

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería



## SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LA MEZCLA POLIMÉRICA BASADA EN POLI (FUMARATO DE PROPILENO) Y ALGINATO DE SODIO

### TESIS

Que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
**MAESTRO EN INGENIERÍA**

presenta:

**Cristian Covarrubias Cerda**

Directores de tesis

**Dr. Franklin David Muñoz Muñoz**

**Dr. Enrique Hernández Garibay**

Ensenada, Baja California, México. Enero de 2019

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LA MEZCLA POLIMÉRICA  
BASADA EN POLI (FUMARATO DE PROPILENO) Y ALGINATO DE SODIO**

**TESIS**

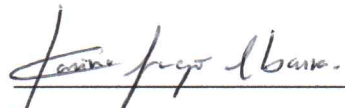
Que para obtener el grado de MAESTRO EN INGENIERÍA presenta:

**Cristian Covarrubias Cerda**

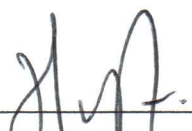
Aprobada por:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Franklin David Muñoz Muñoz  
Director de tesis

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Enrique Hernández Garibay  
Codirector de tesis

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Karina del Carmen Lugo Ibarra  
Miembro del comité

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Amelia López Portillo  
Miembro del comité

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Hugo Tiznado Vázquez  
Miembro del comité

Ensenada, Baja California, México, enero 2019

**RESUMEN** de la tesis de **Cristian Covarrubias Cerda** presentada como requisito parcial para la obtención del grado **MAESTRO EN INGENIERÍA** del programa de Maestría y Doctorado en **Ciencias e Ingeniería** de la Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California, México, enero del 2019.

**Síntesis y caracterización de la mezcla polimérica  
basada en poli (fumarato de propileno) y alginato de sodio**

  
Dr. Franklin David Muñoz Muñoz  
Director de tesis

  
Dr. Enrique Hernández Garibay  
Codirector de tesis

**Resumen:** en este proyecto se desarrollaron materiales basados en la combinación del polisacárido alginato de sodio (componente natural e hidrofílico) y del polímero poli [fumarato de propileno] (PPF) (componente sintético hidrofóbico) mediante emulsiones de micelas inversas. Primero, la síntesis de PPF se realizó a partir de la reacción de condensación entre dimetilfumarato y propilenglicol. Para la extracción de alginatos se utilizó el alga café *Macrocystis pyrifera*, proveniente de las costas de Ensenada, Baja California, México. Se utilizó Bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) como agente surfactante para la compatibilización de la mezcla PPF-Alginato. El entrecruzamiento de las cadenas de PPF se realizó "in situ" con N-vinilpirrolidona, en presencia del fotoiniciador óxido de bisacrilofofina (BAPO) mediante radiación UV para la formación de radicales libres, mientras que el entrecruzamiento de las cadenas de alginato fue lograda sumergiendo el material en disolución acuosa de cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ). El PPF sintetizado fue caracterizado en su composición química por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) e Infrarrojo por Transformadas de Fourier (FT-IR); en su peso molecular por Cromatografía por Exclusión de Tamaño a Alta Presión (HPSEC) y en sus propiedades térmicas por Análisis Termogravimétrico (TGA); el alginato de sodio se caracterizó por FT-IR y (TGA); Los materiales PPF-Alginato fueron caracterizados FT-IR, por microscopía electrónica de barrido (SEM), FTIR y TGA. Debido a las características biodegradables y biocompatibles de los polímeros que componen la mezcla, a través de este proyecto de investigación se pretende ofrecer una alternativa atractiva para el desarrollo de biomateriales y explorar sus potenciales aplicaciones, con un enfoque basado en el aprovechamiento de uno de los recursos renovables de Baja California.

**Palabras clave:** Alginato de sodio; poli (fumarato de propileno); N-vinilpirrolidona; Mezclas Poliméricas; Materiales biodegradables.

# DEDICATORIA

*Agradezco a Dios por permitirme atravesar esta etapa de mi vida con salud y bienestar, en compañía de mis familiares y amigos, gracias a ellos es que he podido salir adelante en los buenos y malos momentos siempre con una nueva experiencia y enseñanza.*

*Agradezco a mis padres, Maricela Cerda Mora y Tomás Acuña Acosta por hacer de mí un mejor individuo, motivándome y apoyándome en todo momento a lograr las metas y objetivos propuestos. Por su cariño, amor y comprensión en los buenos y malos tiempos que se presentan en la vida y por su esfuerzo para equiparme de las herramientas necesarias para afrontar los retos de la vida.*

*A mi hermana Tahua Covarrubias Cerda por su compañía, amor y sentido del humor en los buenos y malos momentos, por ser un ejemplo en la vida, que con esfuerzo y dedicación las metas y objetivos de la vida se pueden realizar sin importar las circunstancias en las que nos encontremos.*

*A mis familiares que siempre están allí para apoyarme en todo momento, a los cuales respeto y estimo, haciendo de mi vida más valiosa por el simple hecho de tenerlo en ella.*

*A mis maestros por su tiempo, dedicación y sobre todo paciencia para el desarrollo de este trabajo y por otorgarme las herramientas necesarias para afrontar los retos profesionales de la vida.*

*Un agradecimiento especial a María Guadalupe Olguín Martínez, por su cariño, respeto, ternura y amor en todo momento, por abrirme su corazón, por compartirme sus alegrías, por apoyarme en los días más difíciles y por acompañarme en todo momento.*

## AGRADECIMIENTOS

*Agradezco principalmente al Dr. Franklin David Muñoz Muñoz por aceptar ser mi director de tesis durante el desarrollo de este trabajo, pero principalmente por dedicar su tiempo, esfuerzo y conocimiento por tratar de transmitir no solo los conocimientos necesarios para afrontar los retos profesionales, también por ser un guía y consejero en mis días más difíciles, apoyándome en todo momento.*

*A mi codirector el Dr. Enrique Hernández Garibay, por aceptar ser parte de este proyecto y ofrecer su tiempo, dedicación y esfuerzo en todo momento para resolver las dificultades que se fueron presentando a lo largo de esta actividad. Muchas gracias.*

*A los miembros del comité, Dra. Karina del Carmen Lugo, Dra. Amelia López Portillo, Dr. Gerardo Soto Herrera y al Dr. Hugo Tiznado Vázquez por aceptar formar parte de este.*

*A la Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño y al posgrado en Maestría y Doctorado en Ciencia e Ingeniería por abrirme las puertas y hacer posible este trabajo.*

*A los investigadores y técnicos: Dr. Priscy Alfredo Luque Morales por su apoyo en las caracterizaciones de FT-IR en UABC, Dr. Luis Ángel Polindara del Instituto de Química de la UNAM en la caracterización por RMN; Dr. Edwin Flores de Santiago de Cali, Colombia por su interpretación de espectros de RMN; M. en C. Salvador López Morales del Instituto de Investigaciones en Materiales (IIM), Laboratorio de Cromatografía, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por las evaluaciones de peso molecular mediante la técnica HPSEC; Juan Carlos y Yanis por su asesoría en el campo de biomateriales; Ricardo Valdez Castro, Hugo Borbón y Miguel Martínez por su asesoría y caracterizaciones en el análisis termogravimétricos; al ingeniero Israel Gradilla por su apoyo en la realización de las caracterizaciones SEM del Centro de Nanociencias y Nanotecnología.*

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme el apoyo durante los dos años cursados en la maestría y permitirme superarme en el ámbito académicos y profesional.*

# ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	4
AGRADECIMIENTOS .....	5
ÍNDICE GENERAL .....	6
LISTA DE FIGURAS .....	9
LISTA DE TABLAS .....	11
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Marco teórico y antecedentes .....	5
1.1.1. Biomateriales.....	5
1.1.2. Polímeros .....	7
1.1.3. Polímeros sintéticos.....	11
1.1.4. Polímeros naturales.....	13
1.1.5. Mezclas entre polímeros .....	20
1.1.6. Agentes de entrecruzamiento .....	23
<b>II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>29</b>
2.1. Hipótesis .....	29
2.2. Objetivos.....	29
2.2.1. Objetivo general .....	29
2.2.2. Objetivos específicos.....	29
<b>III. MATERIALES Y METODOLOGÍA.....</b>	<b>31</b>
3.1. Materiales .....	31
3.1.1. Materiales para la extracción de alginatos.....	31

3.1.2.	Materiales para la síntesis de PPF .....	31
3.1.3.	Materiales para la preparación de mezclas PPF/Alginato .....	32
3.2.	Procedimiento .....	33
3.2.1.	Procedimiento para la extracción de alginatos .....	33
3.2.2.	Procedimiento para la síntesis de Poli (fumarato de propileno).....	34
3.2.3.	Procedimiento para el entrecruzamiento del PPF mediante el fotoiniciador BAPO.....	37
3.2.4.	Preparación de emulsiones de PPF/Alginato.....	38
3.2.5.	Caracterización.....	41
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>		<b>43</b>
4.1.	Resultados .....	43
4.1.1.	Caracterización de Alginatos.....	43
4.1.2.	Caracterización de PPF .....	49
4.1.3.	Caracterización de PPF .....	49
4.1.4.	Caracterización de mezclas poliméricas.....	54
4.1.5.	Caracterización de mezclas poliméricas.....	55
4.2.	Discusiones.....	60
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>		<b>64</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>		<b>66</b>
<b>Anexo A.....</b>		<b>80</b>
1.	Técnicas de caracterización .....	80
1.1.	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	80
1.2.	Resonancia magnética nuclear (NMR).....	82
1.3.	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR).....	84
1.4.	Análisis termogravimétrico .....	86
1.5.	Cromatografía por exclusión de tamaño a alta presión (HPSEC).....	88

<b>Anexo B</b> .....	<b>89</b>
<b>Anexo C</b> .....	<b>90</b>



# LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Tipos de estructuras formadas mediante los procesos de polimerización y entrecruzamiento de las cadenas de un polímero.....	7
<b>Figura 2.</b> Estructura básica de un copolímero alternado .....	8
<b>Figura 3.</b> Estructura básica de un copolímero aleatorio .....	8
<b>Figura 4.</b> Estructura básica de un copolímero en bloque .....	8
<b>Figura 5.</b> Estructura básica de un copolímero con injerto .....	9
<b>Figura 6.</b> Polimerización por adición o en cadena.....	10
<b>Figura 7.</b> Polimerización por condensación o por etapas .....	10
<b>Figura 8.</b> Ácidos urónicos que conforman las cadenas de ácido alginico .....	17
<b>Figura 9.</b> Composición de las cadenas de ácido alginico en forma de bloques GG, MM y bloques alternados GM .....	17
<b>Figura 10.</b> Representación esquemática del modelo caja de huevo o “egg-box” de los geles de alginato ....	18
<b>Figura 11.</b> Estructuras de N-vinilpirrolidona y polivinilpirrolidona .....	23
<b>Figura 12.</b> Estructura química del fotoiniciador BAPO .....	25
<b>Figura 13.</b> Esquema representativo de la formación de micelas en solventes polares (a) no polares (b) y no polares con agente surfactante en el núcleo (c) .....	27
<b>Figura 14.</b> Estructura química del surfactante CTAB.....	28
<b>Figura 15.</b> Ruta de etanol para la extracción de alginatos.....	34
<b>Figura 16.</b> Mecanismo de reacción en dos etapas para la síntesis de PPF .....	35
<b>Figura 17.</b> Montaje del sistema de síntesis de PPF y sus componentes.....	37
<b>Figura 18.</b> Proceso para la elaboración de mezclas PPF/Alginato por medio emulsiones en una solución de NVP, BAPO y CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .....	38
<b>Figura 19.</b> Esquema general de los procesos experimentales desarrollados en este proyecto. ....	40
<b>Figura 20.</b> Espectro FT-IR de alginato de sodio Alg-Na comercial, Alg-Na (2), Alg-Na (10) y Alg-Na (6) .....	45
<b>Figura 21.</b> Espectro FT-IR de los extractos de alginato y la muestra comercial con tratamiento en CaCl <sub>2</sub> .....	46

<b>Figura 22.</b> Extracto de alginato de sodio gelificado mediante tratamiento en $\text{CaCl}_2$ .....	46
<b>Figura 23.</b> Termograma de descomposición de los extractos de alginato de sodio.....	47
<b>Figura 24.</b> Micrografías de alginato de sodio extraídas de <i>Macrocystis pyrifera</i> .....	48
<b>Figura 25.</b> Espectros IR para las muestras sintetizadas de PPF <sub>0</sub> PPF <sub>1</sub> , PPF <sub>2</sub> y PPF <sub>3</sub> .....	50
<b>Figura 26.</b> Espectro IR de la muestra PPF <sub>3</sub> no entrecruzado y con entrecruzamiento PPF <sub>NET-3</sub> . .....	51
<b>Figura 27.</b> Termograma de las muestras PPF <sub>0</sub> , PPF <sub>1</sub> , PPF <sub>2</sub> . Las muestras.....	52
<b>Figura 28.</b> Espectro <sup>1</sup> H NMR característico del polímero sintético PPF <sub>3</sub> . .....	53
<b>Figura 29.</b> Micrografías de la muestra PPF <sub>3</sub> /NVP .....	54
<b>Figura 30.</b> Espectro IR de las muestras PPF <sub>3</sub> /NVP, PPF <sub>3</sub> -Alg-Na (1) y PPF <sub>3</sub> -Alg-Na (2). .....	56
<b>Figura 31.</b> Termogramas de las muestras PPF <sub>3</sub> -Alg-Na (0), PPF <sub>3</sub> -Alg-Na (1), PPF <sub>3</sub> -Alg-Na (2), PPF <sub>3</sub> -Alg-Na (3) y PPF <sub>3</sub> -Alg-Na (5). .....	57
<b>Figura 32.</b> Micrografías de la mezcla PPF/Alg .....	58
<b>Figura 33.</b> Micrografías de la mezcla PPF/Alg .....	59
<b>Figura 34.</b> Fotografías de las mezclas elaboradas .....	59
<b>Figura 35.</b> Tipos de radiación emitidas por la muestra como resultado de la colisión con el haz de electrones .....	81
<b>Figura 36.</b> Esquema representativo de un SEM .....	81
<b>Figura 37.</b> Esquema representativo de las principales aplicaciones de la espectroscopia NMR .....	83
<b>Figura 38.</b> Esquema representativo de un espectrofotómetro FT-IR .....	85
<b>Figura 39.</b> Esquema representativo de un ATR y su modo de operación .....	86
<b>Figura 40.</b> Proceso general para el análisis de muestras en TGA .....	87
<b>Figura 41.</b> Ejemplo de un proceso de separación por cromatografía de exclusión por tamaño de polímeros de bajo peso molecular (puntos) y alto peso molecular (círculos) .....	88

# LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Aplicación de polímeros naturales y sintéticos en ingeniería de tejidos.....	14
<b>Tabla 2.</b> Porcentajes de ácido manurónico, gulurónico y razón M/G presentes en diferentes especies de algas comerciales .....	19
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de muestras producto de la extracción de alginatos. ....	43
<b>Tabla 4.</b> Muestras de alginato de calcio caracterizadas en SEM. ....	43
<b>Tabla 5.</b> Clasificación de muestras y cantidades de reactivo empleados para la síntesis de PPF (todas las muestras se elaboraron bajo las mismas condiciones descritas para síntesis y entrecruzamiento). ....	49
<b>Tabla 6.</b> Resultados de las muestras analizadas por HPSEC.....	53
<b>Tabla 7.</b> Descripción de las mezclas poliméricas para determinar la concentración óptima de cada constituyente .....	54
<b>Tabla 8.</b> Asignación de bandas de absorción de FT-IR para alginato de sodio (Sartori et al., 1997).....	89
<b>Tabla 9.</b> Numero de onda para varias bandas en PPF (a). (Shahbazi et al., 2014) .....	90
<b>Tabla 10.</b> Numero de onda para varias bandas en PPF (b). (Salarian et al., 2014) .....	90

# I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha generado un creciente número de investigaciones en el desarrollo de biomateriales o materiales biodegradables, con el propósito de ofrecer una solución y alternativa a la problemática que actualmente representa el uso de plásticos derivados del petróleo (Xanthos & Walker, 2017). De esta forma, son abundantes las evidencias que muestran los problemas generados por la acumulación de plásticos no biodegradables y no reciclables, y están documentados y estudiados los impactos negativos que estos han ocasionado sobre los diferentes ecosistemas (Rocha-Santos & Duarte, 2015; Singh & Sharma, 2016). Es por ello que muchos esfuerzos se han enfocado en el desarrollo de procesos alternativos que permitan potenciar las propiedades de los materiales poliméricos convencionales a través de modificaciones químicas, mezclas con polímeros biodegradables, incrustación de sistemas nanoestructurados, entre otros, que permitan mejorar las propiedades mecánicas, y con ello, la vida útil del polímero, o en caso contrario, facilitar su biodegradación para evitar su acumulación y convertirse en causante o agente de contaminación (Mostafa & Tayeb, 2015).

Para dimensionar la gravedad del problema del plástico y sus consecuencias, aquí algunos datos recopilados por Greenpeace México:

- Un estudio liderado por académicos de la Universidad Newcastle en noviembre del 2017 descubrió que los animales de las fosas marinas en el Océano pacífico están contaminados con fibras que probablemente provenían de botellas de plástico, envases y ropa sintética.
- Se estima que 300 millones de toneladas de plástico contaminan los océanos, con más de 5 trillones de piezas de plástico con un peso de más de 250,000 toneladas que actualmente flotan en la superficie del océano.
- En los últimos 10 años hemos producido más plástico que en el último siglo, 50% del plástico que usamos se desecha.
- Actualmente solo recuperamos el 5% del plástico que producimos.
- El plástico representa el 10% de todo el residuo que generamos.

- El plástico en los océanos se descompone en pequeños segmentos y las piezas del plástico de una botella de 1 litro, terminan en cada milla de las playas del mundo.
- Por cada año, en el mundo se utilizan casi 500 billones de bolsas de plástico.
- Para que el plástico se degrade se tiene que tomar de 500 a 1,000 años.
- 44% de las especies de aves, 22% de los cetáceos, las tortugas marinas y una lista creciente de peces han sido documentados con plástico adentro o alrededor de sus cuerpos.
- Los Estados Unidos tuvo la tasa de contaminación más alta de un 94%, en las tomas de agua que fueron muestreadas se detectaron fibras de plásticos.
- En los Estados Unidos el envase es el uso más común de plástico que compone casi el 40% de la demanda de plásticos.
- Está estimado que hasta el 2020 la velocidad en que se produce el plástico habrá aumentado un 900%, comparado con los niveles de 1980.

Otro recurso o estrategia para abatir el problema que presentan los plásticos, consiste en aprovechar los polímeros de origen natural, que, en un entorno sustentable, permitan generar materiales con las propiedades fisicoquímicas y mecánicas adecuadas para aplicaciones específicas o domésticas. Sin embargo, es común relacionar a una gran parte de los polímeros de origen natural con propiedades altamente hidrofílicas o resistencia mecánica reducida, lo que limita su uso en algunas aplicaciones (Gacesa, 1988; Pawar & Edgar, 2012). En consecuencia, la búsqueda de nuevos materiales basados en polímeros naturales complementados con procesos que permitan mejorar algunas de sus propiedades y que involucren la transformación química, la combinación o mezcla con otros componentes y/o diferentes tratamientos físicos, se ha convertido en un área prioritaria para el sector científico e ingenieril (Puppi et al., 2010).

Un ejemplo en el uso de polímeros naturales es el caso del polisacárido alginato de sodio. Es bien conocido y reportado el uso de alginatos para formar soluciones viscosas, microesferas, fibras y geles aplicadas en los sectores alimenticios, textil, farmacéutico y biotecnológicos, principalmente por sus propiedades fisicoquímicas destacando la biocompatibilidad y biodegradación (Lee & Mooney, 2012). Unas de las principales razones por las que se investigan las combinaciones de materiales como el alginato es por las deficiencias físicas y mecánicas que dificultan su uso de manera directa, buscando mejorar sus propiedades y ampliar las características de las combinaciones resultantes.

Actualmente se han desarrollado investigaciones para la formación materiales compuestos utilizando como base alginato de sodio y calcio en combinación con compuestos naturales como proteínas para aplicaciones alimenticias y agronómicas, polisacáridos como el quitosano, sulfato de condroitina (CS, por sus siglas en inglés) o la celulosa para la encapsulación celular o la formación de matrices aplicados al transporte y dosificación de fármacos en diferentes partes del cuerpo (Coates, Riggin, & Fisher, 2013; Dabiri et al., 2017; Fajardo et al., 2012); también se han reportado el uso de polímeros sintéticos como el poli (fumarato de propileno), poliacrilamida u otros materiales como la sílice para formar redes y entrecruzamientos aplicados en ingeniería de tejidos, tratamiento de aguas residuales e inmovilización de enzimas (Díez-Pascual & Díez-Vicente, 2017; Hedberg et al., 2005).

Por otro lado, la investigación en el área de la Química, especialmente en el campo de los polímeros, ha conducido a la síntesis de nuevos materiales biodegradables y biocompatibles, a partir de moléculas orgánicas sencillas. Por lo general, algunas de las macromoléculas desarrolladas hasta el momento presentan propiedades destacadas en el ámbito de los bioplásticos, pero su comercialización presenta varias limitaciones, debido principalmente al alto costo de producción. Este limitante en aspectos económicos se debe a los siguientes factores: el precio elevado de algunas materias primas, el consumo energético y el tiempo requerido en los procesos de transformación, y los bajos rendimientos de reacción obtenidos al final de la síntesis y su purificación. Estos limitantes también juegan un rol determinante en la posibilidad de escalar, a niveles de producción industrial, el proceso de síntesis de este tipo de materiales. Así, el poli (fumarato de propileno) o PPF (por siglas en inglés), se ajusta a este esquema y limitantes.

El PPF destaca por ser un material sintético con propiedades biodegradables y biocompatibles, el cual ha causado un gran interés para aplicaciones en el área biomédica, especialmente en la construcción de andamios para la regeneración de tejidos óseos (Lan et al., 2009; Shahbazi et al, 2014). Diversos estudios reportan el uso de este polímero en combinación con diversos compuestos como el poliéster de dietilfumarato, poliácido láctico, hidroxiapatita, caprolactona, nanovarillas de titanio, nanotubos de carbono, grafeno, entre otros, para la fabricación de microfibras, estructuras 3D con alta porosidad y micro – nano partículas, para su uso principalmente en la elaboración de dispositivos biomédicos (Kempen et al., 2004; Wang & Guo, 2017).

Por lo general, los trabajos de investigación que relacionan el uso de PPF, reportan su síntesis a escala de laboratorio (Kasper et al, 2009; Shung et al., 2002). Esto coincide con que actualmente este polímero no se comercializa, por lo que en diferentes sectores de investigación encuentran en ello un área de oportunidad. Es por esto que el planteamiento de nuevos materiales que fomenten la necesidad de explotar industrialmente este polímero, se puede considerar como una estrategia viable y redituable.

Diversos trabajos han reportado métodos para realizar combinaciones entre diferentes polímeros (Peak, 2005; Rostami & Aqida, 2018). Muchas de las metodologías utilizadas implican un reto ya que las características fisicoquímicas de los polímeros dificultan su interacción bajo un mismo sistema, por ejemplo, la polaridad, solubilidad, estructura química y física, pH, entre otras. De las metodologías aplicadas, destacan la formación de micelas por medio de agentes surfactantes y redes interpenetrantes e injertos mediante agentes de entrecruzamiento, iones metálicos y fotoiniciadores.

En este trabajo se busca desarrollar un nuevo material a partir de mezclas poliméricas, intentando con ello mejorar las propiedades destacadas de los polímeros naturales y sintéticos, y a su vez, se compense simultáneamente aquellos rasgos limitantes que presenta cada uno de los componentes en su forma individual. Se pretende ofrecer una alternativa para el desarrollo de materiales biodegradables, a un bajo costo, con potenciales aplicaciones en el campo biomédico o de uso cotidiano. Lo anterior, basado en el enfoque de aprovechamiento de uno de los recursos renovables más abundantes en las costas de Baja California, el alga café *Macrocystis pyrifera* (Hernández Carmona et al., 1991), fuente abundante de polisacáridos como el alginato de sodio (Aguilar Rosas et al., 2001; Gustavo Hernández-Carmona et al., 2012; Quitral et al., 2012)

Con base en lo anterior, este trabajo de investigación tiene la finalidad de proponer un material alternativo, compuesto de materiales biodegradables y biocompatibles, tales como el polímero sintético hidrofóbico PPF y el polisacárido natural hidrofílico alginato de sodio. Pero es la diferencia en el balance hidrofílico-hidrofóbico que presentan estos polímeros, lo que influye en que la preparación de la mezcla requiera de metodologías específicas. En este trabajo se optó por elegir metodologías orientadas hacia la formación de emulsiones vía micelas inversas mediante el agente surfactante

CTAB, el agente de entrecruzamiento N-vinilpirrolidona y el fotoiniciador BAPO, compuestos utilizados ampliamente en el desarrollo de mezclas y entrecruzamientos poliméricos.

También es importante destacar que este trabajo, aunque se enfoca en el desarrollo de un material alternativo, parte de la extracción del alginato de sodio desde el alga *Macrocystis pyrifera*, y de la síntesis y purificación del PPF. Así, con el resultado favorable producido por la mezcla de estos dos componentes, se pretende despertar el interés de la industria de la región de Baja California, México. Para ello, esta tesis abarca la preparación y caracterización estructural, térmica y morfológica del material PPF-Alginato, dejando abierta la posibilidad de explorar sus propiedades biomédicas y de biodegradación en futuras investigaciones.

## **1.1. Marco teórico y antecedentes**

En ésta sección se hace mención de algunas definiciones que ayudarán a comprender algunos aspectos y términos, así como la mención de trabajos previos a la realización de mezclas poliméricas que ofrezcan información para lograr el objetivo de este trabajo. Uno de los aspectos fisicoquímicos más importantes que ambos polímeros presentan es la biodegradación y la biocompatibilidad, siendo clasificados ambos como biomateriales. A continuación, se define el concepto de biomaterial y algunos aspectos y características importantes que los definen.

### **1.1.1. Biomateriales**

El concepto de biomaterial se estableció en 1982 por el Instituto Nacional de la Salud de E.U.A (Pertici, 2016) el cual se define como una sustancia o combinación de sustancias de origen sintético o natural que pueda ser utilizado durante cualquier periodo de tiempo en un sistema que trate, aumente o reemplace cualquier tejido, órgano o función del cuerpo (Ratheesh et al., 2017). Los materiales utilizados en aplicaciones biomédicas se encuentran en interacción con el cuerpo, por lo tanto, deben satisfacer ciertas características. Nair & Laurencin (2007) describen algunas de las principales características que todo biomaterial debe satisfacer para su aplicación biomédica, destacando la biocompatibilidad, no tóxicos, tener un tiempo de vida útil para el tipo de aplicación, el tiempo de degradación debe ser coincidente con los tiempos de curación y regeneración, propiedades mecánicas



y estructurales específicas y los productos de la degradación deben poder ser metabolizados por el cuerpo y no generar reacciones alérgicas o tóxicas.

En la práctica médica se hace uso de una gran cantidad de biomateriales como los implantes (principalmente suturas, matrices óseas, reemplazos de articulaciones, ligamentos, injertos vasculares, válvulas cardíacas, lentes intraoculares, implantes dentales, etc.) y dispositivos médicos (marcapasos, biosensores, corazones artificiales, etc.) los cuales son utilizados ampliamente para reemplazar y/o restaurar la función de los tejidos u órganos traumatizados o degenerados, propiciando la recuperación, la mejora de la función, corrección de anomalías y por ende, la mejora de la calidad de vida de sus usuarios (Pertici, 2016).

No todos los materiales cumplen con los requisitos anteriormente planteados para ser considerados como biomateriales. Dentro de los materiales utilizados en aplicaciones biomédicas se pueden destacar tres grupos: metales, cerámicos, polímeros y compuestos (Calister & Rethwisch, 2015). Así mismo, los biomateriales pertenecientes a los grupos mencionados pueden ser clasificados como inertes, bioactivos, biocompatibles y biodegradables. Dentro del grupo de los materiales cerámicos más destacados se encuentran la alúmina, dióxido de titanio, dióxido de zirconio, el carbono y la hidroxiapatita (HA); Entre los metales y aleaciones utilizados de manera exitosa como biomateriales se encuentran el oro, tantalio, acero inoxidable, aleaciones de cromo y cobalto, níquel y titanio (nitinol) y nitruro de titanio. En polímeros se utiliza un gran número de tipos distintos, resaltando el polietileno (PE), poliuretano (PU), politetrafluoroetileno (PTFE), poliacetal (PA), polimetilmetacrilato (PMMA), politereftalato de etileno (PET), polisulfona (PS), polietercetona (PEEK), poliácido láctico (PGA), etc. Algunos ejemplos de materiales compuestos para aplicaciones biomédicas son HA / PE, sílice / SR, fibra de carbón (CF) / PE, CF / epoxi y CF / PEEK. Todos los materiales mencionados anteriormente presentan diferentes características, las cuales son aprovechadas para diversas aplicaciones específicas en el área biomédica (Ramakrishna, Mayer, Wintermantel, & Leong, 2001; Ratner & Bryant, 2004).

