



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

“Caracterización micromecánica de películas de hidrogel a base de alginato,  
polietilenglicol adicionado con biomasa de Aloe arborescens”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**FISICA**

**P R E S E N T A:**

**DIANA ALEJANDRA LARA CUADROS**

**DIRECTORA Y ASESOR DE TESIS:**

Dra. Lorena Romero Salazar  
Dr. Juan Carlos Arteaga Arcos

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

FEBRERO 2023



## Índice

<b>1) Capítulo 1. Introducción</b>	
Introducción.....	6
<b>2) Capítulo 2. Marco teórico.....</b>	<b>8</b>
2.1 Polímeros.....	8
2.2 Biopolímeros.....	10
2.2.1 Alginato.....	10
2.2.2 Polietilenglicol.....	13
2.3 Hidrogeles.....	13
2.4 <i>Aloe arborescens</i> .....	14
2.5 Liofilización.....	16
2.6 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM).....	19
2.6.1 Modo de Contacto.....	22
2.6.2 Modelo de Hert.....	23
2.7 Reología.....	24
2.7.1 Fluidos Newtonianos.....	25
2.7.2 Fluidos No Newtonianos.....	26
<b>3) Capítulo 3. Metodología.....</b>	<b>28</b>
3.1 Obtención de la masa del <i>Aloe arborescens</i> .....	28
3.2 Liofilización.....	29
3.3 Preparación de las películas.....	32
3.4 Densidad de la solución.....	34
3.5 Caracterización Reológica.....	35
3.6 Microscopio de Fuerza Atómica.....	35
<b>4) Capítulo 4. Obtención y Análisis de resultados.....</b>	<b>36</b>
4.1 Densidad.....	36
4.2 Análisis Reológico.....	37
4.3 Módulo de Young.....	39
<b>5) Capítulo 5. Conclusiones.....</b>	<b>42</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>44</b>

## Indice de Figuras

Fig. 2.0 Cadena polimérica.....	9
Fig. 2.1 Estructura química del alginato.....	11
Fig. 2.2 Estructura química del polietilenglicol.....	12
Fig. 2.3 Hojas de <i>Aloe arborescens</i> , Fotografía: Lorena Romero Salazar.....	15
Fig.2.4. Corte transversal de una hoja de <i>Aloe arborescens</i> .....	16
Fig. 2.5. Diagrama de fase del agua. ....	17
Fig. 2.6. Distribución de un Microscopio de Fuerza Atómica.....	19
Fig. 2.7 Esquema del funcionamiento del control de retroalimentación.....	21
Fig.2.8 “Ejemplos de sondas de contacto y sin contacto. Izquierda: un típico voladizo en modo de contacto en forma de V. Toda la sonda está hecha de nitruro de silicio (Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> ) y tiene una punta de sonda piramidal cuadrada integrada. Derecha: una sonda diseñada para modos oscilantes como AFM sin contacto.” Imagen recuperada de [1].....	22
Fig. 2.9 “Curva fuerza-distancia simplificada que muestra el régimen de exploración de contacto (región repulsiva). Una curva de desviación-distancia, que son los datos brutos a partir de los cuales se mide una curva fuerza-distancia, tiene una forma similar. Derecha: ilustración de la flexión de la sonda en cada régimen.” Imagen recuperada de [1]. ....	22
Fig.2.10 Comportamiento gráfico de los tipos de fluidos, imagen recuperada de <a href="https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/31/Types_of_Newtonian_Fluids.png">https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/31/Types_of_Newtonian_Fluids.png</a> .....	25
Fig. 2.11. Gráfica de la viscosidad de los diferentes líquidos [2].....	26
Fig. 3.1 Representación del vaso de la liofilizadora. ....	30

Fig. 3.2. Panel de control de la liofilizadora LABCONCO.....	31
Fig 3.3 Cámara de secado.....	31
Fig 3.4. Películas antes del baño de cloruro de calcio. ....	33
Fig 3.5. Películas después del baño de cloruro de calcio.....	34
Fig. 4.1 Gráfica del comportamiento del esfuerzo de deformación de las muestras.....	37
Fig. 4.2 Gráfica de los valores del Módulo de Young y su desviación media.....	40
Fig 4.3 Micrografía del PEG al 1%.....	41
Fig 4.4 Micrografía del PEG al 2%.....	41
Fig 4.5 Micrografía del PEG al 1% Aloe 0.2.....	42
Fig 4.6 Micrografía del PEG al 2% Aloe 0.2.....	42
Fig 4.7 Micrografía del PEG al 1% Aloe 0.3.....	42
Fig 4.8 Micrografía del PEG al 2% Aloe 0.3.....	42

## **Indice de Tablas**

Tabla 3.1 Distribución de la concentración de las muestras.....	32
Tabla 4.1. Parámetros experimentales y densidad del PEG 1%.....	35
Tabla 4.2 Parámetros experimentales y densidad del PEG 2%.....	35
Tabla 4.3 Valores del factor n del modelo de HB.....	37
Tabla 4.4 Valores de la viscosidad de cada muestra.....	37

## Capítulo 1)

### Introducción

Los problemas relacionados al cambio climático cada vez impactan con más fortaleza a la humanidad, por lo que es importante voltear a ver nuevos métodos de interacción y creación en el ámbito científico, estos métodos deberán ser amigables con el ambiente y adaptables a nuestras necesidades. Los biomateriales han estado presentes a lo largo de la historia de la humanidad, pero fue hasta finales de los años sesenta que el campo fue reconocido como tal, desde entonces ha tenido un crecimiento y evolución muy importante; se definen como aquellos materiales que se usan en un dispositivo médico con la intención de interactuar con sistemas biológicos [3].

El objeto de estudio de este proyecto de tesis no corresponde a un sistema sólido ni líquido, corresponde a lo que se conoce como materia blanda. La cual es estudiada por sus características macroscópicas a través del área de la física denominada Materia Condensada Blanda. Otros ejemplos de dichos materiales son por ejemplo los cristales líquidos, dispersiones coloidales donde partículas nano micrométricas de un sólido o líquido están dispersas en otro líquido, los polímeros, o soluciones de las cuales surgen propiedades de deformación de la materia tales como la viscoelasticidad. Lo más importante a considerar para entender la materia blanda es el conjunto de propiedades que tienen las interacciones de grandes ensambles de átomos y moléculas [4] Los hidrogeles de interés tienen componentes poliméricas.

Los polímeros son macromoléculas formadas por moléculas más pequeñas llamadas monómeros, la forma en que las moléculas están ordenadas, así como la forma de las cadenas dan lugar a una extensa variedad de polímeros y caracterización de ellos, las áreas encargadas del estudio de los polímeros son química, física e ingeniería, físicamente nos resulta importante analizar las propiedades viscoelásticas, mecánicas, termodinámicas, eléctricas, propiedades de disolución, entre otras, este tipo de características forman parte de los estudios de

la materia blanda [5]. Existen polímeros sintetizados natural y sintéticamente, nuestro interés son los biopolímeros sintéticos los cuales son polímeros que fueron modificados de polímeros naturales o sintetizados químicamente de monómeros sintéticos, estos biopolímeros tienen propiedades de biodegradación y son amigables con el ambiente [6].

Sin embargo, para entender los hidrogeles debemos considerar que son redes de biopolímeros solubles en agua, mantienen su estructura a pesar de sostener una cantidad significativa de agua, esta característica les permite tener una biocompatibilidad ideal para aplicaciones en el área de la biomedicina [6]. Los tres componentes básicos del hidrogel serán: alginato, polietilenglicol y *Aloe arborescens*. El alginato es un polímero natural, se encuentra en las paredes celulares de las algas marinas, es biocompatible, biodegradable y es usado en diferentes tratamientos para la piel [7]. El polietilenglicol (PEG) es un material sintético soluble en agua u otros solventes orgánicos, es común que se adicione de compuestos naturales para mejorar su estabilidad y propiedades [8]. El *Aloe arborescens* (Aa) es una planta perteneciente a la familia Aloaceae, tiene propiedades anticancerígenas, antidiabéticas, inmunomodulador, antiinflamatoria, antioxidante, antimicrobiana y antifúngica [9].

La propuesta del proyecto es comparar el desempeño micromecánico de películas de hidrogel para formulaciones con diferentes concentraciones de biomasa de Aa, previamente obtenida mediante la deshidratación solar de gel extraído de Aa, anteriormente el grupo de investigación ha abordado el encapsulamiento de la misma formulación, este trabajo se puede consultar en [10], el futuro de esta investigación se encuentra en la mejoración de biotintas para ingeniería tisular.

## Capítulo 2. Marco Teórico.

### 2.1 Polímeros

La existencia de los polímeros ha estado presente siempre en la vida de la humanidad, tanto sintéticamente como orgánicamente, sin embargo, no fue hasta el siglo XIX donde comenzaron a estudiarse los materiales poliméricos sintéticos. Los polímeros y las soluciones poliméricas son estudiados dentro del campo de la materia condensada, en términos generales los polímeros son sustancias cuyas moléculas son grandes y consisten en pequeñas unidades repetitivas unidas entre sí covalentemente [11] están sintetizados por monómeros de diferentes tipos, se encuentran sintéticos y biológicos, organizados de forma lineal pero también ramificada, ésta organización arquitectónica nos puede dar idea de algunas de las características de los polímeros. Pueden estar clasificados según el proceso de polimerización utilizado para producirlos, su estructura y sus propiedades como termoplásticos, elastómeros y termoestables [12]. Los polímeros termoplásticos tienen una organización molecular lineal o ramificada, se ablandan o se derriten cuando están en contacto con calor por lo que pueden ser moldeados, en el proceso de enfriamiento pueden llegar a formar vidrio o cristalizarse, si se cristalizan solo lo hacen parcialmente y el resto se queda en un estado semi líquido el cual es llamado "amorfo" o no-cristalino, en algunas temperaturas tiene una fase que forma un cristal líquido. Los elastómeros son polímeros en red ligeramente entrecruzados, debido a que cuando no están estirados tienen moléculas que se enrollan al azar con bastante fuerza el material presenta menos entropía y la fuerza de retracción que se observa es debido a la baja entropía que presenta. Al enfriarse se convierten en vidrios o cristalizan, pero al calentarse no pueden fluir debido a los enlaces cruzados. Los polímeros termoestables son redes que están fuertemente entrecruzadas, tienen una naturaleza rígida pueden derretirse y se descomponen si la temperatura es lo suficientemente elevada. Para crear un polímero se debe encontrar un mecanismo de reacción química que una los monómeros [13] existen

también diferentes tipos de polimerización que puede ser explicada sin necesidad de adentrarnos en la química orgánica pero sí en las fluctuaciones estadísticas.

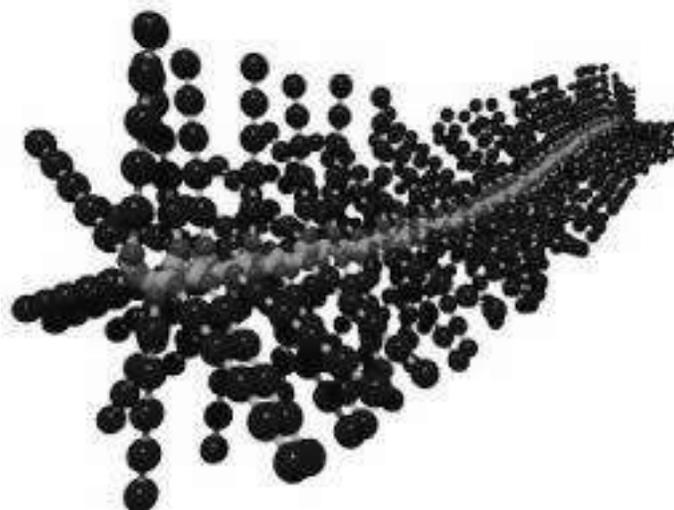


Fig. 2.0 Cadena polimérica, imagen recuperada de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:POLYMER.jpg>

La polimerización menos común ocurre en la biosíntesis, un proceso natural en donde las proteínas son sintetizadas en organismos vivos. La polimerización por adición, en este método un catalizador inicia la polimerización en una solución de monómeros, esto convierte una pequeña fracción de los monómeros en una forma químicamente activa [13]. Un ejemplo sería la polimerización de monómeros de estireno, el cual tiene un doble enlace que se rompe y se vuelve reactivo, esta forma puede dar paso a una nueva combinación con un segundo monómero, la actividad del primer monómero se propaga al segundo y así puede continuar hasta un tercero o más, la reacción se termina agregando una sustancia química que inactive los extremos activos [13]. La polimerización por condensación, al contrario de la adición aquí hay muchos extremos de la cadena polimérica que pueden reaccionar entre sí, un ejemplo sería el nailon de poliamida, en el que al unir dos extremos de la cadena se produce una molécula de agua como subproducto. La cinética de esta reacción envuelve muchos procesos que contribuyen al cambio de concentración que incluso puede cuantificarse. Una cuarta polimerización se llama polimerización viva, donde la reacción es reversible por lo que las cadenas pueden intercambiar monómeros entre sí, esta libertad de intercambio da como resultado una gran distribución de

longitudes de cadena [13]. Nuestro polímero de interés es un biopolímero el cual se definirá más adelante.

