



Comisión Nacional de Energía Atómica.
Instituto Balseiro.
Universidad de Buenos Aires.
Carrera de Especialización en Aplicaciones de la Energía Nuclear.

TRABAJO FINAL:

OBTENCIÓN DE HIDROGELES POR IRRADIACIÓN Y SU APLICACIÓN
EN COSMÉTICA.

Centro Atómico Ezeiza.
CEATEN

(Biblioteca Leo Falicov CAB-IB)

Inventario 24627
19/09/2022
Biblioteca Leo Falicov

*Dedico éste trabajo a:
Dios y a mi Madre.*

Resumen

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales caracterizadas por su capacidad de absorber grandes cantidades de agua o fluidos fisiológicos. Las características particulares de los hidrogeles, tales como su comportamiento reversible frente al hinchamiento-deshinchamiento e interesantes propiedades mecánicas, hacen a estos materiales muy atractivos para el área de cosmetología como se estudió en este trabajo.

La finalidad era fabricar y caracterizar dos clases de hidrogeles, sintetizados mediante el uso de las radiaciones ionizantes. Ambos fueron elaborados con una base de PVA-PVP en un 5% de concentración masa/volumen, y con determinadas concentraciones de agar y PEG para el hidrogel (A) mascarilla refrescante, agar y ácido láctico para el hidrogel (B) mascarilla de peeling. El resultado obtenido de la dosis de radiación más adecuada para el entrecruzamiento de dichos materiales fué de $30kGy$ a una tasa de dosis de $7,5kGy/h$.

La caracterización permitió determinar algunas propiedades de ambos hidrogeles luego de recibir la radiación. Los resultados fueron los siguientes: El análisis de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) indicó que ambos hidrogeles presentan una estructura polimérica amorfa. La Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) mostró que se mantienen los grupos funcionales característicos de los polímeros usados en la fabricación del hidrogel (A), para el hidrogel (B) no se pudo realizar este estudio por tener un pH menor a 4. El análisis de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) permitió observar la morfología de ambos materiales y determinar que el hidrogel (A) tenía un menor tamaño de poro que el (B). El análisis de tracción muestra el Módulo de Young de ambas hidrogeles. La cinética de hinchamiento indica que ambos hidrogeles alcanzan su nivel de saturación durante $48h$ aproximadamente. En los ensayos físico-químicos realizados a cada uno de los hidrogeles, se mostró que ambos son resistentes al aumento de temperatura, por lo tanto

presentan una estructura de hidrogel químico. El ensayo de pH mostró que el hidrogel (B) cumple con las condiciones para ser empleado como tratamiento de peeling, pues presenta un pH menor a 3, mientras que para el hidrogel (A) no se obtuvo un óptimo resultado. El estudio de citotoxicidad arrojó que el hidrogel (B) es un producto citotóxico, mientras que para el hidrogel (A) no se obtuvo un resultado concluyente.

El desarrollo de este trabajo fue elaborado en los Laboratorios de Biotecnología y Polímeros ubicados en el Centro Atómico Ezeiza (CAE). Las irradiaciones se hicieron en la Planta de Irradiación Semi Industrial (PISI) y los ensayos morfológicos se realizaron en el Departamento de Tecnología de las aleaciones de Circonio - Gerencia Ciclo del Combustible Nuclear.

Abstract

Hydrogels are three-dimensional polymer networks characterized by their ability to absorb large amounts of water or physiological fluids. The particular characteristics of the hydrogels, such as their reversible behavior against swelling-deflation and interesting mechanical properties, make these materials very attractive for the area of cosmetology as studied in this work.

The purpose was to manufacture and characterize two kinds of hydrogels, synthesized through the use of ionizing radiation. Both were made with a base of PVA-PVP in a 5% concentration/volume, and with certain concentrations of agar and PEG for the hydrogel (A) cooling mask, agar and liquid acid for the hydrogel (B) peeling mask. The result obtained from the most adequate radiation dose for the cross-linking of said materials was $30kGy$ and a dose rate of $7,5kGy/h$.

The characterization allowed to determine some properties of both hydrogels after receiving radiation. The results were the following: The Analysis of Differential Scanning Calorimetry (DSC) indicated that both hydrogels have an amorphous polymeric structure. Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR) showed that the functional groups characteristic of the polymers used in the manufacture of the hydrogel (A) are maintained, for the hydrogel (B) it was not possible to perform this study because it had a lower pH a 4. The analysis of Barrel Electron Microscopy (SEM) allowed us to observe the morphology of both materials and determine that the hydrogel (A) had a smaller pore size than (B). The traction analysis shows the Young's Module of both hydrogels. The kinetics of swelling indicate that both hydrogels reach their saturation level for approximately 48ha. In the physical-chemical tests carried out on each of the hydrogels, both were shown to be resistant to the increase in temperature, therefore they have a chemical hydrogel structure. The pH test showed that the hydrogel (B) complies with the conditions to be used as a peeling treatment, since it has a pH lower than 3, while for the hydrogel (A) an optimal result was not obtained. The study of throw

cytotoxicity that the hydrogel (B) is a cytotoxic product, while for the hydrogel (A) a conclusive result was not obtained.

The development of this work was elaborated in the Biotechnology and Polymers Laboratories located in the Ezeiza Atomic Center (CAE). Irradiation was done at the Semi Industrial Irradiation Plant (PISI) and morphological tests were carried out in the Technology Department of Zirconium Alloys - Nuclear Fuel Cycle Management.

Índice general

Resumen	II
Abstract	IV
Lista de figuras	IX
Lista de tablas	XI
1. Introducción	1
1.1. Objetivos	3
1.1.1. Objetivo General	3
1.1.2. Objetivos Específicos	3
2. Síntesis y Caracterización de Hidrogeles para su Aplicación en Cosmética	4
2.1. Generalidades de materiales poliméricos	4
2.1.1. Clasificación de los polímeros de acuerdo a su origen	5
2.1.2. Clasificación de los polímeros según su estructura	6
2.1.3. Clasificación de los polímeros según su comportamiento al calor	7
2.2. Síntesis de hidrogeles	7
2.3. Radiación ionizante como sintetizador de hidrogeles	9
2.3.1. Radiación gamma	9
2.3.2. Efectos de la radiación sobre polímeros	10
2.4. Técnicas de caracterización de los hidrogeles	10
2.4.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	10

2.4.2.	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)	11
2.4.3.	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	11
2.4.4.	Ensayo Mecánico de tracción	13
2.4.5.	Cinética de Hinchamiento	16
3.	Metodología Experimental	18
3.1.	Realización de la mezcla polimérica	18
3.2.	Irradiación de las muestras	19
3.3.	Determinación de pH	20
3.4.	Caracterización de hidrogeles	20
3.4.1.	Ensayo de propiedades térmicas por DSC	21
3.4.2.	Ensayo químico por FT-IR	21
3.4.3.	Ensayo morfológico por SEM	22
3.4.4.	Ensayo mecánico de tracción	22
3.4.5.	Ensayo de cinética de hinchamiento	23
3.4.6.	Ensayo Físico-Químico	23
3.5.	Estudio de citotoxicidad	24
4.	Resultados y Análisis	26
4.1.	Estudio cualitativo	26
4.2.	Medición de pH	27
4.3.	Caracterización de los hidrogeles	28
4.3.1.	Análisis de propiedades térmicas por DSC	28
4.3.2.	Análisis químico por FT-IR	33
4.3.3.	Análisis morfológico por SEM	38
4.3.4.	Análisis de tracción	40
4.3.5.	Análisis cinética de hinchamiento	44
4.3.6.	Análisis físico-químico	46
4.4.	Análisis de citotoxicidad	46

5. Conclusiones y Recomendaciones

48

Bibliografía

51

Índice de figuras

2.1. Esquema del Microscopio Electrónico de Barrido (SEM). [15]	12
2.2. Curva de tensión respecto a la deformación de un material. [17]	14
2.3. Ensayo de tracción	15
2.4. Estado colapsado e hinchado de un hidrogel. [7]	17
3.1. Esquema de las probetas usadas para los ensayos mecánicos de tracción.	23
4.1. Termograma del hidrogel A (elaborado con agar y PEG). Primer corrida.	29
4.2. Termograma del hidrogel B (elaborado con agar y ácido láctico). Primer corrida.	30
4.3. Termograma del hidrogel A (elaborado con agar y PEG). Segunda corrida.	31
4.4. Termograma del hidrogel B (elaborado con agar y ácido láctico). Segunda corrida.	31
4.5. Termograma del hidrogel A (elaborado con agar y PEG). Segunda corrida.	32
4.6. Termograma del hidrogel B (elaborado con agar y ácido láctico). Segunda corrida.	33
4.7. FTIR del ambiente en donde se realizaron los ensayos	34
4.8. FTIR del hidrogel fabricado con agar y PEG.	36
4.9. FTIR del hidrogel elaborado con agar y PEG (curva roja), y del PVA que lo conforma (curva azul).	36
4.10. FTIR del hidrogel elaborado con agar y PEG (curva roja), y del PVP que lo conforma (curva azul).	37
4.11. FTIR del hidrogel elaborado con agar y PEG (curva roja), y del agar que lo conforma (curva azul).	37
4.12. Morfología superficial del hidrogel que contiene agar y PEG.	38

4.13. Morfología superficial del hidrogel que contiene agar y ácido láctico.	39
4.14. Tamaño de poro de ambos hidrogeles en estudio. (Amplitud 1000x).	39
4.15. Esfuerzo versus Deformación para las probeta 1 de cada uno de los hidrogeles en estudio. .	40
4.16. Esfuerzo versus Deformación para las probeta 2 de cada uno de los hidrogeles en estudio. .	41
4.17. Esfuerzo versus Deformación para las probeta 3 de cada uno de los hidrogeles en estudio. .	41
4.18. Esfuerzo versus Deformación para las probeta 4 de cada uno de los hidrogeles en estudio. .	42
4.19. Esfuerzo versus Deformación para las probeta 5 de cada uno de los hidrogeles en estudio. .	42
4.20. Esfuerzo versus Deformación para las probeta 6 de cada uno de los hidrogeles en estudio. .	43
4.21. Gráfica de % de hinchamiento de los hidrogeles con respecto al tiempo.	45

Índice de cuadros

3.1. Relación de concentración masa/volumen, para cada 100ml de agua, de los compuestos empleados en la elaboración de los hidrogeles.	18
4.1. Características cualitativas de los hidrogeles según la concentración de agar, ácido láctico y dosis de radiación recibida.	27
4.2. Grupos funcionales presentes en la muestra del hidrogel formado por agar y PEG.	35
4.3. Cálculo de propiedades mecánicas para ambos hidrogeles en estudio.	44
4.4. Porcentaje de incremento de masa de los hidrogeles en estudio (Usando ecuación 2.4).	45
4.5. Cálculo de porcentaje de viabilidad haciendo uso de la expresión 3.1.	47

Capítulo 1

Introducción

Los hidrogeles son una red tridimensional polimérica, cuyos grupos funcionales son hidrofílicos, permitiendo así su hinchamiento en presencia de agua hasta alcanzar un equilibrio sin deformarse. Estos materiales responden a cambios físico-químicos tales como la composición del solvente, temperatura y pH.

Las características generales para algunos hidrogeles son: Biocompatibilidad, naturaleza inerte, biodegradabilidad (en caso de estar fabricados con polímeros naturales), buenas propiedades mecánicas y alta resistencia térmica (en caso de ser un hidrogel químico).

Algunas de las ramas entre las que se aprovechan sus propiedades son en biomédica, cuyas aplicaciones pueden ser: Sistemas de liberación controlada de principios activos, sustitución de tejidos blandos, reemplazo de conductos sanguíneos, recubrimiento de heridas, lentes de contacto, entre otras. Y en cosmetología, entre las cuales pueden encontrarse algunas aplicaciones que serán estudiadas más a fondo a lo largo de este trabajo: Como mascarilla refrescante, para la cual se debe obtener un pH de piel normal sana que oscile entre 5,2 y 5,5, ya que este tratamiento actuará como hidratante de piel equilibrando la acidéz natural de la misma y permitiendo que la epidermis cumpla con su función principal como protectora de agentes externos. Como mascarilla de peeling, cuyo pH es menor a 3, ya que está destinada a modificar la superficie cutánea para obtener una regeneración epidérmica eliminando células muertas presentes en la misma, para esto actúan como principio activo

los compuestos alfa-hidroxiácidos (AHA), que son ácidos orgánicos presentes en la naturaleza, y entre los cuales se encuentra el ácido láctico.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo General

Fabricar y caracterizar hidrogeles sintetizados con radiación gamma, cuya finalidad dermatológica sea obtener frescura y regeneración celular epidérmica.

1.1.2. Objetivos Específicos

1. Fabricar hidrogeles cuya base polimérica sea poli-vinil-alcohol (PVA) y poli-vinil-pirrolidona (PVP) con diferentes concentraciones de agar y polietilenglicol (PEG) para el hidrogel (A) mascarilla refrescante, y de agar y ácido láctico para el hidrogel (B) mascarilla de peeling y determinar experimentalmente cuál será la más adecuada para cumplir con sus funciones cosméticas especificadas.
2. Irradiar las muestras a diferentes dosis con una tasa de dosis fija, haciendo uso de radiación gamma con una fuente de ^{60}Co ubicada en la PISI (Planta de Irradiación Semi-Industrial) - Centro Atómico Ezeiza (CAE), y de este modo encontrar la dosis necesaria para modificar las propiedades del material a causa del entrecruzamiento.
3. Caracterizar los hidrogeles por análisis físico haciendo uso de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), químico empleando Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), morfológico mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), mecánico con ensayos de tensión, cinético por estudio de hinchamiento del material y análisis físico-químico.
4. Hacer estudio de citotoxicidad para observar si las moléculas presentes en los hidrogeles fabricados van a interactuar con células de la epidermis ocasionando su destrucción.
5. Determinar el pH de ambos hidrogeles, para confirmar que el hidrogel (A) presenta un pH entre 5,2 y 5,5 y que el hidrogel (B) presenta un pH entre 2,5 y 3,5, y pueda cada uno cumplir con su respectiva función.

Capítulo 2

Síntesis y Caracterización de Hidrogeles para su Aplicación en Cosmética

2.1. Generalidades de materiales poliméricos

Los polímeros son moléculas de gran tamaño, llamadas macromoléculas, constituidas por moléculas más pequeñas, unidades repetitivas, que se enlazan entre sí a partir de uniones covalentes. Las unidades repetitivas pueden disponerse de manera lineal, de forma semejante a los eslabones de una cadena ramificada donde encontramos una cadena central con cadenas laterales, o interconectadas formando retículos tridimensionales; la unidad repetitiva del polímero es el monómero y la longitud de la cadena viene determinada por el número de unidades que se repiten en la cadena denominado grado de polimerización. La masa molar de un polímero es el producto de la masa molar de la unidad repetitiva por el grado de polimerización. [2]

El alto peso molecular de los polímeros imparte a los materiales excelentes propiedades finales como resistencia, estabilidad dimensional y otras propiedades mecánicas.

