos variables se consideran los ensayos de laboratorios necesarios para el control de calidad y operaciones. Se pueden estimar como un 11% de la mano de obra directa, [52] y el costo resulta de USD 7.560,44 para la máxima capacidad de la planta. El costo unitario del laboratorio es de 0,004 USD. En la Tabla 17 se detallan los costos variables en cada año de producción.

Tabla 17. Costos variables de producción en USD.

Costos variables (USD)

Año	1	2	3	4	5
Cantidad de ventas anuales (USD / año)	1.264.500,00	1.339.635,00	1.418.674,00	1.502.375,00	1.591.015,00
Materia prima	5.997.564,00	6.353.932,21	6.728.816,75	7.125.813,30	7.546.235,69
Empaque	201.683,2	213.666,96	226.273,40	239.623,41	253.761,17
Mano de obra	43.455,35	46.037,41	48.753,63	51.630,07	54.676,24
Supervisión	8.691,07	9.207,48	9.750,73	10.326,01	10.935,25
Servicios	731,55	775,02	820,75	869,17	920,45
Mantenimiento	8.876,11	9.403,52	9.958,33	10.545,87	11.168,07
Suministros	1.331,42	1.410,53	1.493,75	1.581,88	1.675,21
Laboratorio	4.780,1	5.064,11	5.362,9	5.679,31	6.014,39
CV TOTALES	6.267.113,25	6.639.497,24	7.031.230,23	7.446.069,02	7.885.386,47

5.5.2.2 Costos fijos

Costos de inversión

Estos costos incluyen depreciación, impuestos y seguro.

- Depreciación: En cuanto a la depreciación, se emplea el método de la línea recta para su cálculo, siendo este el método más ampliamente utilizado y simple. La fórmula que rige este cálculo es la siguiente:

$$\text{Costo de la depreciación anual} = \frac{1}{n} * (IF - L) \quad (X)$$

Donde "n" representa la vida útil del proyecto, establecida en 5 años en este caso, y "L" es el valor residual al final de la vida útil, estimado en un 30% de la inversión fija. Por ende, el costo resultante por depreciación es de 39.309 USD/año.

- Impuestos: Se estiman en un 1,5% de la inversión fija, lo que da como resultado 4.211,68 USD/año.
- Seguros: Respecto a los seguros, estos abarcan la propiedad, el personal y las mercaderías. Se estima su costo en un 0,75% de la inversión fija, totalizando 2.105,84 USD/año.

En resumen, estos componentes contribuyen a los costos generales que componen la inversión fija.

Ventas y distribución

Los costos relacionados con la venta y distribución comprenden los salarios, gastos generales de oficinas de ventas, comisiones, gastos de viaje, embarque y otros gastos asociados. Este costo se estima como el 3% de los ingresos anuales por ventas a la capacidad de diseño [52]. Considerando un precio de venta de 5,3 USD, el costo correspondiente se calcula en USD 318.000.

Dirección y administración

Los gastos administrativos de la empresa, que incluyen salarios del personal administrativo y gastos generales de la dirección, pueden estimarse como el 30% del costo de mano de obra directa. Dado que este valor es variable, se utiliza el correspondiente a la capacidad de diseño de la planta. En conclusión, este cálculo arroja un resultado de USD 20.619,38.

La Tabla 12 muestra los valores de los costos fijos para solventar por la empresa.

Tabla 18. Costos fijos de producción en USD.

COSTOS FIJOS (USD)		
Costos de inversión	Depreciación	39.309
	Impuestos	4.211,68
	Seguros	2.105,84
Ventas y distribución		318.000
Administración y dirección		20.619,38
CF TOTALES		384.245,90

En la Tabla 19 se puede concluir con los costos de producción por año del proyecto.

Tabla 19. Costos de producción por año del proyecto.

Año	1	2	3	4	5
-----	---	---	---	---	---

Costos de Producción (USD)	6.651.359,15	7.023.743,14	7.415.476,12	7.830.314,91	8.269.632,36
----------------------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------

5.5.3 Análisis de rentabilidad

La rentabilidad se mide a través de la ganancia generada por una actividad en relación con la inversión de capital requerida para llevarla a cabo. Para evaluarla, se emplean tanto un enfoque estático como un enfoque dinámico, utilizando métodos como el valor presente (VP), la tasa interna de retorno (TIR) y el tiempo de repago (nR).

El valor presente representa la cantidad de dinero necesaria al inicio del proyecto, además de la inversión total. Esta suma, invertida a una tasa de interés predefinida, debe generar el mismo ingreso que el flujo de caja del proyecto en un período dado. Para que el proyecto sea considerado rentable, el VP debe ser mayor a cero, indicando que genera un monto remanente sobre el mínimo exigido. Se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$VP_i(\%) = \sum_{j=1}^n \frac{FC_j}{(1+r)^j} - IT \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde n es la vida útil del proyecto y FC_j es el flujo de caja correspondiente a cada año del proyecto.

La tasa interna de retorno (TIR) representa la tasa de interés anual que debería aplicarse al flujo de efectivo de manera que la inversión inicial se reduzca a cero al final de la vida útil del proyecto. Es esencialmente la máxima tasa de interés que podría pagarse anualmente para financiar la inversión y liquidar por completo al término del proyecto. La TIR es un indicador de rentabilidad y confirma que un proyecto es rentable cuando supera la tasa de rentabilidad mínima aceptable (TRMA) establecida por la empresa. En este caso, se ha considerado una TRMA del 20%. Para calcularla, se emplea la fórmula:

$$\sum_{j=1}^n \frac{FC_j}{(1+r)^j} - IT = 0 \quad \text{Ecuación 11}$$

Finalmente, el tiempo de repago (nR) se define como el período mínimo teórico necesario para recuperar la inversión fija depreciable (IFd) a través de los flujos de efectivo generados por el proyecto. La IFd se calcula restando el valor residual o de reventa al final de la vida útil de un bien a la inversión fija. Según el criterio utilizado, se considera que el proyecto es rentable cuando este valor es menor a la mitad de la vida útil del proyecto. La fórmula para calcularlo es la siguiente:

$$nR = \frac{IFd}{FC} \quad \text{Ecuación 12}$$

Para realizar la evaluación, se creó el cuadro de fuentes y uso de fondos que se puede observar en la Tabla 20. Se tomó en cuenta una tasa impositiva del 35% y se estableció una

Tasa de Rentabilidad Mínima Aceptable (TRMA) del 20%. A su vez, se realizó el análisis de tiempo de repago que se puede observar en la Figura 53.

