UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES FORMULADOS CON MATERIALES POLIMÉRICOS GELIFICANTES Y AGUA TRATADA CON PLASMA NO-TÉRMICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA:

LAURA PAOLA ALCALÁ CABALLERO

ASESOR ACADÉMICO:

DR. CÉSAR PÉREZ ALONSO

ASESOR EXTERNO:

DR. BENJAMÍN GONZALO RODRÍGUEZ MÉNDEZ

TOLUCA DE LERDO, MÉXICO NOVIEMBRE 2026

ÍNDICE

PÁG.

ÍNDICE DE FIGURAS V
ÍNDICE DE TABLAS IX
RESUMEN 1
INTRODUCCIÓN 2
1. ANTECEDENTES 4
2. FUNDAMENTOS 8
2.1 HIDROGELES 8
2.1.1 Propiedades funcionales 9
2.1.2 Parámetros relevantes del hidrogel 10
2.1.3 Aplicaciones 10
2.2 AGENTES GELIFICANTES 11
2.2.1 Carbopol 13
2.2.2 Alginato de sodio 16
2.2.3 Carboximetilcelulosa 18
2.3 PLASMA ATMOSFÉRICO FRÍO 21
2.3.1 Principios generales 21
2.3.2 Composición reactiva del plasma: RONS 22
2.3.3 Producción de plasma atmosférico frío 24
2.4 DESCARGA DE BARRERA DIELÉCTRICA 26
2.4.1 Principios generales 26
2.4.2 Configuraciones típicas de los reactores DBD 28
2.4.3 Materiales dieléctricos y su influencia en el plasma 29
2.5 LÍQUIDOS ACTIVADOS POR PLASMA 30
2.5.1 Principios generales 30
2.5.2 Agua activada por plasma 31
2.5.3 Composición reactiva: RONS 34
2.5.3.1 Mecanismos de formación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 35
2.5.3.2 Formación de Ozono (O_3) 37

2.6 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO 37
2.6.1 Principios generales **37**
2.6.2 Componentes del sistema y señales de interacción **38**
2.6.3 Preparación de la muestra: Liofilización y recubrimiento **40**
2.6.4 Aplicación en la caracterización de hidrogeles **42**
2.7 DIFRACCIÓN DE RAYOS X 43
2.7.1 Principios fundamentales de la difracción de rayos X **43**
2.7.2 Geometría Bragg-Brentano **45**
2.7.3 Aplicación en la caracterización de hidrogeles **46**
2.7.4 Potencial y desafíos de la técnica en biomateriales **48**
3. JUSTIFICACIÓN **51**
4. HIPÓTESIS **53**
5. OBJETIVOS **55**
5.1 OBJETIVO GENERAL 55
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES 55
6. MATERIALES Y MÉTODOS **57**
6.1 MATERIALES Y REACTIVOS 57
6.2 INSTRUMENTACIÓN Y EQUIPOS DE MEDICIÓN 57
6.3 CONFIGURACIÓN DEL SISTEMA DE DESCARGA DE BARRERA DIELÉCTRICA (DBD) 58
6.4 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL 61
6.4.1 Obtención del agua activada por plasma (PAW) **61**
6.4.2 Protocolo de síntesis de hidrogeles **62**
6.4.3 Caracterización fisicoquímica de las matrices **65**
6.4.4 Optimización del proceso de deshidratación para análisis estructural **66**
6.4.5 Preparación y montaje de especímenes liofilizados **68**
6.5 PROTOCOLOS DE CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y MORFOLÓGICA 70
6.5.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) **71**
6.5.2 Protocolo de adquisición de micrografías (SEM) **75**
6.5.3 Caracterización por Difracción de Rayos X (XRD) **77**
6.5.4 Protocolo de adquisición y parámetros de difracción **78**

6.5.5 Procesamiento y análisis digital de difractogramas 79
6.5.6 Protocolo de análisis comparativo de difractogramas 82
6.6 SÍNTESIS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL 83
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 85
7.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LOS HIDROGELES 85
7.1.1 Análisis del potencial REDOX (ORP) y oxígeno disuelto (DO) 86
7.1.2 Comportamiento del pH y neutralización 86
7.1.3 Conductividad y dinámica iónica 86
7.2 OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS Y ORGANOLÉPTICAS 87
7.2.1 Sistema Carbopol 940 - TEA 87
7.2.2 Sistema carboximetilcelulosa (CMC) y sistema alginato de sodio .. 88
7.3 ANÁLISIS DE MICROESTRUCTURA MEDIANTE SEM 91
7.3.1 Morfología de los precursores poliméricos (polvos) 91
7.3.2 Microestructura de los hidrogeles liofilizados (Xerogeles) 92
7.3.3 Análisis morfométrico y porosidad por tipo de polímero 93
7.4 ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X (XRD) 101
7.4.1 Caracterización del grado de cristalinidad 103
7.4.2 Efecto del solvente (DW vs. PAW) en la estructura molecular 104
7.4.3 Discusión de los resultados de XRD 104
7.5 DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS 104
7.6 LIMITACIONES DEL ESTUDIO 109
8. CONCLUSIONES 112
8.1 PERSPECTIVAS FINALES Y VALOR CIENTÍFICO DE LA INVESTIGACIÓN 113
ANEXOS 114
REFERENCIAS 123

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁG.

Figura 1 (a) Lado izquierdo con las unidades que conforman al hidrogel y (b) Lado derecho con la estructura tridimensional del hidrogel. Fuente: Biogenera AC, 2020 [15]. 8
Figura 2 Estructura química general del polímero de carbopol. Elaboración propia. 13
Figura 3 Estructura química de la trietanolamina (TEA). Elaboración propia. 15
Figura 4 Estructura química general del polímero de alginato de sodio, que se compone de bloques consecutivos de monómeros de ácido α-L-gulurónico (GGGGGG) y β-D-manurónico (MMMMMM), además de bloques alternados G y M (GMGMGM). Elaboración propia. 17
Figura 5 Estructura química general de la carboximetilcelulosa sódica (CMC sódica), formada por unidades repetitivas de glucosa unidas por enlaces β(1→4) glucosídicos, donde algunos grupos hidroxilo (–OH) han sido sustituidos por grupos carboximetilo sódicos ($–CH_2–COO^-\ Na^+$). Elaboración propia. 19
Figura 6 Plasma atmosférico frío producido por: (a) Chorros de plasma y (b) Descarga de Barrera Dieléctrica. Imagen extraída del artículo de Al-Okla et al. 2020 [57]. 25
Figura 7 Configuraciones típicas de electrodos en reactores de DBD. Elaboración propia adaptada del artículo de Li et al. 2019 [75]. 28
Figura 8 Representación gráfica del proceso de tratamiento con plasma del agua. No se consideran especies RNS debido al uso de O_2 como gas de alimentación. Elaboración propia adaptada del artículo de Liang et al. 2024 [10]. 33
Figura 9 Esquema simplificado de un microscopio electrónico de barrido. Elaboración propia. 38
Figura 10 Esquema del SEM, mostrando la generación, enfoque y barrido del haz de electrones, así como la detección de señales para la formación de la imagen. Fuente: Metalinspec, s.f. [95]. 39

Figura 11 Morfología característica de un hidrogel polimérico tras el proceso de liofilización. Imagen extraída del artículo de Urbina de Navarro et al. 2016 [11]. .. 41
Figura 12 Esquema representativo del funcionamiento de la técnica de difracción de rayos X. Elaboración mediante el modelo de IA Gemini (Google), basada en instrucciones del autor. 44
Figura 13 Geometría Bragg-Brentano. Imagen extraída del artículo de Tyc (2025) [116]. 45
Figura 14 Gráfico de XRD de polímeros P4VP, CMC e hidrogel de CMC/P4VP/urea a un ángulo de 2θ. Imagen extraída del artículo de Mohamed et al. 2022 [14]. 47
Figura 15 Gráfico de XRD de (A) Fármaco de diclofenaco sódico, (B) Car934-g-poli (ácido acrílico) sin carga del fármaco y (C) Car934-g-poli (ácido acrílico) cargado con el fármaco. Imagen extraída del artículo de Suhail et al. 2020 [118]. 47
Figura 16 Sistema de Descarga de Barrera Dieléctrica simplificado. 59
Figura 17 Sistema de DBD para la generación de PAW. 61
Figura 18 Diagrama de flujo de proceso de la obtención de PAW. 62
Figura 19 Diagrama de flujo de la preparación de hidrogeles. 64
Figura 20 Multiparámetro Hanna con sus respectivos electrodos. 65
Figura 21 Diagrama de flujo de la medición de parámetros del hidrogel. 66
Figura 22 Equipo liofilizador Heto Drywinner. a) Bomba de vacío y liofilizadora apagada con válvulas cerradas y b) Liofilizadora encendida, con válvulas abiertas y con viales montados. 67
Figura 23 (a) Inicio del burbujeo en el hidrogel liofilizado, (b) hidrogel absorbido por el vacío, (c) inicio de congelamiento del hidrogel y (d) hidrogel completamente congelado. 68
Figura 24 (a) Desecador y (b), (c) desecador con muestras liofilizadas. 69
Figura 25 Diagrama de flujo de proceso de la liofilización de los hidrogeles. 70
Figura 26 Muestras liofilizadas montadas para el análisis por SEM de: (a) CMC, (b) alginato de sodio y (c) carbopol. 71
Figura 27 Equipo de sputtering Denton Vacuum Desk II. 72
Figura 28 Diagrama de flujo de proceso de sputtering. 73
Figura 29 Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900. 74

Figura 30 Cámara de vacío del equipo JEOL JSM-5900. 74
Figura 31 (a) Portamuestras para cámara de vacío y (b) portamuestras pequeños montados en el portamuestras para la cámara de vacío. 75
Figura 32 Diagrama de flujo de proceso del análisis por SEM. 76
Figura 33 Difractómetro Bruker D8 Discover. 77
Figura 34 (a) Portamuestras para difractómetro y (b) muestras de hidrogeles de alginato de sodio con agua destilada y agua tratada con plasma, carbopol con agua destilada y agua tratada con plasma y carboximetilcelulosa con agua destilada y agua tratada con plasma; liofilizados. 78
Figura 35 Diagrama de flujo de proceso para análisis en el difractómetro. 79
Figura 36 Software utilizado para el procesamiento de información. 80
Figura 37 Tratamiento de datos en el software. Identificación de fases cristalinas mediante comparación con base de datos. 81
Figura 38 Tratamiento de datos en el software. Comparación de las curvas obtenidas en el difractómetro. 82
Figura 39 Formulaciones de carbopol sin neutralización con TEA: (a) con DW, (b) con PAW, y (c) diferencias de pH de las formulaciones sin TEA y con TEA. 87
Figura 40 Hidrogeles de Carbopol 940: (a-b) control DW, (c-d) activados con PAW. Se observa una transparencia cristalina en ambas condiciones. 88
Figura 41 Hidrogeles de CMC: (a-b) control DW y (c-d) activados con PAW. 89
Figura 42 Geles de alginato de sodio: (a-b) control DW, (c-d) activados con PAW. 90
Figura 43 Micrografías SEM de los polímeros en estado de polvo: (a) alginato de sodio, (b) Carbopol 940 y (c) carboximetilcelulosa. 92
Figura 44 Imágenes SEM del hidrogel formulado con alginato de sodio y DW a: (a) 500x, (b) 1000x, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro. 94
Figura 45 Imágenes SEM del hidrogel formulado con alginato de sodio y PAW a: (a) 500x, (b) 1000x, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro. 95

Figura 46 Gráfico de tamaños de poro (µm) medios en el hidrogel de alginato de sodio con DW y con PAW. 95
Figura 47 Imágenes SEM del hidrogel formulado con carbopol neutralizado con TEA y agua destilada a: (a) 500x, (b) 1000x, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro. 97
Figura 48 Imágenes SEM del hidrogel formulado con carbopol neutralizado con TEA y PAW a: (a) 500x, (b) 1000x, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro. 98
Figura 49 Gráfico de tamaños de poro (µm) medios en el hidrogel de carbopol con DW y con PAW 98
Figura 50 Imágenes SEM del hidrogel formulado con carboximetilcelulosa y agua destilada a: (a) 500x, (b) 1000x con medidas de poro, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro. 100
Figura 51 Imágenes SEM del hidrogel formulado con carboximetilcelulosa y agua tratada con plasma a: (a) 500x, (b) 1000x con medidas de poro, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x. 101
Figura 52 Gráfico de tamaños de poro (µm) medios en el hidrogel de CMC con DW y con PAW 101
Figura 53 Curvas XRD de los polímeros de: (a) alginato de sodio, (b) carbopol y (c) CMC sódica, con una comparación entre el polímero en forma de polvo (curvas negras), el hidrogel formulado con DW (curvas rojas) y el hidrogel formulado con PAW (curvas azules). 103

ÍNDICE DE TABLAS

PÁG.

Tabla 1 Propiedades funcionales de los hidrogeles 9
Tabla 2 Propiedades fisicoquímicas del carbopol..... 14
Tabla 3 Propiedades fisicoquímicas del alginato de sodio 18
Tabla 4 Propiedades fisicoquímicas de la carboximetilcelulosa 20
Tabla 5 Parámetros característicos de la DBD..... 27
Tabla 6 Especificaciones técnicas de los componentes del sistema de descarga de barrera dieléctrica (DBD)..... 60
Tabla 7 Composición gravimétrica de las formulaciones de hidrogel. 63
Tabla 8 Parámetros operacionales del sistema de liofilización. 68
Tabla 9 Condiciones de operación de la máquina de sputtering 72
Tabla 10 Condiciones de operación del microscopio SEM..... 74
Tabla 11 Parámetros técnicos y condiciones de operación para el análisis de XRD. 79
Tabla 12 Parámetros fisicoquímicos de las formulaciones de Carbopol 940 (0.7% p/p), CMC (3% p/p) y alginato de sodio (2% p/p) con DW y PAW..... 85
Tabla 13 Distribución del tamaño de poro (µm) en hidrogeles de alginato de sodio a 2000x. 93
Tabla 14 Distribución del tamaño de poro (µm) en hidrogeles de Carbopol 940 a 2000x. 96
Tabla 15 Distribución del tamaño de poro (µm) en hidrogeles de CMC a 2000x. . 99

RESUMEN

Los hidrogeles destacan por su alta capacidad de retención de agua y su versatilidad en los sectores médico, alimentario y ambiental. No obstante, para optimizar su rendimiento funcional, resulta indispensable un análisis estructural exhaustivo. El objetivo en este estudio fue evaluar el efecto del PAW en la microestructura y el ordenamiento estructural de hidrogeles basados en polímeros gelificantes, utilizando Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Difracción de Rayos X (XRD), para establecer cómo influye el solvente activado en la estabilidad de la red polimérica.

Las formulaciones de los hidrogeles evaluados son de alginato de sodio (2 % p/p), carboximetilcelulosa (CMC, 3 % p/p) y Carbopol 940 (0.7 % p/p, neutralizado con TEA). El PAW se generó en un reactor DBD (15 kV, 500 Hz, O_2 0.5 L/min, 3 min) y se comparó con agua destilada (DW).

Los hidrogeles se liofilizaron y se caracterizaron mediante SEM y XRD. Se identificó una reducción del pH en el solvente de 5.43 a 4.9 a causa del tratamiento con plasma. Una vez analizando los resultados de las preparaciones de hidrogeles, fue posible notar que los diferentes polímeros no responden igual al PTW. CMC aumentó su tamaño promedio de poro (5.01 → 8.13 µm), alginato cambió muy poco (6.45 → 6.78 µm) y carbopol disminuyó (11.01 → 8.81 µm). Todas las muestras fueron amorfas por XRD, sin diferencias entre DW y PAW.

Se concluye que el PAW modifica la arquitectura porosa según el polímero sin alterar su carácter amorfo.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la tecnología de plasma no-térmico ha diversificado las opciones terapéuticas en medicina, principalmente por su capacidad para operar de forma eficiente bajo condiciones biológicas estrictas de pH y temperatura. Dentro de esta línea, los líquidos expuestos a descargas de plasma —en particular el agua activada por plasma (PAW)— han cobrado relevancia en sectores como la agricultura, el procesamiento de alimentos, la remediación ambiental y el área clínica. Una de las ventajas operativas del PAW es su viabilidad como vehículo de transferencia: facilita el transporte de especies reactivas hacia tejidos o zonas del cuerpo humano donde el tratamiento directo con plasma frío resulta técnicamente inviable.

Por otra parte, la evolución de los biomateriales ha sido clave para la medicina contemporánea. Estos se definen como sustancias o sistemas compuestos diseñados para ejercer funciones biológicas específicas en un organismo sin provocar respuestas adversas en el huésped, siendo capaces de promover la reparación o sustitución de estructuras tisulares dañadas [1]. Entre las diferentes plataformas disponibles, los hidrogeles sobresalen como uno de los sistemas más versátiles en el ámbito clínico, debido a su notable capacidad para retener fluidos y a su analogía estructural con la matriz extracelular.

Incorporar PAW en la síntesis de hidrogeles poliméricos constituye una estrategia de funcionalización reciente. Al reemplazar el agua destilada tradicional por agua modificada mediante plasma, el objetivo va más allá de mantener la hidrofilicidad del polímero; se busca dotar a la matriz tridimensional de las propiedades antimicrobianas y desinfectantes propias de las especies reactivas estables [2]. Este enfoque sinérgico plantea el desarrollo de materiales compuestos con aplicaciones directas en el tratamiento de heridas crónicas y en la ingeniería de tejidos.



ANTECEDENTES

1. ANTECEDENTES

Un hidrogel se define como una red tridimensional de polímeros insolubles y reticulados, de origen natural o sintético, con una elevada capacidad de hinchamiento que le permite contener aproximadamente un 96% de agua en su estructura [3]. Debido a sus propiedades biológicas y fisicoquímicas, estos materiales tienen un amplio espectro de aplicación en la investigación médica, demostrando un alto potencial en intervenciones terapéuticas orientadas a mejorar la calidad de vida de los pacientes. Sus usos abarcan la ingeniería de tejidos, medicina regenerativa, sistemas de diagnóstico, inmovilización celular y biomolecular, así como el desarrollo de barreras para regular la adhesión biológica [4].

En la actualidad, el interés científico se ha centrado en los denominados "hidrogeles inteligentes", los cuales responden dinámicamente a estímulos ambientales como cambios de temperatura, campos eléctricos y variaciones de pH [5]. Diversas investigaciones proponen la formulación de estos geles utilizando macromoléculas formadas por unidades estructurales repetitivas (monómeros), destacando el uso de alginato de sodio, carbopol y derivados de la celulosa —específicamente la carboximetilcelulosa analizada en este estudio— para obtener biomateriales biocompatibles con alta eficacia en tratamientos clínicos [6-8].

Como antecedente específico, Suzilla *et al*. (2020) [9] demostraron que la optimización de un gel basado en extracto de *Quercus infectoria* con 1% de Carbopol 940 permitía alcanzar parámetros químicos estables y notables propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antibacterianas [9]. Por su parte, la literatura científica reciente resalta que el uso de agua tratada o activada por plasma (PAW, por sus siglas en inglés) en la síntesis de hidrogeles potencia su efectividad contra diversos patógenos, incluyendo bacterias y virus, facilitando tratamientos médicos no convencionales. Por lo tanto, la composición química de

la matriz polimérica condiciona directamente las respuestas bioquímicas derivadas de la incorporación del plasma [2].

En lo que respecta al comportamiento mecánico, se ha demostrado que la exposición al plasma es un factor determinante para incrementar la resistencia y la estabilidad estructural de los hidrogeles; este tratamiento induce una reticulación (cross-linking) más eficiente, lo que se traduce en redes poliméricas densas (Liang et al., 2024) [10]. Si bien este reordenamiento puede provocar una contracción en la porosidad y reducir sutilmente la capacidad de hinchamiento, las propiedades mecánicas y la integridad del hidrogel modificado superan el desempeño de los sistemas sintetizados por vías habituales [10].

Para comprender estas modificaciones estructurales, la microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) resulta una herramienta indispensable. Esta técnica permite caracterizar la morfología superficial y determinar el tamaño de poro, factor vital para el control de la liberación de fármacos, dada la relación directa entre el diámetro del poro y las dimensiones de la molécula terapéutica a liberar [11]. Al evaluar matrices biopoliméricas como el alginato de sodio sintetizado con PAW, investigaciones previas reportan variaciones morfológicas profundas mediante análisis SEM, las cuales se correlacionan con un descenso en el pH, un incremento en la dureza del material y una disminución en la temperatura de gelificación, además de una menor tasa de hinchamiento respecto a las muestras de control (Król-Kilińska et al., 2024) [12]. Asimismo, los perfiles de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) confirman alteraciones en el comportamiento de retención hídrica y en el empaquetamiento microestructural; estas modificaciones fisicoquímicas inducidas por el plasma impactan de forma macroscópica en atributos ópticos esenciales como la coloración del gel [12].

Finalmente, la caracterización mediante difracción de rayos X (XRD, por sus siglas en inglés) permite identificar la fase cristalina o amorfa del material. Este estado

estructural influye directamente en propiedades críticas como la rigidez mecánica, la cinética de liberación de fármacos, la resistencia térmica y la estabilidad a largo plazo del hidrogel [13-14].

2 FUNDAMENTOS

2. FUNDAMENTOS

2.1 HIDROGELES

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales con una estructura entrecruzada (véase la Figura 1) de naturaleza hidrofílica. Su característica principal es la capacidad de absorber y retener volúmenes significativos de agua o fluidos biológicos sin disolverse, debido a la presencia de interacciones químicas o físicas (reticulación) entre las cadenas del polímero.

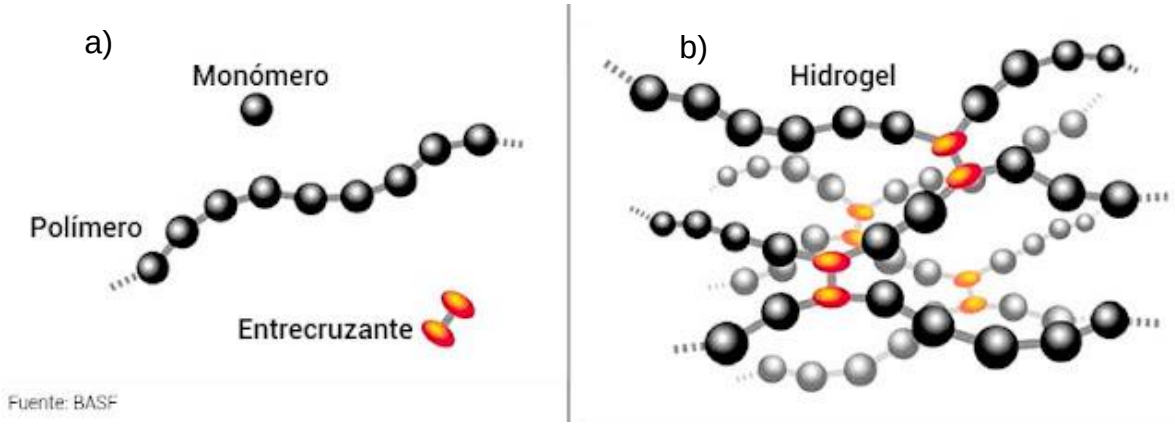


Figura 1 (a) Lado izquierdo con las unidades que conforman al hidrogel y (b) Lado derecho con la estructura tridimensional del hidrogel. Fuente: Biogenera AC, 2020 [15].

La absorción de solvente induce un fenómeno de hinchamiento (*swelling*), transformando el material en una estructura altamente hidratada con propiedades mecánicas intermedias entre un sólido elástico y un líquido viscoso, incrementando notablemente su volumen original [16]. Esta versatilidad permite la funcionalización de la matriz mediante la incorporación de compuestos activos, tales como agentes con actividad antimicrobiana [17].

Es fundamental distinguir entre un gel y un hidrogel. Mientras que un gel es un sistema coloidal semisólido donde una red tridimensional atrapa cualquier fase líquida (orgánica o inorgánica), un hidrogel utiliza específicamente agua como dispersante. Esta distinción se traduce en una mayor biocompatibilidad y relevancia

en estudios de interacción con medios biológicos y liberación controlada de fármacos [18, 19].

En estado de equilibrio, algunos hidrogeles pueden retener más del 90% de su peso en agua [4], lo que refleja la elevada porosidad de su red polimérica, cuyos espacios internos son ocupados por agua. Esta alta porosidad en estado hinchado facilita la difusión de solutos y permite ajustar sus propiedades mecánicas mediante el grado de reticulación, lo que los hace ideales para aplicaciones biomédicas, farmacéuticas y agrícolas [4, 5, 13]. Su clasificación principal se basa en su origen (natural, sintético o semisintético) y en la naturaleza iónica de su carga (aniónica, catiónica o neutra) [20].

2.1.1 Propiedades funcionales

Las propiedades que determinan la utilidad de los hidrogeles se resumen en la Tabla 1: [21-24]

Tabla 1 Propiedades funcionales de los hidrogeles

Propiedad	Descripción
Biocompatibilidad	Interacción segura con tejidos vivos sin inducir toxicidad ni rechazo inmune.
Biodegradabilidad	Degradación en residuos seguros y libres de toxicidad mediante procesos metabólicos o ambientales
Hinchabilidad (*swelling*)	Expansión volumétrica por absorción de fluidos, clave para liberar fármacos.
Sensibilidad (Estímulo-Respuesta)	Transición estructural de la matriz ante estímulos como pH o temperatura.
Resistencia mecánica	Estabilidad e integridad del gel regulada por la densidad de reticulación.
Adhesividad	Fijación interfacial a superficies mediante agua y grupos funcionales activos (como carboxilos y aminos).
Grado de hinchamiento	Medida cuantitativa de absorción que define la cinética de liberación.

Fuente: Elaboración propia

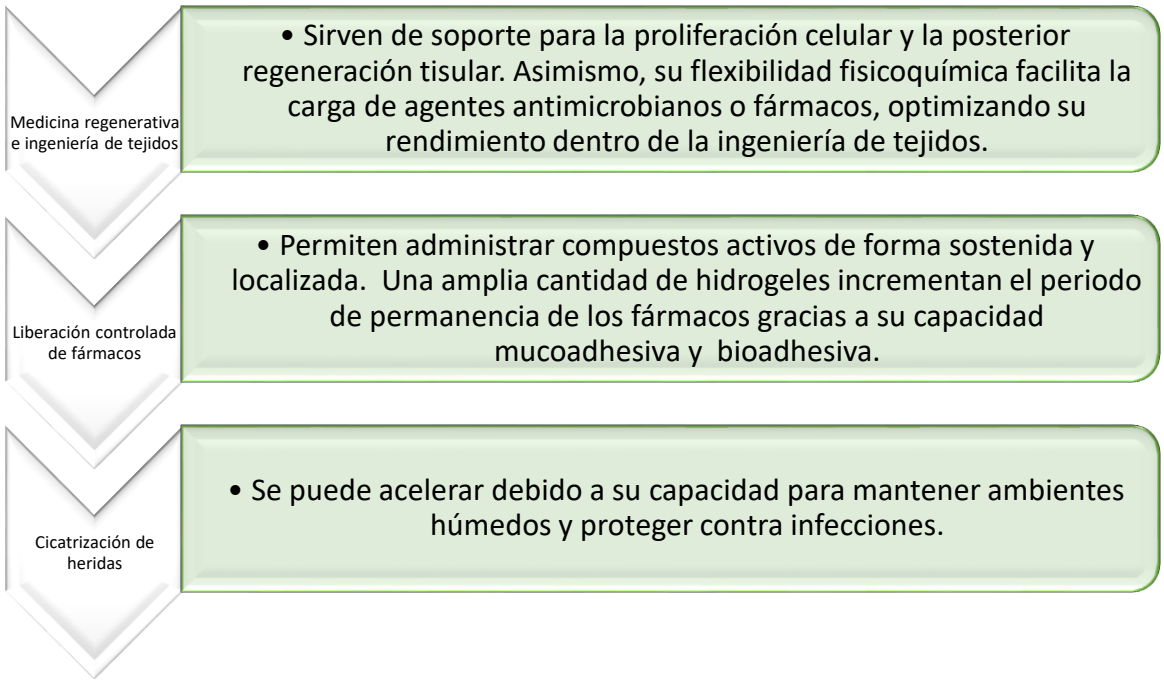
2.1.2 Parámetros relevantes del hidrogel

En aplicaciones biomédicas, el control de los parámetros fisicoquímicos es crítico para garantizar la estabilidad del sistema:

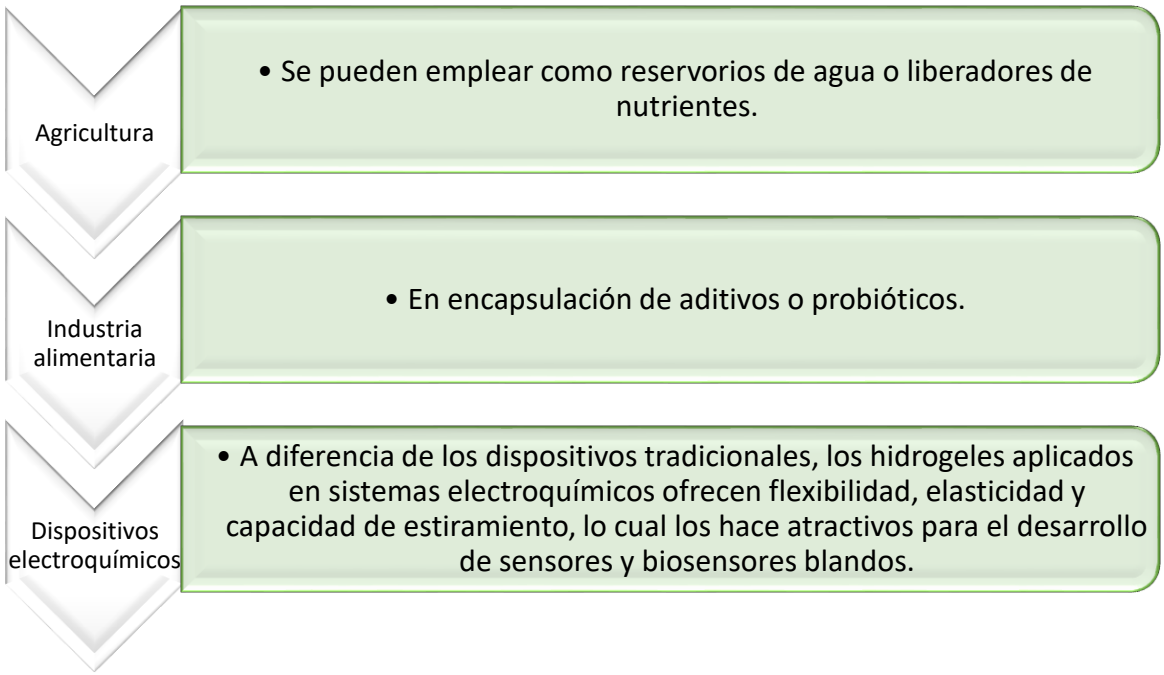
- Potencial de hidrógeno (pH): Factor determinante en la estabilidad estructural y la biocompatibilidad. Un pH controlado previene la proliferación de patógenos y asegura que el material sea afín al tejido receptor.
- Oxígeno disuelto (DO): Esencial en el microambiente del hidrogel, ya que influye directamente en la viabilidad celular y en los procesos de regeneración tisular cuando el material se utiliza como andamio (*scaffold*) [25].
- Conductividad eléctrica: A pesar del carácter aislante de la matriz polimérica, la conductividad del fluido atrapado en la red cobra relevancia en la transmisión de señales celulares y en el comportamiento de hidrogeles electroactivos [26, 27].
- Potencial de óxido-reducción (ORP): Parámetro clave para evaluar el equilibrio entre especies oxidantes y reductoras. Un ORP elevado indica una alta capacidad oxidativa, frecuentemente asociada a una mayor actividad bactericida. Existe una relación inversamente proporcional entre el pH y el ORP: a menor pH, se observa un incremento en el potencial de oxidación [28].

2.1.3 Aplicaciones

Debido a sus propiedades únicas, los hidrogeles se emplean en sectores estratégicos: [4, 13, 29, 30]



Además, también tienen usos relevantes en: [30]



2.2 AGENTES GELIFICANTES

La elección del agente gelificante determina las propiedades funcionales del hidrogel, vinculando la naturaleza del polímero con la cinética de liberación de

activos, el comportamiento reológico (textura y extensibilidad), la estabilidad mecánica y la actividad antimicrobiana o antifúngica del sistema [31]. En este sentido, macromoléculas como el alginato de sodio, la carboximetilcelulosa (CMC) y el Carbopol 940 se utilizan recurrentemente en el desarrollo biomédico por su biocompatibilidad, viabilidad económica, biodegradabilidad y nula toxicidad [6, 7, 12].

El origen del polímero (natural, sintético o semisintético) y su arquitectura molecular gobiernan variables fisicoquímicas clave como la solubilidad, la viscosidad intrínseca y la capacidad de reticulación de la matriz. Estas características definen el comportamiento de la red dentro del gel y, en consecuencia, su eficiencia para aplicaciones específicas [32]. La correcta elección y combinación de estos polímeros permite el diseño de hidrogeles con propiedades "a la medida", adaptadas a requerimientos médicos o tecnológicos de alta precisión [13, 30].

En particular, la abundancia de grupos funcionales hidrofílicos, como los grupos carboxilo ($^{-}$COOH) e hidroxilo ($^{-}$OH) presentes en la celulosa, el alginato y sus derivados, es lo que facilita su elevada capacidad de hinchamiento, hidratación y la formación de redes poliméricas tridimensionales estables. Tales atributos no solo facilitan su integración en dispositivos biomédicos, sino también en tecnologías emergentes orientadas a la remediación hídrica [6].

En este escenario, las tendencias actuales priorizan el diseño de sistemas híbridos (como alginato/CMC o Carbopol/alginato) para potenciar de forma sinérgica el comportamiento mecánico y biológico de diferentes polímeros. Sin embargo, resulta indispensable caracterizar minuciosamente dichas interacciones; variaciones en las condiciones de formulación o la incorporación de nuevos aditivos pueden comprometer la estabilidad coloidal o la bioactividad del hidrogel final [6, 7].

2.2.1 Carbopol

Entre los polímeros sintéticos más utilizados como agentes gelificantes destaca el carbopol, también denominado carbómero. Este material es un polímero de naturaleza hidrofílica y con marcadas propiedades mucoadhesivas, cuya estructura química fundamental se basa en el poli(ácido acrílico) con la fórmula general $(–CH_2{}^{–}CH(COOH)^{–})_n$. Su arquitectura molecular consiste en cadenas lineales de ácido acrílico reticuladas con éteres polialquenílicos o divinilglicol, lo que da lugar a una red tridimensional conocida comúnmente como polímeros de carboxivinilo [33-35].

La alta densidad de grupos carboxilo ($^{-}COOH$) en su estructura es la responsable de su capacidad gelificante. En su estado original, las cadenas de carbopol se encuentran estrechamente enrolladas; sin embargo, al entrar en contacto con el agua y ser expuestas a un agente neutralizante (como una base), los grupos carboxilo se ionizan. Esto genera repulsiones electrostáticas entre las cadenas que provocan el desenrollamiento y la expansión del polímero, resultando en la formación de un gel de alta viscosidad y transparencia.

En la Figura 2 se ilustra el monómero base que constituye la unidad repetitiva de este polímero.

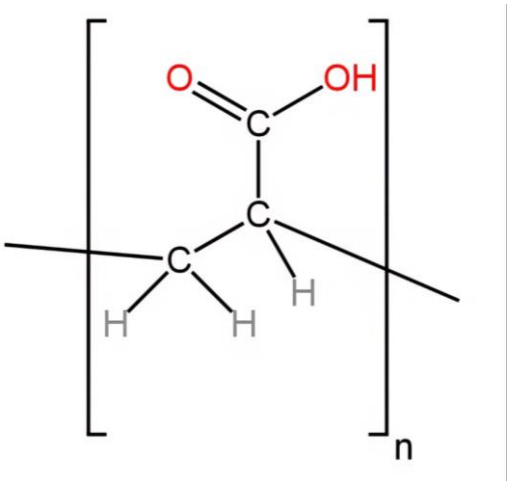


Figura 2 Estructura química general del polímero de carbopol. Elaboración propia.

Debido a sus favorables propiedades fisicoquímicas, el carbopol es ampliamente utilizado como matriz base en la formulación de hidrogeles, emulsiones y productos de aplicación tópica (cosméticos y farmacéuticos). Su capacidad para modificar la reología del sistema y estabilizar suspensiones lo hace ideal para estos fines. En la Tabla 2 se detallan las propiedades que justifican su selección en este estudio.

Tabla 2 Propiedades fisicoquímicas del carbopol.

Propiedad	Descripción Técnica
Peso molecular	Elevado (10^5 – 10^6 Da), dependiendo del grado de reticulación.
Forma física	Polvo granular fino, blanco, ligero e higroscópico.
Humedad	Típicamente ≤ 2% p/p; en equilibrio (25°C, 50% HR) alcanza 8–10%. No compromete la eficiencia de espesamiento.
Solubilidad	Insoluble en la mayoría de solventes orgánicos. Hidrodispersable; experimenta hinchamiento y formación de hidrogeles tras la neutralización.
pH (dispersión 1%)	Ácido, en un rango de 2.5 – 3.0 (antes de neutralizar).
pH óptimo de gelificación	5.0 – 7.0 (rango de máxima viscosidad tras neutralización).
Viscosidad	Excepcionalmente alta; forma redes estructuradas a bajas concentraciones (0.5 – 1.5% p/p).
Biocompatibilidad	Matriz inerte, no citotóxica y no irritante; adecuada para sistemas de administración tópica, oral y oftálmica.
Estabilidad térmica	Resistencia a temperatura ambiente; tolera ciclos de esterilización en autoclave sin comprometer su integridad estructural.
Biodegradabilidad	Degradación parcial; el proceso es inversamente proporcional a la densidad de reticulación de la red.
Características	Presenta alta claridad óptica, propiedades bioadhesivas y un comportamiento pseudoplástico definido.

Fuente: Adaptado de Rowe et al., 2009. [36]

Existen diversos grados de carbopol clasificados según su peso molecular y monómeros específicos, cada uno con rangos de viscosidad óptimos a distintos valores de pH. En particular, el Carbopol 940 (el grado más utilizado para geles de administración tópica) alcanza su máxima eficiencia de espesamiento en un rango de pH de 4.5 a 11.0. Se caracteriza por la formación de geles de alta transparencia con efecto refrescante, excelente extensibilidad cutánea y nula oclusión de los poros, siendo además fácilmente removible con agua. Estas cualidades lo posicionan como un vehículo ideal para aplicaciones dermatológicas y farmacéuticas [7, 37].

Su eficiencia como agente modificador de la reología supera a la de muchas gomas naturales, debido a que genera una alta viscosidad con un bajo contenido de sólidos. Esta propiedad, junto con su reconocida biocompatibilidad, potencia la eficacia en la administración de fármacos mediante sistemas de liberación controlada por múltiples vías: oral, bucal, tópica, nasal, vaginal, transdérmica y oftálmica [38].

La viscosidad de este polímero se maximiza mediante el proceso de neutralización alcalina. Para este fin, se emplean agentes como el hidróxido de sodio (NaOH), el hidróxido de amonio o la trietanolamina (TEA). Esta última es la base orgánica de elección en formulaciones tópicas, ya que permite ajustar el pH de manera precisa sin comprometer la estabilidad coloidal del gel [7, 39]. La estructura de la trietanolamina (véase la Figura 3) presenta un átomo de nitrógeno central unido a tres grupos etilo que terminan en grupos hidroxilo ($^{-}$OH), lo que le confiere su carácter básico y su alta afinidad por el agua.

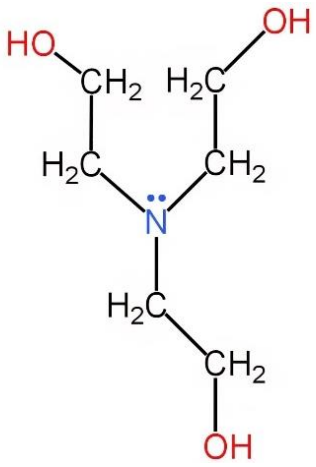


Figura 3 Estructura química de la trietanolamina (TEA). Elaboración propia.