2.1.1. Clasificación de los polímeros de acuerdo a su origen

- Polímeros naturales: Son aquellos provenientes del reino vegetal o animal, como la seda, lana, algodón, celulosa, almidón, agar, proteínas, caucho natural (látex o hule), ácidos nucleicos, como el ADN, entre otros. [2] Para el caso de este estudio en particular se hace uso del agar como polímero natural.
 - Agar: También conocido como agar-agar, es un polímero gelatinoso de fórmula $(C_{12}H_{18}O_9)_n$, obtenido principalmente de las algas rojas *Gelidium* y *Gracilaria*. Aunque el agar es insoluble en agua fría, llega a absorber hasta 20 veces su propio peso. [4] La agarosa, la fracción gelificante, constituye aproximadamente el 70 % de la mezcla, es una molécula lineal neutra esencialmente libre de sulfatos. La agarpectina, la fracción no gelificante, es un polisacárido sulfatado (sulfato del 3 % al 10 %), compuesto de agarosa y porcentajes variables de sulfato de éster, ácido D-glucurónico y pequeñas cantidades de ácido pirúvico. La proporción de estos dos polímeros varía según las especies de algas. [5]
- Polímeros semi-sintéticos: Se obtienen por transformación de polímeros naturales. Por ejemplo, la nitrocelulosa o el caucho vulcanizado.
- Polímeros sintéticos: Son los obtenidos a partir de procesos químicos desarrollados por el hombre. Esta categoría incluye todos los plásticos, entre los cuales es posible mencionar el nylon, el poli(estireno) PS, el poli(cloruro de vinilo) PVC y el poli(etileno) PE, entre otros. La gran variedad de propiedades físicas y químicas de estos compuestos permite aplicarlos en construcción, embalaje, industria automotriz, aeronáutica, electrónica, alimenticia, en la agricultura o la medicina. [2] Para el caso de este estudio se hace uso del PVA (Poli-Vinil-Alcohol), PVP (Poli-Vinil-Pirrolidona) y PEG (Polietilenglicol) como polímero artificial.
 - PVA-PVP: Estos son los polímeros más utilizados en la preparación de hidrogeles. Debido a su hidrofilia, no toxicidad y facilidad para formar complejos, se utilizan en medicina, en las industrias farmacéuticas y de alimentos. Basándose en estudios anteriores del grado de hinchamiento, pegajosidad (respecto al recipiente que lo contiene) y adhesividad a la piel

de estos hidrogeles, se puede decir que las propiedades de pegajosidad y adhesión a la piel están en relación directa con el aumento de la concentración de PVA en la mezcla. Las películas con altas concentraciones de PVA y bajas dosis de radiación gamma presentan baja adhesión. Por su parte, el PVP ejerce un efecto rigidizante que aumenta con la dosis. [6]

- PEG: Son uno de los materiales más ampliamente estudiados y usados para aplicaciones biomédicas. Los hidrogeles de PEG son no tóxicos y no inmunogénicos. En muchos casos, se ha aplicado como un “material silencioso” ya que es inerte a la mayoría de las moléculas biológicas tales como proteínas. Su habilidad de ser soluble tanto en agua como en solventes orgánicos permite que pueda ser funcionalizado fácilmente y que la conjugación química a nanopartículas o biomoléculas, pueda hacerse en condiciones suaves que no afecten la estabilidad de estas. Debido a su alta flexibilidad y a la unión de las moléculas de agua el PEG actúa como si fuera 5-10 veces más grande que una proteína soluble de masa molecular comparable. [7]

2.1.2. Clasificación de los polímeros según su estructura

- Polímeros amorfos: El estado amorfo puede ser alcanzado por agrupación de macromoléculas lineales o ramificadas sin que exista un principio ordenador de la disposición de las cadenas, o bien por estructuras fuertemente reticuladas que suelen poseer una disposición irregular de las cadenas. Estos sólo presentan temperatura vítrea de transición (T_g).
- Polímeros cristalinos: El estado cristalino de los polímeros se caracteriza por un orden tridimensional de, al menos, una parte de las cadenas e, independientemente de los detalles de la estructura, las moléculas se alinean paralelamente unas con otras, tomándose como principio general que todas las moléculas que tienen una cierta regularidad estructural pueden cristalizar bajo determinadas condiciones de temperatura, presión, tensión o por influencia del medio, adoptando conformaciones totalmente extendidas, o bien alguna de las muchas conformaciones helicoidales conocidas. Estos materiales sólo presentan T_f .
- Polímeros semi-cristalinos: El modelo más aceptado distingue una región ordenada cristalina,

una región interfacial y una región amorfa. Las regiones cristalinas están formadas por secuencias de las cadenas polímeras en conformaciones ordenadas. La región interfacial viene determinada por la reentrada en el cristalito de parte de la cadena. Finalmente, la región amorfa viene caracterizada por partes de la cadena en conformaciones desordenadas. Estos presentan Tg y temperatura de fusión (Tf) [8]

2.1.3. Clasificación de los polímeros según su comportamiento al calor

- Polímeros termoplásticos: Estos se ablandan por la acción del calor y vuelven a endurecerse cuando se enfrían. Este proceso puede repetirse indefinidamente.
- Polímeros termoestables: Son aquellos que sólo pueden ser moldeados una vez por acción del calor.
- Polímeros elastómeros: Se caracterizan por su elevada elasticidad, es decir, recuperan su forma primitiva una vez que se retira la fuerza que los deforma. [9]

2.2. Síntesis de hidrogeles

El concepto síntesis proviene del griego y significa reunir. Químicamente se define como la formación de compuestos químicos a partir de sus elementos o de otras sustancias químicas sencillas. Esta reacción química de síntesis, por lo cual se obtienen los polímeros, se denomina polimerización. [7]

Cuando se sintetizan hidrogeles, se puede elegir entre un gran número de monómeros. En este estudio se hace uso de monómeros con grupos funcionales ionizables: como por ejemplo, los ácidos, acrílicos, metacrílicos, itacónico, sulfónicos y aminas; de los cuales se obtienen hidrogeles que absorben gran cantidad de agua y tienen pobres propiedades mecánicas. [7]

Los enlaces inter e intramoleculares vienen dados por la generación de enlaces físicos y químicos entre las moléculas de los polímeros usados en la fabricación del hidrogel.

- Enlaces físicos: Son uniones débiles entre las moléculas para constituir sustancias homogéneas pero separables por mecanismos físicos.
 - Puente de hidrógeno: El concepto refiere a una clase de enlace que se produce a partir de la atracción existente en un átomo de hidrógeno y un átomo de oxígeno, flúor o nitrógeno con carga negativa. Dicha atracción, por su parte, se conoce como interacción dipolo-dipolo y vincula el polo positivo de una molécula con el polo negativo de otra. El átomo de hidrógeno, que cuenta con carga positiva, se conoce como átomo donante, mientras que el átomo de oxígeno, fluor o nitrógeno es el átomo aceptor del enlace. [10]

Este tipo de enlace se alcanza por la naturaleza del agar (polímero natural usado) cuando la mezcla polimérica alcanza la temperatura ambiente (aproximadamente $27^{\circ}C$).

- Enlaces químicos: Son la fusión de átomos y moléculas para formar compuestos químicos más grandes y complejos dotados de estabilidad. En este proceso los átomos o moléculas alteran sus propiedades físicas y químicas, constituyendo nuevas sustancias homogéneas (no mezclas), inseparables a través de mecanismos físicos como el filtrado o el tamizado. De manera semejante, estos enlaces pueden romperse bajo ciertas y determinadas condiciones como al ser sometidos a cantidades de calor, a la acción de la electricidad, o a la de sustancias que rompan la unión existente y propicien otras nuevas junturas.
 - Enlace covalente: Ocurre entre átomos no metálicos y de cargas electromagnéticas semejantes (por lo general altas), que se juntan y comparten algunos pares de electrones de su última órbita (la más externa), y consiguen una forma eléctrica más estable. Es el tipo de enlace predominante en las moléculas orgánicas y puede ser de tres tipos: simple, doble y triple, dependiendo de la cantidad de electrones compartidos. [11]

Este tipo de enlace se alcanza con la irradiación del hidrogel a dosis de décimas de kGy usando una fuente de ^{60}Co ubicada en la Planta de Irradiación Semi-Industrial (PISI) en el Centro Atómico Ezeiza (CAE).

2.3. Radiación ionizante como sintetizador de hidrogeles

El Uso de las radiaciones ionizantes como modificador de propiedades físicas, químicas o biológicas de los materiales irradiados, se conoce desde la década de los 60.

Actualmente las principales aplicaciones industriales son la esterilización de productos biomédicos, cosméticos y farmacéuticos, materiales para embalajes en la industria alimenticia, irradiación de alimentos y productos agrícolas, para su desinfección, inhibición de la brotación, prolongación de la vida útil, control de plagas y aspectos fitosanitarios y cuarentenarios entre otros.

El tratamiento consiste básicamente en someter a los productos a un campo intenso de radiaciones ionizantes, donde la variable del proceso es el tiempo de exposición y por ende la dosis de radiación absorbida por el producto. [12]

2.3.1. Radiación gamma

La radiación gamma es un método físico valioso para inducir cambios químicos que modifican la estructura y propiedades finales de los polímeros. En este estudio se hace uso de radiación gamma de ^{60}Co , esta presenta ventajas frente a los métodos químicos tradicionales, fundamentalmente porque produce radicales libres sin necesidad de usar compuestos químicos, en forma sencilla y a temperatura ambiente, y en forma proporcional a la dosis de radiación aplicada. Estos radicales promueven la síntesis radicalaria pudiéndose obtener homo- y copolímeros. Por otro lado, los radicales libres generados por radiación producen en los polímeros reacciones de entrecruzamiento y/o escisión de cadena modificando su estructura.

La aplicación de radiación gamma para producir entrecruzamiento de cadenas se emplea actualmente en la preparación de hidrogeles dado que es posible controlar el grado de entrecruzamientos obtenidos en función de la dosis y de la tasa de dosis. Los entrecruzamientos condicionan el grado de hinchamiento de los hidrogeles en solución acuosa y esto a su vez está directamente relacionado con la cinética de liberación de principios activos. [2]

2.3.2. Efectos de la radiación sobre polímeros

Los cambios químicos por efecto de la radiación dependen fuertemente de la estabilidad de los enlaces y del peso molecular del polímero. El corte de cadenas degrada el material ya que al cortar las macromoléculas reduce su peso molecular y por ende su resistencia mecánica. Por otro lado, la combinación de radicales que unen una cadena con otra, genera el fenómeno de entrecruzamiento que aumenta el peso molecular del material. Este entrecruzamiento eleva el punto de fusión del polímero y lo hace insoluble en los solventes que normalmente suelen atacarlo. Hay polímeros en los cuales la irradiación produce más cortes de cadena que entrecruzamiento y otros en los que ocurre lo contrario. Los polímeros en los cuales el mecanismo predominante es el corte de cadenas, son denominados como de revelado "positivo". Las zonas irradiadas se disuelven más rápidamente que las zonas no afectadas por la radiación. Mientras que los polímeros donde predomina el entrecruzamiento se denominan de revelado "negativo". En estos últimos las zonas irradiadas son menos solubles y son más resistentes al ataque químico del disolvente. Los polímeros que tienden a realizar entrecruzamiento, si son irradiados en presencia de aire pueden producir cortes de cadena sin que se entrecrucen. [13]

2.4. Técnicas de caracterización de los hidrogeles

2.4.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

El calorímetro diferencial de barrido, es un instrumento fundamental del análisis térmico. Puede emplearse en muchas industrias para aplicaciones farmacéuticas y poliméricas, en nanomateriales y productos alimenticios. La información generada por estos instrumentos se utiliza para comprender el comportamiento amorfo y cristalino, las transiciones polimórficas y eutécticas, el curado y el grado de curado, y muchas otras propiedades de materiales para el diseño, fabricación y evaluación de productos.

El mayor beneficio de DSC es la facilidad y rapidez para detectar la transición de los materiales.

Para el análisis de cualquier tipo de material polimérico, la transición vítrea resulta importante para entender dicho material. En cristales líquidos, metales, productos farmacéuticos y materiales orgánicos puros se pueden observar cambios de fase o polimórficos y estudiar el grado de pureza. Para el procesamiento o destilación de materiales, conocer su capacidad calorífica y los cambios en el contenido de calor (denominado entalpía) del material resulta útil para calcular la eficiencia de los procesos. [14]

2.4.2. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

La Espectroscopía de absorción infrarroja es una técnica espectroscópica donde se analizan las vibraciones a nivel molecular en un rango de absorción de 400 a 4000cm^{-1} . La técnica se fundamenta en la absorción de la radiación IR por los enlaces entre los diversos átomos y/o grupos funcionales de las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para que se dé una transición vibracional de la molécula. En principio todas las moléculas presentan un espectro IR característico debido a la presencia de ciertos grupos funcionales en la molécula, exceptuando las especies diatómicas homonucleares como O_2 y Br_2 , que debido a que carecen de momento dipolar permanente, al ser irradiadas con radiación infrarroja no se produce interacción radiación-materia y por consiguiente no dan señal en la zona infrarroja. [7]

2.4.3. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El Microscopio Electrónico de Barrido, se encuentra principalmente compuesto por un emisor de electrones, una columna y diferentes lentes electromagnéticas. La función del emisor es generar un haz de electrones (electrones incidentes) con una energía entre 200eV y 30keV , el cual viaja a través de la columna (Vacío de 10^{-4}Pa). En la columna el haz de electrones pasa a través de las diferentes lentes electromagnéticas y un sistema de deflexión que permite manipular el haz de electrones para poder llevar a cabo un barrido superficial de la muestra.

Una vez que los electrones incidentes interactúan con la superficie de la muestra se generan

diferentes señales: electrones secundarios, electrones retro-dispersados, rayos x, entre otras. Estas señales son capturadas por distintos tipos de detectores, ayudando a obtener información morfológica y de composición química superficial de la muestra. El esquema del SEM puede verse en la figura 2.1. [15]

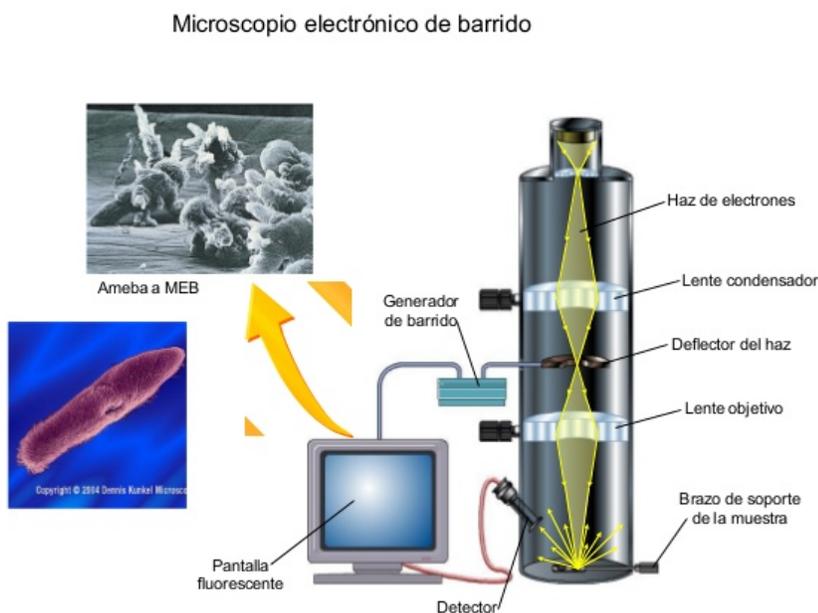


Figura 2.1: Esquema del Microscopio Electrónico de Barrido (SEM). [15]

- **Electrones secundarios:** Se producen cuando un electrón del haz pasa muy cerca del núcleo de un átomo de la muestra, proporcionando la suficiente energía a uno o varios de los electrones interiores para saltar fuera de la muestra. Estos electrones son de muy baja energía (por debajo de 5eV), por lo que deben encontrarse muy cerca de la superficie para poder escapar. Precisamente por eso proporcionan una valiosa información topográfica de la muestra, y son los utilizados principalmente en microscopía de barrido.
- **Electrones retrodispersados:** Se producen cuando un electrón del haz choca frontalmente con el núcleo de un átomo de la muestra, siendo repelido en sentido contrario fuera de la muestra. La intensidad de dicho efecto varía proporcionalmente con el número atómico de la muestra. Por

esta razón se utilizan para obtener un mapa con información sobre la composición superficial de la muestra, también utilizado en microscopía de barrido.

