

2020

Manual de Prácticas de Biomateriales



Luis Jesús Villarreal Gómez

Facultad de Ciencias de la Ingeniería y
Tecnología, Universidad Autónoma de Baja
California, Unidad Valle de las Palmas

27-7-2020

2020

Práctica 0. Técnicas de Micropipeteo



Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez

Facultad de Ciencias de la Ingeniería y
Tecnología, Universidad Autónoma de Baja

California, Unidad Valle de las Palmas

24-7-2020

No. DE PRÁCTICA	LABORATORIO DE	NOMBRE	DURACIÓN (HORAS)
0	Biomateriales	Técnicas de Micropipeteo	2

Contenido

I. COMPETENCIA	2
II. FUNDAMENTO.....	2
III. SENSIÓN PRESENCIAL.....	10
3.1. Material y Equipo.....	10
3.2. Procedimiento.....	11
IV. SENSIÓN EN LINEA.....	13
4.1. Pre-laboratorio.....	14
4.2. Reporte	14
V. GESTIÓN DE RESIDUOS	18
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	18

I. COMPETENCIA

Revisar las diferentes técnicas de pipeteo para asegurar mediciones de volúmenes precisas y confiables con el fin de preparar soluciones de manera exitosa. Con una actitud de trabajo en equipo y respeto por el medio ambiente.

II. FUNDAMENTO

MICROPIPETAS - Pautas generales y Técnicas de pipeteo

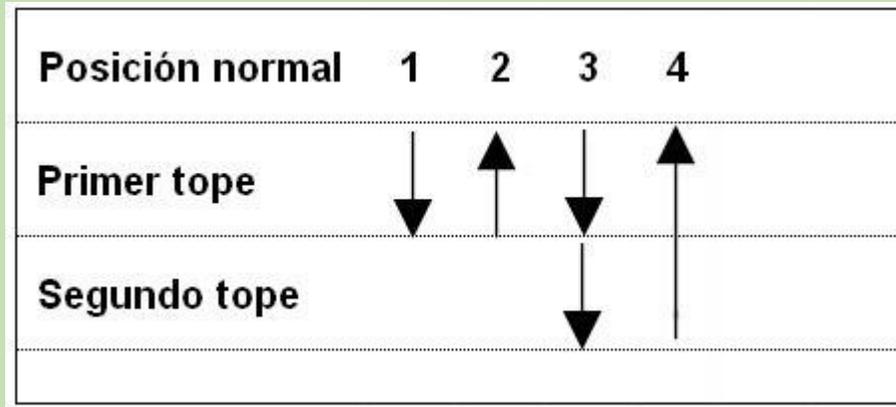
Pautas generales

- Revisar la pipeta al inicio del día de trabajo para retirar suciedad y polvo
- Ajustar el volumen en el rango especificado para la pipeta
- Sujetar la pipeta de forma que el reposamanos de la pipeta descansa sobre el dedo índice
- Para maximizar exactitud, la pipeta, la punta y el líquido deben estar a la misma temperatura
- Comprobar que las puntas son las adecuadas para la pipeta
- Usar las puntas una sola vez
- Enjuagar la punta varias veces en el líquido a pipetear antes del pipeteo para mejorar la exactitud
- No volver la pipeta del revés, de forma que el líquido de la punta afecte al interior de la pipeta
- Evitar contaminaciones de las puntas usando el eyector y los guantes
- Guardar las pipetas hacia arriba
- Calibrar las pipetas de forma regular, al menos una vez al año

Técnicas de pipeteo

- Pipeteo Normal (forward pipetting)

Recomendada para soluciones acuosas como tampones, ácidos diluidos y bases



1. Regular el volumen y presionar el émbolo hasta el primer tope

Introducir verticalmente la punta en el líquido. Ver la profundidad adecuada en la siguiente tabla.

Volumen (µL)	Profundidad óptima de inmersión (mm)
0.1 - 1	1
1- 100	2 - 3
101 - 1000	2 - 4
1001 - 10000	3 - 6

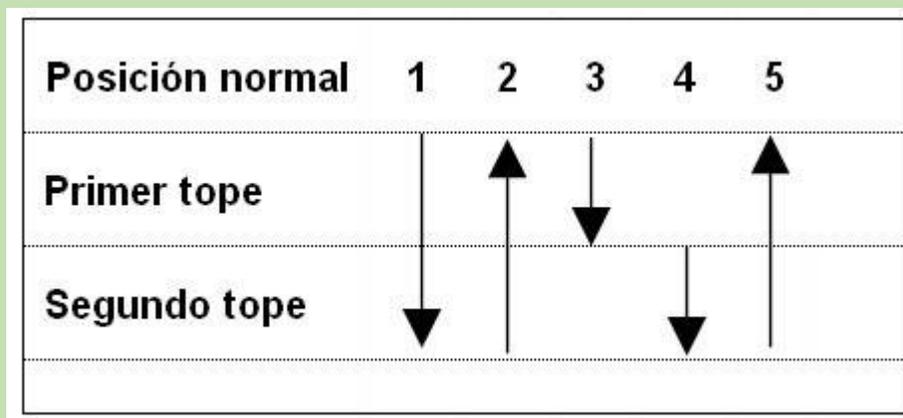
2. Soltar lentamente el émbolo hasta su posición inicial. Sacar la punta del líquido tocando las paredes del recipiente para dejar los excesos de líquido del exterior de la punta

3. Dispensar el líquido en el recipiente presionando el embolo hasta el primer tope y después hasta el segundo. De esta forma vaciamos totalmente la punta

4. Sacamos la punta del recipiente tocando las paredes del mismo y dejamos el émbolo en su posición inicial

- **Pipeteo Reverso (reverse pipetting)**

Esta técnica se usa para pipetear soluciones con una gran viscosidad o tendencia a formar espuma. Sólo se puede realizar con pipetas de desplazamiento de aire



1. Regular el volumen y presionar el émbolo hasta el segundo tope

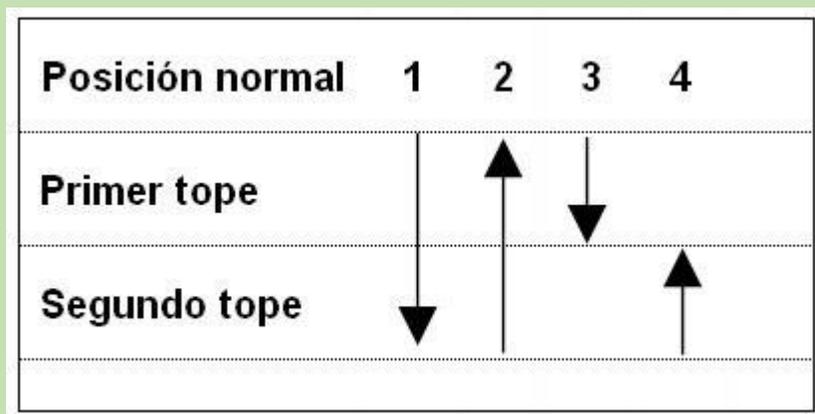
Introducir verticalmente la punta en el líquido. Ver la profundidad adecuada en la siguiente tabla

Volumen (μL)	Profundidad óptima de inmersión (mm)
0.1 - 1	1
1 - 100	2 - 3
101 - 1000	2 - 4
1001 - 10000	3 - 6

- Soltar lentamente el émbolo hasta su posición inicial. Sacar la punta del líquido tocando las paredes del recipiente para dejar los excesos de líquido
- Dispensar el líquido en el recipiente presionando el émbolo hasta el primer tope. Este volumen es el volumen ajustado. Mantener el émbolo fijo en esta posición. Quedará algún líquido en la punta que no se debe dispensar.
- El líquido restante en la punta se puede devolver al contenedor inicial o tirarlo junto con la punta.
- Dejamos el émbolo en su posición inicial

- Pipeteo Repetitivo (Repetitive Pipetting)

Esta técnica está especialmente indicada para pipeteo repetido del mismo volumen.



- Regular el volumen y presionar el émbolo hasta el segundo tope
Introducir verticalmente la punta en el líquido. Ver la profundidad adecuada en la siguiente tabla

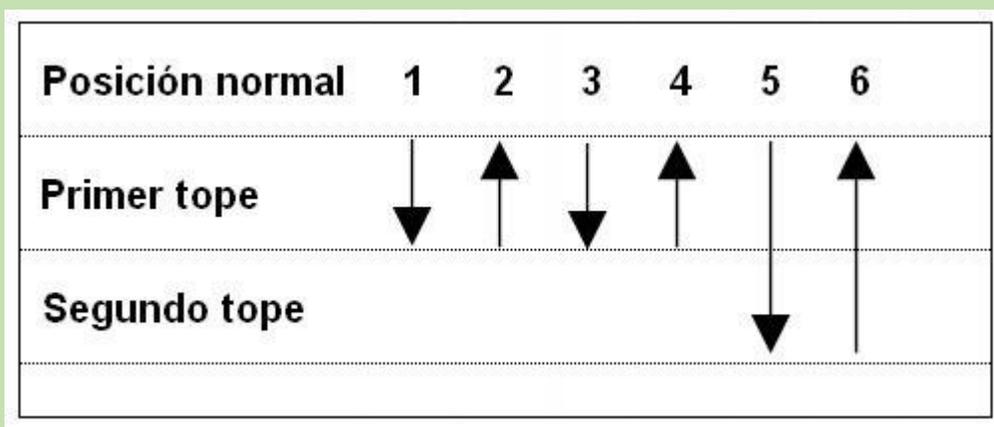
Volumen (μL)	Profundidad óptima de inmersión (mm)
0.1 - 1	1
1 - 100	2 - 3
101 - 1000	2 - 4
1001 - 10000	3 - 6

- Soltar lentamente el émbolo hasta su posición inicial. Sacar la punta del líquido tocando las paredes del recipiente para dejar los excesos de líquido

3. Dispensar el líquido en el recipiente presionando el émbolo hasta el primer tope. Este volumen es el volumen ajustado. Mantener el émbolo fijo en esta posición. Quedará algún líquido en la punta que no se debe dispensar. Este líquido se puede echar en el recipiente original o desechar con la punta.
4. Repetimos los pasos 2 y 3

- **Pipeteo de muestras heterogéneas**

Esta técnica está especialmente indicada para pipeteo de muestras viscosas en las que no se puede lavar previamente la punta con la muestra y se necesita pipetear el volumen total disponible. Por ejemplo, sangre o suero



1. Regular el volumen y presionar el émbolo hasta el primer tope
Introducir verticalmente la punta en el líquido. Ver la profundidad adecuada en la siguiente tabla

Volumen (μL)	Profundidad óptima de inmersión (mm)
0.1 - 1	1
1 - 100	2 - 3
101 - 1000	2 - 4
1001 - 10000	3 - 6

2. Soltar lentamente el émbolo hasta su posición inicial
- 3+4 No sacar la punta del líquido. Volver a presionar el émbolo hasta el primer tope y dejar que vuelva a su posición inicial. Sacar la punta del líquido tocando las paredes del recipiente para dejar los excesos de líquido
5. Dispensar el líquido en el recipiente presionando el émbolo hasta el segundo tope vaciando completamente la punta
6. Dejamos el émbolo en su posición inicial

Calibración de las micropipetas

General

- Equilibrar la temperatura de la pipeta con la temperatura de la sala de calibración dos horas antes de calibrar
- Calibrar en el volumen máximo y en el volumen mínimo o en un volumen 10% menor que el máximo
- Realizar 10 pipeteos con ambos volúmenes.
- Calcular la exactitud y la precisión usando las formulas apropiadas
- Comprobar que los resultados están entre los límites dados por el fabricante de la pipeta

Pipetas multicanales

- Realizar los 10 pipeteos con los dos canales de los extremos

Fórmulas para analizar los resultados de las medidas

Conversión de masa a volumen

$$V = (w + e) \times Z$$

V= volumen (mL)

w= peso (weight) (mg)

e= pérdida por evaporación (mg)

z= factor de conversión para mg/mL

Nota: La pérdida por evaporación puede ser significativa con pequeños volúmenes. Para determinar la pérdida de masa, dispensar agua en el recipiente de pesado, tomar nota de la lectura y empezar a tomar el tiempo con un cronómetro. Comprobar cuanto decrece la lectura en 30 segundos. Comparar esto con el tiempo de pipeteo.

