BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

LICENCIATURA EN ESTOMATOLOGÍA

"ESPONJAS DE ALGINATO CON QUITOSANO PARA LA REGENERACIÓN ÓSEA: ELABORACIÓN POR MICROONDAS Y CARACTERIZACIÓN"

Tesis para obtener el título de
Licenciada en Estomatología

PRESENTA:
NICTÉ LINO VALLEJO
Matrícula: 201303416

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. JULIA FLORES TOCHIHUITL
ID. 100228022

ASESORA EXTERNA:
DRA. OLIVIA HERNÁNDEZ CRUZ
ID. 537335

LECTORA:
MTRA. VIANEY LINO AGUILAR
ID. 100425988

AGOSTO 2024

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

LICENCIATURA EN ESTOMATOLOGÍA

"ESPONJAS DE ALGINATO CON QUITOSANO PARA LA REGENERACIÓN ÓSEA: ELABORACIÓN POR MICROONDAS Y CARACTERIZACIÓN"

Tesis para obtener el título de
Licenciada en Estomatología

PRESENTA:
NICTÉ LINO VALLEJO
Matrícula: 201303416

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. JULIA FLORES TOCHIHUITL
ID. 100228022

ASESORA EXTERNA:
DRA. OLIVIA HERNÁNDEZ CRUZ
ID. 537335

LECTORA:
MTRA. VIANEY LINO AGUILAR
ID. 100425988

AGOSTO 2024

BUAP

Oficio No. FESIEP/CIFE/069/2024

C. Nicté Lino Vallejo
Estudiante de la Licenciatura en Estomatología
Matrícula No.: 201303416
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, la que suscribe MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; para comunicarle una noticia importante en relación con su proceso académico.

Con agrado, le informo que la Secretaría de Posgrado ha otorgado la aprobación para la impresión de su Tesis Titulada:

"Esponjas de alginato con quitosano para la regeneración ósea: Elaboración por microondas y caracterización".

Esta tesis está inscrita en el libro de registros No. 09, página 01, con el No. de asignación 2024241, en la Secretaría de Investigación de esta Unidad Académica. Usted presentará esta tesis para realizar su examen profesional y así obtener el grado de Licenciatura en Estomatología.

La aprobación de la impresión de su tesis represente un hito significativo en su trayectoria académica y profesional. Es el reflejo de su arduo trabajo, dedicación y la profundidad de su investigación en el campo de la Estomatología.

Le insto a que proceda con los pasos necesarios para la impresión y presentación de Tesis, cumpliendo con todas las normativas y plazos establecidos por la Facultad. Esto incluye la revisión final de su documento, asegurándose de que desempeñe todos los requisitos académicos y formatos establecidos, así como la coordinación con la Secretaría para la programación de su examen profesional.

Para cualquier consulta, aclaración o información adicional, le invito a contactar directamente a este Posgrado, estamos aquí para asistirla en cada paso restante de su proceso académico.

Sin otro particular, le reitero mi más atenta y distinguida consideración y le deseo éxito en la etapa final de esta carrera académica.

A t e n t a m e n t e
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a martes 25 de junio del 2024

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana
Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología

**** Nota:** Se anexa Formato de Impresión de Tesis – C. Nicté Lino Vallejo – Licenciatura en Estomatología – Facultad de Estomatología - B.U.A.P. (origina) - p.s.c.y a.*
**C.c.p. Archivo*
**MCO. FJMA/MEP. GNRCQ/~~yaneth~~*

Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado Facultad de Estomatología
31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL

Para obtener el Grado de: ***Licenciada en Estomatología.***

No. Registro CIFE: *2024241.* ***Fecha de Registro ante CIFE:*** *jueves 15 de febrero del 2024.*

Título de la Tesis: *"Esponjas de alginato con quitosano para la regeneración ósea: Elaboración por microondas y caracterización".*

Nombre del alumno: *Nicté Lino Vallejo.* ***Matrícula:*** *201303416*

Domicilio: *Calle 12 Sur 11516 Int.65 Los Héroes Puebla, Puebla.*

Tel: *22*26 65 15 60* ***Fecha de ingreso a la Facultad:*** *lunes 12 de agosto 2013.*

Firma: _____

Directora de Tesis: *DC. Julia Flores Tochihuitl* ***Grado académico:*** *Doctora en Ciencias Químico-Biológicas.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID***: *100228022* ***Tel***: *22*25 46 67 11*

Firma: _____

Directora Externa: *Dra. Olivia Hernández Cruz.* ***Grado académico:*** *Doctora en Ciencias.*

Adscripción: *Facultad de Ciencias Químicas.* ***ID:*** *COL 537335.* ***Tel:*** *55*34 54 10 06.*

Firma: _____

Lector: *Mtra. Vianey Lino Aguilar.* ***Grado académico:*** *Maestría en Ciencias Odontológicas.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID:*** *100425988* ***Tel:*** *22*21 92 45 15*

Firma: _____

Nombre y firma de aprobación *del presidente de la academia de ciencias básicas/****Responsable de la Licenciatura en Estomatología.***

DC. Cristian Dionisio Román Méndez ***Firma:*** _____

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología, autoriza la impresión de la Tesis.

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana

Fecha actual: *martes 25 de junio del 2024.* ***Sello*** _____

BUAP

Constancia No. FESIEP/CIFE/021/2024

DC. Julia Flores Tochihuitl
Responsable del Proyecto de Investigación
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo la que suscribe MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, y tras un detenido análisis y evaluación en el Proyecto de Investigación (Colectivo):

Nombre del Título del Proyecto:

"Esponjas de alginato con quitosano para la regeneración ósea: Elaboración por microondas y caracterización".

Presentado por:

No.	Cargos	Nombres	ID y/o Matrícula
1	Responsable del Proyecto de Investigación:	DC. Julia Flores Tochihuitl	100228022
2	Asesora Externa:	Dra. Olivia Hernández Cruz Facultad de Ciencias Químicas BUAP	COL537335
3	Estudiante de Licenciatura en Estomatología:	C. Nicté Lino Vallejo	201303416

HAGO CONSTAR, que, ha sido oficialmente ACEPTADO. Este relevante proyecto, ha sido registrado ante el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.), inscrito en el libro de registros No. 09, página 01, bajo el No. de asignación 2024241, en la Secretaría de Investigación de esta Unidad Académica.

Para los fines legales que los interesados convengan, y sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

A t e n t a m e n t e
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a jueves 15 de febrero del 2024

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana
Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología

*C.c.p. Archivo
*MCO. FJMA/MEP. GNRCQ/Yaneth

Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado Facultad de Estomatología
31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526

REPORTE DE SIMILITUD ANTI PLAGIO

INFORME DE ORIGINALIDAD

9%	9%	2%	5%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

PUEBLA
Un gobierno presente

Secretaría de Educación

CONCYTEP
Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla

El Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla otorga el presente

RECONOCIMIENTO A:

Nicté Lino Vallejo,
María de los Ángeles Calixto Pérez

Por haber participado con el proyecto **"Purificación de ibuprofeno cargado en esponjas de alginato: sistema liberador local de fármaco"** en el nivel **Medio Superior** en la **Feria de Humanidades, Ciencias e Ingenierías, Puebla 2023.**

FERIA DE HUMANIDADES, CIENCIAS E INGENIERÍAS PUEBLA 2023

Atentamente
H. Puebla de Zaragoza, a 8 de noviembre de 2023

DR. VICTORIANO GABRIEL COVARRUBIAS SALVATORI
DIRECTOR GENERAL DEL CONSEJO DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA DEL ESTADO DE PUEBLA

Universidad Autónoma de Zacatecas
Unidad Académica de Odontología
Sociedad Nacional de Investigadores en Odontología, A. C.

OTORGAN EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO A

Nicté Lino Vallejo, Olivia Hernández Cruz, Jorge Raúl Cerna Cortez, Julia Flores-Tochihuitl.

Por su participación académica con la presentación en la modalidad **CARTEL** del **TRABAJO DE INVESTIGACIÓN:**

PURIFICACIÓN DE IBUPROFENO PARA ESPONJAS DE ALGINATO

CON POSIBLE APLICACIÓN PARA LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

XXXI Encuentro Nacional y XXII Iberoamericano de Investigación en Odontología y X Jornadas Internacionales de Investigación en Odontología UAO

Efectuado los días, 8, 9 y 10 de noviembre de 2023

Dr. Rubén de Jesús Ibarra Reyes
Rector Universidad
Autónoma de Zacatecas

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillén
Presidente de la Sociedad Nacional
de Investigadores en Odontología, A.C.

Dra. Leticia Rodríguez Villalobos
Directora de la Unidad Académica
de Odontología UAZ

BUAP

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
a través de la Facultad de Ciencias de la Computación
otorga la presente

CONSTANCIA

A: Nicté Lino Vallejo, Julia Flores Tochihuilt y Jorge Raúl Cerna Cortez

Por haber presentado la ponencia "Morfología superficial y capacidad de absorción de esponjas de alginato y quitosano", categoría en Equipos, Nivel Licenciatura, en la 6ª. Jornada de Mujeres en la Ciencia en el marco del Día Internacional de la Mujer y la Niña en la Ciencia, de la Facultad de Ciencias de la Computación.

2024 Facultad de Ciencias de la Computación

"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a 28 de febrero de 2024

M.I. María del Consuelo Molina García
Directora

Facultad de Ciencias de la Computación 2024

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a la Dra. Julia Flores Tochihuitl por confiar en mí para llevar a cabo este proyecto. Su asesoría y guía han sido esenciales durante este proceso, permitiéndome concluirlos de manera adecuada. Más allá de lo académico, este proyecto ha sido parte fundamental de mi formación personal, enseñándome a creer en mí y a preservar, como bien me ha demostrado, los resultados merecen cada esfuerzo realizado. Tuve el privilegio de aprender de una mujer sobresaliente, llena de conocimiento y fortaleza, pero, más allá de eso me llevo una gran amistad que atesoraré por siempre. Gracias por ser un ejemplo que seguir Dra. Julia, su conocimiento trasciende lo profesional y se impregna en el corazón de quienes tuvimos la dicha de cruzarnos en su camino.

A la Dra. Olivia Hernández Cruz posdoctoral del Centro Avanzado de Pruebas Analíticas no destructivas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por permitirme trabajar y aprender de usted, por su asesoramiento y guía durante el transcurso de este proyecto, por alentarme y creer en mi para seguir adelante y finalmente por su amistad que llevaré conmigo porque personas así no son fácil encontrar.

A la Dra. Abigailt Flores Ledesma que además de ser una guía, siempre tuvo la confianza puesta en mí, que me alentó a seguir adelante, que me proporcionó asesoría y su amistad.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi madre, un pilar en mi vida que gracias a su apoyo y ayuda incondicional no habría sido posible llevar a cabo este proyecto. Gracias por tu paciencia infinita, tus palabras de aliento han sido cruciales para culminar esta meta, gracias por comprender la importancia de este proyecto para mí y por hacer todo lo posible para continuar con mi camino.

A Iván Gómez Méndez mi principal soporte durante este trayecto siempre estuvo ahí para brindarme su apoyo emocional, moral y académico incondicionalmente. Sus palabras de aliento y su fe inquebrantable en mi fueron fundamentales para poder culminar este proyecto. Gracias por ser mi pilar en los momentos más desafiantes, por escucharme y aconsejarme con sabiduría, tu presencia fue un ancla que me mantuvo firme en los días turbulentos. Mas que un compañero de vida, eres un amigo en esta travesía académica. Iván tu contribución a este logro va más allá de lo tangible, sembraste en mi la confianza y determinación necesaria para preservar.

A mi compañero de laboratorio Yahir Adalberto por su amistad y apoyo para realizar esta investigación; a mis hermanos quienes siempre creyeron en mi durante este proyecto, animaron y demostraron que no es fácil pero que con entusiasmo y esfuerzo se puede lograr, que, aunque no siempre se puede reconocer el esfuerzo que se hace para salir adelante, solo uno mismo sabe su valor.

DEDICATORIA

Dedico este logro a las personas que han sido mi fuente de inspiración y apoyo incondicional:

A mi madre, cuyo sacrificio y apoyo han sido la base para llegar hasta aquí. Gracias por creer en mí y por estar siempre a mi lado.

A Iván, mi compañero de camino, con quien comparto este logro ya que juntos hemos podido alcanzar desafíos.

A Valentina que ha visto de cerca el esfuerzo y la perseverancia que he llevado a este momento, tu presencia ha sido recordatorio de que, aunque no es fácil el camino, el éxito es posible con dedicación y trabajo duro. Espero que mis logros te inspiren a seguir adelante en tus propias metas.

Finalmente, a Elissa, que tiene dentro de sí la fuerza y determinación para conquistar cualquier obstáculo.

ÍNDICE

ABREVIATURAS .....
1. INTRODUCCIÓN 1
2. PALABRAS CLAVE 3
3. ANTECEDENTES 4
3.1 ANTECEDENTES GENERALES 4
3.1.1 REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA 4
3.1.2 BIOCOMPÓSITO 5
3.1.3 ANDAMIOS 5
3.1.4 ESPONJAS COMO ANDAMIOS PARA REGENERACIÓN ÓSEA 6
3.1.5 POLÍMEROS PARA LA ELABORACIÓN DE ESPONJAS 6
3.1.6 QUITOSANO 7
3.1.7 ALGINATO 8
3.1.8 PRUEBAS DE CARCTERIZACIÓN DE ESPONJAS 9
3.1.9 USO DE MICROONDAS PARA LA ELABORACIÓN DE ESPONJAS 10
3.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS 10
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 13
5. JUSTIFICACIÓN 15
6. HIPÓTESIS 16
6.1 HIPÓTESIS CIENTÍFICA (Hi) 16
6.2 HIPÓTESIS NULA (Hn) 16
7. **OBJETIVOS** 17
7.1 OBJETIVO GENERAL 17
7.2 OBJETIVO ESPECÍFICO 17
8. MATERIAL Y MÉTODOS 18
8.1 DISEÑO DEL ESTUDIO 18
8.2 POBLACIÓN Y MUESTRA 18
8.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN 18
8.4 VARIABLES 19
8.5 CONCORDANCIA Y FIABILIDAD 20
8.6 UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL 20
8.7 TÉCNICA DE ELABORACIÓN DE ESPONJAS 21
8.7.1 REACTIVOS 21
8.7.2 FABRICACIÓN DE ESPONJA DE AL 21
8.7.3 FABRICACIÓN DE ESPONJA DE QS 22
8.7.4 FABRICACIÓN DE ESPONJA DE AL/QS 22
8.8 PRUEBAS DE CARACTERIZACIÓN 22
8.8.1 MORFOLOGÍA SUPERFICIAL DE BARRIDO 22
8.8.2 FTIR 23

8.8.3 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO 23
8.8.4 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO 23
8.8.5 POROSIDAD 23
8.8.6 CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE AGUA 24
8.8.7 BIODEGRADACIÓN 25
8.8.8 TRANSMISIÓN DE VAPOR DE AGUA 26
8.8.9 PROPIEDADES MECÁNICAS COMPRESIÓN 27
9. **ANÁLISIS ESTADÍSTICO** 29
10. **LOGÍSTICA** 30
10.1 RECURSOS HUMANOS 30
10.2 RECURSOS MATERIALES 30
10.3 RECURSOS FINANCIEROS 30
11. BIOÉTICA 31
12. RESULTADOS 32
13. DISCUSIÓN 43
14. CONCLUSIÓN 49
15. BIBLIOGRAFÍA 50
16. ANEXOS 54

ABREVIATURAS

AL	Alginato
QS	Quitosano
ROG	Regeneración ósea guiada
SEM	Microscopia Electrónica de Barrido
FTIR	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
TGA	Análisis termogravimétrico
DTG	Termogravimetría derivada
WVTR	Transmisión de vapor de agua
Sa	Saliva artificial

RESUMEN

Introducción: En la práctica odontológica existen desafíos que incluyen la regeneración de tejido, preservación de la cresta y el tratamiento de defectos óseos Los materiales poliméricos tienen una amplia aplicación en la ingeniería de la medicina regenerativa ya que funcionan como andamios para una estrategia terapéutica como lo son las esponjas que ayudan a proporcionar soporte a los tejidos, regeneración de tejido y hueso, así como administradores y portadores de fármacos.

Material y métodos: Estudio experimental *in vitro*. Se elaboraron esponjas de AL, QS y AL/QS por medio de la técnica que usa microondas, se realizaron pruebas de caracterización morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas.

Resultados y discusión: Las esponjas de AL/QS que se realizaron por medio de microondas presentaron propiedades morfológicas como rugosidad adecuada para favorecer la adhesión celular, además de una superficie porosa. La prueba de biodegradación mostró que las esponjas de AL/QS tienen un tiempo de degradación superior a los 4 meses, lo cual es un indicador favorable para la regeneración ósea. De igual manera, la tasa de transmisión de vapor de agua (WVTR) sugiere que estas esponjas favorecen el paso de gases y nutrientes. La técnica empleada por medio de microondas proporcionó esponjas con propiedades prometedoras para tratamientos de defectos óseos, además, es un procesamiento fácil por lo cual presenta un costo relativamente bajo.