- **Electrones Auger:** Cuando un electrón secundario es expulsado del átomo, otro electrón más externo puede saltar hacia el interior para llenar este hueco. El exceso de energía provocado por este desplazamiento puede ser corregido emitiendo un nuevo electrón de la capa más externa. Estos son los llamados electrones Auger, y son utilizados para obtener información sobre la composición de pequeñas partes de la superficie de la muestra.
- **Rayos X:** En el proceso descrito anteriormente, el exceso de energía también puede ser balanceada mediante la emisión de rayos X. Éstos son característicos de cada elemento de la muestra, por lo que se utilizan para obtener información sobre la composición de la muestra. A diferencia de los electrones Auger de baja energía, los rayos X proporcionan información analítica de un volumen considerable de la muestra. [16]

2.4.4. Ensayo Mecánico de tracción

Este ensayo es utilizado para medir la resistencia de un material a una fuerza estática o aplicada lentamente. La prueba consiste en someter a una probeta normalizada a una fuerza de tensión, ejercida gradualmente, con el fin de conocer ciertas propiedades mecánicas de materiales en general: su resistencia, rigidez y ductilidad. En el caso de los elastómeros (polímeros de hule o siliconas) una gran parte de la deformación es elástica y no lineal. En la figura 2.2 se puede ver el comportamiento genérico de un material cuando es sometido a una fuerza de tracción, en esta se puede ver la gráfica de esfuerzo o tensión respecto a la deformación del material. [17]

- **Deformación elástica:** Definimos elasticidad como la propiedad de un material en virtud de la cual las deformaciones causadas por la aplicación de una fuerza desaparecen cuando cesa la acción de la fuerza. “Un cuerpo completamente elástico se concibe como uno de los que recobra completamente su forma y dimensiones originales al retirarse la carga”. El grado con que una estructura se deforma depende de la magnitud de la tensión impuesta. Para muchos metales sometidos a esfuerzos de tracción pequeños, la tensión y la deformación son proporcionales

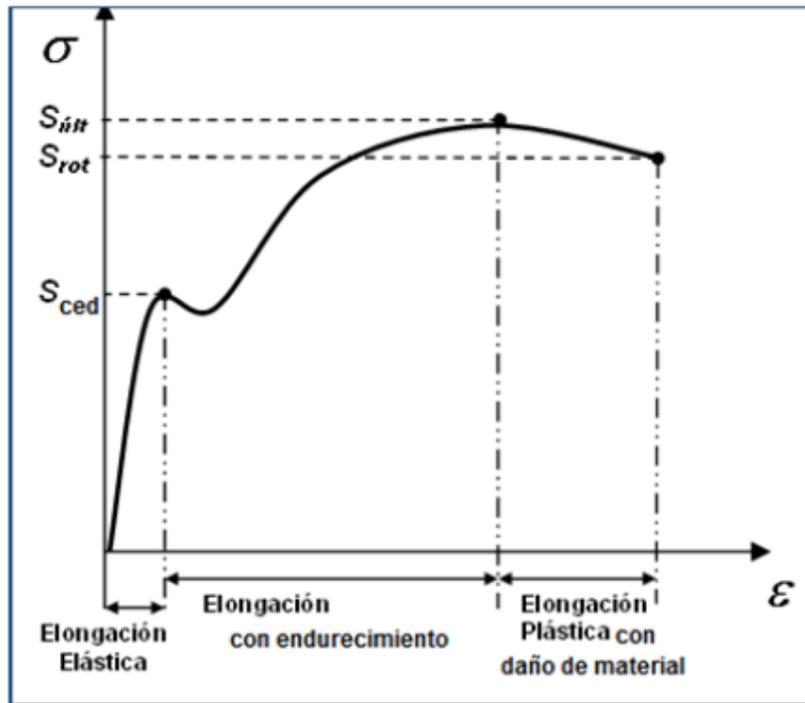


Figura 2.2: Curva de tensión respecto a la deformación de un material. [17]

según la relación 2.1:

$$\sigma = E\epsilon \quad (2.1)$$

Esta relación se conoce con el nombre de Ley de Hooke, y la constante de proporcionalidad, E (MPa) es el módulo de elasticidad, o módulo de Young.

La deformación de dicho material viene dado por la ecuación 2.2

$$\epsilon = \frac{L_1 - L_o}{L_o} \quad (2.2)$$

Donde L_1 es la longitud de la muestra luego de aplicar una fuerza de tracción y L_o es la longitud inicial de la muestra.

Y el esfuerzo puede determinarse además como se muestra en la expresión 2.3

$$\sigma = \frac{F}{A_o} \quad (2.3)$$

Donde F es la fuerza aplicada al material para ocasionar una determinada deformación y A_0 es el área transversal de dicho material. Se puede ver un esquema de este ensayo en la figura 2.3

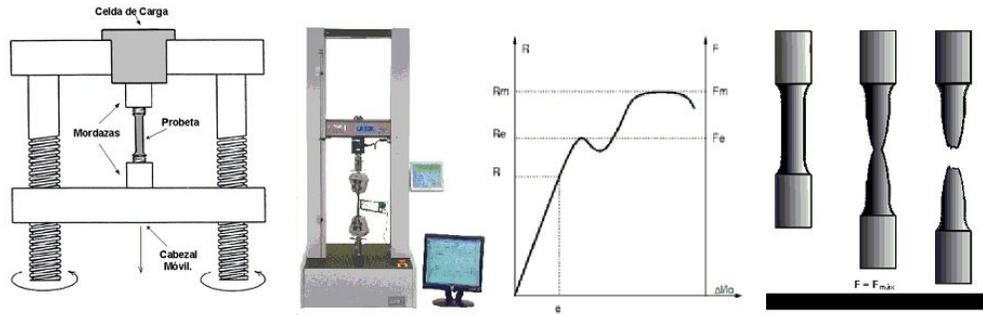


Figura 2.3: Ensayo de tracción

Cuando se cumple que la deformación es proporcional a la tensión, la deformación se denomina deformación elástica; al representar la tensión en el eje de coordenadas en función de la deformación en el eje de abscisas se obtiene una relación lineal, como la que se muestra en la curva de la figura 2.2 hasta el punto S_{ced} .

La pendiente de este segmento lineal corresponde al módulo de elasticidad E . Este módulo puede ser interpretado como la rigidez, o sea, la resistencia de un material a la deformación elástica. Cuanto mayor es el módulo, más rígido es el material, o sea, menor es la deformación elástica que se origina cuando se aplica una determinada tensión.

- **Deformación plástica:** Definimos como plasticidad a aquella propiedad que permite al material soportar una deformación permanente sin fracturarse. Todo cuerpo al soportar una fuerza aplicada trata de deformarse en el sentido de aplicación de la fuerza. En el caso del ensayo de tracción, la fuerza se aplica en dirección del eje de ella y por eso se denomina axial, la probeta se alargara en dirección de su longitud y se encogerá en el sentido o plano perpendicular. Aunque el esfuerzo y la deformación ocurren simultáneamente en el ensayo, los dos conceptos son completamente distintos.

A medida que el material se deforma más allá de este punto, la tensión deja de ser proporcional a la deformación y ocurre deformación plástica, la cual es permanente, es decir no recuperable. [18]

2.4.5. Cinética de Hinchamiento

Cuando un hidrogel se somete a secado, el agua se evapora causando el colapso de la estructura. El gel pasa de un estado expandido, de máximo hinchamiento, a un estado colapsado con la consiguiente expulsión del disolvente. Este proceso es reversible.

En el estado seco, denominado xerogel, el gel es un material sólido, pero en presencia de agua se expande hasta alcanzar el hinchamiento en el equilibrio. Este último estado resulta de un balance entre las fuerzas osmóticas (difusión pasiva, caracterizada por el paso del agua, disolvente, a través de la membrana semipermeable, desde la solución más diluida a la más concentrada) que causan que el agua penetre entre las cadenas del polímero hidrófilo y las fuerzas cohesivas (Es la propiedad de las moléculas, de como se pegan entre sí, siendo fuerzas de carácter atractivo.) existentes entre estas cadenas que oponen resistencia a la expansión.

Durante el hinchamiento, las cadenas que conforman la red se estiran. Simultáneamente aparece una fuerza retráctil en oposición al proceso de hinchamiento, ejercida por las cadenas de la red sobre el disolvente contenido en ella. El hinchamiento alcanza su valor máximo, o de equilibrio, cuando se obtiene un balance entre ambas fuerzas. Esto puede verse en la figura 2.4. [7]

Para determinar el porcentaje de aumento en peso de un hidrogel debido al hinchamiento se hace uso de la expresión 2.4.

$$\%IM = \frac{MH - MX}{MX} \times 100 \quad (2.4)$$

Donde:

IM es el incremento en masa.

MH es la masa luego de alcanzar la saturación de hinchamiento.

MX es la masa del xerogel.

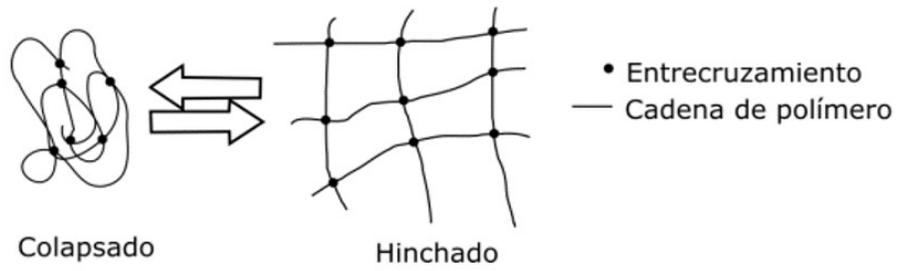


Figura 2.4: Estado colapsado e hinchado de un hidrogel. [7]

Capítulo 3

Metodología Experimental

3.1. Realización de la mezcla polimérica

Según experiencias anteriores se sabe que concentraciones de PVA/PVP deben usarse para obtener un hidrogel óptimo. En este trabajo se estudia el agregado de PEG, agar y ácido láctico para la fabricación de dos hidrogeles cosméticos: A) Refrescante. B) Peeling.

Las concentraciones analizadas para cada uno de estos hidrogeles se muestran en la tabla 3.1, para determinar así de forma cualitativa cuál es la más favorable para cumplir con el objetivo planteado.

Tabla 3.1: Relación de concentración masa/volumen, para cada 100ml de agua, de los compuestos empleados en la elaboración de los hidrogeles.

Material	%m/v Hidrogel A)	%m/v Hidrogel B)
PVP	5	5
PVA	5	5
Agar	2; 2,5 y 3	2; 2,5 y 3
PEG	1,5	0
Ácido Láctico	0	1,5; 3 y 5

Haciendo uso de un agitador magnético marca Daihan Scientific Wisd, se realiza la disolución de

los polímeros PVA/PVP a un 50/50 en concentración de volúmen en 300ml de agua destilada a una temperatura de 80°C, con una velocidad constante de 340rpm, durante dos horas.

La mezcla final se vierte en el molde deseado. Para este caso se hace uso de una placa rectangular cuyas dimensiones son de 6x4x1cm cubriendo un espesor de 4mm. Esta mezcla se recubre con un film plástico que es colocado tanto en la parte superior como inferior de la misma para evitar que se adhiere al molde. Luego se deja la solución en reposo a temperatura ambiente hasta que gelifique. Finalmente se desmolda, observando que la consistencia de la mezcla se logra debido a la generación de enlaces de puente de hidrógeno que se forman por la presencia del agar.

A la mezcla empleada para la fabricación del hidrogel refrescante de piel se le agrega PEG, por su función como emoliente (que ayudan a suavizar y lubricar la piel), y por su actuación como vehículo para que otros ingredientes penetren más en la piel. Mientras que a la mezcla usada para la fabricación del hidrogel de peelin se le agrega ácido láctico, para obtener un pH ácido y por tratarse de una fuente de alfa hidroxiaácido (AHA).

3.2. Irradiación de las muestras

Las muestras poliméricas se irradian a diferentes dosis (25kGy y 30kGy), haciendo uso de una fuente de ⁶⁰Co ubicada en la Planta de Irradiación Semi-Industrial (PISI) del CAE. En ambos productos se evalúan cualitativamente las propiedades de pagajocidad y elasticidad para determinar cual de las dosis es la más adecuada.

Entre las muestras se disponen varios dosímetros de alanina que permitan determinar la dosis de radiación recibida en cada punto de la caja. El sistema de dosimetría se basa en la espectrometría por resonancia paramagnética electrónica (EPR) de radicales libres derivados del amino ácido alanina. El sistema dosimétrico alanina-EPR, es utilizado para determinar la dosis absorbida que consta de dosímetros de alanina, espectrómetro de EPR y sus materiales de referencia asociados, y procedimientos para el uso del sistema. La espectroscopia EPR consiste en la medición de la absorción de

energía electromagnética en estado de resonancia que resulta de la transición de electrones libres entre diferentes niveles de energía, cuando se aplican radiofrecuencias a una sustancia paramagnética en presencia de un campo magnético. Para este procedimiento se hace uso de la Norma IRAM 39008.

Las muestras se colocan a una distancia de la fuente de 47,5 *cm* y se rotan durante la irradiación, para de ese modo tener uniformidad en la dosis de radiación recibida por cada una de ellas y disminuir el margen de error.

3.3. Determinación de pH

Para que los hidrogeles (A) y (B) cumplan con la función especificada para cada uno, se debe considerar como característica importante su valor de pH.

La medición se realiza sobre cuatro hidrogeles del tipo (A) y cuatro hidrogeles del tipo (B). El pH es determinado en tres puntos diferentes para cada uno de los ocho hidrogeles mencionados, haciendo uso de un phmetro de superficie marca Altronic Modelo EZDO-PC, cuyo medidor consta de un electrodo que se coloca en contacto directo con la muestra.

Antes de la medición, se hace una calibración del instrumento que consiste en sumergir el electrodo en dos soluciones, una de pH ácido (4) y una de pH básico (7), y se fija el valor de cada una de estas.

3.4. Caracterización de hidrogeles

Para la caracterización se realizan análisis físico-químicos del material con las técnicas de Calorimetría Diferencial de barrido (DSC), Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR), estudio morfológico mediante Microscopía Óptica de Barrido (SEM), ensayos mecánicos y cinética de hinchamiento.

3.4.1. Ensayo de propiedades térmicas por DSC

El estudio de DSC es empleado para el análisis térmico de los hidrogeles, pues este permite medir el flujo de calor absorbido o liberado por el material en función de la temperatura para comprender el comportamiento semi-cristalino o amorfo de los polímeros presentes en la muestra.

La realización del ensayo se basa en una cámara térmica dentro de la cual se coloca una cápsula de aluminio de 55mg que contiene la muestra de 5mg del hidrogel deshidratado, junto a otra cápsula vacía de la misma naturaleza que es usada como referencia para la medición. Se somete el hidrogel a una temperatura máxima de 300°C con un gradiente térmico de $20^\circ\text{C}/\text{min}$ y se obtienen los cambios producidos en su capacidad calorífica a lo largo del transcurso del ensayo medida que se modifica el flujo de calor.

Esto permite detectar transiciones de primer y segundo orden como temperatura de fusión (Tf), temperatura de transición vítrea (Tg), cambios de fase y curado, según el tipo de polímero en estudio.

3.4.2. Ensayo químico por FT-IR

La caracterización por FT-IR es una técnica donde se analizan las vibraciones a nivel molecular en un rango de absorción o transmisión de la onda incidente sobre el material. Los espectrómetros utilizados para la obtención del infrarrojo constan de una fuente de luz, monocromador o interferómetro y un detector, los cuales permiten la obtención de espectros en la región comprendida entre 780nm a 25000nm (12800cm^{-1} a 400cm^{-1}) que se obtienen en el dominio de la frecuencia con ayuda de la transformada de Fourier.

En el estudio de los hidrogeles se coloca parte de la muestra sobre el haz incidente emitido por el instrumento de medición y se determina el espectro de transmitancia o absorbancia respecto a la longitud de onda característica del material, y de este modo se observa si los polímeros usados para la fabricación de los hidrogeles han sido modificados molecularmente por efectos de la radiación, comparando dicho espectro con los característicos de los polímeros de PVA, PVP y agar.

3.4.3. Ensayo morfológico por SEM

La técnica de SEM utiliza una emisión de electrones para examinar la superficie o topología de una muestra y construir una imagen bien detallada en tres dimensiones de la misma. La técnica requiere que la muestra previamente liofilizada sea conductora, por lo tanto esta se recubre con una capa de un metal que en este caso es oro y paladio. Posteriormente se posiciona dentro de la cámara de vacío del microscopio y se barre con los electrones acelerados que viajan a través del cañón. La interacción de los electrones emitidos y los átomos de la muestra genera electrones secundarios que van a un detector ubicado dentro de la cámara y las señales se proyectan en una imagen digital, para de este modo observar y analizar la porosidad y morfología del hidrogel a gran escala. Se usa bajo vacío y una tensión de $15kV$.

Estas pruebas se realizan en el Laboratorio de Materiales fabricación de Aleaciones Especiales (Departamento de Tecnología de las aleaciones de Circonio - Gerencia Ciclo del Combustible Nuclear), ubicado en el CAE.

3.4.4. Ensayo mecánico de tracción

El ensayo de tracción se basa en la realización de pruebas destructivas que permiten analizar propiedades mecánicas de los materiales tal como lo son, el módulo de elasticidad de Young, la tensión a la rotura, la deformación a la rotura y la elongación de la muestra.

Para la realización de esta prueba se hace uso de una máquina de ensayos mecánicos INSTRON, por medio de la cual se aplica una fuerza uniaxial en el sentido del eje de la muestra en estudio con una velocidad de $5mm/min$. Se toman seis probetas para cada uno de los hidrogeles en estudio, cuyas dimensiones son $D_o = 6,35mm$ de ancho y $L_o = 25,7mm$ de largo, como se muestra en la figura 3.1. Para el montaje de cada probeta se hace uso de un trozo de tela de campo quirúrgico como accesorio adicional, que se coloca en las mordazas de la INSTRON, y permite sostener la probeta sin que esta deslice al momento de llevar a cabo el ensayo. A medida que se deforma la muestra, se registra la fuerza (carga) que es aplicada sobre ella, llegando generalmente hasta la fractura de

la pieza. Así pues, el resultado inmediato es una curva de esfuerzo respecto a la elongación. Para este ensayo la temperatura aproximada de las muestras debe ser de aproximadamente 23°C como lo indica la norma de ensayos mecánicos ASTM D412.