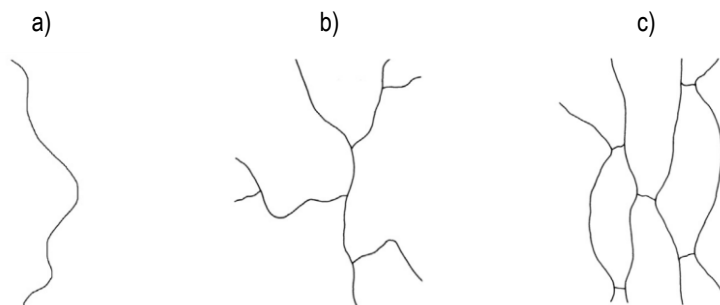
Para este trabajo se utilizan materiales del tipo polimérico, por lo que a continuación se hace la mención de algunos conceptos importantes y la descripción de los materiales empleados en esta tesis, PPF y alginato de sodio.

## 1.1.2. Polímeros

Los polímeros son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica en diversas aplicaciones biomédicas, destacando el transporte de fármacos, ingeniería de tejidos, implantes, prótesis, materiales de uso dental y regeneración de tejido óseo (Gunatillake et al., 2003; Schneiderman & Hillmyer, 2017; Suggs et al., 2007).

Por definición, un polímero se constituye por la repetición de unidades elementales o estructurales que se encuentran unidas químicamente por enlaces covalentes, denominados monómeros. Los polímeros pueden formar estructuras lineales, ramificadas y entrecruzamientos o redes tridimensionales, como las mostradas en la **figura 1** (Hasrc et al., 2001).

A su vez, los monómeros son moléculas pequeñas cuya estructura química permite que haya interacciones entre sí, formando moléculas de mayor tamaño y que da lugar a la formación de los polímeros. El proceso mediante el cual es sintetizado un polímero es llamado polimerización. No existe un límite determinado en términos de masa molecular o número de unidades repetitivas por molécula que defina cuando un compuesto deba considerarse un polímero (Galego et al., 1987).

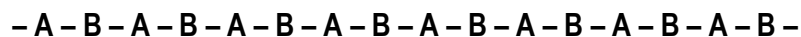


**Figura 1.** Tipos de estructuras formadas mediante los procesos de polimerización y entrecruzamiento de las cadenas de un polímero: a) polímeros lineales, b) polímeros ramificados y c) polímeros entrecruzados.

La formación de las cadenas de un polímero puede tener diferentes arreglos o distribución de los monómeros según los mecanismos de síntesis o el tipo de polímero que se esté formando, por ejemplo, cuando dos o más monómeros se enlazan covalentemente dentro de la misma cadena de polímero, normalmente es clasificado como un copolímero. Otro caso sería cuando una cadena está

constituida por un solo tipo de monómero, recibiendo el nombre de homopolímero. En base a que un copolímero consta de al menos dos tipos de monómero distintos entre sí, estos se pueden clasificar de acuerdo a la distribución de los monómeros a lo largo de las cadenas del polímero. Estas clasificaciones son: copolímero alternante, copolímero al azar, copolímero en bloque y copolímero de injerto (McKeen, 2018).

Cuando dos monómeros se encuentran enlazados de tal forma que se ordenan de manera alternada como en la **figura 2**, reciben el nombre de copolímeros alternados.



**Figura 2.** Estructura básica de un copolímero alternado, donde A y B son monómeros distintos entre sí.

En la estructura de los copolímeros alternantes, los monómeros necesariamente deben estar presentes en una proporción uno a uno en las cadenas del polímero, por lo que dichos monómeros pueden seguir en cualquier orden como el mostrado en la **figura 3**.



**Figura 3.** Estructura básica de un copolímero aleatorio, donde A y B son monómeros distintos entre sí.

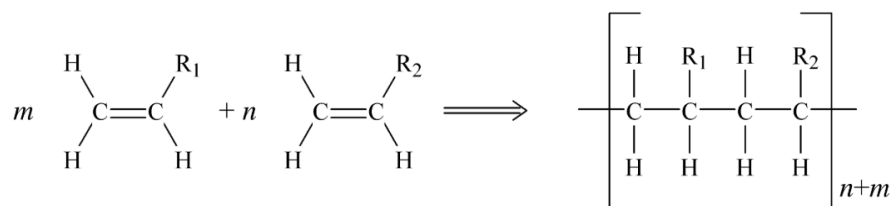
En los arreglos de copolímeros tipo bloque, todos los monómeros de un tipo se encuentran todos agrupados, al igual que los monómeros del segundo tipo. Un copolímero tipo bloque se puede considerar como un homopolímero de mayor proporción unidos en los extremos, al igual que el que se muestra en la **figura 4**.



**Figura 4.** Estructura básica de un copolímero en bloque, donde A y B son monómeros distintos entre sí.

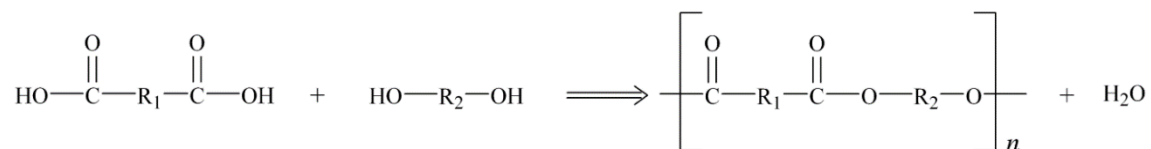


La polimerización puede ocurrir por diversos métodos, pero los más estudiados y utilizados son la polimerización por adición y condensación. La polimerización por adición o también llamada polimerización en cadena, adiciona un monómero a la vez en la cadena creciente del polímero. El proceso de polimerización por adición se lleva a cabo en tres etapas: iniciación de la cadena, propagación y terminación (**figura 6**). Algunos de los polímeros comerciales producidos mediante la polimerización por adición son el polietileno (PE), poli (cloruro de vinilo) (PVC), acrílicos, poliestireno (PS) y polietilenglicol (McKeen, 2014).



**Figura 6.** Polimerización por adición o en cadena. Tomado de McKeen, (2014).

El otro método mencionado es la polimerización por condensación o como también es llamada, “polimerización por etapas” y se ejemplifica en la **figura 7**. Se define como el proceso en el que dos moléculas reaccionan para formar una nueva, generando un subproducto que típicamente es agua o también amoníaco (NH<sub>3</sub>). Una de las cualidades que presentan los polímeros sintetizados por este método, es que pueden ser degradados por agua a altas temperaturas; un ejemplo es el poli (tereftalato de etileno) (PET). Los polímeros más comunes formados por este método son el Nylon 6,6, policarbonato, fenol formaldehído y urea formaldehído (Groover, 2014).



**Figura 7.** Polimerización por condensación o por etapas. Tomado de McKeen, (2014).

Una característica importante que presentan los polímeros y que influye en la elaboración de mezclas poliméricas es la polaridad, la cual es definida como la separación de cargas eléctricas en una molécula producida por las diferencias de electronegatividad entre dos átomos unidos covalentemente. Los electrones son más densos alrededor del átomo más electronegativo, generando

un polo negativo y uno positivo (dipolo). La polaridad en polímeros afecta la atracción entre cadenas influyendo en su estructura, solubilidad y por consecuencia en la permeabilidad. Por lo tanto, los polímeros también se pueden clasificar según su polaridad como polares o apolares dependiendo de las interacciones moleculares en su estructura (McKeen, 2014).

Otra característica importante ya mencionada de los polímeros es cuando estos pueden ser empleados en ambientes biológicos, y se definen como biopolímeros. Diversos polímeros naturales y sintéticos presentan biodegradación, definida como el deterioro de las propiedades fisicoquímicas y la disminución de su masa molecular para la formación de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>, biomasa, sales inorgánicas y otros compuestos de bajo peso molecular afectados o modificados por microorganismos en condiciones tanto aeróbicas como anaeróbicas. El mecanismo para la biodegradación de los polímeros implica la ruptura de enlaces que componen a la cadena principal por medio de hidrólisis o de forma enzimática (Suggs et al., 2007).

Actualmente se están desarrollando un gran número de investigaciones para el desarrollo de polímeros multifuncionales para aplicaciones biomédicas. Los polímeros tienen la propiedad de formar redes altamente reticuladas *in situ*, de tal forma que se pueden utilizar como materiales inyectables que adopten la forma de cavidades o defectos irregulares (Timmer et al., 2003).

### **1.1.3. Polímeros sintéticos**

Los polímeros sintéticos se caracterizan por tener una amplia gama de propiedades y aplicaciones. Por ejemplo, algunos polímeros pueden ser moldeados para la fabricación de lentes; el uso del caucho para la fabricación de neumáticos con propiedades elásticas y térmicas específicas para resistir los cambios de temperatura y el constante contacto con el asfalto y la fabricación de fibras sintéticas para la elaboración de prendas (Ouellette & Rawn, 2018). En el campo biomédico, los polímeros sintéticos se diseñan con propósito de imitar las funciones de los tejidos biológicos, principalmente en sus propiedades químicas y físicas.

Se estima que los primeros polímeros sintéticos aplicados en biomateriales fue alrededor de 1960 (Niaounakis, 2015). A partir de ese periodo, se han sintetizado un amplio número de polímeros

aplicados en ingeniería de tejidos, transporte y liberación controlada de fármacos, bioseparación y diagnóstico, dispositivos médicos de transporte y almacenamiento de material genético (Suggs et al., 2007).

Algunos de los polímeros sintéticos más utilizados en ingeniería de tejidos son el ácido poliglicólico (PGA), ácido poliláctico (PLA), ácido poli (láctico – copolímero – glicólico) (PLGA), polianhídridos, poli (fumarato de propileno) (PPF, por sus siglas en inglés), policaprolactona (PCL), polietilenglicol (PEG) acetato de polivinilo (PVA) y poliuretano (tabla 1) (Niaounakis, 2015; Ratheesh et al., 2017). Una característica importante para la degradación de estos polímeros, es que en su mayoría son llevadas a cabo mediante la hidrólisis simple de sus cadenas (Butler & Goldstein, 2000).

Un polímero que podría ser importante en el campo de los biomateriales es el poli (fumarato de propileno), el cual es propuesto para el desarrollo de este trabajo por lo que a continuación, se hace una descripción de sus principales características.

#### **1.1.3.1. Poli (fumarato de propileno)**

- **Propiedades**

El PPF es uno de los polímeros más atractivos aplicado a la ingeniería de tejido óseo (Wang et al., 2006). Se caracteriza por ser un poliéster lineal insaturado constituido por unidades alternantes de propilenglicol y ácido fumárico de origen sintético, con propiedades interesantes como la biodegradación, biocompatibilidad, osteoconductividad y resistencia mecánica apta para su aplicación en dispositivos ortopédicos. Es degradado en presencia de agua en forma de propilenglicol y ácido fumárico, productos que el cuerpo humano elimina mediante procesos metabólicos normales (Henslee et al., 2012; Rezwan et al., 2006; Timmer et al., 2003; 5733951, 1998). También puede formar entrecruzamientos consigo mismo mediante polimerización por radicales libres en presencia de fotoiniciadores óxido de bisacrifosfina (BAPO, por sus siglas en inglés) o en presencia de agentes de entrecruzamiento (Fisher et al., 2002; Lee et al., 2008; Ratheesh et al., 2017; Timmer et al., 2003).

Estructuralmente el PPF posee dobles enlaces a lo largo de sus cadenas, lo que favorece la formación de entrecruzamientos en presencia de diferentes agentes como N-vinilpirrolidona (Peter et

al., 1999), PPF – diacrilato (Timmer et al., 2003), metacrilato de metilo (Frazier et al., 1997), polietilenglicol y dimetilfumarato (Kasper et al., 2009).

Las propiedades mecánicas y la velocidad de degradación pueden ser controladas mediante la variación del peso molecular o el contenido de reticulación en el polímero (Puppi et al., 2010). Debido a que el PPF es un material en estado líquido-viscoso, puede ser empleado en la fabricación de implantes mediante el moldeo por compresión e inyección en sitios defectuosos y cavidades para ser reticulados *in situ* (Timmer et al., 2003).

- **Aplicaciones**

El PPF es aplicado principalmente en el sector biomédico. La combinación de PPF con partículas cerámicas tales como carbonato de calcio o fosfato de calcio, es utilizada como sustituto de hueso de alta porosidad (Cai et al., 2009). Otra aplicación es la combinación de PEG y PPF en usos cardiovasculares (Suggs et al., 1999), la creación de implantes ortopédicos, matrices para ingeniería de tejidos, sistema de transporte controlado de fármacos y como vehículo de transporte celular (Buyuksungur et al., 2017; Giambini & Zeng, 2014; Gunatillake et al., 2012; Kasper et al., 2009; Mitha & Jayabalan, 2009; Shahbazi et al., 2014).

#### **1.1.4. Polímeros naturales**

Los polímeros naturales que se encuentran en la naturaleza se clasifican en tres grupos principales: polinucleótidos, compuestos de cadenas de nucleótidos, poliamidas constituidas por cadenas de proteínas y polisacáridos formados por cadenas de azúcares. En este trabajo se hace énfasis en el grupo de los polisacáridos por el uso del polímero alginato de sodio. Los polisacáridos son polímeros biodegradables constituidos por un tipo de monosacáridos o la combinación de diferentes monosacáridos de origen vegetal y animal. En plantas se pueden encontrar principalmente almidón, celulosa, pectinas, agar, carragenanos y alginatos; en animales se encuentra la quitina, colágeno, la condroitina, entre otros (Shi, 2016); las producidas por bacterias como el dextrano y la celulosa (Naveed et al., 2014). Las principales funciones que los polisacáridos cumplen en los organismos son como reserva energética, soporte estructural y constituyente de la pared celular en plantas (Janarthanan et al., 2016).



Una de las principales ventajas de los polímeros naturales es la buena interacción celular con una mínima respuesta inflamatoria aplicada en la terapia regenerativa de órganos. Sus propiedades mecánicas, de biocompatibilidad y biodegradación hacen de éstos polímeros materiales adecuados para la formación de matrices celulares (Ratheesh et al., 2017). Entre los principales polímeros naturales para la fabricación de biomateriales se encuentran el colágeno, gelatina, seda, fibrina, alginato, agarosa y quitosano; véase tabla 1.

**Tabla 1.** Aplicación de polímeros naturales y sintéticos en ingeniería de tejidos (Ratheesh et al., 2017).

Polímeros	Aplicación biomédica	Artículos
<b>Polímeros Naturales</b>		
Agarosa	Injerto, ingeniería de tejidos, administración de fármacos.	Alaminos et al. (2006), Caban et al. (2007)
Alginato	Matriz para soporte celular, administración de fármacos, ingeniería de tejidos.	Maity et al. (2017), Stevens et al. (2004)
Quitosano	Regeneración de tejidos, administración de fármacos.	Maity et al. (2017), Feng et al. (2017), Tan et al. (2007), Kafshgari et al. (2012)
Colágeno	Matriz para piel artificial, cartílago, hueso y vasos sanguíneos.	Kadler et al. (2007), Zeugolis et al. (2008), Fratzl, (2008), (Coughlin, 1982)
Gelatina	Transporte de los factor de crecimiento, vascularización.	Nooeaid et al. (2012), Kim et al. (2004)
<b>Polímeros sintéticos</b>		
PLA, PGA	Ingeniería de tejido óseo, vasos sanguíneos artificiales.	Roether et al. (2002), Chem et al. (2012), Asti et al. (2010), Kakisis et al. (2005), Jiao et al. (2006)
PLGA	Ingeniería de tejido óseo, suturas biodegradables.	Roether et al. (2002), Chem et al. (2012), Asti et al. (2010), Kakisis et al. (2005), Jiao et al. (2006)
PCL	Reparación de hueso y cartílago, regeneración ósea.	Zhang et al. (2004), Heang et al. (2007)
PEG	Matrices inyectables para lesiones de médula espinal.	Cernencu et al. (2017), Díez-Pascual & Díez-Vicente (2016)
PVA	Regeneración de cartílago, implantes de seno.	Prabha & Raj (2017), Narayanan & Han (2017)
PPF	Ingeniería de tejidos, matriz para soporte celular, Matrices inyectables para regeneración de tejido óseo	Kim et al. (2017), Bracaglia et al. (2017), Wang et al. (2006), Lee et al. (2008), Salarian et al. (2014), Lu et al. (2015)
Poliuretano	Órganos artificiales, catéteres, válvulas cardiovasculares, sustituto de tejido para menisco.	Bucio et al. (2014), (Gunatillake et al. (2003)

Para este trabajo, se planteó el uso de alginato de sodio en combinación con PPF, por lo que, a continuación, se realiza una descripción de los aspectos más importantes a considerar de cada polímero para el desarrollo de este trabajo.

#### **1.1.4.1. Alginatos**

- **Antecedentes históricos**

Los alginatos se definen como sales de ácido algínico pertenecientes al grupo de los ficocoloides. Estos polisacáridos tienen la habilidad de formar soluciones viscosas o geles en presencia de cationes metálicos. Los alginatos son producidos por algunas especies de algas marinas como *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria japonica*, *Ecklonia maxima*, *Lessonia nigrescens*, *Durvillea antarctica*, *Sargassum spp* y en bacterias por *Azotobacter vinelandii* y *Pseudomonas* (Fertah, 2017; Paredes et al., 2014). Este polisacárido fue identificado como un componente estructural de las algas, principalmente de mucílago intracelular y paredes intracelulares (Donati & Paoletti, 2009). En bacterias se encuentran como polisacáridos capsulares (Draget, 2005). El porcentaje en peso de alginatos en algunas especies puede llegar a representar alrededor del 18 al 40% en peso seco (Senni et al., 2011).

El proceso para la extracción de alginatos fue patentado originalmente por el científico inglés E.C.C. Stanford el 12 de junio de 1881, pero no fue hasta 1886 cuando Krefting patentó un proceso para obtener ácido algínico puro (Arvizu-Higuera et al., 1997; Gacesa, 1988; Hernández-Carmona et al., 2013).

En 1923 Thornley estableció un negocio de briquetas de carbón utilizando alginato como aglutinante de polvo de antracita, explorando el potencial de este recurso. En 1927 Thornley trasladó su compañía a San Diego, California, para producir alginato que fue utilizado en el sellado de alimentos enlatados. Posteriormente el nombre de su compañía cambió a Kelp Products Corp. y en 1929 se reorganizó como Kelco Company, donde posteriormente comenzaría la producción de alginato a gran escala en San Diego, California. La producción en el Reino Unido se estableció en el periodo de 1934-1939, y en Noruega algunos años después, posterior a la segunda guerra mundial (Hernández-Carmona et al., 2013; Mchugh, 1987).

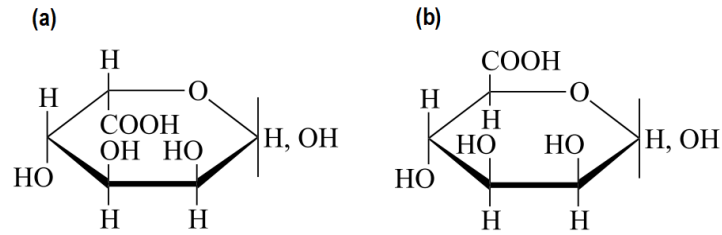
Por otra parte, en 1926 diferentes grupos de investigadores descubrieron que un tipo de ácido urónico es el constituyente del ácido alginico, al que clasificaron como D – manurónico, obtenido mediante hidrólisis de alginatos. Sin embargo, en 1955, Fisher y Dörfel mediante un estudio de cromatografía en papel refutaron la idea de que los alginatos se conformaban por un único ácido urónico. Dicho estudio reveló la presencia de un ácido urónico diferente en cantidades considerables al que identificaron como L-gulurónico (Draget, 2005; Minghou et al., 1984).

- **Propiedades**

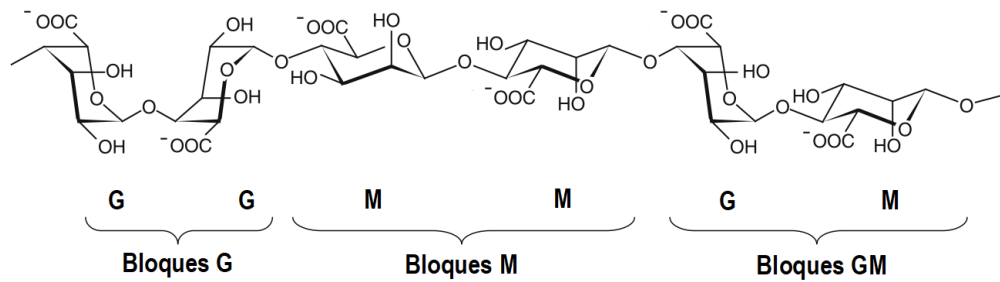
Los alginatos son polisacáridos de cadenas lineales, aniónicos e hidrofílicos de origen natural (Sun & Tan, 2013). Pueden formar geles con iones de  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Sr}^{+2}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}$  (Ching et al., 2017; Dabiri et al., 2017; Rajesh et al., 2017). Su principal función en las algas es conferir fuerza, flexibilidad al tejido y prevenir la desecación, permitiendo su subsistencia en el ecosistema marino (Fertah, 2017; Hernandez-carmona, 2012; Puguan et al., 2015).

La estructura química de los alginatos se encuentra constituida por los ácidos  $\beta$ -D-manurónico y  $\alpha$ -L-gulurónico unidos por enlaces glucosídicos (1-4), donde se encuentran en tres tipos de segmentos o bloques homogéneos GG, MM y alternantes GM (**figura 8 y 9**). Las propiedades físicas, químicas e inmunológicas de los alginatos dependen de la cantidad de bloques MM, GG y MG/GM (Mikkelsen & Elgsaeter, 1995).

Los radios M/G y la estructura de los bloques tiene un gran efecto en las propiedades de los alginatos; este parámetro permite conocer las características de los geles mediante la adición de cationes divalentes, comúnmente de calcio, de tal forma que una mayor proporción de bloques GG da lugar a geles de mayor rigidez (Lorbeer et al., 2017; Mclachlan, 1985). Las aplicaciones industriales de los alginatos varían según los tipos de bloques que predominan en sus cadenas y de la especie de la que fue extraído (Haug & Larsen, 1962; Lee & Mooney, 2012). Por otro lado, la cantidad de bloques MG en las cadenas de alginato es una medida de la solubilidad en soluciones ácidas. Algunos ejemplos de los porcentajes de ácidos manurónico y gulurónico, así como la razón M/G de diferentes especies de algas se muestran en la tabla 2 (Fertah, 2017).

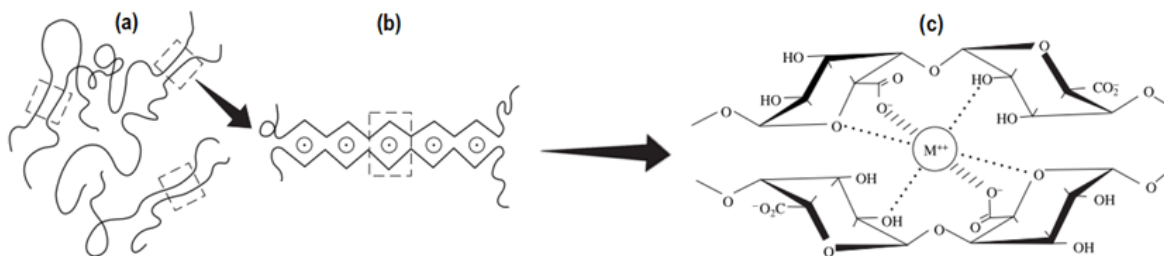


**Figura 8.** Ácidos urónicos que conforman las cadenas de ácido alginico. (a) Ácido  $\alpha$  L-gulurónico (G) y (b) Ácido  $\beta$  D-manurónico (M). Obtenido y modificado de Khotimchenko et al., (2001).



**Figura 9.** Arreglo de las cadenas de ácido alginico en forma de bloques GG, MM y bloques alternados GM. Obtenido y modificado de Donati & Paoletti, (2009).

Los alginatos son conocidos por su habilidad de formar geles de tipo completo o insolubles en presencia de iones de  $\text{Ca}^{+2}$  que interactúan con ácidos gulurónicos (Bouhadir et al., 2001; Rajesh et al., 2017). De acuerdo con el modelo de caja de huevo, “egg-box” (Grant et al., 1973; Lee et al., 2017; Mikkelsen & Elgsaeter, 1995), dos residuos de ácido gulurónico contiguos unidos en posición axial forman una cavidad que actúa como sitio de unión para los iones de calcio (**figura 10**). Esta unión genera asociaciones entre cadenas estables, además de interacciones laterales en forma de dímeros, dando como resultado la formación de geles que, en relación a propiedades mecánicas, dependen directamente del número de zonas de unión producidas entre las cadenas del polímero (Soazo et al., 2015).



**Figura 10.** Representación esquemática del modelo caja de huevo o “egg-box” de los geles de alginato. (a, b) Las líneas punteadas representan zonas de unión entre cadenas de alginato. (c) Las líneas de puntos representan enlaces de coordinación entre los átomos de oxígeno y el ion metálico. Las líneas punteadas indican enlaces iónicos entre los grupos carboxilo y el ion metálico. Tomado y modificado de Khotimchenko et al., (2001).

- **Aplicaciones**

La habilidad de los alginatos para formar soluciones viscosas o geles que pueden absorber y retener agua permite su aplicación en muchas áreas industriales (Ma et al., 2017). Las principales áreas de aplicación son la alimenticia, biomédica, farmacéutica, cosmética, agronómica y textil (Fertah, 2017; Kuo & Ma, 2001). Los alginatos son utilizados en la industria alimenticia para dar consistencia y aspecto estético a productos lácteos y enlatados, mejorar la textura, retener la humedad en productos de repostería (Bixler & Porse, 2011); también aseguran una textura suave, descongelamiento uniforme de alimentos (Venkatesan et al., 2017) y pueden ser utilizados como empaque de alimentos (Garavand et al., 2017).

Los alginatos son de particular interés por su amplia gama de aplicaciones en el campo de los biomateriales debido a sus excelentes propiedades biocompatibles, biodegradación y su capacidad para formar geles en presencia de iones metálicos. Los alginatos se utilizan en la regeneración de tejido óseo, administración y transporte de fármacos, y en algunas formulaciones que previenen el reflujo gástrico (Kuo & Ma, 2001; Stevens et al., 2004). En medicina, son utilizado como agentes desintegradores de tabletas, impresiones dentales, transporte de fármacos (Bouhadir et al., 2001) y en la elaboración de vendas para heridas que son absorbidas por el cuerpo sin la necesidad de ser removidas (Bixler & Porse, 2011). Otras aplicaciones son como espesante de la pasta que contiene la tinta para la impresión en tela (Lorbeer et al., 2017), la fabricación de papel para suavizar la superficie de contacto y en la composición de varillas para soldar (Hernández-Carmona et al., 2012).

**Tabla 2.** Porcentajes de los ácidos manurónicos, gulurónicos y razón M/G presentes en diferentes especies de algas comerciales. Obtenido y adaptado de Fertah, 2017.

Espece	Referencia	Ácido Manurónico (%)	Ácido Gulurónico (%)	Razón M/G
<b><i>Ascophyllum nodosum</i></b>				
	(Haug et al., 1974)	-	-	1.56
	(Penman & Sanderson, 1972)			1.29
	(A. Haug & Larsen, 1962)	64.5	35.5	1.82
	(A. Haug & Larsen, 1962)	-	-	1.10 <sup>b)</sup>
	(Grasdalen et al., 1979)	60.0	40.0	1.5
	(Arne Haug, 1964)	-	-	1.85 <sup>b)</sup>
<b><i>Ecklonia cava</i></b>				
<b>Fronda</b>	(D.-S. Kim, 1984)	-	-	2.64-3.08 <sup>c)</sup>
<b>Estipe</b>	(D.-S. Kim, 1984)	-	-	1.39-2.91 <sup>c)</sup>
<b><i>Laminaria digitata</i></b>				
	(A. Haug et al., 1974)	-	-	1.45
	(Grasdalen et al., 1979)	-	-	1.63
	(A. Haug & Larsen, 1962)	53.7	46.3	1.16
	(A. Haug & Larsen, 1962)	-	-	1.58
	(A. Haug & Larsen, 1962)	59.0	41.0	1.43 <sup>b)</sup>
<b><i>Laminaria hyperborea</i></b>				
	(Penman & Sanderson, 1972)	38.3	61.7	0.62
<b>Fronda</b>	(A. Haug et al., 1974)	-	-	1.35
<b>Fronda</b>	(A. Haug & Larsen, 1962)	56.0	44.0	1.28
<b>Estipe</b>	(A. Haug et al., 1974)	-	-	0.65
<b>Estipe</b>	(Penman & Sanderson, 1972)	-	-	0.40
<b>Estipe</b>	(Grasdalen et al., 1979)	30.0	70.0	0.43
<b>Estipe</b>	(A. Haug & Larsen, 1962)	-	-	0.37
<b>Estipe</b>	(A. Haug & Larsen, 1962)	-	-	0.46 <sup>b)</sup>

<b><i>Laminaria japonica</i></b>				
	(Minghou et al., 1984)	69.3	30.7	2.26 <sup>b)</sup>
<b>Parte basal</b>	(Minghou et al., 1984)	-	-	2.34-3.18 <sup>c)</sup>
<b>Parte apical</b>	(Minghou et al., 1984)	-	-	1.61-2.02 <sup>c)</sup>
<b><i>Macrocystis pyrifera</i></b>				
<b>Australiana</b>	(Penman & Sanderson, 1972)	-	-	1.38
<b>Americana</b>	(A. Haug & Larsen, 1962)	61.0	39.0	1.56
<b>Fronda</b>	(Minghou et al., 1984)	-	-	1.52
<b>Estipe</b>	(Minghou et al., 1984)	50.5	49.5	1.02
<b>Vejiga de aire</b>	(Minghou et al., 1984)	-	-	1.41
<b><i>Undaria pinnatifida</i></b>				
	(Minghou et al., 1984)	-	-	1.45-2.65 <sup>c)</sup>
a) Muestras procesadas en laboratorio, b) Muestra comercial utilizada para el análisis y c) Variación de la extracción debido al periodo de recolección de las muestras durante el año.				