Normalmente, la duración de un pipeteo son 10 segundos y la masa perdida 2 µg. Si se usa una trampa de evaporación o una tapa, no es necesario realizar la corrección de evaporación

Exactitud: Error Sistemático

La exactitud es la diferencia entre el volumen dispensado y el seleccionado en una pipeta

$$A = \tilde{V} - V_S$$

A= Exactitud (accuracy)

\bar{V} = Volumen medio

V_s = volumen seleccionado

En un certificado de calibración la exactitud se expresa como un valor relativo

$$ACC\% = 100\% \times A/V_s$$

Precisión: Error Aleatorio

La precisión se refiere a la repetitividad de los pipeteos. Se expresa como desviación estándar (s) o coeficiente de variación (cv). Además de por la propia pipeta, la práctica en el laboratorio, y la experiencia del usuario son también factores importantes que afectan a la precisión.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n - 1}}$$

s = standard deviation

\bar{V} = mean volume

n = number of measurements

V_i = single measurement result (i = 1...n)

CV (or CV%) is the relative value of standard deviation.

$$CV = 100\% \times \frac{s}{\bar{V}}$$

Tablas de conversión

Table 1:
Values of the conversion factor Z ($\mu\text{l mg}^{-1}$) as a function of temperature and air pressure, for distilled water.

Temperature °C	Air pressure hPA (mbar)					
	800	853	907	960	1013	1067
15	1.0018	1.0018	1.0019	1.0019	1.0020	1.0020
15.5	1.0018	1.0018	1.0019	1.0020	1.0020	1.0021
16	1.0019	1.0020	1.0020	1.0021	1.0021	1.0022
16.5	1.0020	1.0020	1.0021	1.0022	1.0022	1.0023
17	1.0021	1.0021	1.0022	1.0022	1.0023	1.0023
17.5	1.0022	1.0022	1.0023	1.0023	1.0024	1.0024
18	1.0022	1.0023	1.0024	1.0024	1.0025	1.0025
18.5	1.0023	1.0024	1.0025	1.0025	1.0026	1.0026
19	1.0024	1.0025	1.0025	1.0026	1.0027	1.0027
19.5	1.0025	1.0026	1.0026	1.0027	1.0028	1.0028
20	1.0026	1.0027	1.0027	1.0028	1.0029	1.0029
20.5	1.0027	1.0028	1.0028	1.0029	1.0030	1.0030
21	1.0028	1.0029	1.0030	1.0030	1.0031	1.0031
21.5	1.0030	1.0030	1.0031	1.0031	1.0032	1.0032
22	1.0031	1.0031	1.0032	1.0032	1.0033	1.0033
22.5	1.0032	1.0032	1.0033	1.0033	1.0034	1.0035
23	1.0033	1.0033	1.0034	1.0035	1.0035	1.0036
23.5	1.0034	1.0035	1.0035	1.0036	1.0036	1.0037
24	1.0035	1.0036	1.0036	1.0037	1.0038	1.0038
24.5	1.0037	1.0037	1.0038	1.0038	1.0039	1.0039
25	1.0038	1.0038	1.0039	1.0039	1.0040	1.0041
25.5	1.0039	1.0040	1.0040	1.0041	1.0041	1.0042
26	1.0040	1.0041	1.0042	1.0042	1.0043	1.0043
26.5	1.0042	1.0042	1.0043	1.0043	1.0044	1.0045
27	1.0043	1.0044	1.0044	1.0045	1.0045	1.0046
27.5	1.0044	1.0045	1.0046	1.0046	1.0047	1.0047
28	1.0046	1.0046	1.0047	1.0048	1.0048	1.0049
28.5	1.0047	1.0048	1.0048	1.0049	1.0050	1.0050
29	1.0049	1.0049	1.0050	1.0050	1.0051	1.0052
29.5	1.0050	1.0051	1.0051	1.0052	1.0052	1.0053
30	1.0052	1.0052	1.0053	1.0053	1.0054	1.0055

Precisión y exactitud



Exacto, pero no preciso: El volumen medio se corresponde con el valor esperado, pero los diferentes pipeteos varían mucho entre sí.

Preciso, pero no exacto: El volumen medio difiere del esperado, pero los diferentes pipeteos tienen poca variación entre sí.

Exacto y preciso: El volumen medio se corresponde con el valor esperado y los diferentes pipeteos no varían entre sí.

III. SENSIÓN PRESENCIAL

3.1. Material y Equipo

Reactivos

- Agua destilada o corriente

Equipo

- Balanza analítica
- Micropipeta de 10-100 μL , 20-200 μL y 100-1000 μL
- Tubos de microcentrifuga o Eppendorf de 0.5 mL o 1.5 mL
- 2 Vasos de precipitado de 100 mL
- Cinta tape beach o stickers para escribir
- Tijeras

NOTA: ESTA PRÁCTICA NO REQUIERE EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL, SOLO EL USO APROPIADO DE LA BATA DE LABORATORIO

3.2. Procedimiento

- **Transferencia de líquidos:** Micropipetas.
- **Prepararse para la práctica:** Leer la información teórica de la práctica y ver el video “Manejo de las Micropipetas” (<https://youtu.be/3leT7THt3Ac>.)
- **Pesado de materiales:** Manejo de la balanza analítica.
 - Tomar los 5 tubos Eppendorf que el profesor les facilite y etiquetar cada uno de la siguiente manera:

Nombre del estudiante 10 μ L	Nombre del estudiante 25 μ L	Nombre del estudiante 50 μ L	Nombre del estudiante 75 μ L	Nombre del estudiante 100 μ L
-------------------------------------	-------------------------------------	-------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------

- Asegurarse que estén completamente secos y pesarlos en la balanza analítica vacíos, anotar el peso en mg
- Para el llenado de la tabla formar equipos de 3 personas
- Adicionar el agua utilizando las micropipetas, siguiendo la guía teórica de la práctica y escribir los resultados en la siguiente tabla:

Volumen	Nombre estudiante	Peso tubo vacío (mg)	Peso tubo con agua (mg)	Resta de ambos pesos de los tubos (mg)	Promedio de la resta de los pesos de los tubos (mg)	Desviación estándar DS calculada en excel
10 μ L						
25 μ L						
50 μ L						

75 μ L						
100 μ L						

- Calcular la desviación estándar utilizando Excel y realizar las gráficas donde el eje de las X es el volumen (10 μ L, 25 μ L, 50 μ L, 75 μ L y 100 μ L) y el eje de las Y en peso promedio de la resta de los pesos de los tubos (mg).
- Desarrollar simulación LabXChange-Micropipetting Solutions. Faculty of Art and Sciences. Harvard University, 2020. https://www.labxchange.org/library/items/lb:LabXchange:4eecf5fe:lx_simulation:1.
- Contestar el reporte.

IV. SENSIÓN EN LINEA

Pre-laboratorio

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 0. Habilidades Generales de un Laboratorio de Biomateriales**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de pre-laboratorio que viene en este documento, las preguntas del pre-laboratorio deben de ser investigadas en la literatura.

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Pre-laboratorio práctica 0**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

Reporte

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 0. Habilidades Generales de un Laboratorio de Biomateriales**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de reporte de laboratorio que viene en este documento, las preguntas del reporte deben de ser contestadas a partir de la revisión del video “**Manejo de las Micropipetas**”, la realización de la **práctica presencial** y el desarrollo de la “**Simulación Manejo de las Micropipetas**”.

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Reporte Práctica 0**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

4.1. Pre-laboratorio

4.1.1. Escoja la respuesta correcta.

4.1.1.1. ¿Cuáles de las siguientes técnicas no es una técnica de pipeteo descrita en la práctica?

- a) Pipeteo Normal b) Pipeteo Reverso c) Pipeteo Repetitivo d) Pipeteo de muestras heterogéneas e) Pipeteo ascendente

4.1.1.2. ¿Cuáles de los siguientes pasos es INCORRECTO para la calibración de las micropipetas?

- a) Equilibrar la temperatura de la pipeta a 37°C de la sala de calibración dos horas antes de calibrar
- b) Calibrar en el volumen máximo y en el volumen mínimo o en un volumen 10% menor que el máximo
- c) Realizar 10 pipeteos con ambos volúmenes.
- d) Calcular la exactitud y la precisión usando las formulas apropiadas
- e) Comprobar que los resultados están entre los límites dados por el fabricante de la pipeta

4.1.1.3. ¿Cuál es la fórmula para calcular exactitud?

- a) $V = (w + e) \times Z$ b) $S = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (v_i - \tilde{V})^2}}{n - 1}$ c) $A = \tilde{V} - V_s$

4.1.2. Relaciona ambas columnas

4.1.2.1. Define para que es útil cada técnica de pipeteo de micropipeta

Técnica de pipeteo	Recomendación
a) Pipeteo Normal	() Esta técnica está especialmente indicada para pipeteo repetido del mismo volumen.
b) Pipeteo Reverso	() Recomendada para soluciones acuosas como tampones, ácidos diluidos y bases
c) Pipeteo Repetitivo	() Esta técnica se usa para pipetear soluciones con una gran viscosidad o tendencia a formar espuma. Sólo se puede realizar con pipetas de desplazamiento de aire

- d) Pipeteo de muestras heterogéneas () Esta técnica está especialmente indicada para pipeteo de muestras viscosas en las que no se puede lavar previamente la punta con la muestra y se necesita pipetear el volumen total disponible. Por ejemplo, sangre o suero

4.1.2.2. ¿Qué es la precisión y exactitud?

Concepto	Descripción
a) Exacto, pero no preciso	() El volumen medio difiere del esperado, pero los diferentes pipeteos tienen poca variación entre sí
b) Preciso, pero no exacto	() El volumen medio corresponde con el valor esperado, pero los diferentes pipeteos varían mucho entre sí.
c) Exacto y preciso	() El volumen medio si corresponde con el valor esperado y los diferentes pipeteos no varían entre sí

4.2. Reporte

4.2.1. Realice los cálculos para preparar las siguientes soluciones:

4.2.1.1. ¿Cuántos gramos de NaCl se requieren para preparar 375 ml de NaCl al 83 M?

- a) 1.8177 gr de NaCl b) 18.177 gr de agua c) 18.177 gr de NaCl d) 25.38 gr de NaCl e) 8.3 gr de NaCl

4.2.1.2. ¿Cuántos gramos de KH_2PO_4 se necesitan para preparar 500 ml de 1 mM de KH_2PO_4 ?

- a) 0.068 gr de KH_2PO_4 b) 43.855709 gr de KH_2PO_4 c) 4385.5709 gr de KH_2PO_4 d) 418.55209 gr de KH_2PO_4 e) 338.55709 gr de KH_2PO_4

4.2.1.3. Subir en un archivo Word la siguiente tabla llena (en caso de que haya práctica presencial, si no, el profesor les enviará los pesos para realizar la gráfica)

Volumen	Nombre estudiante	Peso tubo vacío (mg)	Peso tubo con agua (mg)	Resta de ambos pesos de los tubos (mg)	Promedio de la resta de los pesos de los tubos (mg)	Desviación estándar DS calculada en excel
10 μL						
25 μL						
50 μL						

75 μ L						
100 μ L						

4.2.1.4. Subir Gráfica de peso y volumen en archivo de imagen (en caso de que haya práctica presencial si no omitir)

4.2.2. Subir Screenshot de las páginas de “Results” y “Reflection” contestadas. De la simulación LabXChange-Micropipetting Solutions. Faculty of Art and Sciences. Harvard University, 2020.

https://www.labxchange.org/library/items/lb:LabXchange:4eecf5fe:lx_simulation:1.