## **2.2 Biopolímeros.**

Como se mencionó en la sección anterior, los polímeros se encuentran también en la naturaleza, creados por los ciclos de vida de las plantas, animales, bacterias, hongos, entre otros, estos son conocidos como biopolímeros, incluyen los polisacáridos como la celulosa, el almidón, los polímeros de carbohidratos producidos por bacterias y hongos, o aquellos basados en proteínas de animales como la lana, la seda, la gelatina y el colágeno, es mucho más común que la humanidad haya utilizado los biopolímeros fibrosos [14]. En respuesta a la crisis de petróleo de 1970 la industria empezó a preocuparse por la producción y creación de biopolímeros sintéticos por lo que se abrió una nueva línea de investigación, la primera generación de polímeros de bajo impacto ambiental se esperaba que fueran biodegradables y bio deteriorables, por lo que los siguientes años se estuvieron discutiendo su morfología, química e incluso su efecto biodegradable, sin embargo su producción ha resultado ser menos costosa por lo que su producción no ha sido muy explotada. Un polímero natural es una macromolécula en un organismo vivo que está formada por la unión de muchas pequeñas moléculas [14] tal como ocurre en la formación de aminoácidos a proteínas o síntesis de DNA de nucleosis. La síntesis de los polímeros naturales implica reacciones de polimerización de crecimiento en cadena catalizadas por enzimas de monómeros activados, las cuales se forman en las células durante un proceso metabólico complejo [14]. Entre los biopolímeros podemos encontrar los carbohidratos, proteínas, aceites y grasas (lípidos).

### **2.2.1 Alginato**

Es de nuestra importancia hablar de uno de estos biopolímeros en particular: el alginato. El alginato se extrae de las algas, y es abundante en la naturaleza, este biopolímero ha sido usado en microcápsulas para la liberación de medicamentos, la industria de los alimentos y la medicina fue descubierto en 1883 y desde entonces ha sido estudiado. El alginato (observar figura 2.1) es un copolímero de poliurónido

que contiene dos unidades de construcción, a saber, ácido  $\beta$ -D-manurónico y ácido  $\alpha$ -L-gulurónico, ambos copolímeros 1 $\rightarrow$ 4 y de bloque con enlaces glucosídicos [14].

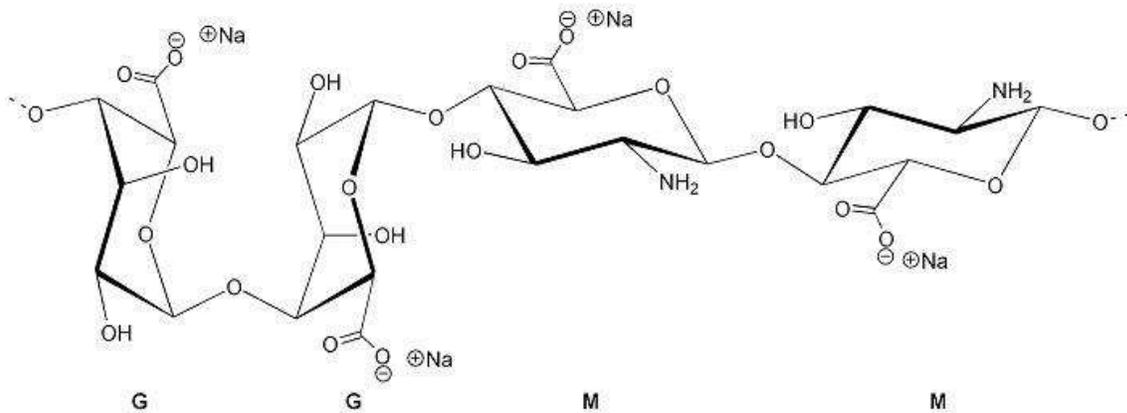


Fig. 2.1. Estructura química del alginato. Imagen recuperada de

Las propiedades físicas y químicas de los alginatos dependen de cómo están ubicados los monómeros en la cadena y de su peso molecular, algunas otras características que dan los alginatos dependen de la ubicación geográfica del alga de la cual se extrajo, la temperatura del agua y temporada, por ejemplo se ha encontrado que los alginatos provenientes de especies encontradas en aguas calientes pueden ser muy útiles para la formación de fuertes geles, así también los alginatos de aguas frías suelen tener pobre viscosidad [15]. Comparado a otros polisacáridos como el agar o la gelatina, el alginato es capaz de formar geles sin importar los cambios de temperatura, esta es una de sus características físicas más importante, así como al solubilidad en agua o a otros solventes orgánicos. Dentro de sus propiedades reológicas se ha encontrado que las partículas de gel son viscoelásticas que se deforman en respuesta a un estímulo externo esto por la presencia del agua en su red, se ha encontrado que el tamaño de los poros del alginato ronda entre los 5-200 nanómetros. Para poder llevar a cabo la formación de geles existen dos métodos, la creación de enlaces iónicos con cationes ó la desposición ácida. Los alginatos en solución líquida tienen un comportamiento pseudoplástico, la formación de los geles de alginato, su característica reológica, porosa y de permeabilidad dependen de factores tales como el tipo de alginato usado, el grado de conversión del alginato de calcio, la fuente de los iones de calcio y los

métodos de preparación. Entre la producción más importante del alginato se encuentra el alginato de sodio, el cual fue utilizado en este proyecto.

### 2.2.2 Polietilenglicol

El polietilenglicol (ver figura 2.2) es un poliéter biocompatible, sintético, hidrofílico, su estructura química es  $\text{H}-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n-\text{OH}$  [16].

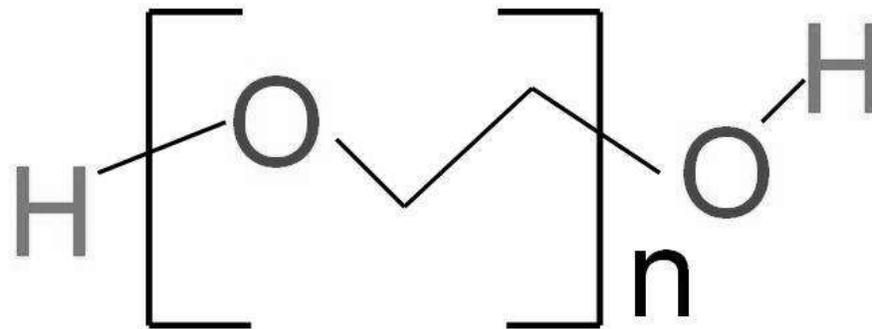


Fig. 2.2 Estructura química del polietilenglicol. Imagen obtenida de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chemical\\_structure\\_of\\_polyethylene\\_glycol\\_%28PEG%29.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chemical_structure_of_polyethylene_glycol_%28PEG%29.jpg)

La síntesis del PEG se realiza por polimerización del óxido de etileno, se puede encontrar en un amplio rango de pesos moleculares, sus aplicaciones y propiedades físicas dependen del peso molecular mientras que sus propiedades químicas tienden a ser casi idénticas [16].

El PEG es soluble en agua y en otros solventes orgánicos, además de que no es tóxico por lo que lo convierte en el blanco de la industria farmacéutica y médica, sin embargo también podemos encontrarlo en lubricantes, adhesivos, agentes antiestático, humedante, tintas, portador de tinte, agente demoldante y plastificante [17]. Para este trabajo, se utilizó Polietilenglicol 200, comúnmente usado como

lubricante de PVC, suavizante textil, dispersante de pigmentos, entre otros. Se caracteriza por ser un regulador de viscosidad y solubilizante de productos concentrados [17].

### **2.3 Hidrogeles**

Debido a su versatilidad y propiedades únicas, los hidrogeles tienen potencial de aplicación en diferentes áreas, tales como medicina, industria alimentaria, ingeniería civil, industria cosmética, sistemas de liberación de medicina, entre otros [18]. Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales e hidrofílicas reticuladas que pueden absorber y retener grandes cantidades de agua o fluidos acuosos. Son considerados materiales inteligentes debido a que tienen la capacidad de cambiar su estructura química que induce a un cambio de volumen según las condiciones físicas como el pH, la temperatura, la concentración salina, el campo eléctrico y la cantidad de disolvente [19].

La propiedad más importante es el comportamiento de hinchamiento de las redes poliméricas tridimensionales reticuladas. Se ha reportado que el entrecruzamiento y las densidades de carga de estas redes de polímeros afectan directamente el comportamiento elástico y de hinchamiento. Los hidrogeles pueden ser clasificados por su distribución de carga, método de preparación, resistencia mecánica y estructura física [20]. Los hidrogeles pueden diferenciarse por su clasificación de reticulación (o entrecruzamiento) físico y químico. El entrecruzamiento físico incluye cadenas entrelazadas, enlaces de hidrógeno, interacción hidrofóbica y formación de cristales, se pueden encontrar algunos defectos debido a que los extremos de las cadenas están libres, además no son comunes en la naturaleza [18]. El entrecruzamiento químico incluye la unión de cadenas por medio de un enlace covalente, en esta clasificación encontramos algunos polisacáridos y proteínas. El tipo de reticulación afecta directamente las propiedades físicas del hidrogel [18].

Algunas de ellas son:

- Elasticidad, entre más aumenta el número de reticulaciones, el polímero se vuelve más rígido, es menos viscoso y menos elástico, por lo que es muy frágil.
- Disminución de la viscosidad, para que los polímeros fluyan las cadenas deben moverse unas con otras pero la reticulación evita que esto suceda por lo que hay una restricción de flujo que hace que la viscosidad disminuya.
- Insolubilidad, la reticulación hace que las cadenas poliméricas estén unidas fuertemente esto hace al material insoluble, no se pueden disolver en solventes pero pueden absorber solventes, un material reticulado después de añadir una gran cantidad de solvente se le conoce como hidrogel.
- Se puede transformar de termoplastos a termoestables. Un material termoplasto es aquel que se puede deformar con el aumento de temperatura, una vez que los enlaces cruzados se formaron, en los polímeros termoplásticos el proceso no se puede deshacer mediante el recalentamiento en cambio los termoestables comenzarán a descomponerse en lugar de moverse moldeables y flexibles, entre más enlaces reticulados tenga más rígido se vuelve [18].

#### **2.4 *Aloe arborescens***

Pertenece a la familia *Aloaceae*, este grupo de plantas se originó en El Cabo oriental del sur de África, se dice que el antecesor de estas plantas se originó en las tierras altas de esta región, a mediados del período cretáceo, y tuvo su desarrollo pleno a principios del jurásico [21]. Es una familia que se ha expandido en muchas regiones del mundo, abunda en aquellas regiones tropicales y subtropicales, tiene una enorme importancia económica y medicinal. Planta con tallo erguido, desarrollado. Hojas en color roseta, erectamente extendidas a extendidas deflexas, observar Fig 2.1, 50 - 60 cm de longitud, 5 - 7 cm de ancho en la base, verde oscuro a verde azulado de márgenes con dientes curvados hacia delante de 3 - 5 mm de longitud, 5 - 20 mm de distancia. Inflorescencia racimosa usualmente simple [22].



Fig. 2.3 Hojas de *Aloe arborescens*, Fotografía: Lorena Romero Salazar.

El aloe es rico en nutrientes por lo que se ha encontrado que puede ser muy útil para enfermedades gastrointestinales, problemas de presión alta, del corazón, diabetes, constipación, antioxidante, antiinflamatoria y además favorece el tratamiento de las quemaduras de la piel, [23] este es uno de los usos más estudiados, se ha encontrado incluso que es un buen protector de rayos UV. [7] La importancia y producción del *Aloe arborescens* ha aumentado gracias a que la industria está interesada en productos que presentan características tales como baja toxicidad, biodegradabilidad, disponibilidad y bajo costo en comparación a materiales sintéticos como las gomas ó mucílagos [9].

Los mucílagos tienen una gran capacidad de absorción y retención del agua, este se puede encontrar en cantidades relevantes en el tejido parenquimática de aloe (ver figura 2.4) pues las células de este tejido están especializadas en esta función [9].