Tabla 20. Cuadro de fuentes y uso de fondos.

Año						
	0	1	2	3	4	5
Fuentes						
Ingreso por ventas		6.701.850,00	7.100.065,50	7.518.972,20	7.962.587,50	8.432.379,50
Costos de producción (CP)		6.651.359,15	7.023.743,14	7.415.476,12	7.830.314,91	8.269.632,36
Usos						
BNAI		50.490,85	76.322,36	103.496,08	132.272,59	162.747,14
Impuesto a las ganancias		- 17.671,80	-26.712,83	-36.223,63	-46.295,41	-56.961,50
Beneficio neto		32.819,05	49.609,54	67.272,45	85.977,18	105.785,64
Depreciación		39.309,00	39.309,00	39.309,00	39.309,00	39.309,00
Egresos iniciales						
Inversión fija	- 280.778,55					
Terreno	-					
Capital de trabajo	-28.077,86					
Recuperación de capital						\$ 112.311,42
Flujo de caja	- 308.856,41	72.128,05	88.918,53	106.581,45	125.286,18	257.406,06



Figura 53. Análisis del tiempo de repago del proyecto.

Concluyendo con el análisis de rentabilidad, se obtuvo un valor presente de USD 32.119,78, un tiempo de repago de 2 años y 2 meses y una tasa interna de retorno de 24%. Como el valor presente es mayor a cero, el tiempo de repago es menor a la mitad de la vida del proyecto y la TIR es mayor a la TRMA, por todo esto se puede afirmar que el proyecto es rentable.

5.5.4 Análisis de sensibilidad

El análisis de sensibilidad es una técnica que permite evaluar cómo las modificaciones en los valores de variables críticas pueden impactar la rentabilidad de un proyecto [52]. Al variar una variable mientras se mantienen las demás constantes, se generan nuevos resultados en términos de rentabilidad. Para evaluar esta sensibilidad, se ha desarrollado una estructura de costos de producción durante el primer año de vida útil del proyecto.

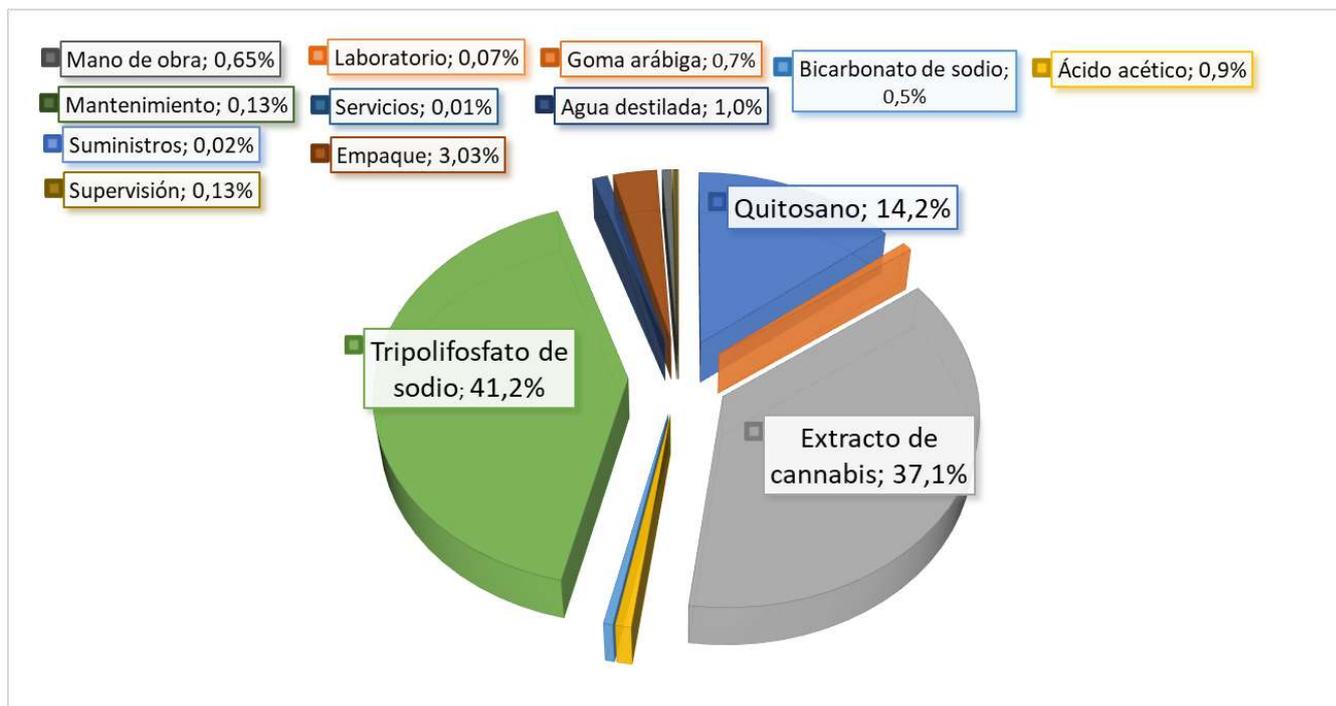


Figura 54. Estructura de costos de producción en el primer año de la vida útil del proyecto.

Al observar la Figura 54, queda claro que existen tres materias primas principales que representan la mayor parte de los costos de producción. Estas materias primas son el tripolifosfato de sodio, el quitosano y el extracto de cannabis. De estas tres, el quitosano tiene el mayor costo, pero el tripolifosfato de sodio se utiliza en una mayor cantidad por cada gel en comparación con el quitosano.

Una estrategia para reducir los costos de producción podría ser considerar la eliminación del proceso de entrecruzamiento de los geles. A lo largo del estudio, se comparó el rendimiento de los geles entrecruzados con los que no lo estaban. El entrecruzamiento aporta valor agregado al mejorar la durabilidad y la capacidad de ruptura de los geles, pero es un aspecto que se podría reconsiderar.