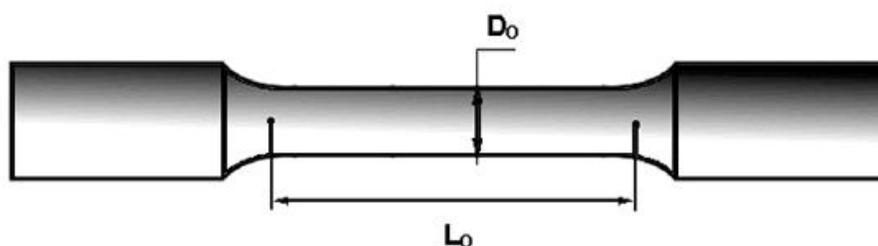


Figura 3.1: Esquema de las probetas usadas para los ensayos mecánicos de tracción.

3.4.5. Ensayo de cinética de hinchamiento

El estudio de hinchamiento del hidrogel es un método de prueba para determinar la tasa de absorción de agua de un material polimérico.

Para la realización de este estudio se toman tres hidrogeles, como es indicado por la norma ASTM D570, de masas y espesores conocidos y se deshidratan durante $24h$ en un horno a 50°C de temperatura, para obtener el xerogel (hidrogel seco), a los cuales se les miden nuevamente sus masas y se sumergen en agua destilada a 23°C , midiendo así la masa de cada hidrogel cada $30min$ durante las tres primeras horas de la prueba que es el tiempo durante el cual se observa mayor variación de hinchamiento, luego la medición de masa se realiza cada $1h$ durante las próximas tres horas y finalmente se determina cada $24h$ durante los próximos tres días hasta hallar la saturación del hidrogel. Una vez obtenidos los datos se realiza una curva de hinchamiento con respecto al tiempo.

3.4.6. Ensayo Físico-Químico

Según la dosis de radiación absorbida por la solución polimérica se tiene un entrecruzamiento que le da a estos materiales la característica de hidrogel. Se demuestra que el nivel de entrecruzamiento del hidrogel es el adecuado cuando este es sometido a altas temperaturas y no se modifica su

estructura. Para esto se realiza un ensayo físico-químico, que consiste en sumergir los hidrogeles en agua destilada a temperatura ambiente e ir aumentando dicha temperatura hasta llegar al punto de ebullición ($100^{\circ}C$) y se observa que no haya descomposición del material demostrando así que se está trabajando con hidrogeles químicos.

3.5. Estudio de citotoxicidad

Los ensayos de citotoxicidad in vitro se realizan para conocer la respuesta de las células frente a un producto. Para esto se utilizan líneas celulares, en este caso células VERO que son obtenidas del riñón del mono verde africano. Las células crecen adheridas a la superficie de las placas usadas y se colocan en contacto directo con el material en estudio o con extractos hechos a partir del mismo. Estos extractos se realizan según el lineamiento de la norma ISO 10993-5. En este estudio se usan los siguientes vehículos de extracción: MEM (extrae sustancias polares y no polares), solución fisiológica (SF) y PBS (extrae sustancias polares), y los mismos se colocan durante $30min$ a $37^{\circ}C$ de agitación, que es el tiempo máximo que podrán estar en contacto los hidrogeles con la piel para cumplir con su función de tratamiento cosmético

Las células VERO se siembran en una placa de 96 pocillos con una concentración de 1×10^5 células/ml de medio de cultivo (MEM) y al cabo de $24h$ se obtiene un cultivo confluyente sobre el cuál se depositan los extractos obtenidos de los hidrogeles. Luego se incuban por $24h$ a $37^{\circ}C$ en un ambiente estéril con una atmósfera que contenga 5% de CO_2 y cuya humedad sea $> 90\%$.

La viabilidad celular se mide a través de la técnica de MTT (bromuro de (3-[4,5-dimetilthiazol-2y1]-2,5-fifeniltetrazoilo)). En cada uno de los pocillos en los cuales se encuentran sembradas las células con los extractos de los hidrogeles se añaden $10\mu l$ de solución MTT y se incuban las células durante $2h$ para que éstas metabolicen dicha solución. Una vez transcurrido este tiempo se extrae el sobrenadante, se añaden $200\mu l$ de etanol 95% a cada pocillo y la placa se coloca en un lector de absorbancia de microplacas equipado con un filtro de $570nm$, marca Rayto RT-6000 Microplate Reader. Un descenso en el número de células vivas da como resultado un descenso en la actividad

metabólica de la muestra, ya que el MTT que es de color amarillo y soluble en agua, es reducido por la enzima succinato deshidrogenasa, a un compuesto formazano azul-violeta insoluble en agua y soluble en alcohol. De esta forma la viabilidad celular se correlaciona con la formación del color azul-violeta, cuya densidad óptica (absorbancia) es medida a $570nm$. Para calcular la reducción de viabilidad comparada con el control negativo (CN), se hace uso de la expresión 3.1.

$$\%Viabilidad = \frac{OD_{570e}}{OD_{570CN}} \times 100 \quad (3.1)$$

Donde:

OD_{570e} Es el valor medio de la densidad óptica (absorbancia) de la muestra.

OD_{570b} Es el valor medio de la densidad óptica (absorbancia) del CN.

Cuanto más bajo sea el valor del $\%Viabilidad$, tanto mayor es la citotoxicidad del producto ensayado. Si la viabilidad es $< 70\%$ respecto al CN, el producto ensayado es citotóxico.

Capítulo 4

Resultados y Análisis

4.1. Estudio cualitativo

El análisis cualitativo de los hidrogeles se realizó luego de hacer un barrido de diferentes concentraciones de agar y ácido láctico e irradiarlos a diferentes dosis, para determinar visual y sensitivamente cuál de las concentraciones y dosis usadas sería la más apropiada en la fabricación del producto final, que como bien se sabe se trata de dos mascarillas cosméticas empleadas como refrescante de piel y como tratamiento de peeling.

En la tabla 4.1 se muestran algunas de las características observadas de dichos hidrogeles en estudio. Luego de manipular y describir cada uno de los hidrogeles obtenidos, se tomó la decisión de hacer uso de una concentración de 2,5% de agar a una dosis de $30kGy$, ya que este presentaba la consistencia necesaria para la realización de los hidrogeles de uso cosmético. Las características de éste hidrogel no diferían demasiado con el que contenía una concentración de 3% de agar irradiado a una dosis de $30kGy$, pero si se notaba diferencia en su consistencia y elasticidad con el hidrogel que contenía 2,5% de agar irradiado a una dosis de $25kGy$. Esto confirma que a mayor dosis de radiación, se tiene un incremento en el entrecruzamiento entre polímeros, y por ende el hidrogel irradiado a $30kGy$ tenía mayor firmeza y elasticidad.

Tabla 4.1: Características cualitativas de los hidrogeles según la concentración de agar, ácido láctico y dosis de radiación recibida.

Diferentes concentraciones de agar		
Concentración [%m/v]	Dosis 25kGy	Dosis 30kGy
2,0	Poca firmeza, bajo entrecruzamiento y alta pegajosidad.	Con líquido en la capa superior del hidrogel y baja resistencia.
2,5	Alta pegajosidad.	Firmeza y elasticidad.
3,0	Alta pegajosidad.	Mayor firmeza y resistencia.
Diferentes concentraciones de ácido láctico		
Concentración [%m/v]	Dosis 25kGy	Dosis 30kGy
1,5	Alta pegajosidad, baja resistencia y presencia de solución acuosa en la capa superior del hidrogel.	Alta pegajosidad pero con mayor firmeza.
3,0	Solución acuosa.	Solución acuosa.
5,0	Solución acuosa.	Solución acuosa.

En cuanto a la elección de la concentración necesaria de ácido láctico se tuvo en cuenta que a altas concentraciones el hidrogel no solidificaba, esto puede deberse a que el agar generalmente funciona a pHs neutros, y una vez en contacto con una alta concentración de una solución cuyo pH es ácido, el agar pierde su fuerza y no se generan los enlaces de puente de hidrogeno en la mezcla polimérica antes de la irradiación. Por lo tanto, se tomó como concentración adecuada de ácido láctico la de 1,5 % a una dosis de radiación de 30kGy, pues con esta misma concentración pero irradiado a 25kGy el producto seguía presentando poca firmeza.

4.2. Medición de pH

El pH del hidrogel (A) fabricado con agar y PEG, fue de $4,75 \pm 0,07$. El valor del pH de la piel sana debe oscilar entre 4,5 y 5,9, por es ligeramente ácido. Esto indica que el hidrogel destinado

para uso de mascarilla refrescante se encuentra entre el rango de pH natural de la piel, por lo tanto puede ser usado con la finalidad planteada.

Mientras que la medición de pH en el hidrogel (B) fabricado con agar y ácido láctico, fue de $2,28 \pm 0,03$. Por lo tanto, se logró alcanzar el pH necesario para que cumpla su función como mascarilla de peeling, ya que una de las características fundamentales en este hidrogel es la de tener un pH ácido que permita quemar la capa epidérmica de la piel para eliminar las células muertas presentes en ella y dar paso a la regeneración de nuevas células sanas que permitan rejuvenecer y aclarar el rostro, eliminando las impurezas presentes en el mismo.

4.3. Caracterización de los hidrogeles

4.3.1. Análisis de propiedades térmicas por DSC

Como bien se sabe, éste estudio permite ver el comportamiento térmico de los materiales por medio de una gráfica de flujo de calor versus temperatura a la cuál es sometido dicho material. En polímeros es importante hacer uso de esta técnica de caracterización para determinar propiedades, capacidad calorífica y tipo de estructura del material usado.

El análisis de DSC permite observar la temperatura de transición vítrea (T_g) y temperatura de fusión (T_f) de los mismos. Sus propiedades físicas cambian gradualmente si se funden y se moldean varias veces (historial térmico), generalmente disminuyendo estas propiedades al debilitar o romper los enlaces.

El hidrogel es una red de cadenas moleculares entrecruzadas y de acuerdo a su estructura molecular puede tratarse de un polímero amorfo, como lo es para el caso de los hidrogeles analizados en este trabajo. Esto se determina porque el resultado del análisis térmico de las muestras sólo reflejan la T_g y no presentan T_f . Por lo tanto, ya que el polímero tiene una alta concentración de estructura amorfa, presenta buena deformación y esto puede verificarse en el ensayo de tracción.

En las figuras 4.1 y 4.2 se muestran las gráficas de flujo de calor versus temperatura para ambos hidrogeles en estudio. La primera corrida de temperatura del material se lleva a cabo para eliminar el historial térmico del polímero, en la misma, se puede apreciar la relajación estructural de las moléculas presentes.

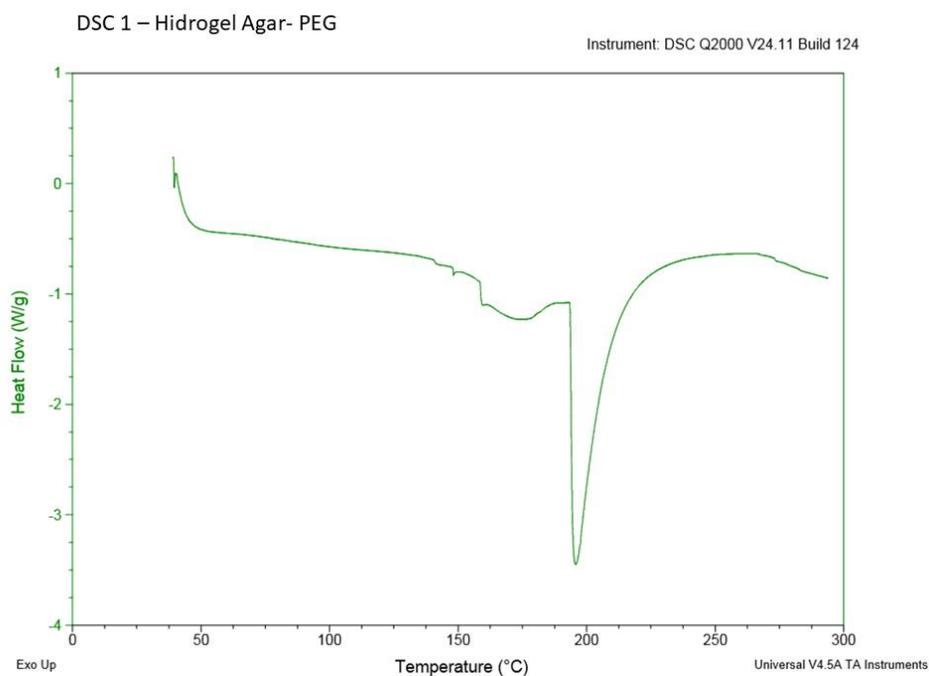


Figura 4.1: Termograma del hidrogel A (elaborado con agar y PEG). Primer corrida.

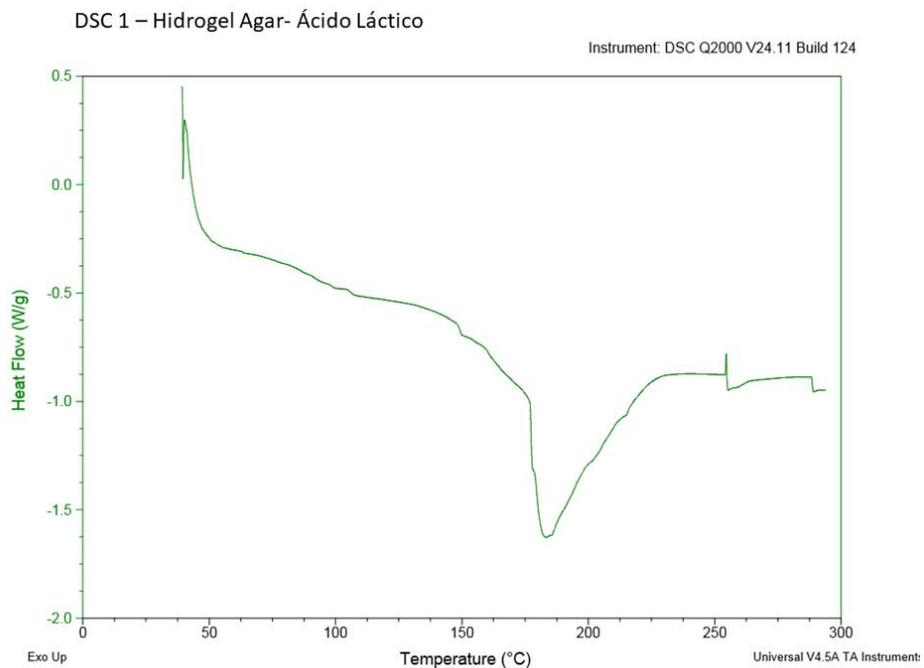


Figura 4.2: Termograma del hidrogel B (elaborado con agar y ácido láctico). Primer corrida.

En las figuras 4.3 y 4.4 se muestran los termogramas para la segunda corrida del DSC realizada a los hidrogeles en estudio.

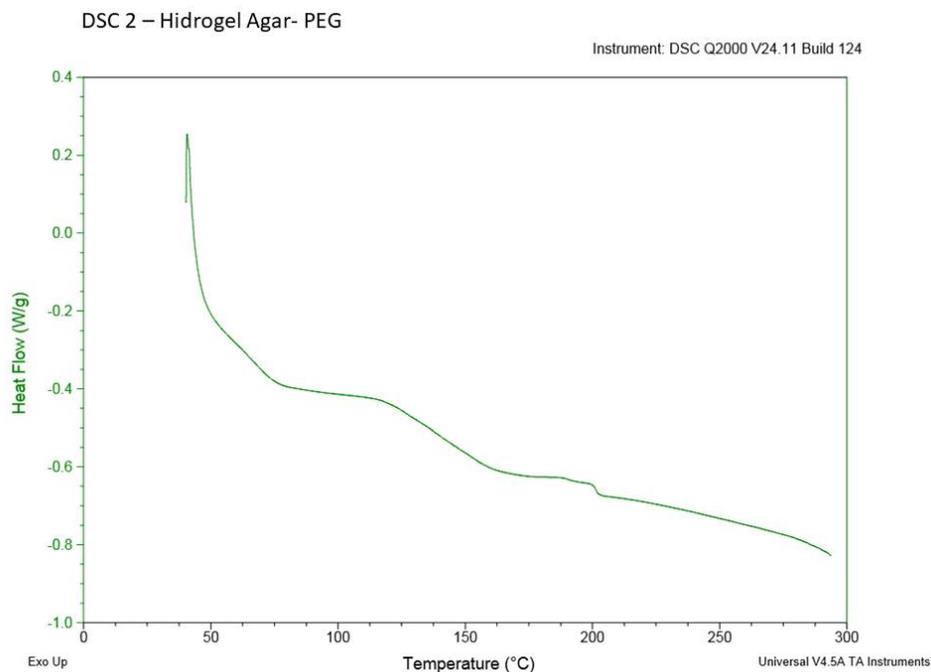


Figura 4.3: Termograma del hidrogel A (elaborado con agar y PEG). Segunda corrida.