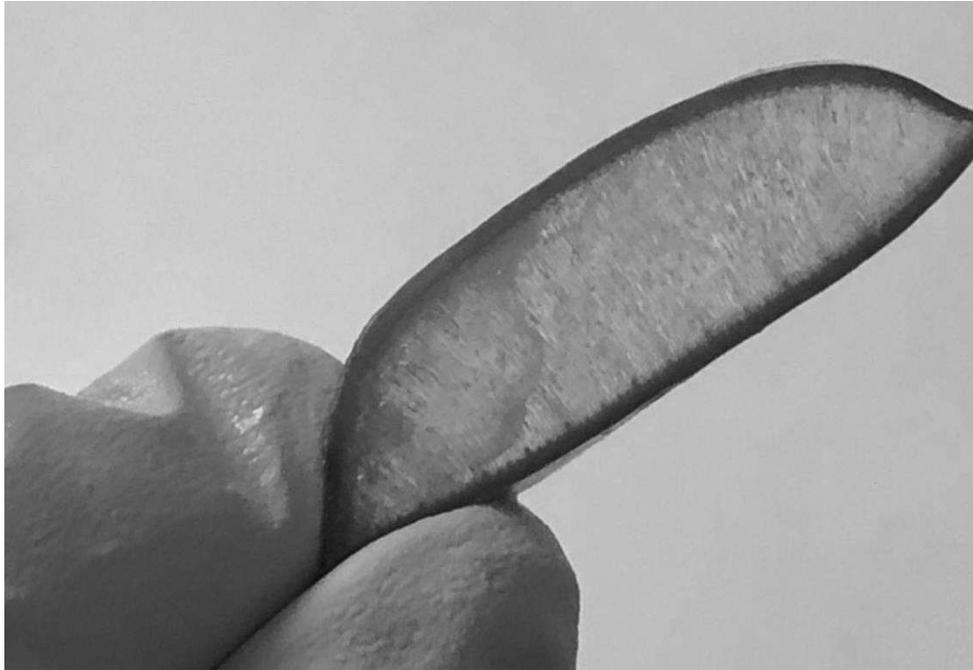


Fig.2.4. Corte transversal de una hoja de *Aloe arborescens*.

Se decidió añadirle *Aloe arborescens* a las películas para favorecer su estabilidad y propiedades curativas para la piel. Para la adición del *Aloe arborescens* a las películas, éste debe ser sometido a un proceso de liofilización, de ésta forma aseguramos que la muestra no tenga un exceso de agua.

## 2.5 Liofilización

Se presume que el proceso de liofilización tuvo sus orígenes en el Imperio Inca, en el antiplano andino a 4000 m sobre el nivel del mar, aquí los pobladores elaboraban el “Chuño”, una papa deshidratada, la forma en la que llevaban a cabo este proceso era dejar las papas sobre el suelo en las montañas, así durante toda la noche las papas se congelaban como consecuencia de las bajas temperaturas, durante el día el sol y el viento seco creaban las condiciones necesarias para que se produzca un cambio de estado del agua contenida en la papa, del estado sólido al vapor sin pasar por la fase líquida. Este proceso se desarrollo industrialmente en la Segunda Guerra Mundial, se empleó para conservar plasma sanguíneo y en la preparación de los primeros antibióticos de penicilina, unos años después empezó a utilizarse en otras industrias como la alimentaria, actualmente se utiliza en la industria

farmacéutica para preservar todo tipo de biológicos. En la industria química se utiliza en la preparación de catalizadores, secado de materiales orgánicos, preservación de animales, conservación de documentos y libros antiguos [24]. La liofilización es un proceso de deshidratación en el cual el solvente y el medio de suspensión se cristaliza a bajas temperaturas y luego se sublima desde el estado sólido directamente a la fase de vapor [25]. La liofilización se hace normalmente con agua como solvente, si el producto contiene dos o más componentes en suspensión, el proceso se vuelve más complicado, este sistema complejo ocurre en sustancias biológicas [25]. El principio más importante que ocurre en este proceso es la sublimación, en donde el agua pasa directamente de un estado sólido a vapor sin pasar por el estado líquido, la sublimación puede darse únicamente a una temperatura y presión por debajo del triple punto del agua, en donde el agua sólo está en estado sólido y gaseoso. El punto triple del agua es un estado en el que coexisten la fase líquida, sólida y gaseosa del agua (ver figura 2.5) se da a una temperatura de 23.16K y presión a 611.73 pascales.

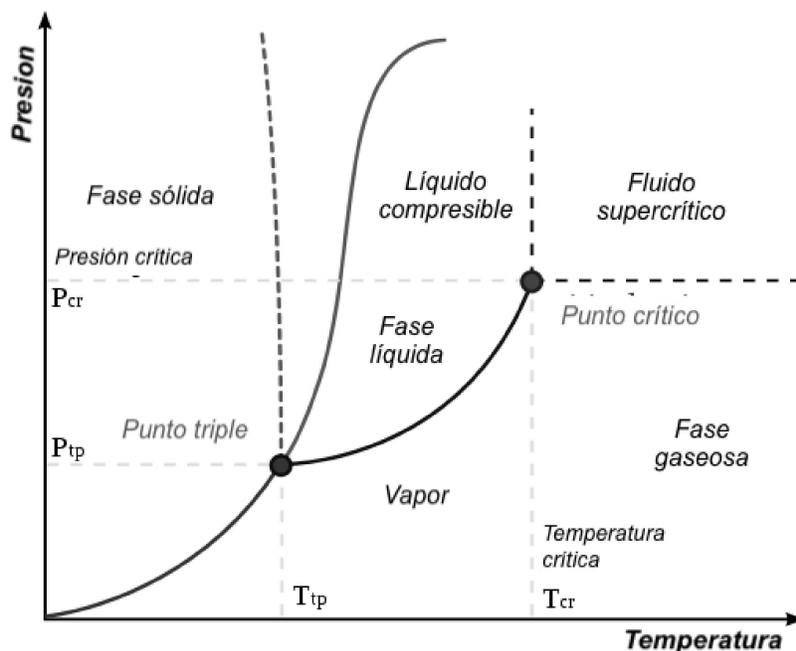


Fig. 2.5. Diagrama de fase del agua.

Imagen recuperada de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Phase-diag2.svg>

El proceso de liofilización puede separarse en cuatro pasos [26] :

#### Paso 1) Pre-tratamiento

El pre-tratamiento abarca cualquier método que pueda mejorar la muestra antes de congelarla, es decir concentrarla, diluirla, adicionar componentes para incrementar su estabilidad, incrementar el área de la superficie. En nuestro caso, en el proceso de congelamiento se disperso en las paredes la muestra, para abarcar mayo área superficial, para mejorar y garantizar el secado.

#### Paso 2) Congelación

Es cuando la muestra está congelada a una temperatura por debajo de su punto eutéctico, es decir la temperatura a la que puede producirse la mayor cristalización del solvente, esta temperatura está comúnmente en los rangos de  $-40$  a  $-60^{\circ}\text{C}$ . Este paso es de gran importancia pues va a determinar la morfología del hielo la cual es esencial en el procedimiento posterior.

#### Paso 3) Secado Primario

En esta fase, es donde el hielo se sublima. Es la parte de proceso que más toma tiempo, aunque esta sujeto a la optimización el intervalo de tiempo es de 10 a 30 horas, esto puede hacerse ajustando la temperatura y la presión de forma que la muestra se lleve a condiciones cercanas del colapso.

#### Paso 4) Secado Secundario

Este proceso comienza cuando la muestra alcanza una temperatura por encima de su punto eutéctico, aquí la bomba de vacío crea la condición necesaria para que los solventes sean eliminados, da como resultado que la muestra parezca seca, una vez que este proceso es terminado, la muestra debe retirarse y almacenarse [26].

## 2.6 Microscopio de Fuerza Atómica (AFM)

El análisis micromecánico de las muestras se desarrolló por la técnica de Microscopía de Fuerza Atómica, por lo que en esta sección se describen generalidades.

El Microscopio de Fuerza Atómica es una técnica que nos permite ver y medir una estructura superficial con alta resolución y precisión, es un instrumento mecano-óptico que forma imágenes de las superficies utilizando una sonda o micropalanca la cual recorre la muestra haciendo una exploración línea por línea, esto nos permite obtener imágenes topográficas en 3D, hacer mediciones nanométricas, detectar fuerzas de nano-Newton, mediciones de viscoelasticidad, dureza de la muestra, entre otras [27]. Los componentes principales del AFM son: la punta, la cual puede ser elegida dependiendo el tipo de muestra, el escáner (piezoeléctrico), el láser, el sistema de retroalimentación (ver figura 2.6).

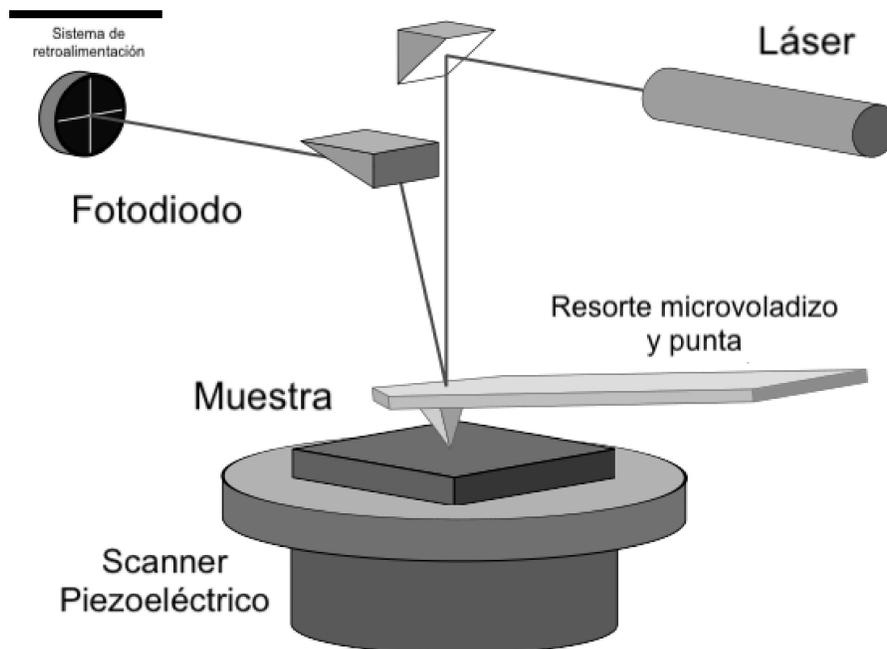


Fig. 2.6. Distribución de un Microscopio de Fuerza Atómica, imagen recuperada de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:AFM\\_schematic\\_%28EN%29.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:AFM_schematic_%28EN%29.svg)

Para entender el comportamiento del AFM se tienen que considerar tres tipos de transductores básicos importantes, piezoeléctricos o escáneres piezoeléctricos, de fuerza y control de retroalimentación. Los materiales piezoeléctricos son transductores electromecánicos que convierten el potencial eléctrico en movimiento mecánico, son naturales y pueden ser cristalinos, amorfos o incluso de naturaleza polimérica aunque para el AFM se utiliza generalmente un material cerámico sintético. Cuando un potencial se aplica a través de los lados opuestos del dispositivo su geometría cambia, la magnitud del cambio depende del material, de la geometría del dispositivo piezoeléctrico y de la magnitud del voltaje aplicado [1]. En general, el coeficiente de expansión para un dispositivo piezoeléctrico es del orden 0.1 nm por voltio aplicado, es decir que si se le aplican 2 voltios se expandirá 0.1 nm y así sucesivamente, es esta capacidad de controlar con precisión un movimiento tan pequeño que hace que sean materiales útiles para el AFM [1]. Por lo tanto, estos materiales se utilizan para controlar el movimiento de la sonda a medida que se escanea la superficie de la muestra. El transductor de fuerza sirve para medir la fuerza entre la sonda del AFM con la superficie, cuando la sonda entra en contacto con la superficie, el voltaje del transductor aumenta, es importante que la salida del voltaje sea monótona y aumente a medida que se aplica una fuerza, por lo general el transductor de fuerza del AFM es voladizo con punta integrada y una palanca óptica, pero hay varios tipos de sensores de fuerza que se explicarán posteriormente [1]. El control de retroalimentación se encarga de mantener una fuerza establecida entre la sonda y la muestra, es decir que la fuerza de interacción se mantiene a un nivel establecido, regulando los piezoeléctricos para que en caso de aumentar la fuerza la sonda se manetna lejos de la superficie y visceversa (ver figura 2.7) [1]. El funcionamiento del AFM consiste en la interacción de fuerzas entre la punta del cantiléver cuando está a una distancia crítica con la superficie de la muestra, estas fuerzas interatómicas de naturaleza eletroestática, de Van der Waals, se miden mediante la pequeña deflexión del cantiléver que se va registrando con un haz láser reflejado en la parte posterior, simultáneamente el detector piezoeléctrico mide esta deflexión conforme la punta se desplaza por la superficie,

dependiendo de la distancia pueden surgir otras fuerzas e interacciones tales como las repulsivas de corto alcance, adhesión y fuerzas capilares [28].