### 1.1.5. Mezclas entre polímeros

Para este trabajo, se ha planteado la combinación de los polímeros PPF y alginato de sodio, dos polímeros que difieren en características físicas y químicas pero que comparten las propiedades de biocompatibilidad y biodegradación, de allí el interés para realizar combinaciones entre ambos compuestos que puedan ofrecer un material con mejores propiedades en comparación con las que cada polímero presenta de manera individual y ofrecer una alternativa a la elaboración de materiales de bajo costo aplicados a ingeniería de tejidos y materiales biodegradables de insumo cotidiano. La combinación de polímeros se ha reportado en la literatura de manera abundante, así como las técnicas utilizadas para ello. No obstante, los trabajos publicados que impliquen la combinación de PPF y alginato de sodio son escasos o casi nulos. Algunos de los trabajos reportados en la literatura son el publicado por Finosh et al., (2015), en el cual se desarrolla un injerto entre las cadenas de PPF y alginato de sodio mediante polimerización por condensación, aprovechando los grupo hidroxilo de PPF y carboxilo de alginato de sodio obteniendo como subproducto agua. Para este mismo trabajo se reportaron el uso de agentes de entrecruzamiento, siendo el cloruro de calcio y ácido acrílico los

utilizados para generar entrecruzamientos entre cadenas de alginato de sodio y PPF respectivamente. Su trabajo se enfoca a la elaboración de tejido muscular cardíaco.

Por el contrario, otros trabajos reportan el uso de alginato de sodio y PPF en combinación con otros polímeros de origen sintético o natural. Fajardo et al., (2012) reporta la formación de hidrogeles de alginato entrecruzado con  $Ca^{+2}$ , y la adición de CS aplicado como un sistema de transporte de fármacos específico para colon. Coates et al., (2013) reporta la formación de hidrogeles en base al entrecruzamiento de cadenas de alginato de metacrilato mediante el uso del fotoiniciador VA-086, característico por ser soluble en agua y absorber la radiación UV a 365 nm, aplicado al transporte celular para terapia regenerativa de cartílago. Dabiri et al., (2017) reporta la formación de un hidrogel a base de alginato de sodio y el mineral brushita para el transporte del fármaco ibuprofeno. Hosseinzadeh & Abdi, (2017) reportaron la elaboración de nanocompositos a base de alginato de sodio y dióxido de silicio aplicado a la remoción de azul de metileno de residuos textiles. Kafshgari et al., (2012) reporta la elaboración de un sistema novedoso para el transporte y control de fármacos mediante micelas inversas de alginato de sodio y quitosano utilizando CTAB como surfactante, resaltando la biocompatibilidad como característica principal sobre otros sistemas tipo micela.

Por otra parte, se han reportado diversos trabajos que utilizan al PPF en combinación con otros materiales para formar compuestos aplicados principalmente en ingeniería de tejidos. Hedberg et al., (2005) reporta la síntesis de micropartículas de PLGA / PEG embebidas en una matriz de PPF para formar un material de alta porosidad aplicado al transporte y dosificación de fármacos, en el que resaltan los tiempos de degradación menores a 26 semanas en comparación con otros reportados que sobrepasan a ese tiempo. Un trabajo similar al anterior es el publicado por Kempen et al., (2004) en el que reportan la síntesis de microesferas de PPF / PLGA mediante el método de doble emulsión, en el que se realiza una primera emulsión entre la mezcla polimérica y el fármaco, posteriormente realizan otra emulsión en presencia de PVA para formar las micropartículas. Wang & Guo, (2017) reportaron la síntesis de un material híbrido basado en PPF-diacrilato (PPF-DA) / poli (fumarato de butilo) (PBF) aplicado a la encapsulación de diodos emisores de luz (LED, por sus siglas en inglés), el cual es entrecruzado mediante radiación UV utilizando el fotoiniciador BAPO. Al igual que en los trabajos anteriormente descritos, Lee et al., (2011) reporta la elaboración de un material compuesto constituido por microesferas de PLGA embebidas en una matriz de PPF/DF para la elaboración de



tejidos por impresión 3D utilizando como agente de entrecruzamiento el fotoiniciador BAPO, con el fin de crear implantes óseos que sean moldeables a la zona que se desea atender. Díez-Pascual & Díez-Vicente, (2016) elaboraron un material compuesto a base de PPF / PG, en el que al PG se le realizó un injerto en sus cadenas de óxido de grafeno, utilizando como agente de entrecruzamiento de las cadenas de PPF a NVP, con la finalidad de mejorar las propiedades mecánicas del material, el cual es enfocado al área de ingeniería de tejido óseo.

Muchas de las publicaciones reportadas y mencionadas anteriormente para la combinación tanto del polímero PPF, como para el alginato de sodio, hacen mención de diversos factores importantes como el uso de agentes de entrecruzamiento, agentes surfactantes para la elaboración de emulsiones y fotoiniciadores para inducir entrecruzamientos.

En la literatura citada se menciona la síntesis de micelas de alginato de sodio en emulsión, utilizando el agente surfactante CTAB para encapsulación. Un aspecto importante de lo anteriormente mencionado es la formación de micelas inversas que puedan ser embebidas en soluciones no polares, como es el caso del solvente cloruro de metileno para el caso del PPF.

El uso de agentes de entrecruzamiento como los iones de calcio o NVP para el caso del alginato de sodio y PPF respectivamente, es una herramienta que permite mejorar las propiedades mecánicas de ambos polímeros y que son útiles principalmente en la elaboración de tejidos. Dichos mecanismos de entrecruzamiento son ampliamente reportados en la literatura. Otra metodología reportada es el uso de fotoiniciadores, específicamente el uso de BAPO, el cual permite formar entrecruzar *in situ* de las cadenas de PPF sin provocar reacciones secundarias de importancia en el organismo.

En base lo anterior, es importante definir algunos conceptos y métodos que en los posteriores capítulos serán discutidos e implementados, como por ejemplo el uso de agentes entrecruzantes, surfactantes y fotoiniciadores.

### 1.1.6. Agentes de entrecruzamiento

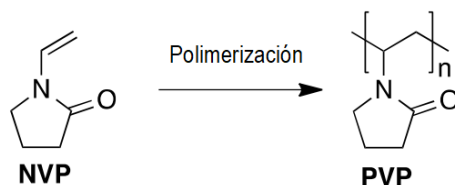
Los agentes de entrecruzamiento son compuestos utilizados para llevar a cabo los procesos de unión entre cadenas de polímeros por medio de enlaces covalentes o por interacciones físicas. En polímeros, los métodos de entrecruzamiento utilizan agentes cuyo propósito es promover la ruptura de enlaces dobles entre átomos de carbono para unir de manera directa cadenas adyacentes de polímero o ser un intermediario para la formación de puntos de unión (Montazer & Harifi, 2018; Tolinski, 2009).

Mirtič, Ilaš, & Kristl, (2017) reporta el uso de cationes de calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), zinc ( $\text{Zn}^{+2}$ ), quitosano, polietilenimina (PEI, por sus siglas en inglés), cloruro de cetilpiridinio (CPC, por sus siglas en inglés) y CTAB como agentes de entrecruzamiento con alginato de sodio para evaluar la formación de nanopartículas y micelas.

Uno de los agentes de entrecruzamiento con amplias publicaciones reportadas para su uso en conjunto con el PPF es la NVP. A continuación, se hace una descripción de las características más importantes por las que este compuesto es ampliamente utilizado en aplicaciones biomédicas.

- **N – vinilpirrolidona (NVP)**

La N-vinilpirrolidona o NVP (**figura 11**), es un agente de entrecruzamiento térmico, inocuo, biocompatible, biodegradable y puede ser polimerizado por radicales libres (Henslee et al., 2012; Lee et al., 2008), además de ser soluble en agua y excretado del organismo por medio de los riñones (Díez-Pascual & Díez-Vicente, 2017). Es ampliamente utilizado en aplicaciones biomédicas como poli(vinilpirrolidona) o como agente de entrecruzamiento de otros polímeros sintéticos como el PPF (Cai et al., 2009; Díez-Pascual & Díez-Vicente, 2017; Jo et al., 2001; Lee et al., 2008; Mitha & Jayabalan, 2009). Las principales aplicaciones de la N-vinilpirrolidona es en ingeniería de tejidos para la reparación de tejido óseo (Cai et al., 2009) y dispositivos ortopédicos (Mitha & Jayabalan, 2009).



**Figura 11.** Estructuras de N-vinilpirrolidona y polivinilpirrolidona. Tomado y modificado de Aurora et al., (2015).

Otro de los factores mencionados en la literatura y plasmados anteriormente en esta sección es el uso de fotoiniciadores para inducir el entrecruzamiento entre las cadenas de un polímero con dobles enlaces disponibles en su estructura, como es el caso del PPF. El uso del fotoiniciador BAPO se reporta en múltiples ocasiones para el desarrollo de matrices o materiales entrecruzados, por ello se menciona a continuación algunos aspectos importantes a considerar respecto a las propiedades y características de los fotoiniciadores en general, y del compuesto CTAB utilizado en este trabajo.

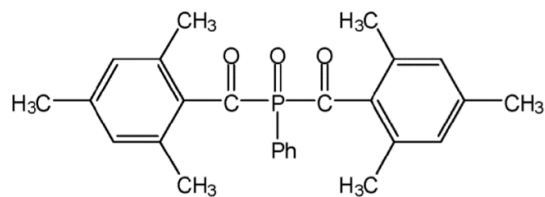
#### **1.1.6.1. Fotoiniciadores**

Los fotoiniciadores empleados para la formación de entrecruzamientos en polímeros se caracterizan por la absorción de luz en el rango del espectro visible-ultravioleta comprendido entre 250-450 nm, con la propiedad de transformar la energía luminosa en energía química para llevar a cabo procesos de polimerización catiónica o por radicales libres (Pappas & Dakota, 1989). El entrecruzamiento asistido por fotoiniciadores se ha convertido en una herramienta importante por su amplia variedad de aplicaciones industriales y biomédicas (Pappas, 1989).

Diversos trabajos emplean el uso de fotoiniciadores para inducir el entrecruzamiento de polímeros biodegradables y biocompatibles a temperatura ambiente de manera puntual, convirtiéndolos casi de manera instantánea de un material viscoso a uno sólido, lo que representa una ventaja energética y reduce los efectos nocivos para su aplicación *in situ* en la regeneración de tejido óseo (Bat et al., 2010; Bracaglia et al., 2017; Coates et al., 2013; Fisher et al., 2002).

- **Óxido de bisacrilfosfina (BAPO)**

La polimerización asistida por fotoiniciadores como el BAPO (**figura 12**) es ampliamente estudiada y aplicada en el entrecruzamiento de PPF (Fisher, Holland, Dean, Engel, & Mikos, 2001). El BAPO es activado mediante exposiciones de radiación ultravioleta por debajo de los 400 nm, con un punto máximo de absorción en 365 nm (Fisher et al., 2002). Es utilizado ampliamente en la síntesis de biomateriales aplicados a la elaboración de resinas dentales (Carvalho et al., 2014), impresión de tejidos 3D y regeneración de estructuras óseas (Cicotte et al., 2012).



**Figura 12.** Estructura química del fotoiniciador BAPO. Tomado y modificado de Shergill et al., (2009).

La elaboración de mezclas poliméricas es un tema ampliamente estudiado para la elaboración de materiales con propiedades específicas para una aplicación o para la mejora de las características de los materiales que componen a una mezcla. A pesar de no existir un amplio número de publicaciones relacionadas a la mezcla entre los polímeros PPF y alginato de sodio, si existen trabajos que emplean dichos polímeros en combinación con otros materiales, lo que ofrece información relevante para plantear los mecanismos apropiados que permitan su combinación de manera efectiva. Una de las técnicas mencionadas en el inicio de esta sección, y reportada en la literatura es el uso de agentes surfactantes para la elaboración de emulsiones, lo que permite en mezclar materiales que son totalmente inmiscibles.

#### 1.1.6.2. Agentes surfactantes

Una técnica viable para la combinación de sustancias inmiscibles es mediante la formación de emulsiones. Una emulsión se define como un sistema heterogéneo de dos fases líquidas inmiscibles (ej. agua y aceite) donde una de ellas se dispersa sobre la otra en forma de gotas de tamaño microscópico o coloidal (típicamente de alrededor de 1 micrómetro). Las emulsiones hechas por agitación mecánica de líquidos inmiscibles son muy inestables y regresan rápidamente a la separación de fases. Dichas emulsiones pueden ser estabilizadas por la adición de un emulsificador, el cual actúa como un agente superficial que recubre a las gotas no miscibles recién formadas de la unión con otras gotas del mismo material, provocando la separación de fases. Un emulsificador es un surfactante que actúa por medio de la tensión superficial en la superficie de dos sustancias inmiscibles, formando estructuras denominadas micelas (Mitra et al., 2017)

Los surfactantes se encuentran entre los compuestos más versátiles en la industria química, utilizados en diversos productos como los aceites de motor, medicamentos, detergentes, lubricantes

y agentes de flotación para la separación de minerales. En los últimos años se ha encontrado un gran interés en el uso de surfactantes de áreas de tecnológicas como impresión electrónica, grabación magnética, biotecnología, microelectrónica y encapsulación viral (Rosen & Kunjappu, 2012).

El termino surfactante (agente tensoactivo) es una sustancia que, a bajas concentraciones en un sistema, tiene la propiedad de absorberse en la superficie o interfaces y alterar su energía libre. Cuando se hace referencia a interfaz, generalmente se habla del límite entre dos fases inmóviles, ya sea entre sólidos, líquidos o gases. Los surfactantes son compuestos orgánicos compuestos por un dominio polar y otro apolar generalmente clasificados como anfifílicos que, en medios acuosos, la componente hidrofílica se oriente hacia la fase acuosa o polar y el componente hidrofóbico hacia la fase no polar. Dependiendo de la naturaleza del grupo hidrofílico, los surfactantes se clasifican como (Rosen & Kunjappu, 2012):

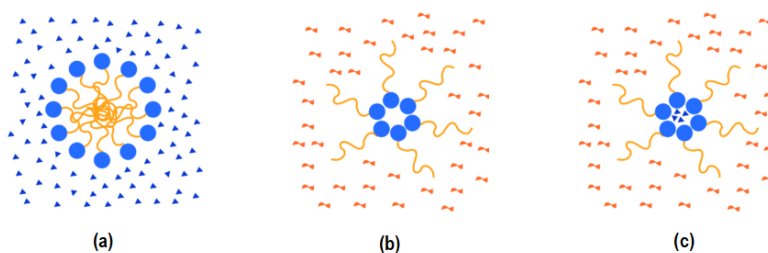
- Aniónicos: la parte activa de la superficie tiene una carga negativa, por ejemplo:  $\text{RCOO}^-\text{Na}^+$ ,  $\text{RC}_6\text{H}_4\text{SO}_3^-\text{Na}^+$ , compuestos ampliamente utilizados como detergentes.
- Catiónicos: la parte activa de la superficie tiene una carga positiva, por ejemplo:  $\text{RNH}_3^+\text{Cl}^-$  (sal de amina de cadena larga),  $\text{RN}(\text{CH}_3)_3^+\text{Cl}^-$  (cloruro de amonio cuaternario).
- Zwitteriónicos: tanto las cargas negativas, como positivas se encuentran presentes en la parte activa de la superficie, por ejemplo:  $\text{RN}^+\text{H}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$  (aminoácido de cadena larga),  $\text{RN}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$  (sulfobetainas).
- No iónicos: la superficie activa de este tipo de surfactantes, no presentan cargas iónicas en su estructura como, por ejemplo:  $\text{RCOOCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$  (monoglicérido de cadena larga),  $\text{RC}_6\text{H}_4(\text{OC}_2\text{H}_4)_x\text{OH}$  (alquilfenol etoxilado).

Una de las propiedades más importantes al interactuar en la interfaz de materiales inmiscibles es la formación de micelas, propiedad que tienen los solutos tensoactivos de formar agrupaciones de tamaño coloidal en una solución. La formación de micelas es un fenómeno de importancia en química orgánica debido a que pueden llevar a cabo procesos catalíticos en reacciones de tipo orgánicas y en bioquímica, principalmente por la similitud de las estructuras en forma de micela que se asemejan a las membranas biológicas y proteínas globulares (Khoshnood & Firoozabadi, 2015).

Las micelas son estructuras formadas por autoensamblaje de moléculas anfipáticas con extremos hidrofóbicos e hidrofílicos (Patel et al., 2014). Se forman en soluciones acuosas, por lo que la región polar se encuentra en contacto con la superficie externa de la micela y la región no polar se orienta hacia el núcleo, como lo mostrado en la **figura 13** (a, b). Este tipo de estructuras tienen la característica de liberar moléculas de manera continua y controlada como los fármacos, favoreciendo la distribución en tejidos y mejorando la disponibilidad en el organismo (Xu et al., 2013).

Estructuralmente suelen ser de forma esférica, con un tamaño entre los 2 a 20 nm, dependiendo de su composición. Los métodos más comunes para la preparación de micelas es mediante la evaporación de solventes, dispersión, diálisis, la emulsión de aceite en agua, o agua en aceite para el caso de las micelas en solventes no polares (Das et al., 2014).

Una variante a la formación de micelas en soluciones polares, es la formación de micelas inversas formadas por surfactantes en soluciones no polares, que pueden ser representadas esquemáticamente como agregados globulares, con la cabeza polar hidrofílica orientada hacia el núcleo y las cadenas hidrofóbicas en la superficie externa de la micela **figura 13** (c). Tradicionalmente, las micelas inversas se generan en disolventes apolares o fluidos supercríticos (Eastoe et al., 2006; Fang et al., 2010).

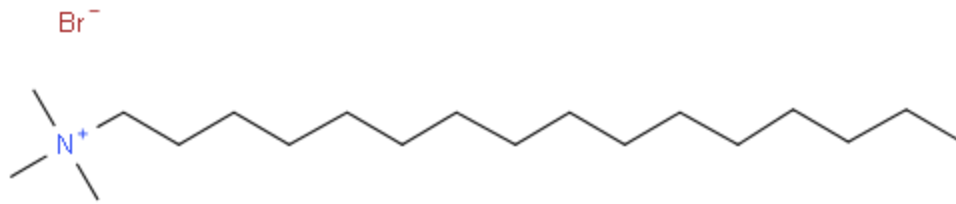


**Figura 13.** Esquema representativo de la formación de micelas en solventes polares (a) no polares (b) y no polares con agente surfactante en el núcleo (c). Tomado y adaptado de Khoshnood & Firoozabadi, (2015).

- **Bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB)**

Surfactantes catiónicos como el CTAB ( $C_{19}H_{42}BrN$ ) son utilizados para la formación de nanopartículas de alginato en medios polares como agua o cloruro de sodio (Mirtič et al., 2017).

Considerables estudios reportan el uso de CTAB (**figura 14**) como surfactante catiónico para la formación de micelas inversas de alginato de sodio, los cuales se mencionan al inicio de esta sección.



**Figura 14.** Estructura química del surfactante CTAB.

## II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 2.1. Hipótesis

Es posible sintetizar una mezcla polimérica compuesta de microesferas de alginato de calcio dispersas en el polímero sintético PPF reticulado con N-vinilpirrolidona, mediante la preparación de micelas inversas a partir del surfactante CTAB entrecruzados por radiación UV, en presencia del fotoiniciador BAPO con potenciales aplicaciones en biomateriales.

### 2.2. Objetivos

#### 2.2.1. Objetivo general

Proponer la metodología para la síntesis de un material polimérico conformado de mezclas de un polímero sintético biodegradable e hidrofóbico como el PPF con un polímero natural e hidrofílico como el alginato de sodio, para formar un polímero entrecruzado con potenciales aplicaciones en el área biomédica.

#### 2.2.2. Objetivos específicos

- Extraer el polisacárido alginato de sodio de la especie de alga café *Macrocystis pyrifera* y evaluar sus propiedades fisicoquímicas.
- Realizar la síntesis del polímero sintético PPF, de forma reproducible optimizando las etapas de reacción y purificación del producto final.
- Desarrollar la metodología para realizar la mezcla del polímero hidrofílico alginato de calcio con el polímero hidrofóbico PPF, mediante la estrategia de micelas inversas.
- Determinar la influencia de la composición de PPF/Alginato sobre la morfología del polímero resultante.
- Caracterizar de manera individual las muestras del polímero sintético PPF, los extractos de alginato de *Macrocystis pyrifera* y los geles formados por medio de iones de calcio, así como



el material resultante de la combinación por emulsiones de ambos polímeros mediante diversas técnicas espectroscópicas.

## III. MATERIALES Y METODOLOGÍA

### 3.1. Materiales

En este presente capítulo se da un listado de los principales reactivos para la elaboración del presente trabajo de tesis y los procedimientos llevados a cabo.

#### 3.1.1. Materiales para la extracción de alginatos

Para la extracción de alginatos se utilizó ácido clorhídrico (HCl) adquirido en Favela por S.A., México, bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), tierra diatomeas, cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$  0.1 M) adquirido en Karal S.A, México, cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), alcohol etílico ( $\text{CH}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) y refrigerante.

Los materiales utilizados fueron una plancha de calentamiento con agitación, mufla a 60 °C, vaso de precipitado (500 ml), matraz aforado (250 ml), cernidor, varilla de vidrio, agitador magnético, embudo de filtración, filtro Whatman® No. 4, bomba mecánica de vacío y condensador.

#### 3.1.2. Materiales para la síntesis de PPF

Para la síntesis de PPF se utilizó nitrógeno líquido ( $\text{N}_2$ ) otorgado por el centro de Nanociencias y Nanotecnología, anticongelante y nitrógeno de alta pureza. Los siguientes reactivos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich Co., USA: cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ), ácido clorhídrico (HCl), fumarato de dietilo ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4$ ) 98%, hidroquinona ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$ ), cloruro de metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), propilenglicol ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$ ), sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), y cloruro de zinc ( $\text{ZnCl}_2$ ).

Los materiales y equipos empleados fueron un matraz tres bocas de 500 ml, condensador de vidrio recto, adaptadores fijos esmerilados, matraz redondo 250 ml, llaves de flujo, termopar, controlador de temperatura Omega, cinta calefactora, condensador, bomba mecánica de vacío, trampa de gases, embudo de separación Erlenmeyer 2 L, agitador magnético, rotavapor, balanza electrónica, papel encerado para pesar y refrigerador a 4°C.

### **3.1.3. Materiales para la preparación de mezclas PPF/Alginato**

Para la preparación de combinaciones se utilizó PPF (síntesis), alginato de sodio (extracto y comercial), argón de alta pureza, bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), Sigma-Aldrich Co, N-vinilpirrolidona (NVP) y óxido de bisacrilfosfina (BAPO), ambos obtenidos de Sigma-Aldrich Co., USA.

Los materiales y equipo empleados fueron: plancha de agitación, aerógrafo, balanza electrónica, mufla y cámara de radiación ultravioleta (UVP-Crosslinkers).

## 3.2. Procedimiento

### 3.2.1. Procedimiento para la extracción de alginatos

Para la extracción de alginato de sodio se utilizó una modificación del método descrito por (Hernández-Carmona et al., 1991). Con el propósito de validar el proceso empleado y cuantificar el rendimiento del alginato obtenido por cantidad de alga empleada, se extrajeron 10 muestras de alginato a partir del alga *Macrocystis pyrifera* (Tabla 3) En el esquema de la **figura 15** se muestran las distintas etapas del proceso descrito.

- **Pre-extracción**

Se suspendieron 10 gramos de alga seca y molida (*Macrocystis pyrifera*) en 200 ml de HCl 0.1 M bajo agitación constante por un tiempo de 30 min. Finalizado el tiempo de agitación, se descarta el líquido repitiendo el mismo procedimiento una vez más. La muestra fue lavada con agua destilada tres veces.

- **Extracción y clarificación**

La muestra tratada se suspendió en 300 ml de una solución de  $\text{NaHCO}_3$  0.1 M, a temperatura ambiente bajo agitación constante, hasta que las partículas están completamente desintegradas (2-3 horas); finalizado el proceso de extracción, se clarificó el extracto para incrementar la eficiencia de filtración el extracto se mezcló con tierra diatomeas; se hizo pasar a través de un filtro Whatman® No. 4 con tamaño de poro de 20-25  $\mu\text{m}$  y un embudo tipo Büchner asistido por bomba mecánica de vacío.

- **Precipitación**

Se midió el volumen del extracto clarificado y se le adicionó NaCl con agitación hasta lograr una concentración de 0.1 M. La solución se precipitó vertiendo lentamente sobre un volumen igual de etanol al 96% con agitación moderada con un agitador de vidrio.

- **Eliminación de sales en fibras de alginato**

Para remover el NaCl de las fibras de alginato se realizaron dos lavados en etanol al 60% seguido de dos lavados en etanol al 96%. Las muestras fueron secadas en horno a 60 °C por una noche para después determinar gravimétricamente el rendimiento de la extracción.

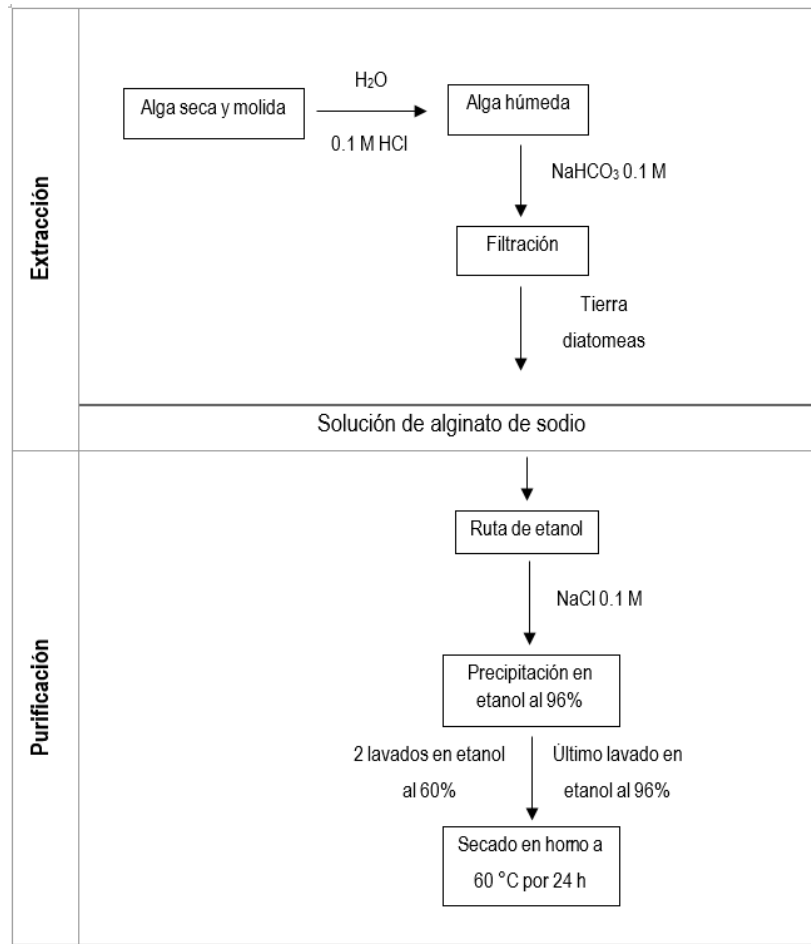
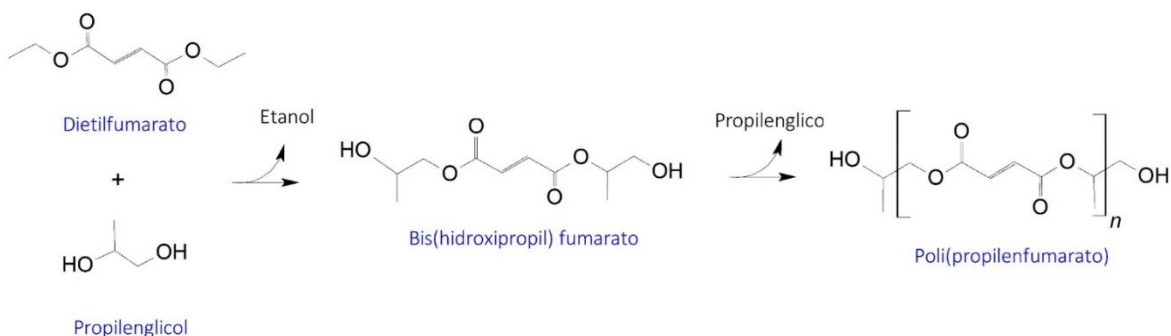


Figura 15. Ruta de etanol para la extracción de alginatos.