4.2.2.1. Describir conclusiones

V. GESTIÓN DE RESIDUOS

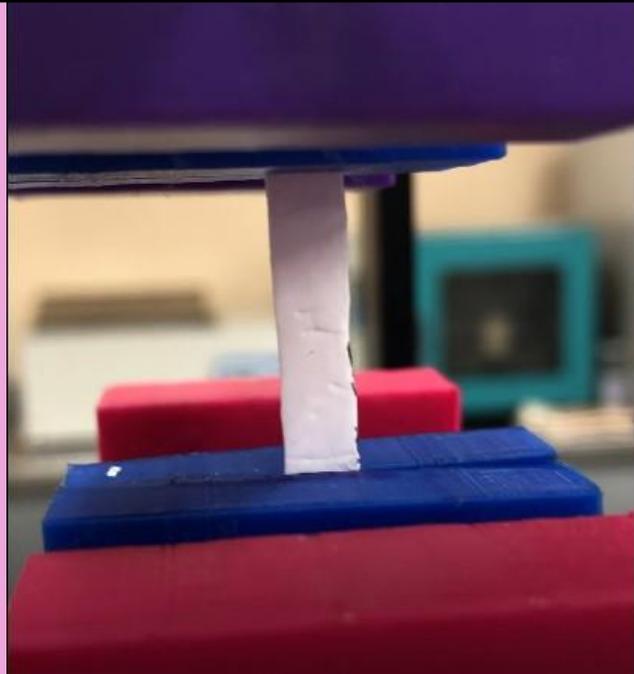
No se deseche en el fregadero. Pregunte al instructor como disponer de este residuo.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Xian, W. (2009). A Laboratory Course in BIOMATERIALS. CRC Press. Pág. 165-171. ISBN: 978-1-4200-7582-3.
- Brea, G. (2020). Manejo de las Micropipetas. Tomado el 07 de Julio del 2020. <https://youtu.be/3leT7THt3Ac>.
- LabXChange. (2020). Micropipetting Solutions. Faculty of Art and Sciences. Harvard University, 2020. https://www.labxchange.org/library/items/lb:LabXchange:4eecf5fe:1x_simulation:1.

2020

Práctica 1. Propiedades Fisicoquímicas de los Materiales



Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez

Facultad de Ciencias de la Ingeniería y
Tecnología, Universidad Autónoma de Baja
California, Unidad Valle de las Palmas

7-7-2020

No. DE PRÁCTICA	LABORATORIO DE	NOMBRE	DURACIÓN (HORAS)
1	Biomateriales	Propiedades Fisicoquímicas de los Materiales	2

Contenido

I. COMPETENCIA	2
II. FUNDAMENTO.....	2
III. SENSIÓN PRESENCIAL.....	3
3.1. Material y Equipo.....	3
3.2. Procedimiento.....	4
IV. SENSIÓN EN LINEA.....	5
4.1. Pre-laboratorio.....	6
4.2. Reporte	6
V. GESTIÓN DE RESIDUOS	12
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	12

I. COMPETENCIA

Adquirir la capacidad para definir un biomaterial y reconocer sus propiedades más importantes, a través de la evaluación de sus características fisicoquímicas y mecánicas, con honestidad y trabajo en equipo.

II. FUNDAMENTO

Para revisar el fundamento utilizar la referencia

Duffo, G. (2011). Biomateriales. Materiales y Materias Primas. Cap. 8. Instituto Nacional de Educación Tecnológica. República Argentina. pp.1-43.

III. SENSIÓN PRESENCIAL

3.1. Material y Equipo

Reactivos

- Plástico de portada para engargolados
- Hoja de papel
- Láminas de plástico de diferentes fuentes

Equipo

- Medidor de tensión electromecánico (FG-3000 Digital Force Gauge Shimpo, EE. UU)
- Vernier
- Regla
- Cámara fotográfica

3.2. Procedimiento

1. Para las pruebas mecánicas, se considerará la recomendación de ASTM D882-10 [38].
2. Las muestras se cortarán con tijeras en probetas rectangulares de 5 cm de largo x 1 cm de ancho
3. Se usará un dispositivo Vernier para medir el grosor de la probeta
4. Las mediciones convencionales de macro-tensión se realizarán utilizando un medidor de tensión electromecánico (FG-3000 Digital Force Gauge Shimpo, EE. UU.).
5. Todas las muestras se montarán entre mordazas a una distancia de 1 cm.
6. La prueba de tracción se realizará a una velocidad de 8 mm / min a temperatura ambiente (~21 °C).
7. Se calcularán los parámetros de última resistencia a la tracción (MPa), deformación hasta la ruptura (%), módulos de Young (MPa), límite elástico (MPa)
8. Los experimentos se realizarán de manera individual y se calcularán en grupo.
9. Todos los datos se calcularán utilizando el software EDMS-FG V4.6.2 (NidecShimpo Corporation, EE. UU.).

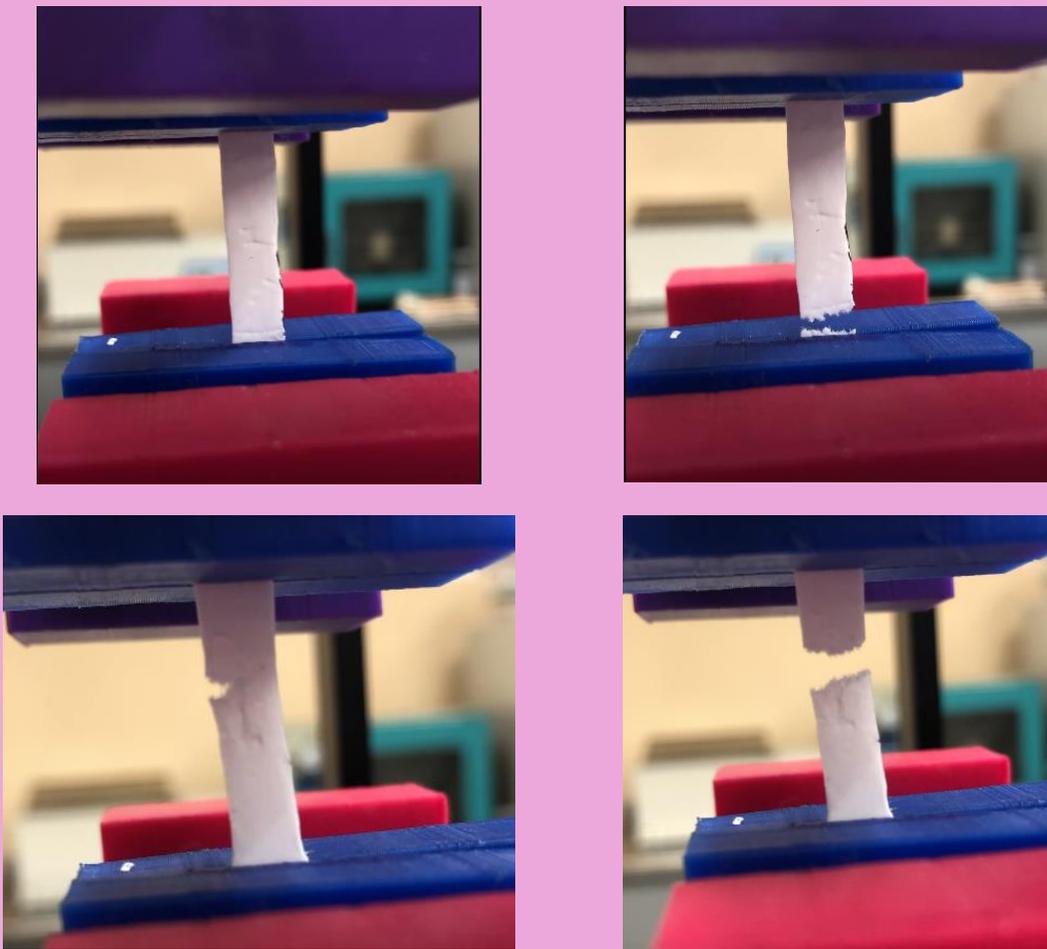


Figura 1. Prueba de macro-tensión.

IV. SENSIÓN EN LINEA

Pre-laboratorio

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 1.1 Identificar las propiedades generales de los materiales**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de pre-laboratorio que viene en este documento, las preguntas del pre-laboratorio deben de ser investigadas en la literatura.

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Pre-laboratorio práctica 1**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

Reporte

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 1.1 Identificar las propiedades generales de los materiales**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de reporte de laboratorio que viene en este documento, las preguntas del reporte deben de ser contestadas a partir de la revisión del video “**Propiedades Mecánicas**”

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Reporte Práctica 1**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

4.1. Pre-laboratorio

I. Relaciona ambas columnas

1.1. Por favor relaciona los ejemplos de biomateriales con su clasificación.

	Tipo de biomaterial		Ejemplo de biomateriales
A	Cerámicos	()	<ul style="list-style-type: none"> • Polimetilmetacrilato • Polidimetisiloxano
B	Metálicos	()	<ul style="list-style-type: none"> • Alúmina • Zirconia
C	Compuestos	()	<ul style="list-style-type: none"> • Fiberglass • Kevlar
D	Polímeros	()	<ul style="list-style-type: none"> • Aleaciones base cobalto • Aleaciones base titanio

1.2. ¿Cuánto debe de durar un implante?

	Implante		Duración
A	Catéter	()	6 meses o mas
B	Placa de fijación de huesos	()	3 días
C	Válvula de corazón	()	10 años o mas

1.3. Relaciona la columna de polímeros con sus características, propiedades y aplicaciones

	Polímero		Ejemplo de biomateriales
A	Polietileno	()	Tiene una alta rigidez, buena resistencia química y alta tensión de ruptura
B	Polimetilmetacrilato	()	Es un polímero muy estable tanto térmico como químicamente y, por ello, es muy dificultoso su procesamiento. Es muy hidrófobo (rechaza al agua y, por ende, es difícil mojarlo) y tiene excelente lubricidad.

C	Cloruro de polivinilo	()	Tiene problemas para aplicaciones a largo plazo debido a que los plastificantes pueden ser disueltos por los fluidos corporales
D	Polipropileno	()	Empleado en tubos para drenajes y catéteres, hilos de sutura, cirugía plástica, etc. En su forma de ultra alto peso molecular (UHMW) se emplea como componente acetabular en los reemplazos de cadera, de rodilla y articulaciones de la mano.
E	Politetrafluoretileno	()	Tiene una muy buena transparencia a la luz, tenacidad y estabilidad, lo que hace de él un excelente material para lentes intraoculares y lentes de contacto duras
F	Polidimetilsiloxano	()	Es empleado en catéteres y mangueras de drenaje como aislante en marcapasos y como componentes de algunos sistemas de injertos vasculares. Se emplea también para las membranas oxigenadoras debido a su alta permeabilidad de oxígeno.

II. Escoge la respuesta correcta

2.1. ¿Qué tienen en común los rotores de una turbina de generación de electricidad que trabaja a altas temperaturas y en condiciones fuertemente agresivas, con una prótesis dental que permite reemplazar piezas dentarias perdidas?

A)	Ambas formadas de polímeros compuestos	B)	Ambas formadas de aleación de Titanio y Hierro	C)	Ambas formadas de aleación de Níquel y Cromo	D)	Ambas formadas de aleación de Magnesio y Oro
----	--	----	--	----	--	----	--

2.2. ¿Qué tienen en común los parabrisas de los aviones caza ingleses Spitfire de la Segunda Guerra Mundial con las lentes intraoculares que se aplican luego de una operación de cataratas y que permiten recuperar la visión a miles de personas que sufren esta enfermedad?

A)	Ambas contienen de polimetilmetacrilato	B)	Ambas contienen aleación de Titanio y Hierro	C)	Ambas formadas de aleación de Níquel y Cromo	D)	Ambas formadas de aleación de Magnesio y Oro
----	---	----	--	----	--	----	--

2.3. ¿Qué tienen en común los motores de propulsión de los transbordadores espaciales con las prótesis de cadera que, sin ellas, se condenaría a la inmovilidad a pacientes cuyas articulaciones están gastadas?

A)	Ambas contienen de polimetilmetacrilato	B)	Ambas contienen aleación de Titanio y Hierro	C)	Ambas formadas de una aleación de titanio, aluminio y vanadio	D)	Ambas formadas de aleación de Magnesio y Oro
----	---	----	--	----	---	----	--

2.4. ¿Cuál de los siguientes efectos secundarios o complicaciones no es mencionada en esta literatura que produce una válvula cardiaca artificial?

A)	Fracaso mecánico	B)	Formación de coágulos de sangre	C)	Infección postoperatoria	D)	Reacción inmunológica aguda
----	------------------	----	---------------------------------	----	--------------------------	----	-----------------------------

2.5. ¿Qué materiales fueron los primeros materiales que revolucionaron el modo de vida de la humanidad, acompañándola, virtualmente, desde el inicio de su existencia?

A)	Metales	B)	Polímeros	C)	Cerámicos	D)	Compuestos
----	---------	----	-----------	----	-----------	----	------------

2.6. Básicamente, este tipo de biomateriales, se emplean como componentes estructurales, a fin de reemplazar determinadas partes del cuerpo humano

A)	Metales	B)	Polímeros	C)	Cerámicos	D)	Compuestos
----	---------	----	-----------	----	-----------	----	------------

2.7. Son los materiales más duros que existen, pero por eso mismo no soportan los golpes y se quiebran con mucha facilidad

A)	Metales	B)	Polímeros	C)	Cerámicos	D)	Compuestos
----	---------	----	-----------	----	-----------	----	------------

2.8. Son materiales compuestos por elementos metálicos y no metálicos que se mantienen unidos por enlaces iónicos y/o covalentes.