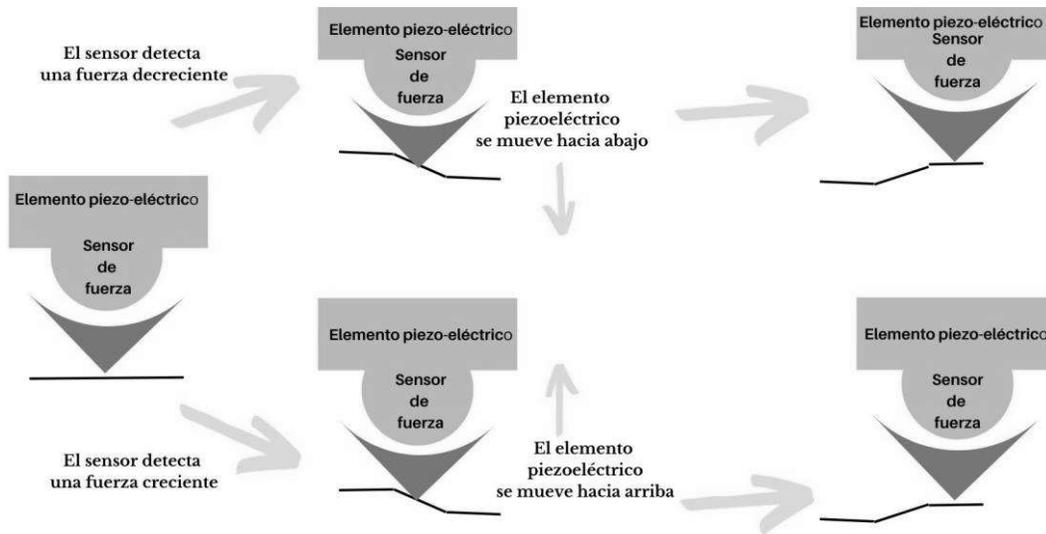


Fig. 2.7 Esquema del funcionamiento del control de retroalimentación.

El cantiléver es la sonda ubicada en el AFM, consta de un brazo y una punta aguda en el extremo la cual permite hacer el escaneo sobre la muestra, a su vez esto se sujeta al piezoeléctrico. El cantiléver está fabricado de varios materiales, los más comunes son el nitruro de silicio, dióxido de silicio y silicio [29]. El grosor y la geometría de la punta es crítica para la calidad de las imágenes medidas, por convención industrial los tamaños más comunes son de 3.5 x 1.6 mm [1]. El AFM tiene diferentes modos de operación, contacto, no contacto, modo de contacto intermitente, microscopía de fuerza química, fuerza eléctrica, magnética, entre otras [1]. Para propósitos de esta tesis el modo de contacto fue el utilizado para las indentaciones.

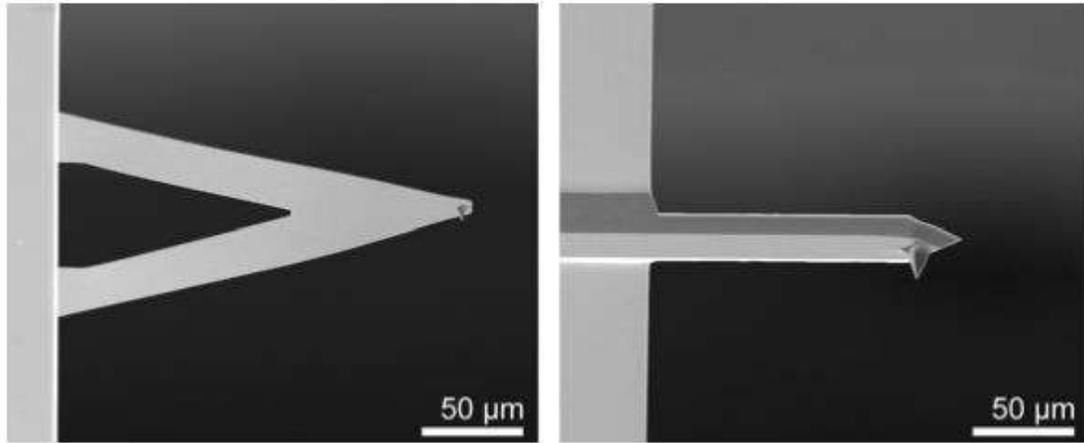


Fig.2.8 “Ejemplos de sondas de contacto y sin contacto. Izquierda: un típico voladizo en modo de contacto en forma de V. Toda la sonda está hecha de nitruro de silicio ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) y tiene una punta de sonda piramidal cuadrada integrada. Derecha: una sonda diseñada para modos oscilantes como AFM sin contacto.” Imagen recuperada de [1]

### 2.6.1 Modo de Contacto

El modo de contacto fue el primero en desarrollarse es además el método más simple por lo que fue la base para desarrollar los otros, es capaz de obtener imágenes de alta resolución, y es el más rápido de todos los métodos topográficos pues el cantiléver toca directamente la muestra no es necesario medir las oscilaciones. Para entender cómo funciona este modo es necesario usar las curvas de fuerza-distancia.

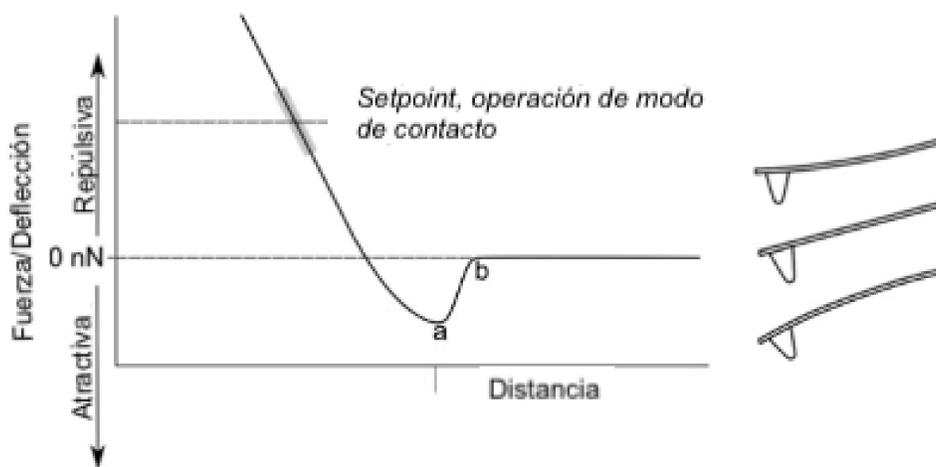


Fig. 2.9 “Curva fuerza-distancia simplificada que muestra el régimen de exploración de contacto (región repulsiva). Una curva de desviación-distancia, que son los datos brutos a partir de los cuales se mide una curva fuerza-distancia, tiene una forma similar. Derecha: ilustración de la flexión de la sonda en cada régimen.” Imagen recuperada de [1]

Estas curvas se calculan a partir de la curva de deflexión-distancia que se mide monitoreando la deflexión del cantiléver por medio del piezoeléctrico el cual mueve la punta hacia la muestra, por lo general a un cierto nivel de deflexión la dirección se invierte y la punta se retira de la muestra, el cálculo de estas curvas es la base para otros modos del AFM no topográficos, como la espectroscopia de fuerza y la nanoindentación [1]. Cuando la punta está lejos de la superficie de la muestra, el cantiléver tiene deflexión 0, a medida que la punta se acerca a la superficie, siente una fuerza de atracción y se produce un “snap-in” pues la punta se vuelve inestable y salta al contacto con la superficie, a medida que la punta sigue avanzando al contacto con la superficie, la interacción de fuerzas ahora es repulsiva, la punta ahora aplica una fuerza a la muestra y la muestra una fuerza opuesta a la punta [1].

Las fuerzas aplicadas a la superficie por la sonda en modo de contacto están dadas por la ley de Hooke:

$$Y = \frac{S}{D} \quad (2.1)$$

En donde  $Y$ , es la fuerza,  $S$  una constante de fuerza y  $D$ , la deflexión del cantiléver.

Con la nanoindentación se puede determinar la dureza de la muestra, la nanoindentación consiste en registrar los datos medidos a medida que la punta entra en contacto con la superficie de la muestra y ejerce una presión sobre ella, para el análisis de datos correcto es importante conocer el radio de la punta y analizarla con el Modelo de Hertz.

### **2.6.2 Modelo de Hertz**

El Microscopio de Fuerza Atómica te permite conocer el módulo de Young de la muestra, esto quiere decir su dureza y firmeza, el modelo utilizado depende de la forma de la punta y del tipo de muestra, para muestras biológicas y biomateriales el modelo más usado es el modelo de Hertz, que al principio era usado para describir

el contacto entre dos cuerpos elásticos esféricos, el módulo de Young puede determinarse por medio de la siguiente ecuación:

$$F(\delta) = \frac{4}{3} \frac{E\sqrt{R}}{1-\nu^2} \delta^{2/3} \quad (2.2)$$

Donde F es la fuerza medida, E el módulo de Young local, R es el radio de la punta,  $\nu$  el radio de Poisson de la muestra, asumiendo que es 0.5 ya que es el que comumente está reportado para muestras biológicas y biomateriales,  $\delta$  es el valor de la indentación [30].

## 2.7 Reología

La historia de la reología empieza desde el siglo XV, por una parte Robert Hooke quien se encargó de estudiar los sólidos y por otra Isaac Newton, quién le dio atención a los líquidos en "*Principia*", que de alguna forma el comportamiento de los líquidos estaba similarmente descrito a lo que escribió Hooke. Es en este libro que Newton describe lo que ahora llamamos viscosidad, sin embargo, no fue hasta el siglo XIX que Navier y Stokes desarrollaron una teoría consistente para lo que se conoce actualmente como líquidos newtonianos. Nadie cuestionaba las leyes de ambos científicos, pero había comportamientos que ya no podían ser descritos con estas leyes, así fue como James Clerk Maxwell propuso un modelo matemático para fluidos que poseían elasticidad. Durante los años siguientes el estudio reológico incrementó y otros modelos matemáticos se fueron agregando [31]. El término "Reología" fue inventado por Eugene Bingham, significa el estudio de la deformación y el flujo de la materia [31]. Existen dos definiciones básicas de flujo, relativo al movimiento adyacente a las partículas del líquido: flujos de corte y extensionales. En los flujos de corte los líquidos fluyen uno encima del otro, mientras que en el flujo extensional los líquidos fluyen acercándose o alejándose unos de otros [32]. En todos los fluidos, las moléculas tienen movimientos relativos unas con otras, estas interacciones tienen fuerzas de fricción internas, por lo que presentan ciertas resistencias al movimiento, esto se conoce como viscosidad [33]. En otras palabras,

la viscosidad será la relación que hay entre el esfuerzo de corte  $\tau$  y el gradiente de velocidad  $\dot{\gamma}$  generado al aplicar ese esfuerzo cortante, para fluidos idealmente viscosos a una temperatura constante, el valor de la viscosidad está definida cómo:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (2.3)$$

La cual se mantiene como una constante. A grandes rasgos, podemos separar los fluidos en newtonianos y no newtonianos.

### 2.7.1 Fluidos Newtonianos

Un fluido newtoniano es aquel para el cual la viscosidad no varía con el tiempo y la velocidad de deformación (ver figura 2.10) por lo que a una misma temperatura mantiene una viscosidad constante, no presenta propiedades elásticas o de extensión [32]. La ecuación 1.0 está relacionada a la viscosidad de los fluidos newtonianos, las unidades de medición son pascales divididos en segundos, dándonos Pascales segundos. Algunos ejemplos de estos fluidos son: agua, solventes, aceites minerales (sin polímeros aditivos), aceites de silicona, algunos otros aceites, entre otros, comúnmente son líquidos con una masa molar baja, por debajo de 10,000 g/mol.