Conclusión: Las esponjas de AL/QS son prometedoras para continuar con los estudios de liberación controlada de fármacos, regeneración ósea y de tejidos, así como de hemostasia rápida.

ABSTRACT

Introduction: In dental practice there are challenges including tissue regeneration, ridge preservation and treatment of bone defects.

Polymeric materials have wide application in regenerative medicine engineering as they function as scaffolds for a therapeutic strategy such as sponges that help provide tissue support, tissue and bone regeneration, as well as drug carriers and delivery.

Material and methods: *In vitro* experimental study. AL, QS and AL/QS sponges were processed in microwave technique, and characterization tests such as morphological, physicochemical and mechanical tests were performed.

Results and discussion: The AL/QS sponges processed in microwaves presented morphological properties such as adequate roughness to favor cell adhesion, in addition to a porous surface. The biodegradation test showed that the AL/QS sponges have a degradation time of more than 4 months, which is a favorable indicator for bone regeneration. Similarly, the water vapor transmission rate (WVTR) suggests that these sponges favor the passage of gases and nutrients.

The microwave technique provided sponges with promising properties for the treatment of bone defects, and the processing is easy and therefore relatively inexpensive.

Conclusion: AL/QS sponges are promising for further studies of controlled drug release, bone and tissue regeneration, and rapid hemostasis.

1. INTRODUCCIÓN

La regeneración ósea es un proceso fisiológico y organizado que sucede de manera normal después de una fractura que implica la remodelación continua hasta la vida adulta. Sin embargo, existen condiciones clínicas complejas en las que se requiere mayor regeneración ósea por traumatismos, infecciones, resección de tumores entre otras[1]. En la actualidad, existe una gran cantidad de estrategias diferentes para aumentar el proceso de regeneración ósea.

Los biocompósitos o biocompuestos se utilizan cada vez más en el área de la medicina regenerativa, estos surgen de la unión química de dos o más biomateriales para obtener mejores resultados o potencializar su actividad. Se espera que los biocompósitos aseguren la biomecánica en el sitio del defecto óseo, que cumplan con ciertas características y propiedades para obtener la estabilidad funcional extendida.

Existen varios biocompósitos, entre estos las esponjas a base de biopolímeros que ayudan a dar soporte, tienen función en la regeneración ósea y algunas se usan como apósito debido a la gran cantidad de poros lo cual es excelente para propiciar la conducción de nutrientes, además de funcionar como portadoras y liberadoras de fármacos. En este sentido, las esponjas de alginato (AL) y quitosano (QS) son un biocompósito prometedor para la ingeniería de tejidos debido a estas propiedades las cuales contribuyen a la osteoconducción además de que se espera que sean gelificantes, biocompatibles, biodegradables, no tóxicas, que tengan buena adhesión y rápida hemostasia. Las técnicas para la elaboración de esponjas son diversas, entre las que destaca la metodología que usa microondas la cual consiste en colocar la mezcla homogénea en un recipiente apto para el microondas, calentarla durante un tiempo y potencia determinada hasta obtener la textura deseada. Las esponjas son prometedoras para el tratamiento en defectos óseos con una notable accesibilidad y fácil procesamiento por ende presentan un costo relativamente bajo en comparación con productos comerciales en el mercado como esponjas para la hemostasia.

La caracterización de estas esponjas puede evidenciar su potencial utilidad en la regeneración ósea, entre las pruebas de caracterización se encuentran el análisis morfológico superficial mediante Microscopia Electrónica de Barrido (SEM), pruebas fisicoquímicas como el análisis estructural mediante Espectroscopia infrarroja por

transformada de Fourier (FTIR), la calorimetría diferencial de barrido (DSC), el análisis termogravimétrico, análisis de termogravimetría derivada (TGA Y DTG) y transmisión de vapor de agua (WTVR) y pruebas mecánicas como la resistencia a la compresión.

El propósito de la presente investigación es la elaboración a bajo costo de esponjas de AL con QS mediante el uso de microondas, que tengan propiedades morfológicas fisicoquímicas y mecánicas apropiadas para que contribuyan a la regeneración ósea en el área médica y odontológica.

2. PALABRAS CLAVE

Esponjas, quitosano, alginato de sodio, regeneración ósea guiada, microondas, biocompósito.

3. ANTECEDENTES

3.1 ANTECEDENTES GENERALES

3.1.1 Regeneración ósea guiada.

La regeneración ósea guiada (ROG) es un procedimiento quirúrgico que busca brindar soluciones ante la insuficiencia de hueso, el cual requiere de tres fases: la fase inflamatoria, la etapa de reparación y finalmente la etapa de remodelación ósea [1]. En el área clínica estos son elementos clave para la regeneración ósea ideal [2], los cuales consisten en un mensaje osteoinductivo que estimula a la formación de hueso nuevo y un soporte sólido con técnicas que transmitan el mensaje para generar el hueso nuevo mediante la activación de las células en respuesta a estos estímulos [3].

Existen diferentes medidas que se pueden tomar para minimizar o prevenir la resorción ósea [2]. Por esto se han desarrollado algunos biocompósitos para la ROG, como son los andamios [3], para el aumento del volumen óseo [2]. La ROG consiste en un procedimiento quirúrgico en el que se utilizan biomateriales como membranas, esponjas, hidrogeles [3] para ayudar a la migración de células osteogénicas [2]. Para conseguir la regeneración exitosa en un defecto óseo, los andamios deben cumplir con diversas características como lo son la porosidad, biocompatibilidad, osteoinductividad y propiedades mecánicas [3], capaces de ayudar a la proliferación de dichas células [4]. La ROG exitosa debe de cumplir con cuatro principios: exclusión del epitelio y tejido conectivo, mantenimiento del espacio, estabilidad del coágulo de fibrina y cierre primario de la herida [4].

Se han usado esponjas de polímeros naturales como es la gelatina, AL, QS y polímeros sintéticos como ácido poliláctico (PLA) y policaprolactona (PCL) para la regeneración ósea [3] (figura 1).

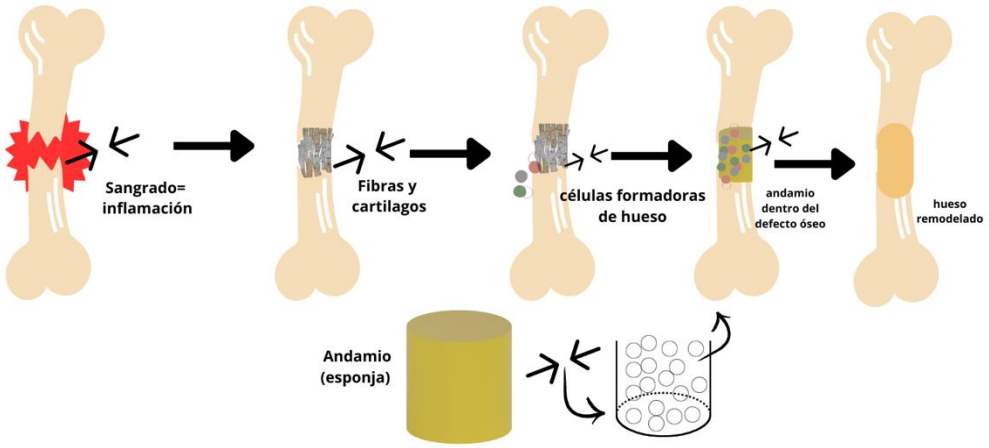

Figura 1. Diagrama de formación de hueso y la utilización del andamio poroso (esponja) como coadyuvante para la regeneración ósea. Creación propia.

3.1.2 Biocompósito

Un biocompósito (biocompuesto) es un material conformado por dos o más materiales que se combinan para crear un nuevo material con un rendimiento mejorado[5]. Este material incluye propiedades y características que sean idóneas para poder desempeñar la función deseada[6]. Para el desarrollo de este se cumplen etapas como la investigación y selección de los materiales, identificación de concentraciones y proporciones adecuadas, evaluación de características y propiedades mecánicas, térmicas, químicas, biocompatibilidad y viabilidad [5] entre otras, con el fin de obtener un biocompósito apropiado para una aplicación específica como la ingeniería de tejidos [6]. Existen biocompósitos que funcionan como andamios en la ROG entre los que se encuentran, hidrogeles, espumas, criogeles, esponjas, entre otros [6].

3.1.3 Andamios

Un andamio es un biomaterial que funciona temporalmente como soporte y estructura tanto para proporcionar estabilidad mecánica como para impulsar las células a tener una adhesión y proliferación celular adecuadas en la ingeniería tisular [7]. Dichos andamios deben presentar características tales como: biodegradabilidad, biocompatibilidad, resistencia mecánica y porosidad para permitir el transporte de nutrientes [7]. Los materiales que se utilizan para realizar andamios deben de contar con las propiedades y características adecuadas para poder cumplir con las funciones anteriormente descritas [8]. Algunos de los beneficios de los andamios es que sirven como un depósito rico en factores de crecimiento celular, como proliferación y

diferenciación celular, promueven así que se produzcan las condiciones de desarrollo adecuadas e intercambien los nutrientes celulares[7]. Por lo anterior las esponjas se utilizan como andamios en la ingeniería tisular y ROG.

3.1.4 Esponjas como andamios para la regeneración ósea.

Las esponjas están hechas de polímeros naturales o sintéticos que se caracterizan por tener una estructura tridimensional de poros interconectados [7]. Las esponjas son cada vez más utilizadas en el ámbito de la biotecnología, particularmente como estructuras para el transporte de fármacos y matrices para el desarrollo celular en la industria de la ingeniería de tejidos [7] y en la ROG.

Se ha estudiado el uso de esponjas fabricadas a partir de polisacáridos como el QS, debido a sus propiedades mecánicas superiores y capacidad para la absorción de sustancias[9]. También, se ha investigado el uso de esponjas hechas de QS con AL en el contexto de la cicatrización ósea y como apósito para heridas en el periodonto, en el cual se pueden aplicar fármacos [7,10].

Actualmente las esponjas que se han usado para la regeneración ósea son de biopolímeros naturales como QS[2], carboximetilquitosano[2], almidón [2], AL[3], gelatina [2] y carboximetilcelulosa [2] principalmente.

3.1.5 Polímeros para la elaboración de andamios como las esponjas.

Los polímeros son materiales formados por monómeros unidos entre sí, para formar cadenas más largas. Algunos de ellos pueden ser utilizados en la medicina regenerativa e ingeniería de tejidos[2] (Figura 2). Los polímeros se dividen en naturales y sintéticos, biodegradables y no biodegradables[11]. Las características óptimas para desempeñar la función deseable que se requiere son biodegradabilidad, bioactividad y ausencia de toxicidad[2]. Algunos de los polímeros naturales son: el QS, el AL, colágeno, fibrina, gelatina, entre otros. Los polímeros sintéticos frecuentemente usados son: PCL, PLA, polietilenglicol, entre otros [12,13].

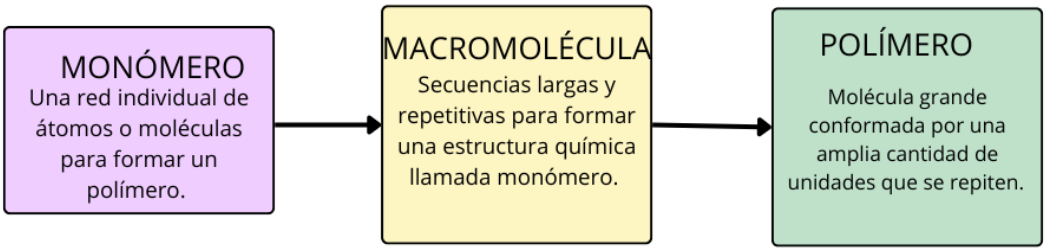

Figura 2. Diferencia entre polímero, monómero y macromolécula. Elaboración propia.

3.1.6 Quitosano

El QS es un biopolímero natural derivado de la quitina, proveniente de los esqueletos de crustáceos e insectos[14]. El peso molecular puede variar, de manera que, sus características se modifican; existe QS de bajo, medio y alto peso molecular, dependiendo del proceso de origen y de su preparación [14]. El peso molecular bajo tiene un intervalo de 100 a 300 kDa, un peso medio es arriba de 300 kDa pero menor de 900 kDa y un peso molecular alto es arriba de 900 kDa [8]. Es insoluble en agua, pero es soluble cuando se agita en soluciones ácidas [14] (figura 3).

Algunas de las propiedades del QS son su biodegradabilidad, biocompatibilidad, su solubilidad, baja toxicidad, buen conductor de células de osteoblastos y hemostático[8]. Otra propiedad importante del QS es la actividad antimicrobiana, se conoce que funge un papel como bactericida contra bacterias *gram* negativas y *gram* positivas [15]. El grado de desacetilación en el QS es muy importante ya que dependiendo del porcentaje de este se puede garantizar la degradación más lenta, lo que favorece a los andamios para ayudar a la cicatrización, la osteoconductividad y la adhesión celular[10]. Cuenta con propiedad osteointegradora y aumenta la expresión de marcadores osteogénicos para la regeneración ósea adecuada [14].

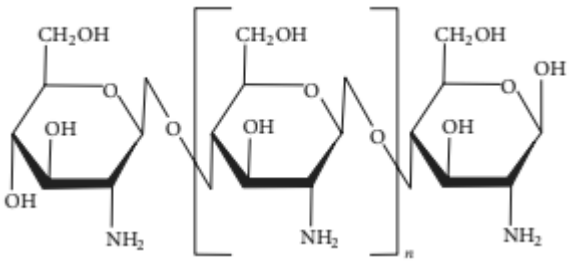

Figura 3. Estructura de QS por Rodríguez-Vázquez et al., [14] 2015.

3.1.7 Alginato

El AL es un biopolímero proveniente de elementos naturales como son las algas pardas[16]. Debido a sus propiedades es utilizado en la industria de alimentos, farmacéutica e ingeniería de tejidos [2] (figura 4). Algunas de sus características más importantes para el área de medicina son: biodegradabilidad, biocompatibilidad, tiene baja toxicidad, presenta una magnifica propiedad gelificante y espesante, tiene bajo costo de producción por lo cual se encuentra en el mercado con accesibilidad y buena disponibilidad[16]. De igual manera cuenta con propiedades absorbentes y hemostáticas que se pueden utilizar en andamios, esponjas y apósitos para heridas con sangrado medio y alto[4]. Cabe considerar por otra parte que el alginato es utilizado como un buen vehículo para la encapsulación de fármacos[16].

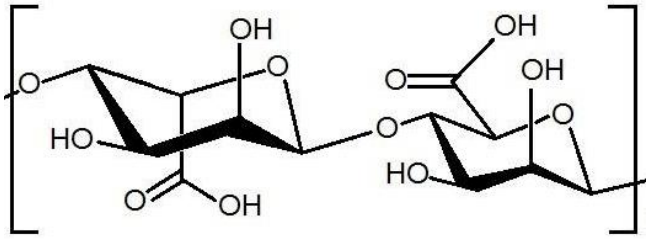

Figura 4. Estructura del AL por Zhang et at., [16] 2021.

3.1.8 Pruebas de caracterización de esponjas.

Las pruebas de caracterización de las esponjas se dividen en morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas.

El análisis morfológico mediante microscopía electrónica de barrido permite el estudio de la superficie porosa y la medición del diámetro de los poros presentes en estas esponjas a nivel superficial [12]. La estructura porosa de los andamios es fundamental en la ingeniería de tejidos, por lo que la alta porosidad permite la distribución e interconexión homogénea de células, lo que favorece la difusión de nutrientes y oxígeno[17]. Una porosidad de más del 80% es una característica clave para un andamio ideal, de la misma manera es posible mejorar las propiedades mecánicas de los andamios porosos de QS con el uso de otros biopolímeros[9]. El tamaño del poro es un factor importante en el diseño de los andamios y estructuras de soporte, ya que influye en la regeneración ósea y nutrición del tejido, una estructura con tamaño de

poro ≤100 μm a 200 μm favorece la angiogénesis y migración celular [12].

Otras pruebas de caracterización son las fisicoquímicas[18]:

a) *la Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier* es la interacción de la radiación infrarroja con las moléculas de una muestra, lo que proporciona información sobre su composición química.

b) *La calorimetría diferencial de barrido* la cual consiste en la medición del cambio asociado con la desnaturalización o cambio de fase bajo el efecto térmico de los materiales.

c) *El análisis termogravimétrico* estudia el cambio de pérdida de masa que ocurre en los materiales de acuerdo al aumento de temperatura con una velocidad y calentamiento constante en función del tiempo.

d) *El tiempo de biodegradación* mide el porcentaje de reducción de peso neto de la esponja en función del tiempo.

e*) La tasa de transmisión de vapor de agua* mide la cantidad de vapor de agua que pasa a través de la esponja elaborada.

Finalmente, también se pueden realizar pruebas mecánicas como lo es la resistencia a la compresión, es decir, la medición del comportamiento de los materiales ante una fuerza externa [16].