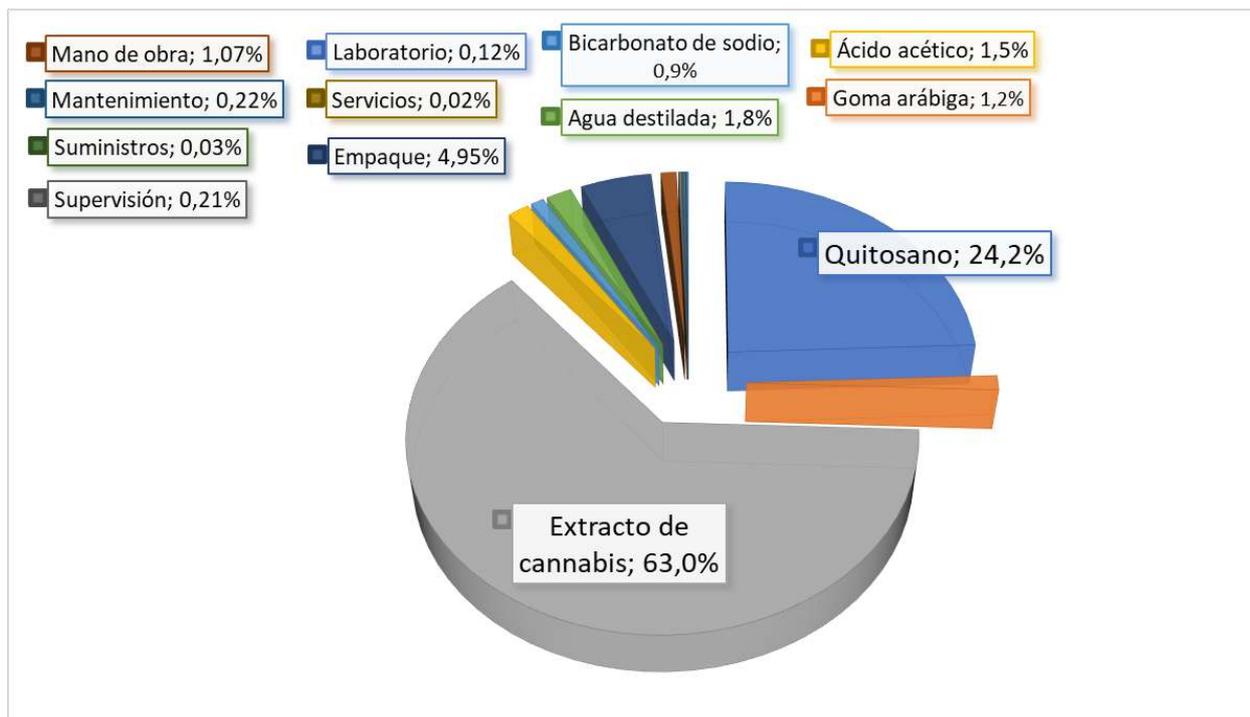


Figura 55. Estructura de costos sin el costo de tripolifosfato de sodio.

Si se decide reducir los costos de producción y eliminar la etapa de entrecruzamiento, los costos asociados al tripolifosfato de sodio se reducirían al 0%. Sin embargo, el costo del extracto de cannabis aumentaría hasta un 63%, (Figura 55) lo que indica una alta sensibilidad del proyecto a las fluctuaciones en el precio del extracto de cannabis. Es importante destacar que no se puede prescindir del extracto de cannabis, ya que es el componente diferenciador del apósito. En este sentido, se podría analizar la posibilidad de producir el extracto de cannabis dentro de la misma planta para reducir los costos por unidad de extracto de cannabis.

Por último, el quitosano también influye significativamente en el análisis de sensibilidad del proyecto, representando inicialmente un 14,2% de los costos y posiblemente un 24,2% si se decide no entrecruzar los geles. Para abordar este costo elevado de quitosano, se podría considerar la implementación de una planta de procesamiento de quitosano, un proyecto que GIHON - Laboratorios Químicos SRL está llevando a cabo, lo que podría reducir estos porcentajes elevados y mejorar la rentabilidad del proyecto.

6. Conclusiones y consideraciones finales

En este estudio fue posible obtener hidrogeles a partir de quitosano, goma arábica y extracto de cannabis de forma exitosa a partir de un proceso simple, que incluye interacciones electrostáticas. Además, se probó el entrecruzamiento a partir de tripolifosfato de sodio y también fue exitoso. Se llevó a cabo la caracterización completa y se analizaron las propiedades térmicas, morfológicas, mecánicas, antimicrobianas y de liberación a partir de diversas técnicas.

Los análisis FTIR brindaron información acerca de la composición y vibración de los enlaces típicos de cada polímero y confirmaron la interacción entre los polisacáridos utilizados para la fabricación de los hidrogeles. Las imágenes SEM posibilitaron la visualización de la estructura porosa, tanto homogénea como heterogénea, con poros de diversos tamaños interconectados. Esta morfología es esencial para permitir propiedades de hinchamiento adecuadas en los vendajes, lo que facilita la absorción de los exudados provenientes de las heridas. Esto se confirma luego al realizar el ensayo de grado de hinchamiento donde se obtuvieron valores entre 150-250%.

Aunque los valores de permeabilidad al valor resultaron bajos, aspecto importante para absorber exudados y mantener la humedad adecuada en los vendajes, el hidrogel de quitosano cargado con cannabis se acercó a los valores deseados para un apósito ideal. Se determinó la fracción de gel de los hidrogeles la cual varía entre 41-74%.

En los análisis mecánicos se logró capturar la respuesta de los hidrogeles, se observó que siguen un comportamiento elastomérico, que sugiere un grado muy bajo de cristalinidad. La máxima deformación alcanzada de los geles se situó en el rango 50-60% en las muestras cargadas con extracto de cannabis y entrecruzadas con TPP. El hidrogel de quitosano, por su parte, exhibió una deformación máxima de 23%. Además, se obtuvieron los valores de módulos de compresión que oscilaron entre 30000-80000 Pa. La adición de extracto de cannabis y el entrecruzamiento contribuyeron a un aumento en las propiedades mecánicas de los hidrogeles.

Los ensayos de liberación reflejaron una liberación controlada del fármaco, tanto en los hidrogeles que fueron cargados con cannabis como en los que fueron cargados y entrecruzados con TPP. Los porcentajes liberados se situaron en torno del 12% al 18% en un período de aproximadamente 8 semanas. De acuerdo con los ensayos de actividad antimicrobiana, todos los hidrogeles mostraron efecto bactericida a las bacterias *Bacillus thuringiensis* y *Escherichia coli*, aunque en mayor medida a la primera. La adición de extracto de cannabis mostró un efecto significativo en esta propiedad, y se demostró que es

correlativo con la concentración. Los hidrogeles mostraron propiedades de protección de heridas muy adecuadas para su potencial utilización como vendajes.