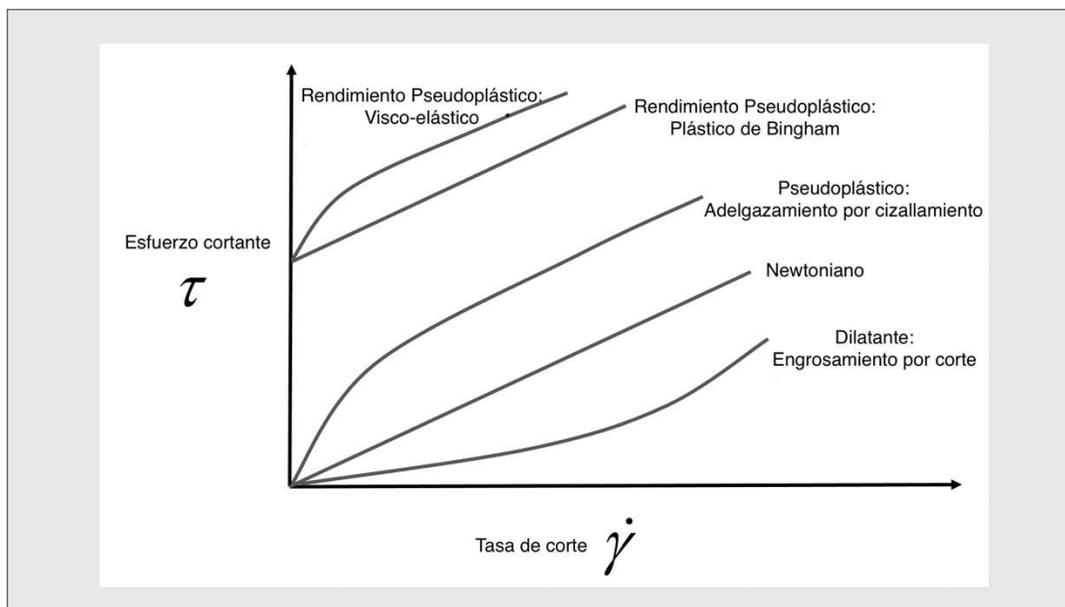


Fig.2.10 Comportamiento gráfico de los tipos de fluidos, imagen recuperada de [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/31/Types\\_of\\_Non-Newtonian\\_Fluids.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/31/Types_of_Non-Newtonian_Fluids.png)

La viscosidad de todos los líquidos simples disminuye cuando la temperatura aumenta, esto debido a que el movimiento browniano de las moléculas que constituye el líquido crece. La presión también tiene un efecto sobre la viscosidad, a medida que aumenta la presión, aumenta la viscosidad. Sin embargo, en sistemas controlados o de cambios de temperatura y presión muy radicales los efectos de la disminución de la viscosidad son fáciles a observar, por ejemplo, el aceite de un carro en un motor, el motor al calentarse hace que la temperatura del aceite aumente, la energía cinética aumenta y las colisiones intermoleculares también es decir el movimiento browniano.

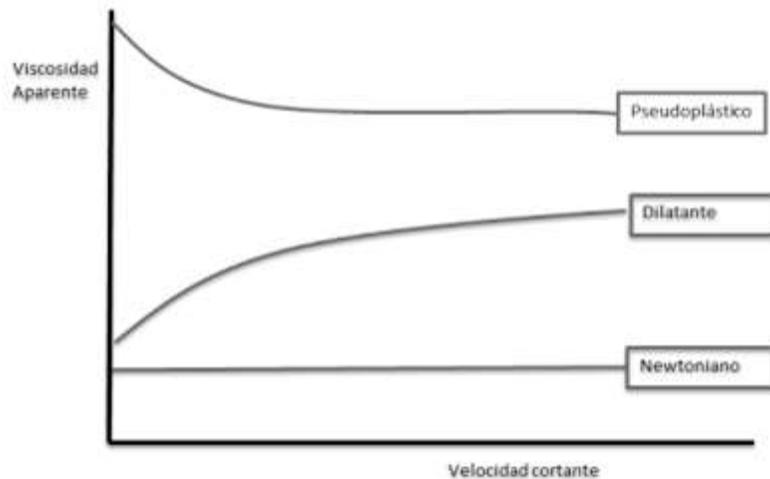


Fig. 2.11. Gráfica de la viscosidad de los diferentes líquidos [2]

## 2.7.2 Fluidos No-Newtonianos

Los fluidos no newtonianos son aquellos donde al contrario de los newtonianos el esfuerzo cortante y el gradiente de velocidad no es constante, es decir la viscosidad aparente definida previamente como  $\tau = \eta\dot{\gamma}$  es una función de  $\sigma$  [34], se define la viscosidad aparente de los fluidos no newtonianos como:

$$\eta = \frac{\sigma(\tau)}{\dot{\gamma}} \quad (2.4)$$

Algunos ejemplos de fluidos no newtonianos: adhesivos, cervezas, licores, cementos, cosmeticos, polímeros, plasticos, entre muchos otros. Existen diferentes tipos de fluidos no newtonianos, es de nuestra conveniencia menocionar los pseudoplasticos, dilantantes, viscoelásticos y Bingham. La diferencia entre todos estos yace en la viscosidad, en los fluidos dilatantes la viscosidad aumenta a medida que aumenta la velocidad de corte, en los pseudoplasticos la viscosidad disminuye a medida que aumenta la velocidad de corte, siendo este el más común, ambos tienen un comportamiendo independiente del tiempo [34]. Los viscoelásticos se caracterizan por tener un límite elástico, es decir necesitan un esfuerzo para comenzar a fluir al cual se le llama esfuerzo de cedencia  $\tau_0$ .

Cuando los niveles de tension son mayores a  $\tau_0$  la estructura del líquido se rompe y se puede comportar como fluidos newtonianos o plásticos de Bingham. Por debajo de este mismo umbral la sustancia presenta características de sólido [34]. En términos matemáticos un fluido plástico de Bingham es aquel con una curva de flujo lineal para  $|\tau_{yx}| > |\tau_0|$  se caracteriza por una viscosidad plástica constante y un límite de fluencia. Un material viscoplástico muestra una viscosidad aparente que disminuye al aumentar la velocidad de corte, a velocidades de cizallamiento muy bajas, la viscodad aparente es infinita en el instante en el que la sustancia cede y empiece a fluir por lo que se les consideran con una clase de comporamiento de adelgazamiento por cizallamiento [34]. Existen varios modelos matemáticos que se han desarrollado a lo largo de los años, uno de ellos el modelo de *Herschel-Bulkley*, el cual se considera una generalización del modelo de Bingham. En este modelo se combinan la tensión de fluencia y la ley potencial [34]:

$$\tau = \tau_0 + k \dot{\gamma}^n \quad \text{para } |\tau| > |\tau_0| \quad (2.5)$$

$$\dot{\gamma} = 0 \quad \text{para } |\tau| < |\tau_0| \quad (2.6)$$

En donde  $\tau$  es el esfuerzo cortante,  $\tau_0$  esfuerzo de cedencia,  $k$  el factor de consistencia,  $\dot{\gamma}$  velocidad de la tasa de corte y  $n$  el índice de flujo.

Para niveles de tensión por encima de la tensión de fluencia, el material fluye con una relación no lineal tensión-velocidad de deformación como un fluido pseudoplastico para  $n < 1$  o dilatante para  $n > 1$  determinado por el exponente de la ley de potencia [35].

Para la ecuación 2.5 se plantea la siguiente relación para el cálculo de la viscosidad:

$$\eta = k \dot{\gamma}_{max}^{n-1} \quad (2.7)$$

En donde  $k$  es el factor de consistencia,  $\dot{\gamma}_{max}$  la velocidad máxima de la tasa de corte, y  $n$  el índice de flujo [36].

## Capítulo 3. Metodología

### 3.1 Obtención de la biomasa del *Aloe arborescens*

De la tesis “Efecto de la adición de biomasa procedente de *Aloe arborescens* a un agente encapsulante base ALG-PEG como preservador de un extracto” escrita por María del Rosario Flores González [9] se utilizará como base su metodología de obtención de biomasa. Los materiales básicos que se utilizaron para la preparación de la biomasa fueron una tabla de cortar y un cuchillo básico de cocina, se utilizaron posterior al lavado de las hojas de *Aloe arborescens*, se cortaron en pedazos para facilitar la separación de la corteza con el tejido de cada hoja, posteriormente con una licuadora convencional clásica se trituró el tejido parenquimático hasta obtener una mezcla homogénea la cual se filtró con tela manta de cielo por dos ocasiones para asegurar que se retirará la mayor cantidad de residuos sólidos, una vez filtrado, se transfirieron 40 ml del líquido a los vasos de la liofilizadora con capacidad de 120 ml esto para pasarlos por un baño refrigerante de hielo seco y acetona, en este proceso es importante el uso de guantes y cubrebocas. La forma correcta de realizar

este proceso es rodeando el vaso de hielo seco y mientras se rota forma una película delgada en las paredes del recipiente, esto para agilizar y mejorar el proceso de liofilización. La cantidad de líquido que se coloca en el vaso depende de la capacidad de este, se recomienda que sea o la mitad o la tercera parte de su capacidad [37]. Se ultracongela a una temperatura de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante al menos 24 horas, y posteriormente, se liofilizó. Terminado el proceso el cual tardó aproximadamente 11 horas se resguardó la biomasa obtenida en un frasco ámbar.

Utilizando una metodología similar a la reportada por Flores González en [9] se registró que por cada  $1,000 \pm 5\text{ g}$  de hojas de *Aloe arborescens* se consiguió un aproximado de  $490 \pm 5\text{ g}$  de tejido parenquimático (gel) y de esta, una vez triturada y filtrada se obtuvieron los  $450 \pm 5\text{ g}$ , después del proceso de liofilización por 120 ml se obtuvieron  $1.3 \pm 0.05$  de biomasa de *Aloe arborescens*.

### **3.2 Liofilización**

Para este proceso se utilizó la liofilizadora de la marca LABCONCO. Todas las pruebas que se someten a este proceso deben estar previamente congeladas en los vasos de la liofilizadora que va a utilizarse Fig 3.1. La eficiencia está condicionada por varios factores tales como la superficie y espesor de la muestra, la temperatura, el vacío, el punto eutéctico y de la concentración del soluto en la muestra. Si el área de la muestra es mayor, más rápido será la liofilización, esto porque el calor de la sublimación se absorbe por los lados de la muestra congelada y atraviesa la capa congelada para vaporizar el agua. Por lo tanto, para muestras líquidas se recomienda que el proceso de congelamiento sea capa por capa además de únicamente colocar la mitad o la tercera parte de muestra del volumen total del vaso de la liofilizadora, es decir si el vaso es de 120ml solo colocar 60ml o 40ml de la muestra como es nuestro caso [37].

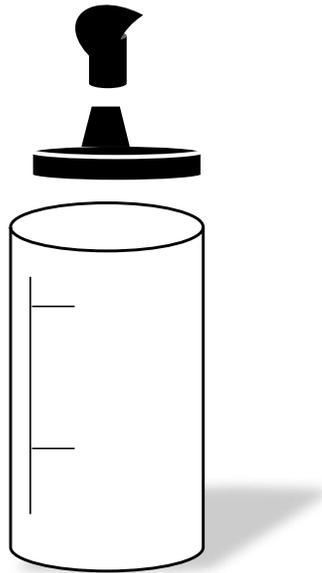


Fig. 3.1 Representación del vaso de la liofilizadora.

La liofilizadora cuenta con dos sistemas, manual (9 en Figura 3.2) y automático (7 en Figura 3.2) el utilizado en este proyecto fue el sistema automático pues no tenemos una muestra volátil, ni sólida. El sistema automático baja la temperatura a  $-52^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  y la presión a  $0.240\text{mb} \pm 0.100\text{mb}$ . Según el manual la presión óptima es de  $0.113\text{mb}$  sin embargo, alcanzar dicha presión es difícil de obtener debido a la falla del equipo.

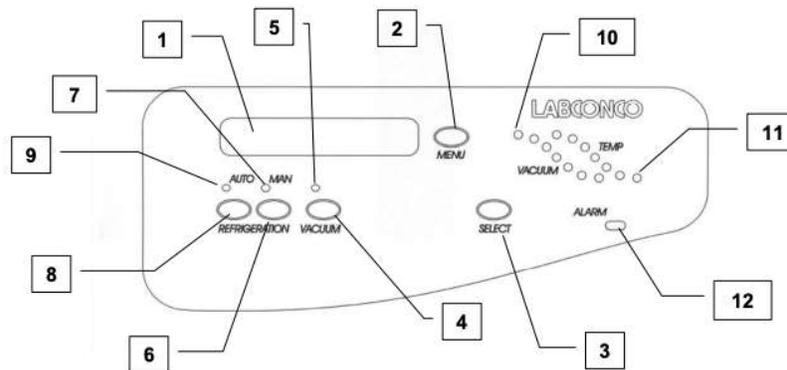


Fig. 3.2. Panel de control de la liofilizadora LABCONCO. Imagen recuperada de [37]

## Añadir muestra.

- 1) Se conecta la muestra precongelada a una válvula en la cámara de secado y se gira la perilla de la válvula de plástico a la posición "Vacuum" para abrir la válvula.
- 2) Antes de añadir otra muestra se espera a que la presión vuelva a bajar y el panel vuelva a indicar que está lista para usarse.
- 3) Para saber que la muestra está lista, no debe haber escarcha en el exterior del vaso y al tocarlo no se debe sentir frío, aún así se debe esperar dos o tres horas más, esto con la finalidad de no interrumpir el proceso y que la muestra esté totalmente seca.
- 4) Una vez terminado el proceso para remover el vaso la válvula de plástico debe pasar a la posición "Vent".