3.1.9 Uso de microondas para la elaboración de esponjas

La tecnología del microondas se contempla como un generador de calor eficaz, rápido y uniforme [19]. La disposición de calor emitido por el microondas para calentar los materiales muestra una respuesta conveniente a nivel molecular y así presentar una reacción de calentamiento uniforme ante el material como lo son los polímeros[20], se utiliza en el laboratorio ya que proporciona un nuevo estímulo para que exista una reacción en las cadenas y entrecruce los polímeros[19]. Como resultado de sus características de calentamiento uniforme y a alta velocidad, las microondas son una tecnología prometedora que puede emplearse para aumentar la elaboración de andamios en la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa[20] (figura 5), como lo demuestran los resultados obtenidos por Zhang et al.,[19] quienes utilizaron microondas, para obtener esponjas con estructura porosa homogénea, las pruebas

mecánicas demostraron que tienen un comportamiento en el proceso de recuperación de forma al 100%, por lo tanto, concluyeron que este método es eficaz con ventajas en la investigación científica en el campo de materiales como los polímeros.

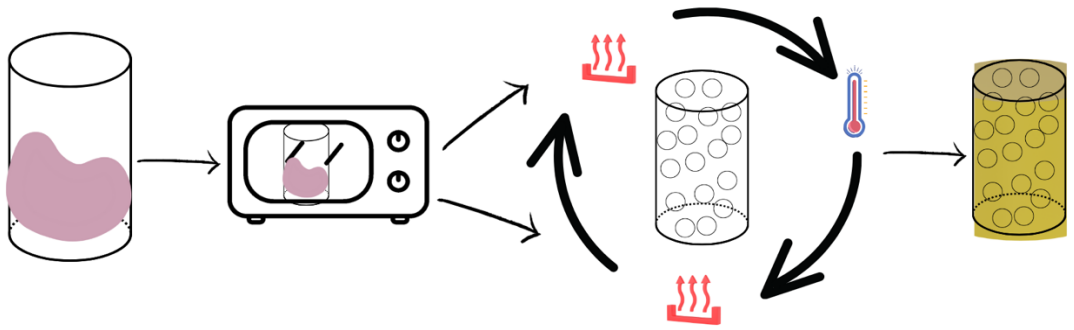

Figura 5. Uso de microondas y la relación de calor uniforme para ayudar a la elaboración de andamios porosos como esponjas. Creación propia.

3.2 ANTECEDENTES ESPECIFÍCOS

Zhang *et al*., [19] en 2015 investigaron el calentamiento por microondas para formar espumas de PCL reticulada biocompatibles y biodegradables con memoria de forma. Obtuvieron espumas con una estructura de poros homogénea y excelente comportamiento de memoria de forma. A medida que aumentaba la velocidad de compresión estática aumentaba la resistencia de la espuma. Tardaron sólo 98 s en recuperar su forma original. Las espumas de PCL fabricadas en el microondas ofrecen una oportunidad para aplicaciones potenciales en materiales y estructuras inteligentes, especialmente en los tratamientos biomédicos.

Por otra parte, Deng *et al*., [21] en 2022 fabricaron esponjas de QS de amonio cuaternario, almidón carboximetilado y AL, mediante la técnica de liofilización. Realizaron estudios *in vitro*, para observar la capacidad hemostática y antibacteriana. Como resultado obtuvieron esponjas con una estructura porosa adecuada, con una alta tasa de absorción de fluidos y su transmisión de vapor de agua (WTVR) adecuada, lo cual acelera el proceso de hemostasia. Además de citocompatibilidad favorable y facilitar la osteogénesis, por lo que muestran un gran potencial para el tratamiento de traumatismos después de la extracción dental.

En el mismo sentido Quan *et al*., [22] en 2022 crearon esponjas compuestas acoplando AL y QS con polisacáridos de *Sargassum pallidum*, por medio del método de liofilización. El estudio fue *in vitro* con el objetivo de promover la curación de heridas. Como resultado obtuvieron una distribución homogénea de los componentes y una estructura porosa uniforme de las esponjas. Las esponjas que realizaron al 2,5% de AL, QS y con esta alga facilitaron el cierre de la herida y promovieron la angiogénesis, mientras que las esponjas que realizaron al 1% de los mismos materiales, presentaron una pobre angiogénesis. Por lo que las esponjas hechas al 2,5% de AL y QS con *Sargassum pallidum*, presentaron propiedades como: porosidad uniforme, alta absorción de agua, habilidad hemostática y capacidad antimicrobiana y una regeneración epitelial más completa.

También Yan *et al*.,[10] en 2022 crearon esponjas a través de liofilización con alginato de calcio y QS, cargadas con metronidazol para tener propiedades antibacterianas hemostáticas y osteogénica. Este estudio se realizó *in vitro* el cual arrojó como resultados que las esponjas en conjunto presentaron buena porosidad, buena relación de hinchamiento, excelente rendimiento compresivo y hemostático, además de suprimir significativamente el crecimiento de *S. aureus* y *E.coli*, por lo tanto, las esponjas que se crearon en conjunto con todos los biomateriales más metronidazol proporcionan mejora en sus propiedades. Por último, las esponjas presentaron excelentes propiedades osteogénicas y de citocompatibilidad por lo cual mostraron gran potencial para la regeneración ósea y terapia para la alveolitis seca después de una extracción dental.

Jiang *et al*.,[23] en 2023 crearon esponjas de AL y QS, compuestas de nanopartículas de plata y curcumina mediante la técnica de liofilización, con el objetivo de presentar un agente antimicrobiano. Este estudio se realizó *in vitro*, dieron como resultado que presentaron buena capacidad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* y S. *aureus*, otro elemento que obtuvieron fue la buena capacidad de hinchamiento que ayuda a la liberación de fármacos, promueve la cicatrización y promueve la difusión de nutrientes. Además, los experimentos *in vivo* demostraron que la esponja compuesta promueve la regeneración epitelial y la deposición de colágeno en heridas, así como una buena capacidad de angiogénesis y reducción de la inflamación.

Por último, Song *et al*.,[18] en 2023 desarrollaron esponjas compuestas hemostáticas rápidas mediante caolín, carboximetilquitosano y AL a través de una combinación de métodos que incluyeron la reticulación iónica, acción polielectrolítica y liofilización. Se realizaron estudios *in vitro* y *ex vivo*; demostraron que las esponjas compuestas tenían buena estructura porosa y propiedades de absorción de agua, excelentes propiedades mecánicas, biodegradabilidad, biocompatibilidad y una hemostasia favorecedora por lo que son esponjas prometedoras para la hemostasia rápida.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

En la actualidad, los problemas de defectos óseos dentales son una de las principales preocupaciones en la práctica estomatológica. Una técnica muy conocida para el aumento de hueso es la regeneración ósea guiada (ROG). Sin embargo, no todos los pacientes pueden someterse a este procedimiento, debido a diferentes factores, como lo es su alto costo, baja disponibilidad de suministros y la poca accesibilidad a los materiales necesarios. Así como, el tamaño y la gravedad del defecto puede ser un factor determinante.

En el mercado existen diferentes biocompósitos que ayudan a la ROG, muchos de estos costosos por lo que, disminuye su factibilidad. De modo que la medicina regenerativa plantea el uso de andamios hechos de cerámicas y polímeros, sin embargo, los biomateriales cerámicos son muy frágiles y presentan baja resistencia a la abrasión. Por otra parte, los polímeros no presentan todas las propiedades ideales para una ROG, como adecuada rigidez y estabilidad, entre otros, por lo que se ha planteado el uso de dos o más polímeros en conjunto para mejorar estas características.

Por último, existen diferentes técnicas para desarrollar andamios para la ingeniería tisular como esponjas, membranas, hidrogeles, entre otros. Una técnica es la liofilización, esta técnica presenta desventajas notables como la baja estabilidad mecánica y el uso de disolventes tóxicos, otra técnica es el electrohilado la cual forma pequeños poros y no permite crear estructuras de andamios más grandes, finalmente la impresión tridimensional es otro método que se apoya en otras técnicas para mejorar las propiedades y características de los andamios. Debido a lo anterior se han empezado a estudiar otras metodologías de fabricación de andamios novedosos compuestos por diversos biopolímeros que cuenten con propiedades prometedoras para llevar a cabo una ROG exitosa que favorezcan a la estructura de soporte y los procesos de osteogénesis, osteoconducción y osteointegración.

Por lo que considerando lo anterior, se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Las propiedades morfológicas y fisicoquímicas de las esponjas de AL y QS elaboradas mediante el uso de microondas son favorables para la ROG?

5. JUSTIFICACIÓN

La finalidad de un andamio es actuar como una estructura de soporte. Las técnicas para la ROG tienen desventajas como la dificultad para adaptarse a las necesidades específicas del paciente y un costo elevado. Las principales características para el diseño del andamio son la bioactividad, la biocompatibilidad y la biodegradabilidad, que son actividades relevantes para la regeneración ósea. Otro factor importante es garantizar que los poros presentes sean del tamaño adecuado para promover el intercambio de nutrientes e infiltración de células para la osteointegración.

La propuesta de la presente investigación es crear un biocompósito en forma de esponja compuesta por dos polímeros (AL y QS) para obtener mejores propiedades. Se ha comprobado en estudios recientes que el uso del QS es favorable en la ingeniería de tejidos, debido a su alta capacidad para la regeneración ósea, no tóxico, biodegradable, capacidad de acelerar la curación de heridas y estimulación del sistema inmunológico. Del mismo modo, el AL presenta características similares y sus amplias aplicaciones para el vendaje de heridas, regeneración de piel y de tejido óseo, por lo que se espera que su combinación con el QS sea muy favorecedora para la ROG.

Es importante enfatizar que las esponjas se han empezado a utilizar con mayor frecuencia en la ingeniería de tejidos, ya que pueden adaptarse al tamaño del defecto óseo del paciente y esto ayuda a que mejore la adhesión celular. Por esta razón, una de las ventajas de estos biocompósitos es que fungen como soporte, a su vez la mayor parte de su composición son poros, lo cual favorece la proliferación, junto con el suministro de sangre, intercambio de nutrientes para el crecimiento y mantenimiento de tejidos. Cabe mencionar que lo más innovador es el uso de microondas ya que por este medio se podrán realizar las esponjas, será fácil procesarlas y más pacientes podrán accedera ellas porque su costo no será elevado a comparación de otros andamios.

6. HIPÓTESIS

6.1 HIPÓTESIS CIENTIFICA (Hi)

Las esponjas de alginato y quitosano elaboradas mediante el uso de microondas presentan propiedades morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas favorables para la regeneración ósea.

6.2 HIPÓTESIS NULA (HN)

Las esponjas de alginato y quitosano elaboradas mediante el uso de microondas no presentan propiedades morfológicas, fisicoquímicas y mecánicas favorables para la regeneración ósea.

7. OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GENERAL

Elaborar por medio de microondas y caracterizar esponjas de alginato y quitosano para la regeneración ósea.

7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adaptar la metodología de fabricación de esponjas mediante microondas de acuerdo a las necesidades de la presente investigación.

- Elaborar esponjas mediante la metodología de microondas con la siguiente composición: alginato, quitosano y alginato/quitosano.

- Describir la morfología superficial mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) de los tres grupos de estudio.

- Realizar el análisis de la estructura química mediante Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) de los tres grupos de estudio.

- Medir la estabilidad térmica (DSC) de las esponjas de los tres grupos de estudio.
- Describir los cambios que sufren las esponjas de los 3 grupos de estudio cuando son sometidas a altas temperaturas (TGA/DTG).

- Cuantificar la porosidad, la absorción de agua, la transmisión de vapor de agua y la biodegradación de los tres grupos de estudio.

- Medir la resistencia a la compresión de las esponjas de los 3 grupos de estudio.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

De acuerdo con la intervención del investigador: experimental.
De acuerdo con el número de las mediciones: longitudinal (tasa de transmisión de vapor de agua, capacidad de absorción (hinchamiento) y degradación).
Transversal para las variables FTIR, microscopia SEM, porosidad, análisis térmicos como: DSC, TGA-DTG y propiedades mecánicas: compresión.
De acuerdo con la interpretación del fenómeno: analítico.

8.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

Se desarrollaron 3 esponjas de cada grupo (tabla 1) y se realizaron las pruebas de caracterización descritas en el apartado de procedimientos.

Tabla 1. Grupos de estudio con sus abreviaturas correspondientes

Grupo	Clave
Esponjas de alginato de sodio	AL
Esponjas de quitosano	QS
Esponjas de alginato de sodio y quitosano	AL y QS

8.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

8.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Esponjas que presenten una mezcla homogénea.

8.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Esponjas que no presenten una mezcla homogénea.

8.3.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Esponjas que se rompan durante el proceso.

Esponjas que se contaminen con agentes microbiológicos.

8.4 VARIABLES

Tabla 2.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable (categoría)	Tipo de variable	Unidad escala
Esponja de quitosano con alginato de sodio	Biocompósito que sirve de estructura de soporte de los tejidos blandos y óseos en la ingeniería tisular.	Biocompósito constituido de Al (2%) y QS (3%).	Independiente	Cualitativa	Sin unidad
Morfología superficial (SEM)	Apariencia de la microestructura y la homogeneidad de un material.	Observación del aspecto de la microestructura, homogeneidad y porosidad de las esponjas de AL y QS.	Dependiente	Cualitativa	Sin unidad
Estructura química (FTIR)	Técnica utilizada para Obtener un espectro infrarrojo de absorción o emisión de un sólido, líquido o gas. Los patrones en los espectros ayudan a identificar estructuras específicas como grupos funcionales y enlaces químicos.	Identificación de los grupos funcionales y orientación molecular de la esponja de Al y QS, mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier	Dependiente	Cuantitativa	cm^{-1}
Estabilidad térmica (DSC)	Propiedades térmicas de un material que permite conocer su comportamiento ante procesos térmicos.	Medición del cambio de calor asociado con la desnaturalización térmica de las esponjas de AL y QS	Dependiente	Cuantitativa	Porcentaje
Degradación térmica (TGA)	Cambio de las propiedades físicas de los	Analizar la pérdida de la masa de la esponja de AL y QS mientras se somete	Dependiente	Cuantitativa	ºC

	compuestos químicos y materiales en función de la temperatura o el tiempo.	a un proceso de calentamiento.			
Porosidad	Densidad del material y la existencia de espacios vacíos entre ellos.	Es la ganancia de peso de la esponja de AL y QS, después de la inmersión en agua.	Dependiente	Cuantitativa	Porcentaje
Capacidad de absorción (Hinchamiento)	Ganancia de agua de un material después de su inmersión en un ambiente acuoso.	Medición de peso neto de la esponja AL y QS después de la inmersión en agua.	Dependiente	Cuantitativa	Porcentaje
Biodegradación	Reducción de la integridad de la estructura del material.	La reducción de peso neto de la esponja de AL y QS cuando se sumerge en solución PBS.	Dependiente	Cuantitativa	Porcentaje
Tasa de transmisión de vapor de agua	Cantidad de vapor de agua que pasa a través de un material.	Medición de la cantidad de vapor de agua que pasa a través de la esponja de AL y QS.	Dependiente	Cuantitativa	$g/m^2/día$
Prueba mecánica: resistencia a la compresión	Comportamiento de los materiales ante una fuerza externa.	Medición de la fuerza de MPa a la que es sometida la esponja de AL y QS.	Dependiente	Cuantitativa	MPa

8.5 CONCORDANCIA Y FIABILIDAD

Los reactivos que se utilizaron fueron de grado analítico y medidos con instrumentos de laboratorio precisos y calibrados. Los equipos que se utilizaron fueron calibrados.

El tesista adquirió la capacidad de manejar de todas las técnicas para poder medir y realizar las esponjas, en cuestión de las pruebas de SEM Y FTIR se realizaron por el investigador cargo del equipo.

8.6 UBICACIÓN ESPACIO – TEMPORAL

Laboratorio multidisciplinario, Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Centro Avanzado de pruebas analíticas no destructivas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Laboratorio de materiales y biomateriales dentales, Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Laboratorio de investigación en Nanotecnología, Universidad de las Américas Puebla

8.7 TÉCNICA DE ELABORACIÓN DE ESPONJAS

8.7.2 Reactivos

Se utilizó alginato de sodio de la marca Sigma-Aldrich CAS: 9005-38-3 y quitosano de la marca Sigma-Aldrich de alto peso molecular CAS:9012-76-4l. Se utilizo ácido acético de la marca Sigma-Aldrich. Etanol Absoluto 46.07 g/mol, marca Omnichem. Agua bidestilada. Solución salina tamponada con fosfato (PBS), HCl concentrado a 91mL marca Meyer, NaOH (hidróxido de sodio) marca Meyer, NaCl (cloruro de sodio) marca Meyer, KCl (cloruro de potasio), NaH_2PO_3 (fosfato monosódico) marca Indeq, KH_2PO_4 (fosfato monopotásico) marca Indeq.