A)	Metales	B)	Polímeros	C)	Cerámicos	D)	Compuestos
----	---------	----	-----------	----	-----------	----	------------

III. Selecciona “Verdadero” o “Falso” según corresponda

3.1. Los materiales que han sido utilizados ampliamente en aplicaciones industriales pueden ser utilizados como biomateriales si son utilizados para mejorar la calidad de vida.

()	Verdadero	()	Falso
-----	-----------	-----	-------

3.2. La BIOCOPATILIDAD es la habilidad de un material para ser aceptado por el cuerpo del paciente y que, aunque irrite a los tejidos circundantes y provoque una respuesta inflamatoria, produzca reacciones alérgicas y que tenga efectos carcinogénicos, o sea, que produzca cáncer.

<input type="checkbox"/> ()	Verdadero	<input type="checkbox"/> ()	Falso
------------------------------	-----------	------------------------------	-------

IV. Contesta la pregunta directa de manera adecuada y lo más parecido a la lectura.

4.1. Describe ampliamente el caso de “El Hombre de Kennewick”

100 palabras mínimo. Este texto no debe ser literalmente copiado, se aplicará la herramienta Safeassignment para su revisión.

4.2.Reporte

4.2.1. ¿Cuál es el objetivo general de la práctica vista en el video “Ensayo de Tracción”?

--

4.2.2. ¿En qué dispositivo se coloca la muestra en el video “Ensayo de Tracción”?

A) Sensor de fuerza	B) Brazos	C) Caudal	D) Mordazas
---------------------	-----------	-----------	-------------

4.2.3. ¿Qué tipo de materiales son evaluados en el video “Ensayo de Tracción”?

A) Metales	B) Polímeros	C) Cerámicos	D) Compuestos
------------	--------------	--------------	---------------

4.2.4. ¿De qué tipo deben ser las probetas para el ensayo de tracción y por qué?

--

4.2.5. ¿Cuáles son los dos parámetros que se registran en un ensayo de tracción, mencionado en el video?

--

4.2.6. ¿Qué se debe de medir, después de que la probeta se haya roto?

--

4.2.7. Material que presentó muy poca estricción con una superficie de ruptura casi plana

() Acero F1140	() Aluminio
-----------------	--------------

4.2.8. Material que presentó poca estricción con ruptura tipo cono mucho menos pronunciada

()	Acero F1140	()	Aluminio
-----	-------------	-----	----------

4.2.9. Escribir las conclusiones de la práctica vista en el video.

V. GESTIÓN DE RESIDUOS

No se deseche en el fregadero. Pregunte al instructor como disponer de este residuo.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- ASTM D882-10, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2010, www.astm.org. DOI: 10.1520/D0882-10.
- De la Flor, S., Fabregat, A., Ferrando, F., & Saltó, J. (2016). Ensayo de Tracción. Laboratorio de Resistencia de Materiales. Universitat Rovira i Virgili. Tomado el 24 de Julio del 2020. <https://youtu.be/2edtdDZIRWQ>
- Duffo, G. (2011). Biomateriales. Materiales y Materias Primas. Cap. 8. Instituto Nacional de Educación Tecnológica. República Argentina. pp.1-43.
- Xian, W. (2009). A Laboratory Course in BIOMATERIALS. CRC Press. Pág. 165-171. ISBN: 978-1-4200-7582-3.

2020

Práctica 2. Comportamiento de Hidrogeles



Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez

Facultad de Ciencias de la Ingeniería y
Tecnología, Universidad Autónoma de Baja

California, Unidad Valle de las Palmas

7-7-2020

No. DE PRÁCTICA	LABORATORIO DE	NOMBRE	DURACIÓN (HORAS)
2	Biomateriales	Comportamiento de Hidrogeles	2

Contenido

I. COMPETENCIA	2
II. FUNDAMENTO.....	2
III. SENSIÓN PRESENCIAL.....	4
3.1. Material y Equipo.....	4
3.2. Procedimiento.....	5
IV. SENSIÓN EN LINEA.....	7
4.1. Pre-laboratorio.....	8
4.2. Reporte	8
V. GESTIÓN DE RESIDUOS	13
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	13

I. COMPETENCIA

Comprender y visualizar el comportamiento de los hidrogeles, deduciendo y razonando el tipo de reacción participante al interactuar en soluciones a pH alto y bajo.

II. FUNDAMENTO

Los Hidrogeles pueden definirse como redes poliméricas capaces de absorber una cantidad significativa de agua (>20% de su peso en seco) sin disolverse o perder su integridad estructural.

Existen diversos tipos de hidrogeles según sus características, consecuencia de diversos factores:

- a) Su carácter hidrofílico, debido a presencia de grupos como alcoholes, ácidos carboxílicos, amidas y ácidos sulfúricos.
- b) Su insolubilidad en agua, que se debe a la existencia en su estructura de una malla o red tridimensional entrecruzada. Este entrecruzamiento puede ser debido a fuerzas cohesivas débiles (fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrogeno) y enlaces covalentes o iónicos.
- c) Su contacto suave y su consistencia elástica, que se encuentra determinado por el monómero hidrofílico de partida y la baja densidad de entrecruzamiento del polímero.
- d) El estado del hidrogel hinchado en equilibrio, que resulta del balance entre las fuerzas osmóticas originadas por el agua al entrar en el polímero y las fuerzas cohesivas ejercidas por las cadenas poliméricas que se resisten a esa expansión.

Algunos tipos de hidrogeles son: el poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli (metacrilato de 2-hidroxietilo-co-vinil pirrolidona) [p(HEMA-co-VP)], gliceril monometacrilato (2,3-dihidroxipropil metacrilato) (PGMA), polivinilalcohol (PVA), metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA), ácido metacrilico (MAA), N-vinil-pirrolidona (VP), polialcohol viniflico (PVA), poli[N-(2-hidroxipropil) metacrilamida] (PHPMA), entre muchos otros.

Los hidrogeles han encontrado una gran variedad de aplicaciones en la biomedicina y la biotecnología, tales como materiales para lentes de contacto, cartílago artificial y órganos, tejido

andamio reconstrucción, y la separación de proteínas, debido a que son biocompatibles y favorable al medio sensible. Hidrogeles basados en poli (metacrilato de 2-hidroxietileno), son usados para la fabricación de lentes de contacto blandas. Otras aplicaciones son en prótesis en tejidos blando, prótesis en conductos humanos (uréter, conductos biliares y esófago), revestimiento de suturas (mayor crecimiento de las células y eliminación de algunos efectos nocivos), cirugía (desprendimiento de retina, cirugía de córnea y corrección de glaucomas), hidrogeles de hialuronato de sodio en cirugía pélvica y abdominal, hidrogeles de gelatina y poli (ácido glutámico) como sellantes de los agujeros de aire en operaciones de tórax y de pulmón. Hemodiálisis (membranas de polímeros y copolímeros de PHEMA, N-vinilpirrolidona, ácido acrílico y acrilonitrilo), Hemoperfusión (absorbentes biocompatibles que frente a toxinas de la sangre), entre muchas otras.

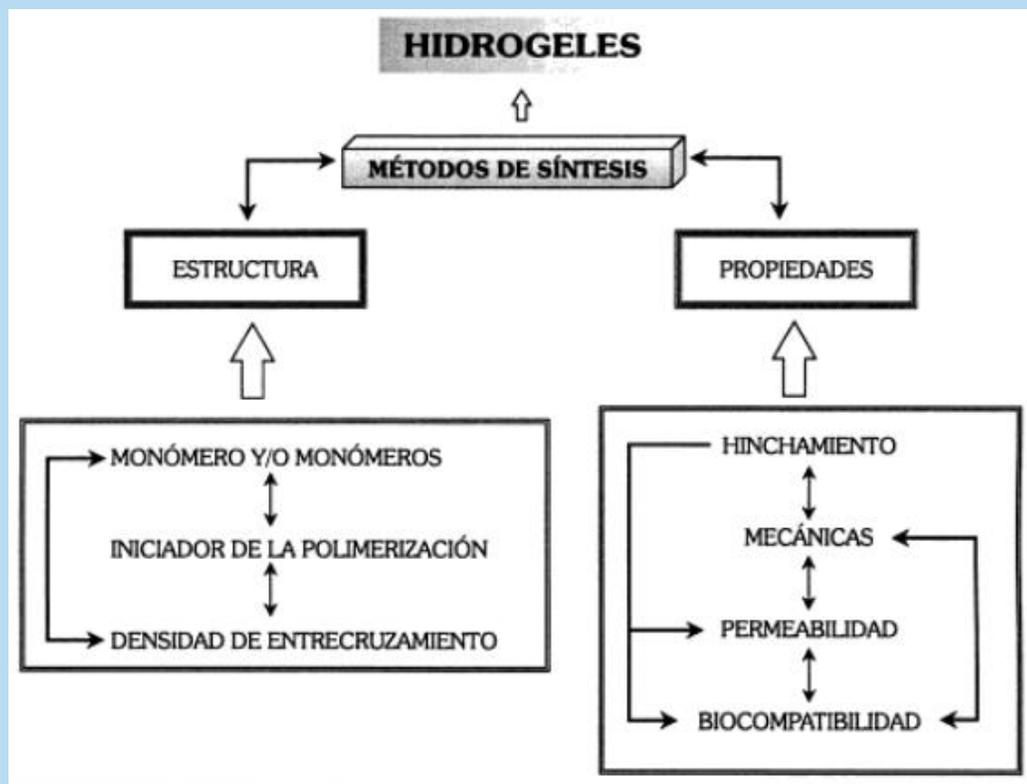


Figura 1: Esquema de las interrelaciones de los parámetros que influyen en un hidrogel.

III. SENSIÓN PRESENCIAL

3.1. Material y Equipo

Reactivos

- NaCl (sal de mesa)
- NaHCO₃ (bicarbonato de sodio)
- Ácido acético (Vinagre con acidez 4.5 a 5%)
- Lentes de contacto de hidrogel
- Solución especial para lentes de contacto
- Linterna de mano LED (1.5 W luz blanca)
- 1 Imagen regla impresa en el centro de una hoja blanca

Equipo

- 1 Agitador de vidrio
- 3 Vasos de precipitado 100 ml o 200ml
- 1 Pipeta
- 2 Probetas 25ml o 50ml
- 2 Matraz 100 ml
- 5 Cajas Petri

3.2. Procedimiento

4. Preparar una solución al 0.5% (w / v) de bicarbonato de sodio, disolviendo 5.0 g de bicarbonato de sodio sólido en 1 L de agua desionizada.
5. Hacer una solución al 10% de vinagre (0.45-0.50% de ácido acético), diluyendo 100 ml de vinagre con agua desionizada hasta 1 L.
6. Finalmente crear unas dos soluciones salinas, al 10% y 5% de NaCl y agua desionizada respectivamente.
7. Colocar alrededor de 10 ml de la solución A (0.5% de bicarbonato) en la 1ª caja Petri, 10 ml de la solución B (10% de vinagre al 0.45-0.5% de acidez) en la 2ª caja Petri y 10 ml de la solución especial para lentes de contacto en la 3ª caja Petri. (NOTA: Colocar un poco de cada solución en una sola caja Petri con separaciones)
8. Colocar alrededor de 10 ml de la solución al 10 % de NaCl en la 4ª caja Petri y otros 10 ml de la solución al 5 % de NaCl en la 5ª caja Petri (NOTA: Colocar un poco de cada solución en una sola caja Petri con separaciones)

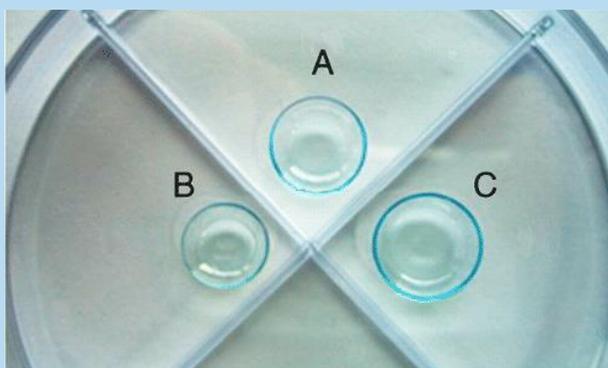


Figura 2: Las lentes de contacto de hidrogel presentes en las diferentes soluciones (A) 0,5% (w / v) solución de bicarbonato de sodio, (B) 10% de vinagre y (C) solución tampón isotónica de lentes de contacto.