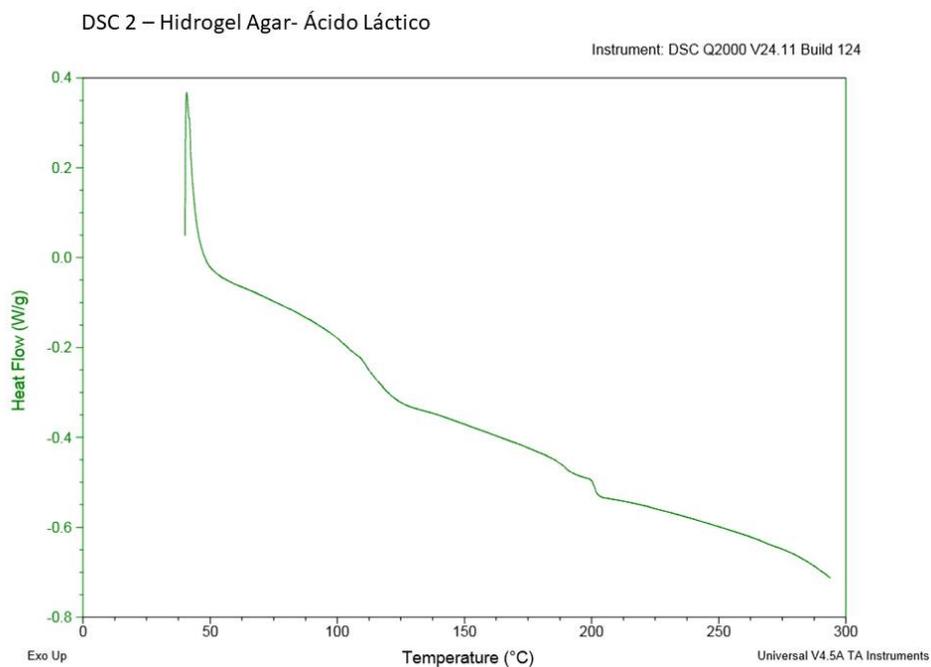


Figura 4.4: Termograma del hidrogel B (elaborado con agar y ácido láctico). Segunda corrida.

En las figuras 4.3 y 4.4 se observa el DSC de los hidrogeles en estudio para una segunda corrida,

luego de haberse producido la relajación estructural de dichos materiales poliméricos se puede dilucidar la T_g correspondiente a los hidrogeles A y B, y se muestra que el valor ronda los 200°C . Es por debajo de esta temperatura donde la zona amorfa pierda la movilidad estructural de las cadenas poliméricas y ambos hidrogeles cobran mayor rigidez.

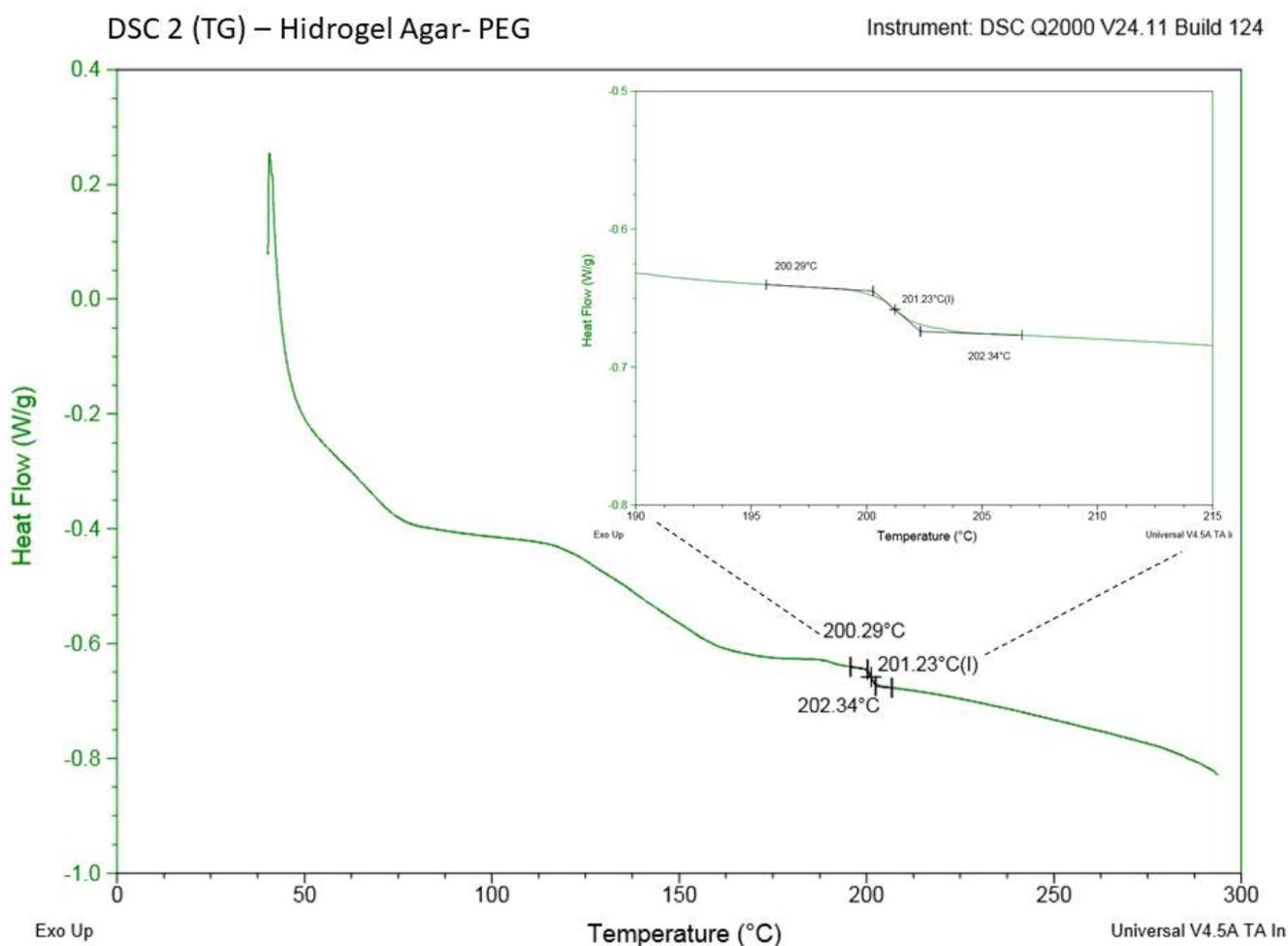


Figura 4.5: Termograma del hidrogel A (elaborado con agar y PEG). Segunda corrida.

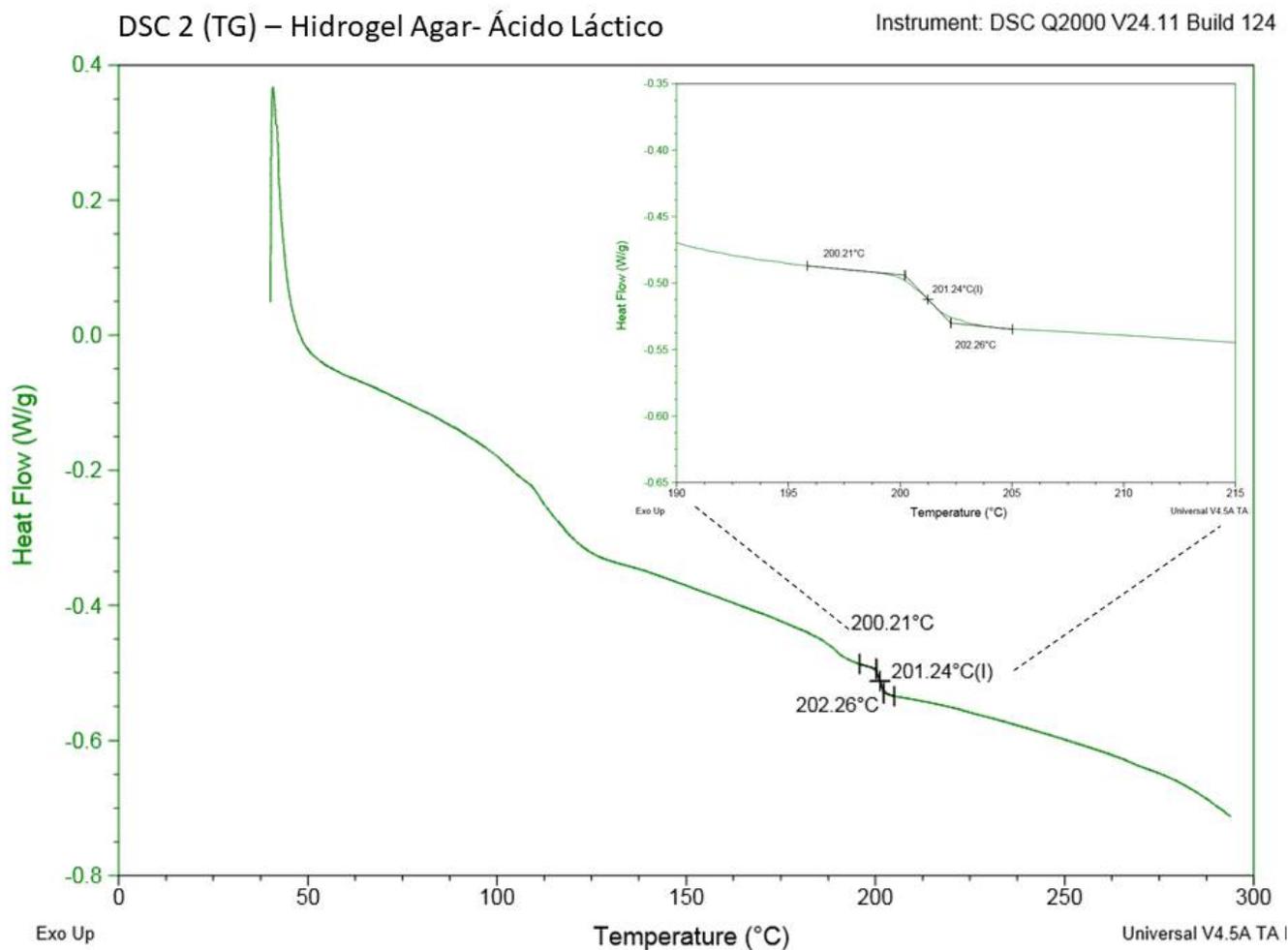


Figura 4.6: Termograma del hidrogel B (elaborado con agar y ácido láctico). Segunda corrida.

4.3.2. Análisis químico por FT-IR

Esta técnica analítica se basa en la capacidad de los diferentes grupos funcionales de las moléculas de absorber luz infrarroja a diferentes longitudes de onda, dependiendo de su naturaleza química particular. Es así que como resultado de la interacción entre la muestra y la energía del haz infrarrojo se puede ver un espectro de absorbancia o de transmitancia, a partir del cual se puede llevar a cabo la identificación química de los compuestos y la determinación de la cantidad presente de un componente en una muestra.

En general, las irregularidades o heterogeneidades superficiales se analizan, desde el punto de vista espectroscópico, realizando un mapa vibracional de la superficie de la muestra. El análisis de grupos funcionales presentes permite determinar la distribución de contaminantes o caracterizar los que se encuentran en su interior. Ya que se trabaja con dosis de radiación elevadas, no se espera encontrar contaminantes, pues la muestra debería estar en un estado de esterilización. Se esperan ver los grupos funcionales característicos de los polímeros usados en la fabricación de los hidrogeles, y además existe la posibilidad de generar otro compuesto a raíz de la interacción de la radiación con la materia.

En la figura 4.7 se muestra el espectro del fondo en el que se realizó la medición.

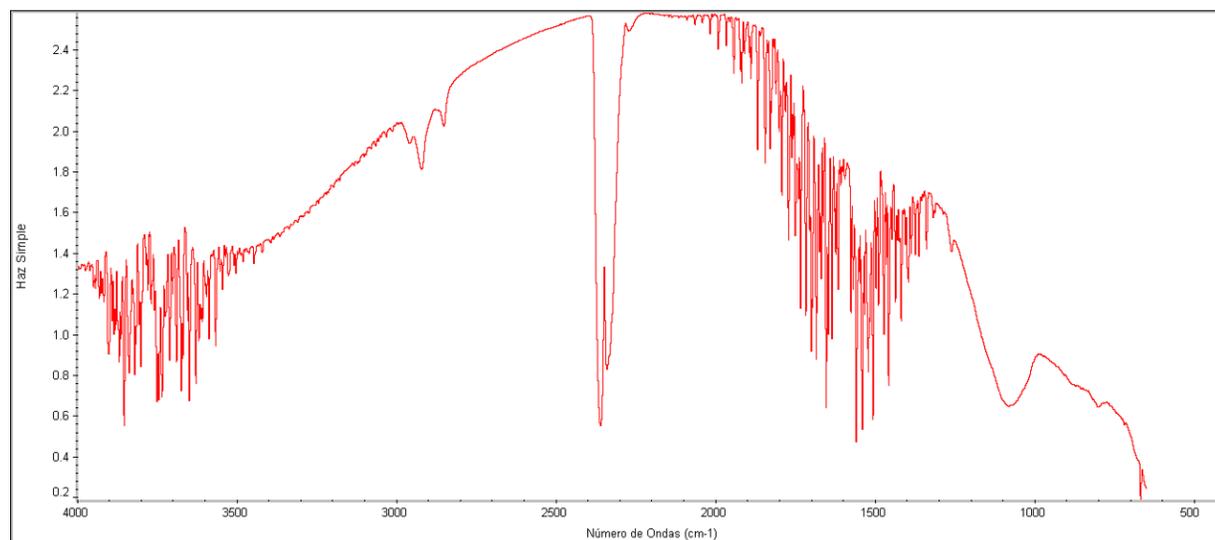


Figura 4.7: FTIR del ambiente en donde se realizaron los ensayos

En la tabla 4.2 se tienen los números de onda a los cuales absorben los diferentes grupos funcionales presentes en la estructura molecular del PVA, PVP, PEG, y agar que se utilizaron para elaborar los distintos hidrogeles.

Tabla 4.2: Grupos funcionales presentes en la muestra del hidrogel formado por agar y PEG.

Grupos Funcionales	Polímero	Banda de absorción	Número de onda $K\ cm^{-1}$
Alcoholes	PVA	O-H t	~ 3650 o $3400-3300$
		C-O t	$1260-1000$
Aminas	PVP	N-H t	$3500-3300$
		N-H d	$1640-1500$
		C-N t (alquil)	$1200-1025$
		C-N t (aril)	$1360-1250$
Aldehídos	Agar	C-H t (aldehído)	~ 2850 y ~ 2750
		C=O t	~ 1725
Ácidos Carboxílicos	PEG	O-H t	$3400-2400$
		C=O t	$1730-1700$
		C-O t	$1320-1210$
		O-H d	$1440-1400$

En la figura 4.8 se observa el espectro característico del hidrogel (A). Haciendo uso de la tabla 4.2 se pueden identificar los números de onda para los cuales absorbe o transmite cada uno de los grupos funcionales presentes en su estructura. El espectro característico correspondiente al hidrogel (B), formado por agar y ácido láctico, no pudo ser determinado, puesto que su pH se encuentra en el orden de 2 y las especificaciones del equipo indican que deben usarse materiales de pH mayor a 4 ya que el sensor de cristal de ZnSe (Seleniuro de Zinc) puede fragilizarse.