Los equipos utilizados fueron: parrilla de agitación (Ohaus), balanza analítica (Ohaus), Espectrofotómetro infrarrojo por Transformada de Fourier (ATR-FTIR) de la marca Bruker, Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) de la marca JEOL, máquina de pruebas universales (INSTRON 4465). Estufa de cultivo (riossa).

8.7.3 Fabricación de esponja de AL

Se preparó una mezcla de AL en agua bidestilada. Se mezcló con una espátula hasta crear una masa homogénea. La masa que se obtuvo se llevó a un molde de silicón para hornear. Después se llevó el molde al microondas y se colocó en el centro de este. Se dejó con una potencia de 50W a 60W durante 1 a 2 minutos, de acuerdo con la técnica de Zhang *et, al*. 2015 [(19)] (figura 6).

8.7.4 Fabricación de esponja de QS

Se mezcló QS previamente pesado y se mezcló con una espátula de metal hasta obtener una masa homogénea. Finalmente, la masa se llevó a un molde de silicón para hornear y se colocó dentro del microondas con una potencia de 50W a 60W durante 1 a 2 minutos.

8.7.5 Fabricación de esponja de AL/QS

Para poder llevar a cabo la unión de ambos biopolímeros, tomando en cuenta los solventes en los cuales se disuelven, se realizó las mezclas por separado. Una vez listas ambas masas, se mezclaron hasta obtener una masa homogénea y se llevó en un molde de silicón al horno de microondas con una potencia de 50W a 60w durante 1 a 2 minutos.

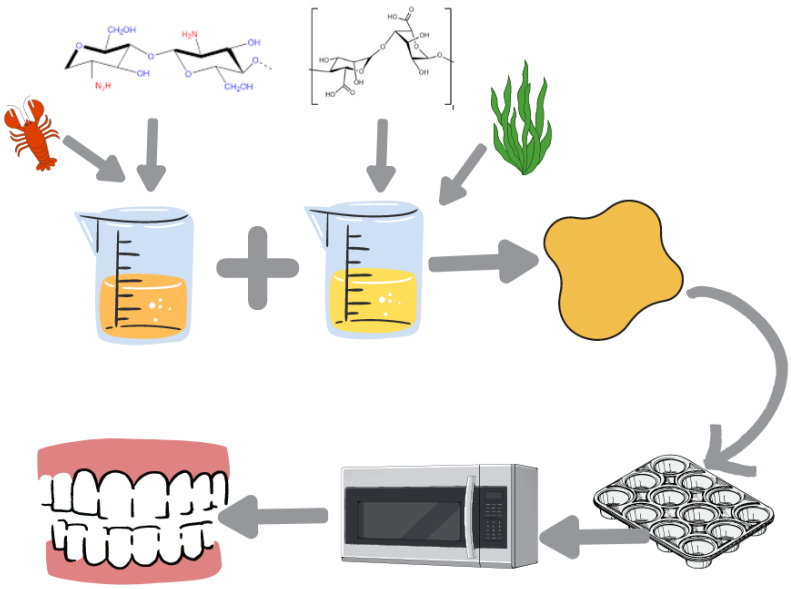

Figura 6. Metodología gráfica de la elaboración de esponjas de alginato y quitosano. Elaboración propia.

8.8 PRUEBAS DE CARACTERIZACIÓN

8.8.1 Análisis morfológico mediante Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Se utilizó el microscopio electrónico de barrido (por sus siglas en inglés SEM) de

la marca Tescan Maia, en el cual se examinó la morfología porosa, microestructura y homogeneidad de las esponjas. Se obtuvo tres muestras de diferentes zonas de las esponjas, las cuales se examinaron [11].

8.8.2 Análisis estructural mediante Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier FTIR

Se determinó la estructura química de las esponjas de AL y QS mediante la Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier marca BRUKER, modelo VERTEX 70, en un rango de 14000-500 cm-1 a temperatura ambiente [(10)] (figura 7).

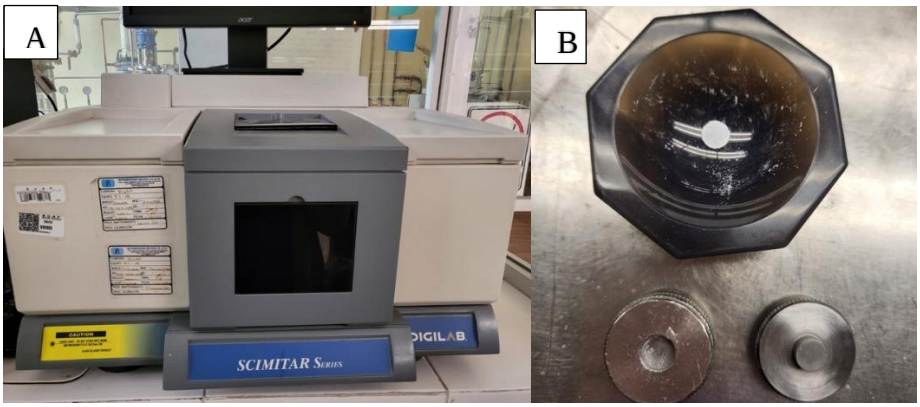

Figura 7. A) Equipo FTIR- en el cual se analizó la estructura elemental de las esponjas de alginato. B) muestra del material a analizar. Fuente propia.

8.8.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los datos calorimétricos se midieron mediante un calorímetro diferencial de barrido, DSC Q2000 previamente calibrado. Las muestras de 1.65 mg se analizaron por medio del método MDSC-heat only entre 0 y 300 a una velocidad de 1°C por minuto. Todos los experimentos se realizaron bajo una atmósfera de nitrógeno [(24)].

8.8.4 Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis de termogravimetría y termogravimetría derivada se obtuvo mediante un instrumento Universal V 4,5 ª TA instrumentals, cada esponja fue cortada y pesada. Las muestras fueron de 6.75 mg en promedio. El experimento fue corrido en una rampa de temperatura de 0º a 542.55 a una velocidad de 1°C por minuto [(24)].

8.8.5 Porosidad

Se realizó el siguiente método para determinar la porosidad de las esponjas: las esponjas se midieron con un vernier, las medidas que se tomaron fue el largo, ancho y altura

ya que tenían una forma de prisma rectangular, luego se sometieron a secado al vacío durante 30 a 35 minutos. Después se pesó con precisión cada una de las esponjas de los grupos AL, QS y AL/QS. También se midió 15ml etanol absoluto en una probeta, se introdujo la esponja por triplicado y separado en viales con los 15mL de etanol absoluto previamente medidos y se dejó durante 24 horas sellados para evitar fugas (figura 8). Por último, se registró el peso de las muestras de esponja después de la inmersión en etanol. La porosidad P se calculó con la siguiente ecuación:

$$P= \frac{(w_2-w_1)}{p_V} \times 100\%$$

En las cuales W1 y W2 fueron el peso de las muestras antes y después de la inmersión en etanol, respectivamente, V indicó el volumen de la muestra antes de la inmersión en etanol, *p* indicó la densidad del etanol [23].

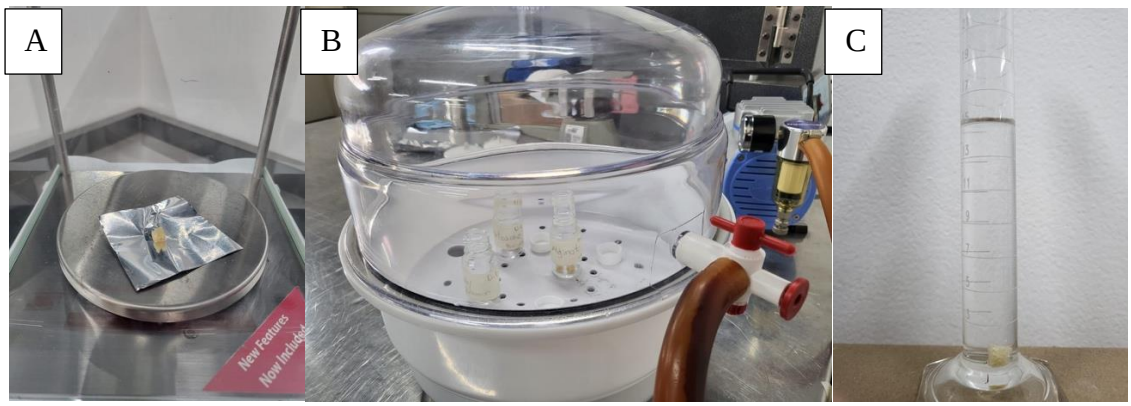

Figura 8. Prueba de porosidad. A) Registro de peso inicial de la esponja de alginato. B) esponjas sometidas a secado al vacío. C) medición del etanol absoluto y esponja sumergida.

8.8.6 Capacidad de absorción de agua

Se probó la capacidad de absorción de agua de todas las muestras por triplicado. El método consistió en pesar con precisión las esponjas secas, y estas se registraron como M0, después las esponjas se sumergieron en agua a 37 ºC durante 30 minutos. Posteriormente las muestras húmedas se colocaron en papel filtro y se pesaron registrándolas como M1 [23] (figura 9). La capacidad de absorción de agua de las esponjas se calculó con la siguiente fórmula:

$$Absorción\ de\ agua\ (\%) = \frac{(M_1-M_0)}{M_0} \times 100\%$$

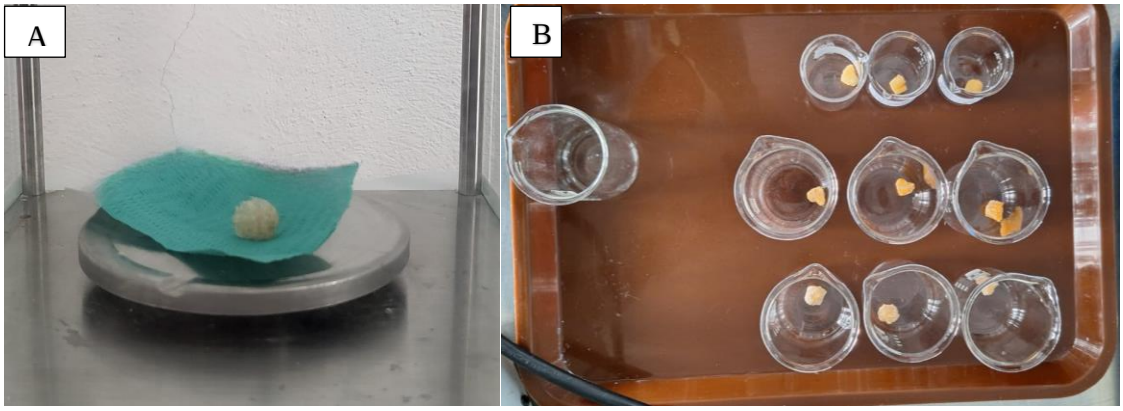

Figura 9. Prueba de capacidad de absorción. A) Esponja de alginato registrada como Mo. B) Muestras de cada grupo de esponjas por triplicado.

8.8.7 Biodegradación

La evaluación de la degradación *in vitro* de las esponjas se basó en estudios previos con algunos ajustes. Se realizó a 37ºC utilizando viales con 10ml de PBS (pH 7,4) todo por triplicado [25].

Las muestras de las esponjas se pesaron (m^0) y se registraron con un peso aproximado de 0.300 g, de igual manera se pesó el vial y se registró como mvial.

Las muestras se colocaron en el vial con 10ml de PBS y se sellaron con un tapón roscado [26]. Los viales se acomodaron como se observa en la Figura 10, sobre una parrilla de agitación a 37ºC revisando constantemente la temperatura. Las esponjas se dejaron durante 58 días, en los cuales se realizó un cambio de PBS las primeras 24 horas, después a los 3 días, 7 días, 10 días y cada 8 días hasta llegar a los 58 días, se midió el peso después de cada cambio de PBS [25]. Según la norma internacional ISO 10993-13: 2010 [27]. La masa residual de las muestras (% de masa) se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\%\text{masa} = \frac{m_{2-m_{vial}}}{m_0}$$

Donde m^0 y m^{vial} son la masa inicial de la muestra y del vial, respectivamente,y m^2 es la masa del conjunto muestra-vial seco vacío después de la degradación.

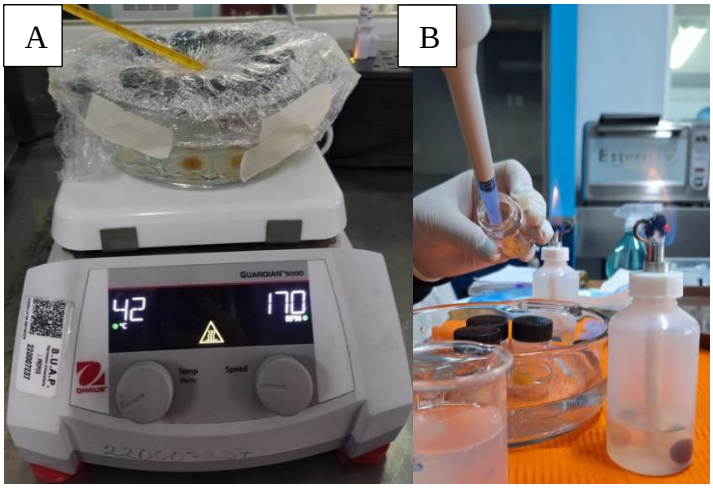

Figura 10. Prueba de biodegradación. A) viales con las esponjas sumergidas en PBS, a una temperatura constante de 37 ºC.B) colocación de PBS con las esponjas dentro del vial.

8.8.8 Tasa de transmisión de vapor de agua WVTR

Las esponjas se cortaron en segmentos circulares de 1.7mm de diámetro, y se añadieron 10 ml de solución salina fisiológica al 0.9% a un vial de 15ml, se colocó una muestra de la esponja en la boca del vial sin tocar la solución fisiológica y se llevó a una estufa de incubación a 37ºC durante 24horas. El vial con 10ml de solución salina fisiológica al 0.9% se colocó directamente en la estufa a 37ºC durante 24 horas, este fue el grupo blanco [22] (Figura 11). Esto se llevó a cabo por triplicado, mediante la siguiente ecuación:

$$\text{WVTR} = \frac{Wi - Wt}{S}\ \text{g/m}^2/\text{día}$$

Donde S fue el área de la boca de botella m^2, Wi indicó el peso de la botella antes de colocarlo en la estufa (g) y Wt indicó el peso de la botella después de 24h (g).

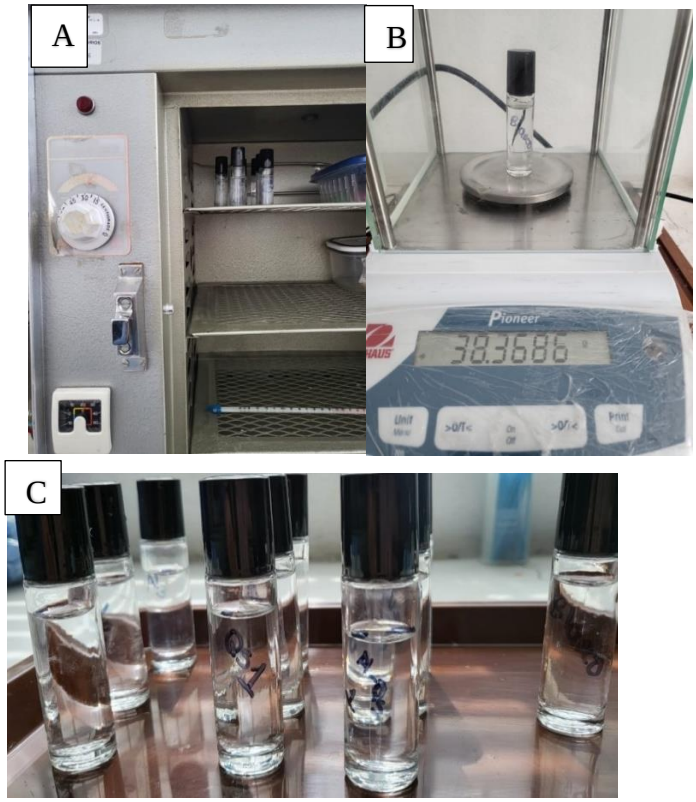

Figura 11. Prueba de Tasa de transmisión de vapor de agua. A) Viales con cada grupo de esponja por triplicado dentro de la estufa de incubación a 37 ºC. B) Vial de 15ml con 10ml de agua fisiológica como grupo en blanco, peso antes de colocarse en la estufa durante 24hrs. C) Grupos de esponjas colocados en la boca del vial sin tener contacto con el agua.

8.8.9 Propiedades mecánicas: compresión

Las propiedades mecánicas de las muestras de esponja se realizaron en una máquina de ensayo universal electrónica controlada por microordenador (Instron). Las esponjas se colocaron en forma cilíndrica de aproximadamente 11.66 de diámetro mm y 9.57 mm de altura. Las pruebas se realizaron por triplicado. Cada esponja se comprimió por separado y en seco y humedecida en saliva (Sa) previamente colocada a 37 ºC en la estufa de incubación durante 15 minutos [10,18]. Para los ensayos de compresión, la esponja se comprimió a una velocidad de 5mm/min hasta un 90% de su altura original, y se registró la relación entre la tensión (MPa) y la deformación (%) [23]. Se registró una medida de diámetro y altura con un vernier antes y después de ser comprimida, también se registró 5 horas y 24 horas después (Figura 12).