En la formulación de hidrogeles de Carbopol 940, se utilizan habitualmente concentraciones entre el 0.5% y 1% *p*/*p* para obtener texturas que varían desde fluidos ligeros hasta geles semisólidos firmes. Se ha determinado que una concentración mínima del 0.5% es suficiente para garantizar una red estructurada

y estable. Al incrementar la concentración, aumenta la firmeza y el esfuerzo de fluencia (*yield stress*), aunque puede presentarse un ligero aumento en la turbidez. Una neutralización adecuada es imperativa para lograr la reticulación eficaz y un pH compatible con la fisiología dérmica [7, 33].

Los geles resultantes son de naturaleza no grasa, presentan una excelente tolerancia dérmica y muestran sensibilidad a la presencia de oxígeno, factor que debe considerarse para garantizar su estabilidad durante el almacenamiento [33]. Esta sensibilidad, junto con el requerimiento de neutralización química, diferencia al carbopol de gelificantes naturales como el alginato de sodio o la carboximetilcelulosa (CMC), los cuales operan bajo mecanismos de gelificación distintos.

2.2.2 Alginato de sodio

El alginato de sodio es la sal sódica del ácido algínico, un polisacárido lineal, hidrofílico y no tóxico extraído de las paredes celulares de las algas pardas (*Phaeophyceae*). Debido a su naturaleza polielectrolítica aniónica, presenta una excelente solubilidad en agua, formando soluciones viscosas incluso a bajas concentraciones [40].

Estructuralmente, este polímero está constituido por bloques homopoliméricos de ácido α-L-gulurónico (G) y ácido beta-D-manurónico (M), unidos mediante enlaces glucosídicos β(1→4). Como se ilustra en la Figura 4, la disposición de estos monómeros puede presentarse en bloques consecutivos (GGGG o MMMM) o alternados (GMGM), lo que le confiere una alta biocompatibilidad y baja toxicidad [41].

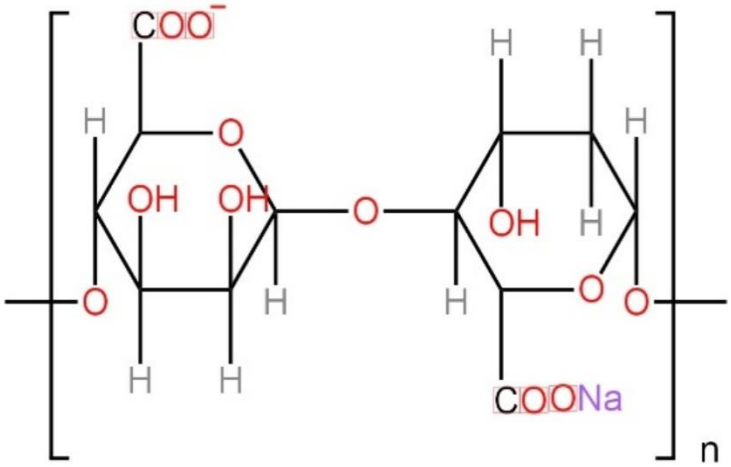


Figura 4 Estructura química general del polímero de alginato de sodio, que se compone de bloques consecutivos de monómeros de ácido α-L-gulurónico (GGGGGG) y β-D-manurónico (MMMMMM), además de bloques alternados G y M (GMGMGM). Elaboración propia.

Los grupos funcionalizados, específicamente los carboxilatos (–COO^- / –COONa) y los grupos hidroxilo (-OH) presentes en cada anillo de piranosa, son los responsables de la alta capacidad de hidratación del material y facilitan la reticulación iónica. La relación y distribución de los bloques M/G es un parámetro crítico, ya que determina las propiedades mecánicas y la capacidad de gelificación. Estos factores, a su vez, dependen de variables biológicas como la especie de alga, su localización geográfica, la edad de la planta y la estación de cosecha [42].

Debido a su versatilidad, el alginato es un candidato ideal para el desarrollo de hidrogeles funcionales [43]. En la Tabla 3 se detallan sus propiedades fisicoquímicas más relevantes.

Además de su perfil de seguridad, su carácter no inmunogénico ha favorecido su uso en ingeniería de tejidos, sistemas de liberación controlada, productos dermatológicos, tratamiento de aguas y empaquetado de alimentos [6, 7, 44, 45].
La gelificación del alginato ocurre mediante un mecanismo de intercambio iónico, donde los iones de sodio son reemplazados por cationes bivalentes o trivalentes como el calcio (Ca^{2+}), zinc (Zn^{2+}) o hierro (Fe^{3+}). Este proceso crea una red

tridimensional conocida como el modelo de "caja de huevos" (*egg-box model*), donde los cationes se coordinan con los bloques G del polímero [6].

Tabla 3 Propiedades fisicoquímicas del alginato de sodio

Propiedad	Descripción Técnica
Peso molecular	Rango variable entre 3.2×10^4 y 4×10^5 Da.
Forma física	Sólido granular o fibroso, inodoro e insípido; coloración variable desde el blanco hasta el matiz marrón-amarillento.
Humedad	Contenido típico de hasta 15% p/p; este porcentaje no interfiere en la gelificación por intercambio iónico.
Solubilidad	Insoluble en solventes orgánicos y sistemas hidroalcohólicos; presenta disolución lenta en agua para formar coloides viscosos.
pH (dispersión 1%)	Aproximadamente 7.2 (cercano a la neutralidad).
Viscosidad	Rango de 20–400 cP (solución al 1% a 20°C); variable en función de la fuerza iónica, el pH y la temperatura del sistema.
Biocompatibilidad	Elevada; no inmunogénico y no irritante en aplicaciones tópicas.
Biodegradabilidad	Degradable mediante procesos enzimáticos o químicos.
Estabilidad térmica	Estable a temperatura ambiente; experimenta degradación oxidativa por encima de los 200°C.
Características	Forma hidrogeles de textura suave, excelente extensibilidad, no pegajosos y con propiedades humectantes.

Fuente: Adaptado de Rowe et al., 2009. [36]

En términos de estabilidad, las soluciones de alginato se mantienen estables en un rango de pH de 5 a 10. Sin embargo, condiciones extremas de alcalinidad o temperaturas elevadas inducen la despolimerización del material, comprometiendo su funcionalidad [46]. En términos prácticos, se sugiere mantener la concentración de alginato entre el 1% y 3% p/p, empleando cloruro de calcio ($CaCl_2$) como agente reticulante. Superar el límite del 3% genera geles con una viscosidad excesiva que dificulta su manipulación, mientras que concentraciones por debajo del 1% dan lugar a redes estructuralmente deficientes. En este sentido, investigaciones previas señalan que una carga del 2.5% p/p proporciona el balance óptimo entre viabilidad operativa y estabilidad estructural [45].

2.2.3 Carboximetilcelulosa

La carboximetilcelulosa (CMC), generalmente empleada en su forma de sal sódica (CMC sódica), es un polímero aniónico, semisintético y semiflexible derivado de la celulosa natural. Se produce mediante la reacción de la celulosa con ácido

cloroacético en un medio alcalino, lo que resulta en un material con alta afinidad por el agua [47].

Estructuralmente, la CMC sódica introduce grupos carboximetilo sódicos ($^{-}CH_2^{-}$ COO^{-} Na^{+}) en la cadena principal, los cuales sustituyen parcialmente a los grupos hidroxilo del esqueleto de la celulosa. Esta modificación otorga al polímero propiedades hidrofílicas y una carga aniónica que favorece la retención de moléculas de agua y la formación de soluciones coloidales viscosas, facilitando su uso en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética [48, 49].

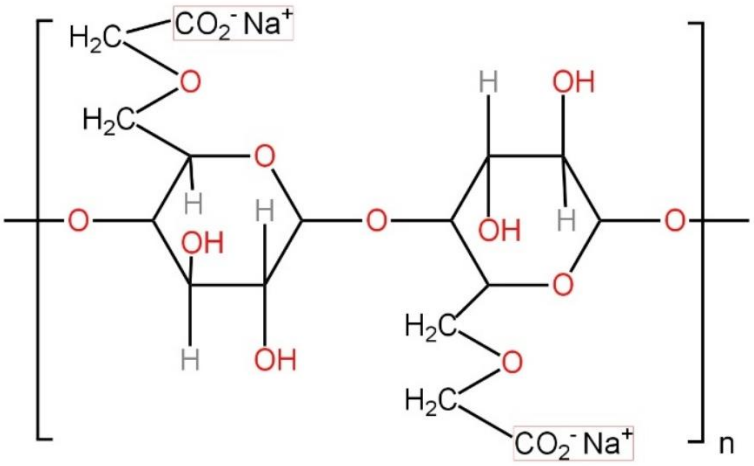


Figura 5 Estructura química general de la carboximetilcelulosa sódica (CMC sódica), formada por unidades repetitivas de glucosa unidas por enlaces β(1→4) glucosídicos, donde algunos grupos hidroxilo (–OH) han sido sustituidos por grupos carboximetilo sódicos (–CH_2–COO^{-} Na^{+}). Elaboración propia.

Las propiedades fisicoquímicas de la CMC, detalladas en la Tabla 4, la posicionan como un agente gelificante y espesante de alto desempeño [50].

Tabla 4 Propiedades fisicoquímicas de la carboximetilcelulosa

Propiedad	Descripción Técnica
Peso molecular	Elevado, comprendido en el rango de 9×10^5 a 10^6 Da.
Forma física	Sólido granular o fibroso, blanquecino, inodoro, insípido y altamente higroscópico
Humedad	Contenido típico de 8–12% p/p; no compromete su desempeño como agente gelificante
Solubilidad	Soluble en agua a diversas temperaturas e insoluble en la mayoría de los solventes orgánicos
pH (dispersión 1%)	Rango de 6.0 a 8.0, aproximándose a la neutralidad
Viscosidad	Modulador reológico que transiciona desde suspensiones fluidas hasta geles firmes según la carga.
Biocompatibilidad	Sistema no tóxico con alta afinidad y compatibilidad hacia tejidos biológicos.
Biodegradabilidad	Proceso regido por el peso molecular y el grado de sustitución (DS) del polímero.
Estabilidad térmica	Estable a temperatura ambiente; vulnerable a degradación acelerada bajo pH o temperaturas extremas

Fuente: Adaptado de Rowe et al., 2009. [36]

Las aplicaciones de la CMC abarcan sectores como la cosmética, farmacia, cerámica, remediación hídrica y bioingeniería médica, donde opera principalmente como estabilizante coloidal, espesante y agente formador de películas (film-former) [51].

En este ámbito, el diseño de hidrogeles híbridos mediante la combinación de CMC con matrices poliméricas alternas constituye una vía eficaz para potenciar de forma sinérgica la estabilidad mecánica y modular la biodegradabilidad del material bajo condiciones de síntesis atenuadas. Este enfoque metodológico optimiza el rendimiento del hidrogel en sistemas de liberación controlada de fármacos y en el desarrollo de productos sostenibles [34].

El comportamiento funcional de la CMC está dictado por su grado de sustitución (DS), definido como el número promedio de grupos carboximetilo sustituidos por unidad de anhidroglucosa. El DS influye directamente en la solubilidad, la viscosidad y la interacción del polímero con el pH y la fuerza iónica del medio [52].

En formulaciones combinadas, las concentraciones de CMC suelen oscilar entre el 0.5% y el 2.5% *p*/*p* [47, 53]. No obstante, cuando se utiliza como único agente, la CMC forma suspensiones a concentraciones bajas (0.25% - 1% *p*/*p*) y geles estructurados a concentraciones más elevadas, típicamente entre el 3% y el 6% *p*/*p* [36].

2.3 PLASMA ATMOSFÉRICO FRÍO

2.3.1 Principios generales

El plasma atmosférico frío (CAP, por sus siglas en inglés), también denominado plasma no-térmico, se define como un gas parcialmente ionizado que opera generalmente a presión atmosférica y mantiene una temperatura macroscópica cercana a la temperatura ambiente. Su generación se basa en la aplicación de un campo eléctrico sobre un gas de trabajo —como argón, helio, nitrógeno, oxígeno o aire ambiental—, lo que desencadena una serie de colisiones moleculares y procesos de ionización [54].

Desde el punto de vista fisicoquímico, el CAP es una mezcla compleja que contiene electrones, iones, partículas neutras en estados excitados, radiación ultravioleta (UV) y radicales libres de alta reactividad [55]. Se categoriza como una "tecnología verde" y sostenible, ya que su operación no requiere el uso de precursores químicos, solventes orgánicos o consumo excesivo de agua, además de presentar una alta eficiencia energética [56].

La distinción fundamental entre el plasma frío y el plasma térmico radica en el desequilibrio termodinámico de sus componentes. En el CAP, los electrones, debido a su masa despreciable en comparación con los iones y átomos neutros, son acelerados preferencialmente por el campo eléctrico, alcanzando temperaturas electrónicas equivalentes a miles de grados Celsius ($Te \approx 10^4$). Por el contrario, las partículas pesadas (iones y neutros) no ganan energía cinética con la misma rapidez, manteniendo una temperatura de gas (*Tg*) similar a la ambiental. Esta

característica permite que el plasma se mantenga a temperaturas menores a los 40°C, facilitando su interacción con materiales termosensibles y tejidos biológicos sin causar daño térmico [57].

Las propiedades del CAP sugieren una citotoxicidad mínima en tejidos sanos bajo protocolos controlados, mientras que exhiben una potente eficacia antimicrobiana mediada por la generación *in situ* de especies reactivas. Estas bondades han impulsado su integración en fronteras biomédicas como la desinfección endodóntica, terapias oncológicas selectivas, aceleración de la cicatrización de heridas, regeneración tisular y diversos tratamientos dermatológicos [1, 10, 58].

2.3.2 Composición reactiva del plasma: RONS

Debido a la interacción entre las partículas energéticas del plasma y el aire atmosférico, se originan numerosas especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (RONS, por sus siglas en inglés), las cuales confieren la actividad biológica característica al plasma frío.

Dentro de las especies reactivas de oxígeno (ROS), destacan el oxígeno molecular (O_2), el oxígeno singlete ($^1O_2$), el ozono (O_3), el radical superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo ($^\bullet OH$). Por otro lado, entre las especies reactivas de nitrógeno (RNS), se generan el óxido nítrico (NO), el peroxinitrito ($ONOO^-$) y el dióxido de nitrógeno (NO_2) [55, 59].

La naturaleza y concentración de estas especies dependen de variables operacionales críticas como el voltaje aplicado, la frecuencia, el tiempo de exposición, el flujo y tipo de gas de trabajo, así como la configuración geométrica del reactor [59].

Estas especies se clasifican según su estabilidad química en:

- Especies de vida corta: Como el radical •OH, que posee un potencial de oxidación extremadamente alto, pero desaparece en microsegundos.
- Especies de vida larga: Como el O_3 y el H_2O_2, que pueden persistir y difundirse a mayores distancias, siendo fundamentales en los efectos a largo plazo del plasma [60].

El empleo de oxígeno o aire como gas de alimentación en el reactor desencadena una red compleja de reacciones interconectadas. Las especies químicas y mecanismos de mayor relevancia en esta fase corresponden a:

- Oxígeno atómico (O):

Considerado el precursor fundamental en el sistema. Su generación ocurre por la disociación directa del O_2 mediante impacto electrónico al transitar por la zona de descarga activa. Debido a su elevada reactividad, participa prácticamente en todas las rutas de síntesis de las demás ROS [61].

$$O_2 \rightarrow O + O$$

- Ozono (O_3):

Constituye el producto principal en plasmas basados en oxígeno debido a su estabilidad química relativa. Su rendimiento se optimiza en descargas caracterizadas por tiempos de residencia prolongados y alta disponibilidad de oxígeno atómico, destacando por su potente acción antimicrobiana y por regir la química en la etapa de postdescarga [62].

$$O + O_2 \rightarrow O_3$$

- Oxígeno singlete ($^1O_2$):

Representa un estado excitado del oxígeno molecular que posee una alta afinidad reactiva hacia polímeros y biomoléculas, comportándose como un agente oxidante altamente selectivo y energético [63].

$$O_2 + \text{energía} \rightarrow {}^1O_2$$

- Radical superóxido (O_2^-)

Se forma por la captura de un electrón por parte del O_2. En condiciones de humedad ambiental, es un precursor clave para reacciones en cadena que derivan en otras ROS más complejas.

$$O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$$

- Iones O_2^+ y O^+: Importantes dentro del plasma

Los iones mantienen activo el plasma y, al chocar con las moléculas, les dan energía para que puedan reaccionar [64].

No son tan importantes fuera del plasma, sino dentro de él, ya que son clave en la dinámica interna y fundamentales para mantener la estabilidad de la descarga. Aunque su tiempo de vida fuera del plasma es despreciable, su papel en la cinética interna y la transferencia de energía por colisión es vital [65].

$$O_2 + \text{energía} \rightarrow O_2^+ + e^-$$

$$O + \text{energía} \rightarrow O^+ + e^-$$

- Peróxido de hidrógeno gaseoso (H_2O_2) y radicales hidroxilos ($^{\bullet}OH$)

Su formación depende directamente de la humedad relativa del aire o de la presencia de vapor de agua. El H_2O_2 es una especie de vida larga esencial en las interacciones biológicas y la desinfección [66].

Todas estas especies reactivas, en conjunto con los efectos físicos del CAP (campos eléctricos y radiación UV), desencadenan respuestas celulares específicas que son la base de las aplicaciones biomédicas de esta tecnología [59].

2.3.3 Producción de plasma atmosférico frío

El CAP puede generarse en condiciones de laboratorio mediante la aplicación de una fuente de energía externa (eléctrica) acoplada a un gas de trabajo. Su operación en contacto con el aire atmosférico simplifica el diseño del reactor y

aumenta la viabilidad de su aplicación en sistemas biológicos [67]. Actualmente, el desarrollo de dispositivos y fuentes de potencia permite un control preciso de las características del plasma, las cuales están intrínsecamente ligadas a la geometría del reactor, la técnica de descarga y la composición química de los gases empleados [68].

En el ámbito biomédico, las configuraciones más extendidas son los chorros de plasma (plasma jets) y la descarga de barrera dieléctrica (DBD). La Figura 6 ilustra los principios operativos de ambos métodos.

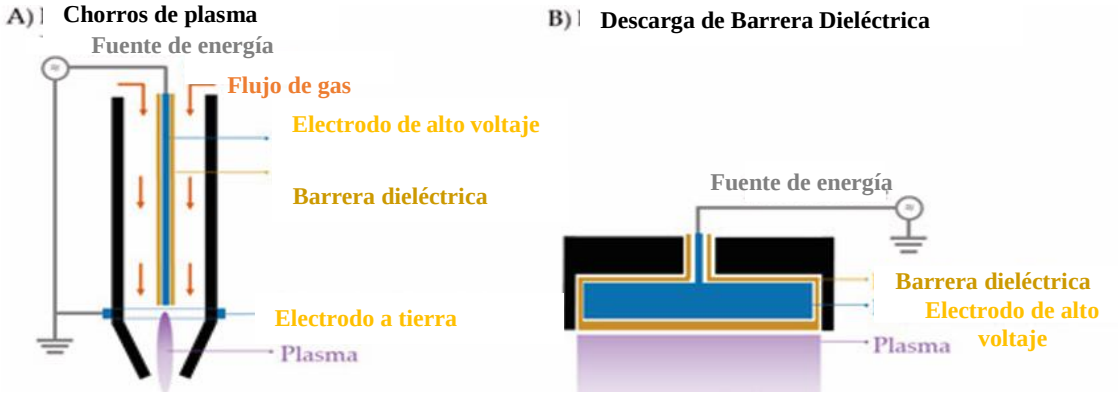


Figura 6 Plasma atmosférico frío producido por: (a) Chorros de plasma y (b) Descarga de Barrera Dieléctrica. Imagen extraída del artículo de Al-Okla et al. 2020 [57].

- Chorros de plasma

Los chorros de plasma se caracterizan por una descarga luminiscente que se proyecta fuera de la región de confinamiento de los electrodos, impulsada por el propio flujo de gas ionizado. Su arquitectura convencional emplea electrodos anulares concéntricos a un canal dieléctrico; de este modo, el flujo gaseoso transporta las especies reactivas hacia el exterior para consolidar la pluma o el “chorro” de plasma [69].

Esta geometría simplifica el tratamiento al evitar que la muestra o el tejido deba ubicarse directamente entre los electrodos, facilitando la modificación localizada de superficies complejas o con morfologías irregulares. La composición y reactividad

de la pluma se modulan mediante el ajuste sistemático de la geometría del reactor, la tasa de flujo del gas portador y las condiciones de excitación eléctrica, tales como la amplitud de voltaje y la frecuencia de operación [70]. Para procesar áreas de mayor extensión, se recurre al acoplamiento de arreglos multichorro (multijets), mientras que para intervenciones dermatológicas o microcirugías de alta precisión se opta por variantes a microescala, como las agujas o plumas de plasma [71].

Tradicionalmente, la implementación clínica del CAP ha estado restringida por la necesidad de posicionar el dispositivo generador sobre el tejido blanco. Limitaciones operativas similares se reportan en procesos agroalimentarios y en la remediación de efluentes contaminados [1, 72]. Frente a este escenario, el uso de líquidos activados por plasma (como el PAW) surge como una vía de transferencia indirecta orientada a solventar las restricciones físicas del acoplamiento directo.

2.4 DESCARGA DE BARRERA DIELÉCTRICA

2.4.1 Principios generales

La descarga de barrera dieléctrica (DBD) es uno de los métodos más empleados para generar un CAP. Se utiliza ampliamente debido a su capacidad para generar especies reactivas en condiciones ambientales de presión y temperatura. Su diseño incluye uno o más electrodos separados por una barrera dieléctrica, con una configuración que puede ser tubular o plana [73].

Esta barrera dieléctrica limita la corriente y modera la descarga, lo cual evita la formación de un arco eléctrico, que es un flujo continuo de electricidad muy fuerte que calienta de forma notable el gas; manteniendo así el plasma en estado no térmico [73, 74].

En un plasma generado mediante DBD, la temperatura del gas suele mantenerse cercana a la ambiental; sin embargo, los electrones alcanzan energías elevadas (entre 1 y 10 eV), dependiendo de factores como la potencia suministrada, la

frecuencia aplicada, el tipo de gas empleado y las propiedades del dieléctrico. Esta condición favorece la formación de radicales libres y otras especies reactivas debido a procesos de excitación e ionización de especies y moléculas químicas, además del rompimiento de enlaces químicos por impacto electrónico [75, 76].

En la Tabla 5 se resumen los parámetros operativos típicos que definen el régimen de funcionamiento de un reactor DBD.

Tabla 5 Parámetros característicos de la DBD

Parámetro	Rango de operación
Voltaje de ruptura/operación	0.5 – 20 kV
Frecuencia de la fuente	50 Hz – 10 kHz
Presión de trabajo	1 – 3 bar (Régimen atmosférico)
Distancia interelectródica (gap)	0.2 mm – 5 cm
Energía cinética electrónica	1 – 10 eV

Fuente: Adaptado de Brelles-Mariño, 2010 [76].

Se ha documentado extensamente el uso de la tecnología DBD para la modificación funcional de materiales termosensibles, tales como los hidrogeles basados en polímeros. Este enfoque asistido por plasma ofrece ventajas competitivas, ya que promueve la formación de enlaces cruzados (*cross-linking*) entre las cadenas poliméricas mediante especies radicalarias, mejorando la estabilidad mecánica del material. Asimismo, permite la modificación de propiedades superficiales críticas, como la humectabilidad y la reactividad química, mediante la funcionalización de la matriz con especies ROS y RNS.

Lo anterior se logra sin comprometer la integridad de la estructura tridimensional del hidrogel y, lo más importante, sin recurrir a agentes reticulantes químicos adicionales, consolidando al plasma como una alternativa sostenible y de bajo impacto ambiental para la ingeniería de biomateriales [10, 75, 77].

2.4.2 Configuraciones típicas de los reactores DBD

En un reactor DBD, la disposición de los electrodos y la barrera aislante permite la generación segura de CAP. Generalmente, el sistema opera con un electrodo conectado a tierra (*ground*) y un electrodo activo acoplado a una fuente de alto voltaje. La barrera dieléctrica actúa como un limitador de transferencia de carga, lo que permite mantener una descarga estable en el espacio interelectródico, cuya dimensión puede variar desde fracciones de milímetro hasta algunos centímetros, dependiendo de la rigidez dieléctrica del gas y la magnitud del voltaje aplicado [73].

Los reactores de DBD destacan por su simplicidad operativa, su funcionalidad a presión atmosférica y su excelente escalabilidad para procesos industriales y catalíticos. En la Figura 7 se presentan las configuraciones geométricas más comunes.

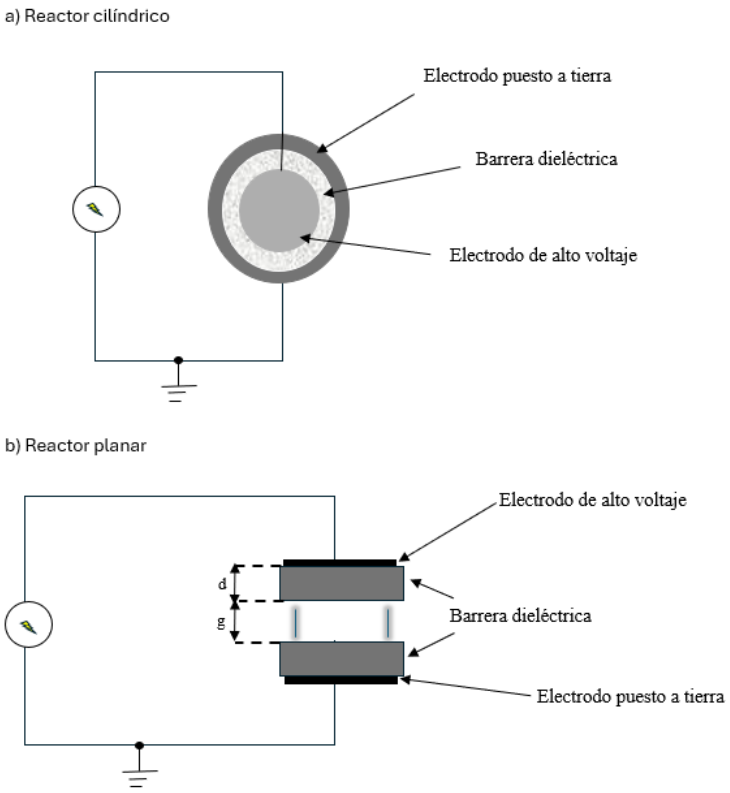


Figura 7 Configuraciones típicas de electrodos en reactores de DBD. Elaboración propia adaptada del artículo de Li et al. 2019 [75].

- Configuración cilíndrica o coaxial:

Este diseño consta de dos electrodos concéntricos separados por un dieléctrico tubular (Figura 7a). Al aplicar un alto voltaje de corriente alterna (CA), se induce la ruptura dieléctrica del gas que fluye de manera anular, generando una multiplicidad de microdescargas de nanosegundos de duración. Estas microdescargas se distribuyen uniformemente en el volumen del reactor, evitando la transición a un arco térmico.

Entre sus ventajas técnicas se encuentran un perfil de flujo de gas uniforme, una distribución constante de especies reactivas y una alta eficiencia para procesos de flujo continuo. Su aplicación más emblemática en la ingeniería química es la síntesis industrial de ozono [78].

- Configuración planar:

Consiste en dos electrodos de geometría plana colocados en paralelo, con una o más barreras dieléctricas interpuestas (Figura 7b). Al energizarse, se generan microdescargas a lo largo de la superficie del dieléctrico, creando un volumen de plasma uniforme entre las placas.

Esta geometría es ideal para el tratamiento de materiales laminares, películas delgadas o superficies planas que requieren una exposición homogénea al campo eléctrico y a las especies reactivas. Su diseño facilita un campo eléctrico uniforme y una descarga altamente controlada y segura para la modificación de polímeros [79].

2.4.3 Materiales dieléctricos y su influencia en el plasma

La selección del material dieléctrico es un factor determinante en el diseño de un reactor DBD, ya que su naturaleza física dicta la dinámica de las microdescargas y la estabilidad de la descarga. Entre los materiales más utilizados en la investigación y la industria se encuentran el vidrio, el cuarzo y diversas cerámicas. La elección

del dieléctrico influye significativamente en las características del plasma generado, debido a su impacto directo sobre la transferencia de carga y la formación de filamentos en el espacio interelectródico [80, 81].

Materiales como el cuarzo y la alúmina (Al_2O_3) han demostrado favorecer una mayor eficiencia energética. Esto se debe a su influencia sobre parámetros críticos de la microdescarga, tales como la acumulación de carga superficial, la densidad de los filamentos y la duración temporal de cada evento de descarga. Estas propiedades permiten obtener plasmas más estables y homogéneos, optimizando la transferencia de energía hacia los procesos de disociación y excitación química necesarios para la formación de especies reactivas [74, 75].

Además, las propiedades intrínsecas del dieléctrico, como su rugosidad superficial y su constante dieléctrica (ε_r), tienen un efecto sustancial en la eficiencia global del sistema. Se ha observado en diversos estudios que materiales con una constante dieléctrica elevada y una rugosidad controlada, como la alúmina, facilitan la generación de un mayor número de microdescargas uniformes por unidad de tiempo. Esto se traduce en una distribución de energía más eficiente en el seno del plasma, maximizando la producción de especies activas (ROS y RNS) sin incrementar proporcionalmente el consumo de potencia.

2.5 LÍQUIDOS ACTIVADOS POR PLASMA

2.5.1 Principios generales

Debido a las limitaciones logísticas y técnicas de la aplicación directa del CAP en superficies de geometría compleja, materiales termosensibles o sistemas biológicos *in vivo*, ha surgido un interés creciente en la interacción plasma–líquido. Este fenómeno, documentado desde finales del siglo XIX, ha permitido el desarrollo de los líquidos activados por plasma (PAL, por sus siglas en inglés), los cuales actúan como vectores para transferir los efectos bioactivos del plasma de manera indirecta, diferida y controlada [1, 82].

Los PAL son soluciones acuosas sometidas a un plasma durante un periodo determinado. Como resultado de la transferencia de masa en la interfase gas-líquido, componentes energéticos y especies reactivas se difunden hacia el seno del líquido, desencadenando una red de reacciones químicas secundarias. Este proceso deriva en una reducción significativa del potencial de hidrógeno (pH), un incremento en el potencial de óxido-reducción (ORP) y la adquisición de una potente capacidad antimicrobiana intrínseca.

La composición química final y las propiedades funcionales del líquido activado están dictadas por variables operacionales críticas, entre las que destacan: el tiempo de exposición, la geometría del reactor, la configuración de la fuente de potencia (voltaje, frecuencia y ciclo de trabajo), la distancia interelectródica, el volumen de la muestra, el flujo del gas de alimentación y la naturaleza química de la solución precursora [83, 84].

Las líneas de investigación actuales priorizan el uso de fases líquidas estables y biocompatibles, tales como agua desionizada, soluciones salinas isotónicas y sistemas amortiguadores de pH (buffers). El empleo de estas matrices simplifica la cuantificación y el seguimiento de las especies químicas de vida media larga generadas tras la irradiación con plasma, facilitando su escalamiento hacia esquemas clínicos controlados *in vivo* [85].

2.5.2 Agua activada por plasma

Considerando que el componente mayoritario en la estructura de un hidrogel es el agua, resulta fundamental centrar el análisis en el agua tratada o activada con plasma (PTW o PAW) como el agente líquido precursor en los PAL. Esta solución ha destacado por su notable capacidad desinfectante y su eficacia en aplicaciones de la industria alimentaria y biomédica [86].

La generación de PAW se lleva a cabo mediante diversos tipos de reactores que facilitan la transferencia de especies reactivas (iones, electrones y radicales) hacia el seno del líquido. Estos procesos de activación pueden clasificarse en mecanismos con o sin contacto, e incluyen descargas directas en el líquido, descargas en la fase gaseosa sobre la interfase, descargas en burbujas, o mediante la interacción del líquido en estados de fase dispersa, como nieblas o espumas generadas por pulverización [10, 12].

En comparación con el agua destilada (DW), el PAW exhibe una modificación sustancial en sus propiedades fisicoquímicas: una reducción en el potencial de hidrógeno (pH), un incremento en el potencial de óxido-reducción (ORP) y una mayor conductividad eléctrica, factores que determinan su reactividad [83].

En cualquier proceso de activación de líquidos por plasma se identifican tres zonas de reacción fundamentales (Figura 8):

- Fase gaseosa: Región donde se sintetizan las especies precursoras (ROS y RNS) mediante colisiones electrónicas inducidas por las descargas eléctricas, dependiendo de la naturaleza del gas de trabajo.
- Interfase plasma-líquido: Representa la frontera física donde ocurre el transporte de masa. Incluso en configuraciones cilíndricas de DBD donde el plasma parece difuso, existe una capa límite donde las especies reactivas entran en contacto con la superficie del líquido.
- Fase líquida: Región donde las especies que logran difundirse a través de la interfase modifican la química del solvente. En esta fase predominan especies con mayor estabilidad termodinámica que los radicales primarios, lo que permite una permanencia prolongada de la actividad química en el medio acuoso.

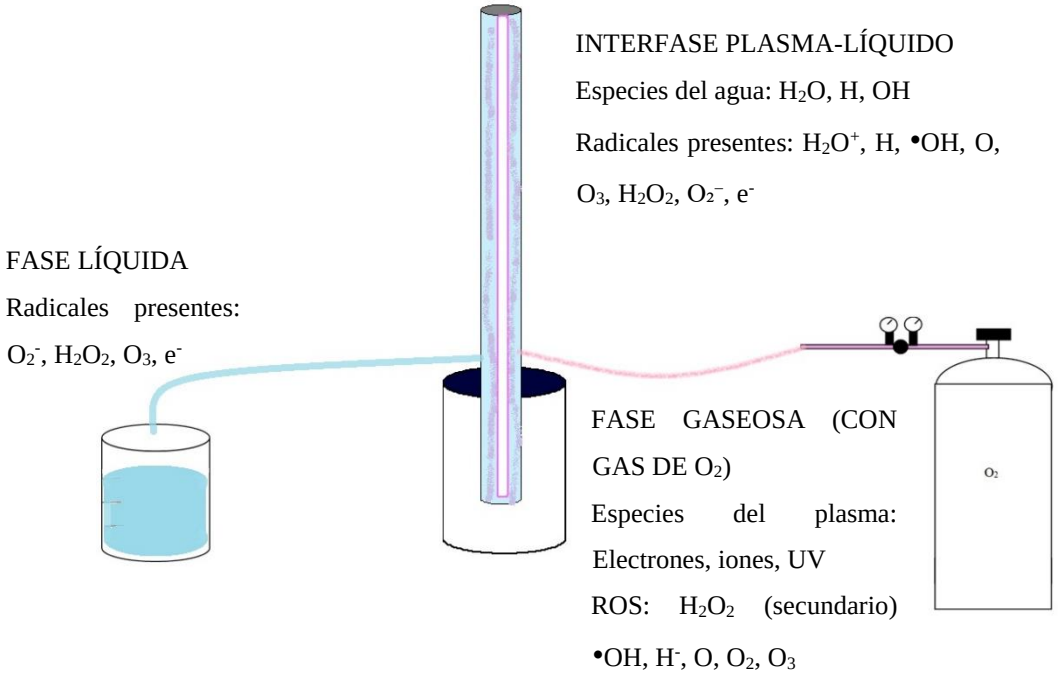


Figura 8 Representación gráfica del proceso de tratamiento con plasma del agua. No se consideran especies RNS debido al uso de O_2 como gas de alimentación. Elaboración propia adaptada del artículo de Liang et al. 2024 [10].

La bioactividad del PAW puede retenerse durante intervalos que varían de minutos a horas, dependiendo de la concentración de especies acumuladas y de las condiciones termodinámicas de almacenamiento. No obstante, su estabilidad cinética es limitada, lo cual constituye una de sus principales restricciones tecnológicas. Para mitigar este efecto, se han explorado estrategias como el uso de agentes estabilizantes, el almacenamiento criogénico o la activación *in situ* previa a su aplicación clínica [87, 88].

El uso de PAW representa una ventaja exponencial en el ámbito médico frente a la aplicación directa del plasma, ya que permite el tratamiento de áreas anatómicas de difícil acceso y protege materiales o tejidos extremadamente sensibles al calor o a las descargas eléctricas. Se ha documentado su eficacia en la inactivación de bacterias, virus y hongos, así como en aplicaciones oncológicas avanzadas, donde puede inducir la apoptosis controlada (muerte celular programada) de células tumorales y la inhibición de la angiogénesis (formación de nuevos vasos

sanguíneos) que nutren al tumor, promoviendo simultáneamente una cicatrización acelerada sin comprometer la integridad de los tejidos circundantes [1, 12].

2.5.3 Composición reactiva: RONS

A pesar de que la literatura reporta una vasta diversidad de especies reactivas generadas en medios acuosos, su naturaleza y abundancia relativa están intrínsecamente condicionadas por la composición del gas de alimentación y la química de la descarga. En sistemas donde el plasma se genera a partir de aire o mezclas enriquecidas con nitrógeno, se favorece cinéticamente la formación de especies reactivas de nitrógeno (RNS), tales como el óxido nítrico (NO), el nitrato (NO_3^-) y el nitrito (NO_2^-).

En la fase acuosa, coexisten especies reactivas clasificadas en función de su estabilidad termodinámica:

- Especies de vida media corta: Radicales libres e intermediarios altamente reactivos como el hidroxilo ($^{\bullet}OH$), el oxígeno singlete ($^1O_2$), el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y el monóxido de nitrógeno (NO). Su elevada inestabilidad química provoca una rápida desaparición mediante reacciones competitivas de recombinación.
- Especies de vida media larga: Compuestos estables que incluyen el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el nitrato (NO_3^-), el nitrito (NO_2^-) y el ozono disuelto (O_3). Su baja reactividad relativa les permite persistir en el medio desde minutos hasta varios días tras concluir la irradiación [89].

Por el contrario, un reactor DBD alimentado exclusivamente con oxígeno presenta una química dominada por las especies reactivas de oxígeno. Si bien la interacción incidental con el aire ambiental puede inducir la formación traza de especies nitrogenadas, su contribución es secundaria frente al flujo de especies oxigenadas. En esta configuración, la especie más relevante es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2),

debido a su prolongado tiempo de permanencia y su papel central en la inducción de respuestas biológicas [90].

Como se ilustra en la Figura 8, las especies predominantes en el seno del líquido son aquellas de vida larga, las cuales se originan ya sea por la transferencia directa desde la fase gaseosa o por procesos de síntesis secundaria en la interfase gas-líquido. Esta interacción interfacial altera radicalmente el equilibrio químico y la composición final de las RONS en el solvente, definiendo la funcionalidad del PAW resultante [84].