Por último, el estudio de rentabilidad para la instalación y puesta en marcha de una planta que produzca hidrogeles a base de quitosano, goma arábica, extracto de cannabis y tripolifosfato de sodio fue prometedora. La inversión total se estimó USD 308.856,41 considerando una vida útil de proyecto de 5 años. El precio de venta de los vendajes se fijó en USD 5,3. Se escogió esta manera como una estrategia de marketing para influir en la demanda, considerando que se trata de un mercado con desarrollo nacional casi nulo. Se analizó la rentabilidad y finalmente el proyecto resultó rentable al obtener una TIR de 24%, un tiempo de repago de 2 años y 2 meses y un valor presente de USD 32.119,78. Estos indicadores económicos corroboran la viabilidad y atractivo del proyecto en el mercado.

7. Trabajo a futuro

Una vez finalizado el Trabajo Final en el contexto de la Beca EVC-CIN que he obtenido, se pueden enumerar las actividades a realizar para profundizar el conocimiento del material y mejorarlo.

1. Realizar un estudio exhaustivo de la liberación controlada del extracto de cannabis con el fin de poder manipular mejor el tiempo de liberación y sus consecuencias en las heridas.
2. Analizar el efecto del extracto de cannabis con respecto al alivio del dolor en el cuerpo.
3. Profundizar el estudio antimicrobiano de los hidrogeles en estudio, los resultados fueron óptimos, pero se podría seguir estudiando el efecto en otras bacterias.
4. Analizar el posible uso del extracto de cannabis cómo entrecruzante ya que podría cumplir dos funciones en el material analizado.
5. Realizar una comparación de las propiedades de los hidrogeles de quitosano teniendo en cuenta la variación en los lotes de goma arábica.
6. Investigar si la adición de etanol influye en el proceso de entrecruzamiento del hidrogel y su impacto en las propiedades bactericidas del material.

8. Bibliografía

- [1] Zhong, Y., Xiao, H., Seidi, F., & Jin, Y. (2020). Natural polymer-based antimicrobial hydrogels without synthetic antibiotics as wound dressings. *Biomacromolecules*, 21(8), 2983-3006.
- [2] Loke, W. K., Lau, S. K., Yong, L. L., Khor, E., & Sum, C. K. (2000). Wound dressing with sustained anti-microbial capability. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials*
- [3] Zhang, Y. S., & Khademhosseini, A. (2017). Advances in engineering hydrogels. *Science*, 356(6337), eaaf3627.
- [4] Garakani, S. S., Davachi, S. M., Bagher, Z., Esfahani, A. H., Jenabi, N., Atoufi, Z., ... & Jalessi, M. (2020). Fabrication of chitosan/polyvinylpyrrolidone hydrogel scaffolds containing PLGA microparticles loaded with dexamethasone for biomedical applications. *International journal of biological macromolecules*, 164, 356-370.
- [5] Liu, H., Wang, C., Li, C., Qin, Y., Wang, Z., Yang, F., ... & Wang, J. (2018). A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. *RSC advances*, 8(14), 7533-7549.
- [6] Zheng, Z., Qi, J., Hu, L., Ouyang, D., Wang, H., Sun, Q., ... & Tang, B. (2022). A cannabidiol-containing alginate based hydrogel as novel multifunctional wound dressing for promoting wound healing. *Biomaterials Advances*, 134, 112560.
- [7] Meka, V. S., Sing, M. K., Pichika, M. R., Nali, S. R., Kolapalli, V. R., & Kesharwani, P. (2017). A comprehensive review on polyelectrolyte complexes. *Drug discovery today*, 22(11), 1697-1706.
- [8] Liu, H., Wang, C., Li, C., Qin, Y., Wang, Z., Yang, F., ... & Wang, J. (2018). A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. *RSC advances*, 8(14), 7533-7549.
- [9] Schofs, L., Sparo, M. D., & Sanchez Bruni, S. F. (2021). The antimicrobial effect behind *Cannabis sativa*. *Pharmacology Research & Perspectives*, 9(2), e00761.
- [10] Niu, F., Su, Y., Liu, Y., Wang, G., Zhang, Y., & Yang, Y. (2014). Ovalbumin–gum arabic interactions: Effect of pH, temperature, salt, biopolymers ratio and total concentration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113, 477-482.

- [11] Jahandideh, A., Ashkani, M., & Moini, N. (2021). Biopolymers in textile industries. In *Biopolymers and their industrial applications* (pp. 193-218). Elsevier.
- [12] Berardo, M. E. V., Mendieta, J. R., Villamonte, M. D., Colman, S. L., & Nercessian, D. (2024). Antifungal and antibacterial activities of *Cannabis sativa* L. resins. *Journal of Ethnopharmacology*, *318*, 116839.
- [13] Zagórska-Dziok, M., Bujak, T., Ziemińska, A., & Nizioł-Łukaszewska, Z. (2021). Positive effect of *Cannabis sativa* L. herb extracts on skin cells and assessment of cannabinoid-based hydrogels properties. *Molecules*, *26*(4), 802.
- [14] Stella, B., Baratta, F., Della Pepa, C., Arpicco, S., Gastaldi, D., & Dosio, F. (2021). Cannabinoid formulations and delivery systems: Current and future options to treat pain. *Drugs*, *81*, 1513-1557.
- [15] Azeredo, H. M., & Waldron, K. W. (2016). Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact—A review. *Trends in Food Science & Technology*, *52*, 109-122.
- [16] Espinosa-Andrews, H., Báez-González, J. G., Cruz-Sosa, F., & Vernon-Carter, E. J. (2007). Gum arabic–chitosan complex coacervation. *Biomacromolecules*, *8*(4), 1313-1318.
- [17] Vermouth, T.M (2007) *Química Teoría y Práctica virtual*. ISBN: 9789872305130
- [18] Pan, C., Qian, J., Zhao, C., Yang, H., Zhao, X., & Guo, H. (2020). Study on the relationship between crosslinking degree and properties of TPP crosslinked chitosan nanoparticles. *Carbohydrate polymers*, *241*, 116349.
- [19] Dureja, H., Tiwary, A. K., & Gupta, S. (2001). Simulation of skin permeability in chitosan membranes. *International journal of pharmaceutics*, *213*(1-2), 193-198.
- [20] Kokabi, M., Sirousazar, M., & Hassan, Z. M. (2007). PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *European polymer journal*, *43*(3), 773-781.
- [21] Ley de Lambert Beer. Recuperado de: https://repositorio.innovacionumh.es/Proyectos/P_22CursoMateriales/Miguel_Angel_Sogorb/Wimba/Espectroscopia_05.htm