### 3.2.2. Procedimiento para la síntesis de Poli (fumarato de propileno)

La síntesis de PPF se realizó por el método modificado de condensación dividido en dos etapas reportado por Kasper et al., (2009). La **figura 16** representa el proceso de síntesis de PPF de manera general.



**Figura 16.** Mecanismo de reacción en dos etapas para la síntesis de PPF. Obtenido y modificado de Kasper et al., 2009.

- **Producción de bis (hidroxipropil) fumarato**

El arreglo experimental usando la producción de fumarato se aprecia en la **figura 17**. En un matraz bola de tres bocas de 500 ml se pesaron y agregaron 98.3 g (0.57 mol) de fumarato de dietilo y 129.7 g (1.7 mol) de propilenglicol en una relación molar de 1:3 respectivamente. La humedad del sistema fue removida con un flujo de nitrógeno de ultra alta pureza. Se inició agitación de manera gradual hasta 150 r.p.m. Se adicionó hidroquinona y  $ZnCl_2$  en una cantidad de 0.125 g ( $1.13 \times 10^{-3}$  mol) y 0.775 g ( $5.68 \times 10^{-3}$  mol) respectivamente. Se inició el flujo de refrigerante en la columna de condensación e incremento la agitación a 300 r.p.m. La mezcla fue calentada hasta una temperatura de 110 °C durante 30 min, después a 120 °C por 30 min y finalmente a 145 °C. Se continuó con el calentamiento hasta obtener el 90% del volumen de etanol reportado, aproximadamente 9-12 h. Una vez que se recolectó el etanol esperado, la solución se dejó enfriar en purga constante hasta llegar a una temperatura de 21 °C para tomar una pausa en el proceso.

- **Reacción de transesterificación**

Se reinició la purga de nitrógeno y la circulación de refrigerante en la columna del sistema que contiene al producto intermediario de bis (hidroxipropil) fumarato; posteriormente se reanudó la agitación a 300 r.p.m. La purga se detuvo y se adaptó el sistema de vacío realizado por una bomba mecánica a la salida de una trampa de líquidos en baño de nitrógeno. La presión del sistema se redujo por debajo de 1 mm Hg, seguido del aumento de temperatura de la solución a 110 °C por 30 min,

después a 120 °C por 30 min y finalmente a 130 °C hasta obtener el peso molecular deseado. Durante el proceso por medio de condensación se produce propilenglicol dando como resultado el producto final de PPF. Terminado el calentamiento, el sistema se dejó enfriar hasta temperatura ambiente con purga de nitrógeno y se agregó 150 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, cuidando que el sistema se encuentre libre de humedad.

- **Purificación del polímero PPF: lavados acuosos**

Para la purificación se adicionó un volumen igual de 150 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, para tener un volumen total de 400 ml dentro del matraz. La solución se trasladó a un embudo de decantación de dos litros al cual se le adicionó un volumen igual de HCl 1.85% (vol/vol), de tal forma que las soluciones de ácido y polímero se encuentren en una relación de volumen 1:1. En el embudo cerrado se formó una interface entre soluciones. Se giró el embudo y se liberó el gas en repetidas ocasiones, agitando cada vez con mayor intensidad y liberando el gas en repetidas ocasiones hasta la formación de una solución lechosa. La solución se dejó reposar durante 15 minutos hasta la separación de fases. La fase inferior (polímero) se recolectó y la fase superior fue descartada. El procedimiento de lavado del polímero se repitió dos veces con agua destilada y dos veces utilizando una solución de cloruro de sodio al 6%.

- **Purificación del polímero PPF: secado con sulfato de sodio**

Se agitó el polímero mediante barra magnética, simultáneamente se adicionó sulfato de sodio en pequeñas cantidades hasta formar precipitados y formando un polímero de color amarillento durante 30 min, posteriormente se filtra mediante una membrana de nitrocelulosa Millipore® de 0.22 µm con bomba mecánica de vacío para remover los agregados de sulfato de sodio e hidroquinona.

Finalmente, se removió el solvente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en rotavapor a 40 °C; se envasó y guardó bajo refrigeración de 4 °C para aplicaciones posteriores.

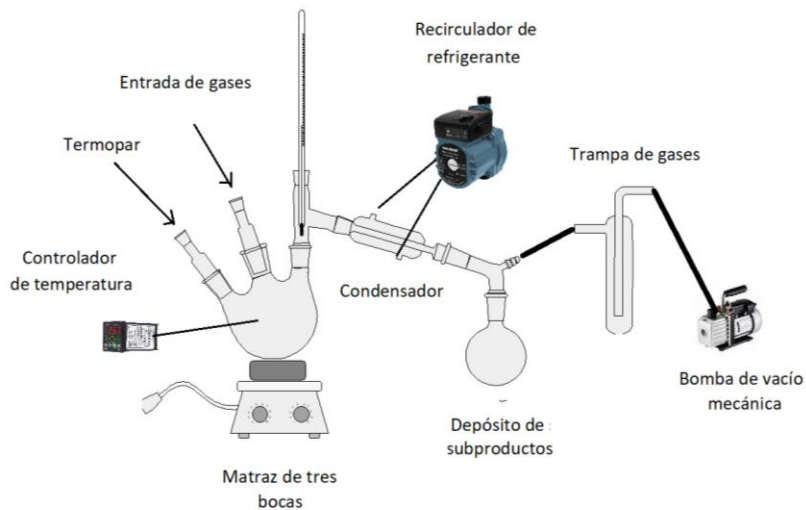


Figura 17. Montaje del sistema de síntesis de PPF y sus componentes.

### 3.2.3. Procedimiento para el entrecruzamiento del PPF mediante el fotoiniciador BAPO

Las cadenas del polímero de PPF fueron entrecruzadas mediante radiación UV utilizando el fotoiniciador BAPO, el cual es excitado a longitud de onda de 365 nm. Inicialmente se disuelve 1 g de PPF y 0.06 g de BAPO en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  hasta lograr una mezcla homogénea. La muestra es irradiada por un periodo de 30 min en horno UV. El procedimiento genera entrecruzamiento entre las cadenas de PPF por disociación del grupo vinilo de la cadena principal. Las muestras sintetizadas bajo estos parámetros se describen en la tabla 5.

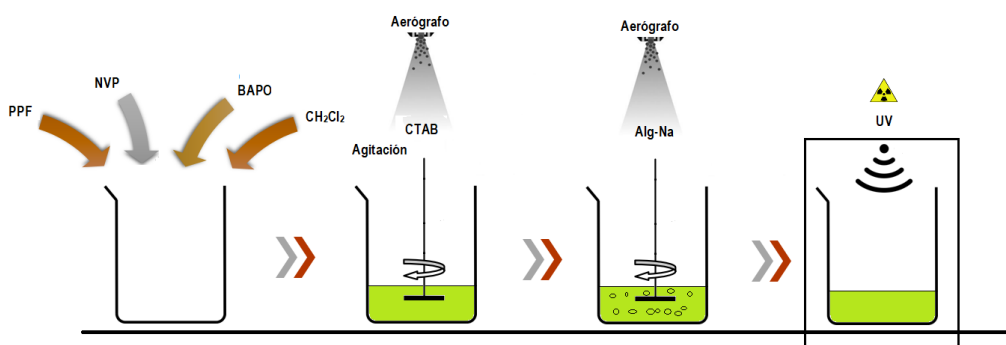
El agente de entrecruzamiento NVP puede ser añadido a la mezcla anteriormente descrita en un volumen de 250  $\mu\text{l}$  por gramo de PPF. El agente de entrecruzamiento se injerta entre las cadenas del polímero formando uniones más fuertes en comparación con las que solo se realizan en presencia del fotoiniciador y el PPF. Las muestras sintetizadas en presencia de NVP se describen en la tabla 9 y 10 (anexo C).



### 3.2.4. Preparación de emulsiones de PPF/Alginato

Para la formación de mezclas entre los polímeros PPF y alginato de manera general, se preparó una solución que contiene PPF, N-vinilpirrolidona, el fotoiniciador BAPO y un volumen de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Se mezclaron con agitación constante hasta obtener una solución homogénea; bajo agitación, se adicionó un volumen de CTAB mediante aerógrafo para lograr mayor dispersión de gotas; posteriormente se adicionó un volumen de alginato de sodio mediante aerógrafo para cada muestra reportada en la tabla 7, con agitación en alta velocidad; se dejó en agitación por un tiempo de 5 minutos, después se trasladó a un horno UV con una longitud de 365 nm por un tiempo de 30 min. Finalmente, la solución fue sumergida en un baño de  $\text{CaCl}_2$  (1.5 %) para promover el entrecruzamiento de las cadenas de alginato, véase el esquema de la **figura 18**.

Por el hecho de ser una mezcla no reportada en la literatura, se realizaron diversas muestras variando las concentraciones de los constituyentes con el propósito de obtener el mejor resultado posible. La implementación de un aerógrafo para el suministro de alginato de sodio, CTAB y la solución de  $\text{CaCl}_2$  es una técnica que favorece la posible dispersión de microgotas para formación de micelas entre las cadenas de alginato de sodio y el surfactante CTAB en la solución de PPF, NVP, BAPO y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Las condiciones con las que se elaboraron las muestras se reportan en la tabla 7.



**Figura 18.** Proceso para la elaboración de mezclas PPF/Alginato por medio emulsiones en una solución de NVP, BAPO y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Para la formación de mezclas poliméricas a base de PPF/Alginato se propuso la metodología mostrada en la **figura 19**. La síntesis de PPF se realizó por la metodología reportada por Kasper et al., (2009); así mismo, se extrajo el alginato de sodio de *Macrocystis pyrifera* utilizando el método

modificado de Hernández et al., (1991). Posteriormente se analizaron las muestras para determinar las características de cada polímero. Los polímeros fueron entrecruzados en presencia de los agentes más utilizados y reportados en la literatura, principalmente en aplicaciones biomédicas. En el caso de PPF, se utilizó el agente NVP ampliamente aplicado en la formación de biomateriales para incrementar la densidad de entrecruzamientos (Hasrc et al., 2001; Salarian et al., 2014; 5733951, 1998) y el fotoiniciador BAPO característico por ser excitado en la longitud de 365 nm y ser reportado como agente de entrecruzamiento del PPF aplicado a ingeniería de tejidos (Fisher et al., 2002; Jo et al., 2001; Lee et al., 2007). Los alginatos han sido ampliamente utilizados para la formación de entrecruzamientos mediante soluciones acuosas de  $\text{CaCl}_2$  como biomaterial para impresión dental, transporte de fármacos e ingeniería de tejidos (Comaposada et al., 2015; Dalaty et al., 2016; Mikkelsen & Elgsaeter, 1995). Se realizaron emulsiones de alginato de sodio en PPF mediante el agente Surfactante CTAB reportado en la literatura para la formación de micelas inversas de alginato en solventes orgánicos como el  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , principal disolvente de PPF (Das et al., 2014; Kafshgari et al., 2012; Yang et al., 2009). A la técnica se le implementó el uso de un aerógrafo con gas de arrastre de argón para la dispersión de microgotas tanto del surfactante como el alginato, lo que favoreció la formación de micelas. Las muestras fueron tratadas con radiación UV a 365 nm por 30 minutos en presencia de los agentes de reticulación NVP y BAPO. Las muestras producto de la combinación de ambos polímeros fueron sumergidas en una solución de  $\text{CaCl}_2$  para evaluar la formación de entrecruzamientos de las cadenas de alginato. Con la finalidad de evaluar la influencia de los materiales que componen a la combinación propuesta, se realizaron diversas muestras variando los parámetros de síntesis reportados en la tabla 7. Las muestras producto de la síntesis (PPF), extracción (alginatos), entrecruzamientos (PPF/NVP, alginato de calcio) y de la combinación fueron caracterizadas por FT-IR, TGA, SEM, NMR y HPSEC. En el Anexo A se describe el fundamento de las técnicas de caracterización empleadas en este trabajo.

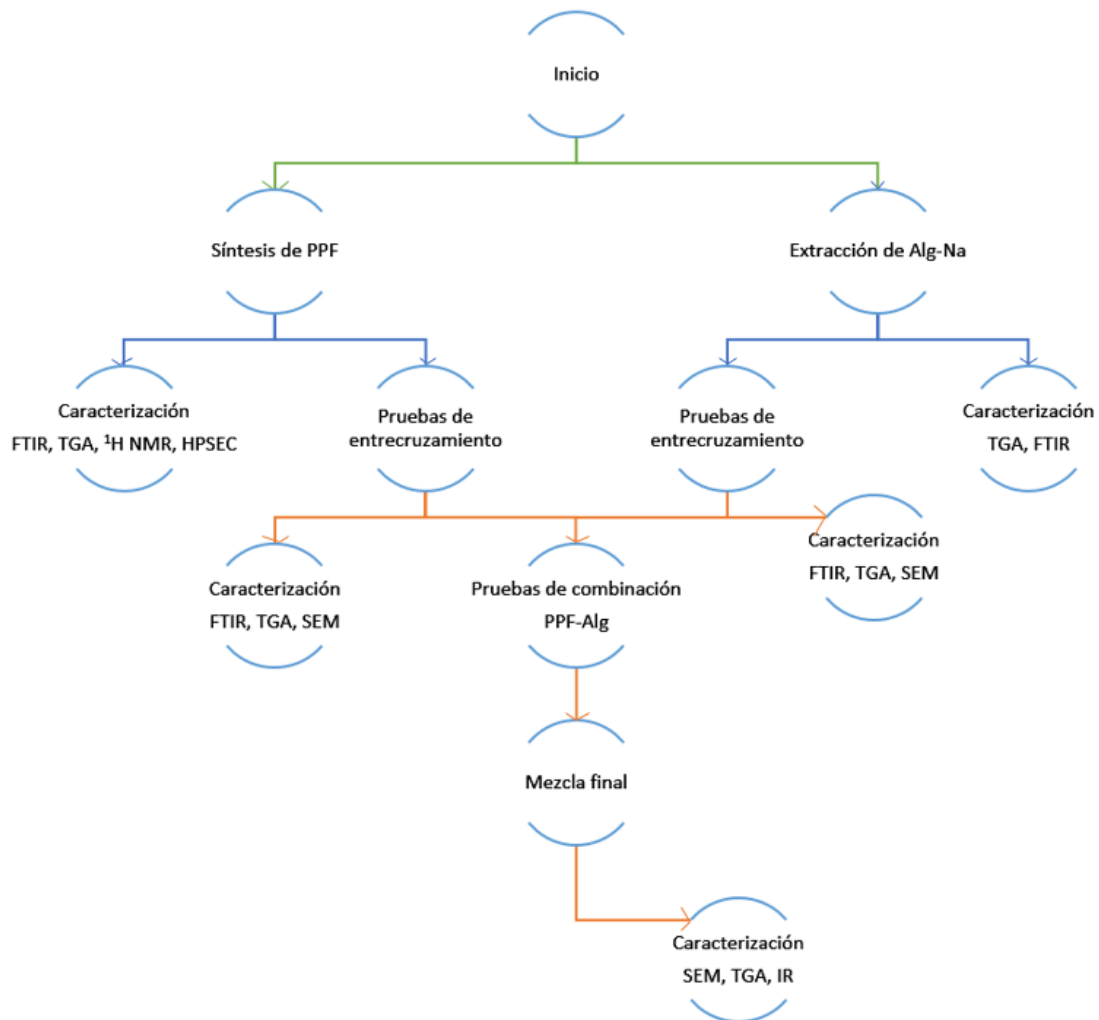


Figura 19. Esquema general de los procesos experimentales desarrollados en este proyecto.

### **3.2.5. Caracterización**

A continuación, se describen los métodos empleados sobre las muestras sintetizadas. En el Anexo A se describen los fundamentos de las técnicas empleadas.

#### **3.2.5.1. Espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier (FT-IR)**

Los espectros FT-IR fueron obtenidos mediante un espectrofotómetro infrarrojo Spectrum Two (Perkin Elmer) de resolución  $0.5\text{ cm}^{-1}$  y detector directo en modo de transmitancia. El espectrofotómetro está equipado con una unidad ATR (reflectancia atenuada total) con un cristal de tantalato de litio orientado de forma horizontal. Las señales son procesadas por el programa Spectrum versión 6.0 del software Lab.

Para cada medición se limpiaba la superficie del equipo con alcohol etílico y se toma un espectro con aire de fondo; posteriormente se colocó la muestra (purificada sin ningún tratamiento previo) directamente en el cristal del ATR-FT-IR. Las muestras analizadas por esta técnica fueron: Alg-Ca (2), Alg-Na (2), Alg-Ca (6), Alg-Ca (10), Alg-Na (10), Alg-Ca (comercial), Alg-Na (comercial), PPF<sub>0</sub>, PPF<sub>NET-0</sub>, PPF<sub>1</sub>, PPF<sub>NET-1</sub>, PPF<sub>2</sub>, PPF<sub>NET-2</sub>, PPF<sub>3</sub>, PPF<sub>NET-3</sub>.

#### **3.2.5.2. Análisis termogravimétrico (TGA)**

Los termogramas fueron realizados en el equipo TG SDT Q600 TA instruments. Las muestras analizadas por TG fueron: Alg-Na (2), Alg-Na (10), Alg-Na (6), Alg-Ca (2), Alg-Ca (10), Alg-Ca (6), PPF<sub>0</sub>, PPF<sub>1</sub>, PPF<sub>2</sub>, PPF<sub>NET-0</sub>, PPF<sub>NET-1</sub>, PPF<sub>NET-2</sub> y las mezclas poliméricas PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (0), PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (1), PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (2), PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (3), PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (4) y PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (5).

Para el análisis de muestras, se configuró el equipo TGA con gas nitrógeno y flujo arrastre de 100 ml / min, rampa de calentamiento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{min}$ , temperatura de equilibrio a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ., temperatura máxima:  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$  y aire seco para enfriamiento. Al trabajar con hidrogeles como el alginato de calcio, es importante el uso de nitrógeno, ya que esto evitará la formación de  $\text{CO}_2$ , lo que provoca un hinchamiento del material por la absorción de gases, generando mediciones erróneas.

### **3.2.5.3. Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Para caracterizar las muestras por SEM previamente fueron recubiertas por oro en una evaporadora de vacío marca Jeol (JEE-400). El microscopio electrónico de barrido empleado es de marca Jeol (JIB-4500 Multi Beam System). Ambos equipos se encuentran ubicados en el departamento de caracterización en el Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN).

Se realizó un tratamiento previo de depósito de oro sobre las muestras para favorecer la conducción de electrones emitidos por el equipo. Se caracterizó de manera individual las muestras más representativas de la síntesis de PPF, extracción de alginatos y la mezcla de polímeros; se hicieron cuatro capturas por muestra con ampliaciones de 500x, 2,000x, 5,000x y 10,000x.

### **3.2.5.4. Cromatografía por exclusión de tamaño a alta presión (HPSEC)**

Se utilizó el equipo de Módulo de Separaciones Waters ALLIANCE 2695, que cuenta con un detector de índice de refracción integrado modelo Waters 2414, desgasificador en línea y un banco de dos columnas marca Waters HPLC: Styragel HR 4E con rango de exclusión Mw de 50 a  $1 \times 10^5$  y Styragel HR 5E con rango de exclusión Mw de  $2 \times 10^3$  a  $4 \times 10^6$ .

Se utilizó Tetrahidrofurano (THF) como eluyente (Fase Móvil) a una velocidad de flujo de 1.0 mL/min, temperatura del detector de 35 °C y del horno guarda columnas de 33 °C. Se realizaron curvas de calibración a las condiciones anteriormente descritas, utilizando 11 estándares de poliestireno con rango de Masa Molecular Pico Promedio (Mp) de  $3.7 \times 10^2$  a  $1.8 \times 10^5$ .

Para la preparación de las muestras de PPF se pesaron aproximadamente 50 mg de cada una en un matraz aforado y se disuelven en 5.0 mL de THF grado HPLC, se deja disolver la muestra por aproximadamente 24 horas, posteriormente, se filtra con ayuda de una jeringa y un acrodisco de PTFE de 0.45 micras, y la disolución ya filtrada se coloca en un vial de 2.0 mL, e introduce al equipo de HPSEC. La concentración de las muestras se encuentra en un rango de 10.6 mg/mL a 11.2 mg/mL, aproximadamente.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resultados

#### 4.1.1. Caracterización de Alginatos

El resultado de las extracciones de alginato de sodio obtenidas de *Macrocystis pyrifera*, las condiciones y rendimientos de extracción se reportan en la tabla 3. En la tabla 4 se reportan las muestras tratadas con CaCl<sub>2</sub>.

**Tabla 3.** Clasificación de muestras producto de la extracción de alginatos.

Muestra	Peso del alga en gramos	Volumen en ml de filtrado	Gramos de alginato extraídos	Rendimiento (%)	Muestras entrecruzadas
Alg-Na (1)	10.058	200	1.65	16.40	Alg-Ca (1)
Alg-Na (2)	10.031	170	1.13	11.26	Alg-Ca (2)
Alg-Na (3)	10.058	210	1.38	13.72	Alg-Ca (3)
Alg-Na (4)	10.046	193	1.24	12.34	Alg-Ca (4)
Alg-Na (5)	10.031	230	1.26	12.56	Alg-Ca (5)
Alg-Na (6)	10.019	224	1.37	13.67	Alg-Ca (6)
Alg-Na (7)	10.027	264	1.71	17.05	Alg-Ca (7)
Alg-Na (8)	10.05	250	1.80	17.91	Alg-Ca (8)
Alg-Na (9)	10.027	246	1.74	17.35	Alg-Ca (9)
Alg-Na (10)	10.086	266	1.75	17.35	Alg-Ca (10)
Alg-Na (comercial)					Alg-Ca (comercial)

**Tabla 4.** Muestras de alginato de calcio caracterizadas en SEM.

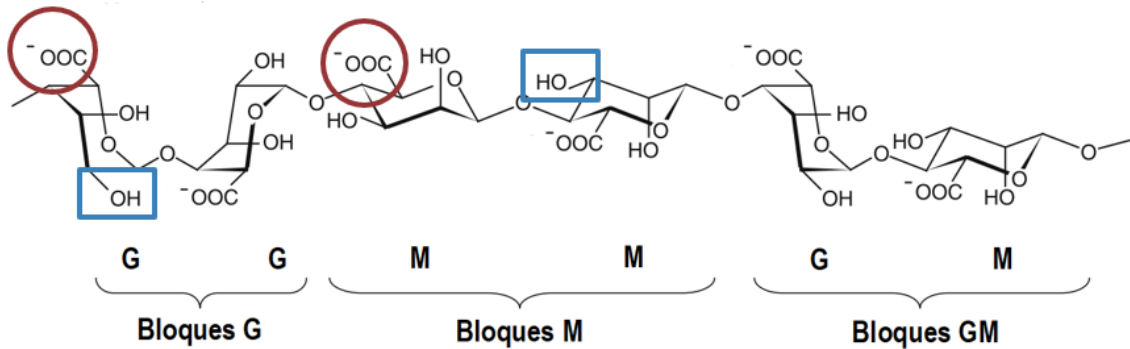
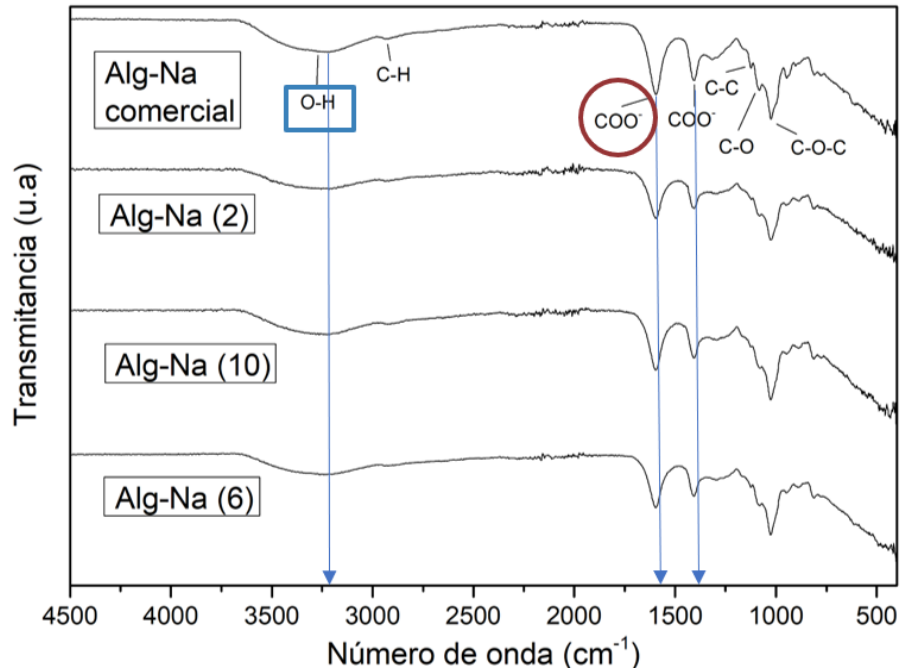
Muestra	Extracto de alginato	CaCl <sub>2</sub>	Tiempo de inmersión (h)	Clave SEM
Alg-Ca (11)	Alg-Na (2)	(1.5%)	8	R1 (a-d)
Alg-Ca (12)	Alg-Na (6)	(1.5%)	8	R2 (a-d)
Alg-Ca (13)	Alg-Na (10)	(1.5%)	8	R3 (a-d)
Alg-Ca (14)	Alg-Na (comercial)	(1.5%)	8	R4 (a-d)

\*Nota: La "Clave SEM" representa el juego de imágenes correspondientes de la **figura 24**.

#### 4.1.1.1. Caracterización por FT-IR

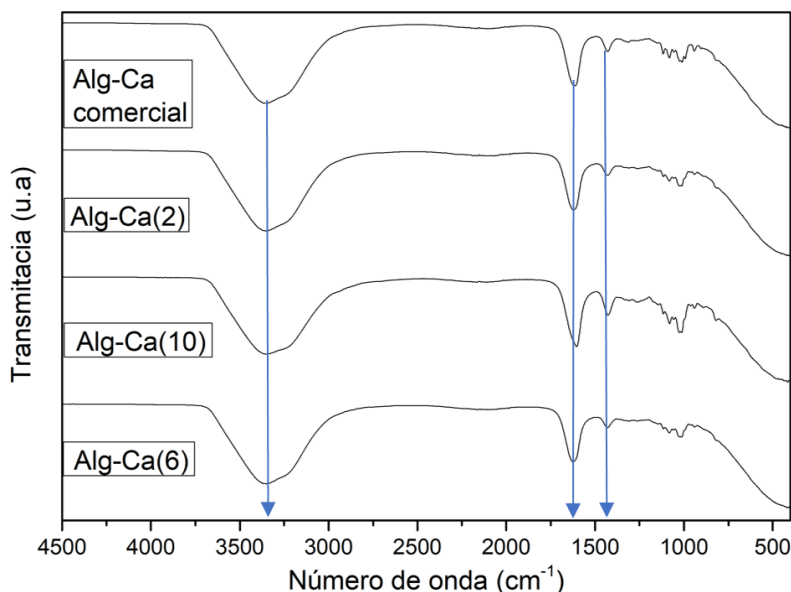
En el espectro FT-IR de la **figura 20** correspondiente a las muestras Alg-Na comercial, Alg-Na (2), Alg-Na (10) y Alg-Na (6) se muestran las bandas de absorción correspondientes a los grupos funcionales hidroxilo, éter y carboxilo. Se muestra una amplia banda de absorción en  $3250\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a los enlaces de estiramiento de los grupos OH; en la región  $2930\text{-}2932\text{ cm}^{-1}$  se observan los enlaces de estiramiento alifáticos para C-H; los picos mostrados en las bandas de absorción mostrados en  $1595, 1408\text{ cm}^{-1}$ , corresponden a la vibración de enlaces (asimétrico y simétrico) correspondientes al grupo  $\text{COO}^-$ . Las bandas posteriores son utilizadas como huella dactilar para la identificación de alginatos. En las bandas  $1317\text{-}1176$  se observan los enlaces C-O; en la banda comprendida entre  $1126\text{-}1124\text{ cm}^{-1}$  se aprecian los enlaces C-C y en la banda  $1035\text{ cm}^{-1}$  se observan los enlaces C-O-C. Las muestras evaluadas presentan el mismo patrón de absorción incluyendo la de origen comercial, lo que implicaría que los procesos de extracción fueron adecuados y congruentes con los resultados reportados para FT-IR en la literatura por Dalaty et al., (2016b) y Sartori et al., (1997).