2.5.3.1 Mecanismos de formación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2)

El peróxido de hidrógeno es uno de los componentes más críticos en el PAW, debido a su capacidad para permear membranas celulares y desencadenar rutas de señalización oxidativa, siendo el principal responsable de los efectos biológicos observados. Aunque las rutas de síntesis son complejas, en este trabajo se consideran los dos mecanismos predominantes de formación [84]:

- Recombinación de radicales hidroxilo (•OH):

Los radicales •OH generados en la fase gaseosa o en la interfase plasma–líquido pueden solubilizarse en el medio acuoso y recombinarse para formar H_2O_2 en la fase líquida:

$$\bullet OH_{\text{fase gas}} \rightarrow \bullet OH_{\text{fase líquida}}$$

$$\bullet OH_{\text{fase líquida}} + \bullet OH_{\text{fase líquida}} \rightarrow H_2O_{2\,\text{fase líquida}}$$

Asimismo, la recombinación de estos radicales puede ocurrir previamente en la fase gaseosa, seguida de la transferencia de masa del H_2O_2 gaseoso hacia el seno del líquido debido a su alta constante de Henry:

$$\bullet OH_{\text{fase gas}} + \bullet OH_{\text{fase gas}} \rightarrow H_2O_{2\,\text{fase gas}} \rightarrow H_2O_{2\,\text{fase líquido}}$$

- Disociación de moléculas de agua inducida por electrones y radiación:

En la interfase plasma–líquido, el impacto de electrones energéticos (e^-) con las moléculas de agua induce su disociación, generando radicales hidroxilo y átomos de hidrógeno reactivos:

$$e^- + H_2O \rightarrow H + \bullet OH + e^-$$

$$e^- + H_2O \rightarrow H + \bullet OH$$

Adicionalmente, la transferencia de energía desde especies de oxígeno excitado puede conducir a la disociación del agua. El oxígeno atómico en estado singlete $O(^1D)$, al colisionar con el agua, es una ruta eficiente de producción de hidroxilos:

$$e^- + O_2 \rightarrow O(^1D) + O(^3P)$$

$$O(^1D) + H_2O \rightarrow 2 \bullet OH$$

donde:

$O(^1D)$= oxígeno atómico en estado electrónico excitado

$O(^3P)$ = oxígeno atómico en estado fundamental

Por otro lado, la radiación ultravioleta (UV) emitida por la descarga contribuye a la fotólisis del agua. Las moléculas de agua absorben fotones energéticos, alcanzando un estado excitado (H_2O^*) que deriva en su ruptura molecular:

$$UV + H_2O \rightarrow H2O*$$

$$UV + H_2O* \rightarrow H + \bullet OH$$

El asterisco indica que la molécula de agua se encuentra en un estado excitado tras absorber radiación ultravioleta, lo cual después lleva a su disociación en radicales.

Los radicales $^\bullet OH$ generados por estos procesos se recombinan posteriormente para formar peróxido de hidrógeno:

$$\bullet OH + \bullet OH \rightarrow H_2O_2$$

2.5.3.2 Formación de Ozono (O_3)

El ozono se sintetiza predominantemente en la fase gaseosa de la descarga mediante la reacción de recombinación entre el oxígeno atómico (O) y el oxígeno molecular (O_2). Este proceso requiere la presencia de una tercera partícula (M), típicamente otra molécula de gas, que actúa como sumidero de energía para estabilizar la molécula de ozono recién formada:

$$O + O_2 + M \rightarrow O_3 +$$

2.6 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

2.6.1 Principios generales

La microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) es una técnica de caracterización microestructural de alta precisión que recorre la superficie de materiales sólidos usando un rayo de electrones fino y perfectamente enfocado. A diferencia de la microscopía óptica convencional, el SEM emplea electrones en lugar de fotones, lo que permite superar el límite de difracción y alcanzar aumentos significativos, proporcionando datos detallados sobre la morfología superficial, la porosidad, la composición elemental y la topografía de la muestra a escala micrométrica y nanométrica [91].

El principio operativo se basa en la generación de un haz de electrones primarios en un cañón de electrones (típicamente de filamento de tungsteno o emisión de campo). El haz de electrones se acelera y se enfoca mediante un conjunto de lentes electromagnéticas (Figura 9). Posteriormente, las bobinas de deflexión generan campos magnéticos variables que controlan la trayectoria de los electrones, obligando al haz a realizar un barrido sistemático (raster scan) sobre un área específica de la muestra [92].

La colisión entre los electrones incidentes y los átomos de la muestra genera distintas señales. Entre ellas destacan los electrones secundarios, útiles para evaluar la topografía superficial, y los electrones retrodispersados, que aportan

información sobre el contraste de composición química. Estas señales son captadas por detectores especializados para procesar y reconstruir la imagen digital.

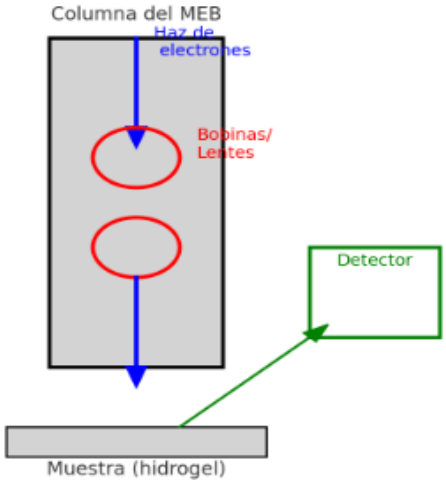


Figura 9 Esquema simplificado de un microscopio electrónico de barrido. Elaboración propia.

2.6.2 Componentes del sistema y señales de interacción

En el sistema SEM, el haz de electrones enfocado choca con los átomos de la superficie de la muestra, lo que produce distintas señales debido a la interacción electrón-materia. Estas señales son registradas por detectores y procesadas digitalmente para reconstruir tanto la topografía como la composición del material. Este proceso se realiza a través de los siguientes componentes principales [93, 94]:

- Cañón de electrones (Fuente): Situado en la parte superior de la columna, se encarga de generar el flujo de electrones primarios, ya sea por emisión termoiónica (usualmente con un filamento de tungsteno) o por emisión de campo.
- Lentes condensadoras: Lentes electromagnéticas que convergen el haz y controlan la corriente de electrones, lo que define el diámetro final del haz incidente.
- Apertura de objetivo: Un diafragma que regula el ángulo de convergencia del haz para optimizar tanto la resolución como la profundidad de campo de la imagen

- Bobinas de deflexión (Escaneo): Dirigen el rayo de electrones de manera ordenada sobre la superficie, trazando un mapa de líneas horizontales (patrón de escaneo o raster) para cubrir toda la muestra.
- Lente objetivo: Es la última lente del sistema y se encarga de enfocar el haz directamente sobre la superficie de la muestra, reduciendo las aberraciones ópticas.
- Cámara de vacío y portamuestras: Plataforma donde se coloca la muestra bajo condiciones de alto vacío, lo cual evita que los electrones se dispersen al chocar con las moléculas de aire.
- Detectores (SE y BSE): Captan los electrones secundarios (SE), clave para observar el relieve y la topografía, o los electrones retrodispersados (BSE), que ayudan a distinguir variaciones en la composición según el número atómico de los elementos presentes.
- Sistema de procesamiento: Dispositivo que amplifica y digitaliza las señales analógicas recibidas para reconstruir y mostrar la imagen en tiempo real en una pantalla.

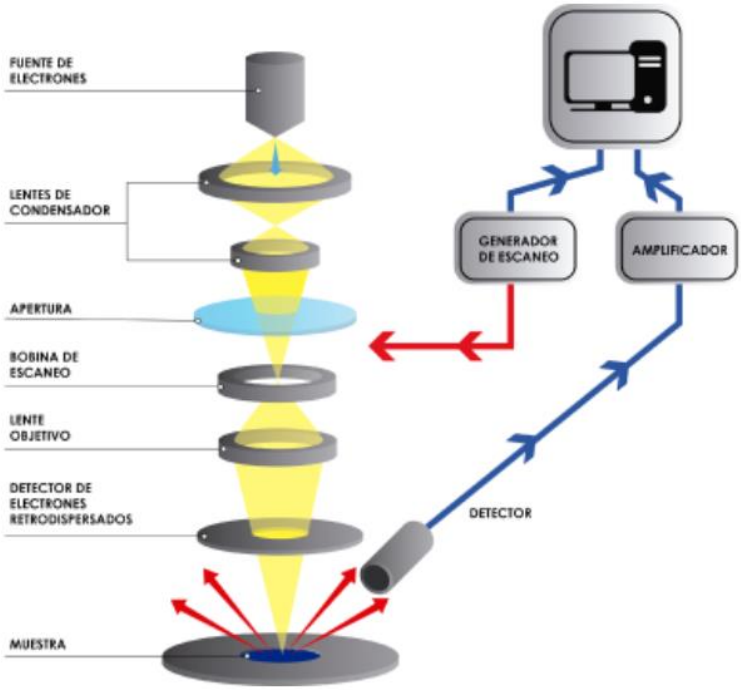


Figura 10 Esquema del SEM, mostrando la generación, enfoque y barrido del haz de electrones, así como la detección de señales para la formación de la imagen. Fuente: Metalinspec, s.f. [95].

La microscopía SEM es una técnica de referencia para la caracterización de hidrogeles, ya que permite identificar parámetros microestructurales determinantes para sus aplicaciones biomédicas. El análisis morfológico mediante SEM proporciona datos cuantitativos y cualitativos sobre la arquitectura porosa, permitiendo evaluar el diámetro del poro y su homogeneidad distributiva en la matriz. Asimismo, facilita la observación de transiciones dimensionales y cambios en la rugosidad superficial derivados de las interacciones polímero-solvente o de la reticulación inducida por plasma. Estas variables microestructurales están intrínsecamente ligadas al comportamiento macroscópico del hidrogel, como su capacidad de hinchamiento y su estabilidad mecánica [11, 96].

2.6.3 Preparación de la muestra: Liofilización y recubrimiento

La observación de especímenes mediante SEM convencional exige que la muestra sea eléctricamente conductora y se encuentre en estado de deshidratación total. Las muestras no conductoras deben recubrirse previamente con una capa nanométrica de metal noble para mitigar la acumulación de carga superficial (*charging effect*) durante la incidencia del haz de electrones primarios [97].

En el caso de los hidrogeles poliméricos, su caracterización representa un desafío técnico debido a su elevado contenido de fase acuosa y su baja rigidez estructural. Estas propiedades los vuelven inestables bajo las condiciones de alto vacío de la cámara del SEM y sensibles al daño por irradiación electrónica. Por ello, la elección del método de secado es fundamental, ya que procedimientos convencionales pueden colapsar la matriz porosa o generar artefactos (estructuras no intrínsecas inducidas por el procesamiento) [98]:

- Secado por liofilización (*Cryodesiccation*): Esta técnica permite la deshidratación del hidrogel mediante la congelación del solvente, seguida de su sublimación a baja temperatura y presiones reducidas. Este proceso remueve el agua libre del sistema sin pasar por la fase líquido-vapor, minimizando las fuerzas de tensión superficial que podrían colapsar los

poros. No obstante, se debe considerar que la cinética de congelación influye en la formación de cristales de hielo, los cuales pueden expandir o distorsionar ligeramente la microestructura original. Pese a esto, la liofilización es el método de referencia para preservar la arquitectura tridimensional y la interconectividad de los poros (Ver figura 11) [99, 100].

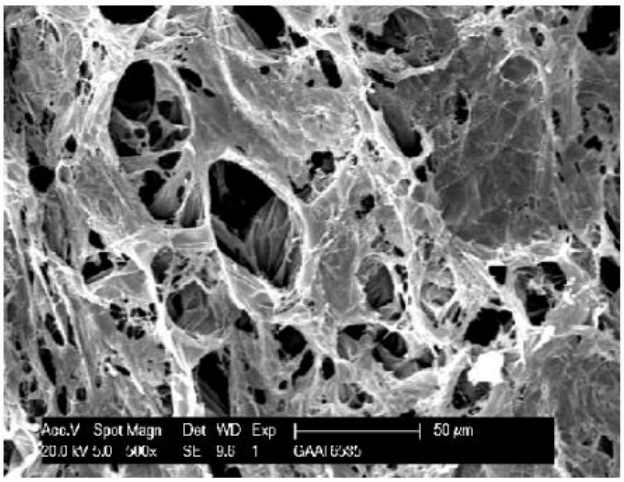


Figura 11 Morfología característica de un hidrogel polimérico tras el proceso de liofilización. Imagen extraída del artículo de Urbina de Navarro et al. 2016 [11].

- Recubrimiento conductor: Debido a la naturaleza aislante de los polímeros, el recubrimiento mediante deposición física de vapor (PVD) por *sputtering* es indispensable. Para ello, este procedimiento utiliza un plasma de gas inerte (generalmente argón) para desprender átomos de un blanco metálico, como oro o aleaciones de oro y paladio (Au/Pd), los cuales se depositan de manera homogénea sobre la superficie del hidrogel. Esta película ultrafina funciona como una vía conductora que drena el exceso de carga eléctrica hacia el portamuestras. Al evitar esta acumulación de electrones, se favorece la emisión de electrones secundarios, lo que mejora el contraste y la resolución de las imágenes obtenidas [101, 102].

Al integrar estas técnicas, el SEM permite determinar si en el material existe una red de poros comunicados y cómo afecta esto su capacidad para absorber o

transportar líquidos. Estas características microestructurales rigen la cinética de difusión de líquidos y el transporte de nutrientes o fármacos a través de la matriz, definiendo las propiedades funcionales del hidrogel en aplicaciones biomédicas [11, 103, 104].

2.6.4 Aplicación en la caracterización de hidrogeles

La microscopía SEM es el método de análisis morfológico predominante en la ciencia de polímeros, ya que su alta resolución permite evaluar parámetros críticos como la homogeneidad de la red, la continuidad superficial y la integridad de la matriz. Estas observaciones son indicadores directos de la estabilidad estructural del material, permitiendo identificar fenómenos de compactación o colapsos parciales que podrían comprometer la funcionalidad del hidrogel [103, 105].

El estudio de la arquitectura porosa (tamaño, geometría y distribución de poros) es vital para determinar la viabilidad del material en aplicaciones biomédicas específicas:

- Liberación controlada de fármacos: Existe una correlación estricta entre el diámetro de poro y el radio hidrodinámico de las moléculas del fármaco. Esta porosidad puede modularse durante la síntesis mediante la variación de la concentración de precursores o la adición de agentes porogénicos, permitiendo un control preciso sobre la cinética de liberación [106, 107].
- Absorción y capilaridad: En hidrogeles híbridos, la porosidad influye en la uniformidad de la dispersión de la fase inorgánica dentro de la matriz orgánica. Los materiales denominados "superabsorbentes" se caracterizan por poseer una porosidad interconectada que optimiza el transporte de fluidos mediante efectos de capilaridad, asegurando una distribución eficiente de líquidos en toda la estructura tridimensional [108, 109].

Un factor determinante en esta arquitectura es el grado de reticulación (*cross-linking*). Se ha demostrado que una reducción en el tamaño de poro —

frecuentemente asociada a un incremento en la densidad de reticulación— conlleva una disminución en la capacidad de hinchamiento (*swelling capacity*) debido a la reducción del volumen libre disponible para el alojamiento de moléculas de agua en la red polimérica [96].

Es imperativo subrayar que las micrografías SEM revelan la morfología del hidrogel en estado xerogel (seco), la cual puede presentar variaciones respecto a su conformación en condiciones de hidratación o equilibrio fisiológico. Por lo tanto, la interpretación de estas imágenes debe realizarse bajo un enfoque comparativo y, preferencialmente, complementarse con ensayos de hinchamiento o técnicas de caracterización en estado solvatado, para obtener una comprensión integral del comportamiento del biomaterial en su entorno de aplicación final.

2.7 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

2.7.1 Principios fundamentales de la difracción de rayos X

A diferencia del espectro visible, los rayos X son una forma de radiación electromagnética ionizante de alta energía y longitud de onda corta (λ ~ 0.01 a 1 nm), lo que les permite penetrar cuerpos opacos y analizar la materia a escala atómica. La difracción de rayos X es capaz de revelar detalles de la estructura interna de los materiales con una resolución cercana a los 0.1 nm (10^{-8} cm) [110].

La técnica de difracción de rayos X (XRD) es un método analítico no destructivo fundamental para la caracterización de fases. Este análisis aprovecha la interacción elástica de un haz de rayos X monocromático con los electrones de los átomos dispuestos en la muestra, lo que permite identificar fases minerales u orgánicas, estimar el ordenamiento de la red y evaluar la estructura interna del material [111, 112].

El principio básico de la XRD se ilustra en la Figura 12. Un haz incidente de rayos X impacta sobre el espécimen y se dispersa en múltiples direcciones debido a la

interacción con los átomos presentes. Cuando las ondas dispersadas cumplen condiciones específicas de fase, ocurre una interferencia constructiva que genera un máximo de intensidad en direcciones particulares. Un detector registra esta señal en función del ángulo de difracción (2θ) [113].

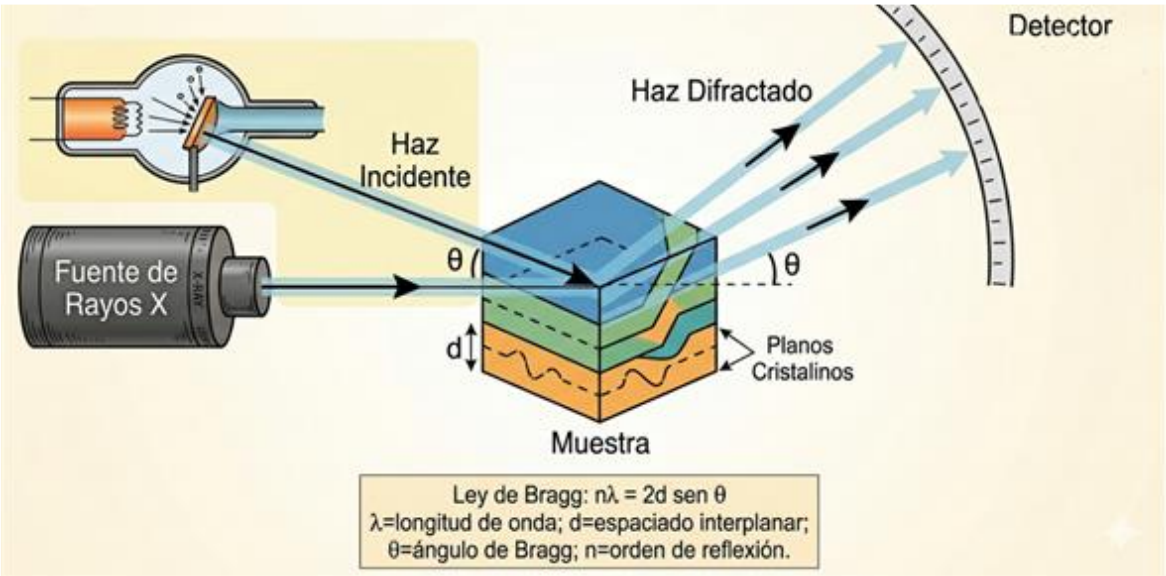


Figura 12 Esquema representativo del funcionamiento de la técnica de difracción de rayos X. Elaboración mediante el modelo de IA Gemini (Google), basada en instrucciones del autor.

Este fenómeno se rige por la Ley de Bragg, la cual establece la condición necesaria para que ocurra la difracción. Esta relación vincula la longitud de onda de la radiación incidente con la distancia interplanar de la red mediante la siguiente ecuación [110]:

$$n\lambda = 2dsin\theta$$

donde:

n: Orden de difracción (número entero).

λ: Longitud de onda de los rayos X.

d: Distancia entre los planos atómicos (espaciamiento interplanar).

θ: Ángulo de incidencia (ángulo de Bragg) formado entre el haz y los planos.

Esta ecuación resulta fundamental, ya que permite transformar los datos experimentales obtenidos de los picos de difracción (ángulos 2θ) en distancias

interatómicas (d), lo que facilita la identificación de la huella digital estructural del material.

2.7.2 Geometría Bragg-Brentano

La configuración Bragg-Brentano es la geometría estándar en difractómetros de laboratorio debido a su alta resolución y eficiencia en la recolección de datos [114, 115]. En esta disposición, ilustrada en la Figura 13, la fuente de rayos X y el detector se desplazan de manera sincrónica manteniendo una relación angular constante respecto a la muestra.

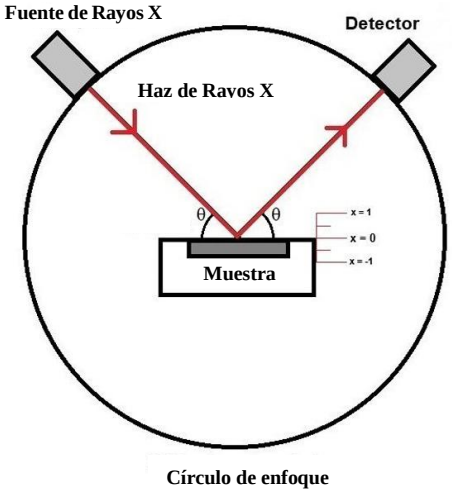


Figura 13 Geometría Bragg-Brentano. Imagen extraída del artículo de Tyc (2025) [116].

Con el propósito de optimizar la intensidad y la resolución del análisis, la fuente, la muestra y el detector se disponen sobre un círculo de enfoque denominado círculo de Rowland. El barrido angular permite registrar la difracción proveniente de los planos atómicos que se encuentran orientados de forma paralela a la superficie del material.

En el estudio de hidrogeles, esta técnica resulta de gran utilidad para evaluar el ordenamiento estructural, la posible presencia de fases cristalinas dispersas o los cambios en el carácter amorfo de la matriz polimérica. La presencia de picos

estrechos y definidos indica una estructura ordenada (cristalina), mientras que la aparición de halos difusos es característica de una estructura desordenada (amorfa). Esta diferenciación estructural es fundamental para correlacionar la organización molecular con propiedades fisicoquímicas como la capacidad de hinchamiento y la degradación enzimática [116].

2.7.3 Aplicación en la caracterización de hidrogeles

El análisis por XRD permite discriminar entre dominios cristalinos y amorfos dentro de la matriz polimérica. Mientras que los materiales con un orden atómico de largo alcance producen picos de difracción agudos y definidos, los materiales amorfos (que solo poseen un orden de corto alcance) se manifiestan mediante un halo de difracción o bandas anchas en el difractograma. Esta distinción es clave para evaluar el grado de organización molecular en el hidrogel [117].

A fin de garantizar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados, la muestra debe presentar una superficie homogénea y estable durante la medición. En el caso particular de los hidrogeles, esto requiere procesar el material previamente hasta su estado de xerogel (deshidratado) o transformarlo en un polvo fino. Este tipo de preparación disminuye la dispersión de fondo provocada por el solvente y favorece una interacción efectiva del haz de rayos X con la red polimérica.

En hidrogeles sintetizados a partir de polímeros orgánicos, el patrón de difracción obtenido es típicamente amorfo o semicristalino. El proceso de entrecruzamiento (*cross-linking*) introduce restricciones geométricas que dificultan el empaquetamiento ordenado de las cadenas, resultando en gráficos caracterizados por halos difusos. Sin embargo, en sistemas de hidrogeles compuestos o híbridos que incorporan rellenos cristalinos (como nanopartículas metálicas, sales, óxidos o nanocelulosa), el difractograma exhibirá una superposición de señales: el halo de la matriz polimérica y los picos de Bragg específicos de la fase dispersa cristalina [14, 37, 118-121].

Esta dualidad en el patrón de difracción permite no solo confirmar la presencia del aditivo, sino también estimar de manera cualitativa si el proceso de síntesis o el tratamiento con plasma han alterado la cristalinidad original del polímero (ver figuras 14 y 15).

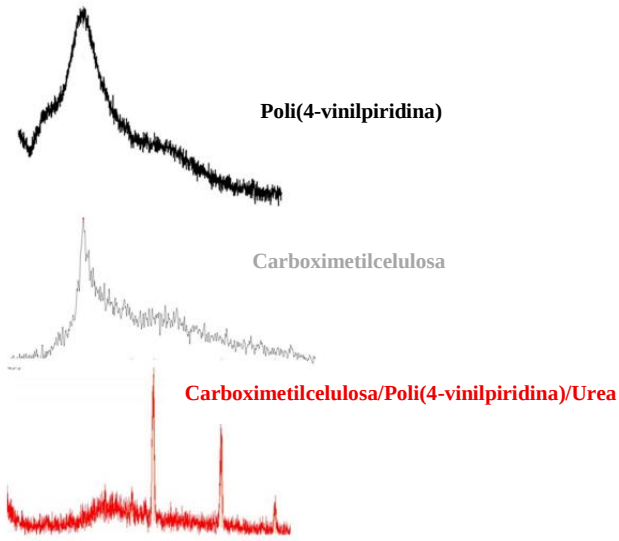


Figura 14 Gráfico de XRD de polímeros P4VP, CMC e hidrogel de CMC/P4VP/urea a un ángulo de 2θ. Imagen extraída del artículo de Mohamed et al. 2022 [14].

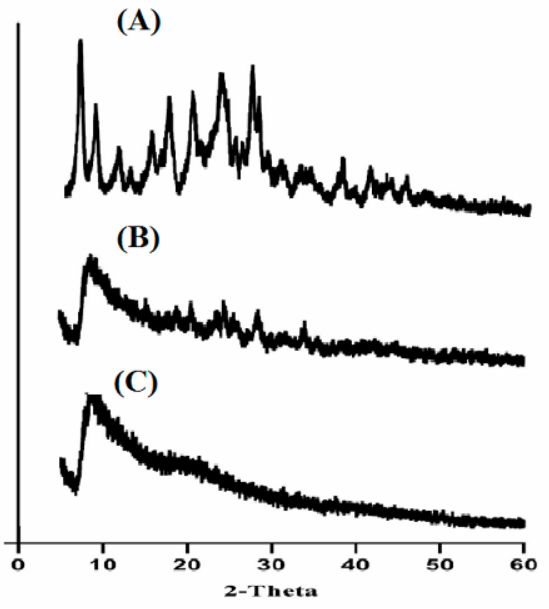


Figura 15 Gráfico de XRD de (A) Fármaco de diclofenaco sódico, (B) Car934-g-poli (ácido acrílico) sin carga del fármaco y (C) Car934-g-poli (ácido acrílico) cargado con el fármaco. Imagen extraída del artículo de Suhail et al. 2020 [118].

2.7.4 Potencial y desafíos de la técnica en biomateriales

A pesar de sus restricciones intrínsecas en materiales desordenados, la XRD es una herramienta indispensable para identificar fases cristalinas en sistemas compuestos, confirmar la integración de aditivos y monitorear el impacto de las modificaciones estructurales derivadas de la síntesis o el tratamiento con plasma. Al ser una técnica típicamente no destructiva y operativa a presión atmosférica, facilita el análisis de la estabilidad de la red polimérica sin comprometer la integridad química de la muestra [14, 110, 112].

En el desarrollo de hidrogeles híbridos, la XRD permite caracterizar la dimensión y disposición de los dominios cristalinos. Esta información es de vital relevancia, ya que el grado de cristalinidad influye directamente en las propiedades mecánicas (módulo elástico), la estabilidad hidrolítica y la cinética de degradación. Estos factores definen la biocompatibilidad y el comportamiento del material al entrar en contacto con el entorno biológico, ya sea mediante su implantación o por aplicación tópica.

De este modo, la XRD se comprende como una técnica de gran utilidad para caracterizar matrices orientadas a la liberación controlada de fármacos, el diseño de dispositivos médicos y la ingeniería de tejidos. No obstante, su aplicación en hidrogeles presenta limitaciones metodológicas importantes:

- Estado de hidratación: El alto contenido de agua en los hidrogeles dificulta la obtención de perfiles de difracción claros, debido a que el solvente actúa como un medio amorfo que genera un ruido de fondo significativo que debilita la señal del haz incidente. Por este motivo, el análisis del material en estado hinchado suele verse limitado en equipos de difracción convencionales.
- Artefactos por procesamiento: Procedimientos de secado necesarios como la liofilización, pueden inducir cambios en el empaquetamiento de las

cadenas poliméricas, alterando la microestructura original respecto al estado hidratado.

- Carácter amorfo predominante: La mayoría de los biopolímeros utilizados en hidrogeles (como los derivados de la celulosa o alginatos) poseen un carácter intrínsecamente amorfo, lo que restringe la información estructural obtenible a la observación de halos de difracción, requiriendo el uso de técnicas complementarias para un análisis integral.



JUSTIFICACIÓN

3. JUSTIFICACIÓN

El estudio de matrices poliméricas en estado de gel es un área de gran interés debido a la versatilidad y adaptabilidad que ofrecen estos materiales. Actualmente, el uso de tecnologías basadas en plasma atmosférico frío (CAP), en particular la descarga de barrera dieléctrica (DBD), se presenta como una alternativa viable para modificar las propiedades de estos sistemas sin alterar su biocompatibilidad, ya que evita el uso de agentes reticulantes químicos que suelen ser tóxicos.

Por otro lado, aunque los líquidos activados por plasma (PAL) ya se utilizan en áreas como la agroindustria y el tratamiento de aguas, su incorporación en la formulación de hidrogeles es un campo poco explorado. Es necesario entender cómo las especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS) interactúan con las cadenas del polímero y modifican la estructura del material, lo que podría traducirse en hidrogeles con mayor estabilidad mecánica y mejores propiedades biológicas.

Esta investigación surge ante la falta de información detallada sobre el efecto del agua activada por plasma (PAW) en la estructura tridimensional de los hidrogeles. Comprender cómo influyen estas especies químicas en el comportamiento del gel es un paso indispensable para asegurar que los materiales obtenidos sean seguros y eficaces en aplicaciones biomédicas.

Para lograrlo, este trabajo plantea una caracterización sistemática de los hidrogeles mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) para analizar la morfología superficial, y Difracción de Rayos X (XRD) para evaluar los cambios en el ordenamiento estructural. Con esto, se busca aportar datos sólidos que apoyen el desarrollo de nuevas metodologías basadas en plasmas no-térmicos para su uso en la liberación de fármacos y la ingeniería de tejidos.



HIPÓTESIS

4. HIPÓTESIS

La integración de agua activada por plasma (PAW) como fase líquida en la síntesis de hidrogeles basados en matrices poliméricas no inducirá alteraciones significativas en la morfología superficial, la arquitectura de poros ni en el grado de ordenamiento estructural (cristalinidad), en comparación con los hidrogeles formulados mediante métodos convencionales utilizando agua destilada. Por consiguiente, la apariencia física y las propiedades estructurales evaluadas mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Difracción de Rayos X (XRD) se mantendrán invariables independientemente del tratamiento del solvente precursor.



OBJETIVOS

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del agua activada por plasma (PAW) en la microestructura y el ordenamiento estructural de hidrogeles basados en polímeros gelificantes, utilizando Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Difracción de Rayos X (XRD), para establecer cómo influye el solvente activado en la estabilidad de la red polimérica.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Preparación y evaluación de los hidrogeles: Formular hidrogeles utilizando alginato de sodio, carboximetilcelulosa (CMC) y carbómero (Carbopol) disueltos en agua destilada y en agua activada por plasma (PAW), comparando su capacidad de gelificación y estabilidad física inicial.
- Caracterización morfológica por SEM: Analizar mediante microscopía electrónica de barrido los precursores puros y también la morfología superficial, la dimensión de los poros y la homogeneidad de los hidrogeles secos (xerogeles), relacionando estos cambios estructurales con el tipo de agua empleada para su síntesis.
- Análisis estructural por XRD: Determinar el perfil de difracción de rayos X en los precursores puros, en los hidrogeles convencionales y en los sistemas preparados con PAW, con el fin de identificar posibles variaciones o cambios en el carácter amorfo de la matriz polimérica debido a las especies reactivas provenientes del tratamiento con plasma.
- Correlación de propiedades: Asociar los resultados de microscopía electrónica y difracción de rayos X para comprender de qué manera las especies químicas presentes en el PAW alteran o conservan la estructura tridimensional del hidrogel.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 MATERIALES Y REACTIVOS

Para la síntesis de las matrices poliméricas se utilizaron reactivos de grado analítico y grado cosmético, seleccionados por su cinética de disolución óptima y estabilidad al conformar la red del hidrogel. Los materiales empleados se especifican a continuación:

- Alginato de sodio y carboximetilcelulosa (CMC): Polímeros de origen natural, adquiridos en Botica La Moderna.
- Carbopol® 940 (ácido poliacrílico): Polímero de carácter sintético, adquirido en Gardenia Naturals Laboratorio Cosmético.
- Trietanolamina (TEA): Agente neutralizante y regulador de pH, utilizado para favorecer la gelificación y estabilidad de las redes poliméricas, suministrado por Botica La Moderna.

La elección de estas materias primas y proveedores se sustentó en pruebas previas de solubilidad, viscosidad y homogeneidad, con el propósito de asegurar la reproducibilidad en la preparación de cada uno de los hidrogeles.

6.2 INSTRUMENTACIÓN Y EQUIPOS DE MEDICIÓN

La caracterización fisicoquímica inicial de las muestras y del agua activada se realizó mediante instrumentación de precisión para asegurar la trazabilidad de los datos:

- Medidor multiparámetros digital: Se empleó un equipo *HANNA Instruments* para la determinación de parámetros críticos en los líquidos y geles.
- Electrodos de medición:
    - Electrodo de pH para la cuantificación de la acidez/alcalinidad del medio.

  - Electrodo de oxígeno disuelto para el monitoreo de la actividad gaseosa tras el tratamiento con plasma.
- Soluciones de mantenimiento: Para garantizar la precisión de las lecturas, se utilizaron soluciones de almacenamiento y calibración específicas de *HANNA Instruments* para la preservación de las membranas de los electrodos.

6.3 CONFIGURACIÓN DEL SISTEMA DE DESCARGA DE BARRERA DIELÉCTRICA (DBD)

Para la activación del agua mediante plasma no-térmico, se implementó un sistema de descarga de barrera dieléctrica (DBD). En la Figura 16 se presenta el diagrama esquemático simplificado de la configuración experimental utilizada en esta investigación, detallando la disposición de los electrodos y la barrera aislante necesaria para la estabilización de la descarga a presión atmosférica. El sistema consta de una fuente de potencia de alto voltaje conectada a un electrodo activo, mientras que el contraelectrodo permanece conectado a tierra, separados por un material dieléctrico que evita la formación de arcos eléctricos y permite una distribución homogénea de las especies reactivas sobre la superficie del líquido.

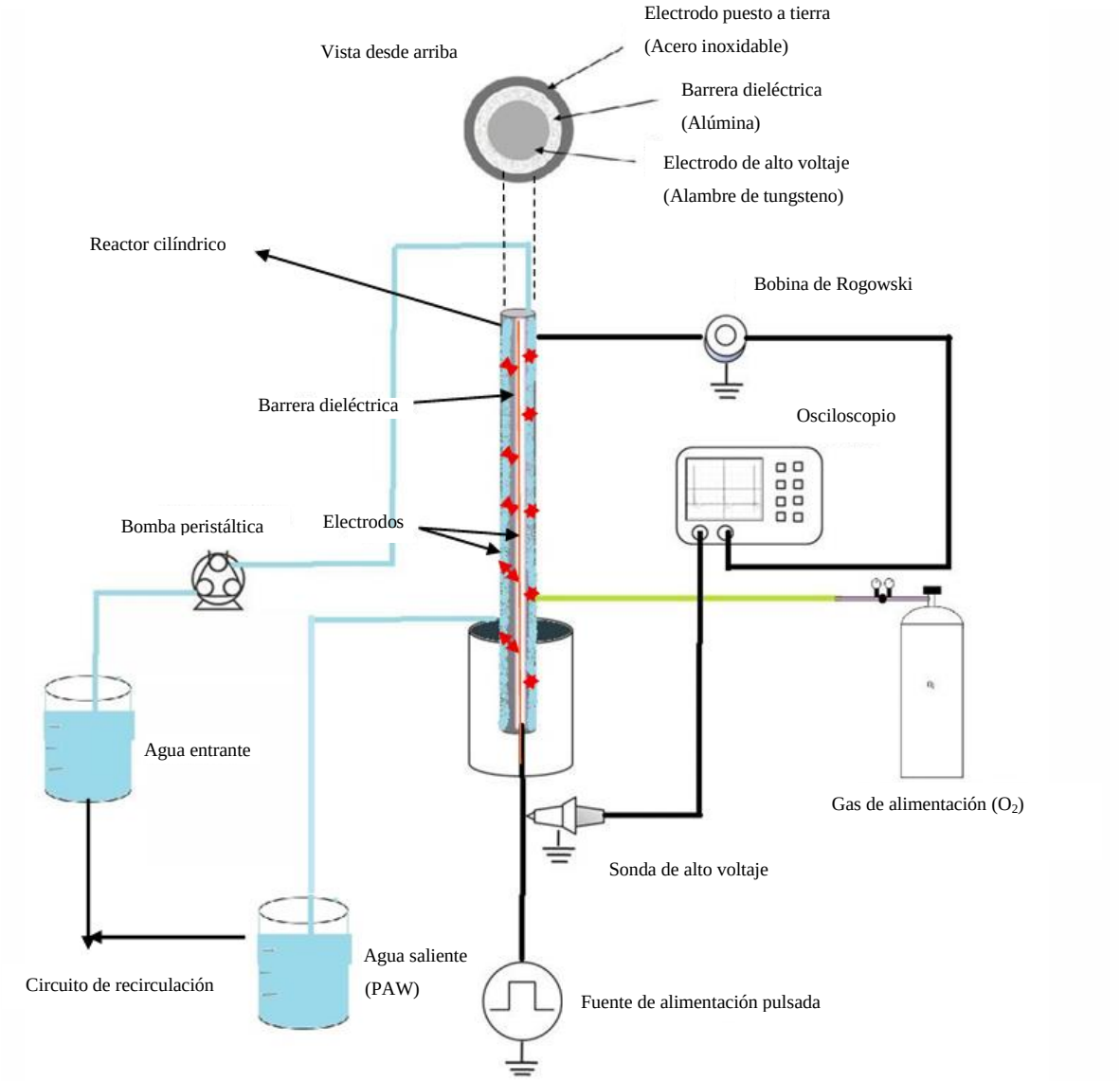


Figura 16 Sistema de Descarga de Barrera Dieléctrica simplificado.

El proceso de activación ocurre cuando el agua entra en contacto directo con la descarga en la zona de reacción, facilitando el transporte de masa de las especies reactivas desde la fase gaseosa hacia la fase líquida. En la Tabla 6 se detallan los componentes del sistema y su función específica dentro de la configuración experimental (Figura 17).

Tabla 6 Especificaciones técnicas de los componentes del sistema de descarga de barrera dieléctrica (DBD).

Elemento	Función
Circuito de recirculación	Sistema de flujo cerrado que permite la exposición continua del agua al plasma, garantizando una activación homogénea del volumen total. • Corriente de entrada: DW o PAW recirculada • Corriente de salida: PAW • Modo de operación: Recirculación manual en reactor cerrado
Bomba peristáltica	Dispositivo de bombeo encargado de regular el caudal de alimentación del líquido hacia la cámara de reacción.
Reactor de plasma	Cámara de configuración cilíndrica diseñada para contener el gas precursor y facilitar la interacción directa entre las especies del plasma y la superficie del líquido.
Electrodos	Arreglo coaxial compuesto por un electrodo interno de alta tensión de wolframio (tungsteno) y un electrodo cilíndrico externo de acero inoxidable conectado a tierra.
Barrera dieléctrica	Tubo de alúmina (Al_2O_3) que recubre el electrodo interno para limitar la corriente de descarga y evitar la formación de un arco térmico.
Fuente de potencia pulsada	Suministro eléctrico de alto voltaje que genera pulsos de alto voltaje para lograr la ionización del gas precursor (O_2).
Sonda de alto voltaje	Transductor de medición encargado de monitorear la amplitud y estabilidad del potencial eléctrico aplicado.
Gas de alimentación (O_2)	Precursor gaseoso de alta pureza utilizado para la generación selectiva de especies reactivas de oxígeno (ROS).
Osciloscopio digital	Instrumentación de diagnóstico para el monitoreo en tiempo real de las formas de onda de voltaje y corriente.
Bobina de Rogowski	Sensor de corriente de alta frecuencia que permite cuantificar la corriente de descarga sin interferir con el circuito eléctrico.
Zona de descarga	Espacio entre los electrodos donde se genera el plasma no-térmico y se forman las especies reactivas.

Fuente: Elaboración propia

El protocolo de activación del agua se realizó bajo condiciones operativas controladas. El tratamiento se llevó a cabo aplicando un voltaje de 15 kV con una frecuencia de pulso de 500 Hz. El tiempo de exposición para cada muestra de agua fue de 3 minutos, manteniendo un flujo de alimentación continuo desde la parte superior del reactor. Como gas precursor se utilizó oxígeno (O_2), el cual fue inyectado en la sección inferior del reactor manteniendo un flujo constante de 0.5 L/min mediante un rotámetro de precisión.



Figura 17 Sistema de DBD para la generación de PAW.

