



Universidad de Guanajuato

División de Ciencias e Ingenierías

Campus León

Veranos de Investigación XXVII UG

Protocolo de práctica

Título : Síntesis de biomateriales tipo hidrogel a base de polímeros naturales (quitosano y alginato de sodio)

Autores:

Alanís Hernández C. A., Calixto Rodríguez B. D., Luna Mata E. M., Rangel Alvarado E. I. 1, Vargas Morales P. S.

Dra. Argelia Rosillo de la Torre & Dra. Laura Edith Castellano Torres

Programas Educativos a los que impacta:

Licenciatura en Ingeniería Biomédica
Licenciatura en Ingeniería Química Sustentable
Licenciatura en Ingeniería Física
Licenciatura en Biotecnología

UDAs en las que servirá de apoyo:

Biotecnología
Biomateriales
Biología Contemporánea

Fecha de realización: Julio, 2022 en León Guanajuato.

Título de la práctica: Síntesis de biomateriales tipo hidrogel a base de polímeros naturales (quitosano y alginato de sodio)

I FUNDAMENTOS

Los hidrogeles son materiales de alto contenido de agua, pero sin disolverse debido a sus uniones físicas y químicas formadas por cadenas de polímeros hidrofílicos. El agua penetra estas uniones causando absorción desde 10-20% hasta miles de veces su peso seco en agua y dando forma al hidrogel, aun presentando una alta afinidad por los medios acuosos, los hidrogeles exhiben sólo hinchamiento y no se disuelven en estos medios como consecuencia de los entrecruzamientos presentes en la estructura del hidrogel. Tienen una consistencia suave, elástica, de baja tensión superficial con el agua y fluidos biológicos; debido a estas características se ha encontrado que existe nula irritación en los tejidos adyacentes después de ser implantados. Además, debido a sus diversas propiedades similares a las de los tejidos biológicos, los hidrogeles son un biomaterial con una alta biocompatibilidad.

Hablamos de un biomaterial cuando nos referimos a un material, sintético o natural, que puede utilizarse en aplicaciones médicas para realizar una función corporal o reemplazar una parte o tejido del cuerpo así como para el suministro de fármacos o factores biológicos. Se han logrado grandes avances en cuanto a las aplicaciones y formulaciones, dentro de las cuales los hidrogeles a base de quitosano han demostrado tener distintas propiedades favorables para su uso en liberación prolongada de fármacos.

El quitosano es un polímero natural que se obtiene a partir de la quitina, uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza, el quitosano a partir de quitina se realiza por desacetilación de la misma, dejando libre el grupo amino del carbono 2. Algunas de sus propiedades funcionales son: biodegradabilidad, biocompatibilidad, mucoadhesión, hemostático, promotor de absorción, actividad antimicrobiana, anticolesterolémica y antioxidante. Dichas propiedades convierten a este polímero en un candidato ideal para utilizar como sistema de liberación controlado de fármacos, los cuales ofrecen liberación localizada de agentes terapéuticos. El método en el cual los fármacos son cargados crea un impacto en su disponibilidad de liberación, entre lo cuáles encontramos:

- Adición directa de fármacos a hidrogeles.
- Incorporación de sistemas de liberación separados en el hidrogel.
- Fijación covalente al polímero formador de hidrogel.

II OBJETIVOS

- Elaborar hidrogeles y esferas a partir de biopolímeros comerciales, grado reactivo.
- Determinar las propiedades físicas de los biomateriales como tamaño y peso.

III MATERIALES Y REACTIVOS

#	Material y consumibles	Capacidad	#	Equipo
1	Vaso de precipitados	250 mL	1	Parrilla de calentamiento con agitador magnético
1	Micropipeta	1 mL	1	Balanza analítica
1	Micropipeta	100 μ L	1	Agitador Vortex
1	Espátula		1	Vernier
1	Agitador magnético		1	Incubadora, baño termocirculador o estufa.
1	Caja de 24 pocillos		1	Potenciometro
1	Jeringa con aguja desechable	1 mL	1	Refrigerador

Reactivos			
<i>Se presentan sus fórmulas moleculares y sus rombos de seguridad.</i>			
Ácido acético	C_3H_6O	Hidróxido de sodio	$NaOH$

Cloruro de Calcio	$CaCl_2$	Quitosano	$(C_5O_3H_9NH_2)_n$

Alginato de sodio	$(C_6H_7O_6Na)_n$	Agua destilada	H_2O
Fosfato de sodio monobásico	NaH_2PO_4	Fosfato de sodio dibásico	Na_2HPO_4

IV PROTOCOLO

- *Preparación de la solución de quitosano al 3% p/v.*
 - Colocar 100 mL de ácido acético 0.5 M en un vaso de precipitados de 250 mL.
 - Agitar en la parrilla de calentamiento a 150 rpm por 2 minutos.
 - Agregar 3 g de quitosano.
 - Aumentar la velocidad de agitación a 800 rpm.
 - Mantener la solución en agitación hasta homogenizar (Alrededor de 24 horas).