- [22] Nieto, J. M., Peniche-Covas, C., & Padroin, G. (1991). Characterization of chitosan by pyrolysis-mass spectrometry, thermal analysis and differential scanning calorimetry. *Thermochimica acta*, 176, 63-68.
- [23] Neto, C. D. T., Giacometti, J. A., Job, A. E., Ferreira, F. C., Fonseca, J. L. C., & Pereira, M. R. (2005). Thermal analysis of chitosan based networks. *Carbohydrate polymers*, 62(2), 97-103.
- [24] Gils, P. S., Ray, D., & Sahoo, P. K. (2010). Designing of silver nanoparticles in gum arabic based semi-IPN hydrogel. *International journal of biological macromolecules*, 46(2), 237-244.
- [25] Cozic, C., Picton, L., Garda, M. R., Marlhoux, F., & Le Cerf, D. (2009). Analysis of arabic gum: Study of degradation and water desorption processes. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1930-1934.
- [26] de Souza, A. G., Cesco, C. T., de Lima, G. F., Artifon, S. E., Rosa, D. D. S., & Paulino, A. T. (2019). Arabic gum-based composite hydrogels reinforced with eucalyptus and pinus residues for controlled phosphorus release. *International journal of biological macromolecules*, 140, 33-42.
- [27] Chelminiak-Dudkiewicz, D., Smolarkiewicz-Wyczachowski, A., Mylkie, K., Wujak, M., Mlynarczyk, D. T., Nowak, P., ... & Ziegler-Borowska, M. (2022). Chitosan-based films with cannabis oil as a base material for wound dressing application. *Scientific Reports*, 12(1), 18658.
- [28] Guinesi, L. S., & Cavaleiro, É. T. G. (2006). The use of DSC curves to determine the acetylation degree of chitin/chitosan samples. *Thermochimica Acta*, 444(2), 128-133.
- [29] Neto, C. D. T., Giacometti, J. A., Job, A. E., Ferreira, F. C., Fonseca, J. L. C., & Pereira, M. R. (2005). Thermal analysis of chitosan based networks. *Carbohydrate polymers*, 62(2), 97-103.
- [30] Jamaludin, J., Adam, F., Rasid, R. A., & Hassan, Z. (2017). Thermal studies on Arabic gum-carrageenan polysaccharides film. *Chemical Engineering Research Bulletin*, 80-86.
- [31] Pang, L., Zhu, S., Ma, J., Zhu, L., Liu, Y., Ou, G., ... & Jin, Y. (2021). Intranasal temperature-sensitive hydrogels of cannabidiol inclusion complex for the treatment of post-traumatic stress disorder. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(7), 2031-2047.

- [32] Bhumkar, D. R., & Pokharkar, V. B. (2006). Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: a technical note. *Aaps Pharmscitech*, 7, E138-E143.
- [33] Wanule, D., Balkhande, J. V., Ratnakar, P. U., Kulkarni, A. N., & Bhowate, C. S. (2014). Extraction and FTIR analysis of chitosan from American cockroach, *Periplaneta americana*. *Extraction*, 3(3), 299-304.
- [34] Pawlak, A., & Mucha, M. (2003). Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. *Thermochimica acta*, 396(1-2), 153-166.
- [35] Moghadam, A., Mobarakeh, M. S., Safaei, M., & Kariminia, S. (2021). Synthesis and characterization of novel bio-nanocomposite of polyvinyl alcohol-Arabic gum-magnesium oxide via direct blending method. *Carbohydrate Polymers*, 260, 117802.
- [36] Emam, H. E. (2019). Arabic gum as bio-synthesizer for Ag–Au bimetallic nanocomposite using seed-mediated growth technique and its biological efficacy. *Journal of Polymers and the Environment*, 27, 210-223.
- [37] Espinosa-Andrews, H., Sandoval-Castilla, O., Vázquez-Torres, H., Vernon-Carter, E. J., & Lobato-Calleros, C. (2010). Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 541-546.
- [38] Vlad, R. A., Antonoaea, P., Todoran, N., Muntean, D. L., Rédei, E. M., Silași, O. A., ... & Ciurba, A. (2021). Pharmacotechnical and analytical preformulation studies for cannabidiol orodispersible tablets. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(9), 1029-1042.
- [39] Siudem, P., Wawer, I., & Paradowska, K. (2019). Rapid evaluation of edible hemp oil quality using NMR and FT-IR spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 1177, 204-208.
- [40] Kim, S. W., Bae, Y. H., & Okano, T. (1992). Hydrogels: swelling, drug loading, and release. *Pharmaceutical research*, 9, 283-290.
- [41] Tejada, G., Piccirilli, G. N., Sortino, M., Salomón, C. J., Lamas, M. C., & Leonardi, D. (2017). Formulation and in-vitro efficacy of antifungal mucoadhesive polymeric matrices for the delivery of miconazole nitrate. *Materials Science and Engineering: C*, 79, 140-150.
- [42] Qi, J., Zheng, Z., Hu, L., Wang, H., Tang, B., & Lin, L. (2022). Development and characterization of cannabidiol-loaded alginate copper hydrogel for repairing open bone defects in vitro. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 212, 112339.

- [43] Silvestro, I., Francolini, I., Di Lisio, V., Martinelli, A., Pietrelli, L., Scotto d'Abusco, A., ... & Piozzi, A. (2020). Preparation and characterization of TPP-chitosan crosslinked scaffolds for tissue engineering. *Materials*, *13*(16), 3577.
- [44] Ruiz-Cardona, L., Sanzgiri, Y. D., Benedetti, L. M., Stella, V. J., & Topp, E. M. (1996). Application of benzyl hyaluronate membranes as potential wound dressings: evaluation of water vapour and gas permeabilities. *Biomaterials*, *17*(16), 1639-1643.
- [45] Vedadghavami, A., Minooei, F., Mohammadi, M. H., Khetani, S., Kolahchi, A. R., Mashayekhan, S., & Sanati-Nezhad, A. (2017). Manufacturing of hydrogel biomaterials with controlled mechanical properties for tissue engineering applications. *Acta biomaterialia*, *62*, 42-63.
- [46] Stammen, J. A., Williams, S., Ku, D. N., & Guldborg, R. E. (2001). Mechanical properties of a novel PVA hydrogel in shear and unconfined compression. *Biomaterials*, *22*(8), 799-806.
- [47] Yang, C., Xu, L., Zhou, Y., Zhang, X., Huang, X., Wang, M., ... & Li, J. (2010). A green fabrication approach of gelatin/CM-chitosan hybrid hydrogel for wound healing. *Carbohydrate polymers*, *82*(4), 1297-1305.
- [48] Medellín-Castillo, N. A., Isaacs-Páez, E. D., Rodríguez-Méndez, I., González-García, R., Labrada-Delgado, G. J., Aragón-Piña, A., & García-Arreola, M. E. (2021). Formaldehyde and tripolyphosphate crosslinked chitosan hydrogels: Synthesis, characterization and modeling. *International Journal of Biological Macromolecules*, *183*, 2293-2304.
- [49] Stella, B., Baratta, F., Della Pepa, C., Arpicco, S., Gastaldi, D., & Dosio, F. (2021). Cannabinoid formulations and delivery systems: Current and future options to treat pain. *Drugs*, *81*, 1513-1557.
- [50] Chelminiak-Dudkiewicz, D., Smolarkiewicz-Wyczachowski, A., Mylkie, K., Wujak, M., Mlynarczyk, D. T., Nowak, P., ... & Ziegler-Borowska, M. (2022). Chitosan-based films with cannabis oil as a base material for wound dressing application. *Scientific Reports*, *12*(1), 18658.
- [51] Mordor Intelligence. (2022). Argentina wound care management market - growth, trends, covid-19 impact, and forecasts (2022 - 2027). Recuperado de <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/argentina-wound-care-management-devices-market>
- [52] Apunte Proyectos de Inversión y Plan de Negocios. (2023). Ingeniería Económica. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata.