9. Sumergir el lente de contactó según la secuencia de las soluciones que indica la Tabla 1 y la Tabla 2.
10. Después de 10 minutos colocar por debajo de las cajas Petri la imagen regla impresa.



Figura 3: Ejemplo de la imagen regla impresa en el centro de una hoja blanca.

11. Colocar la caja Petri bajo la luz blanca (en dirección perpendicular) de la lámpara LED, y colocar el lente de contacto con la cara cóncava hacia abajo.
12. Medir el diámetro de cada lente de contacto, con la ayuda de la imagen regla y anotar los resultados en las Tabla 1 y 2.

IV. SENSIÓN EN LINEA

Pre-laboratorio

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 1.2 Comprender el papel del agua en las propiedades de los biomateriales**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de pre-laboratorio que viene en este documento, las preguntas del pre-laboratorio deben de ser investigadas en la literatura.

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Pre-laboratorio práctica 2**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

Reporte

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 1.2 Comprender el papel del agua en las propiedades de los biomateriales**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de reporte de laboratorio que viene en este documento, las preguntas del reporte deben de ser contestadas a partir de la revisión del video “**Desarrollo de hidrogeles para aplicaciones agrícolas**”

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Reporte Práctica 2**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

4.1. Pre-laboratorio

I. Escoge la respuesta correcta

1.- Los Hidrogeles pueden definirse como redes poliméricas capaces de absorber una cantidad significativa de agua (>80% de su peso en seco) sin disolverse o perder su integridad estructural.

() Falso

() Verdadero

II. Relaciona ambas columnas

2.- Existen diversos tipos de hidrogeles según sus características, consecuencia de diversos factores. Relaciona la consecuencia presente a cada característica de los hidrogeles.

	Consecuencia		Características
A	Insolubilidad en agua	()	Determinado por el monómero hidrofílico de partida y la baja densidad de entrecruzamiento del polímero.
B	Carácter hidrofílico	()	Resulta del balance entre las fuerzas osmóticas originadas por el agua al entrar en el polímero y las fuerzas cohesivas ejercidas por las cadenas poliméricas que se resisten a esa expansión.
C	Hinchado en equilibrio	()	Se debe a la existencia en su estructura de una malla o red tridimensional entrecruzada. Este entrecruzamiento puede ser debido a fuerzas cohesivas débiles (fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrogeno) y enlaces covalentes o iónicos.
D	Contacto suave y su consistencia elástica	()	Debido a presencia de grupos como alcoholes, ácidos carboxílicos, amidas y ácidos sulfúricos.

3.- Relaciona el hidrogel con su abreviación

	Abreviación		Polímero Hidrogel
A	PVP	()	Poli (vinil alcohol)
B	PGMA	()	Gliceril monometacrilato (2,3-dihidroxiopropil metacrilato)
C	PVA	()	Poli (metacrilato de 2-hidroxietilo-co-vinil pirrolidona)
D	[p(HEMA-co-VP)]	()	Poli(vinilpirrolidona)
E	MAA	()	Ácido metacrilico
F	HEMA	()	Metacrilato de 2-hidroxietilo
G	PHPMA	()	Poli [N-(2-hidroxipropil) metacrilamida]
H	VP	()	N-vinil-pirrolidona

III. Escoge la respuesta correcta

1.- ¿Qué hidrogel se utiliza para la fabricación de lentes de contacto blandos?

- | | | | |
|----------------------|---|------------------------|--|
| a) Ácido metacrilico | b) Poli (metacrilato de 2-hidroxietileno) | c) N-vinil-pirrolidona | d) Poli[N-(2-hidroxipropil) metacrilamida] |
|----------------------|---|------------------------|--|

2.- ¿Qué tipo de hidrogeles se utilizan en cirugía pélvica y abdominal?

- | | | | |
|----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| a) Ácido metacrilico | b) Poli (vinil alcohol) | c) N-vinil-pirrolidona | d) Hialuronato de sodio |
|----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|

3.- ¿Qué tipo de hidrogeles se utilizan como sellantes de los agujeros de aire en operaciones de tórax y de pulmón?

- | | | | |
|----------------------|-------------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| a) Ácido metacrilico | b) Poli (vinil alcohol) | c) Gelatina y poli (ácido glutámico) | d) Hialuronato de sodio |
|----------------------|-------------------------|--------------------------------------|-------------------------|

1.1.Reporte

I. Contesta lo que se te pide:

1. Incorporar la siguiente información en la tabla

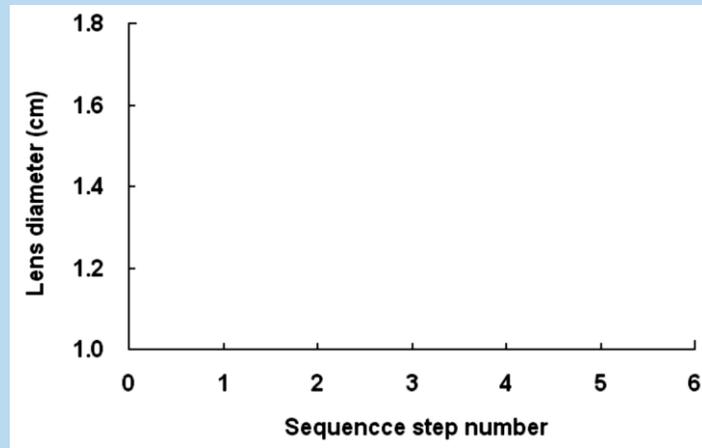
Lente de contacto (Marca y graduación)	Diámetro

2.- Incorporar la siguiente información en la tabla

Tabla 1. Resultados del primer ciclo de soluciones acido-base

Secuencia	Solución	Diámetro (mm)
1	0.5% NaHCO ₃ (p/V)	
2	10 % Vinagre (p/V)	
3	0.5% NaHCO ₃ (p/V)	
4	10 % Vinagre (p/V)	
5	0.5% NaHCO ₃ (p/V)	

3.- Realice una gráfica (Excel, Matlab, etc.) con los datos de la Tabla 1, registre el diámetro del lente contra la secuencia (ver ejemplo:)



4.- Incorporar la siguiente información en la tabla

Tabla 2. Resultados del segundo ciclo de soluciones, variando concentraciones.

Secuencia	Solución	Diámetro (mm)
1	10 % NaCl (p/V)	
2	0.5% NaCl (p/V)	
3	10 % NaCl(p/V)	
4	0.5% NaCl (p/V)	
5	10 % NaCl(p/V)	

5.- Realice una gráfica (Excel, Matlab, etc.) con los datos de la Tabla 2, registre el diámetro del lente contra la secuencia (ver ejemplo anterior).

INVESTIGAR EN LA LITERATURA E INTERNET Y CONTESTAR LO QUE SE TE PIDE

- 1) Investigue cual es el hidrogel del que está formado su lente de contacto comercial.
- 2) Describa el comportamiento de los lentes de contactos en las soluciones del 10% vinagre y 0.5% NaHCO₃?
- 3) Los lentes de contacto iónicos están fabricados con polímeros con grupos COOH, explique como la solución de vinagre y el NaHCO₃ interactúa con el hidrogel.

- 4) Que le sucedió a los lentes cuando la solución externa se alterna entre las soluciones acidas y básicas. Explique su respuesta.
- 5) Explique el comportamiento del lente de contacto en las diferentes soluciones salinas, a que se debe el comportamiento observado.

I. Conclusiones

V. GESTIÓN DE RESIDUOS

No se deseche en el fregadero. Pregunte al instructor como disponer de este residuo.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Valencia, S. (2016). Desarrollo de hidrogeles para aplicaciones agrícolas. Servicio Nacional de Aprendizaje. Tomado el 27 de Julio del 2020. https://youtu.be/m0A_xxN8xxQ.
- Xian, W. (2009). A Laboratory Course in BIOMATERIALS. CRC Press. Pág. 165-171. ISBN: 978-1-4200-7582-3.
- Yueh-Huey Chen and Yu-Chi He. J. Chem. Educ. 2014, 91, 1671–1674. Exploring pH-Sensitive Hydrogels Using an Ionic Soft Contact Lens: An Activity using Common Household Materials Using Common Household Materials.
- Arias J., Aller M., Fernández-Miranda E., Arias J., Lorente L., Propedéutica Quirúrgica: Preoperatorio, Operatorio, Postoperatorio, Editorial Tébar, 2004, 554 a 566 pp.

2020

Práctica 3. Síntesis, propiedades y caracterización de Hidroxiapatita



Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez
Facultad de Ciencias de la Ingeniería y
Tecnología, Universidad Autónoma de Baja
California, Unidad Valle de las Palmas
25-4-2020

No. DE PRÁCTICA	LABORATORIO DE	NOMBRE	DURACIÓN (HORAS)
3	Biomateriales	Síntesis, propiedades y caracterización de Hidroxiapatita	6

Contenido

I. COMPETENCIA	2
II. FUNDAMENTO.....	2
III. SENSIÓN PRESENCIAL.....	3
3.1. Material y Equipo.....	3
3.2. Procedimiento.....	4
IV. SENSIÓN EN LINEA.....	7
4.1. Pre-laboratorio.....	8
4.2. Reporte	9
V. GESTIÓN DE RESIDUOS	11
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	11

I. COMPETENCIA

Comprender y visualizar la síntesis y caracterización de hidroxiapatita en base a sus propiedades.

II. FUNDAMENTO

Recientemente los materiales biodegradables se han propuesto recientemente en aplicaciones ortopédicas temporales. Varios trabajos se han enfocado en la elaboración de materiales porosos con la finalidad de crear las condiciones necesarias para la regeneración de tejido. Algunos de estos materiales han sido evaluados específicamente para reconstruir, regenerar, y reparar órganos dañados como el cartílago de la nariz y de los oídos, así como tejidos biológicos dañados (nervios, hueso, meniscos). Esto se puede lograr empleando materiales con estructura porosa e interconectada elaborada con materiales biodegradables y biocompatibles (Xian, 2009; Thirumalai, 2018).

La hidroxiapatita sintética se ha utilizado como un sustituto del hueso y como relleno en polímeros orgánicos. La elaboración de materiales compuestos con hidroxiapatita pueden presentar osteoconductividad debido a la presencia de HA, la cual, se ha demostrado que presenta buenas propiedades de enlace al hueso y ayuda a su regeneración, también la microestructura que se puede obtener en los poliuretanos hace que estos materiales sean una buena alternativa para la reparación del tejido óseo blando (Xian, 2009; Thirumalai, 2018).

III. SENSIÓN PRESENCIAL

3.1. Material y Equipo

Reactivos

- Ácido Ortofosfórico, H_3PO_4 (PM 98.0), 100 ml a 0.6 M.
- Hidróxido de calcio, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (PM 74.09), solido.
- Fluoruro de amonio, NH_4F (PM 37.04), solido.
- Hidróxido de sodio, NaOH , 100 ml a 2.0 M.
- Papel de prueba pH.
- 70% de Etanol
- 100% de Etanol

Equipo

- Vaso de precipitado de 250 ml
- Frasco de 150 ml
- Cilindro de 100 ml
- Espátula
- Dos tubos de centrífuga cónicos de 50 ml
- Centrífuga con rotor basculante
- Una varilla de plástico
- Embudo Buchner de cerámica grande 100 mm (¡Manejar con cuidado!)
- Matraz de filtración 1000 ml
- Bomba de aspirador de agua
- Papeles de filtro, de diámetro 90 mm
- Adaptador de goma para el matraz de filtración
- Vidrio de reloj

3.2. Procedimiento

Parte 1 (día 1)

1. Preparación de ácido fosfórico

- a) **Nota:** La solución de ácido fosfórico se prepara normalmente mediante la dilución de ácido concentrado 80-85%. La concentración exacta del ácido fosfórico debe ser determinado antes por su instructor.
- b) Coloque una barra de agitación en un vaso de 250 ml y añadir 80 ml de la solución de ácido fosfórico 0,60 M usando un cilindro graduado.