Figura 12. Grupos de esponjas antes de ser sometidas a las pruebas de compresión en seco y con SA, en la máquina Universal Instron.

9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los experimentos se realizaron al menos 3 veces ($n \geq 3$) de forma independiente y los valores se expresaron como ± error estándar. Los datos fueron vaciados en una tabla de Excel y se llevaron al programa Graph pad versión 5. Se realizó estadística descriptiva para variables cualitativas, se utilizaron porcentajes y gráficos correspondientes.

Para determinar la diferencia entre los grupos AL, QS y AL/QS se utilizaron las pruebas de ANOVA de Kruskal Wallis para medidas repetidas en distribución no normal. Todas, con su respectiva significancia estadística, esto es: $p \leq 0.05$.

10. LOGÍSTICA

10.1 RECURSOS HUMANOS

Tesista de la licenciatura en Estomatología, director de tesis y asesor externo.

10.2 RECURSOS MATERIALES

Los materiales que se utilizaron:

1. Alginato de sodio (Sigma-Aldrich)
2. Quitosano de peso molecular alto (Sigma-Aldrich)
3. Etanol absoluto (omnichem)
4. Ácido acético
5. Solución salina fisiológica 90%
6. 2-butanol
7. Agua bidestilada
8. Fosfato de potasio monobásico marca INDEQ
9. Cloruro de potasio marca Meyer
10. Fosfato de sodio dibásico marca INDEQ
11. Cloruro de sodio marca Meyer
12. Hidróxido de sodio marca INDEQ

Los equipos que se utilizaron: parrilla de agitación, balanza analítica (Pionner), Espectrofotómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier (ATR FTIR), microscopio electrónico de barrido (Tescan Maia), máquina de pruebas universales (INSTRON 4465), calorímetro diferencial de barrido, una balanza de calorimetría y microondas marca Panasonic.

10.3 RECURSOS FINANCIEROS

Los recursos para la investigación fueron financiados por el director de la tesis y el asesor externo.

11 BIOÉTICA

Para el control del manejo de los residuos peligrosos biológico- infecciosos nos basaremos en la norma oficial mexicana: NOM- 087-ECOL-SSA1-202 PROTECCIÓN AMBIENTAL - SALUD AMBIENTAL - RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICOINFECCIOSOS - CLASIFICACIÓN Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO.

12 RESULTADOS

Se obtuvieron esponjas de forma cilíndrica (patente en trámite) por medio de la metodología de microondas modificada de Zhang [19] de AL, QS y AL/QS (Figura 13). La esponja del grupo AL mostró una homogeneidad estructural, presentó una textura más rugosa y a pesar de la aplicación de presión manual, la esponja exhibe una consistencia firme, sin embargo, se destaca por su porosidad en su superficie en comparación con los otros dos grupos (Figura 13 a,b,c).

La esponja de QS obtenida demostró uniformidad en su estructura, presentó una textura más lisa en contraste con los otros dos grupos. Se pudo apreciar su porosidad, y al aplicar presión manual sobre ella, esta recuperó su forma original de manera eficiente (Figura 13 d, e,f).

La mezcla de ambos polímeros se pudo realizar, lo que dio como resultado esponjas de AL/QS homogéneas, con una textura rugosa, con un aspecto esponjoso y poroso, además después de ejercer una fuerza de compresión manual, presentan una capacidad de recuperación a su forma original (Figura 13 g, h,i).

Por medio de SEM, a 100x, 200x y 500x se observó la morfología superficial de las esponjas que se obtuvieron, comparando los tres grupos de esponjas de estudio. Se observan poros y homogeneidad en la estructura de cada grupo de esponjas, igual que una textura rugosa. Las esponjas del grupo AL/QS (Figura 14 G-I) se pueden observar homogéneas y aún más rugosas en comparación con las esponjas de los grupos AL (Figura 14 A-C) y QS (Figura 14 D-F).

Las imágenes digitales obtenidas se analizaron por medio de Image J para determinar el diámetro de poro. De esta manera se obtuvo un promedio del diámetro de poro de las esponjas de AL/QS de 113.00 $\pm$14.85 mientras que en el grupo QS se obtuvo un promedio de 75.60$\pm$17.92 y para el grupo de AL un promedio de 79.30$\pm$13.48, sin embargo, no se encontró una diferencia significativa al hacer el análisis mediante el análisis ANOVA y postANOVA TUKEY con un valor de ($p=0.18$) (Figura 15).

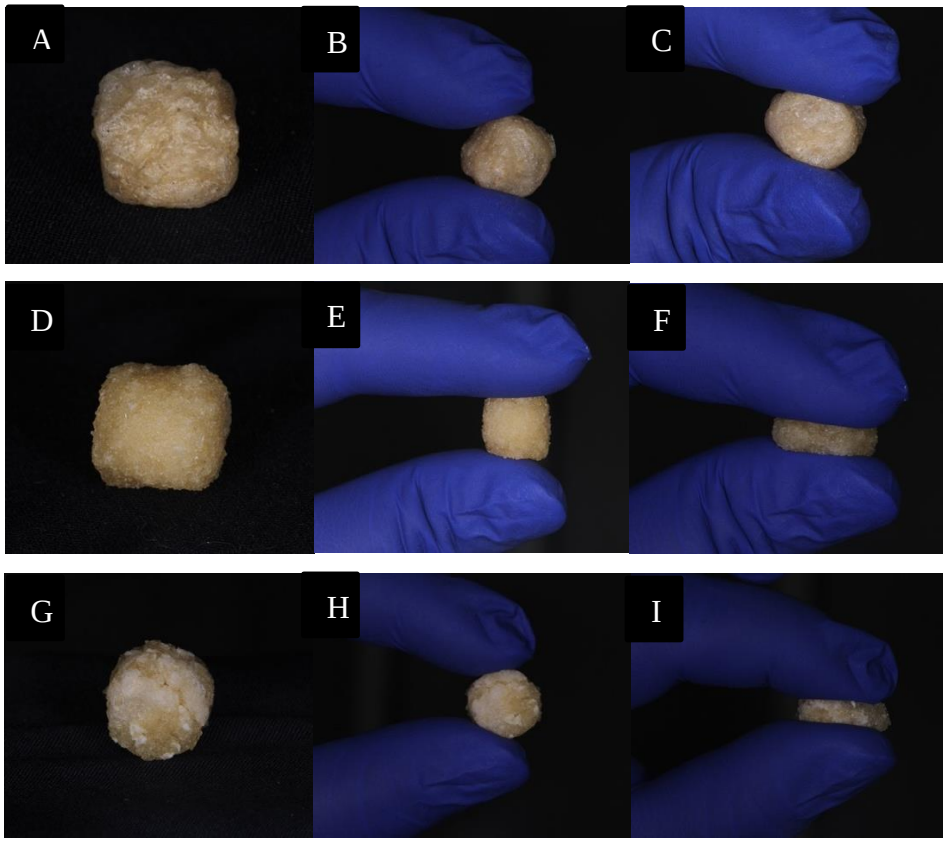

Figura 13. A) esponja de AL, se puede observar porosa. B) esponja de AL antes de aplicarle una fuerza manual. C) Esponja de AL aplicando una fuerza manual. D) La esponja de QS presenta una estructura con poros más compactos y una superficie ligeramente lisa. E) esponja de QS en su estadio inicial, antes de la aplicación de fuerza manual. F) al aplicar fuerza manual a la esponja del grupo QS se comprime de manera eficiente. G) esponja del grupo AL/QS, se puede observar que existe una unión de los polímeros en su estructura. H) esponja de AL/QS en su estado inicial. I) al ejercer presión manual sobre la esponja de AL/QS, se observa una compresión óptima. (Fuente propia).

Los espectros FTIR de las esponjas AL muestran bandas 3310cm^{-1} que corresponden a la banda de estiramiento del grupo funcional OH hidroxilo, también se observa una señal débil en 2910 cm^{-1} que corresponde a las vibraciones de estiramiento del grupo C-H y entre 1300 y 1126cm^{-1} los grupos de estiramiento de carbonilo CO y grupo carbonílico respectivamente mientras que en 970 cm^{-1} corresponde a los enlaces glucosídicos C-O-C. Para las esponjas del grupo QS, se pueden observar las bandas de vibración por alargamiento de los grupos OH en 3365cm^{-1}, la banda que se encuentra en 2278 cm $^{-1}$ corresponde al grupo C-H; la región del espectro infrarrojo se atribuye a la vibración de flexión del grupo funcional amida NH-R y carbonilo no se pueden observar con precisión. La región de 1070 cm^{-1} se asocia con el enlace glicosídico -C-O-C, el cual es un enlace característico de los glúcidos. Los espectros FTIR de las esponjas se observan en la figura 16.

Finalmente, en las muestras de AL/QS, se puede observar una misma línea con los principales grupos entre 3300-3450cm-1 como el OH de la misma manera, se observa una señal débil en 2910 cm^{-1} que corresponde a las vibraciones de estiramiento del grupo C-H y entre los 1300 se encuentran los grupos de estiramiento de carbonilo CO. La región de 1070 cm^{-1} se puede asociar con el enlace glicosídico -C-O-C.

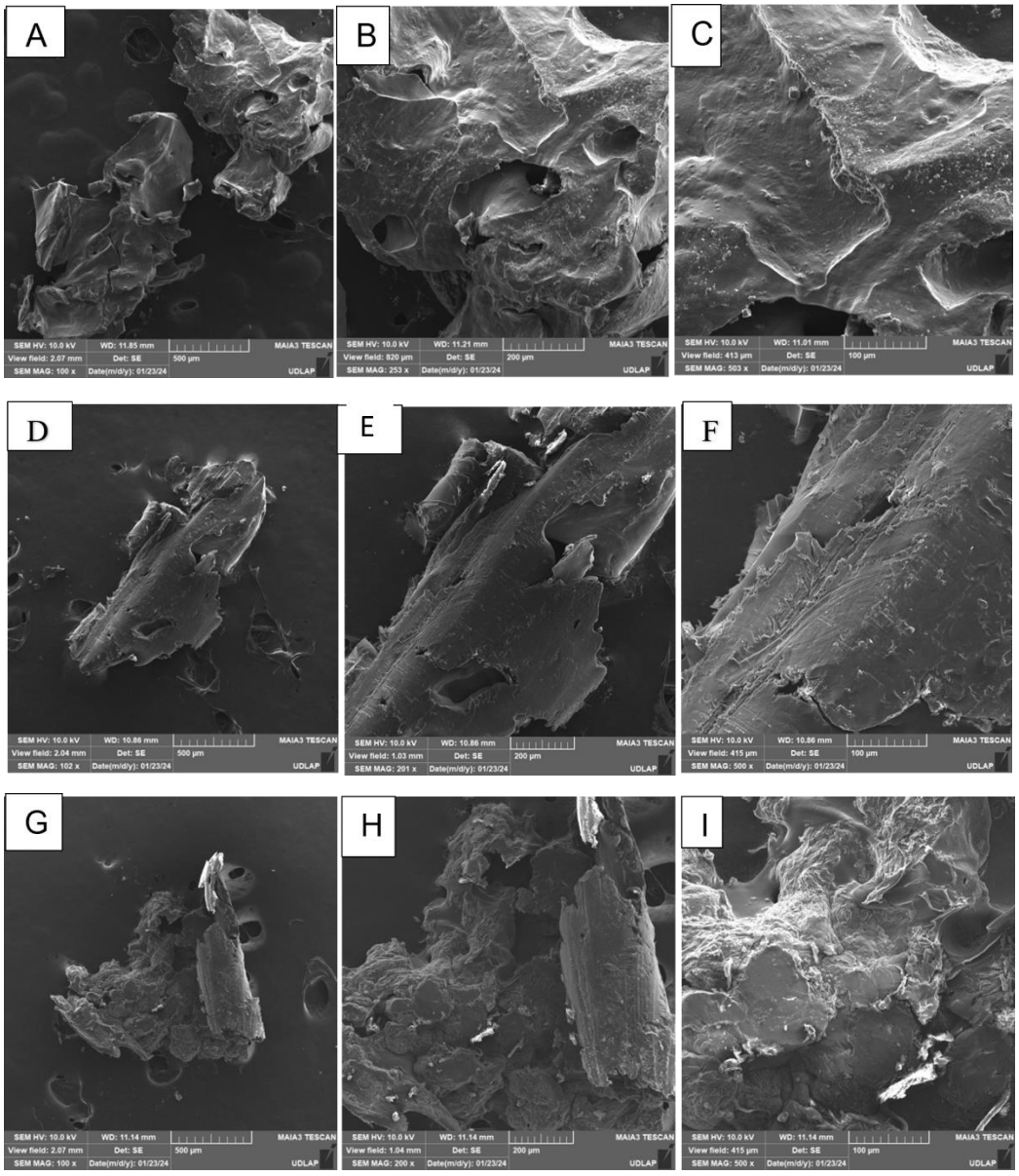

Figura 14. Micrografías de las esponjas de AL, QS y AL/QS mediante Microscopia Electrónica de Barrido. Esponja de AL A) 100x, B) 200x, C) 500x; esponja de QS D) 100x, E) 200x, F) 500x; esponja de AL/QS G) 100x, H) 200x, I) 500x. Fuente propia.

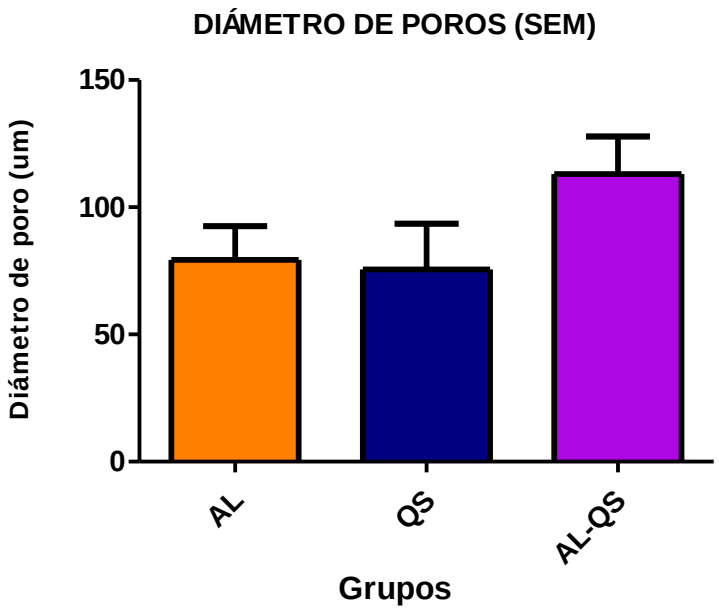

Figura 15. Diámetro promedio de los poros de las esponjas (expresado en um). AL: alginato, QS: quitosano, AL-QS: alginato y quitosano. ANOVA de una vía y posthoc Tukey, p=0.18.

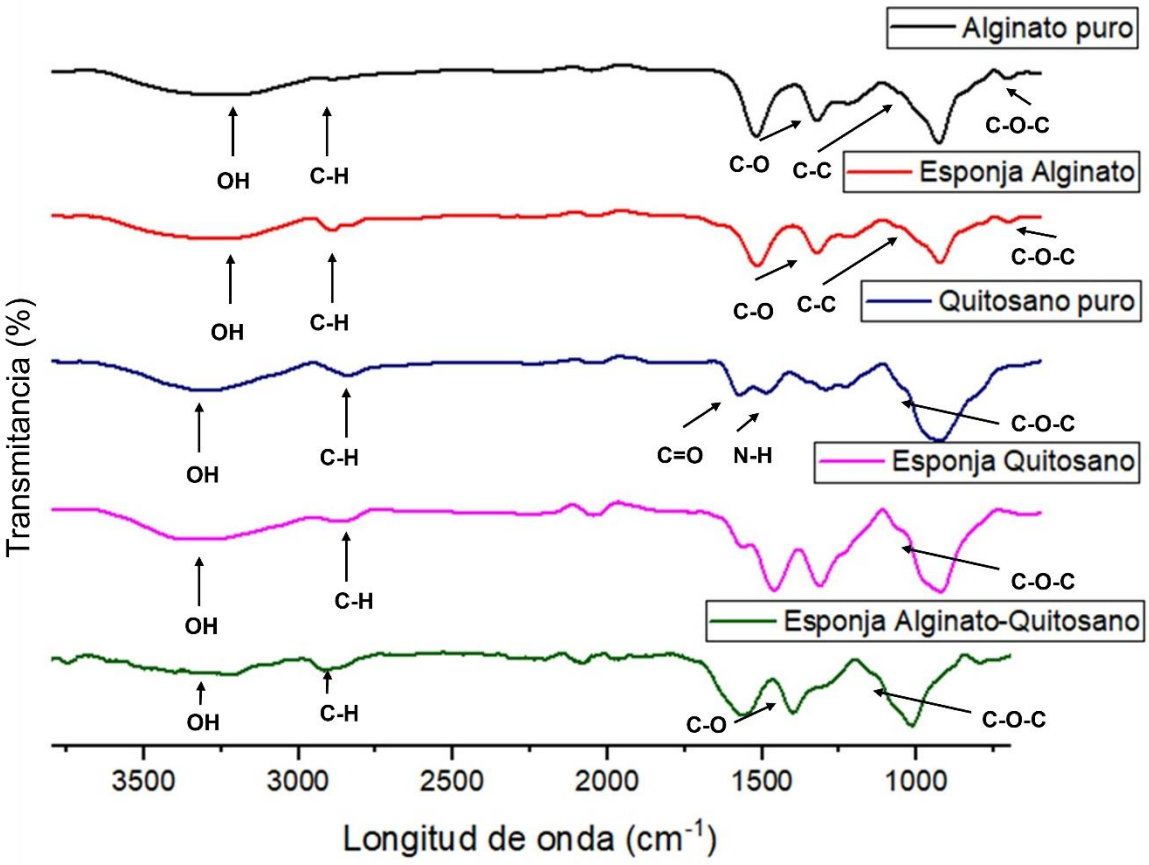

Figura 16. Espectros de los grupos de esponjas obtenidos mediante FTIR.