[53] Quaditel. (28 de mayo del 2022). Mercado de productos para el cuidado de heridas en América Latina (2018-2023). Recuperado de <https://www.quadintel.com/report/latin-america-wound-care-product-market/QI042>

[54] Instituto Nacional de Tecnología Industrial. (5 de diciembre de 2016). Bioplásticos en Argentina. Recuperado de <https://www.inti.gob.ar/noticias/15-desarrollo-e-innovacion/487-bioplasticos-en-argentina>

[55] Mordor Intelligence Advanced wound care management market - growth, trends, covid-19 impact, and forecasts (2022 - 2027). Recuperado de <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-advanced-wound-care-management-market-industry>

[56] Mordor Intelligence. (2022). Argentina wound care management market - growth, trends, covid-19 impact, and forecasts (2022 - 2027). Recuperado de <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/argentina-wound-care-management-devices-market>

[57] E. Martínez-Correa, M. A. Osorio-Delgado, L. J. Henao-Tamayo, C. I. Castro-Herazo. (2020). Systemic Classification of Wound Dressings: a Review. Rev. mex. ing. biomédica, 41(1), 5-28.

[58] S. Motter, L. Fernández. (2018). Determinación de la viabilidad de transferencia tecnológica para un prototipo de investigación en apósitos de hidrogeles. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Mar del Plata.

[59] Clínica Colón Mar del Plata. Presupuesto por servicio de esterilización. Recuperado de: <http://www.clinicacoln.com.ar>

[60] PKW. *Tanque para homogeneización.* Recuperado de: <https://www.portlandkettleworks.mx/es/tanques-para-mezcla-para-cbd-y-thc-y-equipos-de-bebidas/>

[61] GEA. *Centrífuga industrial.* Recuperado de: <https://www.gea.com/es/products/centrifuges-separation/centrifugal-separator/separator/separators-pharma-extraction.jsp>

[62] ULTIMATION. *Sistema de cinta transportadora.* Recuperado de: <https://www.ultimationinc.com/>

[63] Alibaba. *Secadora de bandejas*. Recuperado de: https://www.alibaba.com/product-detail/Electric-Cassava-Earthworm-Insect-Dryer-Equipment_1600900674639.html?spm=a2700.shop_plgr.41413.7.73bb8322omhrIX

[64] SYNLENC. *Laser Cutting Machine*. Recuperado de: <https://www.stylecnc.com/fiber-laser-cutting-machine/>

[65] CORETAMP. *Máquinas de empaquetado*. Recuperado de: <https://www.coretamp.com/flow-wrap-machine/>

[66] Unión de obreros y empleados plásticos (2023). *Nuevas escalas de sueldos y salarios básicos*. Recuperado de: <https://www.uoyepweb.org.ar/escala-salarial/>

[67] Municipalidad de General Pueyrredón. *Parque Industrial General Savio*. Recuperado de <https://www.mardelplata.gob.ar/parqueindustrial>

[68] Mercado libre. *Bolsas Tubo Polietileno*. Recuperado de: https://articulo.mercadolibre.com.ar/MLA-1100841270-bolsas-tubo-polietileno-ancho-15-cm-50-mic-baja-bobina-100-m-JM#position=1&search_layout=stack&type=item&tracking_id=b1bc306d-ae81-4f3d-9f34-9f75f679e7de

[69] Cuadro tarifario de EDEA. Recuperado de: <https://www.edeaweb.com.ar/>

[70] Tejada, G., Piccirilli, G. N., Sortino, M., Salomón, C. J., Lamas, M. C., & Leonardi, D. (2017). Formulation and in-vitro efficacy of antifungal mucoadhesive polymeric matrices for the delivery of miconazole nitrate. *Materials Science and Engineering: C*, 79, 140-150.

[71] Tejada, G., Piccirilli, G. N., Sortino, M., Salomón, C. J., Lamas, M. C., & Leonardi, D. (2017). Formulation and in-vitro efficacy of antifungal mucoadhesive polymeric matrices for the delivery of miconazole nitrate. *Materials Science and Engineering: C*, 79, 140-150.

[72] Azeredo, H. M., & Waldron, K. W. (2016). Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 109-122.

Anexo 1

Las dificultades que se encontraron durante el trabajo fueron primeramente en el entrecruzamiento del hidrogel de Quitosano. Inicialmente, se sintetizó el hidrogel con un Quitosano que no era de alta pureza. Durante los ensayos iniciales, se observó una falta notable de entrecruzamiento en los geles resultantes. Se planteó la hipótesis de una posible inadecuada relación entre el quitosano y la goma arábica, lo que estaría obstaculizando la unión efectiva entre ambos componentes. La segunda hipótesis de este bajo entrecruzamiento fue pensar que la materia prima no era lo suficientemente pura y esa sería la causa de la escasa red de gel que se veía en los resultados. Por ende, se eligió cambiar el Quitosano por una marca que presente mayor pureza y así lograr los hidrogeles deseados. En la Figura 56 a) y b) se muestra la diferencia luego del centrifugado entre ambos quitosanos.