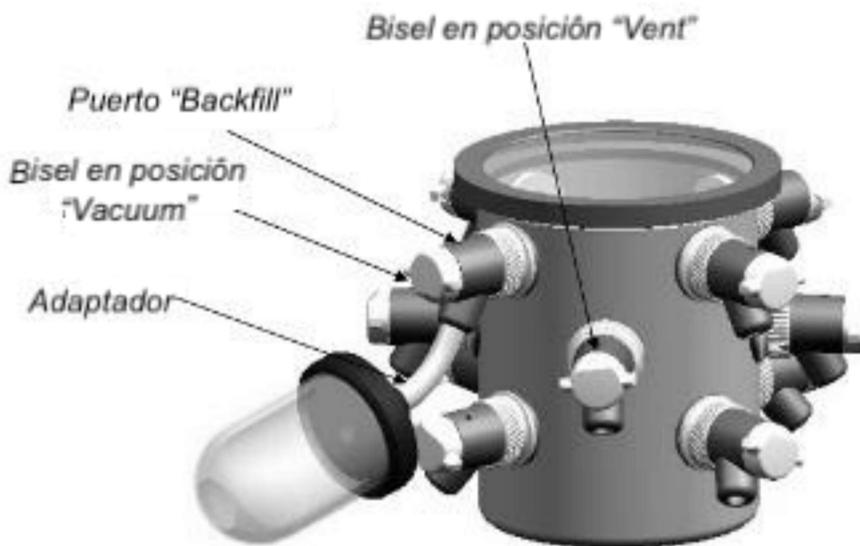


Fig 3.3 Cámara de secado. Imagen recuperada de [37].

Terminado el proceso de lado izquierdo se encuentra una manguera la cual se debe sacar y retirar el tapón para que pueda drenarse, una vez hecho esto la liofilizadora

puede apagarse y esperar a que llegue a temperatura ambiente para poder desconectarla.

### 3.3 Preparación de las películas.

Siguiendo el proceso experimental reportado en “Alginate/Aloe Vera hydrogel films for biomedical applications” y en “Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications” se estandarizó un proceso el cual nos ayudó a la realización de las películas.

El alginato de sodio ( $(C_6H_7O_6Na)_n$ ) usado fue de la marca GOLDEN BELL Reactivos, el polietilenglicol (average mol wt 200) de Sigma-Aldrich y el Cloruro de Calcio de Fermont. El glicerol de la marca de reactivos químicos hycl.

Considerando que se tenían 1.3 gramos de biomasa de *Aloe arborescens*, se hicieron las películas de hidrogel sin biomasa para poder encontrar la flexibilidad y concentración adecuada que nos conveniera, por lo que se prepararon dos formulaciones base de alginato de sodio y agua destilada (1.5 % w/v).<sup>1</sup>

Consultando el procedimiento propuesto por Wang, Tingting; Wang, Jinqing; Wang, Rui; Yuan, Peilin; Fan, Zengjie; Yang, Shengrong [38], se identificó que para adquirir mayor flexibilidad se debía aumentar la concentración de glicerol así que la siguiente prueba tuvo una concentración de glicerol de 6% (v/v) en alginato de sodio, a sí mismo se añadieron 1% (v/v) y 2% (v/v) de polietilenglicol a la formulación base, las películas que no contenían biomasa de *Aloe arborescens* tomaron 2 días para secarse sin embargo las que sí contenían biomasa tardaron 4 días. Después del proceso de secado las películas debían someterse a un baño de cloruro de calcio (5% w/v) por 5 minutos, sin embargo la alta concentración de cloruro plastificaba las películas, eran demasiado rígidas, por lo que se bajó la concentración a 2% (w/v) y 1% (w/v). La solución de 1% fue la que más nos servía pues buscábamos películas delgadas, maleables, resistentes, flexibles. Posterior a este segundo baño, las películas debían secarse por 24 horas a temperatura y humedad ambiente, en nuestro caso fue 18°C y humedad de 53%. Una vez encontrado la formulación

---

<sup>1</sup> w/v: weight per volume

adecuada se repitió el proceso tomando la formulación base de alginato de sodio, glicerol y polietilenglicol para poder añadir la biomasa de *Aloe arborescens*.

Tabla 1. Distribución de la concentración de las muestras.

Alginato de Sodio 1.5% Glicerol 6%			
Polietilenglicol 1%		Polietilenglicol 2%	
AL 0.2%	AL 0.3%	AL 0.2%	AL 0.3%

Fuente: elaboración propia.

Las películas que no fueron sometidas al baño de cloruro de sodio presentaban mayor elasticidad y humedad sin embargo para que pudiera ocurrir el proceso de reticulación se les dio un baño de cloruro de sodio, este proceso no puede evitarse, pues el cloruro de sodio funciona como agente reticulante, lo que forma el hidrogel como tal. Debido a este proceso y como previamente sabíamos, el entrecruzamiento hizo que aumentara la dureza, y fuerza de las películas, así también como la insolubilidad pues una vez que el proceso se llevo a cabo las películas dejaron de evaporarse y al colocarlas en agua no se deshacían como las que no estaban reticuladas.

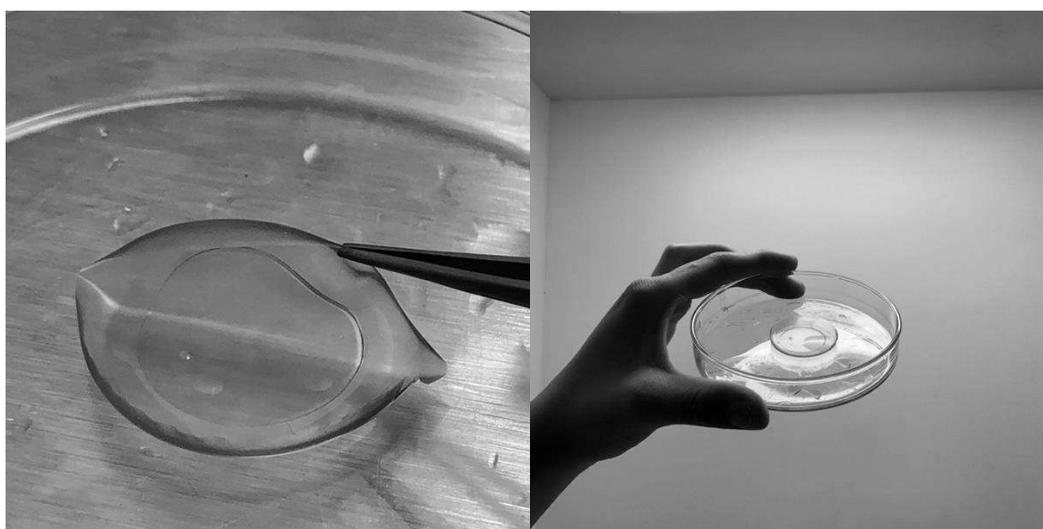


Fig 3.4. Películas antes del baño de cloruro de calcio.



Fig 3.5. Películas después del baño de cloruro de calcio

### 3.4 Densidad de la solución.

La densidad de un material uniforme se define como la cantidad de masa contenida en una unidad de volumen, y se describe como:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (2.8)$$

Para encontrar la densidad de la solución del *Aloe arborescens*, utilicé la siguiente ecuación, según el principio de Arquímedes, en donde  $m$  es el valor de una pesa de 50g,  $V_i$  es el volumen del líquido contenido en la probeta,  $V_f$  el volumen del líquido resultante de sumergir la pesa:

$$\rho = \frac{m}{V_f - V_i} \quad (2.9)$$

### **3.5 Caracterización Reológica**

Para el análisis reológico se utilizó el Reómetro HAAKE MARS III de la marca ThermoScientific, el cual contiene un software Thermo Scientific HAAKE RheoWin en donde se puede analizar y estudiar a conveniencia los modelos matemáticos y reológicos para el sistema de interés, en nuestro caso se utilizó el modelo de *Herschel-Bulkley*. La configuración geométrica que se utilizó fue la de placas paralelas, la placa superior de diámetro de 35.00 mm la placa inferior de 35.00 mm de diámetro, Gap:0.052mm y velocidad de cizallamiento máxima de 500.

### **3.6 Microscopio de Fuerza Atómica**

Para el análisis micromecánico se utilizó el Microscopio de Fuerza Atómica, EasyScan 2 Flex AFM, Nanosurf. Una viga de aluminio ContAI-G. Budget Sensors Innovate Solutions Bulgaria, LTD. Las medidas fueron tomadas en modo contacto a una temperatura ambiente, el radio de la punta de 8 nanómetro. En este proceso la muestra se colocó en un portaobjetos y por medio del software de Nanosurf pudimos observar y analizar los datos registrados por el microscopio, para encontrar el Módulo de Young según el modelo de Hertz, estos datos fueron procesados por medio de un código en Python reportado en [39].

## Capítulo 4. Obtención y análisis de resultados

### 4.1 Densidad

De la ecuación 2.9 se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 4.1 Parámetros experimentales y densidad del PEG 1%

$V_i$ ( $cm^3$ )	$V_f$ ( $cm^3$ )	$m(g)$	$\rho$ ( $\frac{g}{cm^3}$ )
100	149.9	50	1
99.0	149.7	50	0.98
98.9	149.7	50	0.98
99.1	149.7	50	0.98
99.0	149.7	50	0.98
<b>Densidad Promedio</b>			<b>0.98</b>

Fuente: Elaboración propia a partir de los resultados experimentales.

Tabla 4.2. Parámetros experimentales y densidad del PEG 2%

$V_i$ ( $cm^3$ )	$V_f$ ( $cm^3$ )	$m(g)$	$\rho$ ( $\frac{g}{cm^3}$ )
100	149.9	50	1
98.9	149.9	50	0.98
99	149.9	50	0.98
98.9	149.9	50	0.98
99.1	149.9	50	0.98
<b>Densidad Promedio</b>			<b>0.98</b>

Fuente: Elaboración propia a partir de los resultados experimentales.

## 4.2 Análisis Reológico

Se analizaron cuatro soluciones con polietilenglicol al 1% y al 2% cada una con una concentración de aloe de 0.2% y 0.3%, cabe mencionar que todas las formulaciones de este proceso experimental se sometieron a pruebas con la misma temperatura de 37°C, únicamente una vez. Aplicando el modelo matemático de *Herschel-Bulkley*, el cual era el modelo más adecuado al sistema de interés pues es comunmente utilizado para el analisis de hidrogeles y muestras blandas, se obtuvieron los siguientes resultados:

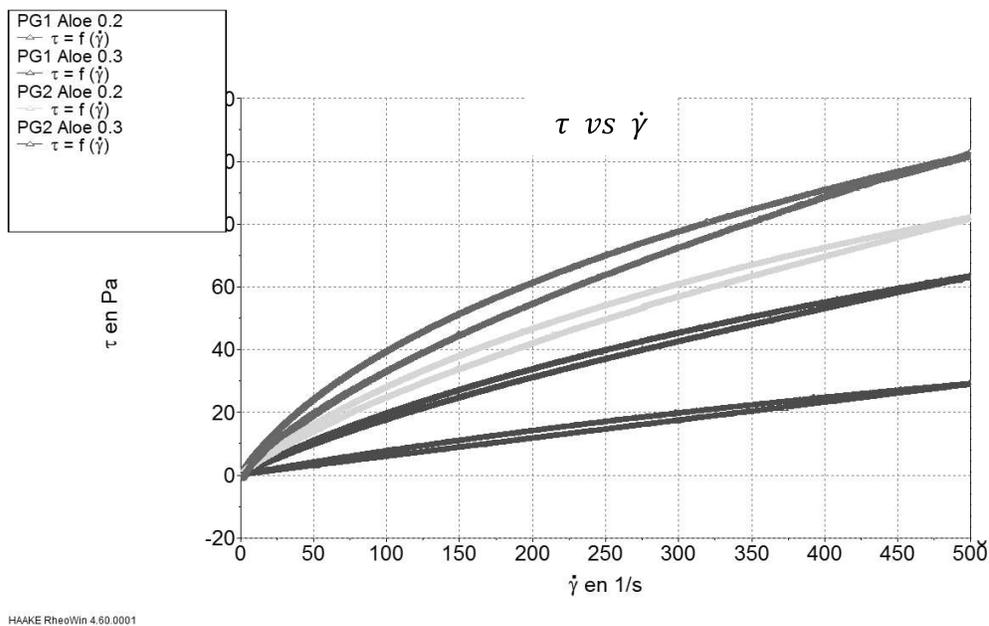


Fig 4.1 Gráfica del comportamiento del esfuerzo de deformación de las muestras.