En la **figura 21** se observan los espectros FT-IR de los extractos de alginato y la muestra comercial posterior al tratamiento en  $\text{CaCl}_2$  bajo las condiciones reportadas en la tabla 4. Es posible apreciar el mismo comportamiento en el espectro de absorción de los grupos funcionales corresponden a los de la **figura 20**. Una característica fundamental de los geles de alginato de calcio es la capacidad de absorber y retener agua entre las cadenas del polímero. El pico correspondiente al grupo hidroxilo en la zona de  $3250\text{ cm}^{-1}$  muestra mayor absorción en comparación con la **figura 20**, provocado por la presencia de agua en la muestra (Soazo et al., 2015). El aspecto por la formación de geles de alginato de calcio se puede apreciar en la **figura 22**.



**Figura 20.** Espectro FT-IR de los extractos de alginato de sodio Alg-Na comercial, Alg-Na (2), Alg-Na (10) y Alg-Na (6). Los círculos en rojo representan los grupos carboxilo y en los cuadros en color azul los grupos hidroxilo, ambos característicos de alginatos.





**Figura 21.** Espectro FT-IR de los extractos de alginato y la muestra comercial con tratamiento en  $\text{CaCl}_2$ .

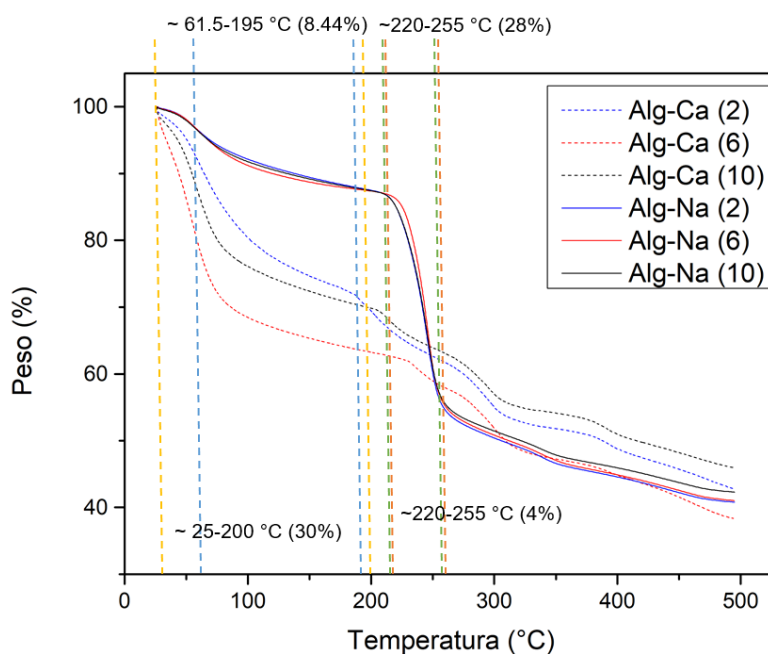


**Figura 22.** Extracto de alginato de sodio gelificado mediante tratamiento en  $\text{CaCl}_2$ .

#### 4.1.1.2. Caracterización por TGA

En el termograma de la **figura 23**, se analizó la huella de descomposición de tres extractos de alginato de sodio, las cuales fueron analizadas sin tratamiento en  $\text{CaCl}_2$  (tabla 3) y con tratamiento en  $\text{CaCl}_2$  (tabla 4). Para las muestras analizadas sin tratamiento en calcio se puede observar la pérdida de peso en dos secciones. La primera tiene lugar alrededor de los 61.5-195 °C (líneas punteadas verticales en color azul) con una pérdida de peso del 8.44% aproximadamente, y es causado por la deshidratación de la muestra y la segunda en el intervalo 220-255 °C (líneas punteadas verticales de color rojo), con una pérdida del 28% en peso causado por la degradación de las cadenas de alginato, lo que corresponde a lo publicado por Fajardo et al., (2012).

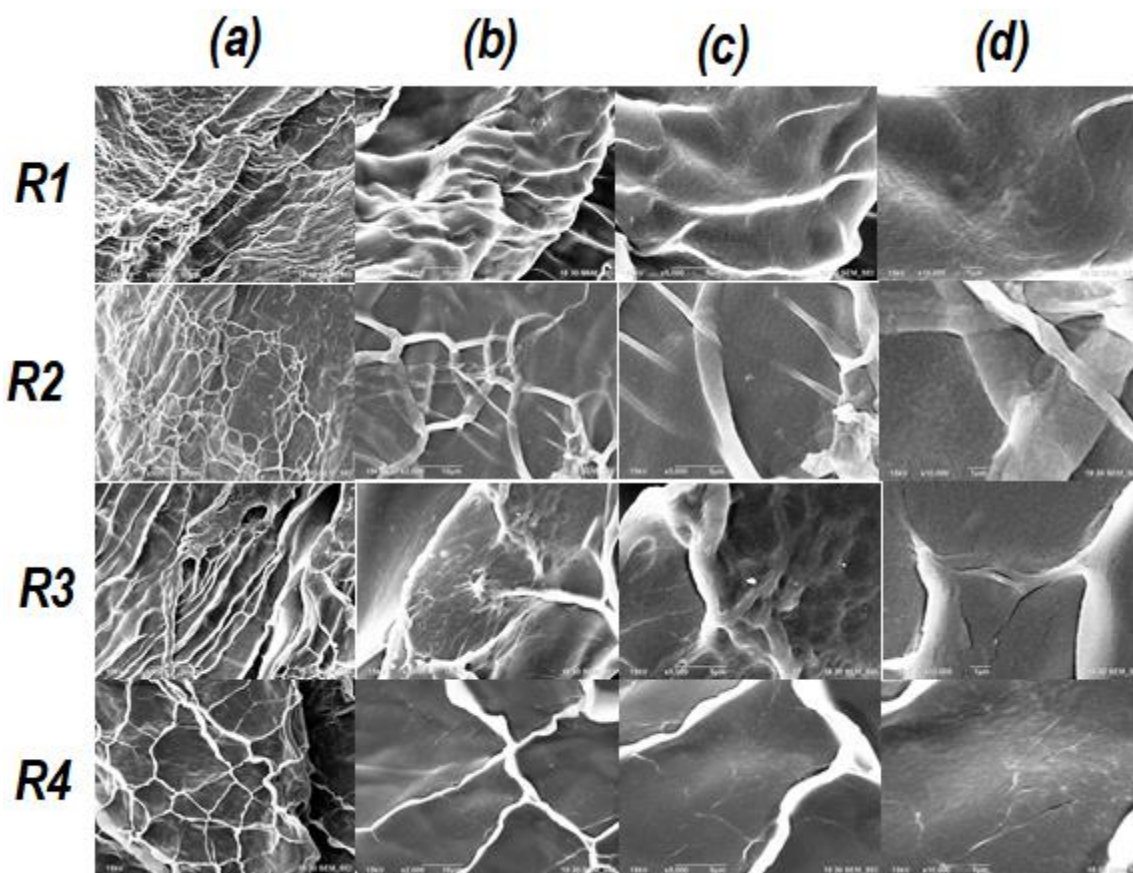
Se espera que la inclusión de iones calcio para entrecruzar las cadenas poliméricas del alginato incremente la estabilidad térmica de las muestras, sin embargo, por el carácter hidrofílico del alginato, dicho entrecruzamiento aumenta la capacidad de absorción de agua (Fajardo et al., 2012). El trabajo publicado por Sartori et al., (1997) reporta una pérdida de 20% total del peso en agua de una muestra de alginato de calcio sometida a TGA. Por consiguiente, analizando el comportamiento del peso en relación a los incrementos de temperatura de la muestra entrecruzada, se puede observar que ocurre una pérdida significativa de peso de alrededor del 30 % entre los 25-200 °C (líneas punteadas verticales en color amarillo). Esta pérdida se puede relacionar con moléculas de agua absorbidas y asociadas al polímero. Por otro lado, la transición esperada entre 220-250 °C (líneas punteadas verticales en color verde) genera una pérdida de peso entre 4%, que resulta inferior a la presentada por el alginato sin entrecruzar (28%; **Figura 23**). Lo anterior mencionado refleja el aumento de la estabilidad de las muestras entrecruzadas con iones de calcio a mayores temperaturas en comparación con las muestras que no fueron sometidas al tratamiento. Los resultados fueron comparados y corroborados con los publicados por Fajardo et al., (2012).



**Figura 23.** Termograma de descomposición de los extractos de alginato de sodio Alg-Na (2), Alg-Na (10) y Alg-Na (6) y alginato de sodio con tratamiento en  $\text{CaCl}_2$ , Alg-Ca (2), Alg-Ca (10) y Alg-Ca (6).

### 4.1.1.3. Caracterización por SEM

En la micrografía mostrada en la **figura 24** se puede observar una textura rugosa y ciertas ramificaciones generadas por el entrecruzamiento de las cadenas de alginato con los iones de calcio. Las imágenes tomadas de los extractos de alginato en comparación con la muestra comercial no muestran diferencias significativas. El trabajo realizado por Ayarza, Coello, & Nakamatsu, (2016) reporta micrografías de alginato de calcio similares a las obtenidas en este trabajo.



**Figura 24.** Micrografías de alginato de sodio extraídas de *Macrocystis pyrifera*. La referencia R1 (a-d) corresponde a la muestra Alg-Ca (11); R2 (a-d) corresponden a la muestra Alg-Ca (12); R3 (a-d) corresponden a la muestra Alg-Ca (13) y R4 (a-d) corresponden a la muestra Alg-Ca (comercial) (tabla 4). Los incisos a, b, c y d, corresponden a las ampliificaciones de 500x, 2,000x, 5,000x y 10,000x respectivamente.

## 4.1.2. Caracterización de PPF

Se sintetizaron y purificaron cuatro muestras de PPF bajo las mismas condiciones descritas en la metodología (tabla 5).

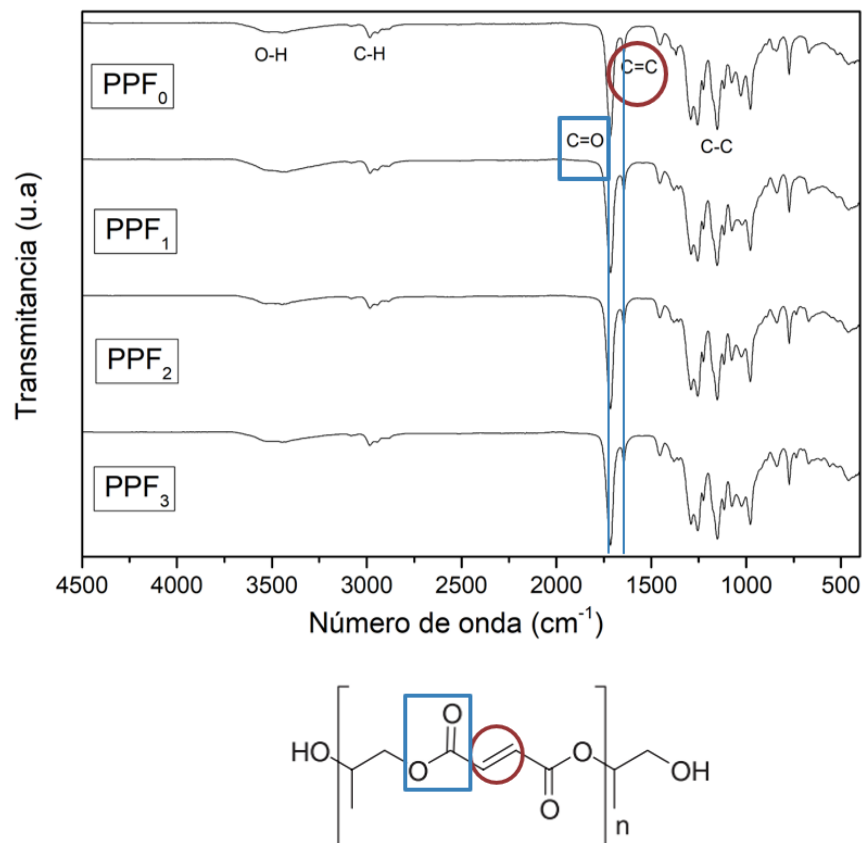
**Tabla 5.** Clasificación de muestras y cantidades de reactivo empleados para la síntesis de PPF (todas las muestras se elaboraron bajo las mismas condiciones descritas para síntesis y entrecruzamiento).

Muestras	Reactivos empleados para la síntesis
PPF <sub>0</sub> , PPF <sub>1</sub> , PPF <sub>2</sub> , PPF <sub>3</sub>	<b>Síntesis de PPF:</b> 98.3 g de Fumarato de dietilo (0.57 mol), 129.7 g de propilenglicol (1.7 mol), 0.125 g de hidroquinona, 0.775 g de ZnCl <sub>2</sub> y 300 ml de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .
↓ Entrecruzamiento (PPF-PPF)	
PPF <sub>NET-0</sub> , PPF <sub>NET-1</sub> , PPF <sub>NET-2</sub> , PPF <sub>NET-3</sub>	<b>Entrecruzamiento:</b> Muestras obtenidas a partir del entrecruzamiento con el fotoiniciador BAPO por irradiación UV durante 30 min.

## 4.1.3. Caracterización de PPF

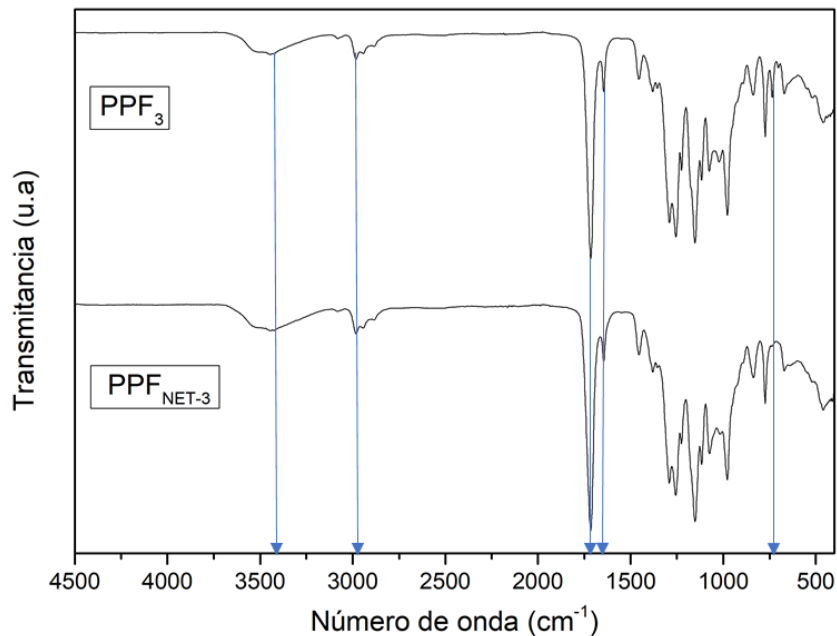
### 4.1.3.1. Caracterización por FT-IR

En la **figura 25** se observa el espectro FT-IR de cuatro muestras del polímero PPF sin entrecruzamiento. El espectro FT-IR fue comparado con el reportado por Shung et al., (2002) para confirmar su estructura. En la banda de absorción observada en el intervalo 3750-3250 cm<sup>-1</sup> se encuentran los grupos hidroxilo de los extremos de la molécula de PPF; el intervalo 2900-3010 cm<sup>-1</sup> se observan las bandas de absorción para los grupos C-H; los picos de absorción observados en 1715 cm<sup>-1</sup> corresponden a los grupos C=O; en 1645 y 1225 cm<sup>-1</sup> se observan las bandas de absorción para los enlaces C=C y C-O respectivamente (Salarian et al., 2014). Las bandas de absorción obtenidas para el PPF corresponden a las publicadas por Shahbazi et al., (2014) y Díez-Pascual & Díez-Vicente, (2016).



**Figura 25.** Espectros IR para las muestras sintetizadas de PPF<sub>0</sub> PPF<sub>1</sub>, PPF<sub>2</sub> y PPF<sub>3</sub>. El círculo en color rojos señala a los dobles enlaces (alquenos) en la cadena de PPF; los cuadros azules señalan los grupos éster. Ambos grupos son característicos del polímero PPF Kasper et al., (2009).

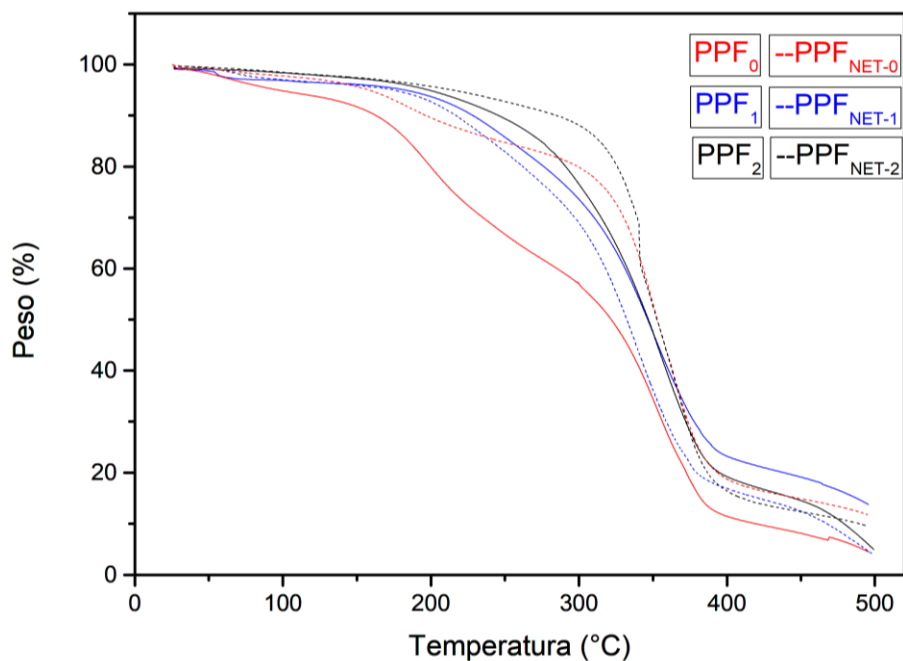
En la **figura 26** se muestra la comparación entre dos espectros IR de la muestra PPF<sub>3</sub> sin entrecruzamiento y con entrecruzamiento. Cabe resaltar que el entrecruzamiento reportado en esta gráfica se debe a la reacción de poliadición y reacción que cadena, estimulada por radicales libres, en ausencia de un agente entrecruzante. Las principales variaciones en las bandas de absorción se ven influenciadas por la formación de entrecruzamientos entre las cadenas de PPF, específicamente en las uniones C=C, posiblemente causado por la ruptura del doble enlace para formar enlaces covalentes entre las cadenas de polímero.



**Figura 26.** Espectro IR de la muestra PPF<sub>3</sub> no entrecruzado y con entrecruzamiento PPF<sub>NET-3</sub>.

#### 4.1.3.2. Caracterización por TGA

En la **figura 27** se observa que la mayor pérdida de peso registrado para las muestras no entrecruzadas sucede alrededor de los 340 °C. El termograma obtenido fue comparado con los publicados por Lee et al., (2008) y Trachtenberg et al., (2017). Las discrepancias mostradas entre los termogramas de las muestras analizadas se pueden atribuir a las diferencias en pesos moleculares de cada muestra, de tal forma que las cadenas de polímero más cortas se degradarán a menores temperaturas en comparación con las de mayor peso molecular. Por otro lado, en las muestras de PPF entrecruzadas en presencia del fotoiniciador BAPO, se puede observar mayor resistencia a la degradación por temperatura en comparación con el PPF no entrecruzado. Las discrepancias observadas se deben principalmente a las diferencias entre pesos moleculares reportados en el estudio HPSEC (Salarian et al., 2014).



**Figura 27.** Termograma de las muestras PPF<sub>0</sub>, PPF<sub>1</sub>, PPF<sub>2</sub>. Las muestras PPF<sub>NET-0</sub>, PPF<sub>NET-1</sub> y PPF<sub>NET-2</sub> fueron entrecruzadas por el fotoiniciador BAPO.

#### 4.1.3.3. Caracterización por RMN

Mediante la espectroscopia RMN es posible determinar los grupos funcionales que componen a la estructura del PPF con la finalidad de analizar su estructura. En conjunto con la espectroscopia FT-IR, esta técnica puede aportar información acerca de la estructura y la composición química de un compuesto orgánico. En la **figura 28** se observa el espectro NMR característico de la muestra de PPF<sub>3</sub> sintetizada. El espectro fue comparado con los publicados por Kasper et al., (2009) y Shahbazi et al., (2014). La señal en 6.8 ppm corresponde a los protones de olefinas; la señal en 5.3 ppm corresponde a los protones de la cadena principal (-CH); en la señal en 4.3 ppm corresponde a los grupos metileno (-CH<sub>2</sub>) y la señal en 1.2 ppm corresponde al grupo metilo -CH<sub>3</sub> (Luo et al., 2016; Shung et al., 2002).

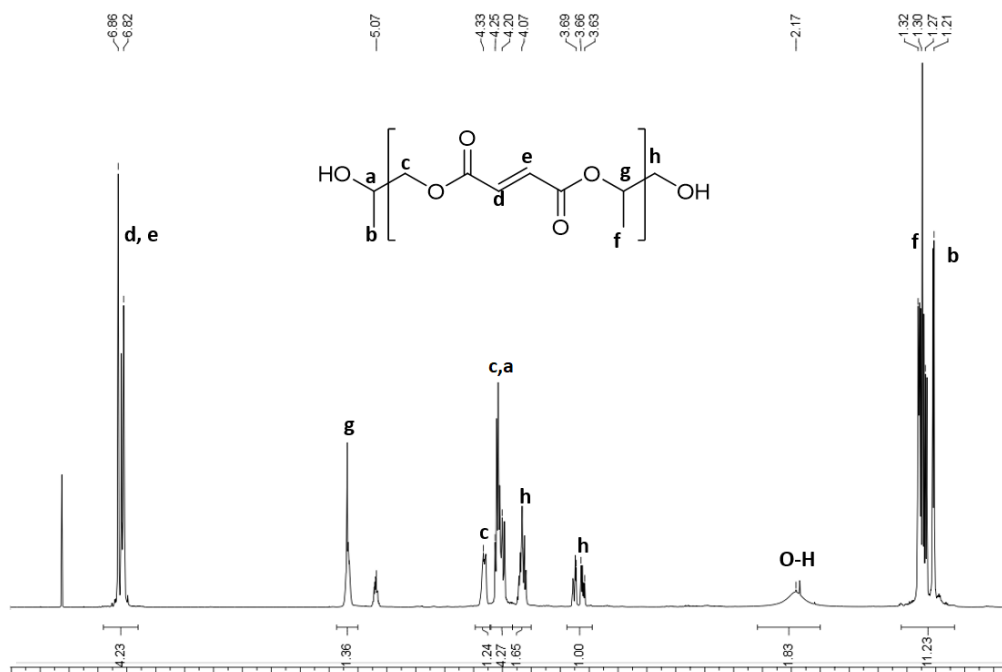


Figura 28. Espectro  $^1\text{H}$  NMR característico del polímero sintético PPF<sub>3</sub>.

#### 4.1.3.4. Caracterización por HPSEC

En la tabla 6 se puede observar el peso molecular promedio en peso ( $M_w$ ) de las muestras de PPF sintetizadas por el método reportado en este trabajo. Durante las primeras síntesis es posible observar un bajo peso molecular debido a la falta de experiencia en la síntesis de PPF, posteriormente a medida que se realizaban más síntesis las muestras reportaron un incremento en su  $M_w$  hasta lograr reproducir el método con dos muestras de  $M_w$  muy similar (PPF<sub>3</sub> y PPF<sub>4</sub>).

Tabla 6. Resultados de las muestras analizadas por HPSEC

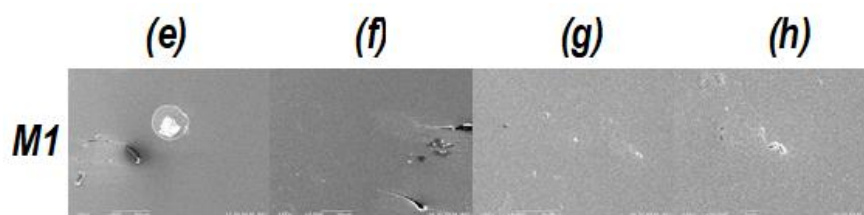
Muestra	Mn	Mw	Mp	Mz	PDI
STD PSt	43945	48577	52738	52481	1.105
PPF <sub>0</sub>	494	742	781	1040	1.500
PPF <sub>1</sub>	558	900	737	1310	1.613
PPF <sub>2</sub>	777	1164	857	1626	1.498
PPF <sub>3</sub>	842	1399	907	2082	1.662
PPF <sub>4</sub>	855	1383	906	2052	1.617
STD PSt	855	1383	906	2052	1.617

\*La muestra STD PSt representa el estándar de poliestireno de  $M_n = 44000$  g/mol y  $M_w = 46000$  Da.



#### 4.1.3.5. Caracterización por SEM

En la **figura 29** se analizó la muestra PPF<sub>3</sub>, la cual se entrecruzó en presencia del fotoiniciador BAPO y el agente N-vinilpirrolidona, con el propósito de analizar la morfología de la superficie. En las micrografías e, f, g y h correspondientes a las ampliaciones de 500x, 2,000x, 5,000x y 10,000x respectivamente, se muestra una superficie lisa, similar a la publicada por Lee et al., (2008).



**Figura 29.** Micrografías de la muestra PPF<sub>3</sub>/NVP. Los incisos e, f, g y h, corresponden a las ampliaciones de 500x, 2,000x, 5,000x y 10,000x respectivamente.

#### 4.1.4. Caracterización de mezclas poliméricas

**Tabla 7.** Descripción de las mezclas poliméricas para determinar la concentración óptima de cada constituyente.

Muestra (Clave SEM)	PPF (g)	NVP ( $\mu$ l)	BAPO (g)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (ml)	CTAB ( $\mu$ l)	Alg-Na (Extracto) [C] (ml)	Aerógrafo (gas de arrastre Ar)	UV (30 min)	CaCl <sub>2</sub> (1.5%) (10 min)
PPF <sub>3</sub> /NVP <i>M1 (e-h)</i>	1	250	0.06	3	x	x	x	✓	x
PPF <sub>2</sub> / Alg-I <i>G1 (w-z)</i>	1	250	0.06	2.5	250 (1 mM)	(10), [0.5%], (0.5 ml)	✓	✓	✓
PPF <sub>2</sub> / Alg-II <i>G2 (w-z)</i>	1	250	0.06	2.5	250 (0.5 mM)	(10), [0.5%], (0.5 ml)	✓	✓	✓
PPF <sub>2</sub> / Alg-III <i>G3 (w-z)</i>	1	250	0.06	2.5	250 (1 mM)	(10), [0.5%], (1 ml)	✓	✓	✓
PPF <sub>3</sub> / Alg-IV <i>G4 (w-z)</i>	1	250	0.06	2.5	250 (0.1 mM)	(10), [0.5%],	✓	✓	✓

						(1 ml)			
PPF <sub>3</sub> / Alg-0 <i>F1 (i-l)</i>	1	250	0.06	3	250 (1 mM)	(2), [0.5%], (1 ml)	✓	✓	✓*
PPF <sub>3</sub> / Alg-1	1	250	0.06	3	250 (1 mM)	(2), [0.5%], (1 ml)	x	✓	x
PPF <sub>3</sub> / Alg-2 <i>F2 (i-l)</i>	1	250	0.06	3	250 (1 mM)	(8), [0.5%], (1 ml)	✓	✓	x
PPF <sub>3</sub> / Alg-3	1	250	0.06	3	250 (1 mM)	(8), [0.5%], (1 ml)	x	✓	✓* (250 µl)
PPF <sub>3</sub> / Alg-4 <i>F3 (i-l)</i>	1	250	0.06	3	250 (1 mM)	-	x	✓	x
PPF <sub>3</sub> / Alg-5	1	250	0.06	3	x	(8), [0.5%], (1 ml)	✓	✓	x
PPF <sub>3</sub> / Alg-6 <i>F4 (i-l)</i>	1	250	0.06	3	250 (1 mM)	(8), [0.5%], (1 ml)	✓	✓	✓* (500 µl)
PPF <sub>3</sub> / Alg-7	1	250	0.06	3	250 (1 mM)	(8), [0.5%], (1 ml)	✓	✓	✓* (500 µl)

\*Nota: La "Clave SEM" representa el juego de imágenes correspondientes de la figura 32 y 33. \* (tratamiento en CaCl<sub>2</sub> antes del entrecruzamiento con UV).

#### 4.1.5. Caracterización de mezclas poliméricas

##### 4.1.5.1. Caracterización por FT-IR

En la **figura 30** se muestran las diferencias de los espectros FT-IR de las mezclas poliméricas conformadas por PPF y alginato de sodio. El entrecruzamiento de las cadenas de PPF incluyendo un agente entrecruzante como la NVP, ocasiona que se presente una banda de absorción a 1640 que se atribuye al grupo carbonilo (C=O), propio de la parte amida de la estructura de la NVP. El pico a 1740 cm<sup>-1</sup> para el grupo C=O característico del PPF se mantiene en el material (Shung et al., 2002). No

obstante, al mezclar el PPF con alginato en PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (1) y PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (2), se observan las bandas propias de la presencia de -OH en la estructura de alginato. Se observa también un incremento en las bandas del grupo funcional éter (C-O-C) provenientes de los enlaces glucosídicos del alginato.