6.4 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

6.4.1 Obtención del agua activada por plasma (PAW)

La secuencia operativa y la integración de los componentes del sistema DBD se detallan de manera sistemática en el siguiente diagrama de flujo (Figura 18):

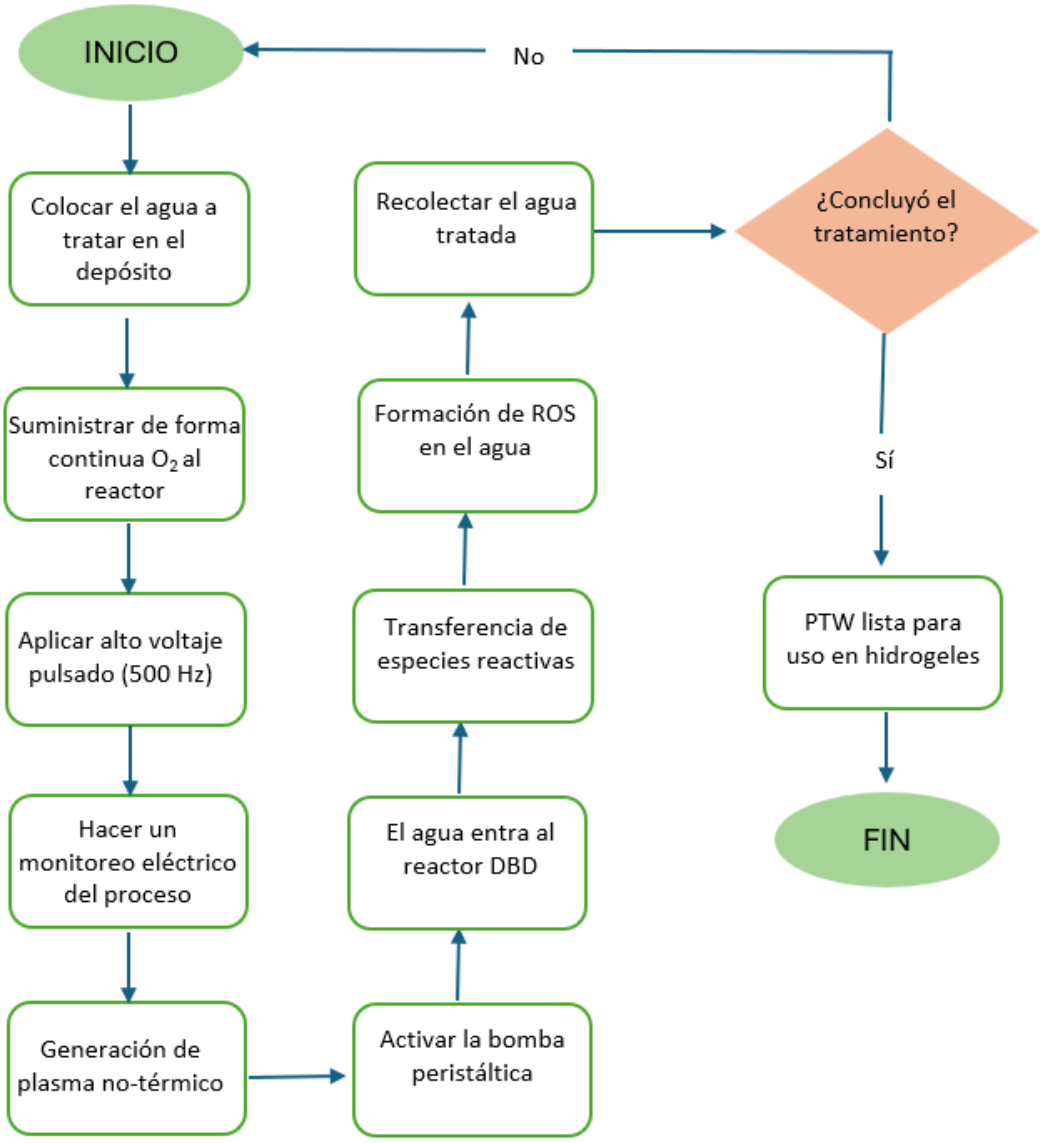


Figura 18 Diagrama de flujo de proceso de la obtención de PAW.

6.4.2 Protocolo de síntesis de hidrogeles

Tras la obtención del agua activada (PAW), se procedió a la síntesis de las matrices poliméricas. El proceso se rigió por un control gravimétrico estricto para asegurar la precisión de las concentraciones en el hidrogel final. En la Figura 19 se detalla el flujo operativo seguido, donde se estandarizó un peso total de 50 g para cada formulación, ajustando la fracción másica del solvente según los requerimientos de cada polímero.

Para cada variante polimérica (alginato, Carbopol y CMC), se prepararon muestras por duplicado utilizando tanto agua destilada (DW) como control, como PAW como variable activa. Las proporciones empleadas para alcanzar el gramaje objetivo de 50 g se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7 Composición gravimétrica de las formulaciones de hidrogel.

Polímero	**Solvente empleado**	**Peso del Polímero (g)**	**Peso del Solvente (g)**	**Peso Total (g)**
Carbopol 940	DW	0.331	46.7 + 3.35 TEA	50.381
	PAW	0.34	46.7 + 3.35 TEA	50.39
Carboximetilcelulosa (CMC)	DW	1.504	48.5	50.004
	PAW	1.5	48.5	50
Alginato de sodio	DW	1.012	49	50.012
	PAW	1.073	49	50.073

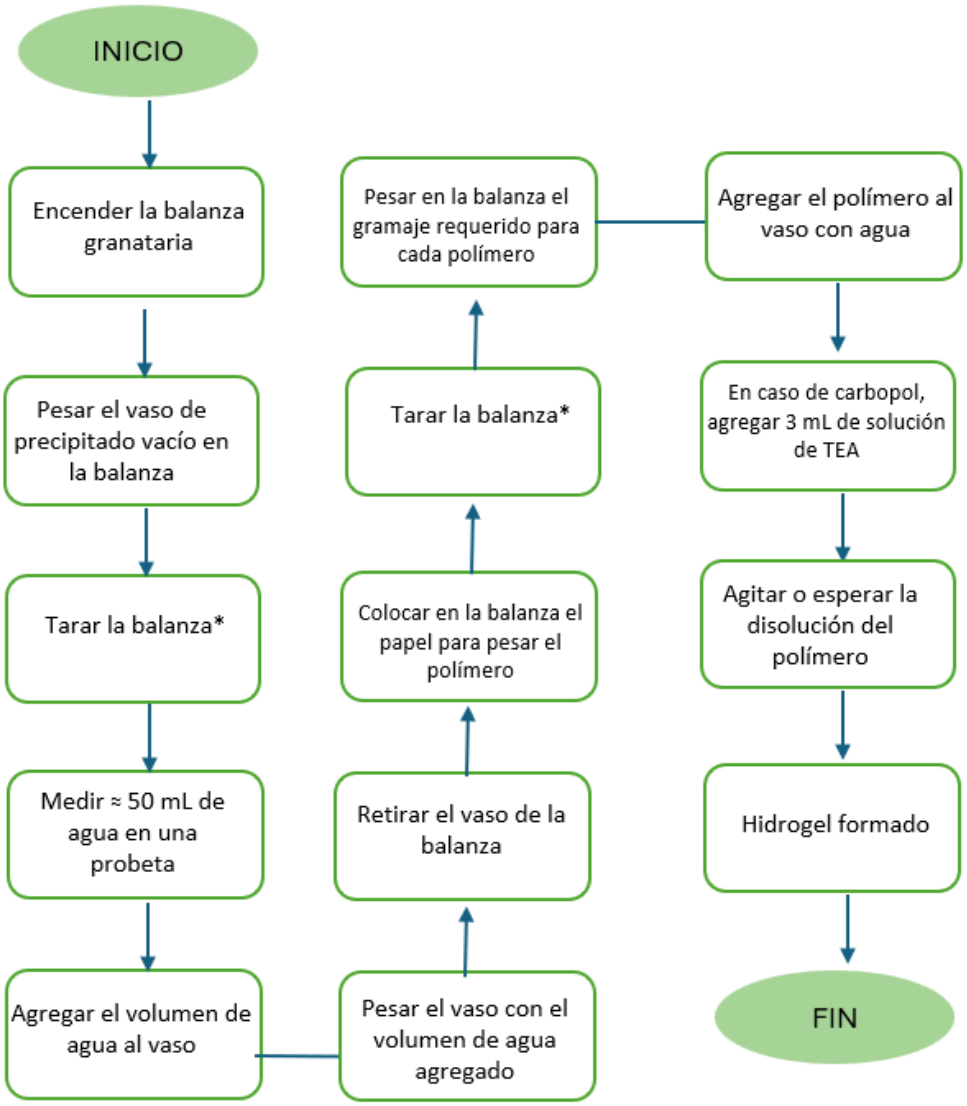


Figura 19 Diagrama de flujo de la preparación de hidrogeles.

**Tarar la balanza: Poner en cero la lectura eliminando el peso del contenedor.*

El procedimiento técnico consistió en la dispersión del polímero en el solvente bajo agitación controlada hasta alcanzar la completa solvatación de las cadenas. En el caso específico del Carbopol 940, la red polimérica se estabilizó mediante la adición de 3 mL de una solución de Trietanolamina (TEA), actuando como agente neutralizante para facilitar la transición de sol a gel.

Finalmente, la caracterización fisicoquímica de los hidrogeles resultantes (pH, conductividad y potencial redox) se llevó a cabo utilizando un multiparámetro de alta precisión *Hanna Instruments modelo HI 9828* (Figura 20).



Figura 20 Multiparámetro Hanna con sus respectivos electrodos.

6.4.3 Caracterización fisicoquímica de las matrices

La determinación de las propiedades iniciales de los hidrogeles es fundamental para cuantificar el impacto del plasma en la fase líquida. En la Figura 21 se presenta el diagrama de flujo detallado que describe el protocolo sistemático seguido para la adquisición de parámetros fisicoquímicos en cada una de las formulaciones obtenidas.

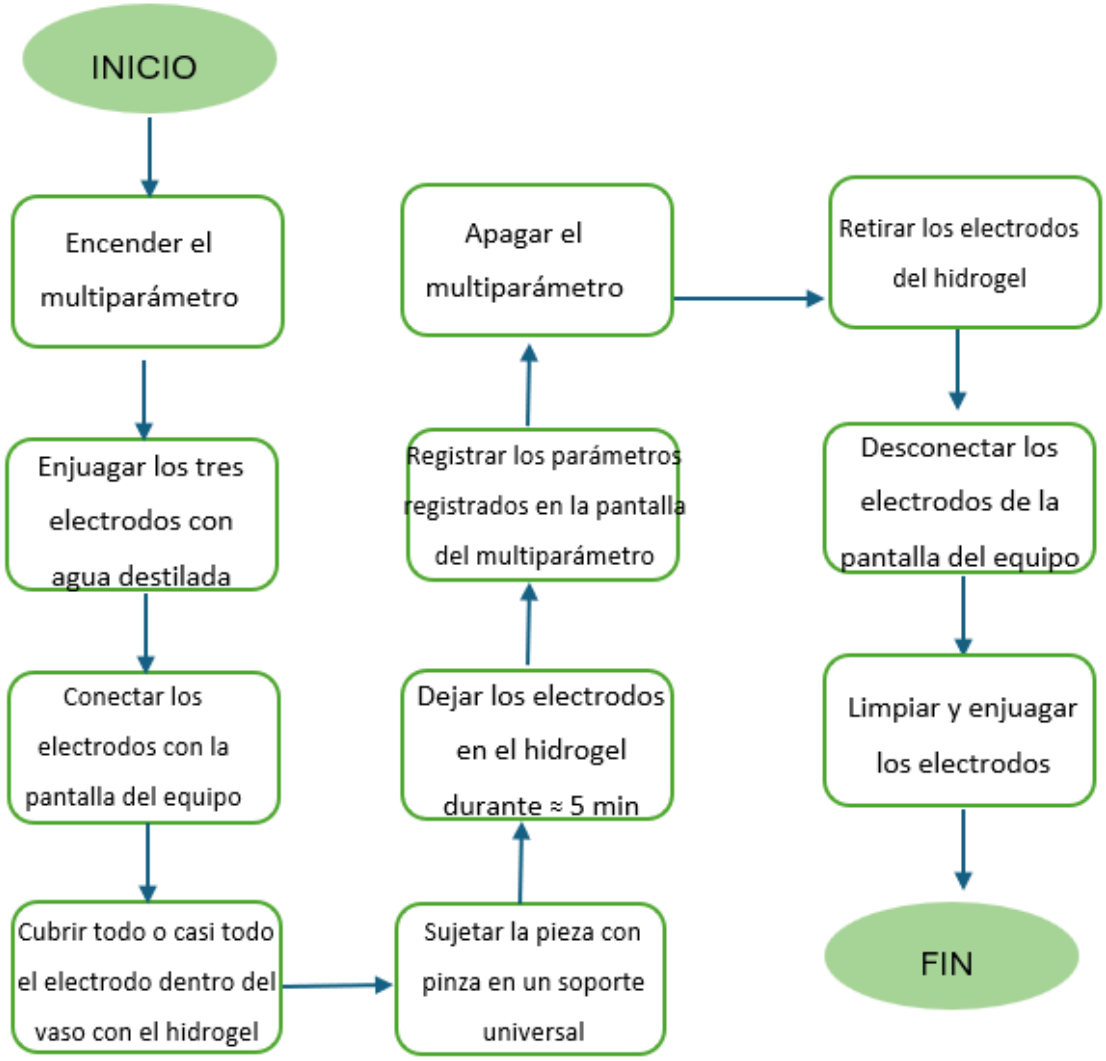


Figura 21 Diagrama de flujo de la medición de parámetros del hidrogel.

6.4.4 Optimización del proceso de deshidratación para análisis estructural

Dada la naturaleza altamente hidratada de las matrices, la estabilización de la estructura porosa para el análisis por SEM y XRD requirió de una fase de optimización de los métodos de secado. Se realizaron diversos protocolos experimentales para mitigar el colapso de la red polimérica:

a. Secado térmico al vacío: Se evaluó la deshidratación en horno a bajas temperaturas bajo presión reducida.

b. Gradiente de solvente: Se aplicaron series de deshidratación química mediante sustitución con etanol en concentraciones crecientes (50% - 100% v/v).
c. Pruebas preliminares de secado por congelación: Inicialmente se realizaron ensayos de liofilización en un equipo marca Christ, aplicando un pretratamiento de congelación rápida por inmersión indirecta en nitrógeno líquido (N_2) durante 5 minutos (Anexos II y III).

Debido a los artefactos estructurales y el colapso observado en las muestras durante estas pruebas previas (Anexos IV y V), el protocolo definitivo se estandarizó en un liofilizador Heto Drywinner. Bajo este procedimiento, los hidrogeles congelados se sometieron a sublimación controlada durante un periodo continuo de 48 horas, lo que permitió preservar la estructura interna del material (Figura 22).



a) b)

Figura 22 Equipo liofilizador Heto Drywinner. a) Bomba de vacío y liofilizadora apagada con válvulas cerradas y b) Liofilizadora encendida, con válvulas abiertas y con viales montados.

6.4.5 Preparación y montaje de especímenes liofilizados

La técnica de montaje se estandarizó según la naturaleza de cada polímero para optimizar la resolución en el análisis posterior. Para los hidrogeles de CMC, se empleó una microgota liofilizada fijada al portamuestras mediante cinta conductiva de aluminio. Para el caso del alginato de sodio y el Carbopol, las muestras se procesaron directamente dentro de viales, llenando los contenedores hasta la mitad de su capacidad. Este volumen se mantuvo tras el secado por congelación, lo que facilitó el seccionamiento posterior de las muestras y la observación de su estructura interna.

El proceso se realizó bajo las condiciones de presión y temperatura especificadas en la Tabla 8, operando por debajo del punto triple del agua para garantizar la sublimación del solvente.

Tabla 8 Parámetros operacionales del sistema de liofilización.

Fase del Proceso	Temperatura (°C)	Presión (Pa)
Condiciones iniciales	-59	42.8
Condiciones finales	-61	29.7

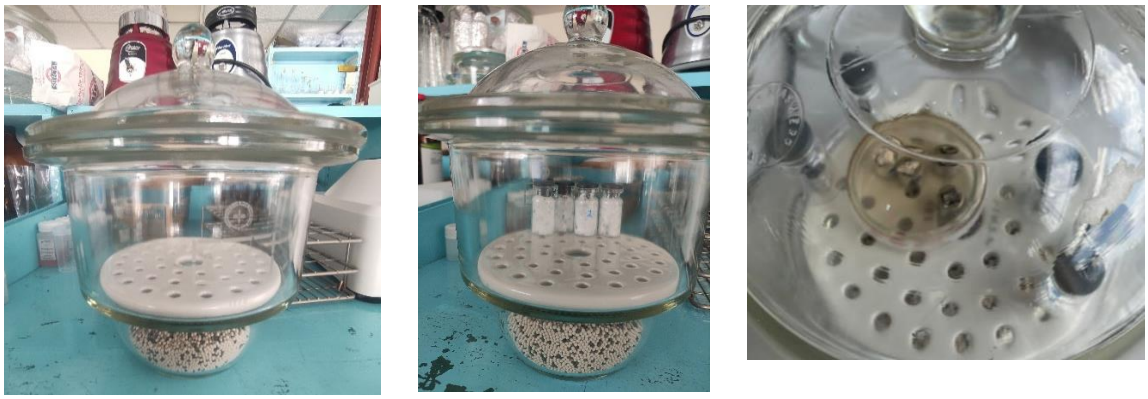
Durante el inicio del vacío en la cámara, la caída repentina de presión provocó una desgasificación rápida del solvente ("burbujeo") y una ligera expansión volumétrica en los geles. Este gradiente de presión indujo una congelación rápida (instant freezing) por enfriamiento evaporativo, lo que permitió fijar la morfología tridimensional de la matriz de manera inmediata (Figura 23).



a) b) c) d)

Figura 23 (a) Inicio del burbujeo en el hidrogel liofilizado, (b) hidrogel absorbido por el vacío, (c) inicio de congelamiento del hidrogel y (d) hidrogel completamente congelado.

Tras completar el ciclo de 48 horas, las muestras liofilizadas se transfirieron de inmediato a un desecador con gel de sílice (Figura 24). Esta medida es crítica para prevenir la rehidratación higroscópica de la matriz porosa, manteniendo la integridad de los poros antes de su caracterización mediante SEM y XRD.



a) b) c)

Figura 24 (a) Desecador y (b), (c) desecador con muestras liofilizadas.

La integración cronológica de las etapas de congelación, descompresión y sublimación, que constituyen el protocolo de liofilización, se detalla sistemáticamente en el diagrama de flujo de la Figura 25. Este esquema permite visualizar la transición del hidrogel desde su estado solvatado hasta la obtención de un xerogel estructuralmente estable.

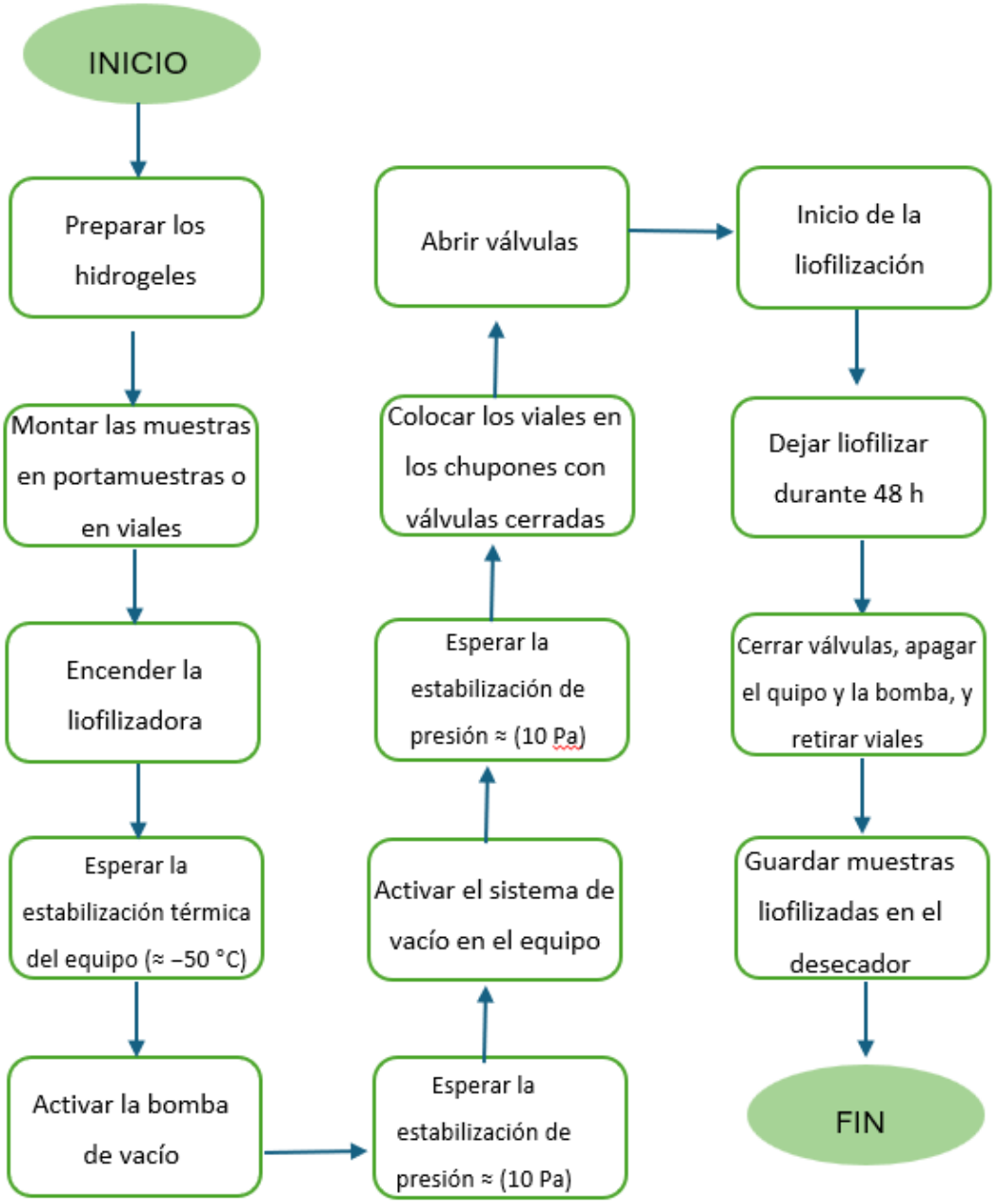


Figura 25 Diagrama de flujo de proceso de la liofilización de los hidrogeles.

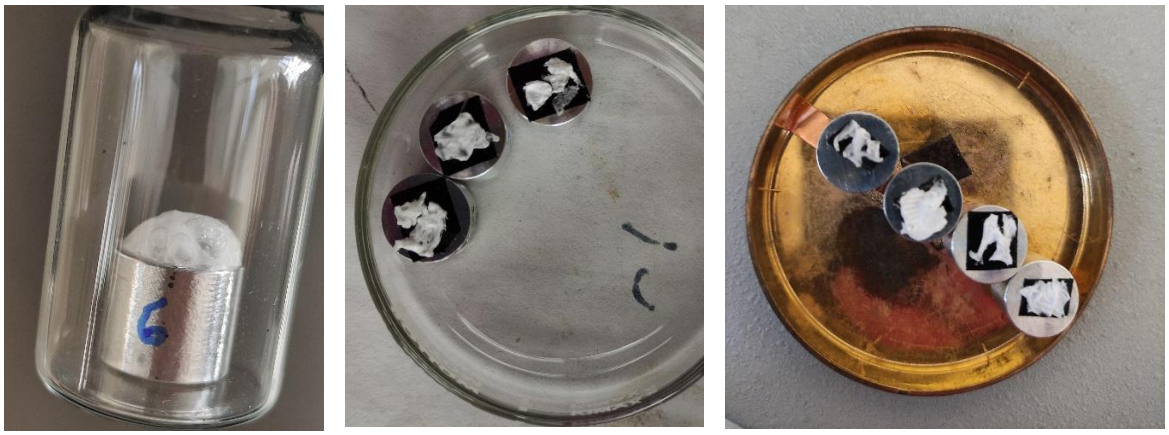
6.5 PROTOCOLOS DE CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y MORFOLÓGICA

Una vez concluido el proceso de liofilización, los especímenes se encuentran estabilizados para su caracterización a microescala. Debido a la naturaleza aislante

de las matrices poliméricas, se requiere una preparación específica para mitigar los efectos de carga eléctrica durante el análisis.

6.5.1 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Para el análisis por SEM, las muestras de CMC se montaron directamente desde el liofilizado hecho sobre cinta de aluminio. En el caso de los hidrogeles de alginato de sodio y Carbopol, se seccionaron láminas representativas que fueron fijadas en portamuestras metálicos, montadas sobre cinta conductiva de carbono, garantizando la estabilidad mecánica y eléctrica del espécimen bajo condiciones de alto vacío (Figura 26).



a) b) c)

Figura 26 Muestras liofilizadas montadas para el análisis por SEM de: (a) CMC, (b) alginato de sodio y (c) carbopol.

Previo a la observación, las muestras fueron sometidas a un proceso de *sputtering* (deposición física de vapor) en un sistema *Denton Vacuum Desk II* (Figura 27), recubriéndolas con una capa nanométrica de oro (Au). Este procedimiento es crítico para incrementar la emisión de electrones secundarios y mejorar la resolución de la imagen.



Figura 27 Equipo de sputtering Denton Vacuum Desk II.

Tabla 9 Condiciones de operación de la máquina de sputtering

I (mA)	P (Pa)	t (s)
20	6.67	40

El proceso de *sputtering* se muestra paso a paso en la Figura 28.

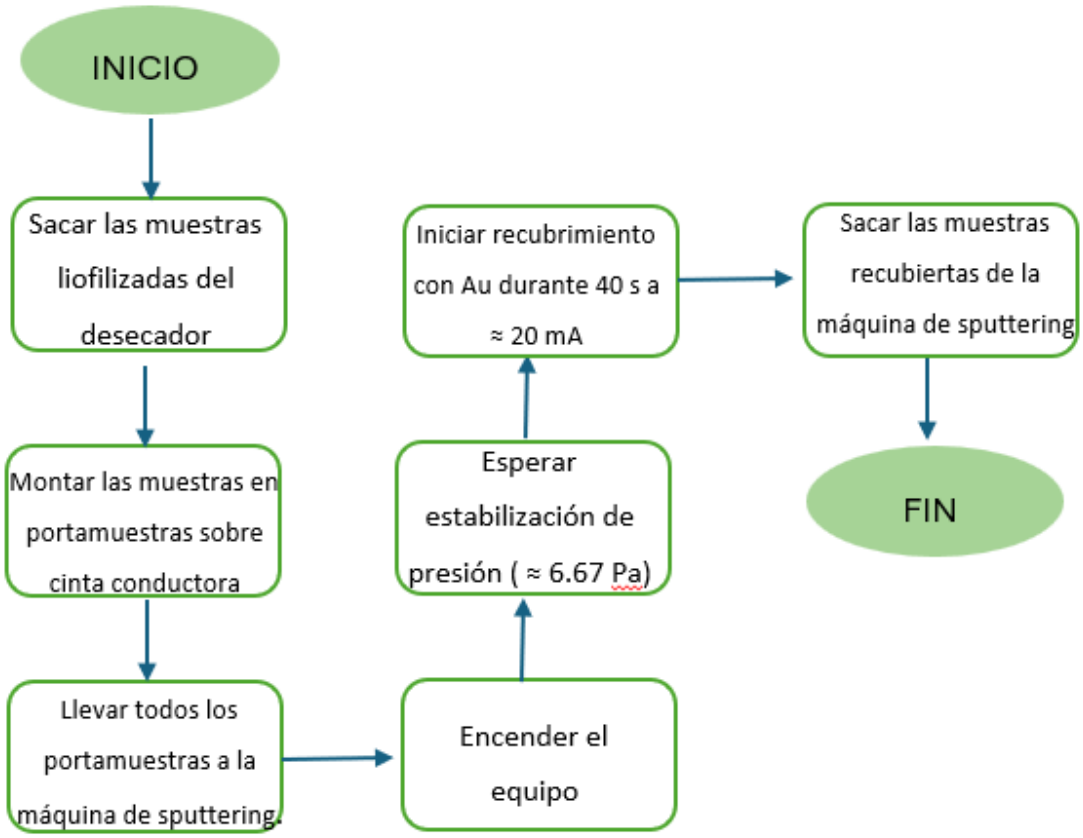


Figura 28 Diagrama de flujo de proceso de sputtering.

El análisis morfológico se realizó en un microscopio JEOL JSM-5900 (Figuras 29, 30 y 31), operando bajo las condiciones de control detalladas en la Tabla 10, con el fin de cuantificar la porosidad y la homogeneidad de la red.



Figura 29 Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5900.

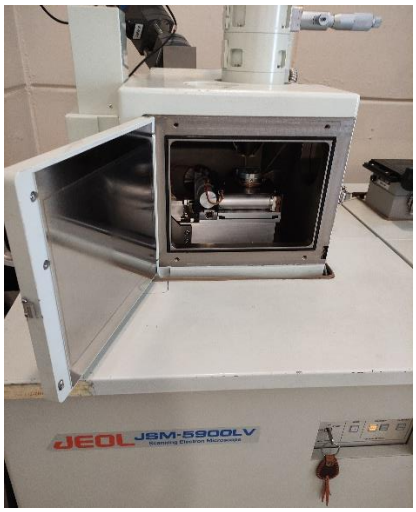


Figura 30 Cámara de vacío del equipo JEOL JSM-5900.

Tabla 10 Condiciones de operación del microscopio SEM.

Hidrogeles	Cinta conductora	P (Pa)	V (kV)	Magnificaciones	Detector
Alginato de sodio	Carbono	Alto vacío (1.33×10^{-2} – 1.33×10^{-4})	20	500x 1000x 2000x 5000x	Electrones secundarios
CMC	Aluminio				
Carbopol	Carbono				



a) b)

Figura 31 (a) Portamuestras para cámara de vacío y (b) portamuestras pequeños montados en el portamuestras para la cámara de vacío.

6.5.2 Protocolo de adquisición de micrografías (SEM)

Una vez garantizada la conductividad de las muestras mediante el recubrimiento de oro, se procedió a la captura de imágenes. El proceso se estandarizó para asegurar que las comparaciones entre el agua destilada (DW) y el agua activada por plasma (PAW) fueran estadísticamente válidas, manteniendo constantes los parámetros de aceleración y distancia de trabajo.

La secuencia operativa para la obtención de micrografías de alta resolución se detalla en el siguiente diagrama de flujo (Figura 32):

a. Estabilización del vacío: El equipo se operó bajo condiciones de alto vacío con el fin de reducir la dispersión del haz de electrones y optimizar la señal en los detectores.
b. Exploración y enfoque: Se ejecutó un reconocimiento inicial a bajos aumentos para ubicar zonas representativas de la matriz porosa. Posteriormente, se corrigió el astigmatismo y se realizó el enfoque fino a escala micrométrica.
c. Registro de imágenes: Las micrografías se tomaron empleando una serie de aumentos estandarizados (500×, 1000×, 2000× y 5000×). Esto permitió evaluar desde la organización general de la red tridimensional hasta la topografía superficial y la morfología de las paredes de los poros.

Finalmente, las micrografías obtenidas fueron procesadas digitalmente para realizar la morfometría de poros, correlacionando estos resultados con los datos de difracción de rayos X para una caracterización integral de los hidrogeles.

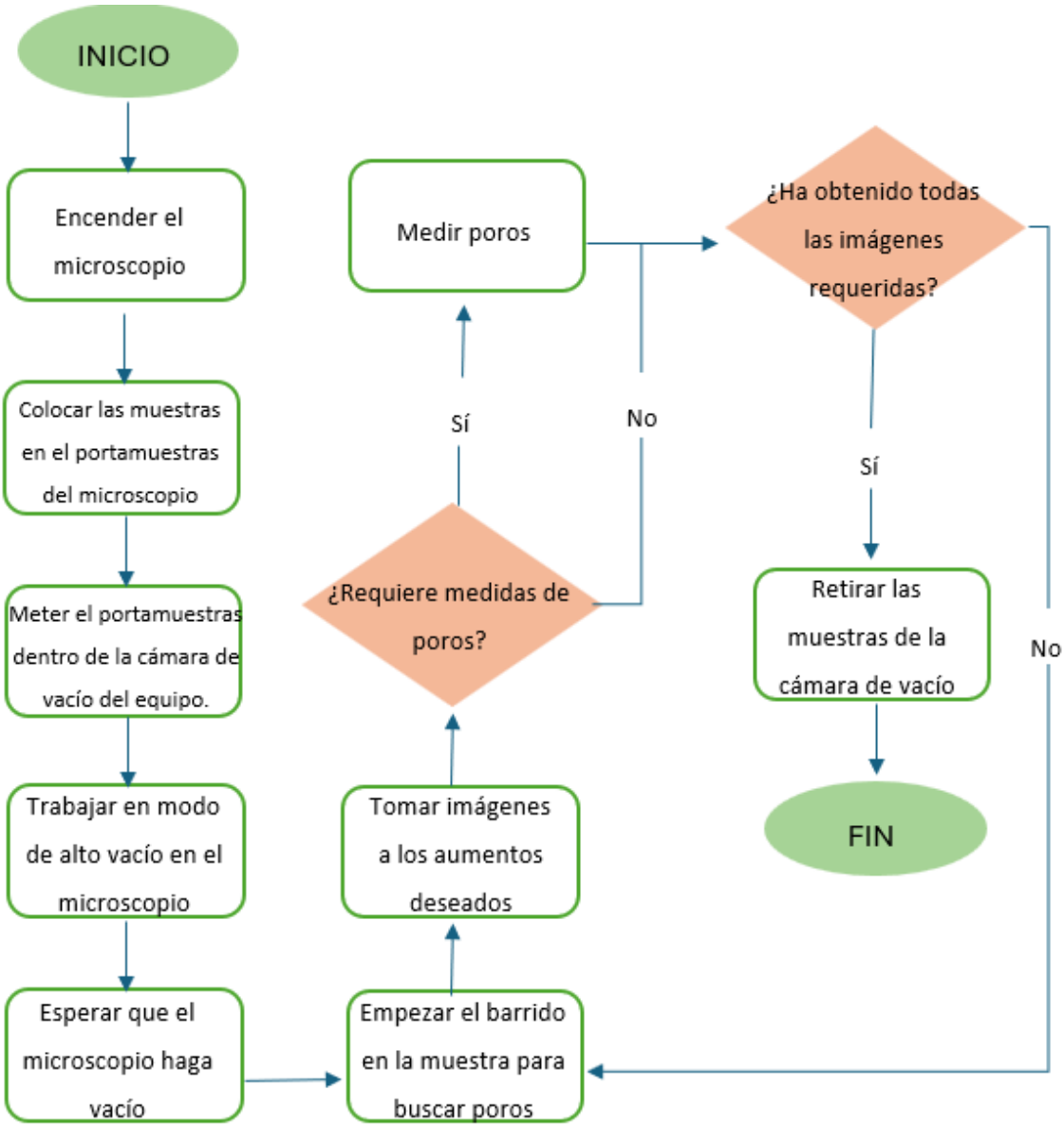


Figura 32 Diagrama de flujo de proceso del análisis por SEM.

6.5.3 Caracterización por Difracción de Rayos X (XRD)

El análisis de las fases cristalinas y el ordenamiento estructural de los xerogeles se llevó a cabo en un difractómetro de rayos X Bruker D8 Discover. Para asegurar la detección precisa de los planos de difracción en las muestras liofilizadas, se empleó la geometría Bragg-Brentano (θ - 2θ), la cual permite una focalización óptima del haz de rayos X sobre la superficie plana de la matriz polimérica (Figura 33).

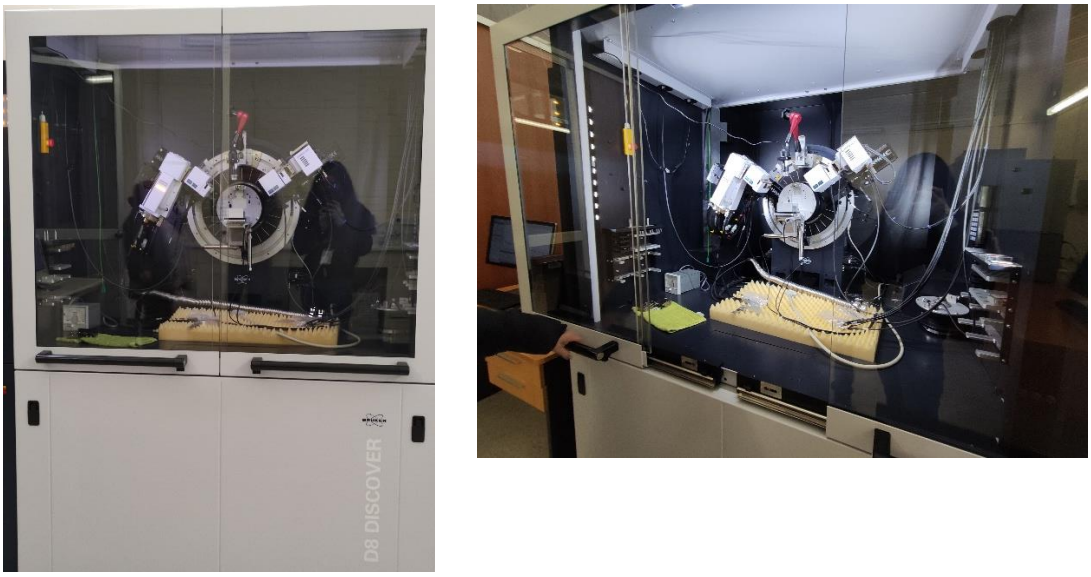


Figura 33 Difractómetro Bruker D8 Discover.

Con el propósito de cumplir con la cantidad de volumen requerida por el equipo, las muestras destinadas al análisis por XRD se secaron por congelación bajo las mismas condiciones empleadas para SEM. El procesamiento se realizó directamente en viales para acumular la masa suficiente de material que permitiera cubrir de forma homogénea el área de incidencia del haz de rayos X en el portamuestras.

A partir de los xerogeles obtenidos, se seccionaron múltiples láminas con una dimensión aproximada de 2 cm de longitud, garantizando una superficie plana y homogénea que minimice los efectos de rugosidad y asegure una correcta alineación en el eje del goniómetro (Figura 34).



a) b)

Figura 34 (a) Portamuestras para difractómetro y (b) muestras de hidrogeles de alginato de sodio con agua destilada y agua tratada con plasma, carbopol con agua destilada y agua tratada con plasma y carboximetilcelulosa con agua destilada y agua tratada con plasma; liofilizados.

6.5.4 Protocolo de adquisición y parámetros de difracción

La ejecución del análisis cristalográfico se realizó siguiendo una secuencia lógica que comprende desde la calibración de la geometría de incidencia hasta la captura del patrón de difracción. Este flujo operativo, diseñado para maximizar la relación señal-ruido en materiales poliméricos, se detalla en el diagrama de la Figura 35. Para garantizar la reproducibilidad del estudio, el equipo se configuró bajo condiciones de operación estables, manteniendo un control riguroso sobre la potencia del tubo de rayos X y la resolución angular, tal como se especifica en la Tabla 11.

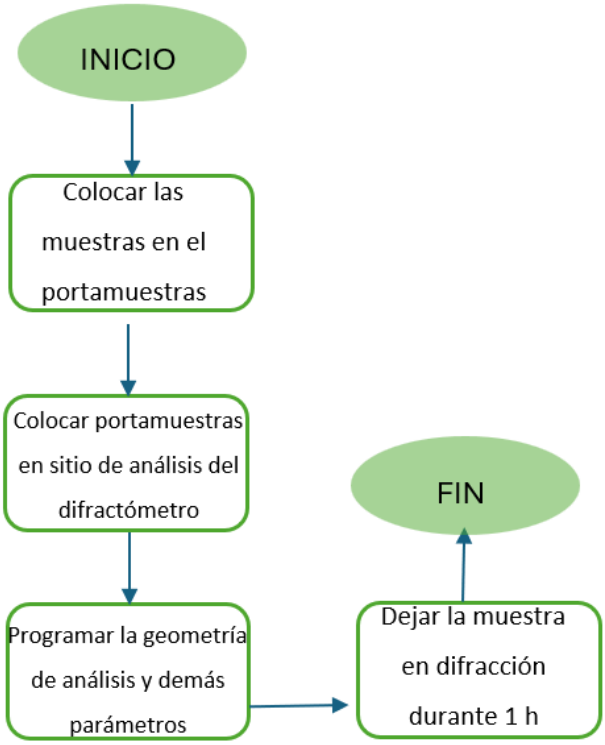


Figura 35 Diagrama de flujo de proceso para análisis en el difractómetro.