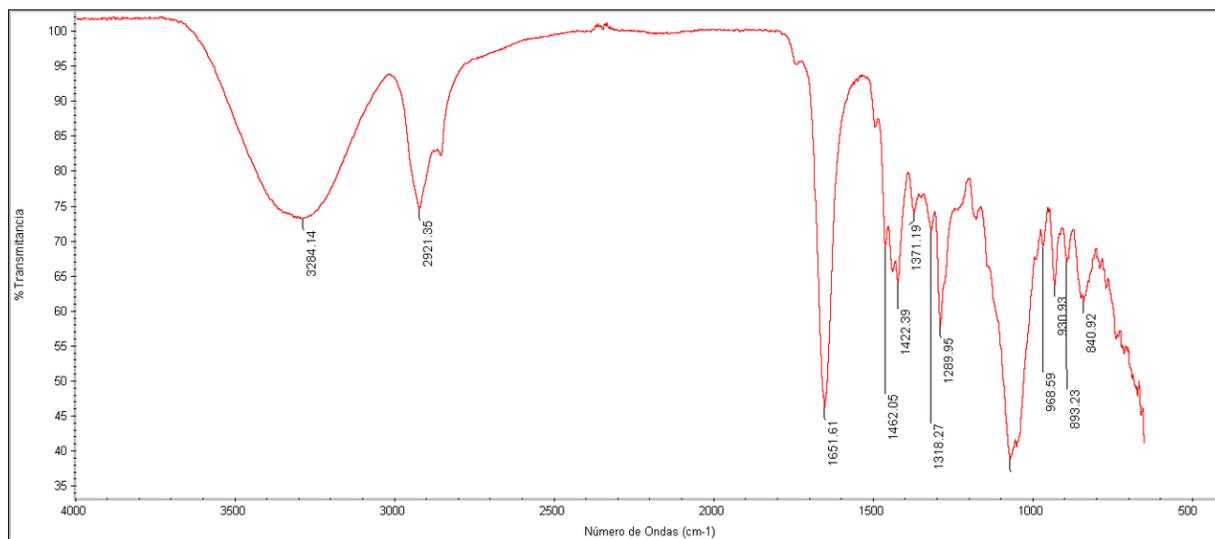


Figura 4.8: FTIR del hidrogel fabricado con agar y PEG.

En las figuras 4.9, 4.10 y 4.11, se pueden ver los espectros característicos del hidrogel compuesto por PEG y agar junto con los picos característicos de cada uno de los polímeros empleados en la elaboración de dicho hidrogel.

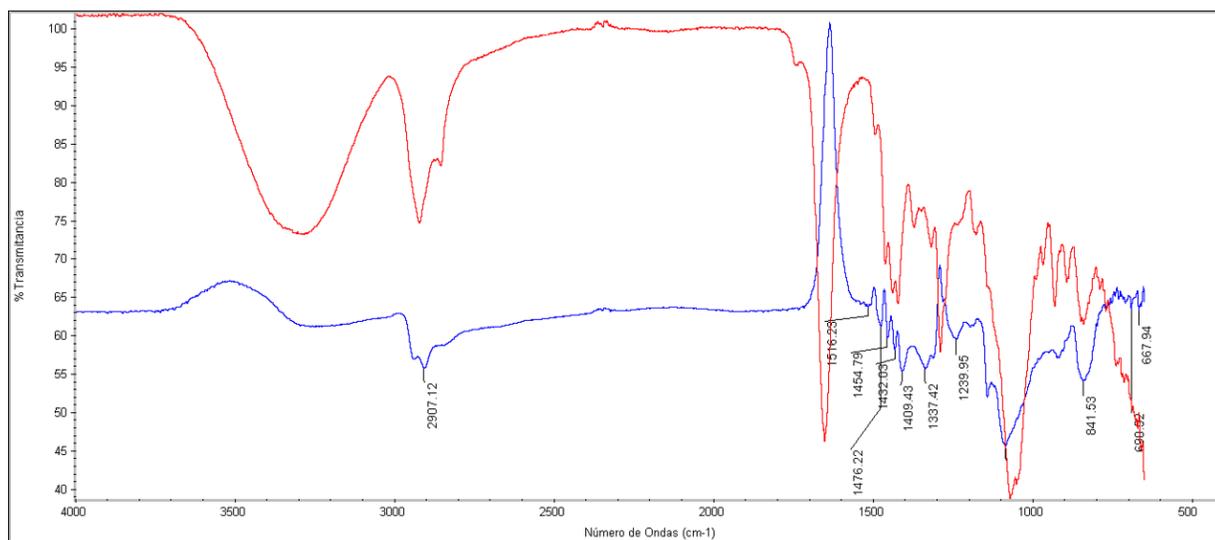


Figura 4.9: FTIR del hidrogel elaborado con agar y PEG (curva roja), y del PVA que lo conforma (curva azul).

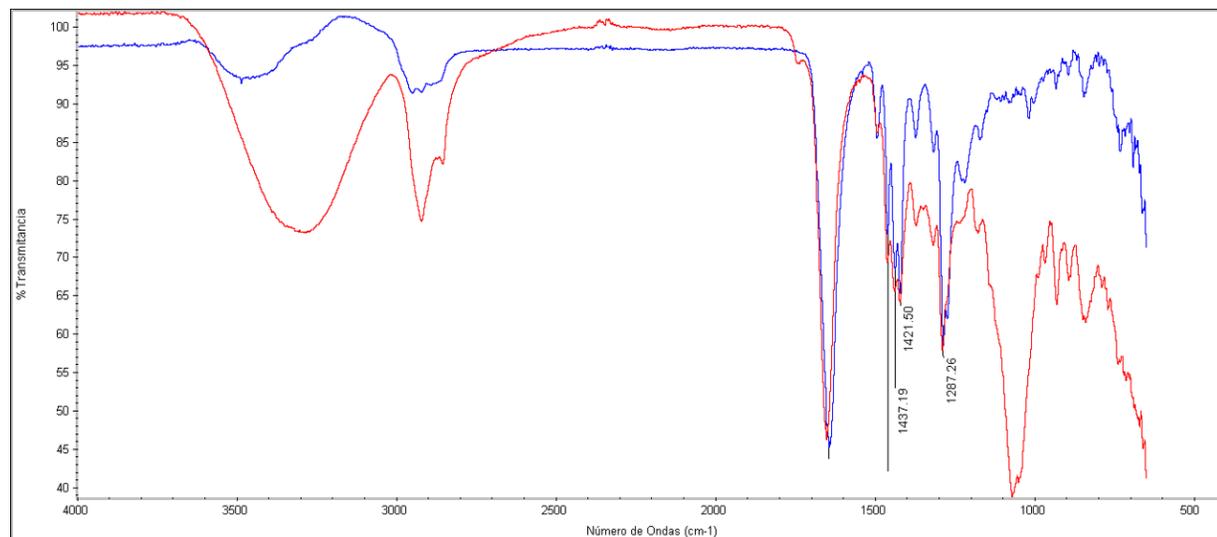


Figura 4.10: FTIR del hidrogel elaborado con agar y PEG (curva roja), y del PVP que lo conforma (curva azul).

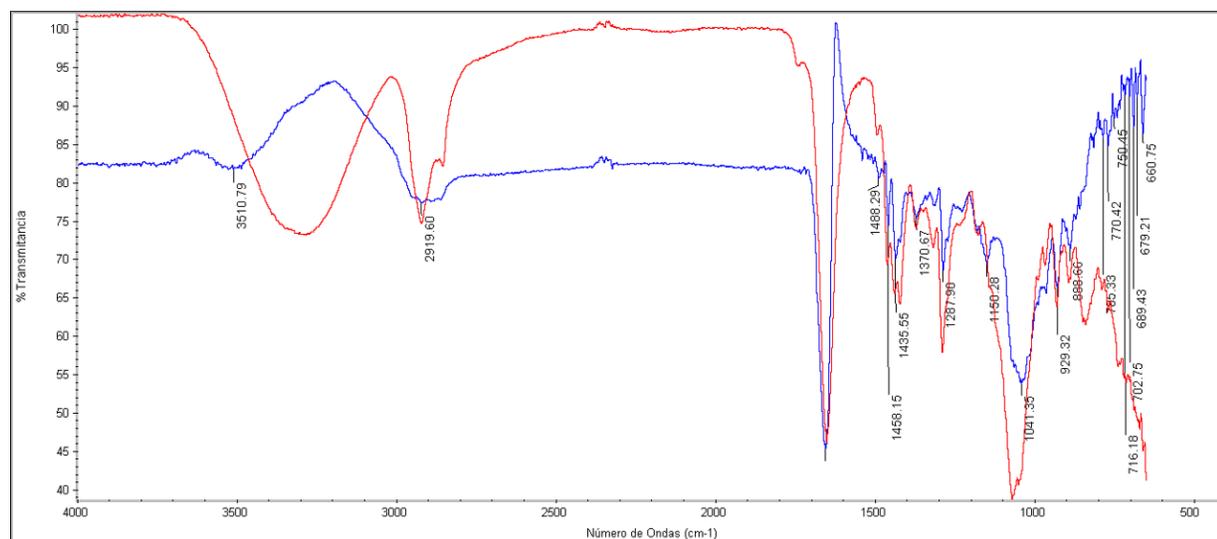


Figura 4.11: FTIR del hidrogel elaborado con agar y PEG (curva roja), y del agar que lo conforma (curva azul).

4.3.3. Análisis morfológico por SEM

A través del SEM se puede obtener una primera aproximación de la estructura interna de los hidrogeles, por lo tanto se puede inferir sobre la homogeneidad de las muestras en estudio.

En las figura 4.12 y 4.13 se pueden ver las tomas microscópicas obtenidas de cada uno de los hidrogeles a tratar. Para esto se tomaron varias imágenes en diferentes zonas y con diferentes escalas de ampliación, lo que permite tener una perspectiva de la porosidad y del tamaño de poro de cada uno de los hidrogeles.

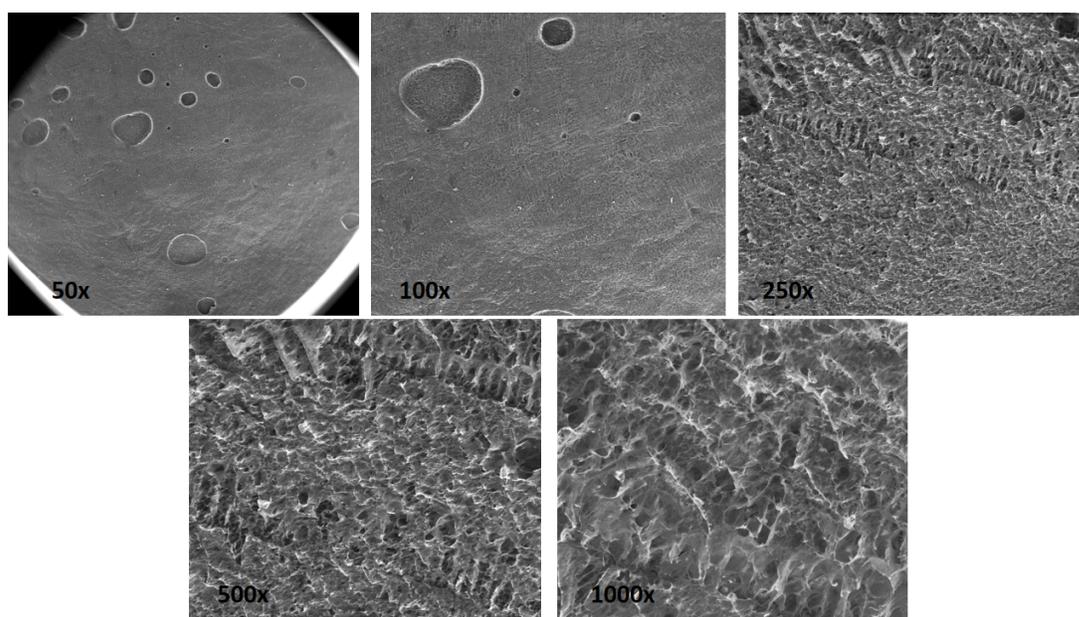


Figura 4.12: Morfología superficial del hidrogel que contiene agar y PEG.

Se observa en las imágenes obtenidas que el hidrogel (A) fabricado con agar y PEG que su estructura es más compacta que el que se encuentra fabricado con agar y ácido láctico. Esto puede deberse a que el PEG le aporta elasticidad al material y al momento de entrecruzarse con el resto de los polímeros forma una estructura más homogénea y compacta. Mientras que el hidrogel (B) fabricado con ácido láctico muestra una estructura más dispersa y porosa, esto puede deberse a que el agar pierde fuerza en presencia de sustancias con pH ácido.

La medición del tamaño de poro de cada hidrogel se realiza haciendo uso del programa de

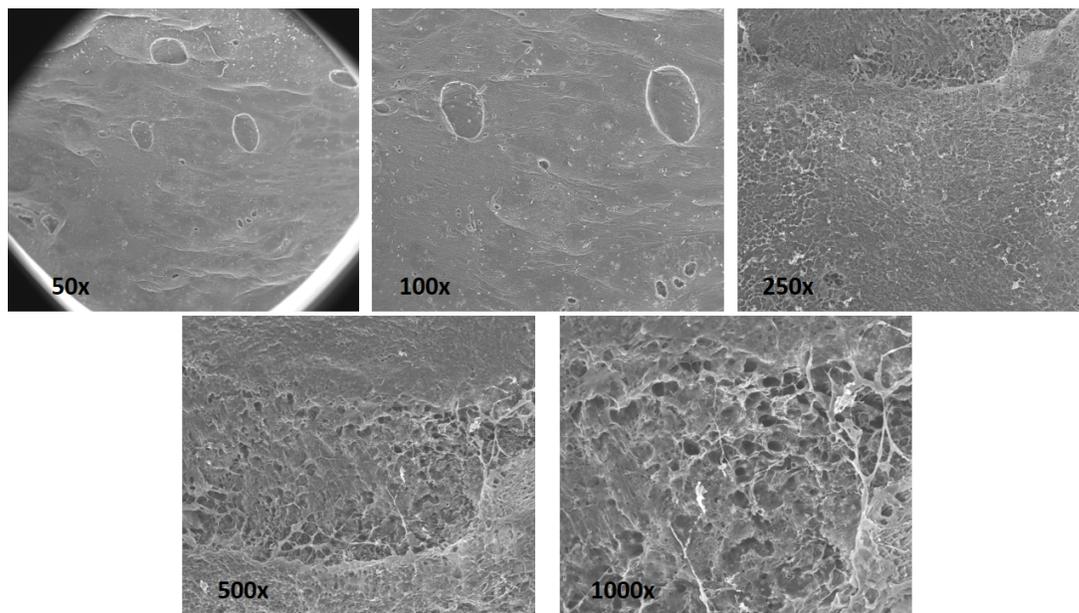


Figura 4.13: Morfología superficial del hidrogel que contiene agar y ácido láctico.

procesamiento de imagen digital “ImageJ”. En la figura 4.14 se muestran algunos de estos resultados. Para esto este cálculo se midieron 15 poros en cada hidrogel y se obtuvo que el hidrogel (A) tiene un tamaño de poro de $(11,83 \pm 1,06)\mu m$ y el hidrogel (B) presenta un poro de $(14,32 \pm 1,28)\mu m$. Por lo tanto en definitiva, se tiene que la estructura del hidrogel (A) es más compacta que la del hidrogel (B), puesto que para el mismo volumen de material se tiene una mayor cantidad de poros.

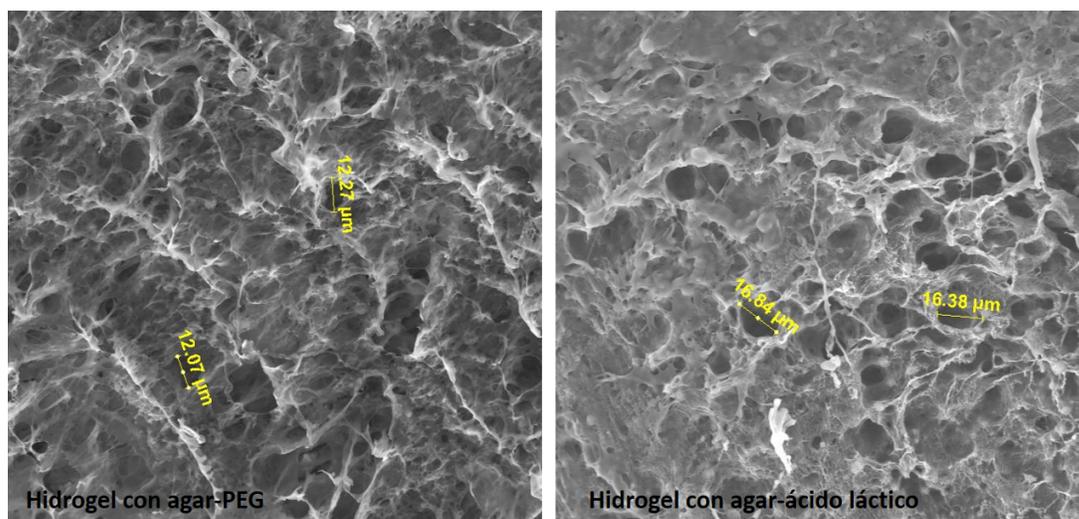


Figura 4.14: Tamaño de poro de ambos hidrogel en estudio. (Amplitud 1000x).