En la gráfica podemos observar las curvas de etapa de esfuerzos crecientes y decrecientes, comportandose como un fluido pseudoplástico, para poder confirmar este comportamiento es importante revisar y analizar los valores del índice de flujo, los cuales se muestran a continuación en la Tabla 5.

Tabla 4.3. Valores del factor  $n$  del modelo de HB.

Formulación	$n$ Índice de flujo	$\tau_0$ Esfuerzo de Cedencia	$k$ Factor de Consistencia
PEG 1% Aloe 0.2 %	0.6569	-3.707	1.795
PEG 1% Aloe 0.3 %	0.759	-0.695	0.575
PEG 2% Aloe 0.2 %	0.6371	-7.69	1.702
PEG 2% Aloe 0.3 %	0.9988	0.271	0.057

Según nuestra condición de la ecuación de *Herschel-Bulkley* con respecto al valor de  $n$ , el cual es menor que 1, podemos confirmar que se trata de un fluido pseudoplástico y adelgazante esto debido al cizallamiento al que fue sometido. El valor del esfuerzo de cedencia es negativo, este valor nos indica la fuerza que necesita el fluido para crear un flujo, siendo un valor negativo podríamos decir que el flujo no requiere de esfuerzo para fluir. Según en [40] la constante  $K$  es una medida de la consistencia del fluido, la cual depende de la temperatura y la composición de la mezcla, nosotros observamos que la menor concentración de *Aloe arborescens* arrojó un valor de  $k$  mayor que la concentración más alta del aloe, al tener menor esfuerzo de corte el valor de  $k$  debe disminuir como se muestra en la concentración de 0.2% y 0.3%. Al aumentar la concentración tanto de *Aloe arborescens* como de polietilenglicol el valor de  $n$  se acerca mucho a 1, esto nos indica que se empiezan a perder las propiedades pseudoplásticas y comienza a comportarse más como un fluido newtoniano. Se calcularon los valores de viscosidad como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4.4 Valor de la viscosidad de cada muestra

	PEG 1 Aloe 0.2	PEG 1 Aloe 0.3	PEG 2 Aloe 0.2	PEG 2 Aloe 0.3
<b>Viscosidad</b>	0.2128	0.1275	0.1284	0.0573

Fuente: Elaboración Experimental Propia

Como podemos observar en nuestros resultados, la variación de la viscosidad está directamente relacionada con la concentración de *Aloe arborescens*, reduciendo considerablemente en la concentración de 0.3% la viscosidad, esto podría atribuírsele a que el *Aloe* inhibe la reticulación del polímero por lo que como se mencionó anteriormente el fluido se comporta más como un fluido newtoniano. Para asegurar que el comportamiento del fluido cambia por el aumento de concentración del *Aloe arborescens* se debe re-hacer la prueba múltiples veces variando más la concentración de la biomasa.

#### **4.2 Módulo de Young**

La descripción inextensa está en el capítulo 2.6. El módulo de Young fue determinado por el modelo esférico de Hertz, estos datos son el promedio de cuatro repeticiones por cada muestra, de cada muestra se hicieron 25 indentaciones las cuales se repitieron entre 250-300 veces por cada punto que tocaba la muestra, esto con tal de tener una estadística que muestre el comportamiento adecuado del Módulo de Young, la velocidad de movimiento fue de  $1.95 \mu\text{m}/\text{s}$ , con una fuerza por ipunto de 50nN. Están divididas dependiendo su nivel de concentración de *Aloe arborescens*, la primera únicamente compuesta de PEG al 1% y al 2%, las siguientes contienen concentraciones de *Aloe arborescens* al 0.2% y 0.3% ver Fig. 4.2.

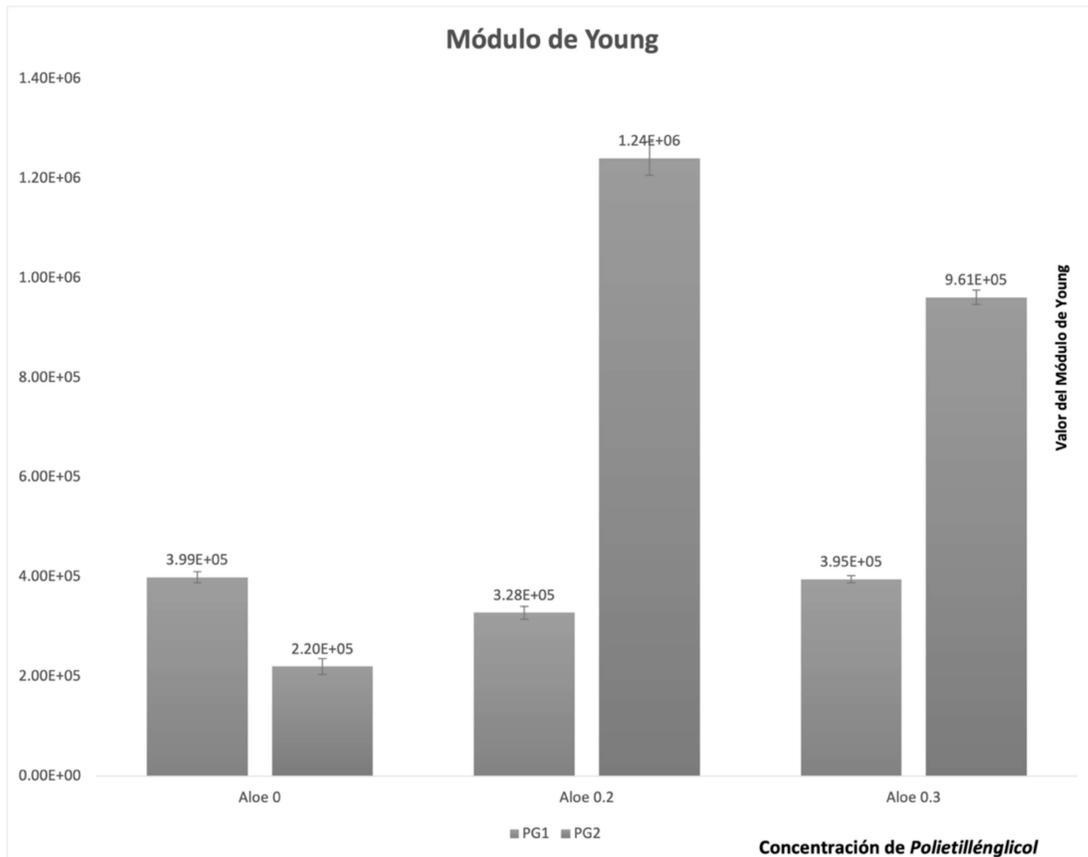


Fig. 4.2 Gráfica de los valores del Módulo de Young y su desviación estándar.

Como podemos observar, la presencia de *Aloe arborescens* incrementa el Módulo de Young para las formulaciones con Polietilenglicol al 2% a diferencia del 1% donde la variación es mínima y la microestructura del polímero parece no tener el mismo efecto, se ha reportado en la literatura que las variaciones en la pérdida de humedad inducen a cambios en la microestructura de las películas. Al consultar la Tabla 4.1 de los valores de la viscosidad encontramos que si la formulación tiene un valor más alto en su viscosidad el módulo de Young decrece con respecto a la misma concentración de *Aloe arborescens* cuando tenemos una concentración de PEG al 1%, recordemos que el análisis reológico se hizo en la fase líquida de la formulación, y la indentación en la fase sólida. Es importante mencionar que conseguir una muestra totalmente homogénea fue complicado, pues la biomasa parecía tener complicaciones al unirse con el PEG, el alginato y el glicerol, se recomienda re-hacer la experimentación para encontrar una forma óptima de

agregar los componentes y garantizar una formulación más homogénea. Es importante que las películas sean sometidas al proceso de entrecruzamiento ya que, de no ser así, los componentes de la película comienzan a evaporarse y la biomasa a oxidarse reduciendo así la rigidez de la película.

Cada micrografía se tomó en una escala de  $20.6 \times 20.6 \mu$ , a un tiempo de 1.2 segundo por línea, con una fuerza de 20nN. Las micrografías muestran la topografía de las películas, se observa que aquellas que no contienen *Aloe arborescens* resultan tener una superficie más porosa (Fig. 4.3 y 4.4) respectivamente. En la formulación de AA al 0.2% se muestran superficies muy similares a pesar de que la concentración de PEG es diferente, presentan porosidad, pero en menor cantidad, finalmente las que tienen AA al 0.3% se muestran menos porosas y con muchos menos valles, la estructura es más uniforme.