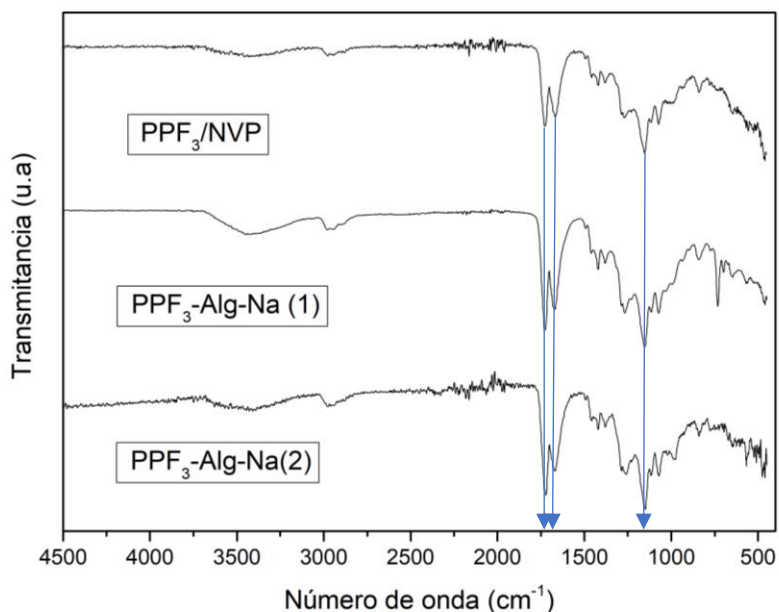
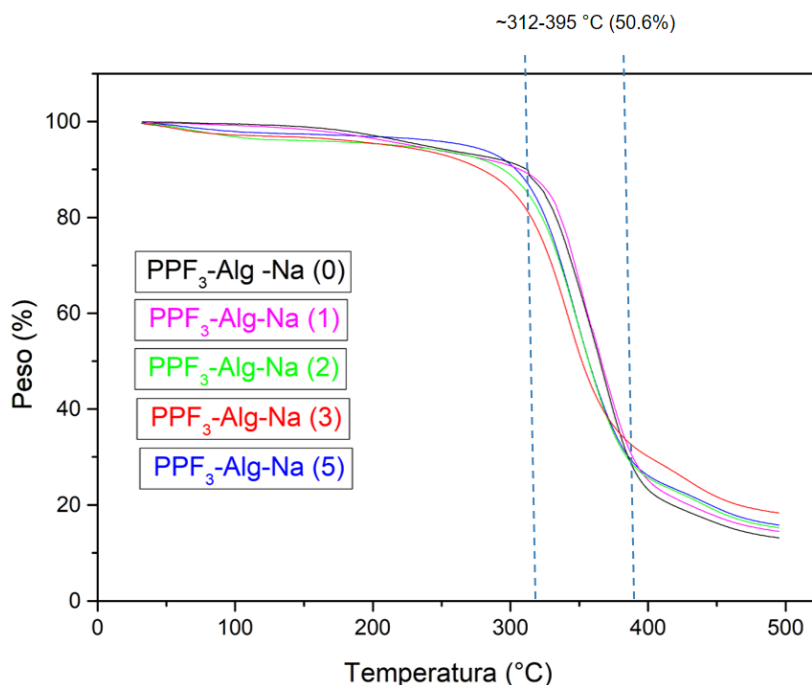


Figura 30. Espectro IR de las muestras PPF<sub>3</sub>/NVP, PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (1) y PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (2).

#### 4.1.5.2. Caracterización por TGA

En la figura 31 se muestran los termogramas de las mezclas propuestas. Las temperaturas de degradación en todas las muestras presentan una tendencia homogénea en los rangos de degradación. Se puede esperar que cada componente de una mezcla contribuya de manera independiente sobre los porcentajes de pérdida de masa en el material. Sin embargo, en este caso se puede observar que la combinación de PPF y alginato generan un material con un rango de descomposición estrecho entre 312-395 °C con una pérdida de peso del 50.6% de las muestras. Así, las pérdidas de peso significativas del alginato a temperaturas inferiores a 100 °C se ven reducidas (figura 23), mientras que las degradaciones de PPF, que son observadas para este polímero en su

forma individual desde los 190 °C (**figura 27**). Esto sugiere que la mezcla presenta un efecto sinérgico sobre el material, y contribuye a mejorar su resistencia térmica a la degradación.

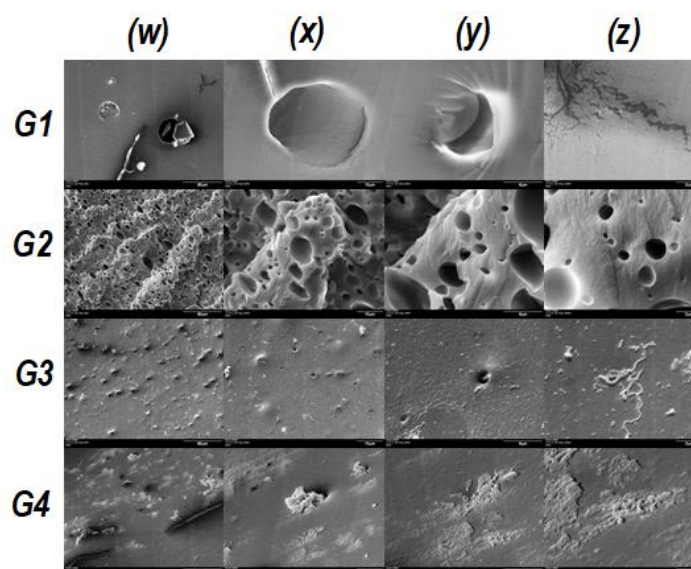


**Figura 31.** Termogramas de las muestras PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (0), PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (1), PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (2), PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (3) y PPF<sub>3</sub>-Alg-Na (5).

#### 4.1.5.3. Caracterización por SEM

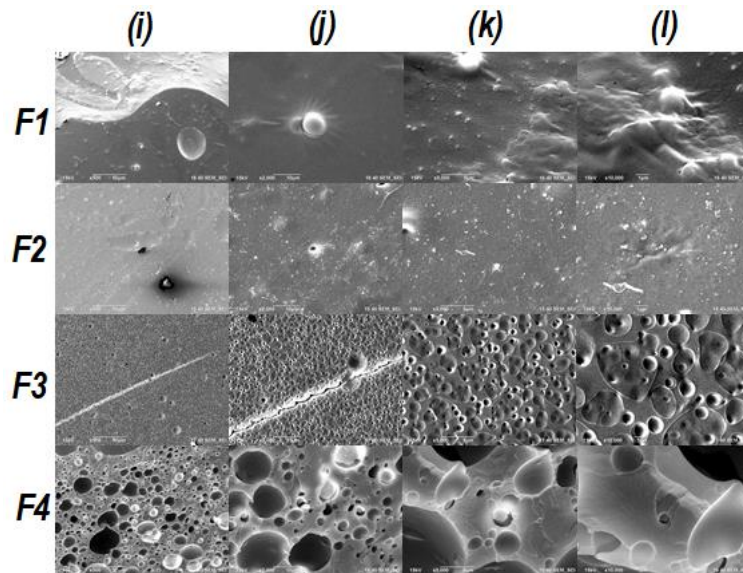
Las micrografías SEM de la **figura 32** se obtuvieron de las muestras *G1*, *G3* y *G4*, que corresponden a las mezclas poliméricas propuestas en esta investigación. En las mezclas se pueden identificar poros aislados, indicando la formación de estructuras esféricas transitorias en el interior de la matriz de PPF. La contribución de la composición de la mezcla, en cuanto a la cantidad de agente surfactante (CTAB) utilizado, sobre la morfología del material, se observa con esta microscopía. Se destaca que las mezclas de PPF-alginato con 0.5M de CTAB, presentan una alta porosidad, mientras que mezclas preparadas con cantidades superiores o inferiores, presentan una estructura menos porosa. Cabe resaltar que las estructuras altamente porosas son deseadas para materiales biodegradables aplicados como andamios en la ingeniería de tejidos. La muestra *G2* muestra la formación de porosidades causadas por la posible formación de micelas de alginato de sodio. El

trabajo publicado por Narayanan & Han (2017) y Kafshgari et al., (2012) reportan la formación de micelas inversas de alginato de sodio en combinación con otros polímeros diferentes al planteado en este proyecto, mediante el uso del agente surfactante CTAB. Por otro lado, Finosh et al., (2015) reporta la combinación entre PPF y alginato de sodio mediante imágenes de materiales con alta porosidad como las mostradas en este trabajo. Los trabajos reportados por Liu et al., (2015) y Hedberg et al., (2005) reportaron la formación de estructuras porosas y formación de microestructuras utilizando PPF como matriz, similar al mostrado en la **figura 32**.



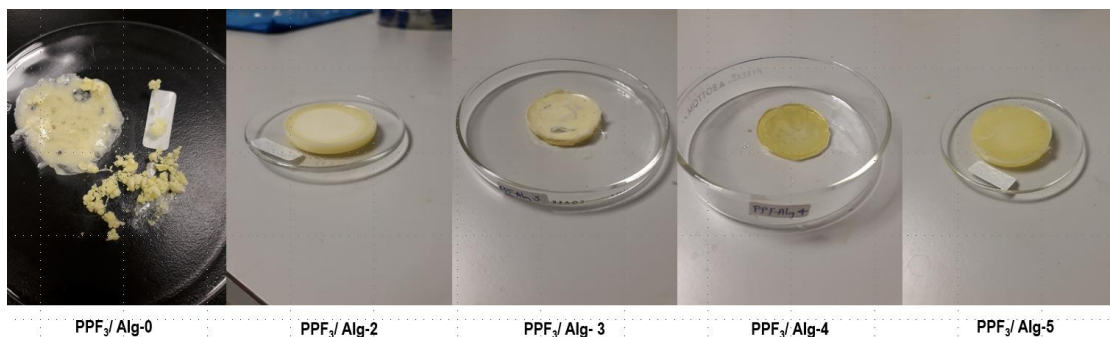
**Figura 32.** Micrografías de la mezcla PPF/Alg. La referencia G1, G2, G3 Y G4 corresponden a las muestras PPF<sub>2</sub>/Alg-I, PPF<sub>2</sub>/Alg-II, PPF<sub>2</sub>/Alg-III y PPF<sub>2</sub>/Alg-IV respectivamente. Las condiciones de síntesis se muestran en la tabla 7. Los incisos w, x, y, y z, corresponden a las ampliaciones de 500x, 2,000x, 5,000x y 10,000x respectivamente.

Las condiciones de síntesis de cada combinación en la **figura 33** se muestran en la tabla 7. En este segundo análisis se determinó la influencia de los iones de calcio antes y después del entrecruzamiento UV y el uso del aerógrafo para la dispersión en forma de microgotas del surfactante CTAB y el alginato de sodio. Como se puede observar, en las micrografías F1 y F2 no se muestra evidencia de la formación de estructuras tipo micela o la formación de porosidad. La muestra F3 se preparó sin agregar alginato de sodio observando microporos generados por el surfactante CTAB. Estos poros generados por la influencia única del CTAB presentan un menor diámetro, en comparación con los formados en la muestra F4, en la que se puede observar la formación de cavidades esféricas generadas por el alginato de sodio.



**Figura 33.** Micrografías de la mezcla PPF/Alg. La referencia *F1*, *F2*, *F3* Y *F4* corresponden a las muestras PPF<sub>2</sub>/Alg-0, PPF<sub>3</sub>/Alg-2, PPF<sub>3</sub>/Alg-4 y PPF<sub>3</sub>/Alg-6 respectivamente. Las condiciones de síntesis se muestran en la tabla 7. Los incisos w, x, y, y z, corresponden a las ampliaciones de 500x, 2,000x, 5,000x y 10,000x respectivamente.

Las muestras PPF<sub>4</sub>/Alg-1, PPF<sub>4</sub>/Alg-3, PPF<sub>4</sub>/Alg-5 y PPF<sub>4</sub>/Alg-7 no fueron caracterizadas debido a que no se formaron mezclas homogéneas, además presentaron bajos rendimientos de entrecruzamiento, por ello fueron descartadas. Por lo tanto, la muestra más representativa de los materiales propuestos en esta investigación es PPF<sub>4</sub>/Alg-2. En la **figura 34** se observan las fotografías de las muestras PPF<sub>2</sub>/Alg-0, PPF<sub>3</sub>/Alg-2, PPF<sub>3</sub>/Alg-4 y PPF<sub>3</sub>/Alg-6, siendo las más representativas para la formación de mezclas poliméricas.



**Figura 34.** Fotografías de las mezclas elaboradas bajo los parámetros establecidos en la tabla 7.

## 4.2. Discusiones

En este trabajo se planteó la formación de una mezcla polimérica basada en dos polímeros de características distintas. El alginato de sodio es un polisacárido natural extraído de algas cafés característico por ser un material hidrofílico, que puede formar geles en presencias de diversos cationes metálicos divalentes, para este caso se utilizó  $\text{Ca}^{2+}$ . Por otra parte, se sintetizó por el método condensación el polímero sintético y con características hidrofóbicas como es el PPF. Este polímero, que en estado líquido es altamente viscoso, es ampliamente utilizado en aplicaciones biomédicas, ya que forma un material rígido y biodegradable al ser entrecruzado mediante fotoiniciadores como el BAPO, en presencia o ausencia de agentes de entrecruzamiento, como la NVP. Así, ambos polímeros presentan propiedades de biodegradación y de biocompatibilidad, por lo que la combinación adecuada de ambos produciría una mezcla que comparta dichas características. No obstante, por sus características fisicoquímicas, una mezcla directa de PPF y alginato de sodio producen separaciones de fase por su incompatibilidad. Por lo tanto, para lograr desarrollar un material compuesto de estos dos polímeros, fue necesario recurrir a estrategias de preparación que incluye la formación de micelas a través de un agente surfactante.

Las caracterizaciones realizadas al alginato extraído, en comparación con la literatura citada, son un buen indicativo de que las metodologías aplicadas son reproducibles. Los espectros FT-IR de alginatos demuestran la presencia de bandas de absorción características para alginato; una señal doble ubicadas en  $1605$  y  $1410\text{ cm}^{-1}$  que corresponden al grupo funcional carboxilo, en los que Dalaty et al., (2016b) reporta en  $1595$  y  $1405\text{ cm}^{-1}$ , además de identificar los picos correspondiente a las estructuras en forma de anillo de los monómeros de alginato. Por otra parte, los termogramas TGA reportados por Fajardo et al., (2012) muestran la presencia de dos temperaturas de degradación para alginatos, con temperaturas de degradación entre  $245$  y  $239\text{ }^\circ\text{C}$ ; en este trabajo se reportan las temperaturas aproximadamente cercanas a  $220$  y  $250\text{ }^\circ\text{C}$ , correspondiente a lo citado. Las muestras e alginato fueron posteriormente entrecruzadas en presencia de iones divalentes de calcio. Las imágenes SEM revelan la topografía característica de alginato de calcio. Todas la muestras, incluyendo la comercial mostraron entrecruzamiento en la superficie, como lo reportado por (Ayarza et al., 2016).

Por otra parte, los resultados obtenidos por FT-IR para PPF fueron comparados con los ya reportados por Shung et al., (2002). En los espectros obtenidos en este trabajo, se reportan los picos de absorción característicos a los grupos funcionales de PPF en  $1730\text{ cm}^{-1}$  aproximadamente, los cuales corresponden a la presencia de los grupos carbonilo. Los valores ya reportados se muestran en  $1740$  y  $1650\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los grupos carbonilo, por lo que las muestras obtenidas corresponden a lo citado en la literatura.

Los termogramas obtenidos de PPF bajo las condiciones establecidas corresponden a lo citado anteriormente por Salarian et al., (2014), presentando una temperatura de degradación que inicia a  $190\text{ }^{\circ}\text{C}$  y presenta un promedio a los  $320\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Algo importante a destacar es la diferencia entre los termogramas de los lotes de muestras de PPF sintetizadas; tales discrepancias son atribuidas a las diferencias entre pesos moleculares obtenido para cada muestra, lo que significa que las cadenas de menor peso molecular se degradarán más rápido. La reproducibilidad de las muestras se ve afectada directamente por las variaciones o cambios entre cada proceso de síntesis. Sin embargo, en los resultados de peso molecular se distingue que entre los últimos lotes de síntesis se presenta una dispersión menor del peso molecular, lo que significa que el proceso de síntesis fue estandarizado en los últimos lotes.

Los resultados arrojados de la caracterización HPSEC reflejan las dificultades presentadas en las primeras muestras sintetizadas, de tal forma que las primeras síntesis registraron pesos moleculares muy bajos; a medida que la técnica para la síntesis era mejor comprendida, se logró aumentar el peso molecular hasta  $1399$  y  $1383$  para PPF<sub>3</sub> y PPF<sub>4</sub> respectivamente, lo que indicaba que la síntesis comenzaba a ser reproducible. Las variaciones en el peso molecular varían de acuerdo a los tiempos de síntesis empleados.

Los resultados obtenidos por  $^1\text{H}$  NMR se compararon con los ya reportados por Kasper et al., (2009) y Shahbazi et al., (2014) ya mencionados en la **figura 28**. Las muestras sintetizadas de PPF se apegan a lo ya reportado en la literatura. Los resultados indican que el proceso de síntesis es adecuado y además el proceso de extracción o purificación del PPF es óptimo, ya que no presenta señales provenientes del inhibidor hidroquinona, que es usado durante la síntesis para evitar la reacción del doble enlace carbono-carbono del precursor dietilfumarato.



Con relación a la topografía de la muestra, el polímero PPF en estado base (líquido) al ser entrecruzado forma un material sólido. Las micrografías SEM mostradas de las muestras de PPF entrecruzadas fueron comparadas con las ya reportadas por Lee et al., (2008). Ambas micrografías muestran un material a base de PPF liso en su superficie, incluso al ser reticulado con NVP. En resumen, la síntesis de PPF es una metodología en la que es importante el cuidado de los parámetros involucrados, como la presión del sistema o la temperatura, afectando sus propiedades químicas.

Anteriormente se han mencionado diversas caracterizaciones incluyendo la reportada en este trabajo (Finosh et al., 2015). A pesar de ello, el desarrollo de nuevas combinaciones que aporten nuevo conocimiento, así como materiales con propiedades novedosas es una actividad científica que va en aumento. Los polímeros presentados en la presente tesis son característicos por ser inmiscibles entre ambos, lo que implica que la combinación no era posible de manera directa. Con base a una búsqueda bibliográfica se encontró que mediante la elaboración de emulsiones era posible mezclar dos sustancias que originalmente eran inmiscibles. El uso de surfactantes es una técnica que permite elaborar emulsiones de dos especies con polaridad distinta (Fang et al., 2010), siendo el alginato una molécula hidrofílica y el PPF hidrofóbico. El uso de CTAB, al ser un agente tensoactivo promovió la formación de micelas de alginato en una solución de PPF (Yang et al., 2009). Para poder determinar la influencia de los componentes que conforman la mezcla polimérica, se realizaron distintas muestras en las que se hicieron variar las concentraciones (tabla 7). Las muestras que tuvieron un mejor resultado a lo esperado en este trabajo fueron PPF<sub>2</sub>/Alg-0, PPF<sub>3</sub>/Alg-2, PPF<sub>3</sub>/Alg-4 y PPF<sub>3</sub>/Alg-6; las muestras restantes no fueron sometidas a caracterización, ya que no se apreciaba la formación de una emulsión homogénea, además de una pobre reticulación.

Las muestras que fueron realizadas en presencia de todos los elementos propuestos en este trabajo (PPF, BAPO, NVP) en solución con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y la adición del surfactante CTAB en las concentraciones 0.5 mM y 1mM y alginato de sodio al 0.5% en volúmenes de 0.5 y 1 ml por medio de aerógrafo, se puede observar en micrografías SEM la formación de micelas inversas de alginato de sodio, las cuales se pueden apreciar como porosidades en el material. Una de las características a evaluar en futuras investigaciones de este trabajo hacían mención de la síntesis un material biodegradable y biocompatible. Mediante los espectros FT-IR obtenidos tanto de las muestras de alginato como de PPF, se puede hacer una identificación de los picos característicos de los polímeros

constituyentes de la mezcla en FT-IR obtenidos de las muestras caracterizadas. En ellas se pueden observar los picos característicos de los grupos funcionales carbonilo y carboxilo por parte de los alginatos; de igual forma, las señales características del PPF se pueden identificar dentro de los espectros FT-IR de las mezclas, lo que implicaría que las propiedades tanto del alginato como del PPF son conservadas en la mezcla propuesta, haciendo de este un material biodegradable y biocompatible, no obstante, es necesario realizar futuras pruebas para confirmar lo planteado en este trabajo.

## V. CONCLUSIONES

Para desarrollar una mezcla compuesta de PPF-Alginato se cumplieron los siguientes objetivos:

- Se logró extraer alginato de sodio desde el alga café. Las caracterizaciones por FT-IR, TGA y SEM de las muestras extraídas corresponden a lo reportado a la literatura y a los resultados de análisis encontrados con muestras de origen comercial.
- Se logró sintetizar y purificar con éxito el polímero PPF a partir de dietilfumarato y propilenglicol, por medio de una reacción de condensación. La caracterización por FT-IR, TGA corresponden a lo reportado en la literatura, mientras que los resultados RMN corresponden con la estructura de dicho polímero.
- El uso del agente de entrecruzamiento NVP para unir las cadenas de PPF contribuyen con el aumento de la rigidez del material, reduciendo la viscosidad del polímero. Sin embargo, el material por si solo presentó baja porosidad.
- Se desarrolló un material combinando PPF con alginato de sodio, usando una metodología de micelas inversas, usando CTAB como agente surfactante, NVP como agente entrecruzante de PPF, y  $\text{CaCl}_2$  como agente entrecruzante del alginato de sodio. El entrecruzamiento de PPF fue estimulado "*in situ*" por UV, usando el fotoiniciador BAPO. Se varió la composición de muestra y se utilizaron dos estrategias de mezclado: con la ayuda de un aerógrafo y por medio de pipetas volumétricas. Con el aerógrafo se obtuvo mezclas más homogéneas y sin separaciones de fase, contrario a como sucedió utilizando pipetas.
- La estructura porosa de las mezclas formadas con PPF-alginato conforman un material con alta porosidad y distribución de poros. La porosidad del material aumenta a concentraciones de CTAB al 0.5 y 1 mM. Esto debido a que, a estas concentraciones, se presentó la formación de micelas que permitieron una mayor inclusión de alginato de sodio en la matriz de PPF.

- Para futuras investigaciones, es importante realizar las caracterizaciones de peso molecular y relación de grupos M/G para los extractos de alginato de sodio con la finalidad de complementar el trabajo realizado en esta tesis, así como evaluaciones mecánicas para los polímeros de manera individual y el resultado de su combinación.
- Los polímeros empleados en este trabajo, así como el material formado producto de su combinación, representan una potencial oportunidad de explotación e industrialización, ya que el PPF actualmente no es comercializado y el alga *Macrocystis pyrifera* es un recurso abundante y subexplotado en las costas de la región.

# BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar Rosas, R., Aguilar Rosas, L. E., Mendoza Gonzalez, C., & Nuñez Cebrero, F. (2001). *Macroalgas marinas de la costa noroccidental de Baja California, México*. Ensenada.
- Alaminos, M., Sa, C., Mun, I., Serrano, D., Medialdea, S., Carreras, I., & Campos, A. (2006). Construction of a Complete Rabbit Cornea Substitute Using a Fibrin-Agarose Scaffold *AND*, 47(8). <https://doi.org/10.1167/iovs.05-1647>
- Arvizu-higuera, D. L., Hernández-carmona, G., & Rodríguez-Montesinos, Y. E. (1997). Efecto del tipo de precipitación en el proceso de obtención de alginato de sodio: método de alginato de calcio y método de ácido alginico. *Ciencias Marinas*, 23(2), 195–207.
- Asti, A., Gastaldi, G., Dorati, R., Saino, E., Conti, B., Visai, L., & Benazzo, F. (2010). Stem Cells Grown in Osteogenic Medium on PLGA , PLGA / HA , and Titanium Scaffolds for Surgical Applications, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/831031>
- Aurora, S., Tiu, E. G. V., Ayer, M., Ishikawa, T., & Yamakoshi, Y. (2015). RAFT synthesis of poly (vinylpyrrolidone) amine and preparation of a water-soluble C60-PVP conjugate. *Polymer Chemistry*, 6(14), 2616–2619. <https://doi.org/10.1039/C4PY01333F>
- Ayarza, J., Coello, Y., & Nakamatsu, J. (2016). SEM-EDS Study of Ionically Crosslinked Alginate and Alginic Acid Bead Formation, 5341(August). <https://doi.org/10.1080/1023666X.2016.1219834>
- Bat, E., Kothman, B. H. M., Higuera, G. A., van Blitterswijk, C. A., Feijen, J., & Grijpma, D. W. (2010). Ultraviolet light crosslinking of poly(trimethylene carbonate) for elastomeric tissue engineering scaffolds. *Biomaterials*, 31(33), 8696–8705. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.07.102>
- Bixler, H. J., & Porse, H. (2011). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 321–335. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9529-3>
- Bloch, F., Hansen, W. W., & Packard, M. (1946). The Nuclear Induction Experiment. *Physical Review*, 70(5), 474–485.
- Bouhadir, K. H., Lee, K. Y., Alsberg, E., Damm, K. L., Anderson, K. W., & Mooney, D. J. (2001). Degradation of partially oxidized alginate and its potential application for tissue engineering. *Biotechnology Progress*, 17(5), 945–950. <https://doi.org/10.1021/bp010070p>
- Bracaglia, L. G., Messina, M., Vantucci, C., Baker, H. B., Pandit, A., & Fisher, J. P. (2017). Controlled Delivery of Tissue Inductive Factors in a Cardiovascular Hybrid Biomaterial Scaffold. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 3(7), 1350–1358. <https://doi.org/10.1021/acsbmaterials.6b00460>
- Bucio, E., Magari, B., Concheiro, A., Mu, F., & Alvarez-lorenzo, C. (2014). Temperature- and pH-Sensitive IPNs Grafted onto Polyurethane by Gamma Radiation for Antimicrobial Drug-Eluting Insertable Devices, 39992, 1–15.