4.3.4. Análisis de tracción

Para evaluar las propiedades mecánicas de los hidrogeles se realizaron pruebas de tracción que permiten obtener la curva esfuerzo (ecuación 2.3) respecto a la deformación (ecuación 2.2), estas se muestran en las figuras 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19 y 4.20. Las gráficas permiten observar el comportamiento para cada una de las seis probetas de ambos hidrogeles en estudio. En las gráficas correspondientes a cada una de las probetas ensayadas se puede identificar que el hidrogel (A) tiene una pendiente mayor que el hidrogel (B), y además para alcanzar el punto de ruptura del hidrogel (A) de debe aplicar una mayor fuerza que para el hidrogel (B).

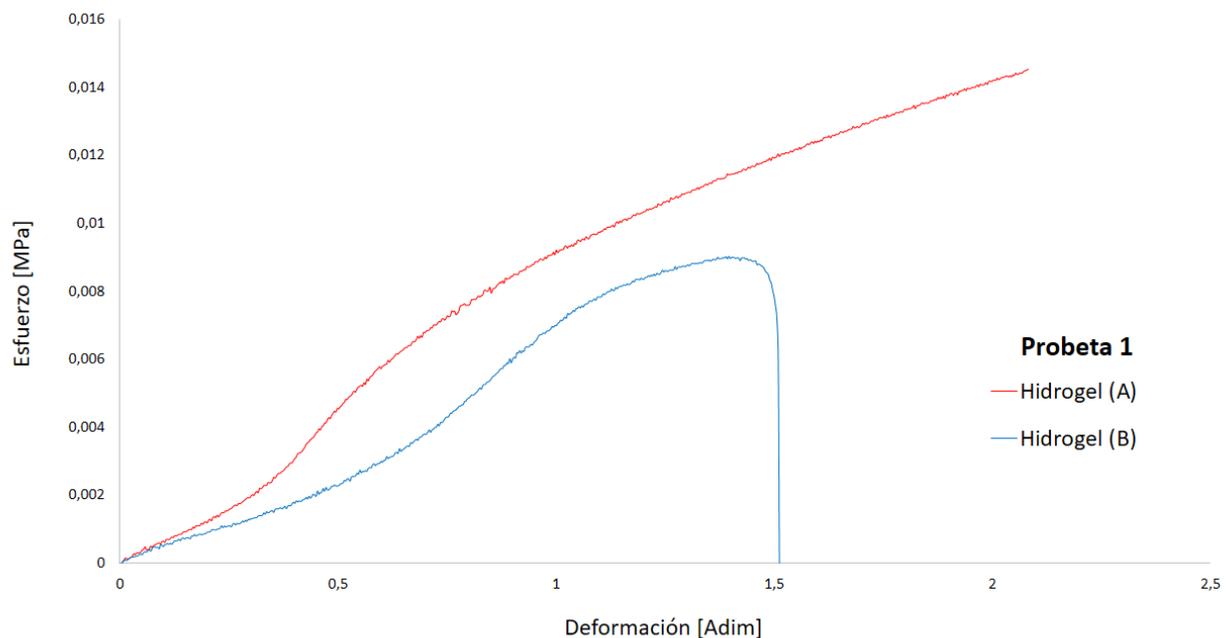


Figura 4.15: Esfuerzo versus Deformación para las probeta 1 de cada uno de los hidrogeles en estudio.

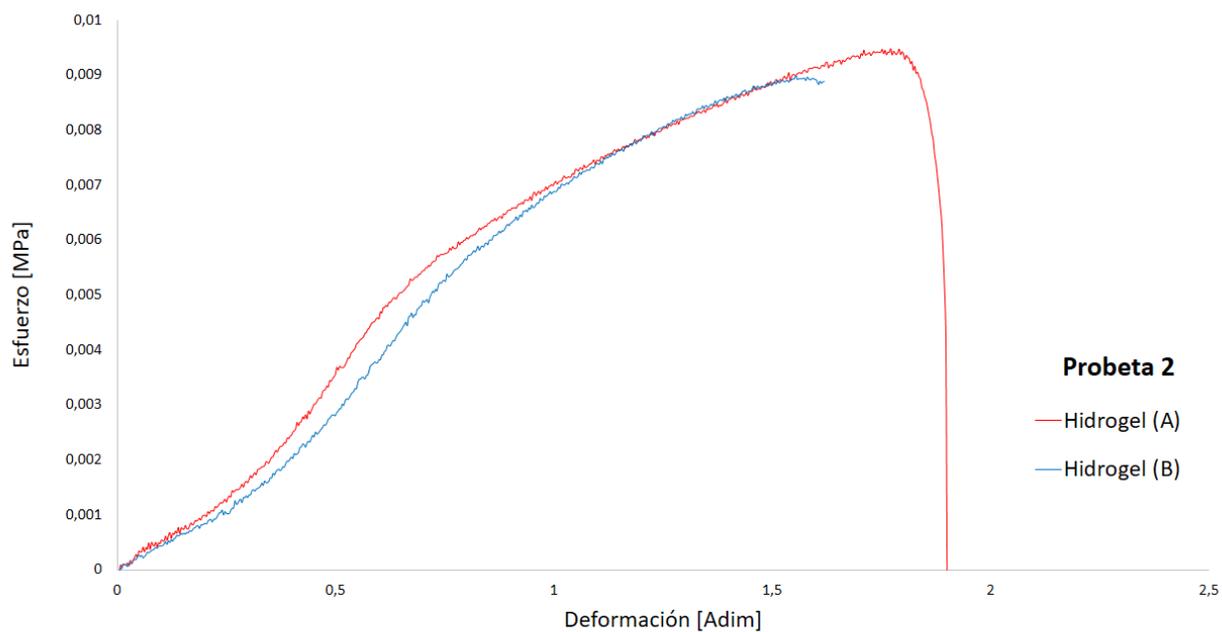


Figura 4.16: Esfuerzo versus Deformación para las probeta 2 de cada uno de los hidrogel en estudio.

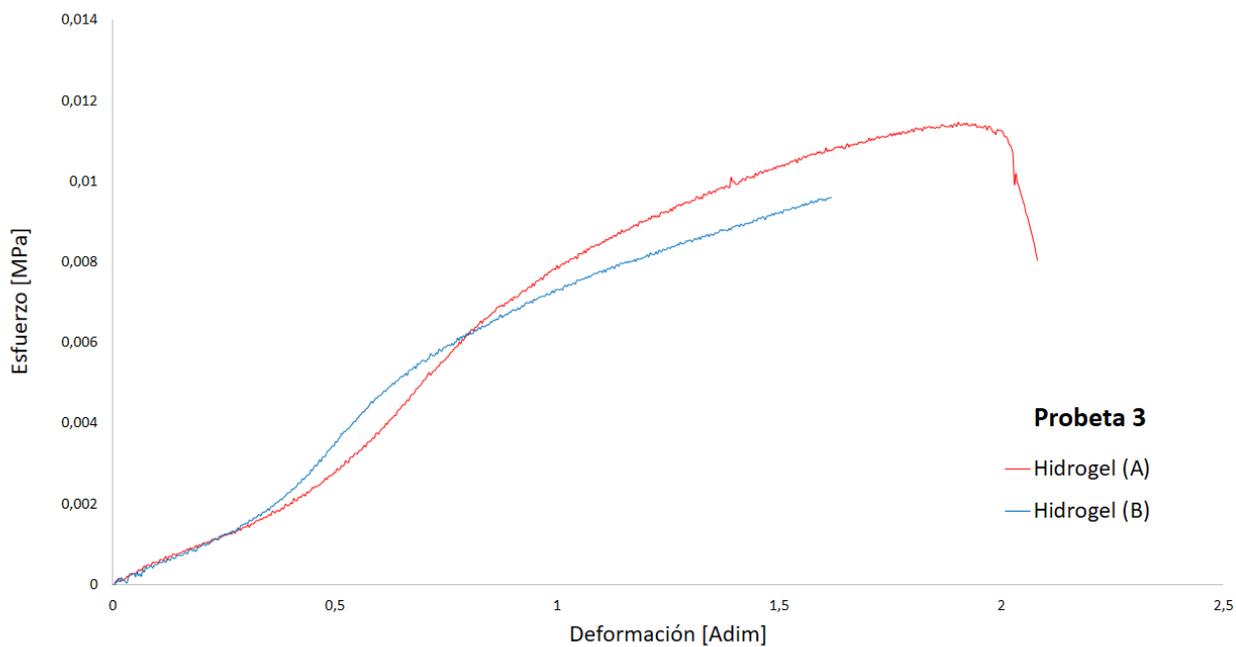


Figura 4.17: Esfuerzo versus Deformación para las probeta 3 de cada uno de los hidrogel en estudio.

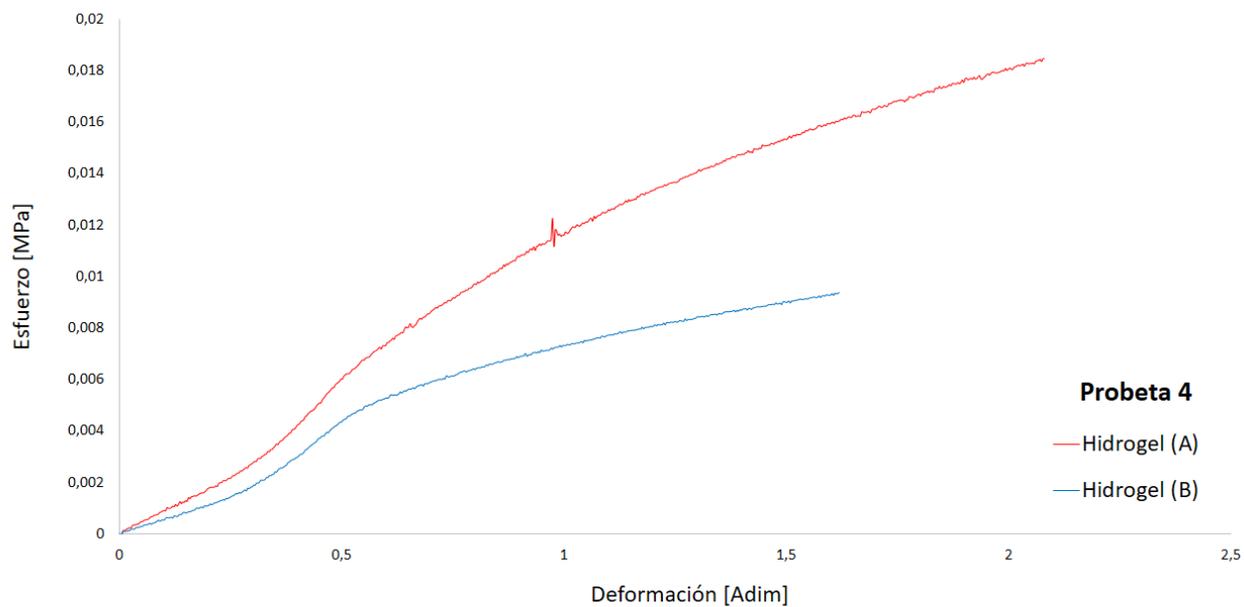


Figura 4.18: Esfuerzo versus Deformación para las probeta 4 de cada uno de los hidrogel en estudio.

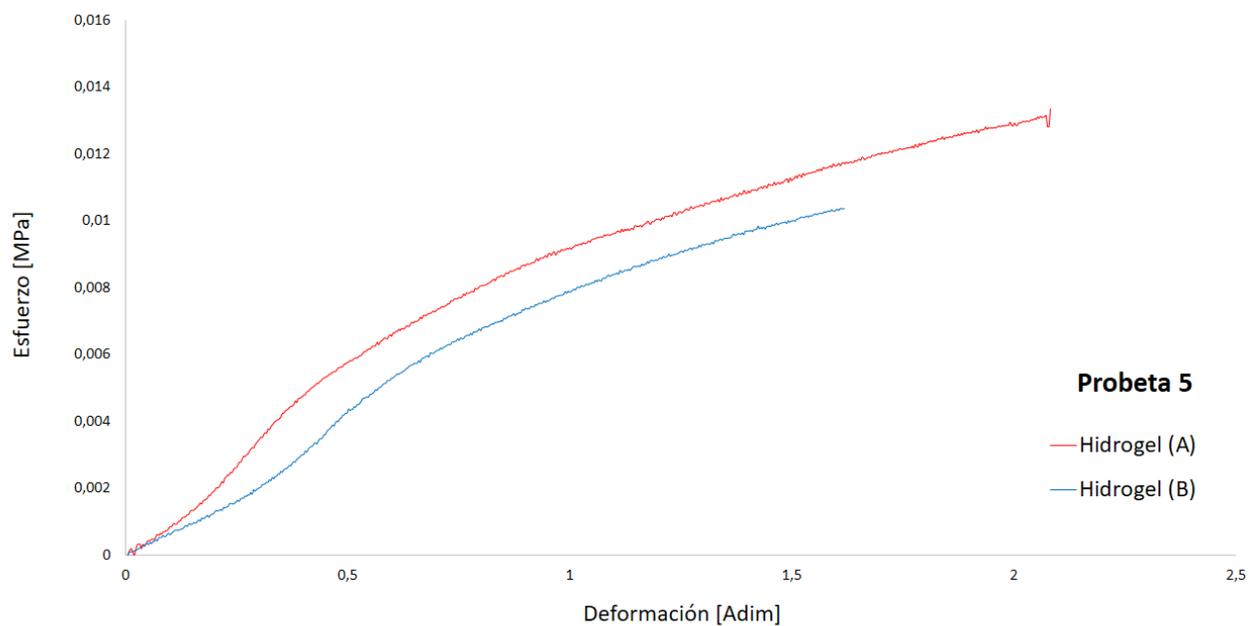


Figura 4.19: Esfuerzo versus Deformación para las probeta 5 de cada uno de los hidrogel en estudio.

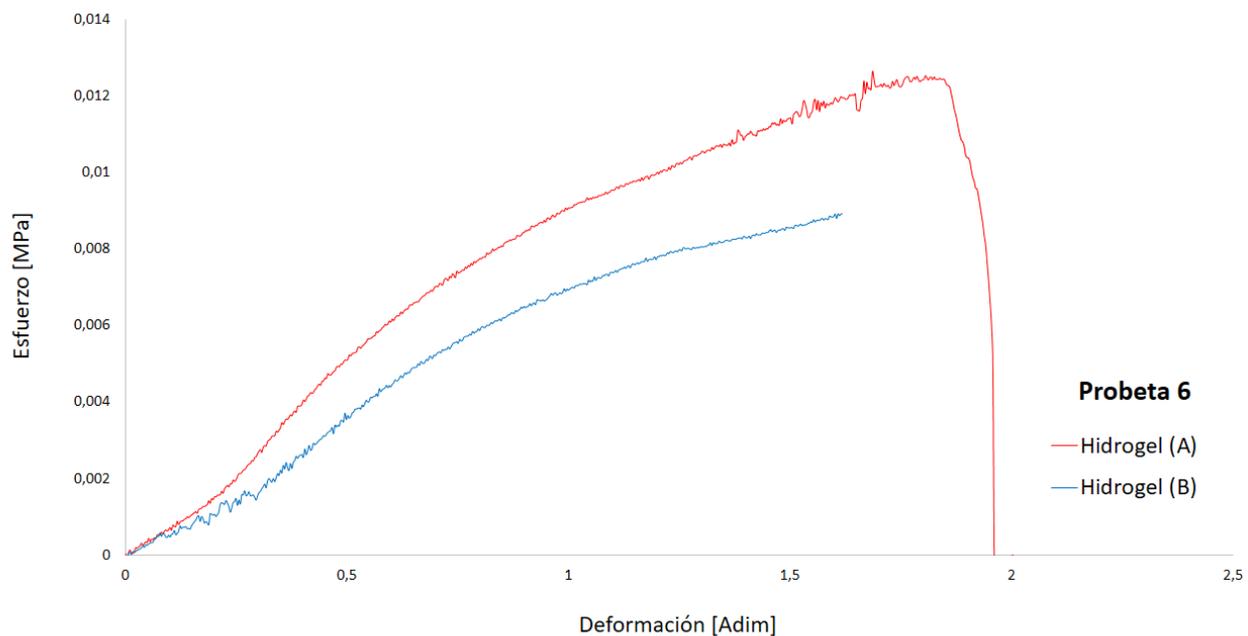


Figura 4.20: Esfuerzo versus Deformación para las probeta 6 de cada uno de los hidrogel en estudio.

En la tabla 4.3 se muestran los cálculos correspondientes al estudio de algunas características mecánicas para cada una de las probetas de los hidrogel (A) y (B). Se puede ver que en promedio, el Módulo de elasticidad de Young para el hidrogel (A) es mayor que para el hidrogel (B), lo que indica que el hidrogel fabricado con agar y PEG presenta una estructura más rígida. La deformación a la rotura es aproximadamente el mismo en ambos hidrogel, y el Esfuerzo promedio a la rotura es mayor para el hidrogel (A) que para el hidrogel (B).