Tabla 11 Parámetros técnicos y condiciones de operación para el análisis de XRD.

Parámetro Operacional	Especificación Técnica
Ángulo inicial (2θ)	5°
Ángulo final (2θ)	80°
Tiempo de paso (*Step time*)	0.03 s
Tiempo total de integración	1 h
Potencial de aceleración (kV)	35 kV
Corriente del tubo (mA)	25 mA
Geometría de análisis	Bragg-Brentano

6.5.5 Procesamiento y análisis digital de difractogramas

Tras la adquisición de los patrones de difracción, los datos crudos fueron procesados mediante el software especializado DIFFRAC.EVA (Bruker AXS). Este procedimiento es fundamental para la interpretación de los resultados, ya que permite realizar la corrección de la línea base, la eliminación del ruido de fondo y, principalmente, la indexación de fases. Mediante la comparación de los picos experimentales con patrones de referencia de bases de datos internacionales (como la ICDD), se pudo determinar con precisión la estructura cristalina o amorfa

de los hidrogeles y evaluar el impacto del tratamiento con plasma en la organización molecular del polímero (Figura 36).



Figura 36 Software utilizado para el procesamiento de información.

Con el fin de facilitar la reproducibilidad de este análisis, en el Anexo X se presenta una guía visual detallada que ilustra las funciones específicas y los comandos ejecutados dentro del entorno de software para el tratamiento de las señales.

Este flujo de trabajo digital permite la transformación de los datos experimentales en información estructural mediante la identificación de fases cristalinas, proceso que se fundamenta en la correlación directa entre los picos de difracción obtenidos y los patrones de referencia almacenados en la base de datos (Figura 37).

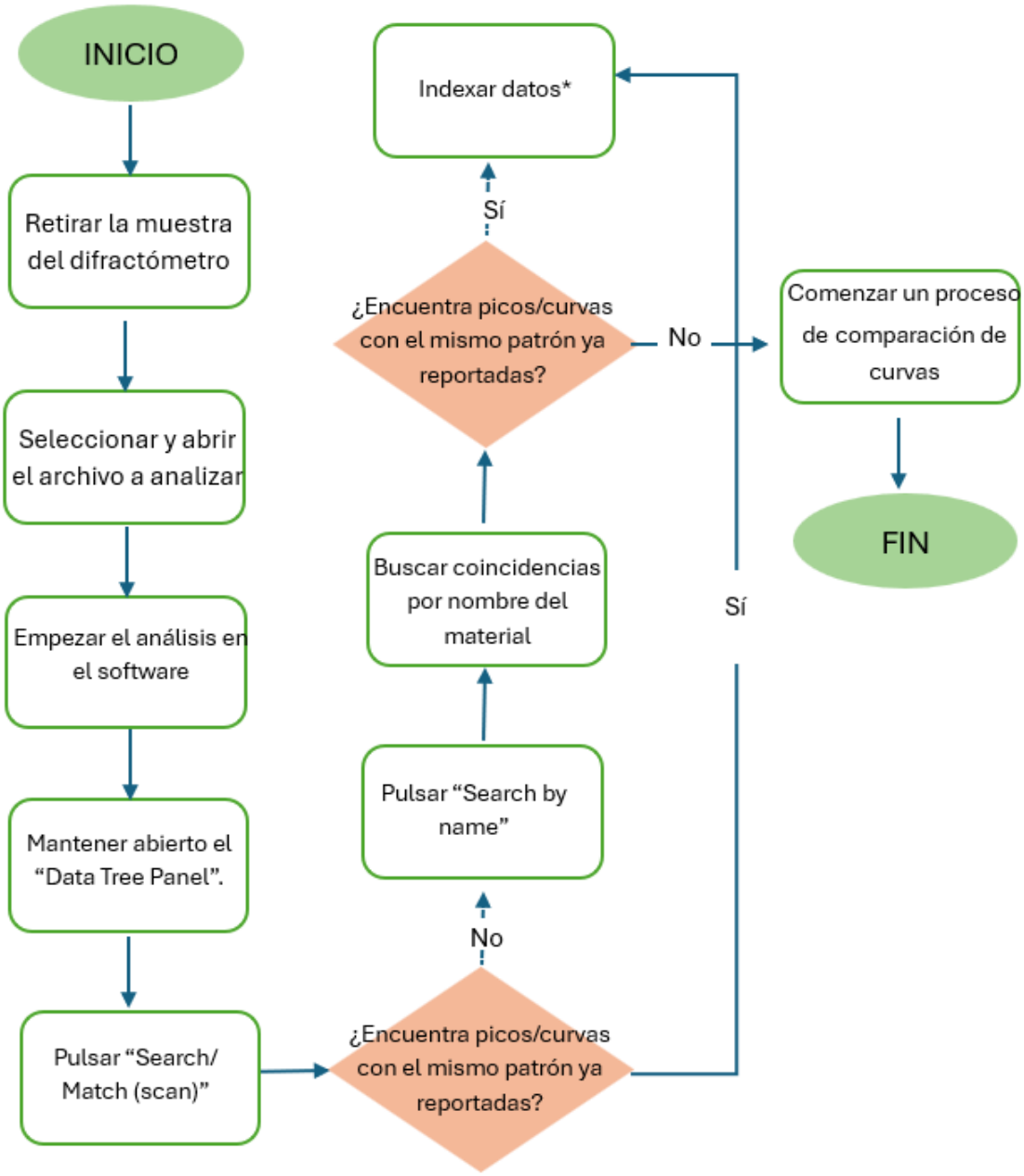


Figura 37 Tratamiento de datos en el software. Identificación de fases cristalinas mediante comparación con base de datos.

**Indexar datos: Relacionar los picos obtenidos con patrones conocidos para identificar fases cristalinas o encontrar coincidencias con curvas similares.*

6.5.6 Protocolo de análisis comparativo de difractogramas

Con el objetivo de evaluar las modificaciones estructurales inducidas por la interacción con el plasma no-térmico, se estableció un protocolo de comparación multivariable. Este procedimiento permite contrastar las señales de difracción del precursor en estado sólido (polvo polimérico) frente a las matrices hidratadas y liofilizadas (hidrogel con DW e hidrogel con PAW).

La secuencia lógica para la superposición de señales, normalización de intensidades y ajuste de escalas en el software de análisis se detalla sistemáticamente en la Figura 38.

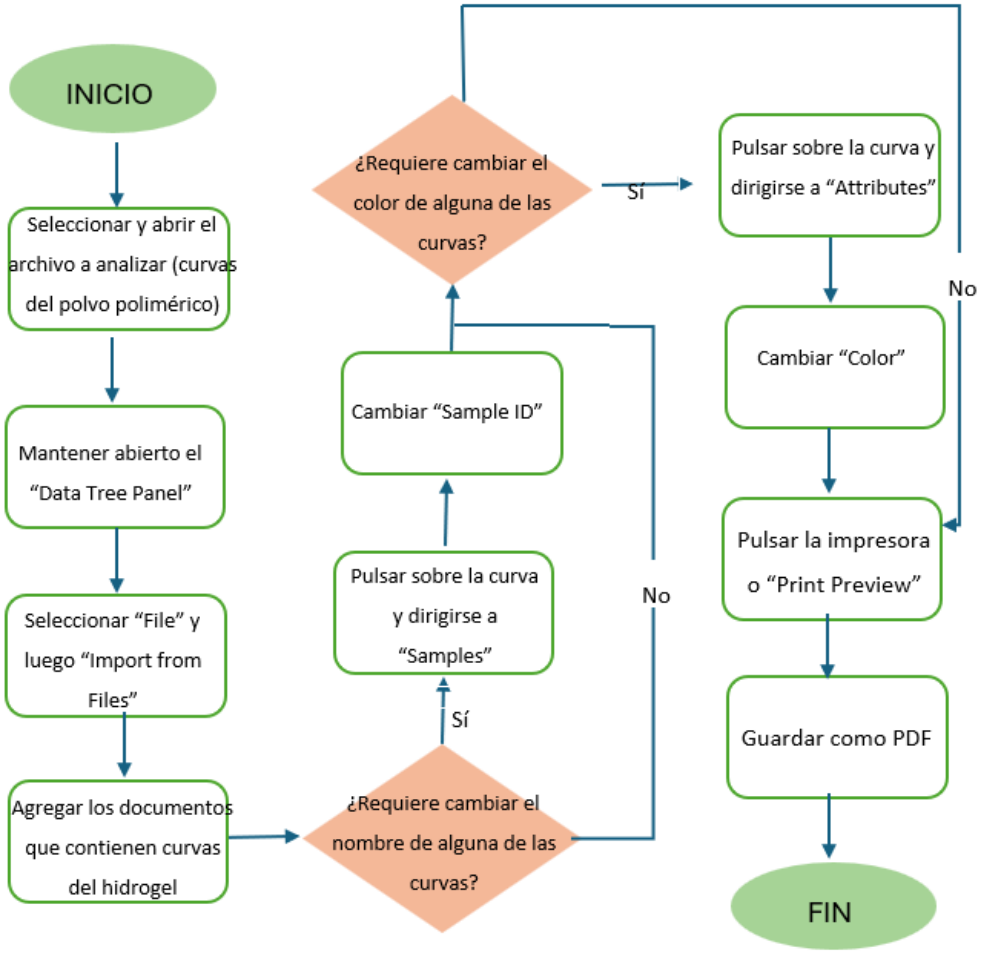


Figura 38 Tratamiento de datos en el software. Comparación de las curvas obtenidas en el difractómetro.

6.6 SÍNTESIS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

La metodología detallada en este capítulo constituye un protocolo integral que vincula la ingeniería de plasmas con la ciencia de polímeros. La secuencia que abarca desde la activación física del solvente (PAW) y el control gravimétrico de la síntesis de los hidrogeles, hasta la optimización de la criodesecación para análisis de alta resolución (SEM y XRD), fue diseñada para garantizar que cualquier cambio observado en la morfología o en la cristalinidad de las muestras sea atribuible de manera unívoca a la interacción con las especies reactivas generadas por el sistema DBD. Este marco metodológico establece la base técnica necesaria para la interpretación de los hallazgos fisicoquímicos que se discuten en el capítulo siguiente.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LOS HIDROGELES

La fase inicial de la investigación consistió en la síntesis y estabilización de las matrices poliméricas. Se determinó que el agua destilada (DW) empleada presentaba un pH promedio de 5.43 ± 0.52 (n=4), mientras que el agua activada por plasma (PAW) registró un descenso a 4.9 ± 0.44 (n=4),. Este comportamiento es característico de la activación por plasma no-térmico, donde la formación de especies ácidas (como HNO_2 y HNO_3) acidifica el medio [122]. Se observó que el pH del solvente es el factor determinante en la acidez final del hidrogel, ya que los polímeros empleados no ejercen un efecto amortiguador (*buffer*) significativo.

De un total de 28 formulaciones experimentales, se seleccionaron aquellas que presentaron características de estabilidad y consistencia adecuada para su aplicación biomédica. Los parámetros fisicoquímicos de las formulaciones finales de Carbopol 940, CMC y alginato de sodio, presentados en la Tabla 12, se obtuvieron a partir de una única determinación para cada condición experimental (n = 1). Por lo tanto, estos resultados se presentan como valores de caracterización de las muestras analizadas y no se reporta desviación estándar ni se realizan pruebas de significancia estadística para estos parámetros.

Tabla 12 Parámetros fisicoquímicos de las formulaciones de Carbopol 940 (0.7% p/p), CMC (3% p/p) y alginato de sodio (2% p/p) con DW y PAW.

Polímero	Agua	w (g)	C (%)	TEA (mL)	DO (ppm)	pH	Resistividad (MΩ cm)	Conductividad (µS/cm)	TDS (ppm)	ORP (mV)
Carbopol	DW	0.331	0.7	3	0.62	6.88	0.0014	730	365	55.4
Carbopol	PAW	0.34	0.7	3	0.89	6.92	0.0016	619	310	59.1
CMC	DW	1.504	3	-	0.5	5.92	0.0004	2451	1226	57
CMC	PAW	1.5	3	-	0.7	5.29	0.0005	2208	1104	74.7
Alginato	DW	1.012	2	-	1.51	5.71	0.0003	3460	1730	68.3
Alginato	PAW	1.073	2	-	2.04	5.13	0.0003	3603	1802	62.3

w= peso, v= volumen, C= concentración, DO= oxígeno disuelto, TDS= sólidos totales disueltos, ORP = potencial óxido-reducción

7.1.1 Análisis del potencial REDOX (ORP) y oxígeno disuelto (DO)

Se observó una tendencia de incremento sistemático en los valores de DO y ORP en las muestras preparadas con PAW. Este aumento es un indicador directo del carácter oxidante del agua activada, atribuido a la transferencia de masa de especies reactivas de larga vida desde el plasma hacia el seno del líquido. En el caso del alginato de sodio, las variaciones en el ORP sugieren una interacción química entre las especies oxidantes y los grupos funcionales carboxilo de la cadena polimérica, lo que podría derivar en modificaciones sutiles de la estructura química primaria.

7.1.2 Comportamiento del pH y neutralización

Los valores de pH se mantuvieron en un rango biocompatible (5.1 – 6.9). En el sistema de Carbopol 940, la adición de TEA neutralizó eficazmente la acidez del polímero, alcanzando valores cercanos a la neutralidad (pH ~ 7) independientemente del tipo de agua. Los resultados sugieren que el PAW no altera el mecanismo de desenrollamiento de las cadenas de ácido poliacrílico promovido por la base.

Por el contrario, en los sistemas de CMC y alginato de sodio, el uso de agua activada por plasma indujo una disminución más pronunciada en el pH final en comparación con el control con DW, registrando variaciones de hasta 0.6 unidades. Este comportamiento indica que las especies reactivas del plasma podrían interferir directamente en el equilibrio de disociación de los grupos carboxilo de ambos biopolímeros.

7.1.3 Conductividad y dinámica iónica

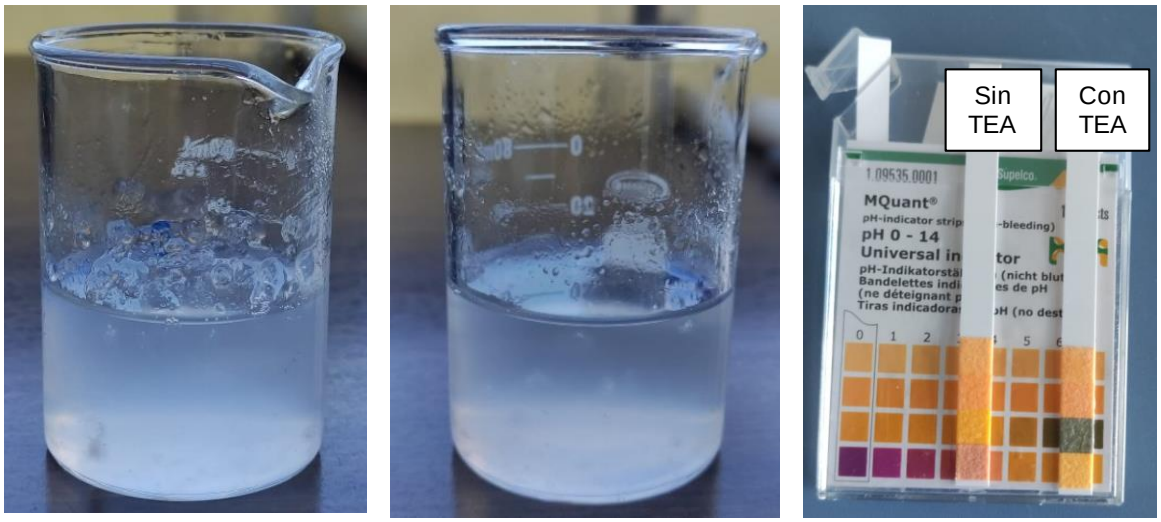
La conductividad eléctrica mostró tendencias divergentes: disminuyó en Carbopol y CMC al usar PAW, pero aumentó ligeramente en el alginato. Esta diferencia sugiere que la red de alginato permite una mayor movilidad iónica o retención de especies cargadas provenientes del plasma, mientras que, en las otras matrices,

las especies reactivas podrían estar promoviendo una organización estructural que limita la conducción eléctrica.

7.2 OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS Y ORGANOLÉPTICAS

7.2.1 Sistema Carbopol 940 - TEA

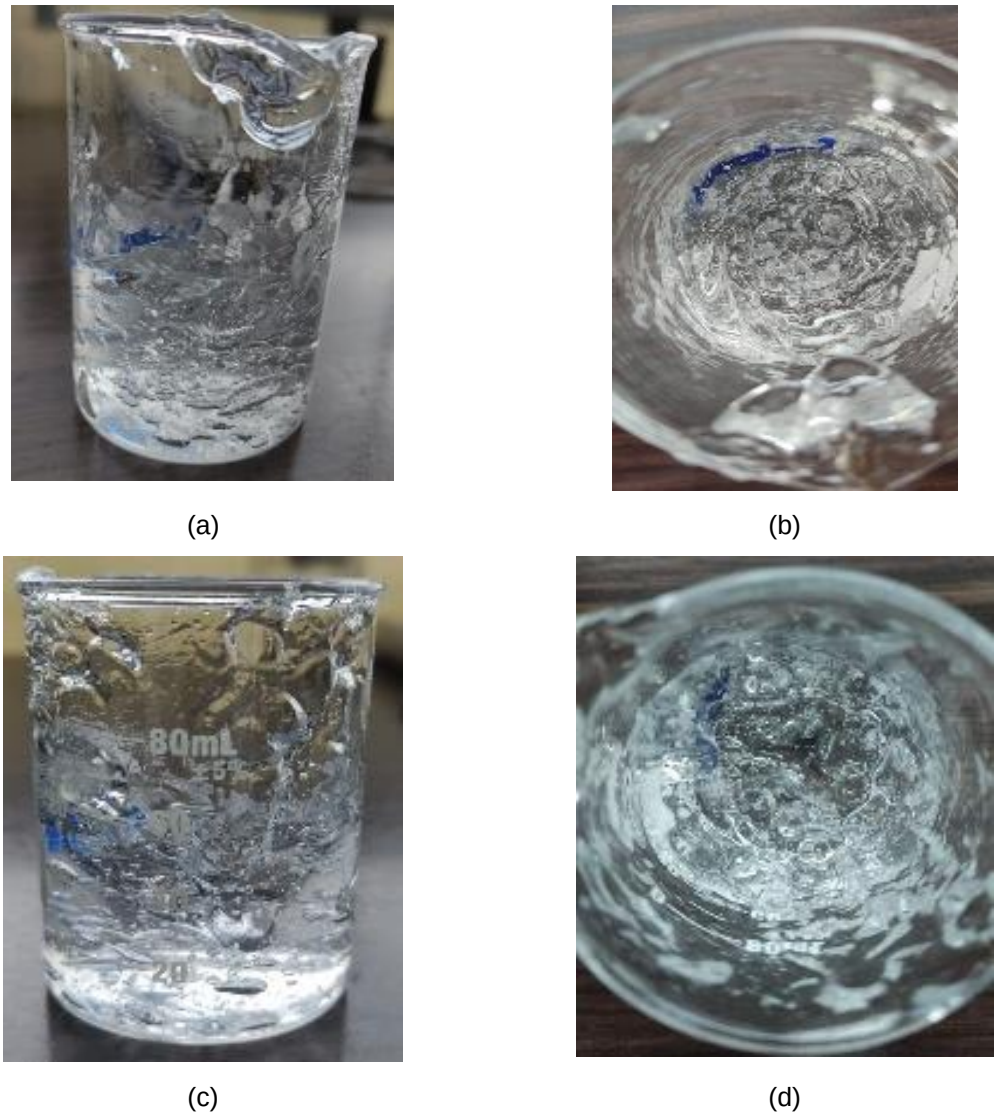
Se confirmó que la neutralización es el mecanismo crítico para la gelificación (Figura 39). Sin la acción de la TEA, el sistema mantiene un pH de ~3.5 y un comportamiento mayormente líquido.



(a) (b) (c)

Figura 39 Formulaciones de carbopol sin neutralización con TEA: (a) con DW, (b) con PAW, y (c) diferencias de pH de las formulaciones sin TEA y con TEA.

Tras la neutralización, ambas formulaciones (DW y PAW) generaron hidrogeles de alta transparencia y homogeneidad. Macroscópicamente, el uso de PAW no alteró la apariencia ni el ligero aroma cítrico característico de la formulación, manteniendo una calidad óptica excelente (Figura 40).



(a) (b)

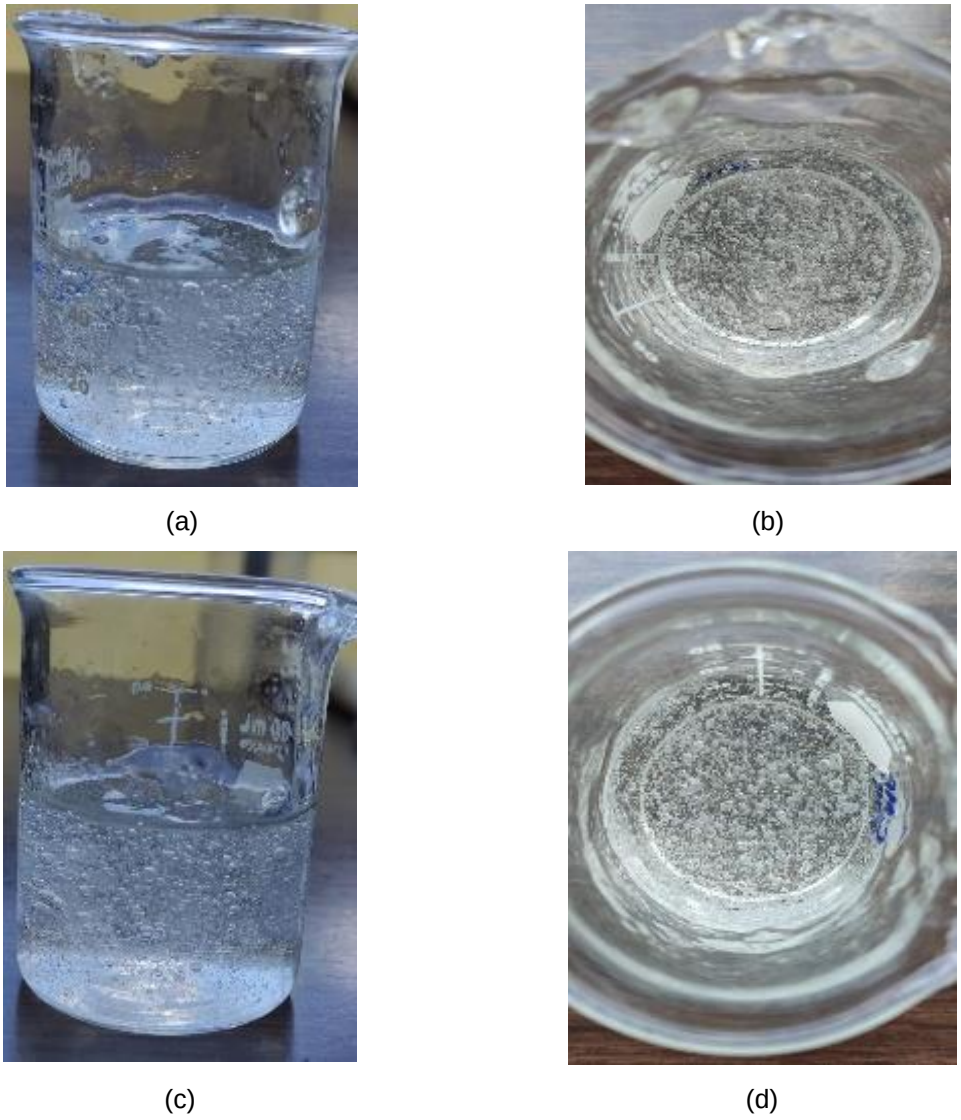
(c) (d)

Figura 40 Hidrogeles de Carbopol 940: (a-b) control DW, (c-d) activados con PAW. Se observa una transparencia cristalina en ambas condiciones.

7.2.2 Sistema carboximetilcelulosa (CMC) y sistema alginato de sodio

En cuanto a la CMC, ambas formulaciones (tanto con DW como con PAW), presentaron una cinética de hidratación equivalente, con un tiempo de disolución cercano a las 3.5 h. Macroscópicamente, se obtuvieron geles transparentes (Figura 41) e inodoros; no obstante, se observó que la variante con PAW (c-d) exhibió una claridad óptica marginalmente superior. Un hallazgo relevante durante la aplicación tópica fue que la formulación activada por plasma dejó una mayor acumulación de residuos y una sensación de resequedad cutánea más persistente. Este fenómeno

sugiere que las especies reactivas podrían estar induciendo una modificación en la organización de la red polimérica, afectando la homogeneidad de la película residual tras la evaporación del solvente.



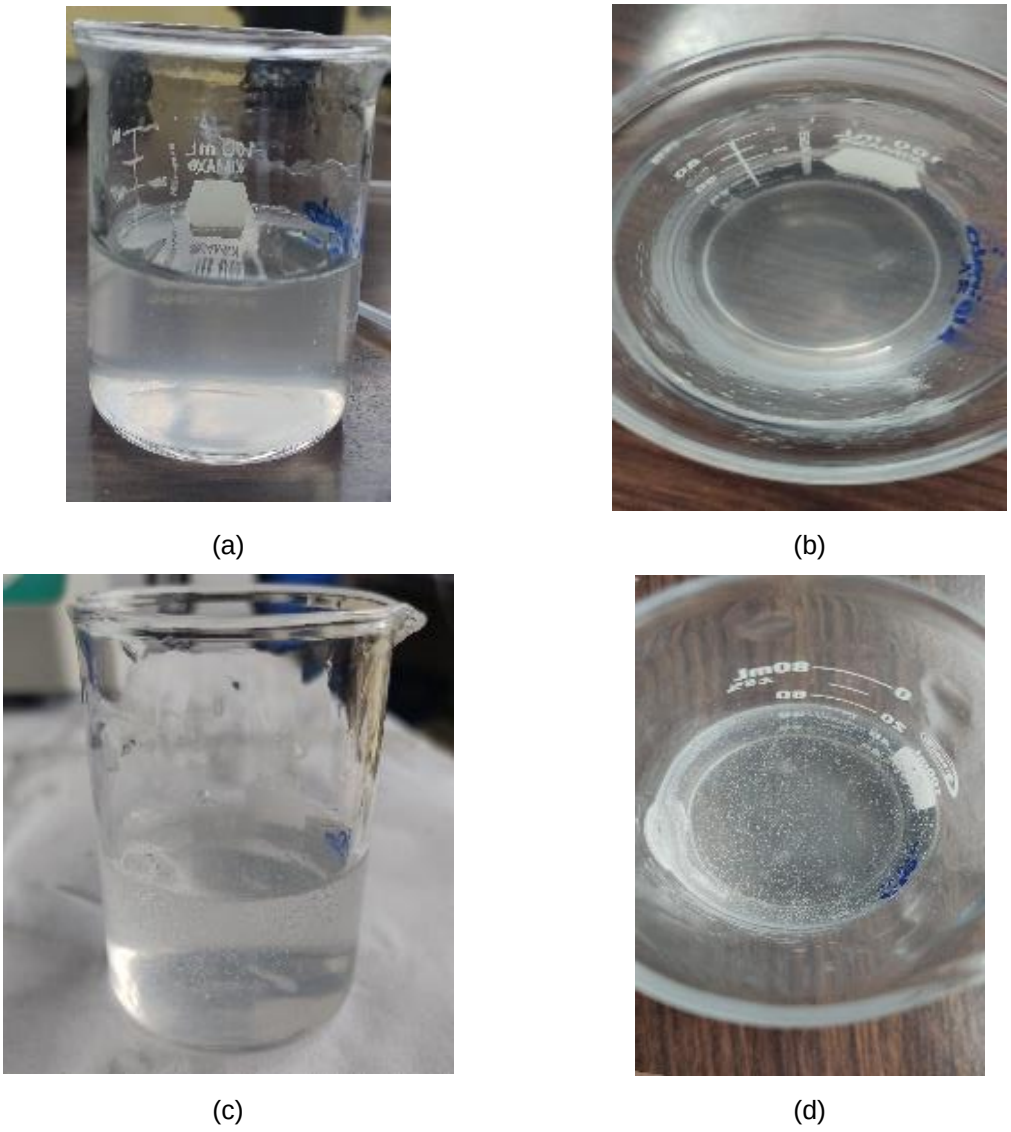
(a) (b)

(c) (d)

Figura 41 Hidrogeles de CMC: (a-b) control DW y (c-d) activados con PAW.

Por otro lado, los hidrogeles de alginato de sodio mostraron un tiempo de disolución significativamente menor (~1.4 h) debido a su alta hidrofilia y a la ausencia de un agente reticulante (como el calcio), lo que resultó en matrices mecánicamente débiles y de baja rigidez (Figura 42). Para este sistema, el PAW aceleró sutilmente el tiempo de disolución (~1.3 h), lo que puede atribuirse a que las especies reactivas

agilizan la solvatación inicial de las cadenas de alginato de sodio. De forma análoga a lo observado con la CMC, el incremento en los residuos sólidos remanentes tras la aplicación con PAW sugiere una modificación en la capacidad de retención de agua o en la organización microestructural del polímero.



(a) (b)

(c) (d)

Figura 42 Geles de alginato de sodio: (a-b) control DW, (c-d) activados con PAW.

En conjunto, los resultados fisicoquímicos y las observaciones macroscópicas indican que, si bien el tratamiento con plasma atmosférico no altera de forma drástica la apariencia de los hidrogeles, sí modifica parámetros críticos como el ORP y la dinámica de disolución. La mayor generación de residuos y los cambios

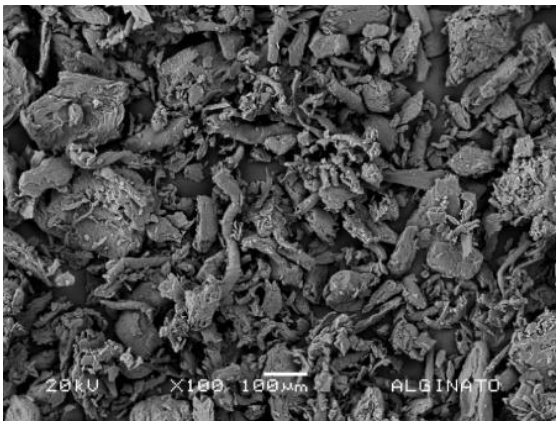
en la conductividad sugieren alteraciones microestructurales y en la capacidad de retención de agua, las cuales serán analizadas a detalle mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) en el siguiente apartado.

7.3 ANÁLISIS DE MICROESTRUCTURA MEDIANTE SEM

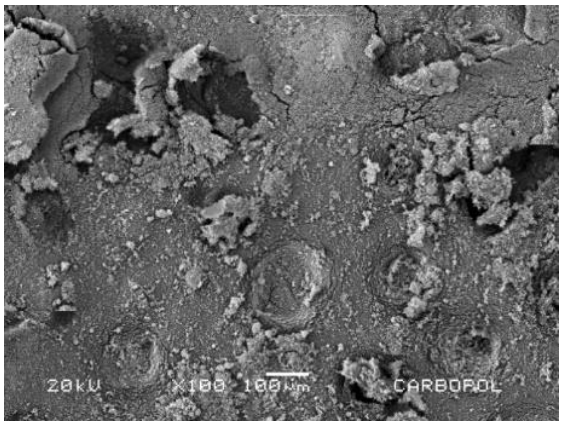
7.3.1 Morfología de los precursores poliméricos (polvos)

El análisis de las micrografías de la Figura 43 revela diferencias significativas en la morfología inicial de los polímeros. El carbopol exhibe una estructura notablemente más compacta y densa en comparación con el alginato de sodio y la CMC. Este comportamiento es propio de su naturaleza como polímero 100% sintético, cuya síntesis controlada favorece la formación de partículas uniformes con baja irregularidad superficial.

Por otro lado, el alginato de sodio y la CMC exhiben una morfología irregular y fragmentada, acompañada de una marcada rugosidad superficial. Dicha heterogeneidad en la forma es común en los biopolímeros, debido a que las etapas de extracción y purificación suelen generar partículas poco uniformes. Estas características físicas a escala micrométrica son clave, pues condicionan tanto la cinética de hidratación como el ordenamiento final de la matriz tridimensional durante la gelificación.



(a)



(b)



(c)

Figura 43 Micrografías SEM de los polímeros en estado de polvo: (a) alginato de sodio, (b) Carbopol 940 y (c) carboximetilcelulosa.

7.3.2 Microestructura de los hidrogeles liofilizados (Xerogeles)

El análisis de las matrices liofilizadas (Figuras 44 a 52) muestra una red porosa cuya arquitectura se ve influenciada por el tipo de solvente empleado (DW o PAW). Se observó una tendencia divergente: en los hidrogeles de alginato de sodio y CMC, el uso de PAW favoreció un incremento en el tamaño de los poros, mientras que, en el sistema de carbopol, la activación por plasma indujo una contracción en el diámetro de poro, resultando en una red más densa.

En todas las formulaciones, la morfología se caracteriza por una alta heterogeneidad, con paredes de poro parcialmente colapsadas y discontinuidades en la red. Es importante destacar que estas irregularidades pueden ser atribuidas tanto a la naturaleza intrínseca del hidrogel como a artefactos derivados del proceso de criodesecación. Tal como sugieren Podhorská *et al*. (2020) [123], el secado puede inducir la formación de poros secundarios o microfracturas que no necesariamente reflejan el estado de hinchamiento original, pero que son representativos de la estabilidad mecánica de la matriz sólida.

Asimismo, la presencia de zonas con baja porosidad o estructuras excesivamente compactas en ciertas muestras sugiere la posibilidad de un proceso de liofilización

incompleto, probablemente debido a la retención de humedad residual que impide la sublimación uniforme del hielo, un factor crítico en la caracterización de hidrogeles macroporosos para ingeniería de tejidos.

7.3.3 Análisis morfométrico y porosidad por tipo de polímero

A continuación, se detallan los hallazgos microestructurales obtenidos mediante SEM, comparando el efecto del DW frente al PAW. Para cada formulación se realizaron múltiples adquisiciones de micrografías, seleccionándose aquellas que presentaron una calidad de imagen adecuada y permitieron visualizar con mayor claridad la estructura porosa de las matrices. El tamaño promedio de poro se determinó a partir de las micrografías representativas tomadas a 2000×, considerando únicamente aquellos poros cuya delimitación fue suficientemente clara para realizar una medición confiable. Debido a la presencia de colapsos y deformaciones localizadas en las paredes de algunos poros, no fue posible incrementar el número de mediciones en determinadas muestras.

A. Hidrogel de alginato de sodio

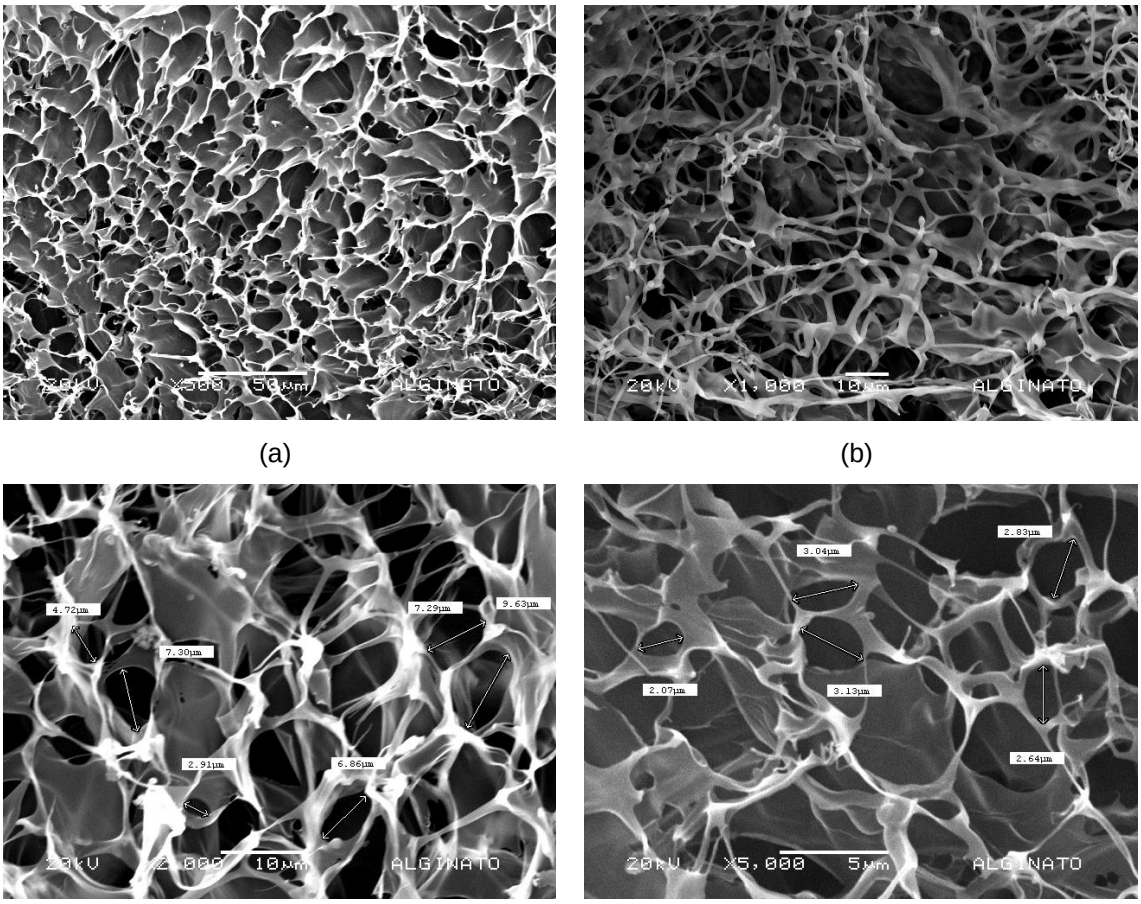
En el sistema de alginato de sodio (Tabla 13), el empleo de PAW se observó una mayor densidad aparente de poros, acompañada de un incremento en su tamaño promedio. Asimismo, las paredes de las cavidades en las muestras tratadas con plasma presentaron un menor espesor aparente y se observaron zonas con colapso y fragmentación de la estructura, características que fueron menos evidentes en la muestra correspondiente a DW..

Tabla 13 Distribución del tamaño de poro (µm) en hidrogeles de alginato de sodio a 2000x.

Mediciones de poro	Control (DW)	Activada (PAW)
Rango de mediciones (µm)	2.91 – 9.63	5.44 – 9.23
Tamaño de poro (µm)	6.45 ± 2.33	6.78 ± 1.47

En donde el rango de mediciones abarca seis mediciones de una misma muestra (n = 6). Por otro lado, en el tamaño de poro se considera la media de las mediciones ± la desviación estándar muestral ($\bar{x} \pm s$).

El diámetro de poro presentó un ligero incremento de 0.33 µm en el promedio, pasando de 6.45 µm a 6.78 µm, además de que se observa una mayor fragilidad de las paredes (Figuras 44, 45 y 46). Estas diferencias sugieren una modificación de la arquitectura porosa asociada con la condición de preparación con PTW. Sin embargo, debido a que en este estudio no se evaluaron directamente las propiedades mecánicas, la velocidad de disolución ni los cambios en las interacciones químicas del alginato, no es posible establecer a partir de las micrografías un mecanismo molecular o una disminución de la resistencia mecánica de la red.



(a) (b)

(c) (d)

Figura 44 Imágenes SEM del hidrogel formulado con alginato de sodio y DW a: (a) 500x, (b) 1000x, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro.