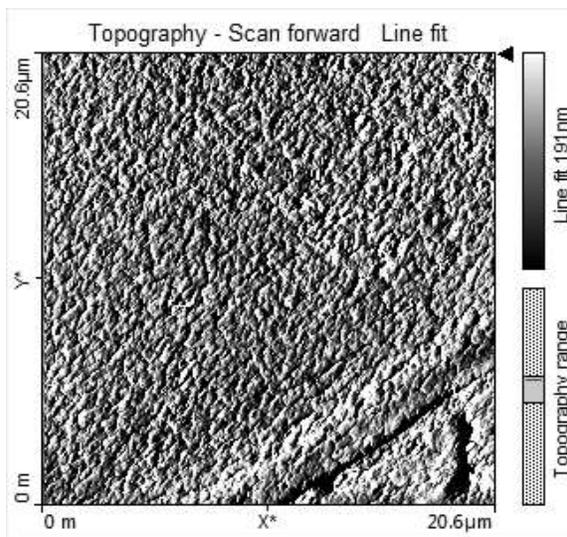


Fig. 4.3 Micrografía del PEG al 1%

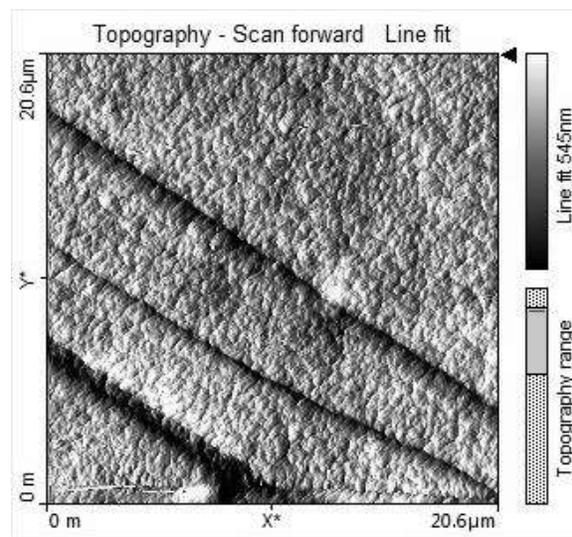


Fig. 4.4 Micrografía del PEG al 2%

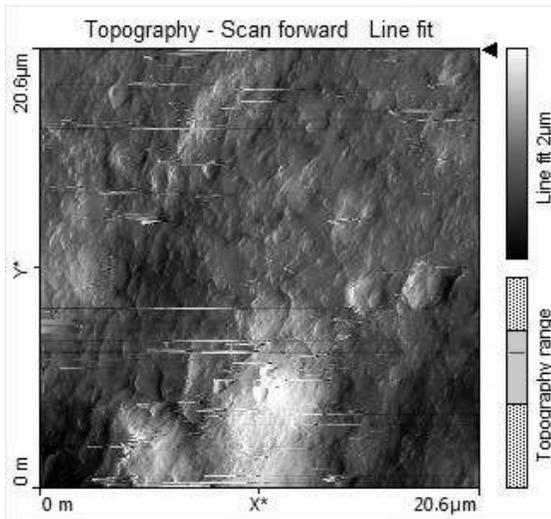


Fig. 4.5 Micrografía del PEG al 1% Aloe 0.2%

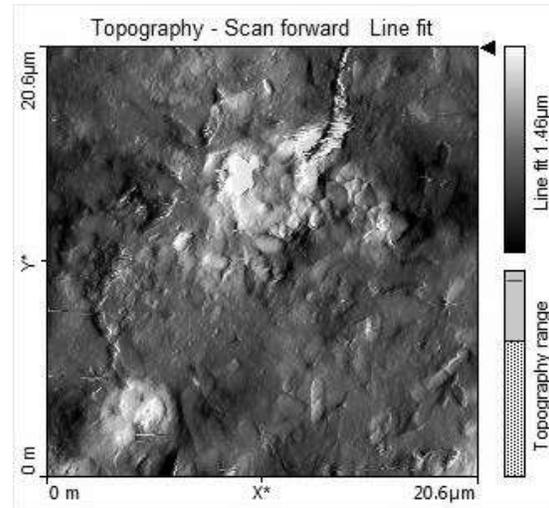


Fig. 4.6 Micrografía del PEG al 2% Aloe 0.2%

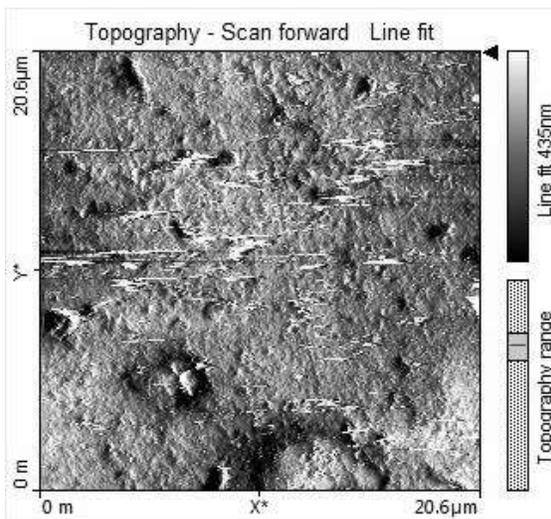


Fig. 4.7 Micrografía del PEG al 1% Aloe 0.3%

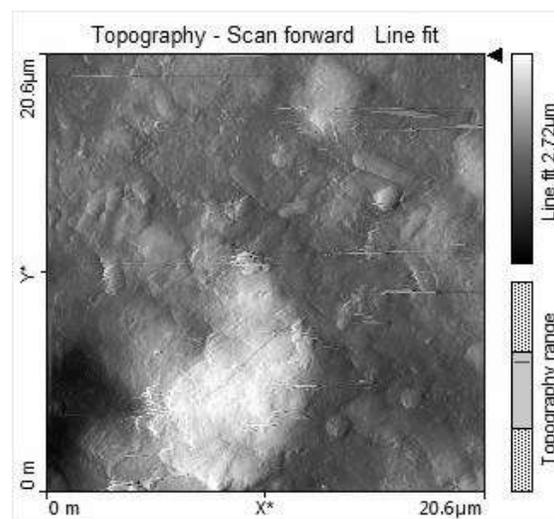


Fig. 4.8. Micrografía del PEG al 2% Aloe 0.3%

## 5.0 Conclusiones

Se alcanzaron los objetivos planteados con el trabajo experimental realizado aplicando y aprendiendo técnicas multidisciplinarias a partir de su formación como estudiante de la licenciatura en física.

Para el proceso experimental para general las películas se identificó que la formulación base adecuada es 1.5% (w/v) de alginato de sodio y 6% (v/v) de glicerol,

esto garantiza una adecuada flexibilidad de las películas, además de que permite su análisis micromecánico. Esto a través del proceso de indentación con AFM.

La elección de la concentración de PEG y *Aloe arborescens* depende de la aplicación destino. Es decir, películas más rígidas caracterizadas con Módulo de Young, dando como resultado, esto únicamente con concentraciones de PEG mínimo al 2%, sin embargo si se desea una película con menor rigidez se debe buscar en concentraciones menores al 1% de PEG (w/v). El *Aloe arborescens* también influye en la porosidad de las películas y en la rugosidad, en la micrografía podemos observar una homogeneidad en las películas con mayor biomasa añadida (ver Fig. 4.7 y 4.8). Las discontinuidades del 1% son congruentes con las fuerzas adhesivas.

Sobre la preparación de biomasa de *Aloe arborescens* es importante señalar que el proceso de liofilización lleva muchas horas por lo que se debe asegurar que el sistema pueda funcionar de forma continua, además de llevar un tratamiento de las muestras meticoloso y ordenado, la muestra debe estar perfectamente congelada, el volumen de la muestra por recipiente debe calcularse de forma adecuada, de no ser así el material liofilizado quedará húmedo y no se logrará un secado uniforme a menos que se vuelva a congelar fuera de la liofilizadora, debe procurarse el mantenimiento de las válvulas en la cámara de secado de la liofilizadora (ver Fig. 3.3) pues con el poco movimiento pueden estancarse y esto produce que el sistema tenga fugas de presión en consecuencia no se llegará a la presión ideal y la liofilización durará al menos 4 horas más.

Sobre el análisis reológico se puede asegurar que, para 3 formulaciones a 37°C, elegida así por su posible aplicación al cuerpo humano. Se identifica y verifica el comportamiento de los fluidos pseudoplásticos, sin embargo, a partir de la siguiente concentración de PEG 2% y *Aloe arborescens* 0.3% el comportamiento del fluido pierde sus propiedades pseudoplásticas comportándose como newtoniano. Las diferentes aplicaciones que puedan realizarse con las películas son una perspectiva inmediata para otros trabajos interdisciplinarios.

## Bibliografía

- [1] P. Eaton y P. West, *Atomic Force Microscopy*, Nueva York: Oxford University Press, 2010.
- [2] «Darlington,» [En línea]. Available: <http://www.adareng.com/es/articulo/trasvase-de-fluidos-no-newtonianos/n-4>.
- [3] B. D. Ratner, A. Hoffman, F. J. Schoen y J. E. Lemans, *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicina*, ACADEMIC PRESS, 1996.
- [4] R. A. L. Jones, *Soft Condensed Matter*, Oxford University Press, 2002.
- [5] P. C. Painter y M. M. Coleman, *Fundamentos de ciencia de polímeros*, The Pennsylvania State University, 1996.
- [6] M. A. Jafar Mazumder, H. Sheardown y A. Al-Ahmed, *Functional Biopolymers*, Springer, 2019.
- [7] R. Pereira, A. Carvahlo, D. C. Vaz, M. Gil, A. Mendez y P. Bartólo, Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications, *International Journal of Biomolecules*, 2012.
- [8] B. Ozcelik, K. D. Brown, A. Blencowe, K. Ladewid, G. W. Stevens, J.-P. Scheerlinck, K. Abberon, M. Daniell y G. Qiao, «Biodegradable and Biocompatible Poly(Ethylene Glycol) based Hydrogel films for the Regeneration of Corneal Endothelium,» *Advanced Healthcare Materials*, 2014.
- [9] M. d. R. González-Flores, Efecto de la adición de biomasa procedentes de *Aloe arborescens* a un agente encapsulante base ALG-PEG como preservador de un extracto, Toluca, Mexico: Universidad Autónoma del Estado de México, 2021.
- [10] G. Crespo Rodriguez, «Microscopia de Fuerza Atómica (AFM) modos de Atómica, modos de operación y aplicaciones,» *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*, 2013.
- [11] E. A. MacGregor, *Physical Science and Technology*, Manitoba: Academic Press, 2001.
- [12] D. I. Bower, *An Introduction to Polymer Physics*, United States of America: Cambridge University Press, 2002.
- [13] Thomas A. Witten, *Structured fluids*, New York: Oxford University Press, 2010.
- [14] R. M. Johnson; L. Y. Mwaikambo; N. Tucker, *Biopolymers*, Rapra Review Reports, 2003.
- [15] Abka-khajouei, Tounsi, Shahabi, Patel, Abdelkafi y Michaud., *Properties and Applications of Alginates*, Mar Drugs, 2022.
- [16] S. Moore, «News-Medical.Net,» 4 Febrero 2020. [En línea]. Available: [https://www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Polyethylene-Glycol-\(PEG\).aspx#:~:text=Characteristics%20of%20polyethylene%20glycol&text=It%20is%20non%2Dt](https://www.news-medical.net/life-sciences/What-is-Polyethylene-Glycol-(PEG).aspx#:~:text=Characteristics%20of%20polyethylene%20glycol&text=It%20is%20non%2Dt)

oxic%2C%20colorless,%2C%20carbon%20tetrachloride%2C%20and%20chloroform.. [Último acceso: 16 Octubre 2022].

- [17] M. d. R. F. González, «Efecto de la adición de biomasa procedente de aloe arborescens a un agente encapsulante base ALG-PEG como preservador de un extracto,» Toluca, México, Universidad Autónoma del Estado de México, 2021.
- [18] G. Buddha, G. Noida y G. B. Nagar, *Crosslinking in Hydrogels*, India, 2014.
- [19] S. Kalia, «Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials,» de *Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials*, Springer, 2016.
- [20] M. Bustamante-Torres, D. Romero-Fierro, B. Arcentales-Vera, K. Palomino, H. Magaña y E. Bucio, *Hydrogels Classification According to the Physical or Chemical Interactions and as Stimuli-Sensitive Materials*, 2021.
- [21] S. M. Carpano, M. T. Castro y E. D. Spegazzini, Caracterización morfoanatómica comparativa entre Aloe vera (L.) Burm. F., Aloe arborescens Mill., Aloe saponaria Haw. y Aloe ciliaris Haw. (Aloeaceae), Buenos Aires: *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 2009.
- [22] R. GW, *The aloes of South Africa*, 1950.
- [23] R. R. K. N. R. C. Gideon F. Smith, *Aloe arborescens (Asphodelaceae: Alooideae) and CITES, Cactus and Succulent Society of America*, 2008.
- [24] M. Parzanese, «Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca,» [En línea]. Available: <https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/revistas/nota.php?id=209#:~:text=El%20proceso%20de%20liofilizaci%C3%B3n%20tiene,la%20deshidrataci%C3%B3n%20de%20la%20papa..> [Último acceso: 30 Octubre 2022].
- [25] G.-W. Oetjen y P. Haseley, *Freeze-Drying*, Alemania: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, 2004.
- [26] T. F. D. T. a. P. T. t. Consider, «Ellab,» 2018. [En línea]. Available: <https://www.ellab.com/industries/pharma/lyophilization/>. [Último acceso: 30 Octubre 2022].
- [27] M. e. C. A. I. P. Maldonado, «Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología,» [En línea]. Available: [http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio\\_de\\_Fuerza\\_Atómica.html](http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio_de_Fuerza_Atómica.html). [Último acceso: 14 Noviembre 2022].
- [28] *Dynamic Atomic Force Microscopy Methods*, Madrid, España, 2002.
- [29] J. E. V. Cadre, «Microscopía de Fuerza Atómica,» San Luis Potosí, 2020.
- [30] H. A. Marin Tapia, R. Rosales-Ibañez, L. Romero Salazar, J. C. Arteaga Arcos y M. Mayorga Rojas, Micro-mechanical properties of corneal scaffolds from two different bio-models obtained by an efficient chemical decellularization, Toluca, Estdo de México: *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2021.

- [31] K. Walters y H. J.F, «An Introduction to Rheology,» Elsevier Science Publshers, 1989.
- [32] H. A. Barnes, A Handbook of Elementary Rheology, England: Cambrian Printers, 2000.
- [33] T. G. Mezger, The Rheology Handbook, Germany: Vincentz Network, 2014.
- [34] R. Chhabra, «Non-Newtonian Fluids: An Introduction,» Department of Chemical Engineering, Indian Institute of Technology Kanpur.
- [35] E. M. y. M. Cervera, *Elementos finitos mixtos estabilizados para flujos confinados de Bingham y de Herschel-Bulkley. Parte I: Formulación*, Revista Internacional de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería, 2015.
- [36] P. B. B. Isabel, La reologia en el proceso de microfluidez en pastas de mortero de cementos PORTLAND mexicanos, Toluca: Universidad Autónoma del Estado de México, 2015.
- [37] LABCONCO, User's Manual Freeze Dry Systems, Houston, Texas.
- [38] W. Tingting, W. Jinqing, W. Rui, W. Rui, Y. Peilin, F. Zengjie y Y. Shengrong, «Preparation and properties of ZnO/sodium alginate bi-layered hydrogel films as novel wound dressings,» *New Journal of Chemistry*, 2019.
- [39] D. F. E. Alberto, La técnica de AFM como aporte al análisis de biomateriales: guía de preparación y análisis de muestras., Toluca: Universidad Autónoma del Estado de México, 2022.
- [40] E. J. Suarez-Dominguez, R.-M. Rigoberto, A. U. Coronel-Santillan, P.-P. Arturo y I.-K. Elena, «Estudio de coeficientes reológicos de un crudo extrapesado mexclado con un biorreductor de viscosidad,» *Ingenieria Mecanica*, vol. 18, nº 2, 2015.