Se realizo el análisis térmico de barrido DSC para comprender el comportamiento del biopolímero ante las temperaturas expuestas. Las esponjas de AL mostraron un pico endotérmico de 90.65 ºC que corresponde a la temperatura de transición vítrea (Tg) y un pico exotérmico de 246ºC que corresponde a la oxidación para continuar con la descomposición térmica acorde al análisis termogravimétrico (TGA). Las esponjas de QS presento un pico endotérmico en 79.55ºC que corresponde a la Tg y exotérmico en 282.02 ºC que corresponde a la oxidación para continuar con la descomposición térmica acorde al TGA, mientras que las esponjas de AL-QS presentaron un pico endotérmico de 89.37ºc y exotérmico en 246.20 ºC, como se muestra en la figura 17.

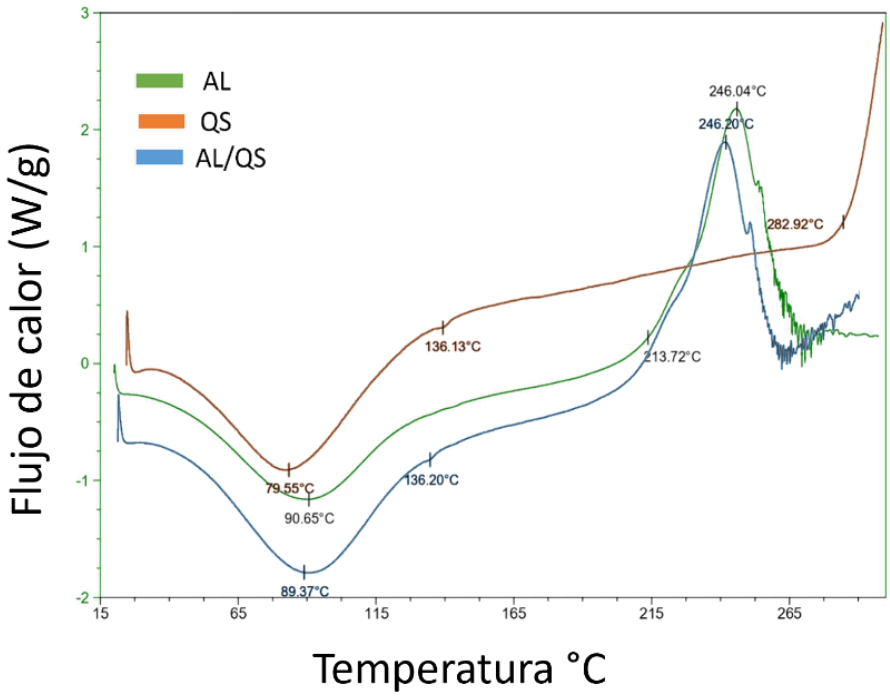

Figura 17. Espectros de DSC.

Los resultados obtenidos en las pruebas de TGA para las esponjas de AL presentaron una pérdida de masa de 3.6% a los 41.4 ºC que puede relacionarse a una pérdida de humedad relativa o residuos de disolvente, a los 219.65°C la temperatura "onset" de descomposición "Tonset". Mientras que en las esponjas de QS mostró una pérdida de masa de 1.1 % a los 41.47ºC, a los 269.74% una pérdida de masa de 12.07% y a los 302.7ºC una pérdida de masa de 10.23%. Finalmente, las esponjas de Al/QS presentaron una pérdida de masa inicial de 0.0026% a los 45.03ºC, a los 215.49

ºC presentó una pérdida de 8.9%, una tercera pérdida de masa de 1.6% ocurrió a los 232.36ºC y por último a los 276.26ºC ocurrió una pérdida de masa de 4.09% por minuto, como se muestra en la figura 18.

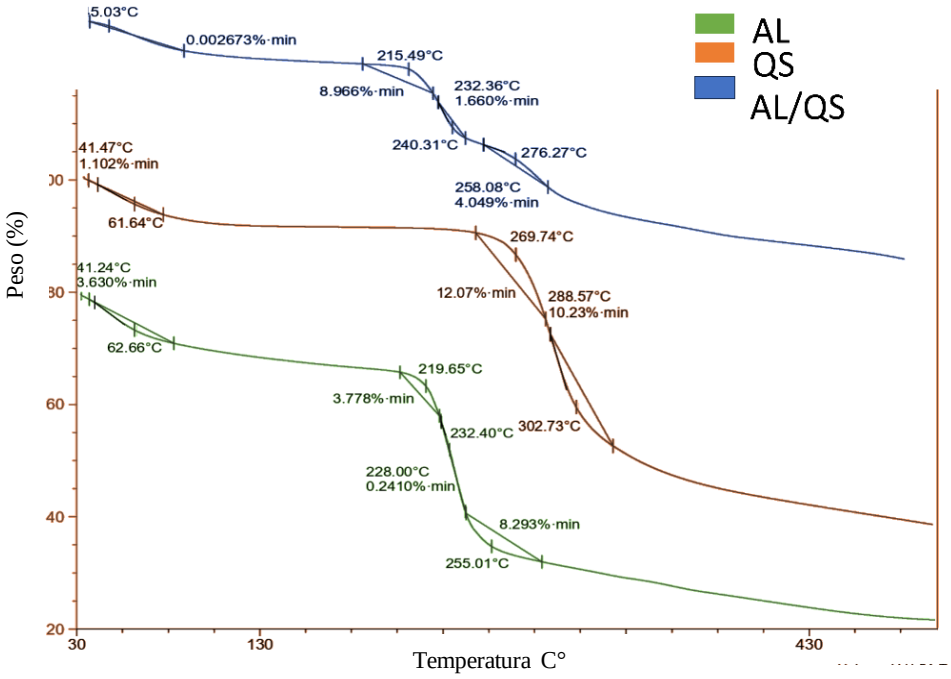

Figura 18. Pérdida de peso de los materiales que conforman a la esponja en función de la temperatura. Prueba de TGA. Fuente propia.

El porcentaje de porosidad del grupo AL presentó un promedio de 28.66±11.01, a diferencia del grupo QS que mostró un promedio de 12.775±1.36 similar al del grupo experimental AL/QS el cual presentó un promedio de 12.190±1.99, sin embargo, el análisis ANOVA no mostró una diferencia significativa de p=2.08 (figura 19).

Al realizar la prueba de capacidad de absorción de agua de las esponjas, el grupo AL presentó un promedio de 134.533±6.33 y las esponjas de QS mostraron un promedio de 259.333±9.684 mientras que las esponjas de AL-QS presentaron un promedio de 455.33±29.464. Por lo que la esponja experimental AL/QS es diferente a las esponjas de control, ya que su capacidad de absorción de agua es mayor comparada con AL (ANOVA de una vía p<0.001) y en comparación del QS (ANOVA de una vía p<0.001) (figura 20).

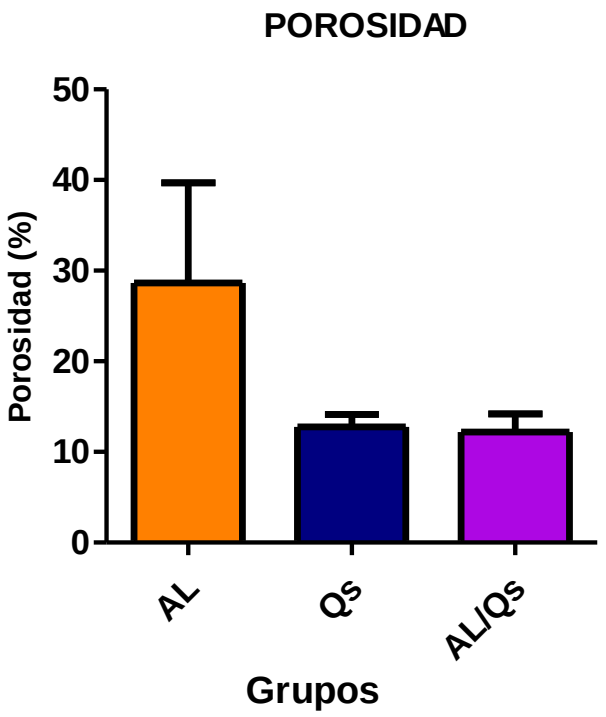

Figura 19. Porcentaje de porosidad de las esponjas de AL, QS y AL/QS (n=3). ANOVA de una vía, Tukey p=2.08.

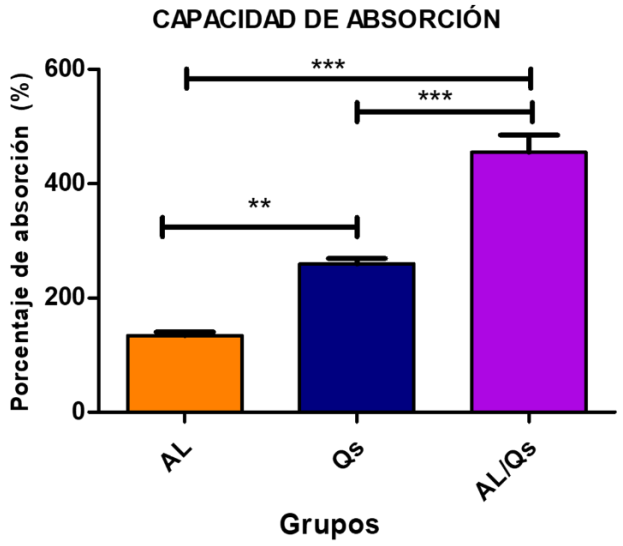

Figura 20. Resultados de la capacidad de hinchamiento de las esponjas de AL, QS y AL/QS (n=3), presentando una diferencia significativa de p<0.0001 del grupo AL/QS contra QS y de p<0.001 entre QS y AL.

La tasa de transmisión de vapor de agua se ilustra en la Figura 21. En general, se observa que las esponjas de AL, QS y AL/QS presentaron un rango superior a los

2500 g/m^2/día. El grupo de las esponjas de AL presentaron una caída de las muestras hacía el suero fisiológico después de pasar 24 horas. De esta manera el grupo de las esponjas de Al presentaron un promedio de 5462.18±683.64 mientras que el grupo QS presentó un promedio de 14595.53±3669.42 y las esponjas de AL/QS mostraron un promedio de 2635.59±826.32. Por lo tanto, el análisis ANOVA no encontró diferencias significativas entre los tres grupos presentando p=0.02.

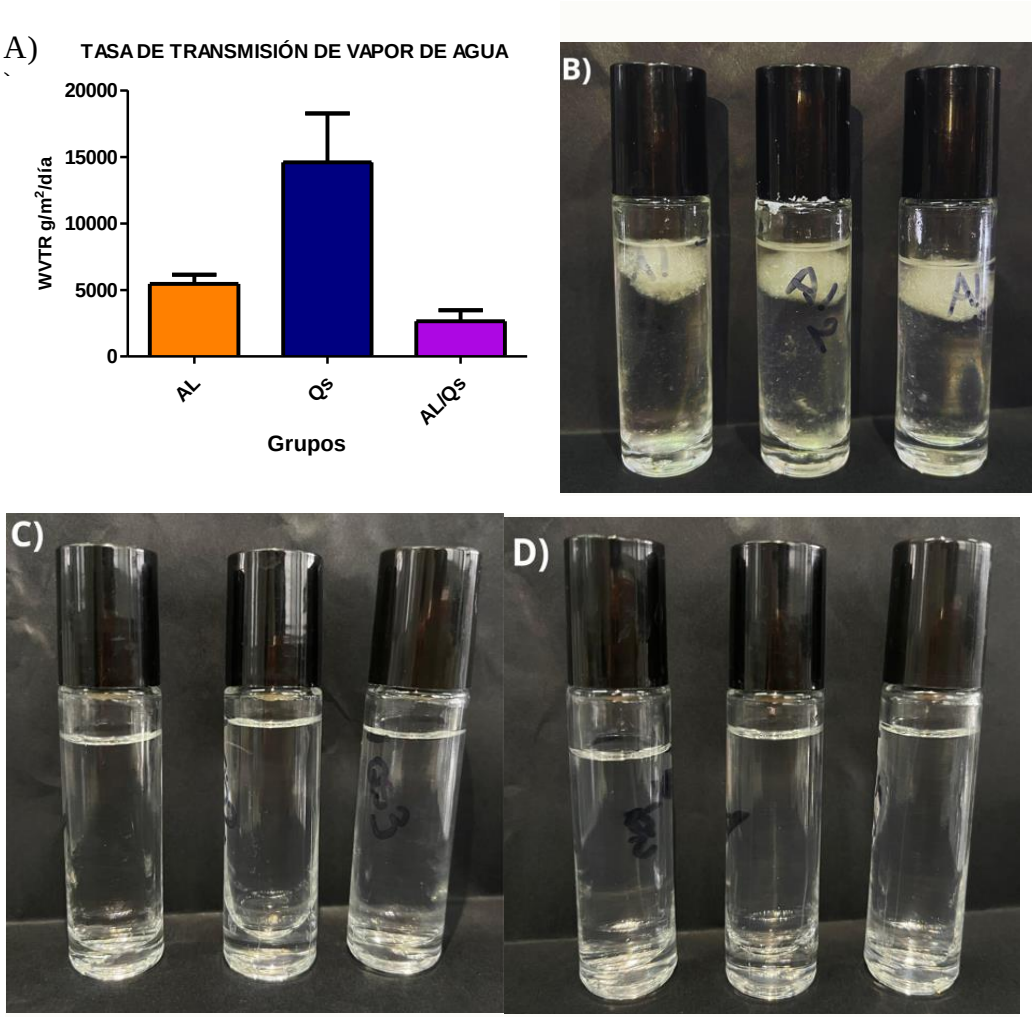

Figura 21. A) Tasa de transmisión de vapor de agua sin diferencias significativas mediante ANOVA p=0.0202. B) muestras de las esponjas del grupo AL por triplicado después de 24 horas. C) muestras de las esponjas del grupo QS. D) grupo de esponjas experimentales AL/QS, las cuales se mantuvieron en la boquilla del vial.

Se llevaron a cabo ensayos mecánicos de compresión tanto en condiciones secas como en presencia de saliva artificial (Sa). En general, las esponjas del grupo AL mostraron una mayor resistencia a la compresión, además de soportar mayor fuerza en comparación con las esponjas QS y AL/QS. No obstante, la exposición en Sa no afectó mucho al comportamiento mecánico de la mayoría de las esponjas,

excepto las del grupo AL. Las esponjas del grupo QS y AL/QS experimentaron una ruptura estructural durante la prueba en Sa, lo que sugiere una menor resistencia a la compresión en este entorno (Figura 22). De acuerdo al análisis ANOVA el grupo experimental AL/QS presentó un promedio de 0.19 MPa± 0.021 en comparación al grupo control AL el cual presentó un promedio de 6.68 MPa±.89 y el grupo QS 0.23 MPa±0.013. Para los grupos en Sal AL/QS/Sa mostró un promedio de 0.36 MPa±.28 y el grupo AL/Sa mostró un mayor promedio de 1.78 MPa ± 0.55 y QS/Sa un promedio de 0.083 MPa ±0.017. El grupo control AL fue el que tuvo mejor resistencia a la compresión con una diferencia significativa de $p<0.0001$ contra los demás grupos experimentales (n=6).