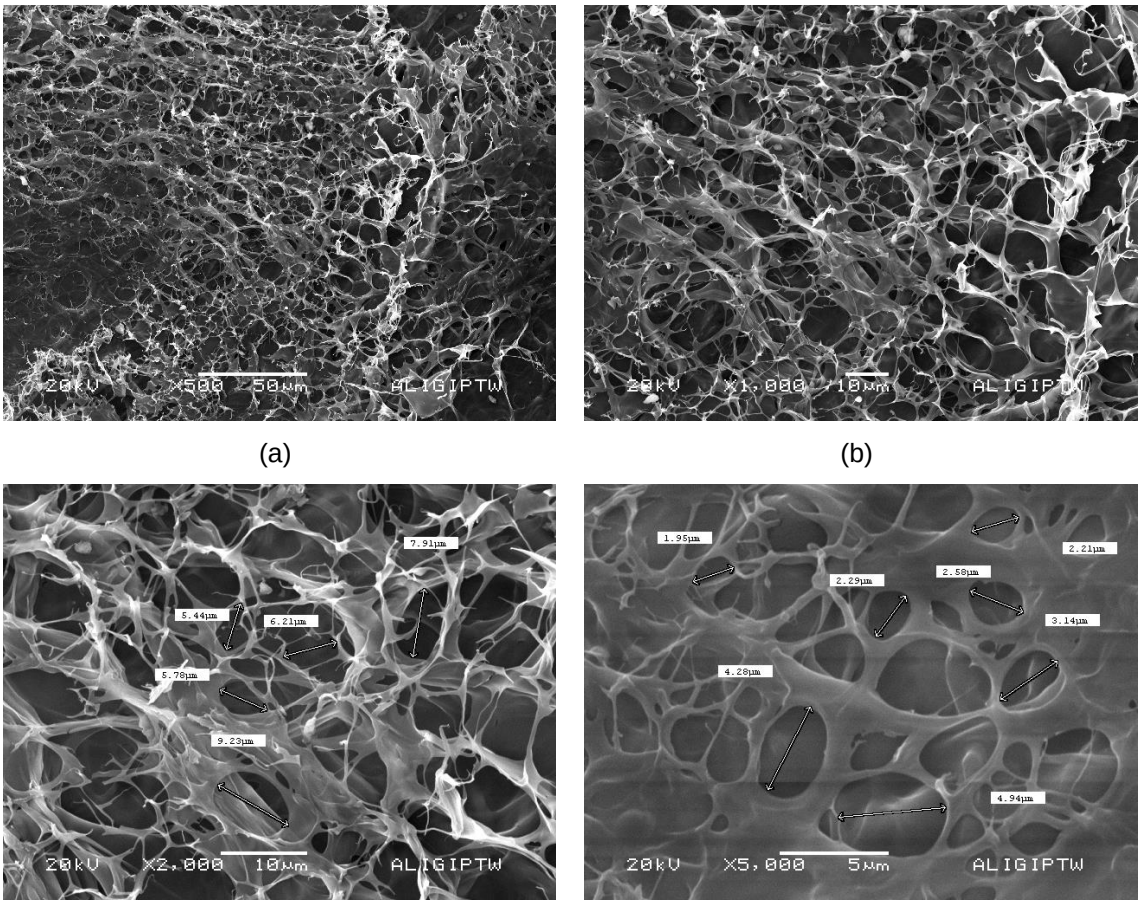


Figura 45 Imágenes SEM del hidrogel formulado con alginato de sodio y PAW a: (a) 500x, (b) 1000x, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro.

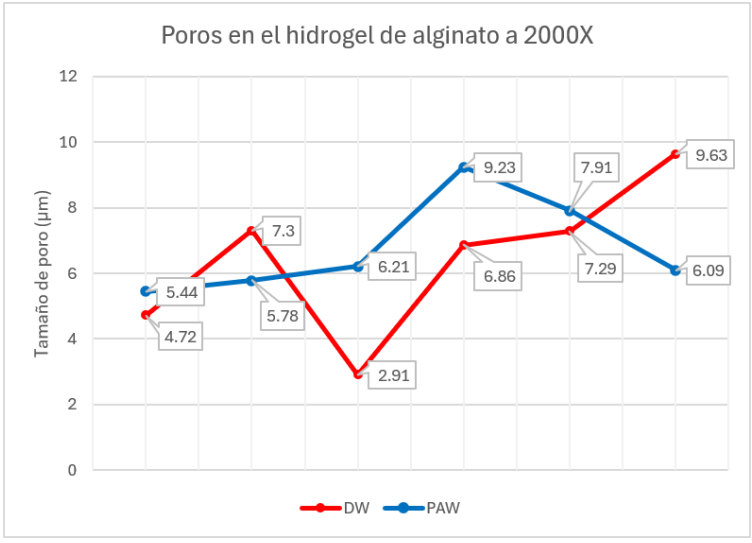


Figura 46 Gráfico de tamaños de poro (µm) medios en el hidrogel de alginato de sodio con DW y con PAW.

B. Hidrogel de Carbopol 940 (neutralizado con TEA)

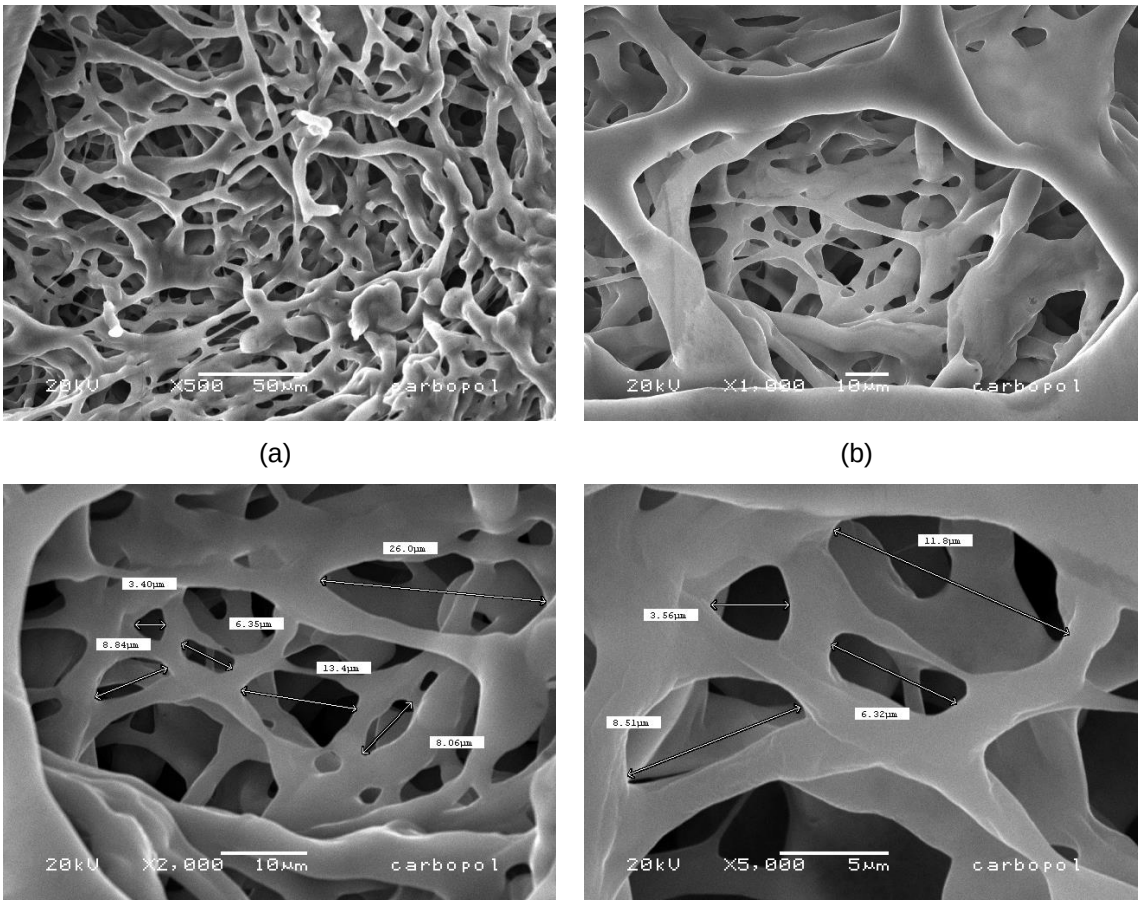
Contrario a los polisacáridos naturales, el Carbopol mostró una respuesta de contracción de poro con la formulación con PAW. Las micrografías a 500x y 1000x revelan que con esta formulación posee una estabilidad estructural superior, con poros mejor definidos y un menor índice de colapso tras la liofilización.

Tabla 14 Distribución del tamaño de poro (µm) en hidrogeles de Carbopol 940 a 2000x.

Mediciones de poro	Control (DW)	Activada (PAW)
Rango de mediciones (µm)	3.40 – 26.00	6.00 – 11.90
Tamaño de poro (µm)	11.01 ± 8.04	8.81 ± 2.40

En donde el rango de mediciones abarca seis mediciones de una misma muestra (n = 6). Por otro lado, en el tamaño de poro se considera la media de las mediciones ± la desviación estándar muestral ($\bar{x} \pm s$).

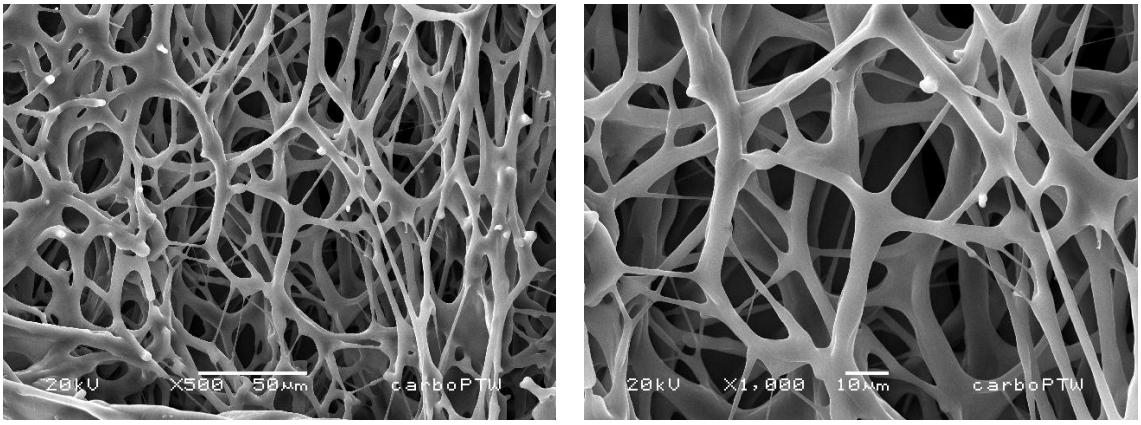
El hidrogel con PAW presentó un tamaño de poro 2.20 µm menor en el promedio que el control, pasando de 11.01 µm a 8.81 µm, lo que se asocia con una matriz aparentemente más compacta. Esta reducción en el diámetro de poro, sumada a la mayor definición tridimensional observada en las Figuras 47 y 48, sugiere una modificación en la arquitectura de la red polimérica asociada con la condición de preparación con PAW. Aunque esta morfología podría estar relacionada con modificaciones en las interacciones entre las cadenas de ácido poliacrílico, en este estudio no se realizaron análisis químicos o mecánicos que permitan determinar directamente un incremento en la densidad de entrecruzamiento o una mayor estabilización de las cadenas.



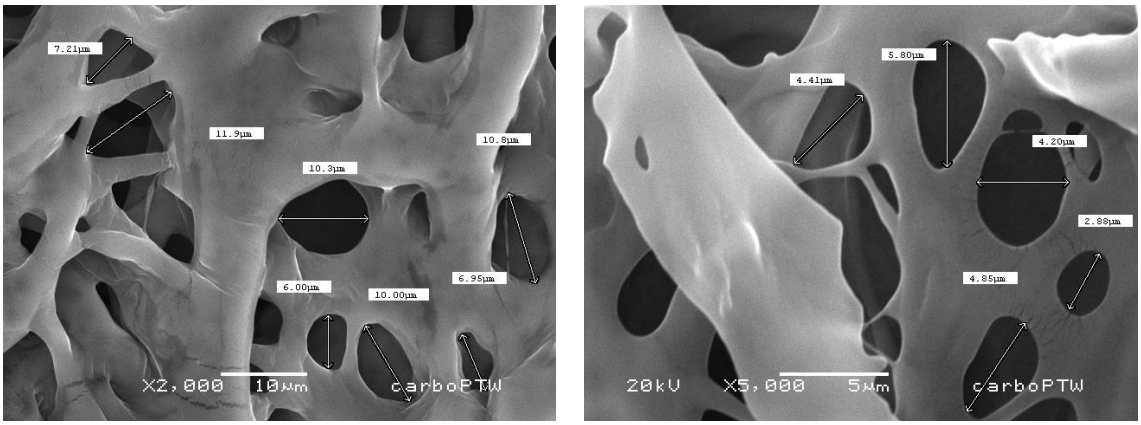
(a) (b)

(c) (d)

Figura 47 Imágenes SEM del hidrogel formulado con carbopol neutralizado con TEA y agua destilada a: (a) 500x, (b) 1000x, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro.



(a) (b)



(c) (d)

Figura 48 Imágenes SEM del hidrogel formulado con carbopol neutralizado con TEA y PAW a: (a) 500x, (b) 1000x, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro.

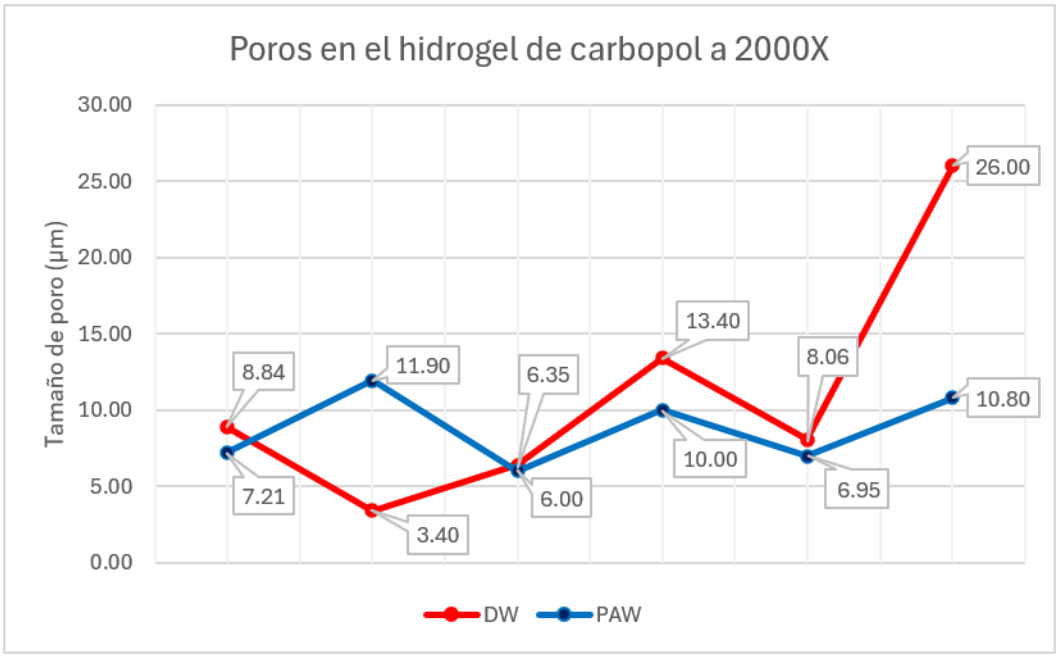


Figura 49 Gráfico de tamaños de poro (µm) medios en el hidrogel de carbopol con DW y con PAW.

C. Hidrogel de carboximetilcelulosa (CMC)

Para el caso de la CMC, se identificó la modificación más notoria en la morfología de la matriz. Mientras que los geles preparados con DW exhibieron cavidades de gran tamaño, pero fracturadas en su mayoría, las muestras tratadas con PAW preservaron aparentemente con integridad estructural la red porosa, mostrando simultáneamente un incremento en el diámetro promedio de los poros.

Tabla 15 Distribución del tamaño de poro (µm) en hidrogeles de CMC a 2000x.

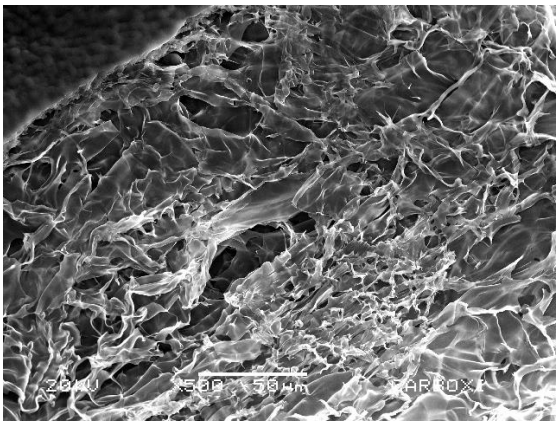
Mediciones de poro	**Control (DW)**	**Activada (PAW)**
Rango de mediciones (µm)	2.92 – 7.39	4.25 – 10.90
Tamaño de poro (µm)	5.01 ± 1.62	8.13 ± 2.88

En donde el rango de mediciones abarca cinco mediciones de una misma muestra (n = 5). Por otro lado, en el tamaño de poro se considera la media de las mediciones ± la desviación estándar muestral ($\bar{x} \pm s$).

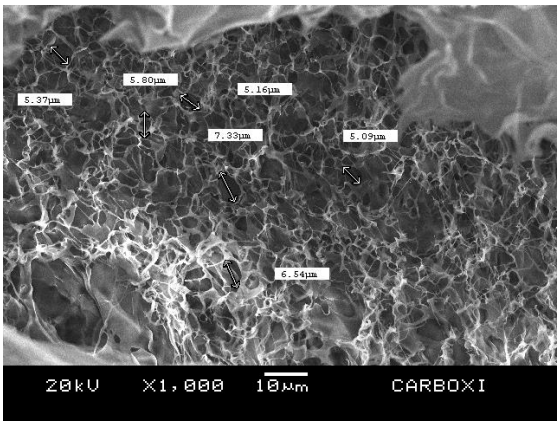
De acuerdo con los datos recopilados en la Tabla 15, el diámetro promedio de poro para la formulación preparada con PAW alcanzó los 8.13 µm, lo que representa un incremento de 3.12 µm respecto al control de DW que tiene un diámetro promedio de 5.01 µm. Esta expansión en la matriz sugiere una modificación en su arquitectura asociada con la condición de preparación con PAW,

Por otra parte, las micrografías correspondientes a las muestras con PAW exhiben una menor nitidez, manifestando un aspecto difuso o "efecto de niebla" durante la captura. Técnicamente, este fenómeno se atribuye a un efecto de carga electrostática o a la presencia de humedad residual atrapada en la matriz polimérica. Dado que la CMC activada por plasma podría retener agua de manera más eficiente, la interacción del haz de electrones con la muestra se ve dificultada, lo que genera ese brillo característico en las micrografías (Figuras 50 y 51).

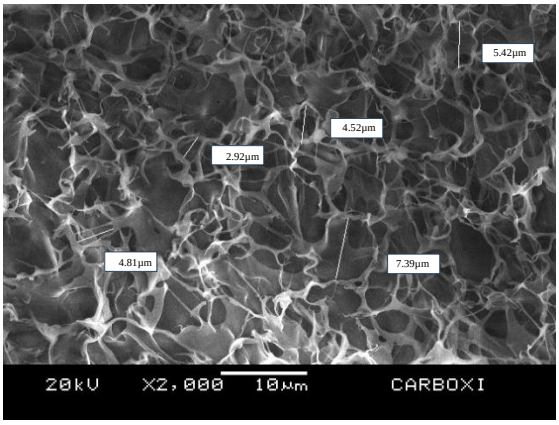
Sin embargo, debido a que en este estudio no se evaluaron directamente las propiedades mecánicas ni los cambios químicos de la CMC, no es posible establecer a partir de las micrografías un mecanismo molecular específico ni atribuir directamente estas diferencias a una modificación de las interacciones intermoleculares.



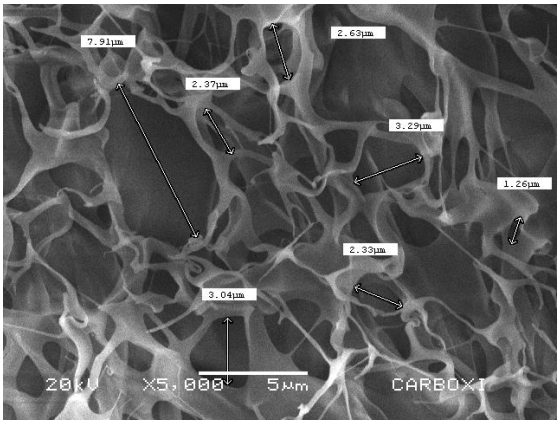
(a)



(b)

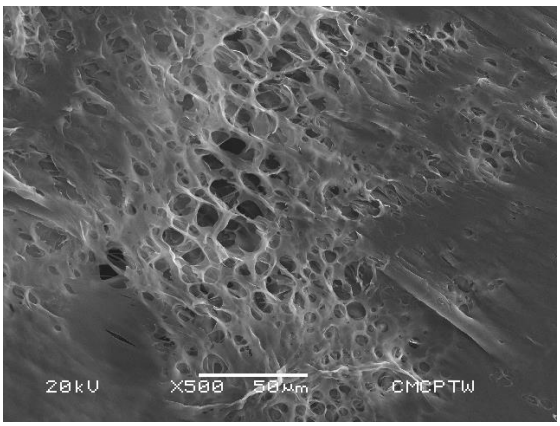


(c)

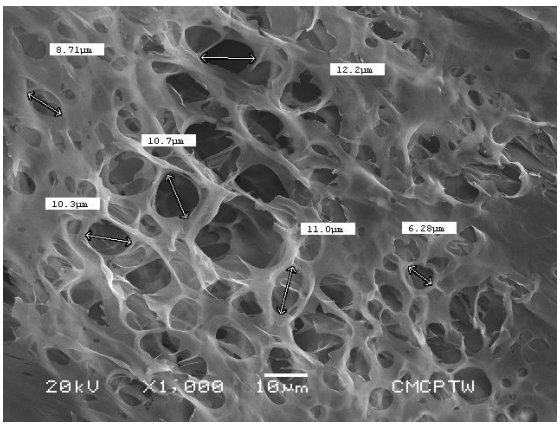


(d)

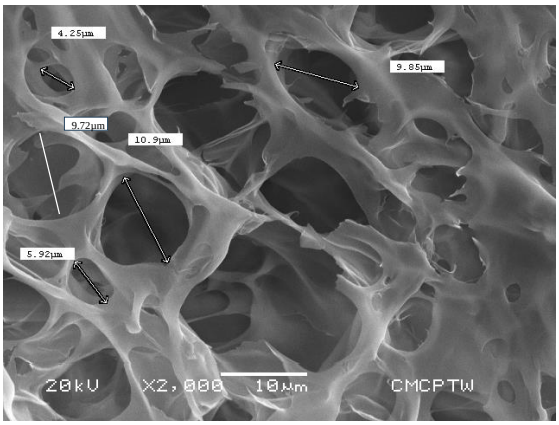
Figura 50 Imágenes SEM del hidrogel formulado con carboximetilcelulosa y agua destilada a: (a) 500x, (b) 1000x con medidas de poro, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x con medidas de poro.



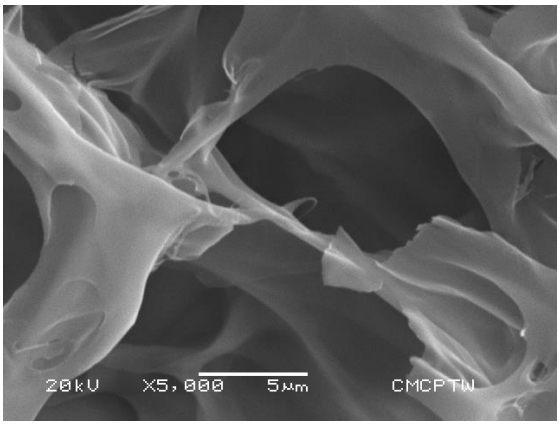
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 51 Imágenes SEM del hidrogel formulado con carboximetilcelulosa y agua tratada con plasma a: (a) 500x, (b) 1000x con medidas de poro, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x.

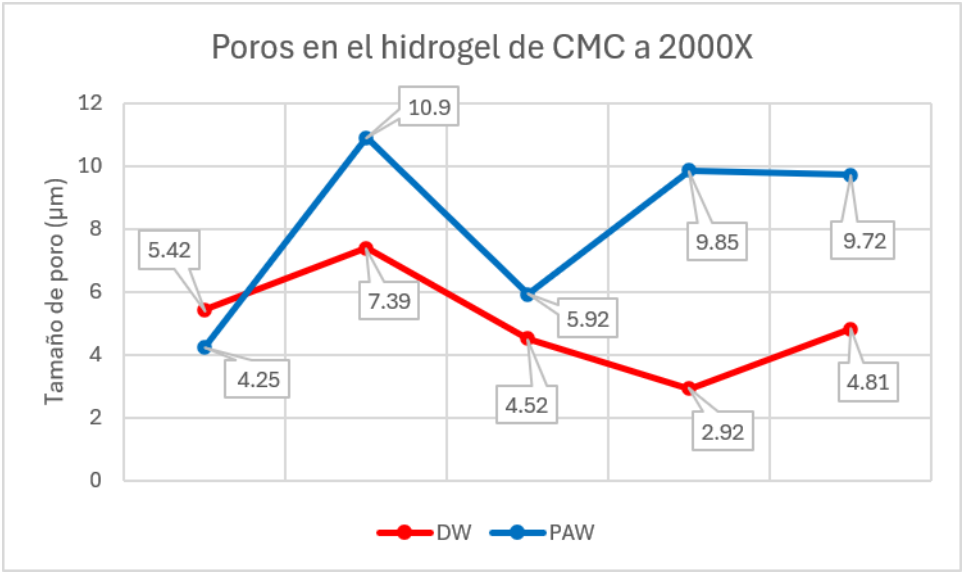
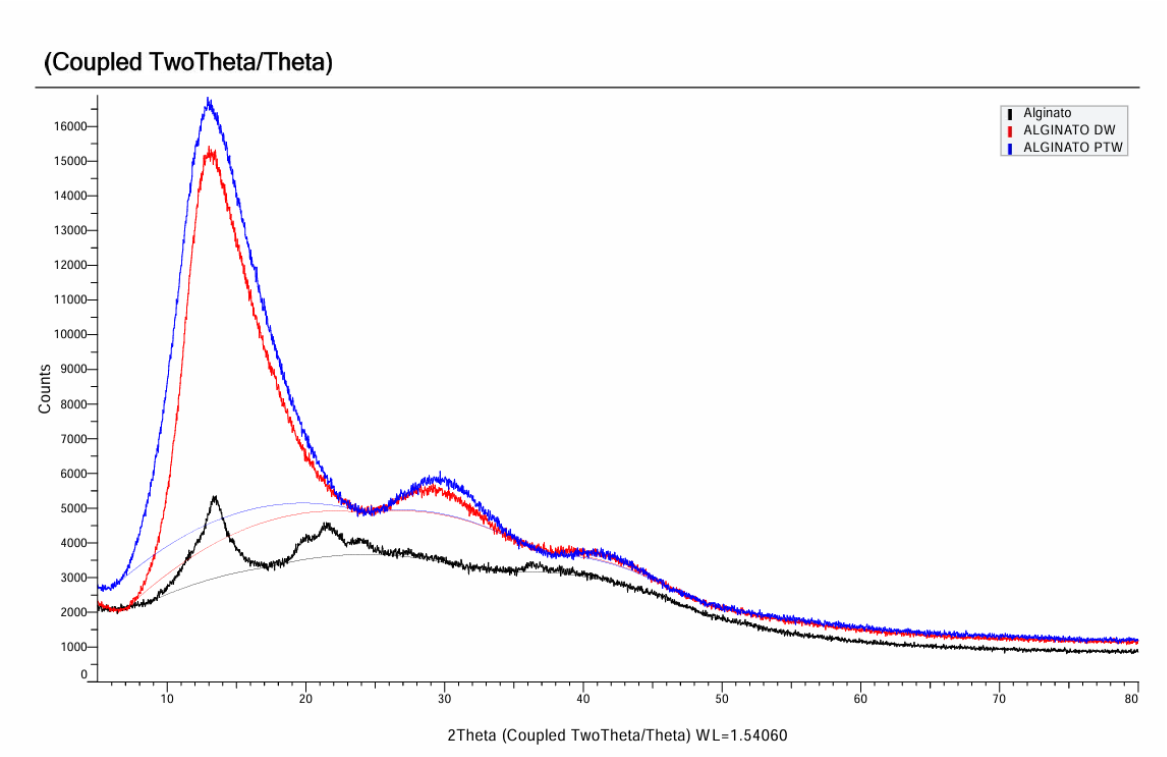


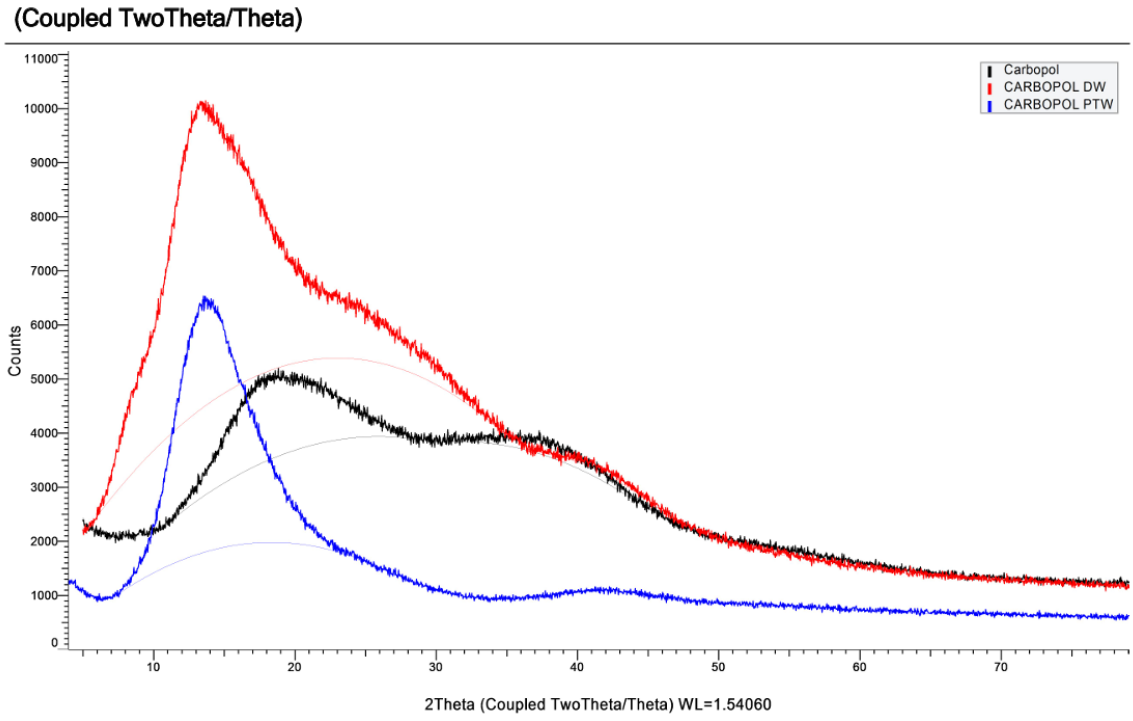
Figura 52 Gráfico de tamaños de poro (µm) medios en el hidrogel de CMC con DW y con PAW.

7.4 ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X (XRD)

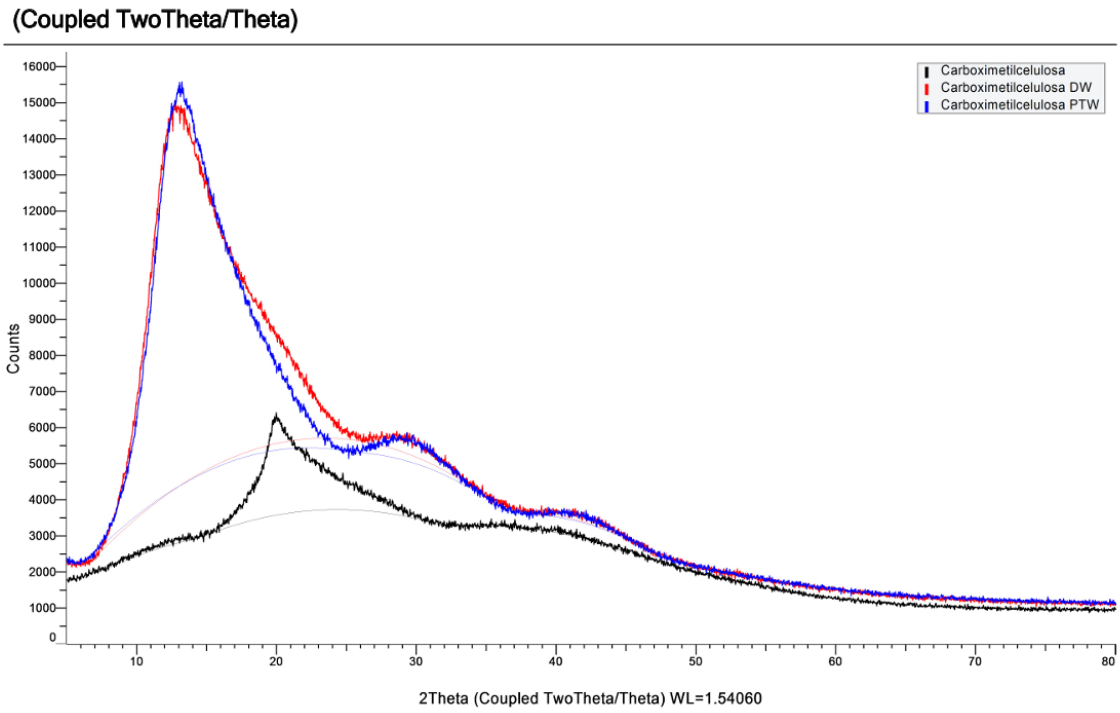
Los perfiles de difracción de rayos X obtenidos para los precursores en polvo y los hidrogeles liofilizados se presentan en la Figura 53. El análisis cristalográfico es fundamental para determinar si el proceso con agua activada por plasma en la síntesis de la red polimérica induce transiciones de fase o fenómenos de recristalización.


(Coupled TwoTheta/Theta)
Alginato
ALGINATO DW
ALGINATO PTW
Counts
2Theta (Coupled TwoTheta/Theta) WL=1.54060

(a)


(Coupled TwoTheta/Theta)
Carbopol
CARBOPOL DW
CARBOPOL PTW
Counts
2Theta (Coupled TwoTheta/Theta) WL=1.54060

(b)



(c)

Figura 53 Curvas XRD de los polímeros de: (a) alginato de sodio, (b) carbopol y (c) CMC sódica, con una comparación entre el polímero en forma de polvo (curvas negras), el hidrogel formulado con DW (curvas rojas) y el hidrogel formulado con PAW (curvas azules).

7.4.1 Caracterización del grado de cristalinidad

Los difractogramas confirman de manera concluyente que tanto los polímeros de partida como las formulaciones resultantes poseen un carácter predominantemente amorfo. Este comportamiento se manifiesta a través de la presencia de halos de difracción anchos (halos amorfos) y la ausencia total de picos de Bragg agudos y definidos, los cuales caracterizarían a un material con ordenamiento de largo alcance (comparar con el patrón cristalino de referencia en el Anexo XI-b).

La naturaleza amorfa observada es intrínseca a las macromoléculas empleadas (carbopol, CMC y alginato). Al ser polímeros de cadena larga con una disposición espacial irregular y ramificada, presentan una elevada entropía configuracional que

dificulta el empaquetamiento periódico necesario para la formación de dominios cristalinos.

7.4.2 Efecto del solvente (DW vs. PAW) en la estructura molecular

Al intentar la indexación de las curvas experimentales en las bases de datos cristalográficas, no se identificaron fases coincidentes, lo que confirma la naturaleza amorfa de las matrices y la ausencia de ordenamiento periódico a largo plazo. Este comportamiento se asocia, en primer lugar, a la flexibilidad de la red, donde la elevada movilidad de las cadenas poliméricas en el estado hidratado restringe la formación de un empaquetamiento rígido. En segundo lugar, se observa que la presencia del plasma no altera este perfil; al comparar los difractogramas del polímero puro, el blanco de DW y la formulación con PAW, se presenta una superposición casi total de las señales, manteniendo la estructura desordenada original en todos los sistemas.

7.4.3 Discusión de los resultados de XRD

En términos estructurales, la invariabilidad de los halos de difracción sugiere que ni la hidratación ni las especies reactivas de corta y larga vida transferidas por el PAW (como nitratos, nitritos o peróxido de hidrógeno) tienen la energía suficiente para alterar la configuración química primaria de los polímeros o para inducir un ordenamiento secundario.

Se concluye que el proceso de gelificación es un fenómeno impulsado por interacciones electrostáticas (en el caso del carbopol neutralizado) o puentes de hidrógeno, los cuales no modifican el estado amorfo fundamental de la matriz. Por lo tanto, el uso de agua activada por plasma conserva la integridad estructural de los biomateriales, garantizando que sus propiedades de flexibilidad y biocompatibilidad permanezcan inalteradas.

7.5 DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS

Considerando los resultados obtenidos en este trabajo y también estudios realizados por otros autores, se evidencia que el tratamiento con plasma no-térmico

induce cambios fisicoquímicos en hidrogeles que son apreciables a nivel macro y micro molecular.

En el artículo de Król-Kilińska, Z. et al. (2024) [12], se evaluó la influencia del agua tratada indirectamente por plasma en la preparación de hidrogeles elaborados con gelatina, carragenina y alginato de sodio. Los autores demostraron que este tratamiento induce modificaciones en las propiedades fisicoquímicas, la organización estructural y el grado de entrecruzamiento de las redes poliméricas.

Debido a la similitud en el enfoque experimental, este trabajo constituyó uno de los principales referentes para la interpretación de los resultados obtenidos durante el desarrollo de la presente investigación. La comparación de los resultados de la presente investigación con los reportados por dichos autores permitió corroborar tendencias comunes, particularmente en la obtención de hidrogeles más transparentes y valores de pH más bajos tras el empleo de agua tratada por plasma, aun cuando los sistemas poliméricos evaluados fueron diferentes.

Aunque las micrografías obtenidas mediante SEM no evidenciaron una estructura altamente porosa, sí permitieron observar modificaciones en la microestructura de los hidrogeles preparados con agua tratada indirectamente por plasma, las cuales variaron según el polímero utilizado. De manera consistente, Król-Kilińska et al. reportaron que este tratamiento modifica la organización superficial de dichas matrices

Estas coincidencias fortalecen la interpretación de que el tratamiento del agua con plasma induce modificaciones fisicoquímicas reproducibles en distintas matrices hidrogelificantes, aunque la respuesta de cada sistema dependa de la naturaleza química del polímero de partida.

El artículo publicado por Hernández-Arias A., N. et al. (2026), [124], fue desarrollado de manera paralela a la presente investigación, por lo que constituyó una referencia científica de especial relevancia para la interpretación de los resultados obtenidos.

Aun cuando se conoce la similitud en el enfoque experimental de ambos estudios, basada en el empleo de agua activada con plasma como estrategia de formulación de hidrogeles, la presente investigación amplía el conocimiento disponible al evaluar tres matrices poliméricas distintas, lo cual permitió establecer que las modificaciones observadas en la estructura morfológica de los hidrogeles, particularmente en el tamaño de poro, están determinadas no solo por el empleo de PAW, sino también por la naturaleza química de cada polímero.

Tanto el estudio de Hernández-Arias et al. como el presente trabajo evidenciaron una red tridimensional más definida en todas las formulaciones de hidrogeles cuando el agua de formulación fue previamente tratada con plasma, aunque se presentaron cambios morfológicos particulares para cada matriz polimérica.

Este trabajo constituye el antecedente más cercano al presente estudio debido a que ambos emplean agua activada con plasma como medio de formulación de hidrogeles

El estudio de Liang, R (2024) [10] analizó el comportamiento de hidrogeles de quitosano y alginato de sodio sometidos a exposición directa a plasma no-térmico generado mediante DBD. Por medio de SEM, los autores observaron modificaciones en la morfología de los hidrogeles, particularmente en el tamaño de poro, las cuales fueron atribuidas a cambios en el grado de entrecruzamiento inducido por el plasma.