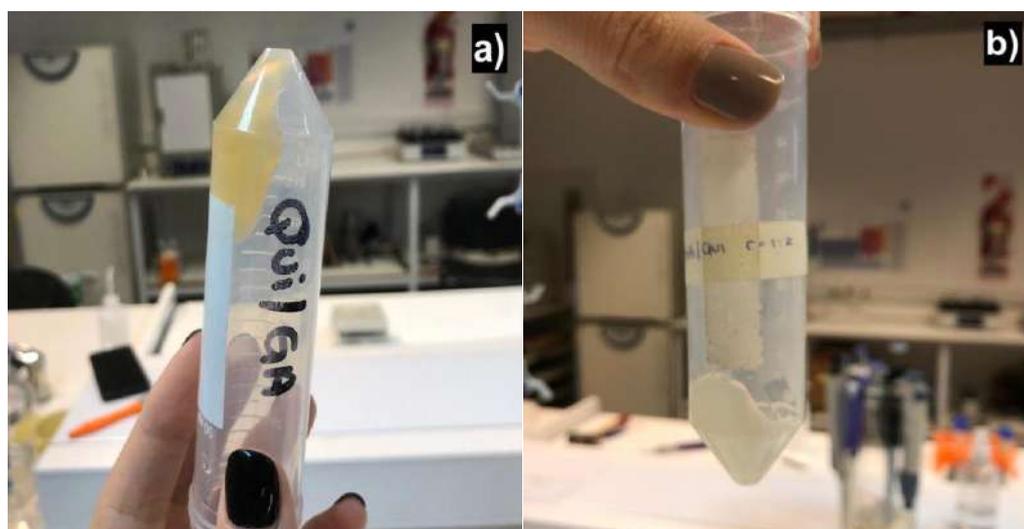


Figura 56. Tubos Falcon a) hidrogel de quitosano de baja pureza b) hidrogel de quitosano de alta pureza.

Cómo se puede observar en la Figura 56 hay una clara diferencia de color entre los hidrogeles de quitosano de diferente pureza. Luego, según la primera hipótesis se procedió a cambiar las concentraciones iniciales, la relación entre quitosano y goma arábica, se fue aumentando inicialmente con una relación 1:4 y por último con una relación 1:1. En la Tabla siguiente, Tabla 21, se observan las concentraciones probadas previamente a la concentración final utilizada.

Tabla 21. Concentraciones analizadas previamente.

Concentración Qui (mg/ml)	Concentración GA (mg/ml)	Relación (Qui/GA)
5	20	1:4
10	30	1:3

10	20	1:2
20	20	1:1

Al salir de la centrífuga, se pesaron y se colocaron en agua destilada para observar si no se desintegraban en agua. También, se fue cambiando el tiempo de mezclado y centrifugado con el objetivo de evidenciar si esta variable afectaba en la consistencia final del gel. Se probaron 3 corridas distintas en la centrífuga, primero 10 minutos a 3000 rpm, luego 5 min a 6500 rpm dos veces y por último 30 min a 8000 rpm. Todos los hidrogeles resultantes de estas corridas se desintegraron muy rápidamente en agua, Figura 57, por lo que se realizó una segunda hipótesis.

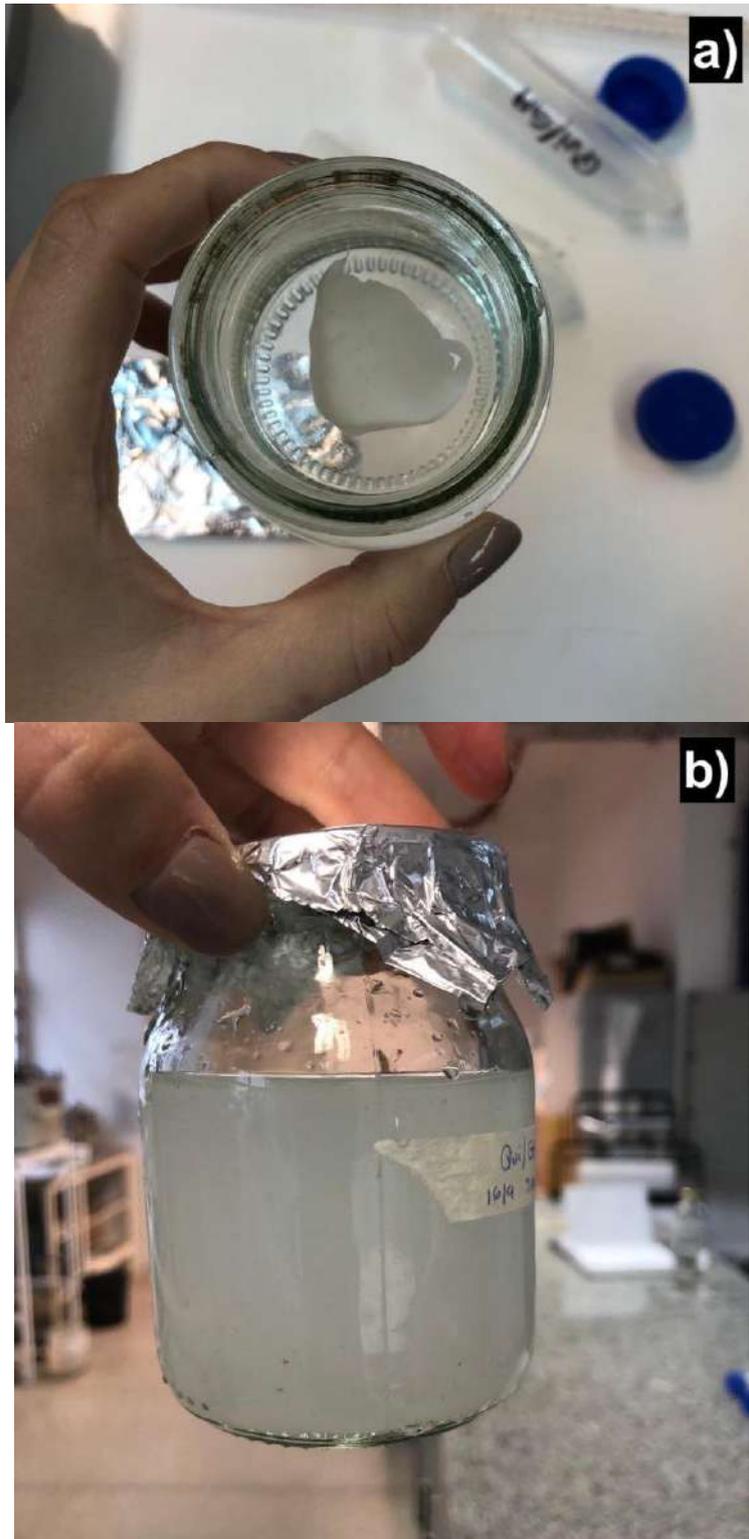


Figura 57. a) Hidrogel de quitosano r1:4 sumergido en agua b) Tres días después de sumergido totalmente desintegrado.