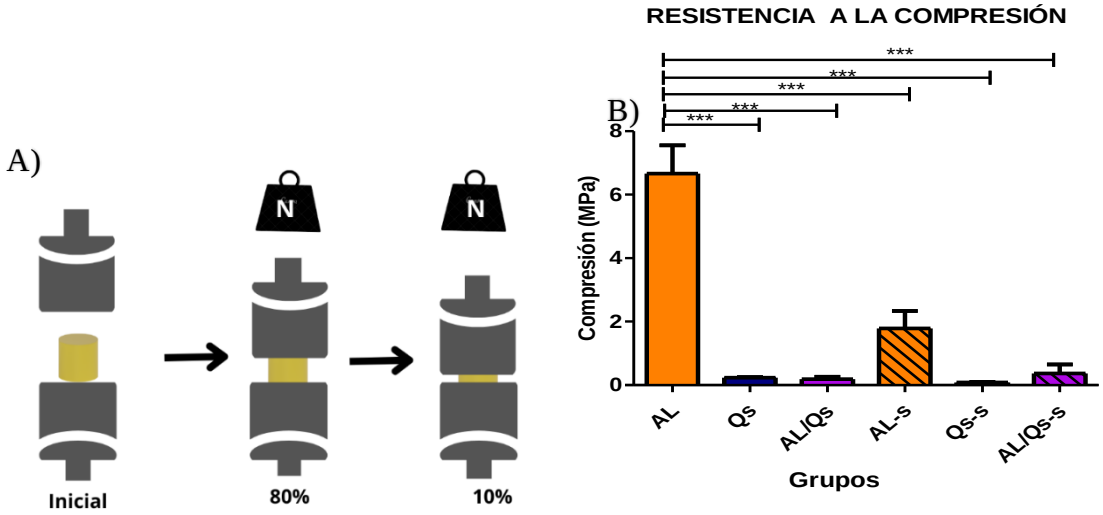

Figura 22. A) esquema de la esponja sobre la máquina Instron antes de ejercer una fuerza sobre ella, después una compresión de un 80% sobre la esponja, hasta llegar a un 10% de compresión. B) Resistencia a la compresión de las esponjas en seco y Sa n=6, de acuerdo con ANOVA de una vía $p<0.0001$.

Tras la aplicación de la prueba de resistencia a la compresión, las esponjas de los grupos QS y AL/QS lograron recuperar casi por completo su forma original al instante y después de 5 horas mostrando una recuperación de forma poco más a diferencia de las esponjas del grupo AL, que permanecieron completamente compactas. Los resultados obtenidos ilustrados en la Figura 23, muestran una mayor capacidad de recuperación en las esponjas de los grupos QS y AL/QS en comparación con las esponjas del grupo AL. De acuerdo con el análisis ANOVA el grupo de esponjas AL mostraron una diferencia significativa contra el grupo experimental AL/QS y el grupo control QS de $p<0.01$.

La recuperación de forma de las esponjas QS y AL/QS de 5 horas a 24 horas no experimentaron mucha diferencia. El porcentaje de recuperación del grupo AL/QS en seco a las 24 horas fue de 94.270% en comparación al grupo control QS en seco el cual su porcentaje de recuperación a las 24 horas fue de 93.123%, mientras que el grupo control AL no recupero su forma después de la prueba de compresión. Para las esponjas AL/QS en Sa presentaron un promedio de recuperación inmediato del 72.40% mientras que el grupo control QS presento un promedio en su recuperación inmediata mayor de 95.23%, después de 5 horas estas comienzan a hincharse por la absorción de Sa por lo cual se hacen más grandes y no se puede tomar una medida más exacta (Figura 23b y 23c).

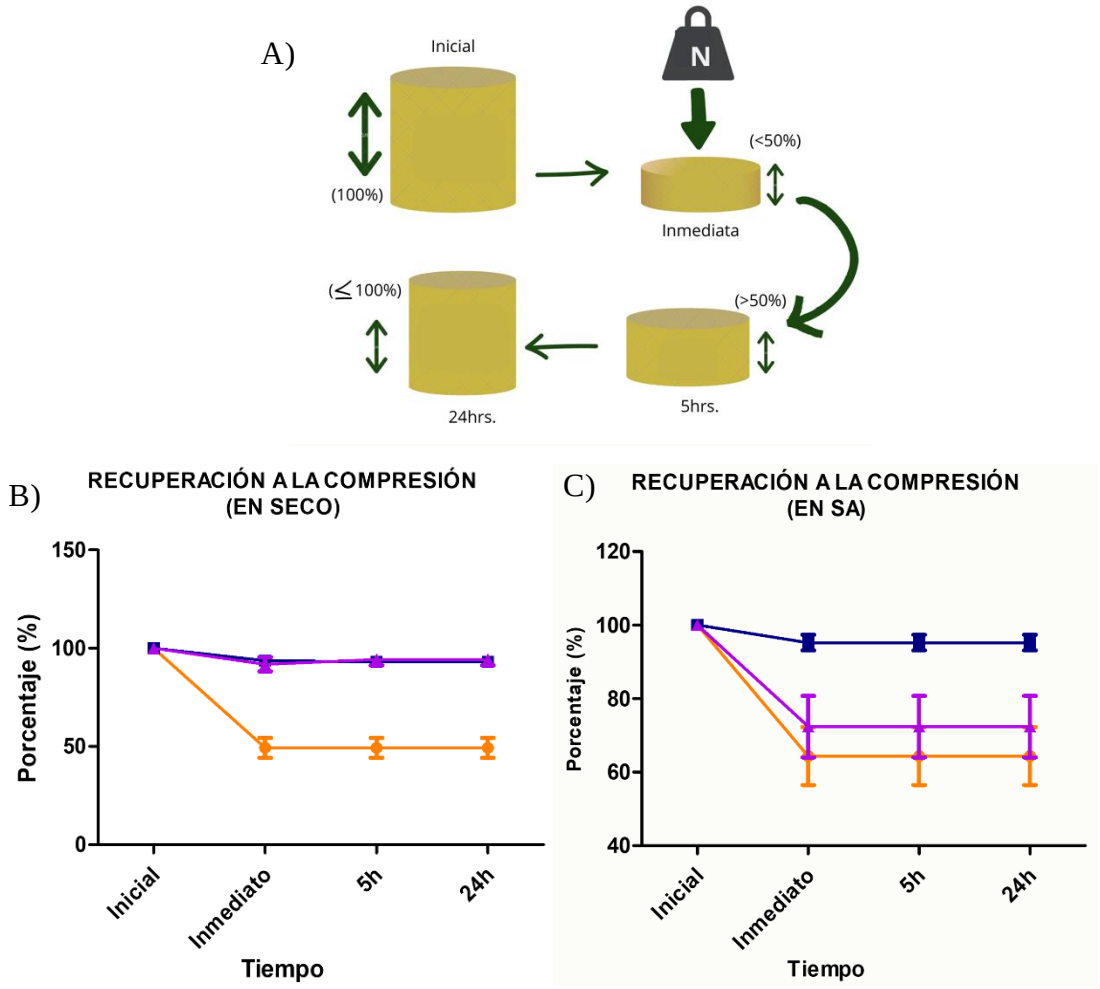

Figura 23. A) Diagrama de la recuperación de forma de la esponja después de aplicarle una fuerza en N, después la recuperación a las 5hrs y a las 24hrs. B) gráfica de la recuperación a la compresión de las esponjas en seco donde se muestra que el grupo AL no regresó a su forma inicial. C) gráfica de la recuperación a la compresión de las esponjas en Sa.

Los resultados obtenidos en la prueba de biodegradación de las esponjas marcan la pérdida de masa en porcentaje conforme pasa el tiempo por lo que las esponjas de AL presentaron una biodegradación a los 7 días, mientras que las esponjas de QS y AL/QS presentaron una degradación más lenta, lo cual como indica la gráfica de la figura 23, a los 58 días no han completado su biodegradación, de esta manera por medio del análisis ANOVA existe una diferencia significativa entre el grupo AL con QS de $p<0.0001$ y de QS con AL/QS de $p<0.0001$.

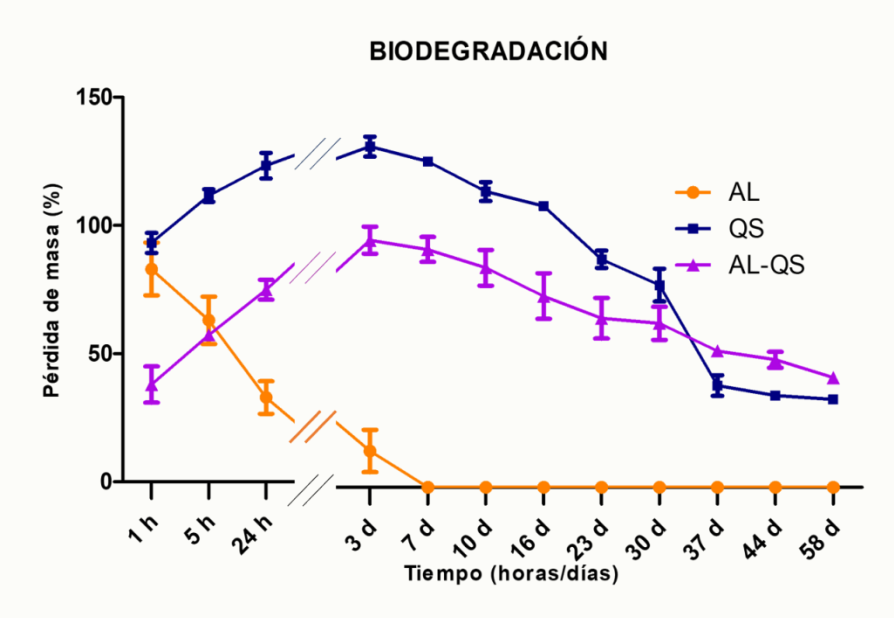

Figura 24. Porcentaje de pérdida de masa de los tres grupos de esponja de acuerdo con el tiempo transcurrido.

13 DISCUSIÓN

El propósito de la presente investigación fue elaborar y realizar la caracterización morfológica, fisicoquímica y mecánica de esponjas de AL/QS. Cabe destacar que en la literatura se reportan diversas metodologías para la creación de esponjas como la liofilización [28], la impresión 3D [2], la interacción electroestática [3] y el uso de microondas [19]. La elaboración de estas esponjas se logró gracias a la modificación de la técnica de Zhang *et al*.,[19] en 2015, consistió en una mezcla homogénea de los componentes y el procesamiento mediante microondas para obtener esponjas con propiedades favorables para la ingeniería tisular, la cicatrización, la hemostasia y la regeneración ósea. Siendo así una técnica sencilla, económica, replicable y accesible.

Las esponjas de AL/QS presentan características macroscópicas como porosidad, rugosidad y flexibilidad las cuales podrían ser benéficas para la adherencia al tejido, como lo hacen notar Zhang *et al*., [7] en 2015 quienes fabricaron esponjas con PLA mediante el uso de microondas con características similares a este estudio. Lo que sugiere que la metodología utilizada tiene un gran potencial y es viable de realizar.

El análisis de la morfología superficial mediante SEM arroja que todas las esponjas muestran una superficie rugosa y una distribución de poros de diversos tamaños, lo cual, como indican Jiang *et al*., [23] en 2023 puede ser favorable ya que evita la deshidratación y la acumulación de exudado en la zona de la herida [23].
De esta manera la cantidad de poros de las esponjas de AL/QS se puede observar menor a comparación de Wang *et al*.,[11] en 2023, quienes, elaboraron esponjas de AL/QS y diatomita, por medio de liofilización mientras que las esponjas AL/QS de este estudio se realizaron por medio de la técnica de microondas.

Además, tanto el grupo AL/QS como los grupos control (AL y QS) tienen un promedio de diámetro de poro que oscila entre 75.60 y 113 μm, lo que, puede ser benéfico para la proliferación y diferenciación celular teniendo en cuenta a Rodríguez-Vázquez *et al*.,[14] en 2015 quienes expresan que el andamiaje ideal debe tener un tamaño de poro entre un intervalo de 50 a 250 μm ya que ayuda a proporcional el

espacio necesario y la superficie suficiente para el crecimiento de las células para la regeneración ósea y reparación de tejido [11,14,23].

En este sentido, la porosidad en un andamio es importante debido a que proporciona la difusión de nutrientes, oxígeno y la diferenciación osteogénica de las células para acelerar la cicatrización de tejidos, con base en Jiang *et al.,*.[23] en 2023 y Yan *et al*.,[10] en 2022. Los valores obtenidos en esta investigación al calcular el porcentaje de porosidad indican que tanto los grupos experimentales como los controles presentaron un déficit de porosidad en un rango de 12.19 a 28.66% siendo así que existe similitud en el porcentaje de porosidad entre el grupo AL-QS y QS, sin embargo, se encuentran en un valor bajo en comparación de Wang *et al*., [11] en 2023, quienes presentaron un promedio mayor de 65.51% lo cual sugiere que podría ser por la metodología empleada desde su composición hasta su procesamiento, ya que sus esponjas las realizaron por medio de liofilización a comparación de esta investigación que se realizó por medio de la técnica de microondas. Es importante que la estructura de un andamio contenga un 80 a 90% de porosidad para el desempeño de propiedades de reparación de tejido y paso de nutrientes como lo postula Rodríguez-Vázquez *et al*.[14] en 2015. lo que sugiere que es necesario continuar con más pruebas para que las esponjas de AL/QS tengan un mejor porcentaje de porosidad en su estructura.

El análisis de las esponjas elaboradas de AL/QS mediante FTIR, permitió determinar los grupos funcionales y enlaces químicos. Los espectros obtenidos en la esponja de AL son principalmente de los grupos hidroxilo y carbonilo, propios del AL tal como lo muestran los resultados de Zhang et al.,[16] en 2021 y Fertah et al.,[29] en 2014 quienes reportaron que el alginato contiene como grupos funcionales principales hidroxilo en las bandas de estiramiento en 3300 cm-1 y entre 1600 y 1400cm-1 los grupos de estiramiento de carbonilo. Que de igual manera comparando el FTIR del material puro de Sigma-aldrich y las esponjas de AL no hay un cambio significativo.

Mientras que las esponjas de QS no presentaron dentro de las bandas de estiramiento los grupos característicos de QS como lo es el grupo funcional amida y grupos carbonilo que, de acuerdo con Ramírez et al.,[30] en 2016 son los grupos representativos de este biopolímero. De manera importante se pueden observar grupos funcionales como OH y C-H. Comparado con el FTIR del material puro de Sigma-aldrich, se puede observar un cambio significativo determinando así la falta de estos grupos funcionales principales del quitosano. De modo que la combinación de

estos grupos característicos que se muestran en el resultado de las esponjas de AL-QS muestra grupos funcionales principales a los del alginato, pero una banda similar a las esponjas de quitosano. Determinando así que se deben realizar más pruebas para determinar qué tipo de biopolímero se obtuvo después de la combinación de estos dos biopolímeros, de la misma manera determinar el tipo de cambio que puede ocasionar el calor del microondas.

El análisis calorimétrico diferencial de barrido permite obtener información sobre las propiedades físicas y químicas de los polímeros (AL y QS), además, este análisis proporciona información de la interacción, por ejemplo, entre fármacos y polímeros [31,32]. En este sentido, las esponjas de AL presentaron un pico endotérmico a los 90.65 ºC y un pico exotérmico entre 213.72-246.04ºC similar a los resultados obtenidos por Soares *et al*.,[36] en 2004, quienes mostraron un pico endotérmico de 100ºC que representa la deshidratación y un pico exotérmico entre 240-260 ºC que representa la descomposición del polímero [33]. Las esponjas de QS presentaron un pico endotérmico de 79.55ºC y un pico exotérmico de 282.92ºC y similar a los resultados de Shaikat *et al*., [34] en 2016 quienes obtuvieron un pico endotérmico de 77.78-80.44ºC y un pico exotérmico de 303.77ºC el cual corresponde a la degradación de los grupos amina. Por consiguiente, las esponjas de AL/QS presentaron pico endotérmico de 89.7ºC y un pico exotérmico de 246.2 ºC , estos hallazgos evidencian que el AL y QS están presentes en las esponjas y que no existe una afectación importante después de exponerlas al calor del microondas.

El análisis de termogravimetría permite medir el cambio de la masa de una muestra en función de la temperatura o el tiempo [32]. Por lo tanto, las esponjas de AL mostraron una pérdida de masa inicial a 41.24ºC y una pérdida final a 255.02ºC similar a Isiklan [35] *et al*., en 2013 quienes reportaron una pérdida inicial a 58.71ºC lo cual indica la pérdida de agua de este biopolímero y una pérdida de masa final a 301.54ºC. De la misma forma las esponjas de QS mostraron la pérdida de masa inicial a 41.47ºC y una pérdida final a los 303.7ºC, algo similar ocurre con los resultados de Shaikat *et al*., [34] en 2016 quienes encontraron que su primer escalón de pérdida de masa entre 22-100ºC y la pérdida de masa final ocurrió a 248ºC la cual indica la vaporización de materiales volátiles del polímero [34]. En el caso de las esponjas de AL/QS presentan la primera pérdida de masa a 41.24ºC la cual corresponde a la pérdida de agua de ambos materiales los cuales se encuentran en rangos similares y una pérdida de masa

final a una temperatura de 276.27ªC lo cual infiere que las esponjas de AL/QS presentan ambos polímeros en su estructura.