<https://doi.org/10.1002/app.39992>

- Butler, D. L., & Goldstein, S. A. (2000). Functional Tissue Engineering : The Role of Biomechanics, 122(December 2000).
- Buyuksungur, S., Endogan Tanir, T., Buyuksungur, A., Bektas, E. I., Torun Kose, G., Yucel, D., ... Hasirci, N. (2017). 3D printed poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds modified with hydroxyapatite and poly(propylene fumarate) and their effects on the healing of rabbit femur defects. *Biomater. Sci.* <https://doi.org/10.1039/C7BM00514H>
- Caban, M. V., Doadrio, J. C., & Roma, J. (2007). An optimized b -tricalcium phosphate and agarose scaffold fabrication technique. <https://doi.org/10.1002/jbm.a>
- Cai, Z. Y., Yang, D. A., Zhang, N., Ji, C. G., Zhu, L., & Zhang, T. (2009). Poly(propylene fumarate)/(calcium sulphate/ $\beta$ -tricalcium phosphate) composites: Preparation, characterization and in vitro degradation. *Acta Biomaterialia*, 5(2), 628–635. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.09.016>
- Calister, W. D., & Rethwisch, D. G. (2015). *Fundamentals Materials science and Engineering. Fundamentals of Materials Science and Engineering*. Retrieved from 9781119230403
- Capuano, E., & Ruth, S. M. Van. (2016). *Infrared Spectroscopy : Applications. Encyclopedia of Food and Health* (1st ed.). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00644-9>
- Carvalho, R. V. De, Piva, E., & Ogliari, F. A. (2014). BAPO as an alternative photoinitiator for the radical polymerization of dental resins. *Dental Materials*, 30(9), 945–953. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.05.020>
- Cernencu, A. I., Lungu, A., Dragusin, D., Serafim, A., Vasile, E., Ionescu, C., & Iovu, H. (2017). Design of cellulose–alginate films using PEG/NaOH aqueous solution as co-solvent. *Cellulose*, 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1412-9>
- Chem, J. M., Naveena, N., Venugopal, J., Rajeswari, R., Sundarrajan, S., Sridhar, R., ... Narayanan, S. (2012). Biomimetic composites and stem cells interaction for bone and cartilage tissue regeneration, 5239–5253. <https://doi.org/10.1039/c1jm14401d>
- Ching, S. H., Bansal, N., & Bhandari, B. (2017). Alginate gel particles–A review of production techniques and physical properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1133–1152. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.965773>
- Cholkar, K., Acharya, G., Trinh, H. M., & Singh, G. (2017). Therapeutic Applications of Polymeric Materials. In *Emerging Nanotechnologies For Diagnostics, Drug Delivery, And Medical Devices* (p. 403). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-42978-8.00001-2>
- Cicotte, K. N., Hedberg-Dirk, E. L., & Dirk, S. M. (2012). 3D printing fumarate based polymers. *2011 MRS Fall Meeting*, 1418, 171–176. <https://doi.org/10.1557/opl.2012.103>
- Coates, E. E., Riggan, C. N., & Fisher, J. P. (2013). Photocrosslinked alginate with hyaluronic acid hydrogels as vehicles for mesenchymal stem cell encapsulation and chondrogenesis. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 101 A(7), 1962–1970. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34499>

- Comaposada, J., Gou, P., Marcos, B., & Arnau, J. (2015). Physical properties of sodium alginate solutions and edible wet calcium alginate coatings. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.043>
- Coughlin, P. (1982). Wound Tissue Can Utilize a Polymeric Template to Synthesize a Functional Extension of Skin, 215(January), 174–176.
- Dabiri, S. M. H., Lagazzo, A., Barberis, F., Shayganpour, A., Finocchio, E., & Pastorino, L. (2017). New in-situ synthesized hydrogel composite based on alginate and brushite as a potential pH sensitive drug delivery system. *Carbohydrate Polymers*, 177. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.046>
- Dalaty, A. Al, Karam, A., Najlah, M., Alany, R. G., & Khoder, M. (2016a). Effect of non-cross-linked calcium on characteristics, swelling behaviour, drug release and mucoadhesiveness of calcium alginate beads. *Carbohydrate Polymers*, 140, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.010>
- Dalaty, A. Al, Karam, A., Najlah, M., Alany, R. G., & Khoder, M. (2016b). Effect of non-cross-linked calcium on characteristics, swelling behaviour, drug release and mucoadhesiveness of calcium alginate beads. *Carbohydrate Polymers*, 140, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.010>
- Das, K., Maiti, S., & Das, P. K. (2014). Probing enzyme location in water-in-oil microemulsion using enzyme-carbon dot conjugates. *Langmuir*, 30(9), 2448–2459. <https://doi.org/10.1021/la403835h>
- Díez-Pascual, A. M., & Díez-Vicente, A. L. (2016). Poly(propylene fumarate)/Polyethylene Glycol-Modified Graphene Oxide Nanocomposites for Tissue Engineering. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8(28), 17902–17914. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b05635>
- Díez-Pascual, A. M., & Díez-Vicente, A. L. (2017). Antibacterial SnO<sub>2</sub> nanorods as efficient fillers of poly(propylene fumarate-co-ethylene glycol) biomaterials. *Materials Science and Engineering: C*, 78, 806–816. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.114>
- Donati, I., & Paoletti, S. (2009). *Material Properties of Alginates*. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-92679-5>
- Draget, K. I. (2005). *Alginates from Algae*. <https://doi.org/10.1002/3527600035.bpol6008>
- Dutta, A. (2017). *Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00004-2>
- Eastoe, J., Hollamby, M. J., & Hudson, L. (2006). Recent advances in nanoparticle synthesis with reversed micelles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 128–130(2006), 5–15. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.11.009>
- Fajardo, R., Silva, M. B., Lopes, C., Piai, J. F., Rubira, A. F., & Muniz, E. C. (2012). Hydrogel based on an alginate-Ca<sup>2+</sup>/chondroitin sulfate matrix as a potential colonspecific drug delivery system. *RSC Advances*, 11095–11103. <https://doi.org/10.1039/c2ra20785k>
- Fang, Y., Bennett, A., & Liu, J. (2010). Multiply charged gas-phase NaAOT reverse micelles: Formation, encapsulation of

- glycine, and collision-induced dissociation. *International Journal of Mass Spectrometry*, 293(1–3), 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2010.03.005>
- Feng, Y., Kopplin, G., Sato, K., Draget, K. I., & Vårum, K. M. (2017). Alginate gels with a combination of calcium and chitosan oligomer mixtures as crosslinkers. *Carbohydrate Polymers*, 156, 490–497. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.006>
- Fertah, M. (2017). *Isolation and Characterization of Alginate from Seaweed*. *Seaweed Polysaccharides*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809816-5/00002-5>
- Finosh, G. T., Jayabalan, M., Vandana, S., & Raghu, K. G. (2015). Hybrid alginate-polyester bimodal network hydrogel for tissue engineering – Influence of structured water on long-term cellular growth. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 135, 855–864. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.03.020>
- Fisher, J. P., Dean, D., & Mikos, A. G. (2002). Photocrosslinking characteristics and mechanical properties of diethyl fumarate/poly(propylene fumarate) biomaterials. *Biomaterials*, 23(22), 4333–4343. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00178-3](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00178-3)
- Fisher, J. P., Holland, T. A., Dean, D., Engel, P. S., & Mikos, A. G. (2001). Synthesis and properties of photocross-linked poly(propylene fumarate) scaffolds. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 12(6), 673–687. <https://doi.org/10.1163/156856201316883476>
- Fratzl, P. (2008). Collagen : Structure and Mechanics , an Introduction, 1–13.
- Frazier, D. D., Lathi, V. K., Gerhart, T. N., & Hayes, W. C. (1997). Ex vivo degradation of a poly(propylene glycol-fumarate) biodegradable particulate composite bone cement. *Journal of Biomedical Materials Research*, 35(3), 383–389. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(19970605\)35:3<383::AID-JBM12>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(19970605)35:3<383::AID-JBM12>3.0.CO;2-G)
- Gacesa, P. (1988). Alginates, 8, 161–182.
- Galego, N., Martínez, R., Peniche, C., Prieto, S., & Rieumont, J. (1987). *Química - Física de los polímeros*. (J. M. Rivera, Ed.). La Habana: Científico - Técnica.
- Garavand, F., Rouhi, M., Razavi, S. H., Cacciotti, I., & Mohammadi, R. (2017). Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 687–707. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.093>
- Giambini, H., & Zeng, H. (2014). Biomechanical Evaluation of an Injectable, 20, 1096–1102. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0275>
- Giridhar, G., Manepalli, R. K. N. R., & Apparao, G. (2017). Size-Exclusion Chromatography. In *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization* (pp. 51–65). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00003-7>
- Goldstein, J., Newbury, D., Joy, D., Lyman, C., Echlin, P., Lifshin, E., ... Michael, J. (2003). *Scanning electron microscopy*



and X-ray microanalysis. (Tercera ed). [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0215-9\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0215-9_4)

- Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C., & Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters*, 32(1), 195–198. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(73\)80770-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(73)80770-7)
- Grasdalen, H., Larsen, B., & Smidsrod, O. (1979). A P.M.R. study of the composition and sequence of uronate residues in alginates, 68, 23–31.
- Groover, M. P. (2014). *Fundamentos de Manufactura Moderna*. (Mc Graw Hill, Ed.) (Tercera ed).
- Gunatillake, P. A., Adhikari, R., & Gadegaard, N. (2003). Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *European Cells and Materials*, 5, 1–16. <https://doi.org/10.22203/eCM.v005a01>
- Hasrc, V., Lewandrowski, K., Gresser, J. D., Wise, D. L., & Trantolo, D. J. (2001). Versatility of biodegradable biopolymers: Degradability and an in vivo application. *Journal of Biotechnology*, 86(2), 135–150. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00409-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00409-0)
- Haug, A. (1964). Composition and properties of alginates. *Rep. Norw. Ins. Seaweed Res.*, 30, 123.
- Haug, A., & Larsen, B. (1962). Quantitative determination of the uronic acid composition of alginates, 16, 1908–1918.
- Haug, A., Larsen, B., & Smidsrod, O. (1974). Uronic acid sequence in alginate from different sources, 32, 217–225.
- Heang, S., Kyu, I., Man, J., & Ho, J. (2007). In vitro and in vivo characteristics of PCL scaffolds with pore size gradient fabricated by a centrifugation method, 28, 1664–1671. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.11.024>
- Hedberg, E. L., Kroese-Deutman, H. C., Shih, C. K., Crowther, R. S., Carney, D. H., Mikos, A. G., & Jansen, J. A. (2005). In vivo degradation of porous poly(propylene fumarate)/poly(DL-lactic-co-glycolic acid) composite scaffolds. *Biomaterials*, 26(22), 4616–4623. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.11.039>
- Hedberg, E. L., Shih, C. K., Lemoine, J. J., Timmer, M. D., Liebschner, M. A. K., Jansen, J. A., & Mikos, A. G. (2005). In vitro degradation of porous poly(propylene fumarate)/poly(DL-lactic-co-glycolic acid) composite scaffolds. *Biomaterials*, 26(16), 3215–25. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.09.012>
- Henslee, A. M., Gwak, D., Mikos, A. G., & Kasper, F. K. (2012). Development of a biodegradable bone cement for craniofacial applications, 1–8. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34157>
- Hernández-Carmona, G., Freile-Peigrín, Y., & Hernández-Garibay, E. (2013). *Conventional and alternative technologies for the extraction of algal polysaccharides. Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*. <https://doi.org/10.1533/9780857098689.3.475>
- Hernández-Carmona, G., Reyes-Tisnado, R., Rodríguez-Montesinos, Y. E., Murillo-Álvarez, J. I., Arvizu-Higuera, D. L., & Muñoz-Ochoa, M. (2012a). Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México. *Avances Tecnológicos En La Producción de Alginatos En México, XIII*, 155–168.

- Hernández-Carmona, G., Reyes-Tisnado, R., Rodríguez-Montesinos, Y. E., Murillo-Álvarez, J. I., Arvizu-Higuera, D. L., & Muñoz-Ochoa, M. (2012b). Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México Technological Advance for Alginate Production in Mexico, *XIII*, 155–168.
- Hernández Carmona, G., Margarita Casas, M. M., & Aguirre Vilchis, M. (1991). Proceso mejorado para la obtención de alginato de sodio a partir del alga *Macrocystis Pyrifera*, *6*(2).
- Hosseinzadeh, H., & Abdi, K. (2017). Efficient Removal of Methylene Blue Using a Hybrid Organic–Inorganic Hydrogel Nanocomposite Adsorbent Based on Sodium Alginate–Silicone Dioxide. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, *0*(0), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s10904-017-0625-6>
- Inkson, B. J. (2016). *Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization. Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100040-3.00002-X>
- Janarthanan, P., Veeramachineni, A., & Loh, X. (2016). Biodegradable Polysaccharides, 1–12. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.01423-5>
- Jiao, Y., Liu, Z., & Zhou, C. (2006). Fabrication and characterization of PLLA – chitosan hybrid scaffolds with improved cell compatibility, (July). <https://doi.org/10.1002/jbm.a>
- Jo, S., Shin, H., Shung, A. K., Fisher, J. P., & Mikos, A. G. (2001). Synthesis and characterization of oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) macromer. *Macromolecules*, *34*(9), 2839–2844. <https://doi.org/10.1021/ma001563y>
- Kadler, K. E., Baldock, C., Bella, J., & Raymond, P. (2007). Collagens at a glance Collagens at a Glance, 2007. <https://doi.org/10.1242/jcs.03453>
- Kafshgari, M. H., Khorram, M., Mansouri, M., Samimi, A., & Osfouri, S. (2012). Preparation of alginate and chitosan nanoparticles using a new reverse micellar system. *Iranian Polymer Journal*, *21*(2), 99–107. <https://doi.org/10.1007/s13726-011-0010-1>
- Kakisis, J. D., Liapis, C. D., Breuer, C., Sumpio, B. E., & Haven, N. (2005). Artificial blood vessel : The Holy Grail of peripheral vascular surgery, 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2004.12.026>
- Karunakaran, C., Rajkumar, R., & Balamurugan, M. (2018). *Principles of Nuclear Magnetic Resonance and Pulsed Nuclear Magnetic Resonance. Spin Resonance Spectroscopy*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813608-9.00001-0>
- Kasper, F. K., Tanahashi, K., Fisher, J. P., & Mikos, A. G. (2009). Synthesis of poly(propylene fumarate). *Nature Protocols*, *4*(4), 518–525. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.24>
- Kempen, D. H. R., Lu, L., Zhu, X., Kim, C., Jabbari, E., Dhert, W. J. A., ... Yaszemski, M. J. (2004). Development of biodegradable poly(propylene fumarate)/poly(lactic-co-glycolic acid) blend microspheres. II. Controlled drug release and microsphere degradation. *Journal of Biomedical Materials Research*, *70A*(2), 293–302.

<https://doi.org/10.1002/jbm.a.30080>

- Khoshnood, A., & Firoozabadi, A. (2015). Polar Solvents Trigger Formation of Reverse Micelles. *Langmuir*, 31(22), 5982–5991. <https://doi.org/10.1021/la504658u>
- Khotimchenko, Y. S., Kovalev, V. V., Savchenko, O. V., & Ziganshina, O. A. (2001). Physical-Chemical Properties, Physiological Activity, and Usage of Alginates, the Polysaccharides of Brown Algae. *Russian Journal of Marine Biology*, 27(1), 53–64. <https://doi.org/10.1023/a:1013851022276>
- Kim, D.-S. (1984). Uronic acid composition, block structure and some related properties of alginic acid, 18, 29–36.
- Kim, J. H., Lee, J. W., & Yun, W. S. (2017). Fabrication and tissue engineering application of a 3D PPF/DEF scaffold using Blu-ray based 3D printing system. *Journal of Mechanical Science and Technology*, 31(5), 2581–2587. <https://doi.org/10.1007/s12206-017-0456-y>
- Kim, U., Park, J., Li, C., Jin, H., Valluzzi, R., & Kaplan, D. L. (2004). Structure and Properties of Silk Hydrogels, 786–792.
- Kraj, A. (2004). Size-exclusion chromatography (Vol. 69, pp. 213–251).
- Kuo, C. K., & Ma, P. X. (2001). Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials*, 22(6), 511–521. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00201-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00201-5)
- Lan, P. X., Lee, J. W., Seol, Y. J., & Cho, D. W. (2009). Development of 3D PPF/DEF scaffolds using micro-stereolithography and surface modification. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(1), 271–279. <https://doi.org/10.1007/s10856-008-3567-2>
- Lee, B. B., Bhandari, B. R., & Howes, T. (2017). Quantification of calcium alginate gel formation during ionic cross-linking by a novel colourimetric technique. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 533, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.08.033>
- Lee, J. W., Kang, K. S., Lee, S. H., Kim, J. Y., Lee, B. K., & Cho, D. W. (2011). Bone regeneration using a microstereolithography-produced customized poly(propylene fumarate)/diethyl fumarate photopolymer 3D scaffold incorporating BMP-2 loaded PLGA microspheres. *Biomaterials*, 32(3), 744–752. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.09.035>
- Lee, K. W., Wang, S., Fox, B. C., Ritman, E. L., Yaszemski, M. J., & Lu, L. (2007). Poly(propylene fumarate) bone tissue engineering scaffold fabrication using stereolithography: Effects of resin formulations and laser parameters. *Biomacromolecules*, 8(4), 1077–1084. <https://doi.org/10.1021/bm060834v>
- Lee, K. W., Wang, S., Yaszemski, M. J., & Lu, L. (2008). Physical properties and cellular responses to crosslinkable poly(propylene fumarate)/hydroxyapatite nanocomposites. *Biomaterials*, 29(19), 2839–2848. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.03.030>
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science (Oxford)*,

37(1), 106–126. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>

- Liu, X., Lee, A., Li, M., Waletzki, B. E., Yaszemski, J., & Lu, L. (2015). Novel biodegradable poly(propylene fumarate)-co-poly(L-lactic acid) porous scaffolds fabricated by phase separation for tissue engineering applications. *RSC Advances*, 5, 21301–21309. <https://doi.org/10.1039/C5RA00508F>
- Loganathan, S. (2017). *Thermogravimetric Analysis for Characterization of Nanomaterials. Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00004-9>
- Lorbeer, A. J., Charoensiddhi, S., Lahnstein, J., Lars, C., Franco, C. M. M., Bulone, V., & Zhang, W. (2017). Sequential extraction and characterization of fucoidans and alginates from *Ecklonia radiata*, *Macrocystis pyrifera*, *Durvillaea potatorum*, and *Seirococcus axillaris*. *Journal of Applied Phycology*, 29(3), 1515–1526. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0990-5>
- Lu, Y., Mantha, S. N., Crowder, D. C., Chinchilla, S., Shah, K. N., Yun, Y. H., ... Choi, J. W. (2015). Microstereolithography and characterization of poly(propylene fumarate)-based drug-loaded microneedle arrays. *Biofabrication*, 7(4). <https://doi.org/10.1088/1758-5090/7/4/045001>
- Luo, Y., Dolder, C. K., Walker, J. M., Mishra, R., Dean, D., & Becker, M. L. (2016). Synthesis and Biological Evaluation of Well-Defined Poly(propylene fumarate) Oligomers and Their Use in 3D Printed Scaffolds. *Biomacromolecules*, 17(2), 690–697. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b00014>
- Ma, X., Li, R., Zhao, X., Ji, Q., Xing, Y., Sunarso, J., & Xia, Y. (2017). Biopolymer composite fibres composed of calcium alginate reinforced with nanocrystalline cellulose. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 96, 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2017.02.021>
- Mahgerefteh, H., Khoory, H., & Khodaverdian, A. (1994). A novel thermogravimetric analyser, 231, 175–185.
- Maity, S., Mukhopadhyay, P., Kundu, P. P., & Chakraborti, A. S. (2017). Alginate coated chitosan core-shell nanoparticles for efficient oral delivery of naringenin in diabetic animals—An in vitro and in vivo approach. *Carbohydrate Polymers*, 170, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.066>
- Mchugh, D. J. (1987). *Production and utilization of products from commercial seaweeds*.
- McKeen, L. (2018). Introduction to Plastics and Polymers. In *The Effect of Sterilization Methods on Plastics and Elastomers (Fourth Edition)* (Fourth edi, pp. 41–61). William Andrew. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814511-1.00002-0>
- McKeen, L. W. (2014). *The effect of temperature and other factors on plastics and elastomers* (Third edit).
- Mclachlan, J. (1985). Macroalgae (seaweeds): industrial resources and their utilization. *Plant and Soil*, 157(23603), 137–157.
- Mikkelsen, A., & Elgsaeter, A. (1995). Density distribution of calcium-induced alginate gels. A numerical study. *Biopolymers*, 36(1), 17–41. <https://doi.org/10.1002/bip.360360104>

- Minghou, J., Yujun, W., Zuhong, X., & Yucai, G. (1984). Studies on the M : G ratios in alginate, 554–556.
- Mirtič, J., Ilaš, J., & Kristl, J. (2017). Influence of different classes of crosslinkers on alginate polyelectrolyte nanoparticle formation, thermodynamics and characteristics. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.040>
- Mishra, R. K., Cherusseri, J., Bishnoi, A., & Thomas, S. (2017). *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00013-3>
- Mitha, M. K., & Jayabalan, M. (2009). Studies on biodegradable and crosslinkable poly(castor oil fumarate)/poly(propylene fumarate) composite adhesive as a potential injectable biomaterial. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(SUPPL. 1), 203–211. <https://doi.org/10.1007/s10856-008-3518-y>
- Mitra, A. K., Cholkar, K., & Mandal, A. (2017). *Emerging Nanotechnologies For Diagnostics, Drug Delivery, And Medical Devices*. Elsevier.
- Mohamed, M. A., Jaafar, J., Ismail, A. F., Othman, M. H. D., & Rahman, M. A. (2017). *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. Membrane Characterization*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00001-2>
- Montazer, M., & Harifi, T. (2018). Nanocrosslinking. *Nanofinishing of Textil Materials*, 109–125. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101214-7.00008-X>
- Mostafa, N. A., & Tayeb, A. M. (2015). Production of biodegradable plastic from agricultural wastes. *ARABIAN JOURNAL OF CHEMISTRY*, 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.04.008>
- Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2007). Biodegradable polymers as biomaterials, 32, 762–798. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017>
- Narayanan, K. B., & Han, S. S. (2017). Dual-crosslinked poly(vinyl alcohol)/sodium alginate/silver nanocomposite beads – A promising antimicrobial material. *Food Chemistry*, 234, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.173>
- Naveed, N., Aman, A., Silipo, A., Ali, S., Qader, U., & Molinaro, A. (2014). Structural analysis and characterization of dextran produced by wild and mutant strains of *Leuconostoc mesenteroides*. *Carbohydrate Polymers*, 99, 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.004>
- Niaounakis, M. (2015). *Medical, Dental, and Pharmaceutical Applications. Biopolymers: Applications and Trends*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35399-1.00007-7>
- Nooeaid, P., Salih, V., Beier, J. P., & Boccaccini, A. R. (2012). Osteochondral tissue engineering : scaffolds , stem cells and applications Scaffolds for osteochondral tissue engineering, 16(10), 2247–2270. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01571.x>
- Ouellette, R. J., & Rawn, J. D. (2018). Synthetic polymers. In *Organic Chemistry* (Second, pp. 861–887). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812838-1.50027-X>

- Pappas, S. P., & Dakota, N. (1989). Photocrosslinking. *Comprehensive Polymer Science and Supplements*, 6, 135–148. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-096701-1.00185-3>
- Paredes, A. M. (2014). *Scanning Electron Microscopy. Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edi, Vol. 2). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00215-9>
- Paredes Juárez, G. A., Spasojevic, M., Faas, M. M., & de Vos, P. (2014). Immunological and Technical Considerations in Application of Alginate-Based Microencapsulation Systems. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2(August), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2014.00026>
- Patel, A., Cholkar, K., & Mitra, A. K. (2014). Recent developments in protein and peptide parenteral delivery approaches. *Therapeutic Delivery*, 5(3), 337–365. <https://doi.org/10.4155/tde.14.5>
- Pawar, S. N., & Edgar, K. J. (2012). Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials*, 33(11), 3279–3305. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.007>
- Peak, D. (2005). Fourier transform infrared spectroscopy. In *Encyclopedia of soils in the environment* (pp. 80–85). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00174-0>
- Penman, A., & Sanderson, G. R. (1972). A method for the determination of uronic acid sequence in alginates, 25, 273–282.
- Pertici, G. (2016). *Introduction to bioresorbable polymers for biomedical applications. Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications: From Fundamentals to Translational Medicine*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100262-9.00001-X>
- Peter, S. J., Kim, P., Yasko, A. W., Yaszemski, M. J., & Mikos, A. G. (1999). Crosslinking characteristics of an injectable poly(propylene fumarate)/ $\beta$ -tricalcium phosphate paste and mechanical properties of the crosslinked composite for use as a biodegradable bone cement. *Journal of Biomedical Materials Research*, 44(3), 314–321. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(19990305\)44:3<314::AID-JBM10>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(19990305)44:3<314::AID-JBM10>3.0.CO;2-W)
- Petit, S., & Madejova, J. (2013). *Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Handbook of Clay Science* (2nd ed., Vol. 5). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-098259-5.00009-3>
- Prabha, G., & Raj, V. (2017). Sodium alginate–polyvinyl alcohol–bovin serum albumin coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as anticancer drug delivery vehicle: Doxorubicin loading and in vitro release study and cytotoxicity to HepG2 and L02 cells. *Materials Science and Engineering C*, 79, 410–422. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.075>
- Puguan, J. M. C., Yu, X., & Kim, H. (2015). Diffusion characteristics of different molecular weight solutes in Ca-alginate gel beads. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 469, 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.01.027>
- Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A. M., & Chiellini, E. (2010). Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Progress in Polymer Science*, 403–440. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.01.006>
- Purcell, E. M., Torrey, H. C., & Pound, R. V. (1946). Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid.

*Physical Review*, 69(1–2), 37–38. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.69.37>

- Quitral, V., Morales, C., Sepúlveda, M., & Schwartz, M. (2012, December). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional, 196–202. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182012000400014>
- Rajesh, R., Ravichandran, Y. D., & Kuo, Y. (2017). *Alginate in Bone Tissue Engineering. Seaweed Polysaccharides*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809816-5/00019-0>
- Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E., & Leong, K. W. (2001). Biomedical applications of polymer-composite materials : a review, 61.
- Ratheesh, G., Venugopal, J. R., Chinappan, A., Ezhilarasu, H., Sadiq, A., & Ramakrishna, S. (2017). 3D Fabrication of Polymeric Scaffolds for Regenerative Therapy. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 3(7), 1175–1194. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.6b00370>
- Ratner, B. D., & Bryant, S. J. (2004). Biomaterials: Where We Have Been and Where We Are Going. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 6(1), 41–75. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027>
- Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J., & Boccaccini, A. R. (2006). Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(18), 3413–3431. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.039>
- Rocha-Santos, T., & Duarte, A. C. (2015). A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 65, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.011>
- Roether, J. A., Boccaccini, A. R., Hench, L. L., Maquet, V., & Gautier, S. (2002). Development and in vitro characterisation of novel bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams and Bioglass s for tissue engineering applications, 23, 3871–3878.
- Rosen, M. J., & Kunjappu, J. T. (2012). *Surfactant and Interfacial Phenomena*. (I. John Wiley & Sons, Ed.) (Fourth edi).
- Rostami, S., & Aqida, S. N. (2018). Polymer Blends : Structure and Properties. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*, (February). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.11301-3>
- S. Pappas, P. (1989). Photoinitiated Polymerization. *Comprehensive Polymer Science and Supplements*, 4, 337–355. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-096701-1.00135-X>
- Salarian, M., Xu, W. Z., Biesinger, M. C., & Charpentier, P. A. (2014). Synthesis and characterization of novel TiO<sub>2</sub>-poly(propylene fumarate) nanocomposites for bone cementation. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(32), 5145–5156. <https://doi.org/10.1039/C4TB00715H>
- Sartori, C., Finch, D. S., Ralph, B., & Gilding, K. (1997). Determination of the cation content of alginate thin films by FTi.r. spectroscopy. *Polymer*, 38(1), 43–51. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(96\)00458-2](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(96)00458-2)

- Sathishkumar, R., Arthanareeswaran, G., Ismail, A. F., Abdullah, M. S., & Cheer, N. B. (2017). *Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy. Membrane Characterization*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00004-8>
- Schneiderman, D. K., & Hillmyer, M. A. (2017). 50th Anniversary Perspective: There Is a Great Future in Sustainable Polymers. *Macromolecules*, *50*(10), 3733–3749. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.7b00293>
- Senni, K., Pereira, J., Gueniche, F., Delbarre-Ladrat, C., Sinquin, C., Ratskol, J., ... Collic-Jouault, S. (2011). Marine polysaccharides: A source of bioactive molecules for cell therapy and tissue engineering. *Marine Drugs*, *9*(9), 1664–1681. <https://doi.org/10.3390/md9091664>
- Shahbazi, S., Jafari, Y., Moztarzadeh, F., & Sadeghi, G. M. M. (2014). Evaluation of effective parameters for the synthesis of poly(propylene fumarate) by response surface methodology. *Journal of Applied Polymer Science*, *131*(20), 1–8. <https://doi.org/10.1002/app.40932>
- Shergill, R., Haberler, M., Vink, C. B., Patten, H. V., & Woodward, J. R. (2009). Evidence for a novel bisacylphosphine oxide photoreaction from TRIR, TREPR and DFT studies, *11*(33). <https://doi.org/10.1039/b904982g>
- Shi, L. (2016). Bioactivities, Isolation and Purification Methods of Polysaccharides from Natural Products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.100>
- Shung, A. K., Timmer, M. D., Jo, S., Engel, P. S., & Mikos, A. G. (2002). Kinetics of poly(propylene fumarate) synthesis by step polymerization of diethyl fumarate and propylene glycol using zinc chloride as a catalyst. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, *13*(1), 95–108. <https://doi.org/10.1163/156856202753525963>
- Singh, P., & Sharma, V. P. (2016). Integrated Plastic Waste Management: Environmental and Improved Health Approaches. *Procedia Environmental Sciences*, *35*, 692–700. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.068>
- Soazo, M., Báez, G., Barboza, A., Busti, P. A., Rubiolo, A., Verdini, R., & Delorenzi, N. J. (2015). *Heat treatment of calcium alginate films obtained by ultrasonic atomizing: Physicochemical characterization*. *Food Hydrocolloids* (Vol. 51). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.04.037>
- Stevens, M. M., Qanadilo, H. F., Langer, R., & Shastri, V. P. (2004). A rapid-curing alginate gel system: Utility in periosteum-derived cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, *25*(5), 887–894. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.07.002>
- Subramanian, A., & Rodriguez-Saona, L. (2009). *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*.
- Suggs, L. J., Moore, S. A., & Mikos, A. G. (2007). Synthetic Biodegradable Polymers for Medical Applications. *Physical Properties of Polymers Handbook*, 939–950. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-69002-5\\_55](https://doi.org/10.1007/978-0-387-69002-5_55)
- Suggs, L. J., West, J. L., & Mikos, A. G. (1999). Platelet adhesion on a bioresorbable poly ( propylene fumarate-co-ethylene glycol ) copolymer, *20*, 683–690.
- Sun, J., & Tan, H. (2013). Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials*, *6*(4), 1285–1309.