De manera similar, en la presente investigación también se evidenciaron diferencias en la morfología y el tamaño de poro entre los hidrogeles preparados con DW y PAW. Sin embargo, mientras Liang et al. reportaron una disminución en el tamaño de poro después del tratamiento con plasma, en este estudio se observaron poros de mayor tamaño en las formulaciones de CMC y de alginato de sodio. Si bien la literatura reporta frecuentemente una disminución en el diámetro de poro debido a la exposición al plasma, esta divergencia se atribuye a las variaciones metodológicas entre los diseños experimentales. Por ejemplo, Liang et al. aplicaron la descarga de plasma de forma directa sobre matrices de hidrogel ya

estructuradas. Por el contrario, en este trabajo el plasma se empleó como un tratamiento indirecto a través de la activación previa del solvente (PAW), modificando el entorno químico antes de que ocurriera la gelificación. Asimismo, las diferencias en la composición de las formulaciones, especialmente el empleo de agentes reticulantes, como glutaraldehído y cloruro de calcio, en el estudio de Liang et al., además de su estrategia de aplicación directa del plasma, mientras que dichos reticulantes no fueron utilizados en la presente investigación, también podrían haber influido en la organización estructural de la red polimérica y, por consiguiente, en el tamaño de poro observado.

En el estudio de Tampieri, F. et al. (2023) [125], se evaluó el efecto en las propiedades fisicoquímicas de hidrogeles de alginato de sodio como consecuencia del tratamiento directo con plasma en soluciones formuladas a base de dicho polímero. Se encontraron diferencias significativas en la distribución, el número y la homogeneidad de los poros de los hidrogeles, cambios que los autores asociaron con la oxidación y fragmentación de las cadenas del alginato y con modificaciones en sus grupos carboxílicos. Sin embargo, las modificaciones no son tan extensas como para comprometer la funcionalidad del hidrogel.
Los resultados de este estudio son consistentes con las diferencias observadas en las micrografías SEM de los hidrogeles formulados con DW y PAW (Figuras 44-45, 47-48 y 50-51), en las que también se aprecia una variación en la cantidad y distribución de los poros. A su vez, aportan evidencia que respalda la interpretación de que el plasma no-térmico interactúa con los grupos funcionales de los polímeros empleados en cada formulación, lo que se refleja en modificaciones fisicoquímicas en el hidrogel final.

La correspondencia entre la literatura consultada y las tendencias de este trabajo permite validar los efectos inducidos por el plasma no-térmico, identificando patrones comunes tanto en las propiedades macroscópicas como en el ordenamiento microestructural. Asimismo, la evidencia recopilada confirma que

estas modificaciones preservan la estabilidad física de los hidrogeles, ofreciendo un marco de referencia sólido para interpretar los hallazgos derivados de las técnicas de caracterización complementarias.

En cuanto a la XRD, si bien los estudios previamente realizados por otros autores emplean con mayor frecuencia estudios mecánicos, FTIR y SEM para conocer los efectos emitidos por el plasma en el hidrogel; en estudios como el presentado por Mohamed, R. R et al. (2022) [14] se presentan resultados de XRD para un hidrogel formulado con CMC y poli(4-vinilpiridina) (P4VP), en donde se aprecia la presencia de halos difusos para los polímeros y la existencia de picos bien definidos característicos únicamente al agregar urea y nitrato de calcio a la formulación.

En otro estudio, realizado por Suhail, M. et al. (2020) [118] se reportan difractogramas obtenidos mediante difracción de rayos X de polvos para distinguir la diferencia entre un hidrogel de Car934-g-poli(ácido acrílico) sin cargar y el mismo cargado con fármacos (diclofenaco sódico). Se aprecian picos cristalinos en el fármaco, mientras que el hidrogel sin cargar presenta halos amorfos que dan como resultado un hidrogel cargado con predominantes halos amorfos que desaparecen los picos del fármaco solo, lo que sugiere una interacción entre el fármaco y la red polimérica.

Finalmente, se discute el artículo presentado por Fargharazi, M. y Bagheri-Mohaghegh, M. M (2024) [121], en donde se obtuvieron patrones de difracción XRD de carbón activado (AC), alcohol polivinílico (PVA), nanopartículas de óxido de cobre (CuO), nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), nanocompuesto de hidrogel de PVA:CuO:AC y nanocompuesto de hidrogel de PVA:ZnO:AC.

En este artículo es especialmente visible cómo las moléculas de óxidos semiconductores presentan picos cristalinos bien definidos, el PVA muestra una naturaleza parcialmente cristalina y a su vez zonas con amorfismo y el AC muestra su estado amorfo con un halo amplio.

Al reunir todos estos elementos en nanocompuestos de hidrogeles se obtienen espectros de XRD que combinan comportamientos cristalinos y amorfos.

La principal relevancia de discutir esto es destacar que los difractogramas finales de un hidrogel regido por una red polimérica es predominantemente amorfo, tal como se presenta en la Figura 53 de este trabajo. El hallazgo de picos cristalinos es visible de manera exclusiva bajo la presencia de aditivos con un comportamiento previamente cristalino que es transferido al hidrogel, lo cual permite concluir su presencia o ausencia. En este caso, no se mostraron picos característicos, lo que descarta la adición de fases cristalinas por el tratamiento con plasma en hidrogeles formulados con Carbopol 940, alginato de sodio y CMC.

7.6 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La caracterización morfológica del estudio se realizó sobre xerogeles liofilizados y por ende puede no representar exactamente la naturaleza del hidrogel en estado hidratado, ya que la eliminación del agua mediante este procedimiento en ocasiones modifica determinadas características estructurales del hidrogel, particularmente su morfología y distribución de poros, debido a los cambios que ocurren durante la congelación y posterior sublimación del agua.

Si bien la liofilización constituye la metodología estándar más viable para la preservación de la red bajo alto vacío en SEM, dichas alteraciones deben ser tomadas en consideración al interpretar los hallazgos en las micrografías obtenidas.

Por otro lado, el número de poros que pudieron medirse fue limitado debido al colapso y las deformaciones observadas en algunas zonas de la red porosa. Las mediciones realizadas corresponden a poros identificados en micrografías representativas y no a réplicas experimentales independientes. Por ello, los valores de diámetro promedio y desviación estándar se presentan con fines descriptivos y

permiten identificar tendencias en la arquitectura porosa, pero no permiten establecer diferencias estadísticamente significativas entre las condiciones de DW y PAW.

Finalmente, no se incluyeron en el alcance del presente estudio la evaluación del grado de hinchamiento, las propiedades mecánicas ni las posibles modificaciones químicas de los materiales. En consecuencia, para profundizar en el entendimiento de las interacciones entre el PAW y los polímeros estudiados, se recomienda complementar los análisis realizados mediante técnicas que permitan evaluar diferentes aspectos de la respuesta del material. Entre ellas, se propone la realización de análisis reológicos y ensayos mecánicos para cuantificar posibles cambios en la viscosidad y rigidez de la red polimérica; espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), para identificar posibles modificaciones o interacciones en los grupos funcionales de los polímeros; así como microscopía electrónica de barrido criogénica (Cryo-SEM), con el propósito de caracterizar la arquitectura porosa del hidrogel en un estado más cercano a su condición hidratada y reducir los posibles artefactos asociados con el proceso de secado.



CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

A partir del desarrollo experimental y la discusión de los hallazgos, se establecen las siguientes conclusiones principales:

- Efecto de la activación del solvente: Se demostró que el agua activada por plasma no-térmico (PAW) induce modificaciones mensurables en la arquitectura porosa y en el comportamiento fisicoquímico de las matrices estudiadas. Estos hallazgos refutan la hipótesis inicial que contemplaba un comportamiento inerte del solvente, evidenciando que el plasma sí altera activamente el proceso de gelificación.
- Complementariedad analítica: La combinación de las técnicas de caracterización evidenció que la preservación del halo amorfo observado por difracción de rayos X (XRD) no impide la reestructuración microestructural registrada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Ambos análisis confirman que el tratamiento con PAW no altera la naturaleza desordenada del polímero, pero sí condiciona el ordenamiento tridimensional de la red en función del entorno iónico del medio.
- Efecto diferencial según el polímero: El tratamiento con PAW mostró en las micrografías de SEM una clara modificación de la estructura del hidrogel según el material base. Mientras que en el polímero sintético (Carbopol) genera una red más densa y compacta, en los biopolímeros naturales (CMC y alginato) provoca la apertura y expansión de los poros. Este contraste demuestra que el plasma permite ajustar la porosidad y la permeabilidad del material según las necesidades del diseño.
- Estabilidad del material: La coherencia entre los perfiles de XRD para las distintas formulaciones ratifica que la incorporación de las especies reactivas del plasma no deteriora el esqueleto polimérico ni compromete la estabilidad química de los biomateriales procesados.
- Acumulación de carga y polaridad superficial: La acumulación de carga electrostática observada durante la caracterización por SEM —manifestada

como una pérdida local de definición o "efecto de niebla"— constituye un indicador indirecto de la baja conductividad eléctrica y la elevada capacidad de retención de humedad en las matrices tratadas con PAW. Esta respuesta microscópica sugiere un incremento en la densidad de grupos polares e iones atrapados en la superficie del polímero, una propiedad que podría favorecer la afinidad celular y la interacción con fluidos biológicos en aplicaciones de ingeniería de tejidos.

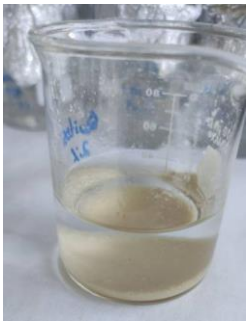
8.1 PERSPECTIVAS FINALES Y VALOR CIENTÍFICO DE LA INVESTIGACIÓN

Más allá de la caracterización fisicoquímica, esta investigación contribuye a la ingeniería de materiales al evidenciar que el plasma no-térmico no se limita a la esterilización, sino que también actúa como una herramienta para la modificación de la estructura interna de matrices poliméricas en la micro y nanoescala.

La posibilidad de modular la arquitectura del hidrogel mediante el empleo de agua activada por plasma (PAW) ofrece alternativas en el desarrollo de sistemas para la ingeniería de tejidos y la liberación controlada de fármacos. En este trabajo se constató la factibilidad de modificar la densidad de la red y la morfología del poro conservando la naturaleza amorfa y la flexibilidad del material, un aspecto central en el diseño de biomateriales funcionales.

En conjunto, este estudio valida la viabilidad técnica de integrar la tecnología de plasma con polímeros y replantea el papel del solvente —tradicionalmente considerado un medio inerte— como un agente activo capaz de condicionar las propiedades fisicoquímicas y la respuesta funcional del hidrogel.

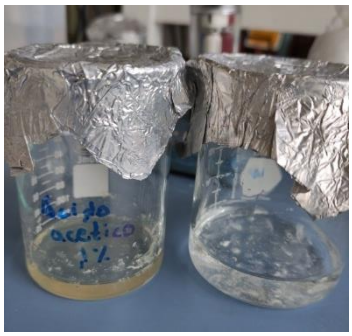
ANEXOS



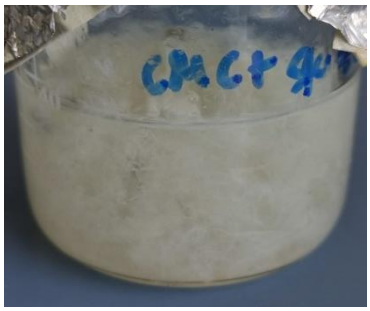
(a)



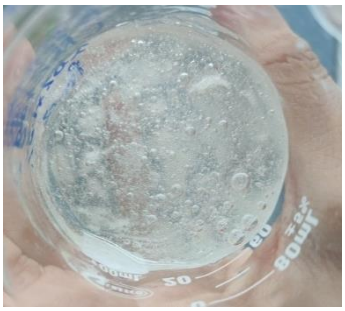
(b)



(c)

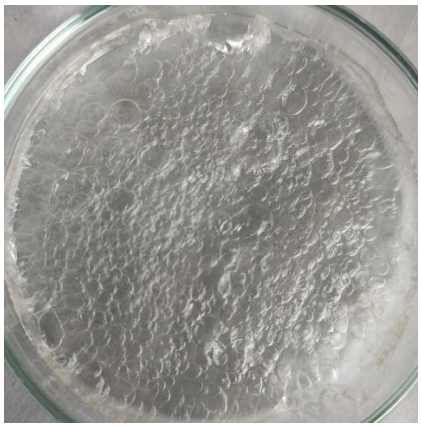


(d)

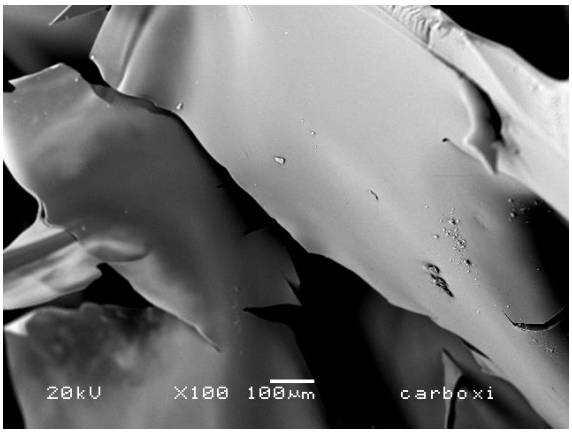


(e)

Anexo I Formulaciones de geles a base de: (a) quitosano al 2%, (b) CMC al 3.6%, (c) quitosano con ácido acético al 1% y CMC antes de mezclar, (d) quitosano al 0.5% con ácido acético al 1% y CMC al 1% ya mezclados y (e) CMC al 2.0%+alginato al 1.5%.



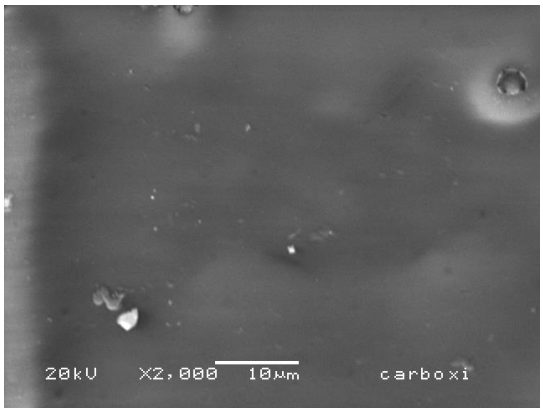
(a)



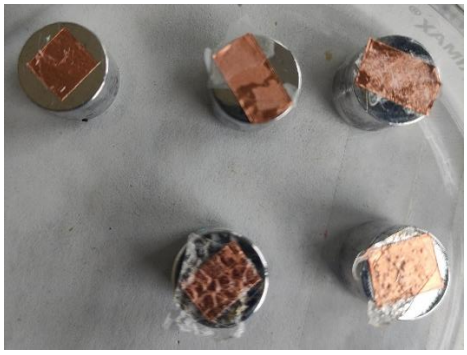
(b)



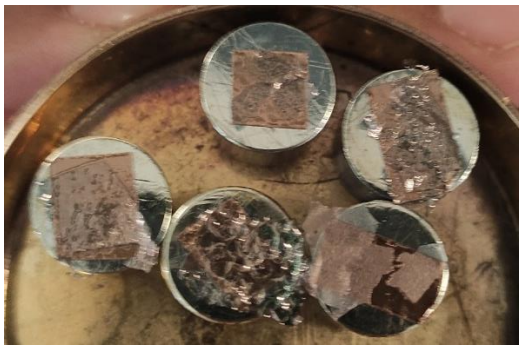
(c)



(d)



(e)



(f)

Anexo II Distintas formulaciones y sus imágenes obtenidas por SEM de: (a), (b) Hidrogel de CMC formulado con DW, secado en horno a baja temperatura y alto vacío: P de -2666.44 Pa y T de 40°C; (c), (d) Hidrogel de CMC formulado con DW, deshidratado por series de etanol del 50%-100% (Se pasó dos veces por serie de 100% de etanol), (e) Muestras de CMC deshidratadas, acomodadas en el portamuestras con cinta de cobre y (f) Muestras después de 1 min de sputtering con Au.

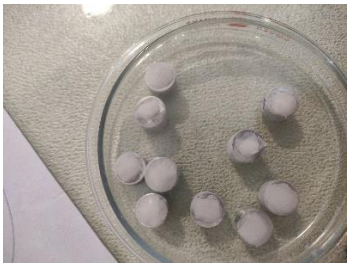


(a)



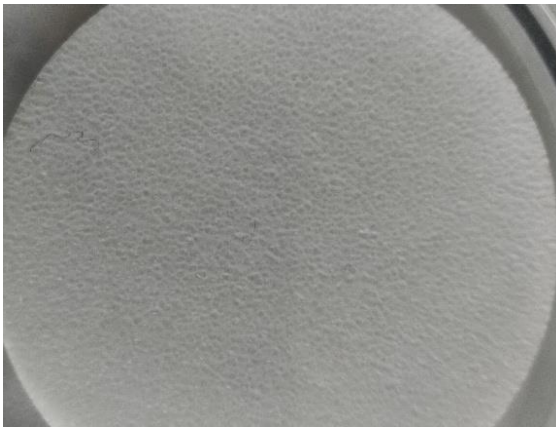


(b)

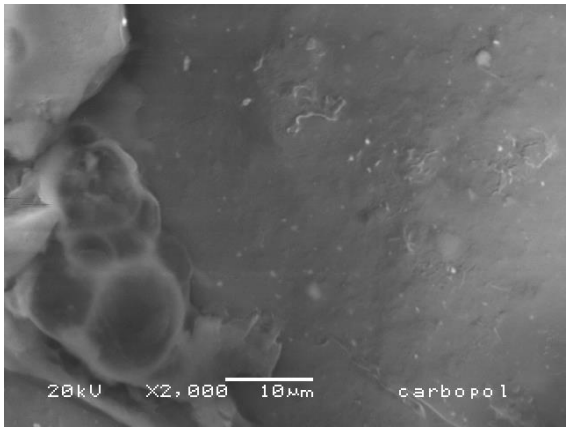


(c)

Anexo III (a) Equipo liofilizador Christ, (b) Tratamiento de muestras con nitrógeno líquido y (c) muestras de hidrogel tratado con nitrógeno líquido.



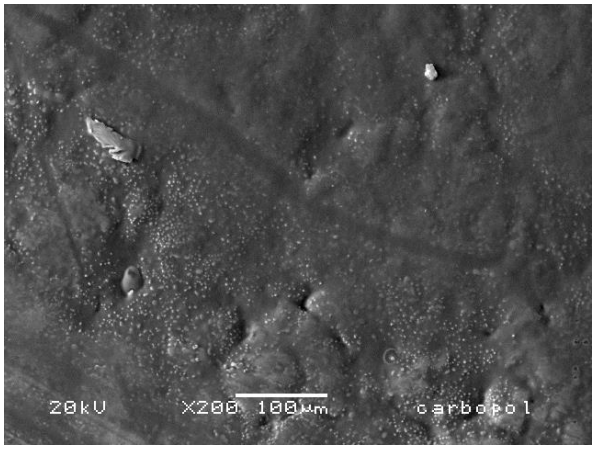
(a)



(b)



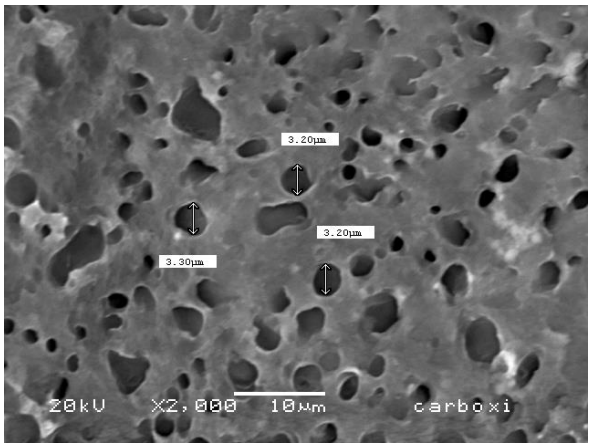
(c)



(d)



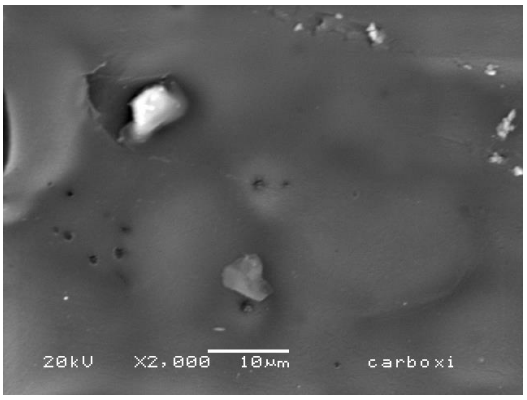
(e)



(f)

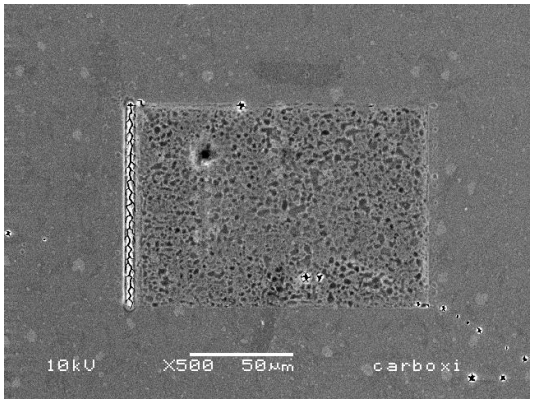


(g)

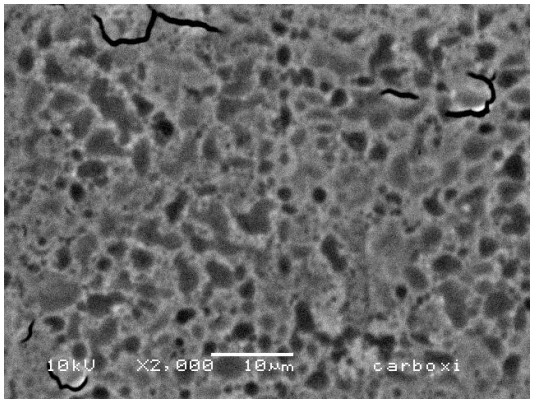


(h)

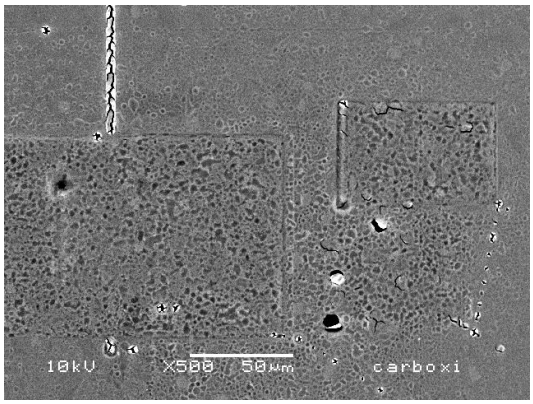
Anexo IV Distintas formulaciones y sus imágenes obtenidas por SEM de: (a), (b) Hidrogel de carbopol formulado con DW, montado y liofilizado sobre una tapa de unicel; (c), (d) hidrogel de carbopol formulado con PAW, liofilizado en tapa de teflón; (e), (f) hidrogel de CMC formulado con PAW, liofilizado en tapa de teflón, y (g), (h) hdrogel de CMC formulado con DW, liofilizado en tapa de unicel.



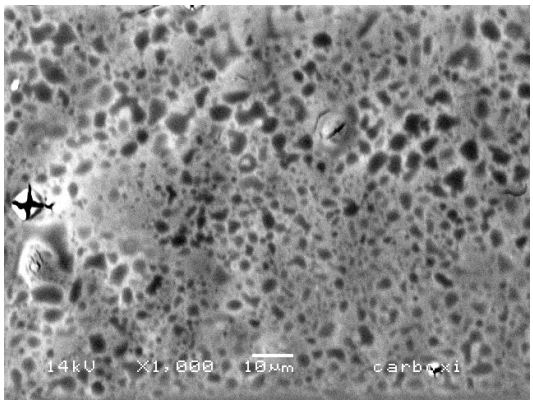
(a)



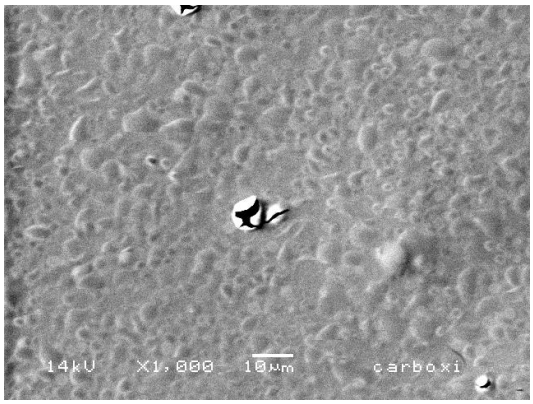
(b)



(c)

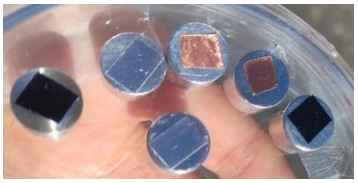


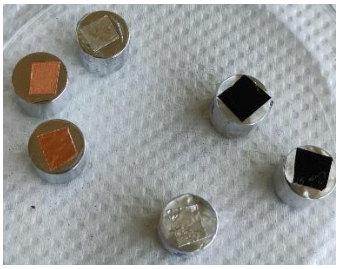
(d)



(e)

Anexo V Hidrogeles vistos por SEM de: (a), (b), (c) carbopol y (d), (e) CMC, con DW, liofilizados en el equipo Christ, colocadas sobre cinta de cobre y con un sputtering con Au de 1min. Se observa que al gel muestra “poros” después de un barrido correcto, pero estos parecen ser artefactos generados por el haz de electrones. Así mismo, la muestra se quemó por el mismo barrido.







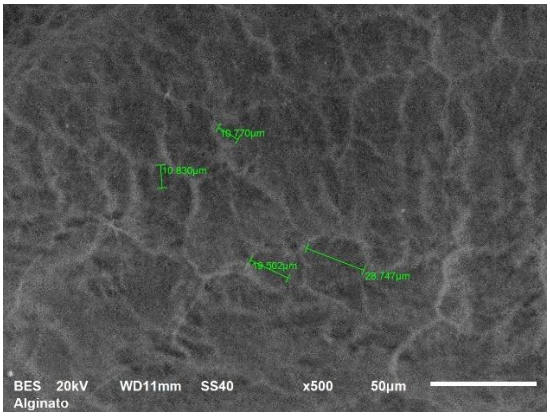
(a) (b) (c)

Anexo VI (a) Cintas de carbono, aluminio y cobre, (b) hidrogel montado sobre cintas de carbono, aluminio y cobre en forma de gota para tratamiento por liofilización y (c) hidrogel liofilizado sobre cintas de carbono, aluminio y cobre, después del sputtering con Au para análisis por SEM.

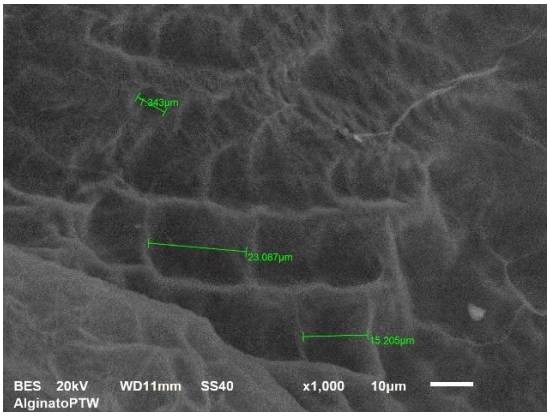




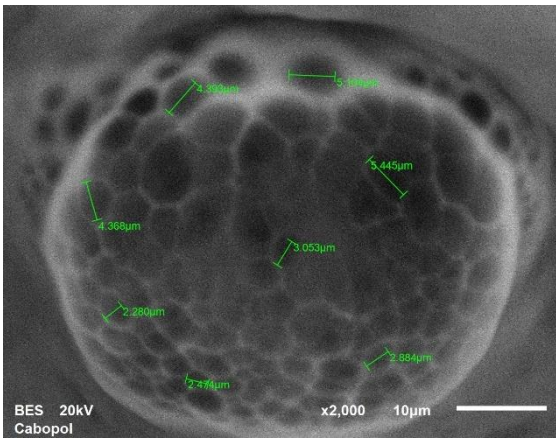
Anexo VII Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6610LV.



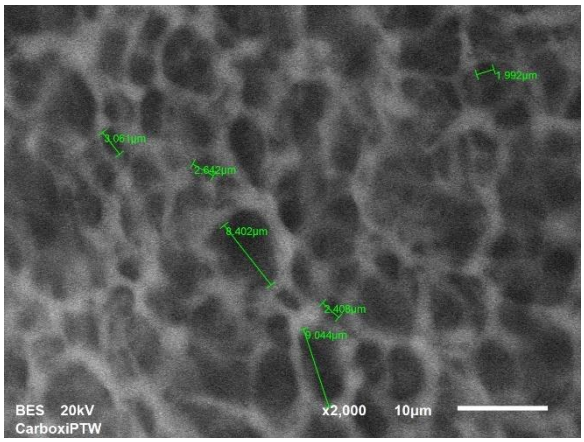
(a)



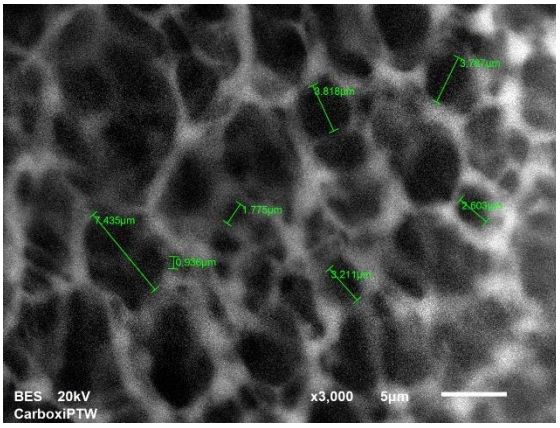
(b)



(c)

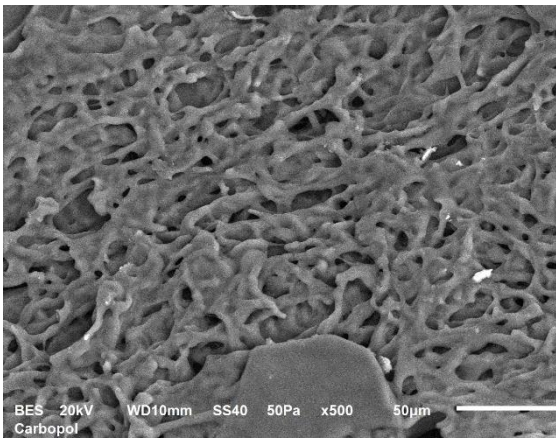


(d)

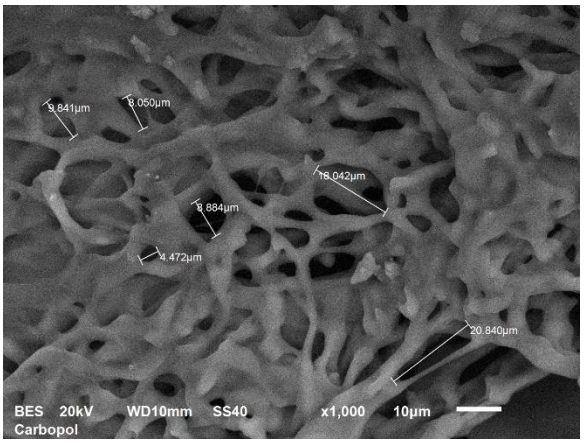


(e)

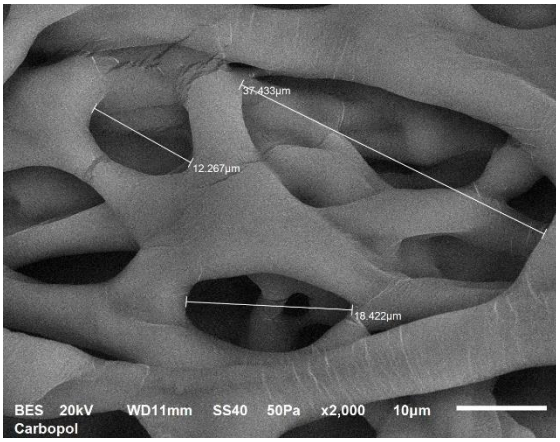
Anexo VIII Hidrogeles vistos por SEM sin sputtering y montadas sobre cinta de aluminio, vistas en el equipo JEOL JSM-6610LV; de: (a) alginato de sodio formulado con DW, (b) alginato de sodio formulado con PAW, (c) carbopol formulado con DW, (d) carbopol formulado con PAW y (e) CMC formulado con PAW.



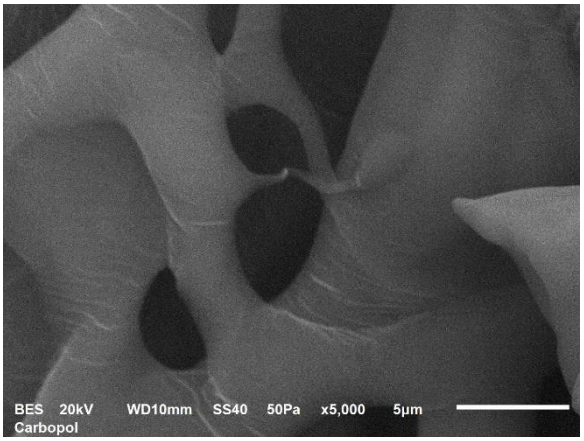
(a)



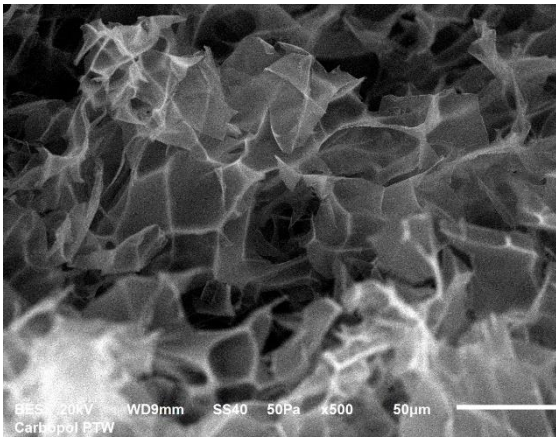
(b)



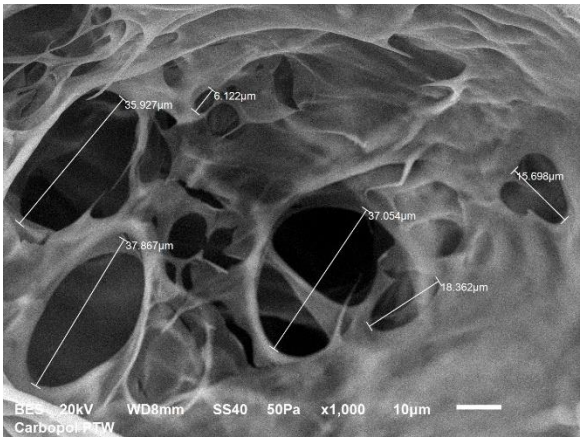
(c)



(d)

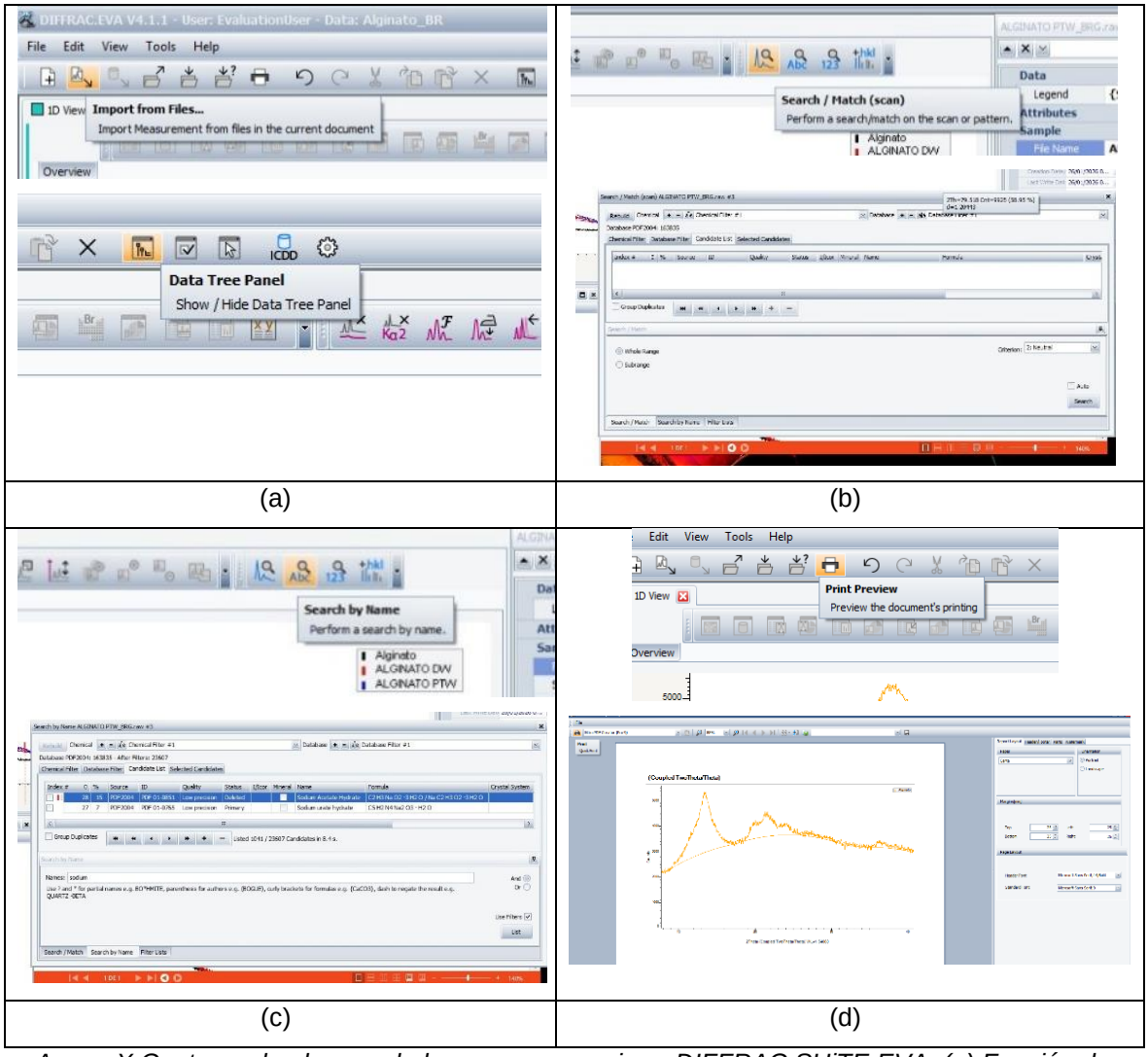


(e)

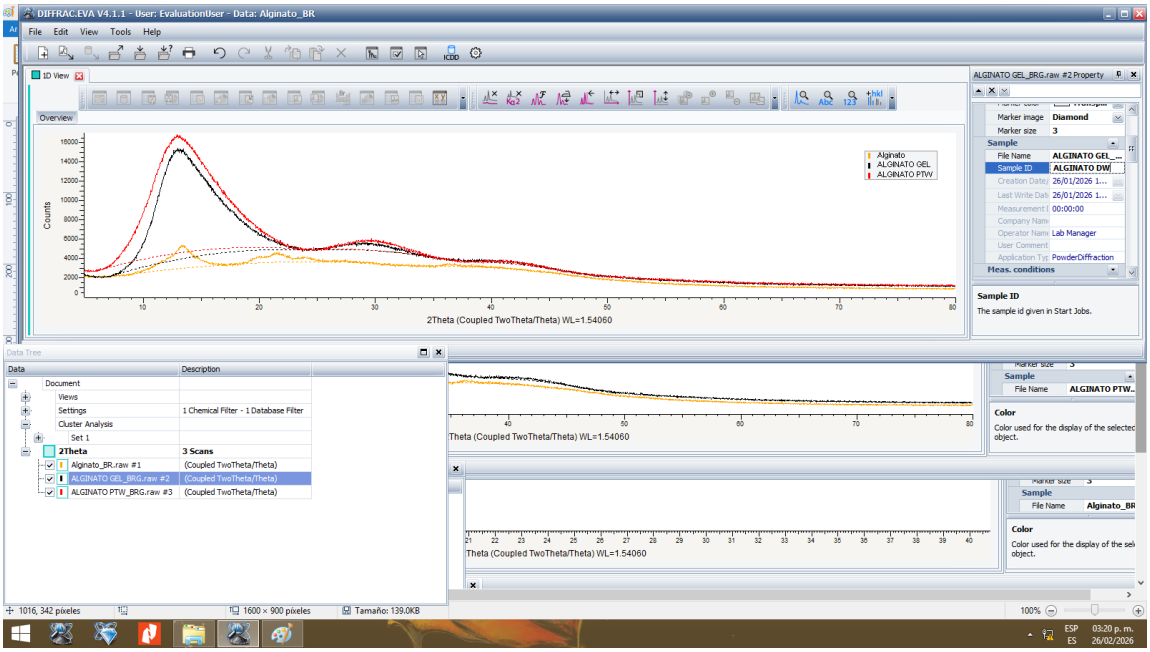


(f)

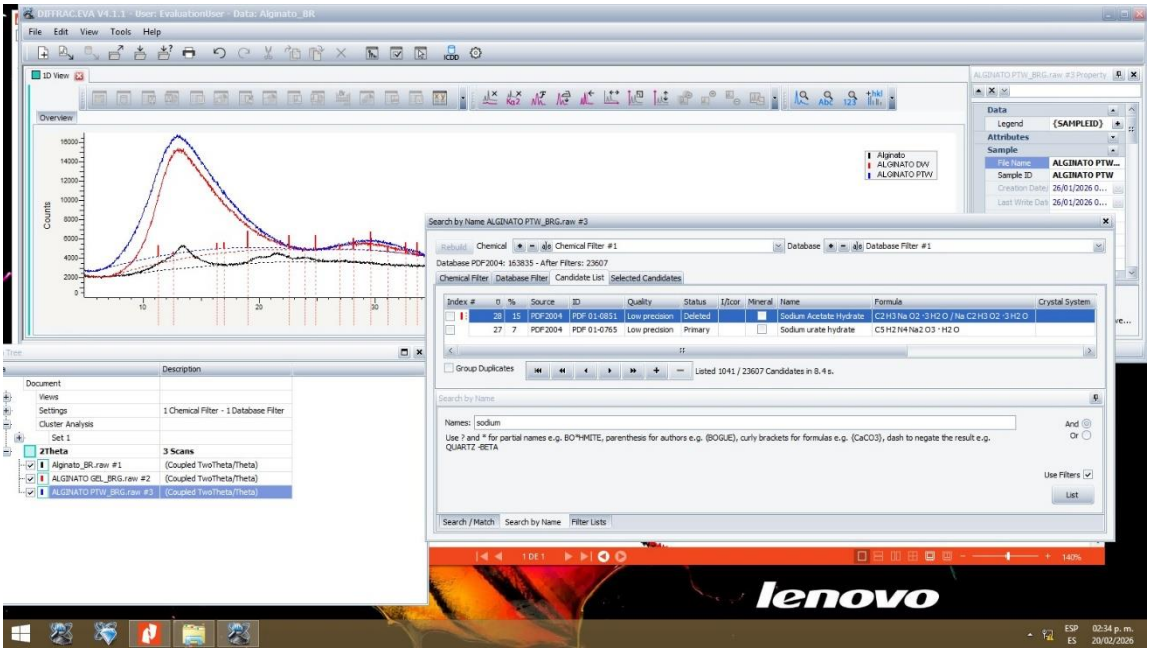
Anexo IX Hidrogeles vistos por SEM con sputtering y muestras montadas sobre cinta de carbono, de carbopol formulado con DW a: (a) 500x, (b) 1000x con medidas de poro, (c) 2000x con medidas de poro y (d) 5000x; y carbopol formulado con PAW a: (e) 500x y (f) 1000x con medidas de poro.