Los andamios deben de tener una característica primordial como lo es la capacidad de absorción de agua, ya que evita la deshidratación tisular de la zona de la herida [8], alvéolo [23] y defecto óseo [36], para mantener así un equilibrio de humedad y promover la difusión de nutrientes [8]. Los resultados de este estudio determinaron de manera importante que la esponja experimental (AL/QS) mostró mejoría en la capacidad de hinchamiento. Esta mejora puede atribuirse al uso de QS en la composición, ya que de acuerdo con los resultados obtenidos en la prueba de biodegradación demuestra que su punto máximo de hinchamiento es entre los 3 a 5 días, mientras que del AL es durante las primeras 12 horas. Así las esponjas de AL/QS presentaron un porcentaje similar al resultado obtenido por Yan *et al*., [10] en 2022 quienes obtuvieron rangos superiores al 750% de capacidad de hinchamiento, en las esponjas de AL con QS y metronidazol siendo así que ellos midieron la capacidad de hinchamiento después de 2 horas, por lo cual se infiere que será necesario realizar pruebas con intervalos de tiempo para determinar mejor su capacidad de hinchamiento. En relación con la idea anterior, como describe Rodríguez-Vázquez *et al*., [14] 2015, el QS es un potencial biomaterial para andamios con la capacidad de hinchamiento que promueve la difusión de nutrientes y ayuda a los factores de crecimiento, lo que sugiere que el QS mejora la capacidad de hinchamiento en las esponjas de AL-QS.

Analizar la transmisión de vapor de agua en las esponjas es esencial ya que es una de las propiedades principales para la aceleración, reparación y evitar el crecimiento de microorganismos en las heridas [36] y otros tejidos [8].

Durante la prueba, las esponjas fueron colocadas en la boca de un vial que contenía suero fisiológico, para medir la cantidad de humedad que puede penetrar. La rápida captación de humedad de las esponjas de AL provocó que cayeran al fondo del vial. Para determinar las posibles causas de este comportamiento se analizaron los resultados obtenidos en el porcentaje de porosidad, capacidad de hinchamiento y biodegradación, lo que hace inferir que en estas esponjas al presentar más poros hay un aumento en la capacidad de hinchamiento y luego una biodegradación rápida fragmentándose en sus primeras 12 horas. Las esponjas AL/QS presentaron un promedio de WVTR de 2635.59 g/m^2/día, lo que se considera un rango adecuado,

como lo postula Rodríguez-Vázquez *et al*., [14] 2015 en quienes reportan que el rango ideal es de 2000-2500 g/m^2/día. De la misma manera comparado con los resultados de Monfared-Hajishrjiaee *et al*., [37] en 2023 es similar a las esponjas que realizaron a base de QS, carbono, AL y óxido de zinc las cuales se situaron en un intervalo de 200-2500 g/m^2/día y de igual manera fueron coherentes con sus resultados en las pruebas de porosidad, como en este proyecto.

Cabe hacer mención que estos autores realizaron sus esponjas por medio de liofilización la cual consiste en la congelación del soluto-disolvente y en un secado de la muestra obtenida [30], mientras que las esponjas de este estudio se realizaron por la técnica de microondas.

En la ingeniería de tejidos, las esponjas utilizadas para rellenar defectos óseos, heridas o alvéolos, deben presentar propiedades para garantizar su estabilidad y función adecuada. Una de estas propiedades es la alta resistencia a la compresión. Esta característica es esencial para lograr que estas esponjas se adapten sin romperse a la forma de la zona donde se colocan, aun cuando sean sometidas a una presión externa o en su caso a la fuerza ejercida por la masticación. De esta manera se contribuye al proceso de curación y reparación durante la regeneración ósea o de tejidos [8,18, 23].

En el mismo contexto, una de las características destacadas de los materiales utilizados en la ingeniería de tejidos es la memoria de forma. Esta propiedad consiste en que los polímeros pueden recordar la forma original de la estructura [37]. Así que, los andamios (en este caso las esponjas) con memoria tienen un gran potencial en la ingeniería de tejidos, ya que son eficaces para adaptarse a la zona donde se colocan, además, ayudan a la adhesión y a la proliferación celular [38].

De manera que la resistencia a la compresión de las esponjas de AL/QS tanto secas como húmedas (sumergidas en Sa) presentaron diferencia significativa en comparación a las esponjas de AL secas y húmedas, a diferencia de Wang *et al*., [11] en 2023, aunque cabe resaltar que la composición es distinta ya que ellos hicieron esponjas de AL, QS cuaternizado y diatomita y no presentaron una diferencia significativa entre sus grupos húmedos en sangre como secos. Para explicar lo anterior, en la revisión realizada por el grupo de Rodríguez-Vázquez *et al*., [14] en 2015 encuentran que las propiedades mecánicas de membranas de QS tienen determinadas desventajas para la ingeniería de tejidos ya que son quebradizas y duras, lo cual hace que disminuya su resistencia mecánica. Por lo que se infiere que

el material que da dicha propiedad en las esponjas de esta investigación es el AL. En este mismo sentido, las esponjas de AL-QS presentaron una resistencia a la compresión menor comparada con el resultado de Jiang *et al*., [23] en 2021 quienes obtuvieron un valor mayor a 0.7 MPa. Se debe resaltar que, bajo el contexto de este estudio, las muestras de AL/QS sumergidas en Sa durante 30 minutos, presentaron una resistencia a la compresión menor, comparado al grupo AL húmedo. El tiempo de prueba pudo no haber sido suficiente para que se empaparan de Sa ya que esta quedo en la zona de la periferia, mientras que la zona interna se mantuvo seca lo que pudo interferir en el resultado obtenido, esto hace pensar que será necesario ampliar el tiempo para la evaluación y contrastar los resultados a distintos intervalos de tiempo. Teniendo en cuenta a Monfared-Hajishrjiaee *et al*.,[37] en 2023 las esponjas con una memoria de forma adecuada son las esponjas de QS y AL/QS tanto en seco como humedecidas en Sa ya que estas regresan a su forma original con un promedio de 93 al 94% para ambos grupos, visto de esta manera es un andamio ideal para la ingeniería de tejidos.

La tasa de biodegradación adecuada para un andamio es la que puede regularse, es decir, que la velocidad de degradación del material coincida con el proceso de regeneración ósea y de tejidos [14]. Que además permita la liberación controlada de agentes bioactivos y preserve la integridad del biomaterial hasta que los tejidos hayan regenerado adecuadamente. Por lo tanto, evita espacios en la zona del defecto óseo, de la herida o del alvéolo que puedan causar reacción inflamatoria, citotóxica o efectos adversos locales [14].

Siendo así, que las esponjas de AL presentaron degradación a los 7 días, similar a los resultados de Wang et al., [11] en 2023, quienes encontraron que el alginato presenta degradación rápida, de igual manera, Monfared-Hajishrjiaee *et al*.,[37] en 2023 demostraron que las esponjas que realizaron a base de AL se degradaron en 7 a 13 días, lo anterior demuestra que es un biomaterial con alto potencial de biodegradabilidad [16].

Cuando al AL se le agrega otros materiales como QS [14,18], caolín y carboximetil-quitosano [18] u otros polímeros [11], el tiempo de degradación se hace más lento. En este sentido, Song *et al*., [18] en 2023 describen que las esponjas de carboximetil quitosano con AL y caolín, se degradaron a los 15 días, algo similar ocurre con las esponjas de AL/QS de este estudio, ya que aumentó el tiempo de degradación por arriba de los 121 días.

14 CONCLUSIÓN

La técnica propuesta para elaborar las esponjas con microondas es reproducible, económica y de rápida elaboración.

La rugosidad de las esponjas de AL/QS es apropiada para favorecer la adhesión.

Las esponjas de AL/QS elaboradas por la técnica de microondas, poseen biodegradación, capacidad de hinchamiento, transmisión de vapor de agua apropiadas ser probadas en modelos animales de regeneración ósea, cicatrización y hemostasia.

Las esponjas de AL/QS son adecuadas para la regeneración ósea de acuerdo con la resistencia de compresión que presentan.

Los resultados obtenidos son prometedores para continuar con los estudios de liberación controlada de fármacos, regeneración ósea y de tejidos.

15 BIBLIOGRAFÍA

1. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis PV. Bone regeneration: current concepts and future directions. BMC Med [Internet]. 2011;9(66).
2. Wu DT, Munguia-Lopez JG, Cho YW, Ma X, Song V, Zhu Z, et al. Polymeric scaffolds for dental, oral, and craniofacial regenerative medicine. Molecules. 2021;26(22):7043. pi
3. Pereira HF, Cengiz IF, Silva FS, Reis RL, Oliveira JM. Scaffolds and coatings for bone regeneration. Vol. 31, Journal of Materials Science: Materials in Medicine. J Mater Sci Mater Med 2020;31(3).
4. Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: a review. The Open Dentistry Journal. Abra Dent J 2014; 8(1):56–65.
5. Rudin A, Choi P. Chapter 13 – Biopolymers. Alfred Rudin, Phillip Choi. The Elements of Polymer Science & Engineering (Third Edition). Academic Press, 2013; p. 521-535
6. Kobayashi S, Müllen K. Encyclopedia of polymeric nanomaterials. Springer reference; 2015.
7. Atia GAN, Shalaby HK, Zehravi M, Ghobashy MM, Attia HAN, Ahmad Z, et al. Drug-Loaded Chitosan Scaffolds for Periodontal Tissue Regeneration. Polymers. 2022; 14(15):3192.
8. Grzybek P, Jakubski Ł, Dudek G. Neat Chitosan Porous Materials: A Review of Preparation, Structure Characterization and Application. Int J Mol Sci. 2022; 23(17):9932
9. Raveau S, Jordana F. Tissue engineering and three-dimensional printing in periodontal regeneration: A literature review. J Clin Med. 2020; 9(12):4008.
10. Yan M, Pan Y, Lu S, Li X, Wang D, Shao T, et al. Chitosan-CaP microflowers and metronidazole loaded calcium alginate sponges with enhanced antibacterial, hemostatic, and osteogenic properties for the prevention of dry socket after tooth removal. Int J Biol Macromol. 2022; 212: 134–45.
11. Wang D, Sun Y, Zhang D, Kong X, Wang S, Lu J, et al. Root-shaped antibacterial alginate sponges with enhanced hemostasis and osteogenesis for the prevention of dry socket. Carbohydr Polym. 2023;299(120184):120184.
12. Deng R, Xie Y, Chan U, Xu T, Huang Y. Biomaterials and biotechnology for periodontal tissue regeneration: Recent advances and perspectives, J Dent Res Dent Clin Dent Prospects. 2022;16(1):1–10.

13. Prasadh S, Wong RCW. Unraveling the mechanical strength of biomaterials used as a bone scaffold in oral and maxillofacial defects. Oral Sci Int [Internet]. 2018;15(2):48–55.
14. Rodríguez-Vázquez M, Vega-Ruiz B, Ramos-Zúñiga R, Saldaña-Koppel DA, Quiñones-Olvera LF. Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine. Biomed Res Int. 2015;1–15.
15. Jøraholmen MW, Bhargava A, Julin K, Johannessen M, Škalko-Basnet N. The antimicrobial properties of chitosan can be tailored by formulation. Mar Drugs. 2020;18(2):96.
16. Zhang H, Cheng J, Ao Q. Preparation of Alginate-Based Biomaterials and Their Applications in Biomedicine. Mar Drugs. 2021; 19(5):264.
17. Chi J, Wang M, Chen J, Hu L, Chen Z, Backman LJ, Zhang W. Preparation of Alginate-Based Biomaterials and Their Applications in Biomedicine. Biomimetic 2022;7(3):131.
18. Song Y, Li S, Chen H, Han XY, Duns GJ, Dessie W, Tang W, Tana Y, Qin Z, Luo X. Kaolin-loaded carboxymethyl chitosan/sodium alginate composite sponges for rapid hemostasis. Int J Biol Macromol. 2023;233(123532):123532.
19. Zhang F, Zhou T, Liu Y, Leng J. Microwave synthesis and actuation of shape memory polycaprolactone foams with high speed. Scientific reports. 2015;5:11152
20. Zhang X, Teng Z, Huang R, Catchmark J. Biodegradable starch/chitosan foam via microwave assisted preparation: Morphology and performance properties. Polymers 2020;12(11):2612.
21. Deng X, Wang D, Zhang D, Sun M, Zhou L, Wang Y, Kong. X, Yuan. CH, Zhou Q. Antibacterial quaternary ammonium chitosan/carboxymethyl starch/alginate sponges with enhanced hemostatic property for the prevention of dry socket. Front Bioeng Biotechnol. 2023;10.
22. Quan W, Li P, Wei J, Jiang Y, Liang Y, Zhang W, Chen Q, Wu K, Luo H, Ouyang Q. Bio-Multifunctional Sponges Containing Alginate/Chitosan/Sargassum Polysaccharides Promote the Healing of Full-Thickness Wounds. Biomolecules. 2022;12(11):1601.
23. Jiang M, Li S, Ming P, Guo Y, Yuan L, Jiang X, Liu Y, Chen J, Xia D, He Y, Tao P. Rational design of porous structure-based sodium alginate/chitosan sponges loaded with green synthesized hybrid antibacterial agents for infected wound healing. Int J Biol Macromol. 2023;237(123944):123944.

24. Facchi DP, Lima AC, de Oliveira JH, Lazarin-Bidóia D, Nakamura CV, Canesin EA, Bonafé EG, Monteiro JP, Visentainer JV. Muniz EC, Martins AF. Polyelectrolyte complexes based on alginate/tanfloc: Optimization, characterization and medical application. Int J Biol Macromol. 2017;103:129–38.
25. Gil-Castell O, Badia JD, Bou J, Ribes-Greus Performance of polyester-based electrospun scaffolds under in vitro hydrolytic conditions: From short-term to long-term applications. Nanomaterials. 2019;9(5):786.
26. Carbajal-De la Torre G, Zurita-Méndez NN, Ballesteros-Almanza M de L, Ortiz-Ortiz J, Estévez M, Espinosa-Medina MA. Characterization and Evaluation of Composite Biomaterial Bioactive Glass–Polylactic Acid for Bone Tissue Engineering Applications. Polymers. 2022;14(15):3034.
27. International Standard. ISO 10993-13. Biological evaluation of medical devices. Europa: International Standard; 2013. 13.
28. Katrilaca Ch, Karipidou N, Petrou N, Manglaris Ch, Katrilakas G, Nektarios A, Pitou M, Tsiridis E, Choli-Papadopoulou T, Aggeli A. Freeze-Drying Process for the Fabrication of Collagen-
29. Fertah M, Belfkira A, Dahmane E, Taourirte M, Brouillete F. Extraction, and characterization of sodium alginate from Moroccan Laminaria digitata brown seaweed. Arabian Journal of Chemistry. 2014;10
30. Ramirez C, Delgado E, Andrade J. Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, FTIR Y Raman. Journal CIM. 2016; 4(1).
31. Based Sponges as Medical Devices in Biomedical Engineering. Materials. 2023; 16(4421):2-25.
32. Al-Mojed A, Assiri E, Khalil N,Abdel-Aziz H. Chapter Three - Losartan: Comprehensive Profile. En: Harry G. Brittai editor. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. Academic Press, 2015. p 159-194.
33. Gu B, Burgess D. Chapter 20 - Polymeric Materials in Drug Delivery. En: Sangamesh G. Kumbar and Cato T. Laurencin and Meng Deng. Natural and Synthetic Biomedical Polymers. Elsevier, 2014. P 333-349.
34. Shaikat D, Mohammad A, Taslim R, Zakir S, Md A, Mithun S, and Sayed S. Preparation Characterization and performance evaluation of chitosan as an adsorbent for Remazol red. IJLRET. 2016; 2; 52-62.
35. Isıklan N, Kursun F. Synthesis and characterization of graft copolymer of sodium

alginate and poly(itaconic acid) by the redox system. Polymer Bulletin. 2013; 70; 1065–1084.

36. Soares J, Santos J, Chierice G, Cavalheiro E. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. Ecl. Quím. 2004; 29(2): 53-56.
37. Monfared-Hajishirkiaee R, Ehtesabi H, Najafinobar S,Masoumian Z. Multifunctional chitosan/carbon dots/sodium alginate/zinc oxide double- layer sponge hydrogel with high antibacterial, mechanical and hemostatic properties.Open Nano. 2023; 12.
38. Kumar V, Dhote K, Prakash, Shukla T, Maheshwari R, Mishra D, Tekade R. Chapter 3 - Fundamentals of Polymers Science Applied in Pharmaceutical Product Development, Rakesh K. Tekade, In Advances in Pharmaceutical Product Development and Research, Basic Fundamentals of Drug Delivery, Academic Press, 2019, 85-112.
39. Schirrer R. Damage Mechanisms in Amorphous Glassy Polymers: Crazing, Jean Lemaitre, Handbook of Materials Behavior Models, Academic Press, 2001, 488-499,

18. ANEXOS

MUESTRA	SEM	FTIR	TGA	DSC	porosidad	hinchamiento	degradación	Resistencia a la compresión
1								
2								
3								