2. Preparación de Ca (OH)₂

- a) **Atención:** El hidróxido de calcio es un polvo fino irritante. Manejar con cuidado para minimizar el polvo y evitar la inhalación.
- b) Utilizar la concentración real de la solución de ácido fosfórico 0,6 M para calcular el pesaje de hidróxido de calcio de acuerdo con la relación estequiométrica Ca: P = 11.67:

$$W_{Ca(OH)_2} = ([phosphoric\ acid] \times 0.080 \times 1.67) \times 74.09 (g)$$

Peso de la cantidad calculada o polvo de hidróxido de calcio.

3. La reacción

- a) Colocar el vaso de precipitado con ácido fosfórico en una plancha de agitación y comenzar la agitación a velocidad media. Use una espátula para agregar una pequeña cantidad de Ca (OH)₂ a la solución de ácido fosfórico; esperar hasta que el sólido se disuelva o disperse en su mayoría, y luego repetir hasta que el hidróxido de calcio este completamente disuelto. (Para sintetizar FA, consulte el Paso 5.) Observar lo que ocurre en el vaso con cuidado.
- b) Coloque una tira de papel de prueba de pH en un pequeño tejido Kimwipe. Sumerja una pipeta de transferencia de plástico dentro de la solución (sin necesidad de apretar el bulbo), y luego aplíquelo su punta en el papel de prueba de pH. Compara el color de la carta de color estándar (en el recipiente de papel de pH) con el pH). Si el pH es

<10, a continuación, se valora en 2,0 M el NaOH y gota a gota se lleva el pH hasta 10.

- c) Supervisar y ajustar el pH de acuerdo con el Paso 4(b) cada 5 minutos durante 20 minutos.

4. Sustitución opcional de Fluoruro

- a) **Precaución:** El amoníaco se dará a conocer cuando se añade NH_4F a la mezcla de reacción. Añadir 0,60 g de NH_4F a la reacción después de la Etapa 4a. Comprobar el pH de acuerdo con el Paso 4b y c. (Nota: La mitad de los grupos en la clase puede ser asignado para sintetizar HA y la otra mitad FA).

5. Incubación

- a) Etiquete correctamente el vaso y cubra con envoltura de SARAN. Deje la mezcla de reacción agitar hasta la próxima sesión de laboratorio. Los instructores de cada grupo comprobar el pH de la mezcla de la reacción cada día para mantener el $\text{pH} > 10$ durante la incubación. Este periodo de incubación permite HA (o FA) a partir de y maduro. (Los productos de la reacción es "maduro" en dos aspectos: químicamente significa que la relación Ca: P tiene que alcanzar un valor estable, y físicamente los cristallitos de HA o FA han alcanzado tamaños estables.

Parte 2 (día 2). Cosecha y Secado HA / FA

1. La centrifugación

- a) **Nota:** El paso de centrifugación ayuda a reducir la cantidad de tiempo necesario para la etapa de filtración mediante la eliminación de las pequeñas partículas que pueden obstruir el papel de filtro.
- b) Revuelva la mezcla de reacción apatita de su grupo a velocidad media durante 1 minuto y luego se vierte en los dos tubos de centrífuga cónicos de 50 ml. Balance de los tubos.
- c) Centrifugar la mezcla de reacción a 3.000 rpm durante 5 minutos. Eliminar el sobrenadante. (Tenga en cuenta que el sobrenadante puede parecer lechosa, ya que contiene partículas muy pequeñas HA / FA.)

- d) Vierta el agua de-ionizada en los dos tubos de medio lleno. Desatará el sedimento con una varilla de plástico, y agregue agua hasta casi lleno. Balance de los tubos, tape los tubos con fuerza, y luego agitar vigorosamente (a mano o en un vórtice) para volver a suspender los pellets.
- e) Repita los dos últimos pasos dos veces más.

2. Filtración

- a) Configurar el embudo Buchner con el frasco de filtración usando el adaptador de goma (ver Figura 7.4) y colocar un pedazo de papel de filtro en el embudo. mojar el papel con agua des ionizada. Suba la bomba de aspiración y presione hacia abajo el embudo hasta que se mantiene en su lugar por medio de succión de vacío.
- b) En este punto, usted debe tener la suspensión HA / FA en dos tubos de 50 ml. Agitar la suspensión apatita antes de verterla sobre el papel de filtro.
- c) Esperar hasta que el líquido desaparezca de la superficie del sólido, y luego enjuagar el sólido mediante la adición de agua suficiente para cubrir la superficie. Repetir el aumento, dos veces más con agua, una vez con etanol al 70% y luego una vez con etanol 100%.
- d) Después del último enjuague, deje que la aspiración continuar durante al menos 30 minutos. Cuando haya terminado, primero desconecte el tubo del frasco de vacío, y luego se apaga el agua (o el agua del grifo puede precipitarse en el frasco, ya que aún mantiene el vacío).

3. Secado

- a) Desmonte el embudo Buchner. Observe el HA recogido (o FA). Excavar el papel de filtro suelto con una espátula y transferir el filtrado en un vidrio de reloj; no es necesario quitar el papel de filtro en este punto. Seque la HA / FA en un horno seco con temperatura programada entre 100-200°C durante la noche.

4. Finalizar

- a) Vaciar el frasco de vacío. Lavar cualquier sólido en el adaptador de goma. Lave y enjuague el embudo Buchner y las espátulas, y aire seco sobre papel de cocina. (No cuelgue el embudo Buchner. Es pesado y se romperá si se cae.)

IV. SENSIÓN EN LINEA

Pre-laboratorio

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 2.1. Comprender los procesos de reparación de heridas y fracturas**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de pre-laboratorio que viene en este documento, las preguntas del pre-laboratorio deben de ser investigadas en la literatura.

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Pre-laboratorio práctica 3**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

Reporte

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 2.1. Comprender los procesos de reparación de heridas y fracturas**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de reporte de laboratorio que viene en este documento, las preguntas del reporte deben de ser contestadas a partir de la revisión del video “**Obtención de Fosfato de Calcio**”

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Reporte Práctica 3**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

4.1. Pre-laboratorio

4.1.1. Relaciona ambas columnas. Principales materiales para reconstrucción ósea y algunas de sus desventajas. (Puska, Aho, & Vallittu, 2011)

Indicaciones	Respuestas
Aloinjerto	<ul style="list-style-type: none">• Interface mecánico hueso-metal• Riesgo de desajuste• Osteopenia• Módulo de elasticidad alto no óptimo para huesos• Liberación de nanopartículas
Polímeros	<ul style="list-style-type: none">• Disponibilidad limitada• Daño al tejido óseo sano• La necesidad de una segunda cirugía
Otros como xenoinjertos	<ul style="list-style-type: none">• Riesgo de infección• Baja resistencia
Biocerámicos y vidrios bioactivos	<ul style="list-style-type: none">• Monómeros residuales tóxicos• Riesgo de efectos exotérmicos, hipotonía o complicaciones cardiacas y pulmonares• Partículas procedentes de desgaste
Materiales metálicos	<ul style="list-style-type: none">• Riesgo de infección• Difícil gestión del banco de huesos• Costoso
Autoinjerto	<ul style="list-style-type: none">• Frágil• Osteopenia• Módulo de elasticidad alto

4.1.2. ¿Cuál es la proporción del componente orgánico en peso seco del hueso?

- A) 13 % B) 35 % C) 10 % D) 72 %

4.1.3. ¿Cuál es la fórmula química de la Hidroxiapatita?

- A) $\text{Na}_{10}(\text{ClO}_4)_6(\text{OH})_2$ B) $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_2$ C) $\text{Ca}_{10}(\text{PO})_6(\text{OH})_2$ D) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

4.1.4. Es una pérdida de continuidad en la sustancia de un hueso que es provocado por un impacto o fuerza deformante

- A) Fractura B) Herida C) Desgaste D) Hueso

4.2. Reporte

4.2.1. Para la síntesis de fosfato de calcio, ¿Cuáles son los dos reactivos principales que se utilizaron en la práctica del video?

- A) Hidróxido de calcio y ácido fosfórico B) Fosfato de calcio y agua C) Calcio y fosfato D) Hidróxido de sodio y ácido clorhídrico

4.2.2. Según la estequiometría teórica de la práctica del video, ¿cuántos gramos se esperan obtener de fosfato de calcio?

- A) 1.47 gr B) 2 gr C) 0.972 gr D) 2.5 gr

4.2.3. En la práctica del video, después de agregar el hidróxido de calcio a la solución, ¿con qué objetivo se calienta?

- A) Evaporar el ácido fosfórico B) Descomponer el hidróxido de sodio C) Evaporar el agua D) Disolver el hidróxido de sodio

4.2.4. Según el resultado experimental de la práctica del video, ¿cuántos gramos se esperan obtener de fosfato de calcio?

- A) 1.47 gr B) 2 gr C) 6.8 gr D) 2.5 gr

4.2.5. Enumere los tres tipos de bio cerámicas, de acuerdo a su bioactividad, de un ejemplo para cada una de ellas.

4.2.6. Describa que es la hidroxiapatita, escriba su fórmula química

4.2.7. Mencione cual es la diferencia entre HA y FA en cuanto a estabilidad y reactividad.

4.2.8. Realice los siguientes cálculos:

4.2.8.1. Prepare 100 ml de una solución 0.6M de ácido fosfórico. Molaridad de H_3PO_4 concentrado 14.8 M

4.2.8.2. Calcule la cantidad de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, necesaria, de acuerdo a la relación Ca: P de 1.67 con la siguiente formula

Peso $\text{Ca}(\text{OH})_2$: $([\text{Concentración de ácido fosfórico}] * 0.080 * 1.67) \times 74.09$ (g) (P.M de $\text{Ca}(\text{OH})_2$)

4.2.8.3. Prepare 100 ml de una solución 2M de NaOH, Peso Molecular: 40 g

4.2.9. Escribir una conclusión personal de los resultados de la práctica

V. GESTIÓN DE RESIDUOS

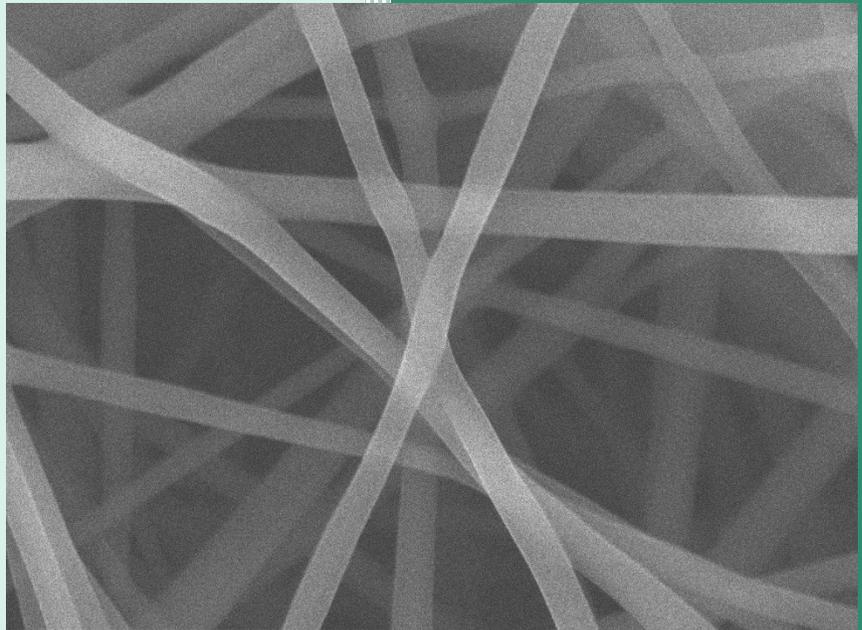
No se deseche en el fregadero. Pregunte al instructor como disponer de este residuo.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Carrera-Avitia, L., y Guereca-Enriquez J. Universidad Juárez del Estado de Durango. ElCiberman Studios. You tube. Tomado el día 25 de abril del 2020. <https://youtu.be/5d6ihDi8hNE>.
- Puska, M., Aho, A. J., & Vallittu, P. (2011). Polymer Composites for Bone Reconstruction. In P. Těšinova (Ed.), *Advances in Composite Materials*. Rijeka: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/20657>.
- Thirumalai, J. (2018). Hydroxyapatite: Advances in Composite Nanomaterials, Biomedical Applications and Its Technological Facets. IntechOpen. Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=6GqQDwAAQBAJ>.
- Xian, W. (2009). *A Laboratory Course in BIOMATERIALS*. CRC Press. Pág. 165-171. ISBN: 978-1-4200-7582-3.