Anexo X Capturas de algunos de los pasos a seguir en DIFFRAC.SUiTE.EVA. (a) Función de importar documentos y función "Data Tree Panel", (b) Función buscar (se trata de una búsqueda general si se encuentran picos cristalinos en la curva del difractograma), (c) Función buscar por nombre (Sirve para buscar si existen curvas reportadas a partir el nombre del material analizado por XRD), (d) Función imprimir, para guardar una imagen de la curva resultante mediante la técnica.



(a)



(b)

Anexo XI a) Tres curvas distintas listas para comparación de resultados y (b) difractograma de rayos X de un material cristalino de referencia. Las curvas corresponden a los datos experimentales, mientras que las líneas rojas verticales indican las posiciones de los picos cristalinos de referencia de las fases: acetato de sodio trihidratado y urato de sodio monohidratado.

REFERENCIAS

[1] Kim, S. & Kim, C.-H. "Applications of Plasma-Activated Liquid in the Medical Field". **Biomedicines** 2021, 9, 1700. DOI: 10.3390/biomedicines9111700

[2] Chen, J. et al. "Plasma-Activated Hydrogels for Microbial Disinfection". **Adv. Sci.** 2023, 10, 2207407. DOI: 10.1002/advs.202207407

[3] Gupta, B. & Agarwal, R. "Hydrogels for wound healing applications". En: **Biomedical Hydrogels**. Woodhead Publishing Limited; 2011. pp. 184–227. [DOI no disponible]

[4] Gounden, V. & Singh, M. "Hydrogels and Wound Healing: Current and Future Prospects". **Gels** 2024, 10, 43. DOI: 10.3390/gels10010043

[5] Zhang, W.; Liu, Y.; Xuan, Y. & Zhang, S. "Synthesis and Applications of Carboxymethyl Cellulose Hydrogels". **Gels** 2022, 8, 529. DOI: 10.3390/gels8090529

[6] Rana, A.; Gupta, V.; Hart, P. & Thakur, V. "Cellulose-alginate hydrogels and their nanocomposites for water remediation and biomedical applications". **Environ. Res.** 2024, 243, 117889. DOI: 10.1016/j.envres.2023.117889

[7] Apriani, E. F.; Kornelia, N. & Amriani, A. "Optimizing Gel Formulations Using Carbopol 940 and Sodium Alginate Containing Andrographis paniculata Extract for Burn-Wound Healing". **J. Farm. Ilmu Kefarmasian Indones.** 2023, 10(3), 300–311. DOI: 10.20473/jfiki.v10i32023.300-311

[8] Aslani, A.; Ghannadi, A. & Najafi, H. "Design, formulation and evaluation of a mucoadhesive gel from Quercus brantii L. and Coriandrum sativum L. as periodontal drug delivery". **Adv. Biomed. Res.** 2013, 2(2), 21. DOI: 10.4103/2277-9175.108007

[9] Suzilla, W. Y. et al. "Formulation and evaluation of antimicrobial herbosomal gel from Quercus infectoria extract". **IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.** 2020, 736, 022030. DOI: 10.1088/1757-899X/736/2/022030

[10] Liang, R.; Zhang, D.; Guo, J.; Bian, S.; Yang, C.; Li, A.; Zhang, W. & Huang, F. "Dielectric Barrier Discharge Plasma-Assisted Preparation of Chitosan-Based Hydrogels". **Int. J. Mol. Sci.** 2024, 25, 2418. DOI: 10.3390/ijms25042418

[11] Urbina de Navarro, C. et al. "Análisis morfológico comparativo de hidrogeles copolimeros por microscopía electrónica de barrido". **Acta Microsc.** 2016, 25(2), 111–120. [DOI no disponible]

[12] Król-Kilińska, Z. et al. "Characterization of Biopolymer Hydrogels Prepared with Water Exposed to Indirect Plasma Treatment". **Int. J. Mol. Sci.** 2024, 25, 13427. DOI: 10.3390/ijms252413427

[13] Thang, N. H.; Chien, T. B. & Cuong, D. X. "Polymer-Based Hydrogels Applied in Drug Delivery: An Overview". **Gels** 2023, 9, 523. DOI: 10.3390/gels9070523

[14] Mohamed, R. R.; Fahim, M. E. & Soliman, M. A. "Development of hydrogel based on Carboxymethyl cellulose/poly(4-vinylpyridine) for controlled releasing of fertilizers". **BMC Chem.** 2022, 16, 52. DOI: 10.1186/s13065-022-00846-6

[15] Biogenera AC. Hidrogeles [Imagen]. 2020. https://biogeneraac.blogspot.com/2020/11/hidrogeles.html (consultado el 25 de noviembre de 2025).

[16] Yang, D. "Recent Advances in Hydrogels". **Chem. Mater.** 2022, 34, 1987–1989. DOI: 10.1021/acs.chemmater.2c00188

[17] Tang, Y. et al. "Advances in preparation and application of antibacterial hydrogels". **J. Nanobiotechnol.** 2023, 21, 300. DOI: 10.1186/s12951-023-02025-8

[18] Kuzina, M. A.; Kartsev, D. D.; Stratonovich, A. V. & Levkin, P. A. "Organogels versus Hydrogels: Advantages, Challenges, and Applications". **Adv. Funct. Mater.** 2023, 33, 2301421. DOI: 10.1002/adfm.202301421

[19] Rabinarayan, P. "Cross-Linked Hydrogel for Pharmaceutical Applications: A Review". **Adv. Pharm. Bull.** 2017, 7(4), 515–530. DOI: 10.15171/apb.2017.064

[20] Khan, M. U. A.; Al-Arjan, W. S.; Aslam, M. A.; Stojanovic, G. M.; Abdullah, M. F. B. & Hasan, A. "Hydrogels: Classifications, fundamental properties, applications, and scopes in recent advances in tissue engineering and regenerative medicine – A comprehensive review". **Arab. J. Chem.** 2024, 105968. DOI: 10.1016/j.arabjc.2024.105968

[21] Xiong, Y. et al. "A review of the properties and applications of bioadhesive hydrogels". **Polym. Chem.** 2021, 12, 3721. DOI: 10.1039/d1py00282a

[22] Markov, P. A.; Krachkovsky, N. S.; Durnev, E. A.; Martinson, E. A.; Litvinets, S. G. & Popov, S. V. "Mechanical properties, structure, bioadhesion, and biocompatibility of pectin

hydrogels". **J. Biomed. Mater. Res. A** 2017, 105(9), 2572–2581. DOI: 10.1002/jbm.a.36116

[23] Lan, G.; Zhu, S.; Chen, D.; Zhang, H.; Zou, L. & Zeng, Y. "Highly Adhesive Antibacterial Bioactive Composite Hydrogels With Controllable Flexibility and Swelling as Wound Dressing for Full-Thickness Skin Healing". **Front. Bioeng. Biotechnol.** 2021, 9, 785302. DOI: 10.3389/fbioe.2021.785302

[24] Wang, R.; Cheng, C.; Wang, H. & Wang, D. "Swollen hydrogel nanotechnology: Advanced applications of the rudimentary swelling properties of hydrogels". **ChemPhysMater** 2024, 3, 357–375. DOI: 10.1016/j.chphma.2024.07.006

[25] Wu, S. et al. "Hydrogel-Based Fluorescent Dual pH and Oxygen Sensors Loaded in 96-Well Plates for High-Throughput Cell Metabolism Studies". **Sensors** 2018, 18, 564. DOI: 10.3390/s18020564

[26] Liang, Y.; Qiao, L.; Qiao, B. & Guo, B. "Conductive hydrogels for tissue repair". **Chem. Sci.** 2023, 14, 3091–3116. DOI: 10.1039/d3sc00145h

[27] Zhang, W. et al. "Hydrogel-based dressings designed to facilitate wound healing". **Mater. Adv.** 2024, 5, 1364. DOI: 10.1039/d3ma00682d

[28] Yusupov, M.; Tampieri, F.; Matnazarova, S.; Matyakubov, N.; Canal, C. & Bogaerts, A. "Modeling Plasma-Induced Modifications in Alginate Biopolymers at the Atomic Scale". **J. Phys. Chem. C** 2025, 129. DOI: 10.1021/acs.jpcc.5c01565

[29] Ho, T.-C. et al. "Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine". **Molecules** 2022, 27, 2902. DOI: 10.3390/molecules27092902

[30] Bashir, S. et al. "Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications". **Polymers** 2020, 12, 2702. DOI: 10.3390/polym12112702

[31] Hasan, R. Md. M.; Akib, A. A.; Sarkar, S. D.; Rayhan, K. Md. A.; Uddin, Md. M.; Nasrin, D. & Roy, C. K. "Polysaccharide-Based Hydrogels for Advanced Biomedical Engineering Applications". **ACS Polym. Au** 2024, 4, 463–486. DOI: 10.1021/acspolymersau.4c00028

[32] Mikušová, V.; Ferková, J.; Žigrayová, D.; Krchňák, D. & Mikuš, P. "Comparative Study of Polysaccharide-Based Hydrogels: Rheological and Texture Properties and Ibuprofen Release". **Gels** 2022, 8, 168. DOI: 10.3390/gels8030168

[33] Gorle, A. & Patil, S. "Development and evaluation of Rubia cordifolia gel for treatment of Acne". **Res. J. Topical Cosmet. Sci.** 2018, 9(2). DOI: 10.5958/2321-5844.2018.00008.0

[34] Montero, R. A. et al. "Development of an antimicrobial and antioxidant hydrogel/nano-electrospun wound dressing". **RSC Adv.** 2020, 10, 30508. DOI: 10.1039/d0ra05935h

[35] Mohamad Hamdi, N. A. et al. "An insight into the use and advantages of Carbopol in topical mucoadhesive drug delivery system: A systematic review". **J. Pharm.** 2023, 3(1), 53–65. DOI: 10.31436/jop.v3i1.156

[36] Rowe, R. C.; Sheskey, P. J. & Quinn, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6.ª ed. Pharmaceutical Press; 2009. pp. 110–113, 118–121 y 622–624.

[37] Ismail, S. H. et al. "Synthesis and Characterization of Antibacterial Carbopol/ZnO Hybrid Nanoparticles Gel". **Crystals** 2021, 11, 1092. DOI: 10.3390/cryst11091092

[38] George, A.; Limbachiya, V. & Shrivastav, P. S. "Current status and role of carbopols in oral, nasal, transdermal, topical and ophthalmic drug delivery systems". **Next Mater.** 2025, 9, 100848. DOI: 10.1016/j.nxmate.2025.100848

[39] Kolman, M.; Smith, C.; Chakrabarty, D. & Amin, S. "Rheological stability of carbomer in hydroalcoholic gels: Influence of alcohol type". **Int. J. Cosmet. Sci.** 2021, 43(6), 748–763. DOI: 10.1111/ics.12750

[40] Prabu, D. et al. "Preparation and Characterization of Gatifloxacin-loaded Sodium Alginate Hydrogel Membranes Supplemented With Hydroxypropyl Methylcellulose and Hydroxypropyl Cellulose Polymers for Wound Dressing". **Int. J. Pharm. Investig.** 2016, 6(2), 86–95. DOI: 10.4103/2230-973X.177810

[41] Kowalski, G.; Witczak, M. & Kuterasiński, Ł. "Structure Effects on Swelling Properties of Hydrogels Based on Sodium Alginate and Acrylic Polymers". **Molecules** 2024, 29, 1937. DOI: 10.3390/molecules29091937

[42] Abka-Khajouei, R.; Tounsi, L.; Shahabi, N.; Patel, A. K.; Abdelkafi, S. & Michaud, P. "Structures, Properties and Applications of Alginates". **Mar. Drugs** 2022, 20, 364. DOI: 10.3390/md20060364

[43] Nanda, D.; Behera, D.; Pattnaik, S. & Behera, A. "Advances in natural polymer-based hydrogels: synthesis, applications, and future directions in biomedical and environmental fields". **Discov. Polym.** 2025, 2, 6. DOI: 10.1007/s44347-025-00017-5

[44] Ashraf, S. M. et al. "Synthesis and characterization of an innovative sodium alginate/flaxseed gum green hydrogel for forward osmosis desalination". **Appl. Water Sci.** 2024, 14, 20. DOI: 10.1007/s13201-023-02080-4

[45] Falla, T. S. & Velandia, M. A. "Desarrollo de una formulación de un hidrogel de alginato de sodio como un sistema de liberación modificada de enalapril para administración por vía oral". Trabajo de grado. Universidad El Bosque. [DOI no aplicable]

[46] Phillips, G. O. & Williams, P. A. **Handbook of Hydrocolloids**. 2.ª ed. Woodhead Publishing; 2009. pp. 807–825.

[47] López, G. C. "Oscillatory rheology of carboxymethyl cellulose gels: Influence of concentration and pH". **Carbohydr. Polym.** 2021, 267, 118117. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118117

[48] Yu, P.; Hou, Y.; Zhang, H.; Zhang, W.; Yang, S. & Ni, Y. "Characterization and Solubility Effects of the Distribution of Carboxymethyl Substituents Along the Carboxymethyl Cellulose Molecular Chain". **BioResources** 2019, 14(4), 8923–8934. DOI: 10.15376/biores.14.4.8923-8934

[49] Guarnizo-Herrero, V.; Torrado-Salmerón, C.; Torres Pabón, N. S.; Torrado Durán, G.; Morales, J. & Torrado-Santiago, S. "Study of Different Chitosan/Sodium Carboxymethyl Cellulose Proportions in the Development of Polyelectrolyte Complexes for the Sustained Release of Clarithromycin from Matrix Tablets". **Polymers** 2021, 13, 2813. DOI: 10.3390/polym13162813

[50] Juárez-Hernández, J. A.; Subervier-Ortiz, L.; Villanueva-Ibáñez, M.; Farfan-Cabrera, L. I.; Pascual-Francisco, J. B. & Jaramillo-Loranca, B. E. "Efecto del glutaraldeído en las propiedades viscoElásticas de hidrogeles de carboximetilcelulosa". **Ing. Investig. Tecnol.** 2024, 25(3), 1–7. DOI: 10.22201/fi.25940732e.2024.25.3.022

[51] Mondal, H. Md.; Islam, Md. I. & Ahmed, F. "Enhanced wound healing with biogenic zinc oxide nanoparticle-incorporated carboxymethyl cellulose/polyvinylpyrrolidone nanocomposite hydrogels". **Biomater. Sci.** 2025, 13, 193–209. DOI: 10.1039/D4BM01027B

[52] Kokol, V. "Influence of hydroxyethyl and carboxymethyl celluloses on the rheology, water retention and surface tension of water-suspended microfibrillated cellulose". **Cellulose** 2022, 29, 7063–7081. DOI: 10.1007/s10570-022-04737-w

[53] Benchabane, A. & Bekkour, K. "Rheological properties of carboxymethyl cellulose (CMC) solutions". **Colloid Polym. Sci.** 2008, 286, 1173–1180. DOI: 10.1007/s00396-008-1882-2

[54] Zhang, X.-R. et al. "Assessment of a Helium/Argon-Generated Cold Atmospheric Plasma Device's Safety Utilizing a Pig Model". **Int. J. Mol. Sci.** 2025, 26, 7854. DOI: 10.3390/ijms26167854

[55] Ahmed, M. W.; Gul, K. & Mumtaz, S. "Recent Advances in Cold Atmospheric Pressure Plasma for E. coli Decontamination in Food: A Review". **Plasma** 2025, 8, 18. DOI: 10.3390/plasma8020018

[56] Barner, N.; Nelles, M. & Garbe, L.-A. "The Application of Cold Atmospheric Plasma (CAP) in Barley Processing as an Environmentally Friendly Alternative". **Foods** 2025, 14, 1635. DOI: 10.3390/foods14091635

[57] Al-Okla, S.; Nazwani, N. & Al-Mudarris, F. "Overview of Cold Atmospheric Plasma in Wounds Treatment". **Med. Clin. Res.** 2020, 5(10), 288. ISSN: 2577-8005. [DOI no disponible]

[58] Khalaf, A. T.; Abdalla, A. N.; Ren, K. & Liu, X. "Cold atmospheric plasma (CAP): a revolutionary approach in dermatology and skincare". **Eur. J. Med. Res.** 2024, 29, 487. DOI: 10.1186/s40001-024-02088-9

[59] Kim, S. J. & Chung, T. H. "Cold atmospheric plasma jet generated RONS and their selective effects on normal and carcinoma cells". **Sci. Rep.** 2016, 6, 20332. DOI: 10.1038/srep20332

[60] Chida, T.; Sasaki, S.; Hiromori, K.; Shibasaki-Kitakawa, N.; Kaneko, T. & Takahashi, A. "Insight into the generation network of reactive oxygen species in H_2O under nonthermal atmospheric-pressure plasma irradiation using a kinetic modeling approach". **Chem. Eng. J.** 2024, 501, 157640. DOI: 10.1016/j.cej.2024.157640

[61] Jablonowski, H.; Sousa, J. S.; Weltmann, K.-D.; Wende, K. & Reuter, S. "Quantification of the ozone and singlet delta oxygen produced in gas and liquid phases by a non-thermal atmospheric plasma with relevance for medical treatment". **Sci. Rep.** 2018, 8, 12195. DOI: 10.1038/s41598-018-30483-w

[62] Massima, M. E. S. et al. "A critical review on ozone and co-species, generation and reaction mechanisms in plasma induced by dielectric barrier discharge technologies for wastewater remediation". **J. Environ. Chem. Eng.** 2021, 9(5), 105758. DOI: 10.1016/j.jece.2021.105758

[63] Yang, Y.; Wang, Y.; Wei, S.; Wang, X. & Zhang, J. "Effects and Mechanisms of Non-Thermal Plasma-Mediated ROS and Its Applications in Animal Husbandry and Biomedicine". **Int. J. Mol. Sci.** 2023, 24, 15889. DOI: 10.3390/ijms242115889

[64] Alharbi, A.; Schiesko, L. & Minea, T. "Ion-acoustic waves in weakly ionized plasmas with charge-exchange collisions". **Sci. Rep.** 2023, 13, 14121. DOI: 10.1038/s41598-023-39780-5

[65] Capitelli, M.; Celiberto, R.; Colonna, G.; Laricchiuta, A. & Pietanza, L. D. "The self-consistent approach in cold plasma kinetics: From negative ion sources to molecular activation". **Fundam. Plasma Phys.** 2024, 9, 100037. DOI: 10.1016/j.fpp.2024.100037

[66] Gorbanev, Y.; Privat-Maldonado, A. & Bogaerts, A. "Analysis of Short-Lived Reactive Species in Plasma−Air−Water Systems: The Dos and the Do Nots". **Anal. Chem.** 2018, 90, 13151–13158. DOI: 10.1021/acs.analchem.8b03336

[67] Kazemi, A.; Nicol, M. J.; Bilén, S. G.; Kirimanjeswara, G. S. & Knecht, S. D. "Cold Atmospheric Plasma Medicine: Applications, Challenges, and Opportunities for Predictive Control". **Plasma** 2024, 7, 233–257. DOI: 10.3390/plasma7010014

[68] Stryczewska, H. D.; Komarzyniec, G. & Boiko, O. "Effect of Plasma Gas Type on the Operation Characteristics of a Three-Phase Plasma Reactor with Gliding Arc Discharge". **Energies** 2024, 17, 2696. DOI: 10.3390/en17112696

[69] Chen, Z. et al. "Cold atmospheric plasma delivery for biomedical applications". **Mater. Today** 2022, 54, 153–188. DOI: 10.1016/j.mattod.2022.03.001

[70] Shang, H.; Ning, W.; Shen, S.; Wang, R.; Dai, D. & Jia, S. "Atmospheric pressure plasma jet for surface treatment: a review". **Rev. Mod. Plasma Phys.** 2024, 9, 3. DOI: 10.1007/s41614-024-00177-0

[71] Jeon, S. U.; Kim, J. W.; Lee, H.-Y.; Kim, G.-C. & Lee, H. J. "Characteristics of Merging Plasma Plumes for Materials Process Using Two Atmospheric Pressure Plasma Jets". **Materials** 2024, 17, 4928. DOI: 10.3390/ma17194928

[72] Chen, Z.; Obenchain, R. & Wirz, R. E. "Tiny Cold Atmospheric Plasma Jet for Biomedical Applications". **Processes** 2021, 9, 249. DOI: 10.3390/pr9020249

[73] Adesina, K.; Lin, T. C.; Huang, Y.-W.; Locmelis, M. & Han, D. F. "A Review of Dielectric Barrier Discharge Cold Atmospheric Plasma for Surface Sterilization and

Decontamination". **IEEE Trans. Radiat. Plasma Med. Sci.** 2024, 8(3), 295–306. DOI: 10.1109/TRPMS.2024.3349571

[74] Ozkan, A.; Dufour, T.; Bogaerts, A. & Reniers, F. "How do the barrier thickness and dielectric material influence the filamentary mode and CO_2 conversion in a flowing DBD?" **Plasma Sources Sci. Technol.** 2016, 25, 045016. DOI: 10.1088/0963-0252/25/4/045016

[75] Li, J. et al. "A Review of Recent Advances of Dielectric Barrier Discharge Plasma in Catalysis". **Nanomaterials** 2019, 9, 1428. DOI: 10.3390/nano9101428

[76] Brelles-Mariño, G. **Biological and Environmental Applications of Gas Discharge Plasmas**. 11.ª ed. NOVA; 2010. pp. 16–42.

[77] Jung, E. Y.; Shin, B. J.; Suleiman, H. O.; Tae, H.-S. & Park, C.-S. "Review of Plasma-Synthesized/Modified Polymer and Metal Nanoparticles for Biomedical Applications Using Cold Atmospheric Pressure Plasma". **Polymers** 2025, 17, 2856. DOI: 10.3390/polym17212856

[78] Nisa, A.; Firdausi, K. S.; Kanie, M. A. J.; Susan, A. I.; Yulianto, E. & Nur, M. "Ozone production by dielectric barrier discharges plasma of coaxial cylindrical electrodes configuration using oxygen and argon source". **J. Phys.: Conf. Ser.** 2019, 1170, 012017. DOI: 10.1088/1742-6596/1170/1/012017

[79] Gao, X. et al. "Recent Developments in Dielectric Barrier Discharge Plasma-Assisted Catalytic Dry Reforming of Methane over Ni-Based Catalysts". **Catalysts** 2021, 11, 455. DOI: 10.3390/catal11040455

[80] Abdul, J. M. & Sahari, N. "Comparing Study of Different Dielectric Materials on the Electrical Discharge Plasma Generation and its Application for Seed Germination Improvement". **PEAT** 2024, 5(2), 216–224. DOI: 10.30880/peat.2024.05.02.022

[81] Xing, Y. et al. "The Bibliometric Analysis and Review of the Application of Plasma in the Field of VOCs". **Catalysts** 2022, 12, 173. DOI: 10.3390/catal12020173

[82] Griseti, E.; Merbahi, N. & Golzio, M. "Anti-Cancer Potential of Two Plasma-Activated Liquids: Implication of Long-Lived Reactive Oxygen and Nitrogen Species". **Cancers** 2020, 12, 721. DOI: 10.3390/cancers12030721

[83] Soni, A.; Choi, J. & Brightwell, G. "Plasma-Activated Water (PAW) as a Disinfection Technology for Bacterial Inactivation with a Focus on Fruit and Vegetables". **Foods** 2021, 10, 166. DOI: 10.3390/foods10010166

[84] Milhan, N. V. M.; Chiappim, W.; Sampaio, A. G.; Vegian, M. R. C.; Pessoa, R. S. & Koga-Ito, C. Y. "Applications of Plasma-Activated Water in Dentistry: A Review". **Int. J. Mol. Sci.** 2022, 23, 4131. DOI: 10.3390/ijms23084131

[85] Northage, N.; Shvalya, V.; Modic, M. et al. "Evaluation of plasma activated liquids for the elimination of mixed species biofilms within endoscopic working channels". **Sci. Rep.** 2024, 14, 28593. DOI: 10.1038/s41598-024-79276-4

[86] Han, Q.-Y.; Wen, X.; Gao, J.-Y.; Zhong, C.-S. & Ni, Y.-Y. "Application of plasma-activated water in the food industry: A review of recent research developments". **Food Chem.** 2023, 405, 134797. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.134797

[87] Wong, K. S.; Chew, N. S. L.; Low, M. & Tan, M. K. "Plasma-Activated Water: Physicochemical Properties, Generation Techniques, and Applications". **Processes** 2023, 11, 2213. DOI: 10.3390/pr11072213

[88] Arda, G. & Hsu, C. L. "Preservation of Reactive Species in Frozen Plasma-Activated Water and Enhancement of its Bactericidal Activity Through pH Adjustment". **Plasma Chem. Plasma Process.** 2023, 43, 599–618. DOI: 10.1007/s11090-023-10327-w

[89] Ma, M.; Zhang, Y.; Lv, Y. & Sun, F. "The key reactive species in the bactericidal process of plasma activated water". **J. Phys. D: Appl. Phys.** 2020, 53, 185207. DOI: 10.1088/1361-6463/ab703a

[90] Machala, Z.; Hensel, K. & Akishev, Y. (Eds.) **Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security**. Springer: Dordrecht; 2012. pp. 62–76.

[91] Skoog, D. A.; Holler, F. J. & Crouch, S. R. **Principios de Análisis Instrumental**. 6.ª ed. Cengage Learning; 2011. pp. 608–613.

[92] Goldstein, J. I. et al. **Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis**. 4.ª ed. Springer; 2018. pp. VII–X.

[93] Sun, C.; Lux, S.; Müller, E.; Meffert, M. & Gerthsen, D. "Versatile application of a modern scanning electron microscope for materials characterization". **J. Mater. Sci.** 2020, 55, 13824–13835. DOI: 10.1007/s10853-020-04970-3

[94] Ali, A.; Zhang, N. & Santos, R. M. "Mineral Characterization Using Scanning Electron Microscopy (SEM): A Review of the Fundamentals, Advancements, and Research Directions". **Appl. Sci.** 2023, 13, 12600. DOI: 10.3390/app132312600

[95] Metalinspec. "¿Qué es y cómo funciona un microscopio electrónico de barrido?" [Imagen]. s.f. https://www.blog.metalinspec.com.mx/que-es-y-como-funciona-un-microscopio-electronico-de-barrido (consultado el 05 de abril de 2026).

[96] Ramirez, A.; Benítez, J. L.; Rojas de Astudillo, L. & Rojas de Gáscue, B. "Materiales polímeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante FTIR, DSC, MEB y MET". **Lat. Am. J. Met. Mater.** 2016, 36(2), 108–130. DOI: 10.5281/zenodo.10031412

[97] Jaques, V. A. J.; Zikmundová, E.; Holas, J.; Zikmund, T.; Kaiser, J. & Holcová, K. "Conductive cross-section preparation of non-conductive painting micro-samples for SEM analysis". **Sci. Rep.** 2022, 12, 19650. DOI: 10.1038/s41598-022-21882-1

[98] McFetridge, M. L.; Kulkarni, K.; Hilsenstein, V.; Del Borgo, M. P.; Aguilar, M. I. & Ricardo, S. D. "A comparison of fixation methods for SEM analysis of self-assembling peptide hydrogel nanoarchitecture". **Nanoscale** 2023, 15(3), 1431–1440. DOI: 10.1039/d2nr04598b

[99] Lopes, P. M. et al. "The Influence of Lyophilization Pretreatment and Whey Content on Whey and Gelatin-Based Hydrogels". **Gels** 2024, 10, 229. DOI: 10.3390/gels10040229

[100] Aigoin, J. et al. "Comparative Analysis of Electron Microscopy Techniques for Hydrogel Microarchitecture Characterization: SEM, Cryo-SEM, ESEM, and TEM". **ACS Omega** 2025, 10, 14687–14698. DOI: 10.1021/acsomega.4c08096

[101] Sergievskaya, A.; Chauvin, A. & Konstantinidis, S. "Sputtering onto liquids: a critical review". **Beilstein J. Nanotechnol.** 2022, 13, 10–53. DOI: 10.3762/bjnano.13.2

[102] Garg, R. et al. "Sputtering thin films: Materials, applications, challenges and future directions". **Adv. Colloid Interface Sci.** 2024, 330, 103203. DOI: 10.1016/j.cis.2024.103203

[103] Martinez-Garcia, F. D.; Fischer, T.; Hayn, A.; Mierke, C. T.; Burgess, J. K. & Harmsen, M. C. "A Beginner's Guide to the Characterization of Hydrogel Microarchitecture for Cellular Applications". **Gels** 2022, 8, 535. DOI: 10.3390/gels8090535

[104] Yu, X.; Deng, Z.; Li, H.; Ma, Y. & Zheng, Q. "In situ fabrication of an anisotropic double-layer hydrogel as a bio-scaffold for repairing articular cartilage and subchondral bone injuries". **RSC Adv.** 2023, 13, 34958–34971. DOI: 10.1039/d3ra06222h

[105] Yin, H.; Zhu, M.; Wang, Y.; Luo, L.; Ye, Q. & Lee, B. H. "Physical properties and cellular responses of gelatin methacryloyl bulk hydrogels and highly ordered porous hydrogels". **Front. Soft Matter** 2023, 2, 1101680. DOI: 10.3389/frsfm.2022.1101680

[106] Siboro, S. A. P.; Anugrah, D. S. B.; Ramesh, K.; Park, S. H.; Kim, H. R. & Lim, K. T. "Tunable porosity of covalently crosslinked alginate-based hydrogels and its significance in drug release behavior". **Carbohydr. Polym.** 2021, 260, 117779. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.117779

[107] Liu, B. & Chen, K. "Advances in Hydrogel-Based Drug Delivery Systems". **Gels** 2024, 10, 262. DOI: 10.3390/gels10040262

[108] Juthi, A. Z.; Li, F.; Wang, B.; Alam, M. M.; Talukder, M. E. & Qiu, B. "pH-Responsive Super-Porous Hybrid Hydrogels for Gastroretentive Controlled-Release Drug Delivery". **Pharmaceutics** 2023, 15, 816. DOI: 10.3390/pharmaceutics15030816

[109] Zhai, N. & Wang, B. "Preparation of fast-swelling porous superabsorbent hydrogels with high saline water absorbency under pressure by foaming and post surface crosslinking". **Sci. Rep.** 2023, 13, 13815. DOI: 10.1038/s41598-023-40563-1

[110] Cullity, B. D. **Elements of X-ray Diffraction**. 1.ª ed. Addison-Wesley Publishing Company; 1967.

[111] Ali, A.; Chiang, Y. W. & Santos, R. M. "X-ray Diffraction Techniques for Mineral Characterization: A Review for Engineers of the Fundamentals, Applications, and Research Directions". **Minerals** 2022, 12, 205. DOI: 10.3390/min12020205

[112] Wang, A.-N.; Chuang, C.-P.; Yu, G.-P. & Huang, J.-H. "Determination of average X-ray strain (AXS) on TiN hard coatings using $\cos^2\alpha\sin^2\psi$ X-ray diffraction method". **Surf. Coat. Technol.** 2015, 262, 40–47. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2014.12.009

[113] Saraugi, S. S. "X-Ray Diffraction (XRD) — Basic principle, instrumentation, sample preparation, XRD plots, applications of XRD, XRD sample-based errors". 2024. DOI: 10.13140/RG.2.2.27075.82726

[114] Wisniewski, W.; Genevois, C.; Veron, E. & Allix, M. "Experimental evidence concerning the significant information depth of X-ray diffraction (XRD) in the Bragg-Brentano configuration". **Powder Diffr.** 2023, 38(2), 139–144. DOI: 10.1017/S0885715623000052

[115] Mesecke, K.; Malorny, W. & Warr, L. N. "In situ monitoring of hydrothermal reactions by X-ray diffraction with Bragg-Brentano geometry". **J. Appl. Crystallogr.** 2020, 53(4), 1163–1166. DOI: 10.1107/S1600576720006019

[116] Tyc, K. "The effect of sample displacement on x-ray diffraction results in Bragg-Brentano geometry". **Tech. Sci.** 2025, 28(28), 265–279. DOI: 10.31648/ts.11953

[117] Bhat, A. S. et al. "Mechanistic insights into graphene oxide-enhanced single electrospun PMMA fibres achieved via surface interface engineering". **Mater. Adv.** 2026, 7(4), 2159–2179. DOI: 10.1039/D5MA01000D

[118] Suhail, M.; Wu, P.-C. & Minhas, M. U. "Using Carbomer-Based Hydrogels for Control the Release Rate of Diclofenac Sodium: Preparation and In Vitro Evaluation". **Pharmaceuticals** 2020, 13, 399. DOI: 10.3390/ph13110399

[119] Cha, H.-R. et al. "Fabrication of Amino Acid Based Silver Nanocomposite Hydrogels from PVA-Poly(Acrylamide-co-Acryloyl phenylalanine) and Their Antimicrobial Studies". **Bull. Korean Chem. Soc.** 2012, 33(10). DOI: 10.5012/bkcs.2012.33.10.3191

[120] Luthfianti, H. R. et al. "Physicochemical Characteristics and Antibacterial Activities of Freeze-Thawed Polyvinyl Alcohol/Andrographolide Hydrogels". **ACS Omega** 2023, 8(3), 2915–2930. DOI: 10.1021/acsomega.2c05110

[121] Fargharazi, M. & Bagheri-Mohaghegh, M. M. "The photothermal properties of hydrogel nanocomposite embedded with ZnO/CuO based on PVA/GA/activated carbon for solar-driven interfacial evaporation". **Mater. Renew. Sustain. Energy** 2024, 13(3), 385–396. DOI: 10.1007/s40243-024-00271-w

[122] Jiang, S.; Tang, Y.; Lin, C. & Wu, Z. "Research on the Characteristics of Plasma-Activated Water Under Pulsed Discharge". **IEEE Trans. Plasma Sci.** 2026, 54(3), 1054–1062. DOI: 10.1109/TPS.2026.3652595

[123] Podhorská, B. et al. "Revealing the True Morphological Structure of Macroporous Soft Hydrogels for Tissue Engineering". **Appl. Sci.** 2020, 10, 6672. DOI: 10.3390/app10196672

[124] Hernández-Arias, A. N. et al. “Carbopol® 940 Hydrogel Functionalised with Plasma-Activated Water: An Advanced Platform for Controlled ROS Delivery and Antimicrobial Applications”. **Gels**. 2026, 12(5):403. DOI: 10.3390/gels12050403

[125] Tampieri, F. et al. "Does non-thermal plasma modify biopolymers in solution? A chemical and mechanistic study for alginate". **Biomater. Sci.** 2023, 11, 4845–4858. DOI: 10.1039/d3bm00212h

[126] Li, W.; Nguyen, N. H.; Zhou, R. et al. "Plug-and-play plasma: decentralised water decontamination for developing countries". **npj Clean Water** 2026, 9, 16. DOI: 10.1038/s41545-025-00548-1

[127] Bussmann, F.; Krüger, A.; Scholz, C. et al. "Long-Term Effects of Cold Atmospheric Plasma-Treated Water on the Antioxidative System of Hordeum vulgare". **J. Plant Growth Regul.** 2023, 42, 3274–3290. DOI: 10.1007/s00344-022-10789-w

[128] Yoon, S. Y.; Jeon, H.; Yi, C. et al. "Mutual Interaction between Plasma Characteristics and Liquid Properties in AC-driven Pin-to-Liquid Discharge". **Sci. Rep.** 2018, 8, 12037. DOI: 10.1038/s41598-018-30540-4

[129] Kaklamani, G.; Kazaryan, D.; Bowen, J.; Iacovella, F.; Anastasiadis, S. H. & Deligeorgis, G. "On the electrical conductivity of alginate hydrogels". **Regen. Biomater.** 2018, 293–301. DOI: 10.1093/rb/rby019

[130] Saber, K.; Hani, A.; Guedah, H.; Abahazem, A. & Merbahi, N. "Experimental study and efficiency evaluation of cold plasma treatment for distilled water". **J. Plasma Phys.** 2025, 91(3). DOI: 10.1017/S0022377825000443