- *Preparación de la solución de alginato de sodio al 3% p/v.*
 - Colocar 100 mL agua destilada en un vaso de precipitados de 250 mL.
 - Agitar en la parrilla de calentamiento a 150 rpm por 2 minutos.
 - Agregar 3 g de alginato de sodio.
 - Aumentar la velocidad de agitación a 800 rpm.
 - Mantener la solución en agitación hasta homogenizar (Alrededor de 24 horas).

- *Síntesis de hidrogeles*
 - Con ayuda de la micropipeta, tomar 3 mL de la solución polimérica de su elección (alginato/quitosano al 3%) y colóquelos en la placa de pocillos.
 - Para el hidrogel de quitosano, añada 400 μL de una solución NaOH 3M por cada hidrogel.
 - Para el hidrogel de alginato de sodio, añada 1 mL de una solución de cloruro de calcio a 5 %.
 - Reserve las soluciones bifásicas a temperatura ambiente por 24 horas.
 - Retire, con ayuda de una espátula los hidrogeles de los pocillos.
 - Realice mediciones de masa, volumen y elasticidad (se pueden realizar con el vernier o con otro instrumental).

- *Síntesis de esferas*
 - Con ayuda de una jeringa, cargue a 3 mL de la solución de solución polimérica (*Corte la punta de la aguja para mejorar la geometría de la esfera*).
 - Coloque, en un vaso de precipitados 100 mL de solución de cloruro de calcio al 5% y añada un agitador magnético, lleve las revoluciones en un parámetro de formación, es decir en donde se permita la formación de esferas y no gotas (varía en función de la parrilla).
 - Gotee lentamente el alginato hasta descargar la jeringa.
 - Deje 25 min reposar las esferas en la solución para propiciar la gelificación interna y no solamente de las paredes.

- *Caracterización del producto*
 - Para cada biomaterial generado, obtenga fotografías ilustrativas.
 - Para cada biomaterial generado, realice mediciones de:
 - Masa
 - Longitud (Diámetro y/o altura)
 - Resistencia mecánica al tacto
 - Calcule el tiempo de gelificación de los materiales.

V RESULTADOS

- Construya una tabla, en donde reporte la evidencia fotográfica obtenida.
- Calcule la media de las masas y dimensiones longitudinales de los biomateriales.
- Calcule la desviación estándar de los parámetros obtenidos
- Para las esferas, determine la relación del número de esferas por mL de solución polimérica, pruebe con diferente calibre de jeringas (30G, 27G, 23 G).
- Determine si el calibre de la jeringa influye en el promedio del número de esferas precipitadas por mL de solución polimérica $\left(\frac{\text{esferas}}{\text{mL}}\right)$.
- Reporte sus resultados en una tabla como la siguiente:

	BIOMATERIAL	MASA	TAMAÑO		NÚMERO DE ESFERAS POR mL DE POLIMERO
			Diámetro	Altura	
Esferas	Alginato de sodio	Xxxx ±xxx g	Xxxx ±xxx mm	----	Xxxx ±xxx
	Quitosano (PM medio)	Xxxx ±xxx g	Xxxx ±xxx mm	---	Xxxx ±xxx
Hidrogeles	Alginato de sodio	Xxxx ±xxx g	Xxxx ±xxx mm	Xxxx ±xxx mm	----
	Quitosano (PM medio)	Xxxx ±xxx g	Xxxx ±xxx mm	Xxxx ±xxx mm	----
	Quitosano (PM alto)	Xxxx ±xxx g	Xxxx ±xxx mm	Xxxx ±xxx mm	----

- En caso de decidir obtener esferas de quitosano, determine los parámetros de gelación ideales, para la formación de esferas y no lágrimas de quitosano de medio y alto peso molecular.
- Discuta las razones fisicoquímicas de la geometría en función a los parámetros conocidos. Explique el proceso de gelación del quitosano en presencia de una base, así como para el alginato en presencia de una sal.