<https://doi.org/10.3390/ma6041285>

- Tan, H., Gong, Y., Lao, L., Mao, Z., & Gao, C. (2007). Gelatin/chitosan/hyaluronan ternary complex scaffold containing basic fibroblast growth factor for cartilage tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(10), 1961–1968. <https://doi.org/10.1007/s10856-007-3095-5>
- Timmer, M. D., Ambrose, C. G., & Mikos, A. G. (2003). In vitro degradation of polymeric networks of poly(propylene fumarate) and the crosslinking macromer poly(propylene fumarate)-diacrylate. *Biomaterials*, 24(4), 571–577. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00368-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00368-X)
- Timmer, M. D., Shin, H., Horch, R. A., Ambrose, C. G., & Mikos, A. G. (2003). In vitro cytotoxicity of injectable and biodegradable poly(propylene fumarate)-based networks: Unreacted macromers, cross-linked networks, and degradation products. *Biomacromolecules*, 4(4), 1026–1033. <https://doi.org/10.1021/bm0300150>
- Tolinski, M. (2009). Crosslinking. In *Additives for Polyolefins* (pp. 215–220). <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-2051-1.00015-7>
- Trachtenberg, J. E., Placone, J. K., Smith, B. T., Fisher, J. P., & Mikos, A. G. (2017). Extrusion-based 3D printing of poly(propylene fumarate) scaffolds with hydroxyapatite gradients. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 28(6), 532–554. <https://doi.org/10.1080/09205063.2017.1286184>
- Venkatesan, J., Anil, S., & Kim, S. (2017). *Introduction to Seaweed Polysaccharides*. *Seaweed Polysaccharides*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809816-5/00001-3>
- Vernon-Parry, K. D. (2000). Scanning Electron Microscopy: an introduction. *III-Vs Review*, 13(4), 40–44. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0961-1290\(00\)80006-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0961-1290(00)80006-X)
- Wagner, M. (2017). Thermogravimetric Analysis, 162–186. <https://doi.org/10.3139/9781569906446.010>
- Wang, L., & Guo, D.-G. (2017). Preparation and Performance of Poly(butyl fumarate)-Based Material for Potential Application in LED Encapsulation. *Materials*, 10(2), 149. <https://doi.org/10.3390/ma10020149>
- Wang, S., Lu, L., & Yaszemski, M. J. (2006). Bone-tissue-engineering material poly(propylene fumarate): Correlation between molecular weight, chain dimension, and physical properties. *Biomacromolecules*, 7(6), 1976–1982. <https://doi.org/10.1021/bm060096a>
- Xanthos, D., & Walker, T. R. (2017). International policies to reduce plastic marine pollution from single-use plastics (plastic bags and microbeads): A review. *Marine Pollution Bulletin*, 118(1–2), 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.02.048>
- Xu, W., Ling, P., & Zhang, T. (2013). Polymeric Micelles , a Promising Drug Delivery System to Enhance Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs, 2013(1).
- Yang, J., Chen, S., & Fang, Y. (2009). Viscosity study of interactions between sodium alginate and CTAB in dilute solutions at different pH values. *Carbohydrate Polymers*, 75(2), 333–337. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.07.037>

Yaszemski, M. J., Payne, R. G., & Mikos, A. G. (1998). 5733951. United States.

Zeugolis, D. I., Paul, G. R., & Attenburrow, G. (2008). Cross-linking of extruded collagen fibers — A biomimetic three-dimensional scaffold for tissue engineering applications. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32031>

Zhang, Y., Ouyang, H., Lim, C. T., Ramakrishna, S., & Huang, Z. (2004). Electrospinning of Gelatin Fibers and Gelatin / PCL Composite Fibrous Scaffolds, 156–165. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30128>

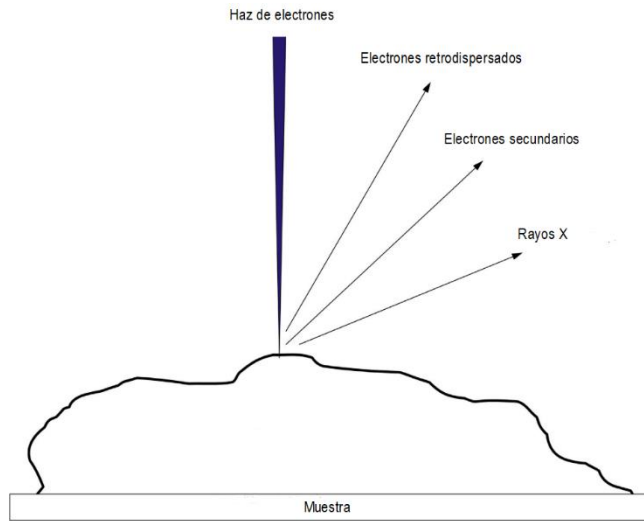
# Anexo A

## 1. Técnicas de caracterización

### 1.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

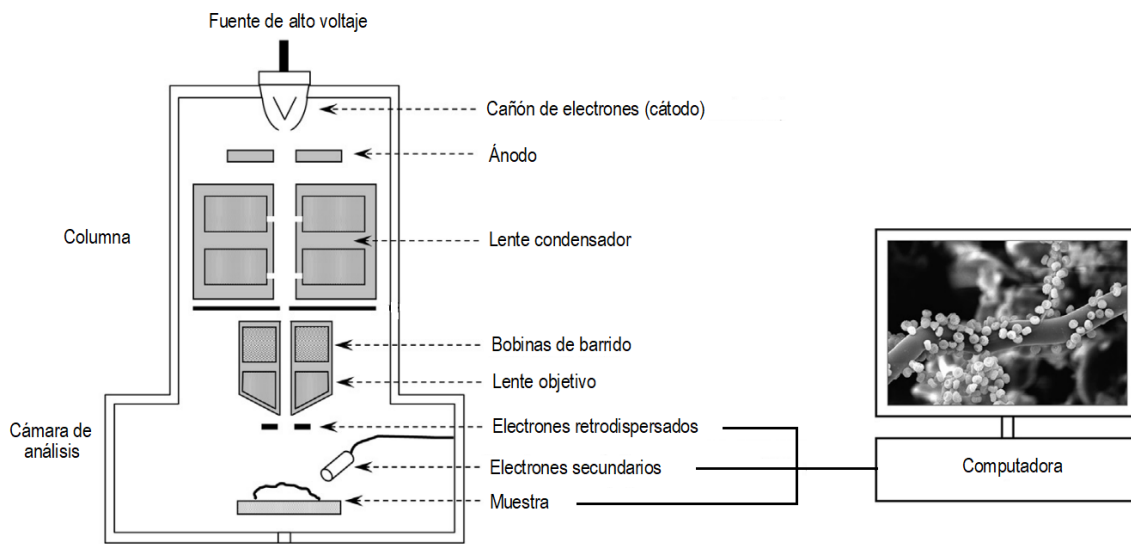
La microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) es una técnica que permite la observación y la caracterización de muestras heterogéneas de tipo orgánicas e inorgánicas en una escala de nanómetros o micrómetros. La principal característica de este tipo de microscopía es la formación de imágenes tridimensionales de la superficie de un amplio número materiales, con un intervalo de ampliaciones de 10-10,000x, siendo una herramienta superior a los microscopios ópticos que solo pueden ofrecer imágenes amplificadas cercanas a los 1,000x. El haz de electrones acelerados en esta técnica emplea energías en el intervalo de 2 y 1,000 keV que pueden ser producidas por dos tipos de fuentes: filamento de emisión termoiónica que pueden ser de tungsteno o lantano ( $\text{LaB}_6$ ) y filamentos de emisión de campo tanto térmicas como frías. Las señales generadas por la incidencia del haz en la muestra son los electrones secundarios, electrones retrodispersados, rayos X y fotones (**figura 35**); las señales obtenidas son procesadas por medio de detectores para obtener información de la topología, cristalografía, composición química y propiedades eléctricas (Goldstein et al., 2003).

Las propiedades físicas y químicas de las muestras que se analizan por SEM pueden interaccionar de maneras distintas. Si la muestra es delgada, los electrones son transmitidos a través de ella sin ser absorbidos, lo que generalmente es útil para la formación de imágenes en el microscopio electrónico de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés). Por el contrario, cuando la muestra es lo suficientemente gruesa, los electrones no son transmitidos, por lo que las partículas como electrones, rayos X y fotones que emergen de la superficie proporcionan información para formar imágenes. Otra propiedad importante para la caracterización de las muestras es que éstas sean conductoras, de lo contrario se realiza un tratamiento adicional en el que se deposita carbón o algún metal como oro o plata sobre la superficie para promover la conducción de electrones (Vernon-Parry, 2000).



**Figura 35.** Tipos de radiación emitidas por la muestra como resultado de la colisión con el haz de electrones. Tomado y adaptado de Paredes, 2014.

Los equipos SEM se componen principalmente de un cañón o haz emisor de electrones, ánodo, lente magnética, lente condensadora y lente objetivo, bobinas de barrido y detectores de electrones secundarios, retrodispersados y rayos X (**figura 36**). El vacío en la cámara de análisis es fundamental para remover partículas que se interponen y provocan colisiones con los electrones emitidos por la fuente, de esta manera se preserva y se realizan las caracterizaciones de forma correcta. La acumulación de carga en la muestra es disipada por una conexión a tierra en el portamuestras (Paredes, 2014).



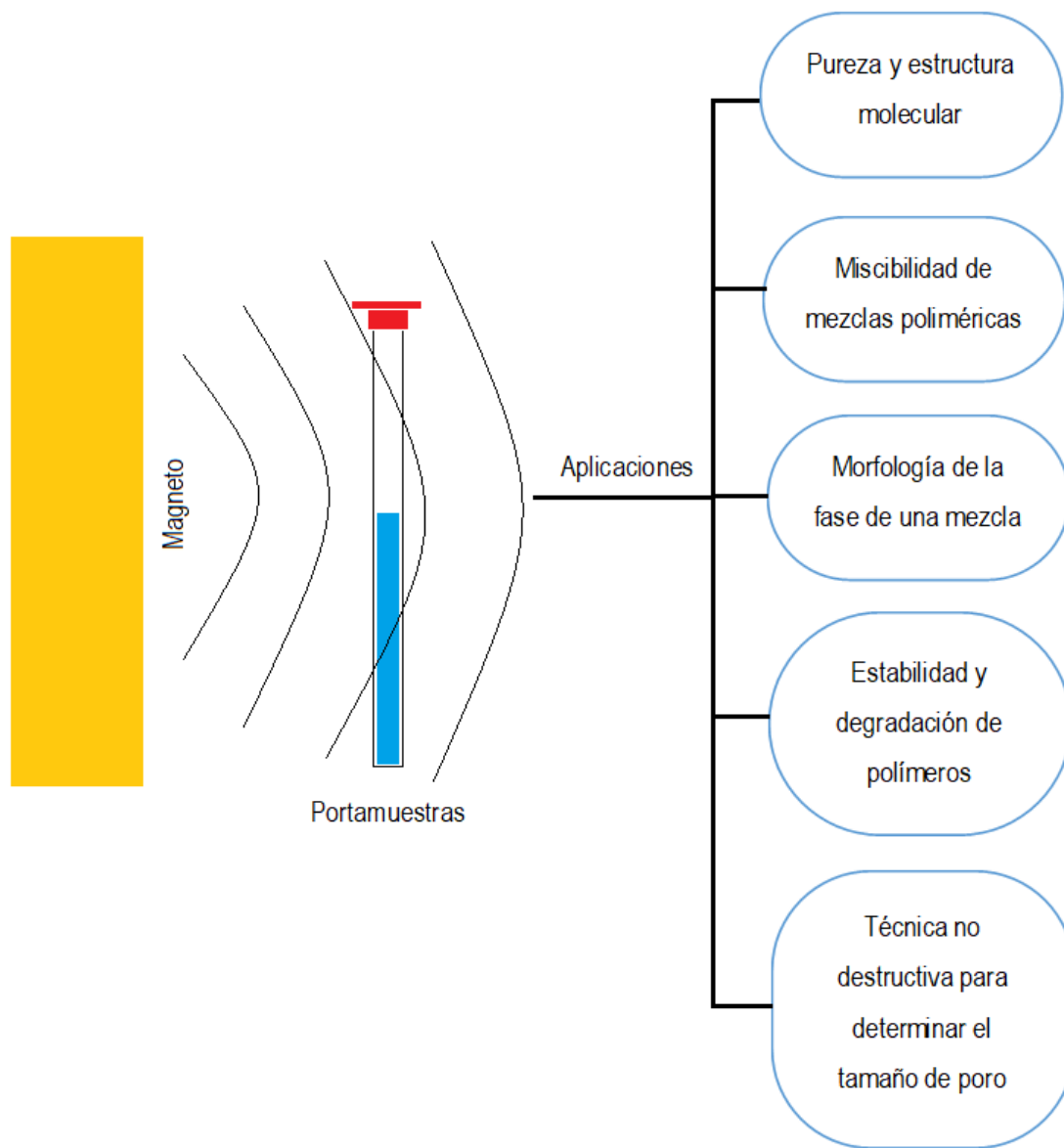
**Figura 36.** Esquema representativo de un SEM. Tomado y adaptado de Paredes, 2014.

La aplicación de la técnica SEM es amplia, básicamente se puede caracterizar cualquier material que cumpla con las características anteriormente descritas sin importar el área de estudio. Lo que se busca en las muestras es un análisis cuantitativo de la topografía superficial, como medir tamaños de micro y nano estructuras y su distribución, conocer la morfología 3D, densidades, partículas (tamaño, número y forma), examinar porosidad (tamaño y distribución), grietas y cuantificación de sitios de falla tales como superficies de fractura y superficies de desgaste (Inkson, 2016).

## 1.2. Resonancia magnética nuclear (NMR)

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR, por sus siglas en inglés) es una herramienta de caracterización ampliamente utilizada para investigación en las áreas de ciencia e ingeniería de materiales para examinar la estructura electrónica de moléculas, las propiedades químicas de diversos compuestos, la miscibilidad y morfología de fases en mezclas (**figura 37**). En polímeros es una herramienta útil para determinar su pureza, estabilidad y degradación. También es utilizada para determinar la distribución de tamaño de poro en una matriz polimérica (Mishra et al., 2017; Sathishkumar et al., 2017).

La espectroscopia NMR fue desarrollada por los físicos F. Bloch de la universidad de Stanford y Purcell de Harvard en 1946 (Karunakaran, Rajkumar, & Balamurugan, 2018). Lo que ellos observaron mientras se exponía una muestra a un campo magnético externo fue que los núcleos atómicos se podían igualar, lo que implicaba que existía una absorción de energía por parte de los núcleos atómicos. La causa de lo anterior mencionado es el momento angular intrínseco y el momento magnético acoplado de los núcleos atómicos, lo que básicamente se define como espín. Cada núcleo atómico posee un giro característico o espín, por ejemplo, los núcleos de  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{29}\text{Si}$  y  $^{19}\text{F}$ , poseen un espín de  $\frac{1}{2}$ , otros casos como el de  $^{16}\text{O}$ ,  $^{28}\text{Si}$  y  $^{12}\text{C}$  no tiene giro. Mediante el espín es que los núcleos generan un campo magnético característico que es detectado por la espectroscopia RMN, por lo que si un núcleo no lo presenta no es detectado. Las señales proporcionadas por la espectroscopia NMR son el resultado de las interacciones núcleo-electrón y núcleo-núcleo, siendo las NMR de protón ( $^1\text{H}$ ) y carbono ( $^{13}\text{C}$ ) las más utilizadas para predecir la estructura de polímeros (Sathishkumar et al., 2017).



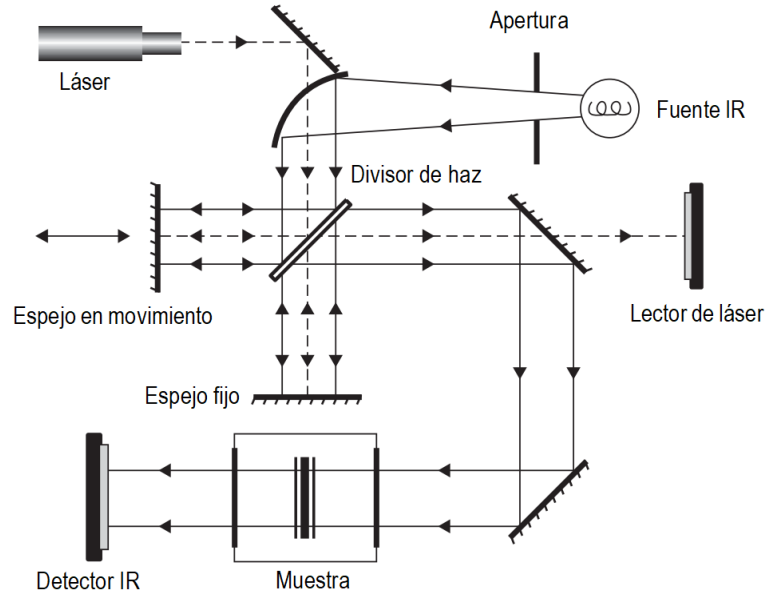
**Figura 37.** Esquema representativo de las principales aplicaciones de la espectroscopia NMR. Tomado y modificado de Sathishkumar et al., 2017.

### 1.3. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier (FT-IR, por sus siglas en inglés), es una técnica en la que se hace incidir radiación infrarroja (IR) a una muestra; una parte es absorbida y otra transmitida generando una huella molecular o espectro de absorción correspondiente a las frecuencias de vibración entre los enlaces atómicos que componen al material. Debido a que cada compuesto es característico por tener una estructura molecular única, no es posible obtener dos espectros IR iguales, haciendo de esta técnica una herramienta de análisis cualitativo y cuantitativo fiable (Dutta, 2017).

La región IR en el espectro electromagnético se puede dividir en tres segmentos, IR cercano ( $11,000-4,000\text{ cm}^{-1}$ ), medio ( $4,000-400\text{ cm}^{-1}$ ) y lejano ( $400-10\text{ cm}^{-1}$ ). Los espectros IR obtenidos por medio de los espectrofotómetros FT-IR se encuentran en la región media entre los  $4,000$  y  $400\text{ cm}^{-1}$ . A su vez, la región media del IR puede dividirse en cuatro segmentos según el tipo de enlace: simples detectables en el intervalo  $2,500-4,000\text{ cm}^{-1}$ , triples en  $2,000-2,500\text{ cm}^{-1}$ , dobles en el intervalo  $1,500-2,000\text{ cm}^{-1}$  y el más representativo de la muestra denominada como región de huella dactilar en el intervalo de  $650-1,500\text{ cm}^{-1}$  (Mohamed et al., 2017).

Los espectrofotómetros FT-IR se componen de una fuente de infrarrojo, un interferómetro, un detector, un láser y el software de computadora que procesa las señales. El haz de radiación IR emitido por la fuente es introducida al interferómetro donde se genera un patrón característico. Posteriormente se hace incidir el haz en la muestra, donde parte de la radiación es transmitida, reflejada o absorbida. La radiación pasa finalmente al detector que monitorea el intervalo completo de radiación IR para después convertirla en un espectro de absorción mediante la técnica de transformadas de Fourier (**figura 38**). La preparación de muestras varía según la técnica empleada, dentro de las más comunes se encuentra el prensado de pastillas de bromuro de potasio (KBr) característico por transmitir la radiación IR sin interferir en la medición. La concentración de muestra en KBr es aproximadamente del 1% y se somete a presión para formar la pastilla con un tratamiento térmico para eliminar la humedad (Petit & Madejova, 2013).



**Figura 38.** Esquema representativo de un espectrofotómetro FT-IR. Tomado y modificado de Subramanian & Rodriguez-Saona, 2009.

La espectroscopia FT-IR se posiciona sobre otros métodos de análisis como los dispersivos o de filtrado por las siguientes características (Dutta, 2017):

- Es una técnica no destructiva
- Proporciona un método de medición preciso que no requiere calibración externa.
- Puede incrementar la velocidad de medición de hasta un escaneo por segundo.
- Puede incrementar la sensibilidad de medición.
- Posee mayor rendimiento óptico.
- Los equipos de medición son mecánicamente simples con una sola parte móvil.

Para la caracterización de muestras por medio del espectrofotómetro FITR se utilizó un equipo con la herramienta de reflexión total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés) que en conjunto se define como ATR-FT-IR. La técnica utiliza un cristal de alto índice de refracción (típicamente de diamante, germanio o seleniuro de zinc) al cual se le hace incidir el haz infrarrojo con ángulos de 30, 45 o 60° creando una onda evanescente que se extiende por el cristal como el mostrado en la **figura 39** (Peak, 2005).



Al entrar en contacto con la muestra, ésta absorberá la radiación atenuando la energía de la onda. Posteriormente el haz atenuado se reflejará en el cristal ATR hasta salir por el extremo opuesto a la fuente en donde se encuentra el detector. Finalmente, el haz atenuado se registra y procesa para después generar el espectro IR (Capuano & Ruth, 2016; Mohamed et al., 2017; Subramanian & Rodriguez-Saona, 2009).

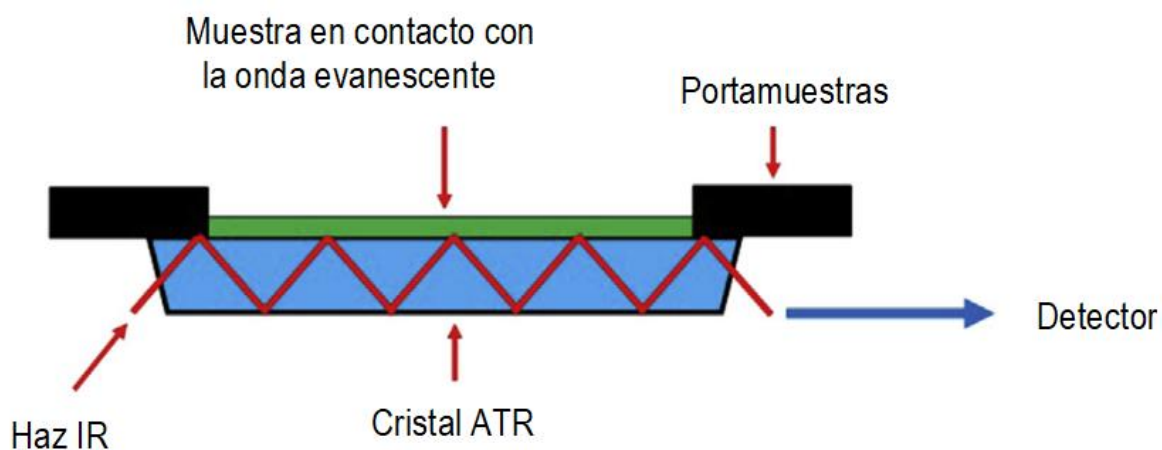


Figura 39. Esquema representativo de un ATR y su modo de operación. Tomado y modificado de Mohamed et al., 2017.

Una de las principales ventajas de utilizar un ATR-FT-IR es que las muestras se colocan directamente en el portamuestras y se encuentran en contacto con el cristal ATR, lo que convierte en esta técnica una herramienta versátil y simple de utilizar.

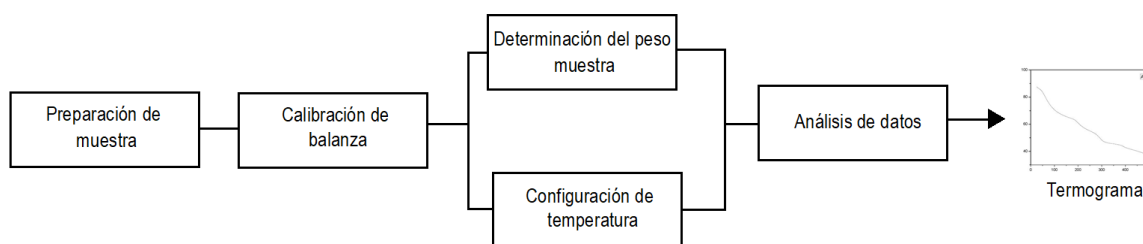
#### 1.4. Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés) es una técnica experimental en la que se registra el cambio de peso de una muestra en función de la temperatura durante un periodo de tiempo establecido en una atmósfera controlada. Los resultados del análisis se muestran mediante una gráfica de peso (%) en función de la temperatura (°C) o en función del tiempo (s) (Mahgerefteh, Khoory, & Khodavardian, 1994; Wagner, 2017).

El decremento o incremento de peso en el análisis TGA es producida por efecto de los cambios de temperatura o la interacción con los gases de la atmósfera controlada, produciendo las siguientes fenómenos (Loganathan, 2017; Wagner, 2017):

- La evaporación de constituyentes volátiles, deshidratación, desorción y absorción de gases, humedad u otras sustancias volátiles.
- Oxidación de metales en una atmósfera abundante en aire u oxígeno.
- Descomposición térmica en atmósfera inerte mediante la formación de gases. En algunos compuestos orgánicos esto se define como pirólisis.
- Reacciones químicas entre la muestra y la atmósfera, por ejemplo, la condensación, oxidación y reducción.
- El cambio propiedades de algunos materiales como los ferromagnéticos por efecto de la temperatura.

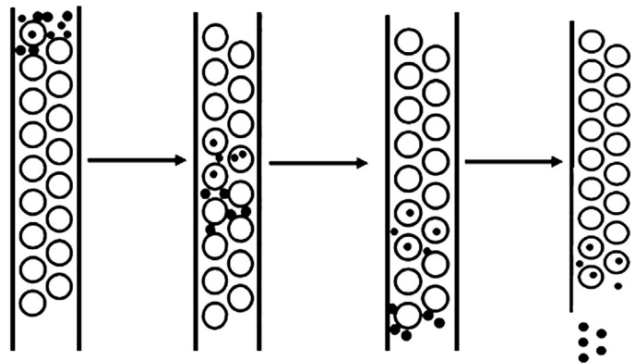
Otros factores que interfieren en el análisis TGA son el volumen y el peso total de la muestra, estructura física, material y forma del portamuestras, los gases de la atmosfera controlada, la presión en la cámara y las rampas de calentamiento o enfriamiento configuradas (Loganathan, 2017). El proceso para el análisis de muestras mediante la técnica TGA se ilustra en la **figura 40**.



**Figura 40.** Proceso general para el análisis de muestras en TGA.

## 1.5. Cromatografía por exclusión de tamaño a alta presión (HPSEC)

La cromatografía por exclusión de tamaño (SEC), o también llamada de permeación en gel es una técnica cromatográfica en columna líquida que clasifica a moléculas en solución de acuerdo a su tamaño, es decir, separa a las moléculas según su tamaño mediante filtración a través de un gel con tamaños de poro específicos. La muestra es introducida en la columna que contiene partículas porosas de estructura rígida (fase estacionaria) mediante un solvente (fase móvil). El flujo de moléculas a través de la columna dependerá del tamaño, de tal forma que las moléculas pequeñas pasarán a mayor velocidad en comparación con las más grandes que tendrán un tiempo de retardo mayor; el tiempo que tarda una muestra en pasar a través de la columna es utilizado para determinar el peso molecular (Kraj, 2004).



**Figura 41.** Ejemplo de un proceso de separación por cromatografía de exclusión por tamaño de polímeros de bajo peso molecular (puntos) y alto peso molecular (círculos) (Giridhar et al., 2017).

Además de cuantificar la distribución de tamaños moleculares en una mezcla, también es utilizado en la separación y purificación de componentes. Está técnica es ampliamente utilizada en áreas como bioquímica, síntesis de polímeros y nanomateriales.

## Anexo B

**Tabla 8.** Asignación de bandas de absorción de IR para alginato de sodio (Sartori et al., 1997).

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Intensidad – forma de pico	Asignación de banda de
3360 – 3380	Muy fuerte – “ancho”	O-H extensión
3250	Fuerte – “hombro”	O-H extensión
2930 – 2932	Débil – “ancho”	C-H extensión
2750	Débil – “hombro”	C-H extensión
1608 – 1611	Muy fuerte – “agudo”	COO- extensión (asimétrico)
1413 – 1414	Media – “agudo”	COO- extensión (asimétrico)
1317	Débil – “ancho”	C-O extensión
1294	Débil – “hombro”	C-O extensión
1176	Débil – “hombro”	C-O extensión C-C extensión C-C-C flexión
1124 – 1126	Media – “agudo”	C-C extensión C-O extensión
1087 – 1088	Media – “agudo”	C-O extensión C-O-C extensión
1059	Media – “hombro”	O-H flexión
1030 – 1035	Muy fuerte – “agudo”	-
997	Media – “hombro”	-
947 – 950	Débil – “agudo”	C-O extensión C-C-H extensión
903	Débil – “agudo”	-
892	Débil – “hombro”	C-C extensión
818	Débil – “ancho”	-
781	Débil – “ancho”	C-O rotación interna C-C-O flexión C-C-H flexión

## Anexo C

**Tabla 9.** Numero de onda para varias bandas en PPF (a). (Shahbazi et al., 2014)

<b>Banda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Asignación</b>
3446	Grupos OH
2960	Frecuencia de estiramiento de CH <sub>2</sub>
1730	Frecuencia de estiramiento del grupo ácido y éster
1643	Insaturación de C=C en unidades de fumarato
1000 – 1300	Vibraciones de estiramiento C-O

**Tabla 10.** Numero de onda para varias bandas en PPF (b). (Salarian et al., 2014)

<b>Banda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Asignación</b>
1713	C=O extensión
1645	C=C extensión
1251	C-O-C extensión asimétrica
1148	C-O-C extensión simétrica