Tabla 4.3: Cálculo de propiedades mecánicas para ambos hidrogeles en estudio.

Hidrogel (A)			
N° de Probeta	Módulo de Young [kPa]	Deformación a la rotura [Adim]	Esfuerzo a la rotura [kPa]
1	12,68 ± 1,04	2,99 ± 0,52	15,57 ± 3,81
2	11,69 ± 1,43	2,08 ± 0,52	10,23 ± 2,96
3	12,88 ± 0,98	2,64 ± 0,52	12,04 ± 3,42
4	13,33 ± 1,75	3,73 ± 0,52	21,59 ± 4,85
5	14,24 ± 1,62	2,82 ± 0,52	24,47 ± 3,11
6	14,85 ± 1,70	2,13 ± 0,52	14,24 ± 3,54
Media	13,28 ± 1,13	2,73 ± 0,52	26,67 ± 4,45
Hidrogel (B)			
N° de Probeta	Módulo de Young [kPa]	Deformación a la rotura [Adim]	Esfuerzo a la rotura [kPa]
1	10,93 ± 1,36	1,62 ± 0,40	8,54 ± 2,95
2	10,35 ± 1,01	1,84 ± 0,40	9,25 ± 2,67
3	11,44 ± 1,07	2,44 ± 0,40	10,73 ± 2,72
4	11,97 ± 1,06	5,84 ± 0,40	10,07 ± 2,51
5	11,37 ± 0,87	1,99 ± 0,40	11,18 ± 2,81
6	9,60 ± 0,81	2,47 ± 0,40	9,37 ± 2,47
Media	10,94 ± 0,91	2,70 ± 0,40	9,84 ± 0,80

4.3.5. Análisis cinética de hinchamiento

En la figura 4.21 se muestra la gráfica del % de Incremento de Masa respecto al tiempo durante el cuál se mantuvieron sumergidos en agua los hidrogeles en estudio para evaluar la cinética de hinchamiento de los mismos. Es esta se puede ver como ambos hidrogeles alcanzan la saturación de hinchamiento a las 48h.

En la tabla 4.4 se plasma el valor calculado para cada uno de los xerogeles y de los hidrogeles

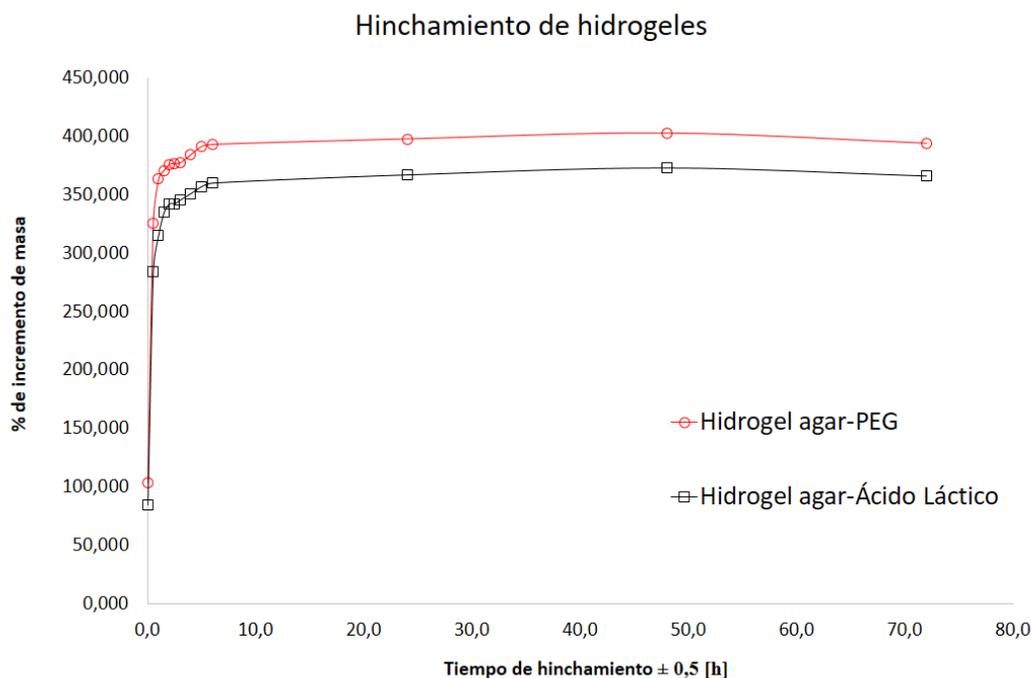


Figura 4.21: Gráfica de % de hinchamiento de los hidrogeles con respecto al tiempo.

Tabla 4.4: Porcentaje de incremento de masa de los hidrogeles en estudio (Usando ecuación 2.4).

Medición	Hidrogel (A)	Hidrogel (B)
Masa del Xerogel (MX) [g]	$1,037 \pm 0,004$	$0,84 \pm 0,06$
Hinchamiento (a las 48h) (MH) [g]	$4,027 \pm 0,198$	$3,730 \pm 0,147$
% de Incremento de masa ($\%IM$)	$288,424 \pm 19,866$	$344,048 \pm 13,605$

luego de transcurrido el tiempo durante el cuál alcanzan la saturación de hinchamiento. Se puede ver que el $\%IM$ del hidrogel (B) supera al $\%IM$ del hidrogel (A) por un 55,623 %, lo que es consistente con el análisis del SEM, pues el hidrogel (B) que contiene agar y ácido láctico presenta un poro de mayor tamaño en comparación con el hidrogel (A) que contiene agar y PEG, por lo tanto, el hidrogel (B) absorbe una mayor cantidad de agua hasta alcanzar la saturación de hinchamiento luego de encontrarse sumergido durante 48h.

Los poros de estos materiales funcionan como vehículos hidrofílicos que absorben el agua liberando el principio activo contenido en el hidrogel, por lo tanto, mientras mayor sea el tamaño del poro,

mayor cantidad de agua podrá retener liberando el principio activo correspondiente en un periodo de tiempo más corto. Es decir, que una vez colocados en contacto con la superficie de la piel, el hidrogel empleado como mascarilla de peeling actuará en un periodo de tiempo menor que el hidrogel empleado como mascarilla refrescante.

4.3.6. Análisis físico-químico

Este ensayo cualitativo se realiza para determinar si a causa de la radiación incidente el entrecruzamiento generado en los hidrogeles es suficiente para comportarse como un hidrogel químico, es decir, que la generación de enlaces entre los polímeros presentes sean lo suficientemente fuertes (covalentes) para no romperse causando la desintegración del material luego de ser sometido a altas temperaturas.

El anaálisis mostró que ambos hidrogeles mantienen su estructura luego de ser sumergidos en agua a temperatura ambiente e ir aumentándola hasta alcanzar la ebullición ($100^{\circ}C$), es decir, no se registra desintegración del material, pero adquieren como característica curiosa la de mayor pegajosidad en su superficie.

4.4. Análisis de citotoxicidad

En la tabla 4.5 se muestran los resultados obtenidos del cálculo de porcentaje de viabilidad celular haciendo uso de la ecuación 3.1. Se puede ver claramente como las células que se encuentran en contacto con el hidrogel fabricado con ácido láctico mueren casi en su totalidad para los tres medios extractantes usados, es decir, que se trata de un material altamente tóxico. Mientras que las células que se encuentran en contacto con el hidrogel de agar-PEG tienen una alta tasa de supervivencia, para los extractantes de SF y PBS, ya que su porcentaje de viabilidad supera el 70%, pero en el caso del MEM la viabilidad se encuentra en el límite de este valor, por lo tanto no es un resultado concluyente de si se trata o no de un material citotóxico.

Tabla 4.5: Cálculo de porcentaje de viabilidad haciendo uso de la expresión 3.1.

Muestra	% de Viab. (SF)	% de Viab. (PBS)	% de Viab. (MEM)
Hidrogel (A)	$95,86 \pm 7,77$	$98,04 \pm 5,56$	$64,75 \pm 5,02$
Hidrogel (B)	$0,08 \pm 0,07$	0 ± 0	$5,76 \pm 5,45$

En el caso del hidrogel (A), se esperaba obtener un material libre de toxicidad, pues al colocarlo en contacto con la piel se busca que éste actúe como mascarilla refrescante, sin presentar algún riesgo que comprometa la vida celular de la epidermis. Mientras que, para el hidrogel (B) se esperaba obtener un material citotóxico, pues justamente se quiere que actúe como mascarilla de peeling eliminando las células muertas presentes en la epidermis, dando paso así a la regeneración celular de esta capa de la piel.

Capítulo 5

Conclusiones y Recomendaciones

La realización de este trabajo tiene como finalidad la fabricación y caracterización de dos hidrogeles aplicados al área de cosmetología. Estos fueron realizados con concentraciones de 5 % cada uno en relación masa/volumen de PVA/PVP. Como nuevo aporte fueron incorporados: En ambos hidrogeles, el agar (como polímero natural) con una concentración de 2 %, ya que genera enlaces físicos antes de la irradiación sustituyendo así el tratamiento de ciclado térmico y abaratando los costos. En el hidrogel (A), el PEG (como polímero sintético) con una concentración de 1,5 %, por sus propiedades como emulsionante, y solubilidad en agua ayuda a controlar la humedad de la piel evitando que esta se deshidrate actuando como humectante. En el hidrogel (B), el ácido láctico (como principio activo para actuar en la regeneración celular de la capa epidérmica), por tratarse de un compuesto AHA, aporta hidratación profunda y añade luminosidad y uniformidad a la epidermis.

La interacción de la radiación gamma con ambas soluciones poliméricas generó entrecruzamiento entre sus moléculas, modificando así su estructura para obtener un producto homogéneo y resistente a ensayos físico-químicos. Para mostrar algunas de las propiedades adquiridas por ambos hidrogeles a causa de la radiación se hicieron varios ensayos de caracterización de los mismos:

- DSC: Indicó que el tipo de material creado presenta una estructura amorfa, pues solo se observó la T_g .
- FTIR: Permitió ver que a pesar del entrecruzamiento generado entre las moléculas del hidrogel

(A), se mantuvieron presentes los grupos funcionales característicos de los polímeros usados para su fabricación.

- Identificó que el hidrogel (A) por tener un tamaño de poro menor tiene una estructura interna más compacta en comparación con el hidrogel (B).
- Tracción: Mostró que el modulo de elasticidad de Young en el hidrogel (A) es mayor que en el hidrogel (B), por lo tanto el primero se trata de un material más rígido.
- Hinchamiento: Manifestó que la saturación de hinchamiento en ambos hidrogeles se alcanzó a las 48h. Como era de esperarse según el análisis de SEM el hidrogel (B) por tener mayor tamaño de poro que el hidrogel (A) absorbe mayor cantidad de agua, por lo tanto liberara mayor cantidad de principio activo al ser colocada en contacto con la piel para un determinado periodo de tiempo.

El estudio de citotoxicidad para el hidrogel (A) mostró un resultado inconcluso, pues a pesar de que para dos de los extractantes (SF y PBS) se obtuvo un porcentaje de viabilidad mayor al 70 %, en el tercero de ellos (MEM) no fue así. Por lo tanto no se puede considerar si se trata o no de un producto citotóxico sin antes repetir el ensayo y corroborar dichos resultados. Mientras que el estudio de citotoxicidad para el hidrogel (B) mostró un porcentaje de viabilidad menor al 70 % para los tres extractantes usados (SF, PBS y MEM), lo que era de esperarse para dicho producto, ya que por tratarse de una mascarilla para peeling se busca que este material, por acción del ácido láctico, al estar en contacto con la piel elimine las células epidérmicas y dé paso a la regeneración de células sanas. Sin embargo se recomienda hacer un estudio de citotoxicidad específico para mascarilla de peeling que permita evaluar el producto despreciando su pH.

El resultado de pH para el hidrogel (A) no es el óptimo para catalogar al producto como mascarilla refrescante ya que debería encontrarse en un rango de pH que corresponda a piel sana normal, no grasa. Pues este mascarilla busca equilibrar la acidez natural de la epidermis que funciona como capa protectora de agentes externos. Mientras que el resultado de pH registrado para el hidrogel (B) cumple con el establecido para mascarillas de peeling ya que es menor a 3.

La realización de este trabajo permitió demostrar que mas allá de que existan distintas formas de sintetizar a los hidrogeles, el entrecruzamiento obtenido por la radiación gamma presenta muchas ventajas ante otros métodos como lo es el uso de compuestos químicos. Ya que permite fabricar un producto puro, no contaminado con residuos tóxicos, se adquiere esterilización en el proceso de fabricación, y la aplicación de radiación ionizante es segura para el ser humano y el medio ambiente.

Bibliografía

- [1] ARNALDO RAMIREZ, JOSÉ LUIS BENÍTEZ, LUISA ROJAS DE ASTUDILLO, BLANCA ROJAS DE GÁSCUE. *Materiales polimeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante FT-IR, DSC, MEB y MET*. Caracas, Venezuela. Diciembre del 2016.
- [2] MARÍA MALVINA SOLEDAD LENCINA. *Síntesis y Caracterización de Hidrogeles de Alginato y N-Isopropolacrilamida para Aplicaciones Biomédicas*. Bahía Blanca, Argentina. 2013.
- [3] J.L. ESCOBAR, D.M. GARCÍA, D. ZALDIVAR, ISSA KATIME. *Hidrogeles. Principales Características en el Diseño de Sistemas de Liberación Controlada de Fármacos*. Ciudad de la Habana, Cuba. Bilbao, España. Julio del 2002.
- [4] TODO EN POLÍMEROS. *Agar-Agar*. Disponible en: <https://todoenpolimeros.com/agar-agar/> Junio 2018.
- [5] BLOG AGAR-AGAR CARRAGEENAN *Agargel*. Disponible en: <http://agargel.com.br/en/agar-agar/#oqe>
- [6] JULIETA CABRERA, ANGEL MONDINO, EDUARDO SMOLKO, JULIO SANTIAGO. *Síntesis y Caracterización de hidrogeles de alcohol polivinílico -polivinil pirrolidona obtenidos con radiación gamma*. Centro Atómico Ezeiza - Argentina. Lima - Perú.
- [7] XIADANI GANZÁLEZ VELÁZQUEZ. *Diseño, síntesis y caracterización Físicoquímica de un hidrogel nanofuncionalizado basado en polietilenglicol*. México-Toluca. 2016.

- [8] R. BENAVENTE. *Polímeros amorfos, semicristalinos, polímeros cristales líquidos y orientación*. CSIC. Madrid.
- [9] CLASIFICACIÓN DE LOS PLÁSTICOS. Disponible en: http://roble.pntic.mec.es/jprp0006/tecnologia/3eso_recursos/unidad9_los_plasticos/teoria2.htm.
- [10] JULIÁN PÉREZ PORTO Y MARÍA MERINO. *Definición de puente de hidrógeno*. Disponible en: <https://definicion.de/puente-de-hidrogeno/> Argentina. Enero 2019.
- [11] MARÍA ESTELA RAFFINO. *Enlace químico*. Disponible en: <https://concepto.de/enlace-quimico/> Argentina. 2015.
- [12] GUILLERMO FERENAZ, CINTIA CALDEZ. *Plantas de Irradiación*. Centro Atómico Ezeiza - Argentina. 2019.
- [13] MARIELA F. DEL GROSSO. *IRRADIACIÓN: Conceptos y su aplicación en polímeros*. Argentina. 2006.
- [14] MARÍA GUÍALAB. *Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)*. Disponible en: <https://www.guialab.com.ar/notas-tecnicas/calorimetria-diferencial-de-barrido-dsc/> Ciudad de Buenos Aires-Argentina. 16 de Junio del 2018.
- [15] LINAN (LABORATORIO NACIONAL DE INVESTIGACIONES EN NANOCIENCIA Y NANOTECONOLOGÍA). *Microscopio Electrónico de Barrido*. Disponible en: http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio_de_Barrido.html IPICYT. 2001-2017.
- [16] SCAI (SERVICIOS CENTRALES DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN). *Microcopia Electrónica de Barrido*. Disponible en: <http://www.scai.uma.es/areas/micr/sem/sem.html> Málaga. 2018.
- [17] FACULTAD DE INGENIERÍA INDUSTRIAL - LABORATORIO DE PRODUCCIÓN. *Ensayo de Tensión* Escuela Colombiana de Ingeniería. 2011.
- [18] CALLISTER, W.D.. *Introducción a la Ciencia e Ingeniería de los Materiales: Tracción* Barcelona - España. Editorial Reverté, S.A.