2020

Práctica 4. Técnica de Electrohilado



Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez
Facultad de Ciencias de la Ingeniería y
Tecnología, Universidad Autónoma de Baja
California, Unidad Valle de las Palmas
25-4-2020

No. DE PRÁCTICA	LABORATORIO DE	NOMBRE	DURACIÓN (HORAS)
4	Biomateriales	Técnica de electrohilado	4

Contenido

I. COMPETENCIA	2
II. FUNDAMENTO.....	3
III. SENSIÓN PRESENCIAL	15
3.1. Material y Equipo.....	15
3.2. Procedimiento.....	16
IV. SENSIÓN EN LINEA.....	21
4.1. Pre-laboratorio	22
4.2. Reporte.....	22
V. GESTIÓN DE RESIDUOS	27
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	27

I. COMPETENCIA

Comprender y visualizar la técnica de electrohilado.

II. FUNDAMENTO

Técnicas de Electrohilado

Resumen

La técnica de electrohilado es un método muy versátil utilizada para muchos propósitos; ingeniería de tejidos, textiles, filtros para el tratamiento de agua y aire, celdas solares y sistemas de liberación de fármaco, entre otras. Este método, es barato, fácil de manipular, reproducible cuando los parámetros ambientales son controlados, y puede ser usada para muchas formulaciones. El objetivo de este ensayo es enlistar y enfatizar algunas ventajas y desventajas de los diferentes métodos para incorporar fármacos y se utilizado como sistemas de liberación de fármaco. Las nanofibras y nanopartículas creadas por esta técnica han llegado a ser importantes para la farmacología gracias a sus propiedades fisicoquímicas y biocompatible. Entre las técnicas que se comparan en estos ensayos son: electrohilado simple, coaxial, emulsión y modificación superficial y electrospray simple y coaxial. Se puede concluir que todas las diferentes técnicas de electrohilado tienen ventajas y desventajas, y no todas pueden utilizarse para cualquier aplicación, la estrategia seleccionada dependerá de las propiedades fisicoquímicas, aplicación y propiedades mecánicas de los biomateriales procesados.

Palabras clave: Biomateriales; Electrohilado; Ingeniería de Tejidos, Sistemas de liberación de fármaco.

Introducción

El electrohilado es una técnica comúnmente utilizada para la fabricación de fibras a escalas nanométricas, este procedimiento utiliza un campo eléctrico para la formación de las fibras, que pueden ser poliméricas, metálicas, cerámicas o soluciones compuestas.

El proceso de electrohilado incluye 2 etapas:

1. Primero, la bomba de inyección y la fuente de poder se encienden para exponer un voltaje de entre 5 a 50 KV dependiendo de la constante dieléctrica y la viscosidad de la solución. El potencial eléctrico carga la gota de una solución polimérica que se forma en la punta de la aguja, donde las cargas son inducidas y distribuidas hacia la gota. Se forma un jet cuando el potencial eléctrico sobrepasa la tensión superficial de la gota

En la figura 1 se representa un esquema básico de la técnica de electrohilado

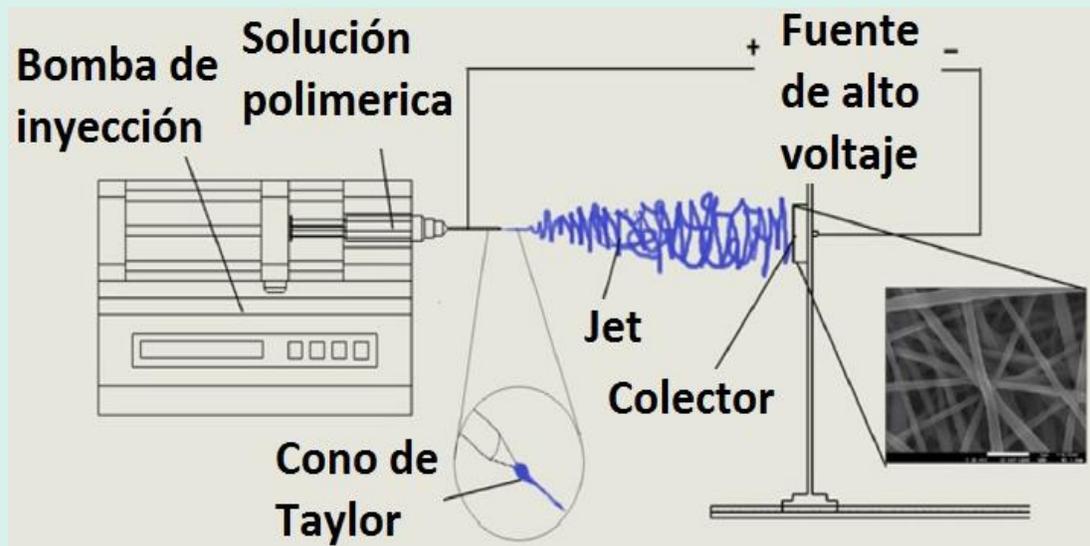


Figura 1. Esquema básico del electrohilado (Villarreal-Gómez, L.J. et al. 2016).

El voltaje es aplicado entre la punta de la aguja del inyector y el colector, cargando la solución polimérica, el cual forma un jet que es eléctricamente atraído y depositado como una fibra sólida en el colector (Hu, J. et al. 2015; Gupta KC. et al 2014; Nikkola, L. et al. 2015; Kenawy, E.R. et al. 2002).

El campo electrostático distorsiona la gota y lo convierte en un cono en la punta de la aguja, llamada “cono Taylor” (Meng, Z.X. et al 2011). La solución polimérica emerge desde la punta del agua y forma un droplet. La aguja cargada transfiere su energía eléctrica a la solución. A un voltaje específico, la gota cambiara su morfología cuando es atraída al colector creando el cono de Taylor (Gupta KC. et al 2014).

La geometría del cono es gobernada por el radio de tensión superficial de la solución a las fuerzas de repulsión electrostáticas y el campo de fuerza, E .

Durante la etapa 1, cuando el voltaje sobrepasa el límite del voltaje ($\geq 6\text{kV}$), la fuerza del campo E y la repulsión electrostática en la solución polimérica crece y sobrepone la fuerza opositora de la tensión superficial de la solución, finalmente la fuerza de expulsión resultante del jet líquido estable desde la aguja. En la etapa 2, mientras el voltaje va aumentando por encima del límite ($>6\text{kV}$) hasta 11 kV aproximadamente, el jet estable se desestabiliza. El líquido del jet es expulsado de la punta del cono, mientras el jet viaja hacia el colector el jet se adelgaza y se crea una distribución ondulatoria mientras el solvente es evaporado.

La elongación de las fibras poliméricas es gracias a la sincronización de eventos separados: el solvente es evaporado y se separa del polímero, el cual solidifica las fibras, y las cargas que se encuentran en el polímero se repelen una a otra. El resultado es una drástica reducción del diámetro de las fibras por lo que incrementa significativamente su longitud (Nikkola, L. et al. 2015).

En la etapa 3, las nanofibras son formadas a través de la elongación, evaporación y deposición del jet. Finalmente, las fibras son atraídas hacia el colector fijo gracias a la atracción de cargas opuestas y son depositados dentro de su superficie. También la mayoría de los solventes se evaporarán en el jet a través del aire, los residuos también se evaporarán bajo la deposición (Kenawy, E.R. et al. 2002).

Tabla 1. Parámetros del electrohilado

Parámetros en la solución	Parámetros en el proceso	Parámetros ambientales
<p>Peso molecular del polímero:</p> <p>Mayor peso molecular, menor probabilidad de llenar de gotas al colector</p>	<p>Voltaje aplicado:</p> <p>Mayor voltaje, mayor probabilidad de goteo Reducción del diámetro de las fibras</p>	<p>Temperatura:</p> <p>Mayor temperatura, menor diámetro en la fibra</p>
<p>Concentración del polímero:</p> <p>Mayor concentración, menor goteo e incremento en el diámetro de las fibras</p>	<p>Distancia al colector:</p> <p>Mayor distancia, menor diámetro en las fibras y menor humedad en ellas</p>	<p>Humedad:</p> <p>Baja humedad, evaporación rápida del solvente</p> <p>Alta humedad, engrosamiento de las fibras</p>

<p>Conductividad de la solución:</p> <p>Aumentar la conductividad reduce los defectos en la fibra y reduce su diámetro</p>	<p>Velocidad de flujo:</p> <p>Mayor velocidad, mayor humedad de la fibra El aumento de la formación de esferas</p>	
<p>Tensión superficial:</p> <p>Menor tensión, favorece la producción de fibras</p>	<p>Colectores:</p> <p>Diferentes colectores, diferentes acomodos de las fibras</p>	

Aplicaciones de la nanofibras electrohilados

Los andamios electrohilados poseen ventajas para aplicaciones en la ingeniería de tejidos (estructura 3D, porosidad, alineamiento y tamaños a escalas nanométricas, habilidad de encapsular moléculas químicas (fármacos, factores de crecimiento), permitir una liberación sostenida de sustancias y tener una superficie funcionalizada. Los materiales utilizados en la ingeniería de tejidos deben de ser biocompatibles, y pueden ser naturales y sintéticos, biodegradables y pueden contener materiales orgánicos e inorgánicos (Rathinamoorthy, R. 2012).

Técnicas de electrohilado

Electrohilado de mezcla simple

El uso del electrohilado de mezcla simple utiliza un proceso de mezcla entre soluciones poliméricas el cual mejora el equilibrio entre las propiedades mecánicas y fisicoquímicas de ambas soluciones. Cuando se utiliza el método simple de electrohilado, la relación química entre dos soluciones puede lograrse en un solo paso, ya que los polímeros se disuelven o dispersados en el solvente (Tipduangta P. et al. 2016).

La interacción entre las soluciones poliméricas es afectada por las propiedades fisicoquímicas de los polímeros, ya que estas propiedades actúan como factores que determinan la eficiencia de encapsulación de alguno de los poliméricos o dispersión dentro de las fibras.

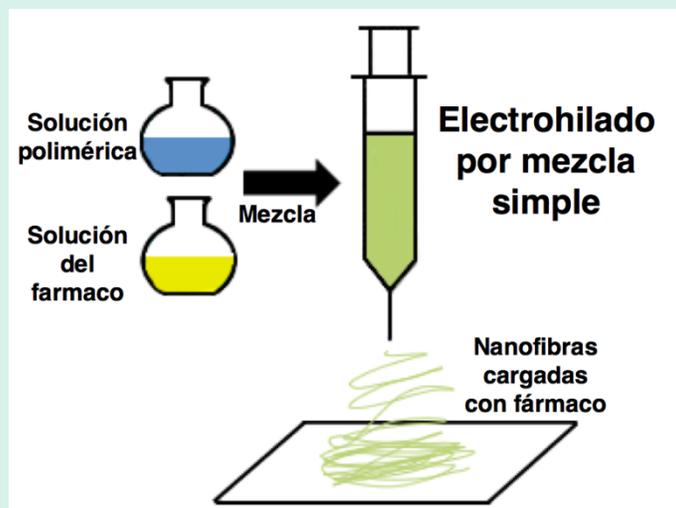


Figura 2. Principio de electrohilado por mezcla simple

Con la técnica de electrohilado de mezcla simple las fibras obtenidas de este solo poseen una sola fase. Si el objetivo es producir estructuras que posean núcleo-coraza, el cual protege agentes biológicos lábiles y factores de crecimiento, este método no es el adecuado. Para este propósito puede ser utilizado el electrospinning de emulsión o coaxial (Ravi Kumar, R.M.V. 2016).

Algunos reportes pueden ser encontrados en la literatura, donde el electrohilado de mezcla simple es utilizado para el cargado de fármacos en un sistema polimérico. Una investigación dirigida por Lu et al., produjo nanofibras de poli (N- isopropil acrilamida) (PNIPAam) el cual es un polímero bien conocido como material inteligente, ya que responde a los estímulos de pH y temperatura, mezclados con la etil celulosa (EC), fue exitosamente mezclado por electrohilado, y quetoprofeno (KET); un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, fue añadido al sistema. Los complejos resultantes exhibieron fibras delgadas y homogéneas y cilíndricas, con ninguna separación de fases. En esta investigación, se encontró que el fármaco estuvo presente en su forma física amorfa en la matriz fibrosa, la interacción intermolecular entre el KET y el andamio polimérico. Estos sistemas no son tóxicos y biocompatibles en el cultivo celular (Hu, J. et al. 2015).