Los hidrogeles de quitosano se desintegraron muy rápidamente en agua. La consistencia de hidrogel que se buscaba no logró ser óptima.

Entonces, se realizó la posible idea de agregar un agente entrecruzante para conseguir la consistencia deseada. Se logró conseguir el agente entrecruzante que iba bien para el sistema, en este caso fue el tripolifosfato de sodio (TPP). Según la bibliografía, se sumergían los hidrogeles en una solución de agente entrecruzante y aumentaba su grado de entrecruzamiento. Se probó lo encontrado en *papers*, con una solución de 5g/ml de TPP sumergir los geles 15 minutos y dejarlos secar [70]. Una vez secos, se dejaron en agua y no se presenció degradación por 72 horas, Figura 58 a) y b). Esto fue un gran descubrimiento luego de un mes haciendo otras pruebas.

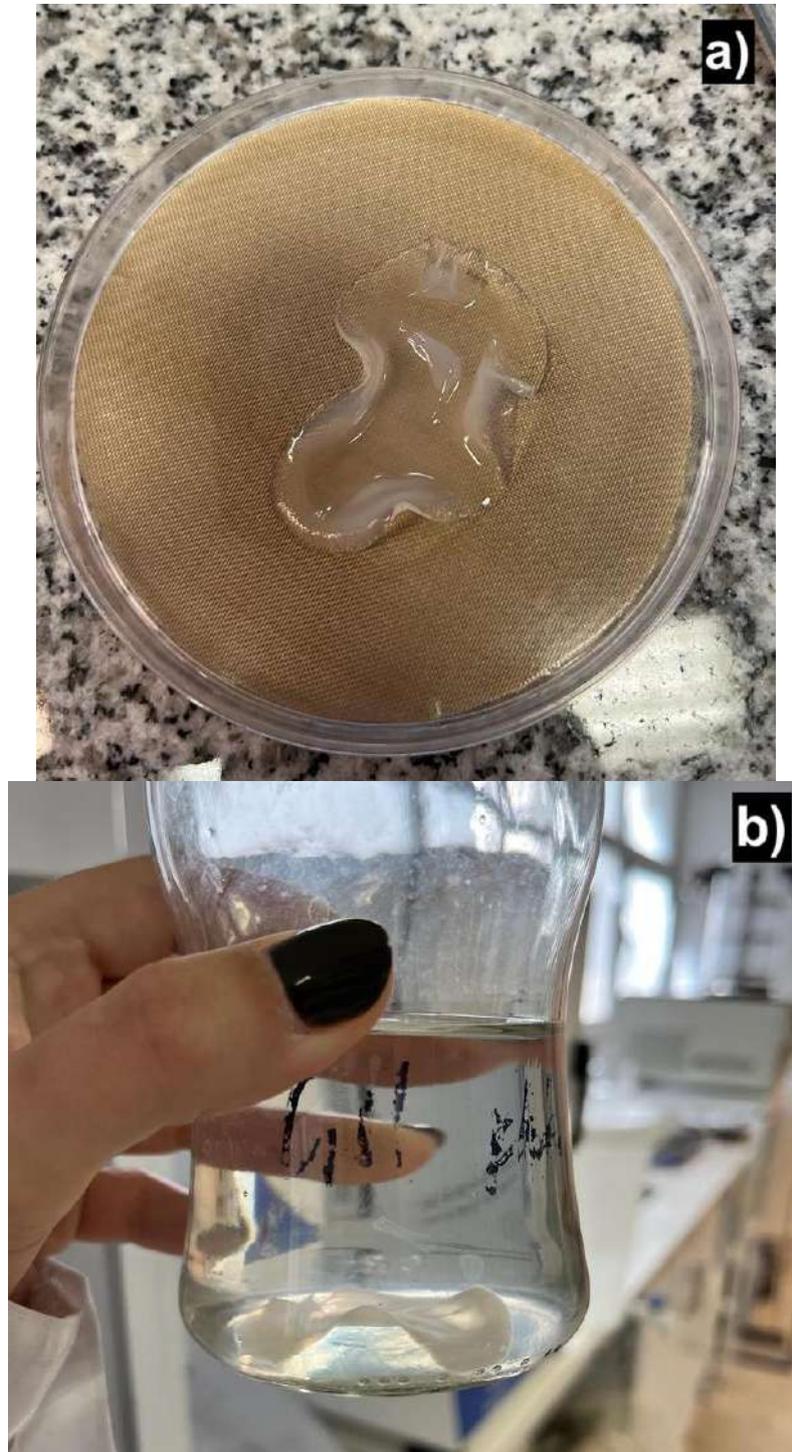


Figura 58. a) Hidrogel de quitosano entrecruzado con TPP b) Sumergido en agua durante tres días.

A su vez, en bibliografía se mostró que secar los geles de quitosano una vez salidos de la centrífuga podría ayudar a tener una consistencia mejor y una disminución del tiempo de degradación en agua [71]. Por ello, luego de utilizar el agente entrecruzante se probó secar los hidrogeles luego de la centrifuga. Esto resultó beneficioso ya que los hidrogeles de quitosano no se desintegraron en agua.

Finalmente, tras realizar todas las pruebas las concentraciones iniciales quedaron de quitosano 5 mg/ml y goma arábica 20mg/ml. Se podría analizar la comparativa entre los geles con agente entrecruzante y los que no lo tenían. También, se realizó la incorporación del extracto de cannabis a la solución de goma arábica y luego a los geles. La adición de extracto de cannabis resultó darles a los hidrogeles de quitosano una consistencia más flexible y mayor maleabilidad. Lo que procedió a decirse que el extracto de cannabis también cumple la función de agente entrecruzante en el sistema planteado.

La planta de cannabis contiene una variedad de compuestos químicos, incluyendo polifenoles. Entre estos, algunos polifenoles se entrecruzan físicamente a través de interacciones hidrofóbicas y enlaces de hidrógeno [72]. Además, se han registrado películas de biopolímeros que contienen extracto de oliva, mostrando un aumento en la tensión de fluencia, una disminución en la permeabilidad al vapor y la optimización de otras propiedades. Por consiguiente, se puede afirmar que el extracto de cannabis actúa como un agente entrecruzante.