Electrohilado Coaxial

El propósito principal del electrohilado coaxial es obtener fibras con una estructura núcleo coraza. Esta técnica puede ser utilizada para obtener fibras fármacos específicos encapsulados en el centro de las fibras, esto conlleva a una liberación controlada y sostenida de fármaco. Estos tipos de fibras presentan una alta área superficial creando una red tridimensional. Proteínas, factores de crecimiento, antibióticos y otros agentes biológicos han sido exitosamente cargados en las fibras coaxiales para propósitos de sistemas de liberación de fármaco. Una de las principales ventajas de esta técnica es que la estructura de núcleo

coraza brinda protección a los compuestos cargados y la bioactividad de los fármacos, por ejemplo, permanece intacta (Lu Y. et al. 2016).

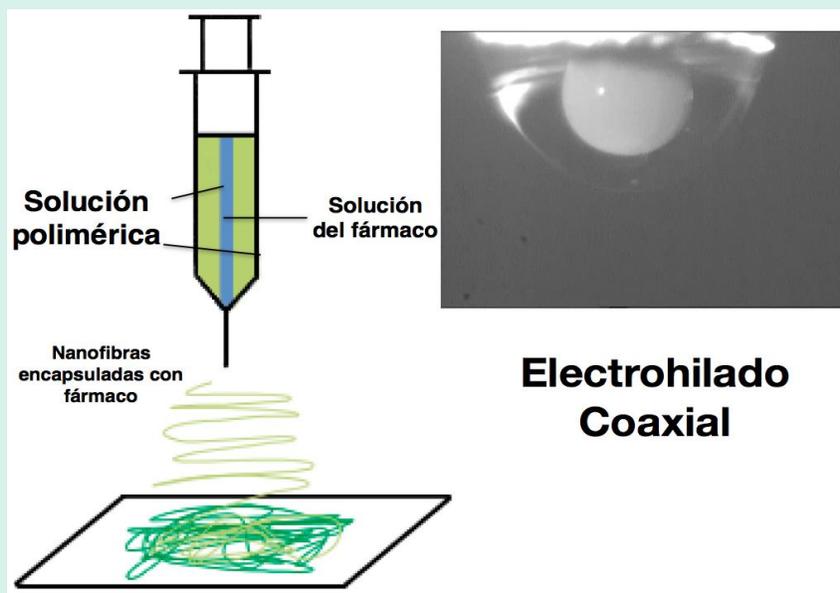


Figura 3. Principio de electrohilado coaxial

Uno de los principales beneficios del electrohilado coaxial es el mejoramiento de la funcionalidad de las biomoléculas incorporando la solución dentro del jet interno, en esta técnica, el polímero recubre y protege a la molécula biológica impidiendo el contacto directo del agente al ambiente externo (Ravi Kumar, R.M.V. 2016).

Electrohilado por emulsión

El electrohilado por emulsión es una técnica flexible y útil para el encapsulamiento de varios agentes bioactivos dentro de las nanofibras (Hu, J. et al. 2015), es uno de los métodos más importantes para la preparación de nanofibras núcleo coraza de una manera barata y eficiente (Lu Y. et al. 2016).

Utilizando el electrohilado por emulsión se han realizado fibras compuestas de poli (ϵ -caprolactona) (PCL) y poli (3-ácido hidroxibutírico-co-3-ácido hidroxivalérico) (PHBV) los cuales fueron cargados con Hidrocloruro de Metformina (MH) o Tartrato de Metoprolol (MPT). En este estudio, el electrohilado por emulsión demuestra que es una técnica más eficiente que la de electrohilado de mezcla simple especialmente en la modulación de la liberación del fármaco, regulando la fase hidrofóbica y la fase acuosa de las emulsiones, para obtener una liberación de fármaco deseada. Entre los dos polímeros evaluados el PCL demostró mejores características de liberación que el PHBV (Hu, J. et al. 2015).

En el electrohilado por emulsión, la fase hidrofóbica es creada por la emulsión del fármaco o de la solución proteica acuosa en la solución polimérica, continuado con el proceso

de electrohilado. Cuando el fármaco a ser cargado tiene bajo peso molecular, la fase de la biomolécula cargada puede ser distribuida con las fibras o las estructuras fibrosas núcleo coraza que pueden ser configuradas como amalgamado macromolecular en la fase acuosa. Entre las ventajas del electrohilado por emulsión contra el método de mezcla simple es la eliminación de la necesidad de encontrar un solvente común entre el agente biológico a ser cargado y la solución polimérica. Además, el número de formulaciones de fármacos hidrofílicos y soluciones poliméricas hidrofóbicas puede ser utilizados mientras se mantenga un contacto mínimo entre el fármaco o agente biológico con el solvente orgánico durante el procedimiento (Ravi Kumar, R.M.V. 2016).

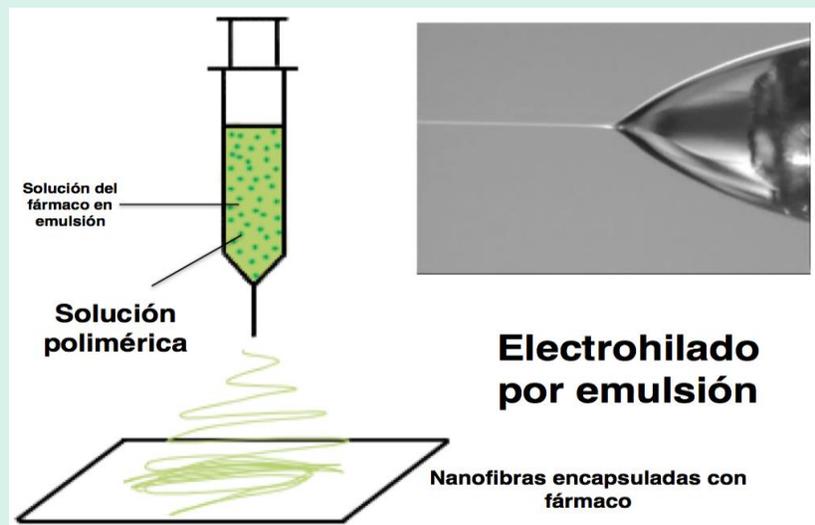


Figura 4. Principio de electrohilado por emulsión.

Electrohilado de modificación de superficie

El electrohilado de modificación de superficie es un método prometedor para la incorporación de moléculas bioactivas en la superficie de las microfibras o nanofibras, como resultado se pueden obtener andamios con unas similitudes bioquímicas y estructurales al tejido nativo que se quiere regenerar. Además, esta estrategia es comúnmente utilizada para resolver problemas de liberación espontánea inicial y corto tiempo de liberación del agente bioactivo ya que las biomoléculas son inmovilizadas en la superficie. De hecho, se ha reportado que las biomoléculas que son inmovilizadas en la superficie de las nanofibras son difíciles de separar, y así son útiles para la liberación de genes, los cuales necesitan estar disponible el mayor tiempo posible para provocar un efecto a largo plazo (Ravi Kumar, R.M.V. 2016).

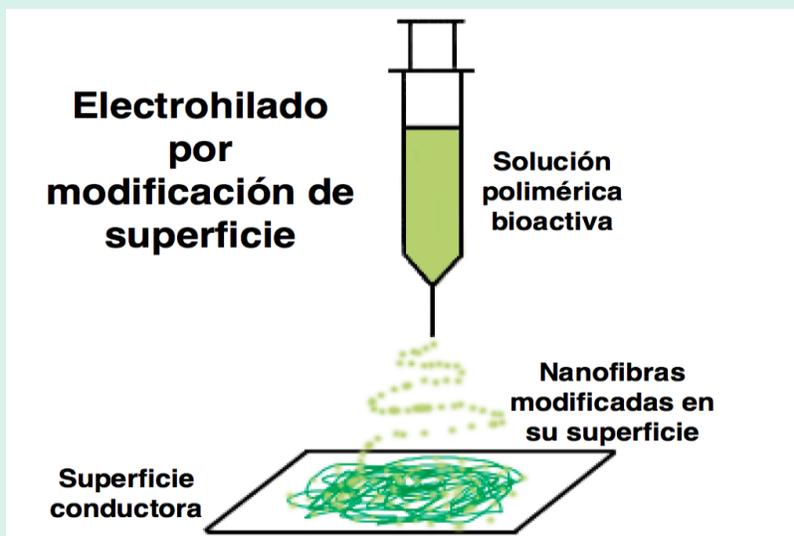


Figura 5. Principio de electrohilado por modificación de superficie

Electrospray

El electrospray es uno de los métodos más efectivos para la síntesis de nanopartículas y nanoesferas. Estas técnicas son las más sencillas para la incorporación o encapsulamiento de un agente bioactivo. En este proceso, el líquido emergente de la punta de la aguja que se incorpora al campo eléctrico para formar el cono de Taylor se rompe en muy pequeñas gotas altamente cargadas, obteniendo las condiciones óptimas para la formación de nanopartículas o micropartículas. Las partículas sólidas se forman cuando el solvente se evapora. Algunos de los parámetros deben de considerarse en esta técnica como el diámetro de la punta de la aguja, flujo, voltaje y distancia entre la punta de la aguja y el colector (Sridhar R. et al. 2013).

Las nanopartículas provenientes del proceso de electrospray pueden ser útiles para aplicaciones biológicas, médicas y farmacéuticas. Entre las ventajas del electrospray se encuentran una síntesis escalable, reproducibilidad y alta eficiencia de encapsulación (Sridhar R. et al. 2013).

Las nanopartículas de electrospray pueden capturar agentes biológicos, que pueden ser transportadores específicos ya que pueden estar hechos de una superficie activa que puede absorberse, unirse o crear complejos con el tejido objetivo o el agente biológico. Además, las nanopartículas juegan un papel muy importante en los tratamientos terapéuticos, el tamaño de partícula es uno de los factores a considerar en el caso de querer manipular la liberación de fármaco y la especificidad de la particular determinará si el agente biológico es liberado en la zona correcta del cuerpo (Sridhar R. et al. 2013).

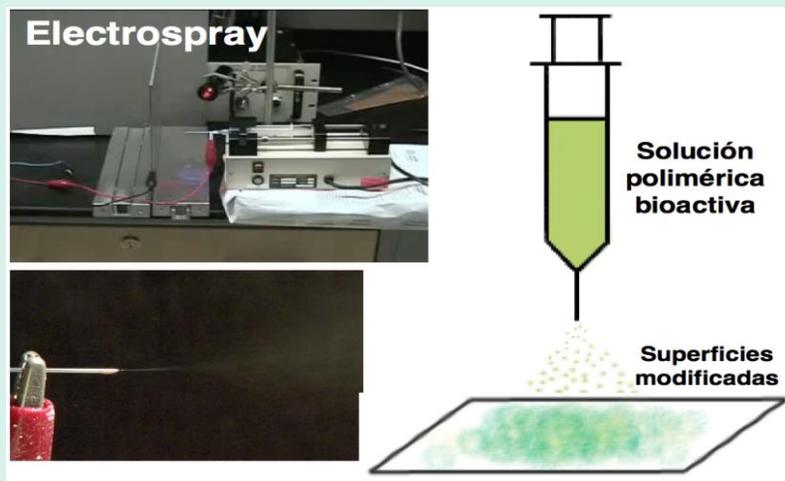


Figura 6. Principio de electro-spray

Se han reportado nanopartículas fabricadas con la técnica de electro-spray utilizando el polímero natural de gliadina para la liberación controlada del fármaco anticancerígeno ciclofosfamida, el cual es un éster de formamida demeclorotamina utilizado para el tratamiento de retinoblastoma, neuroblastoma, cáncer de pulmón y cáncer de pecho, este fármaco provoca el entrecruzamiento de los nucleótidos del ADN impidiendo la división celular. En este estudio se logró cargar por encima de $72.02 \pm 5.6\%$ del fármaco a nanopartículas basadas con un 7% de gliadina, las partículas obtenidas fueron homogéneas y el tamaño promedio de particular fue del 218.66 ± 5.1 nm (Sridhar R. et al. 2013).

Electrospray Coaxial

La técnica de electro-spray coaxial permite la producción de partículas multicapa con tamaños promedios de entre $10-100 \mu\text{m}$ utilizando un campo eléctrico y una aguja coaxial.

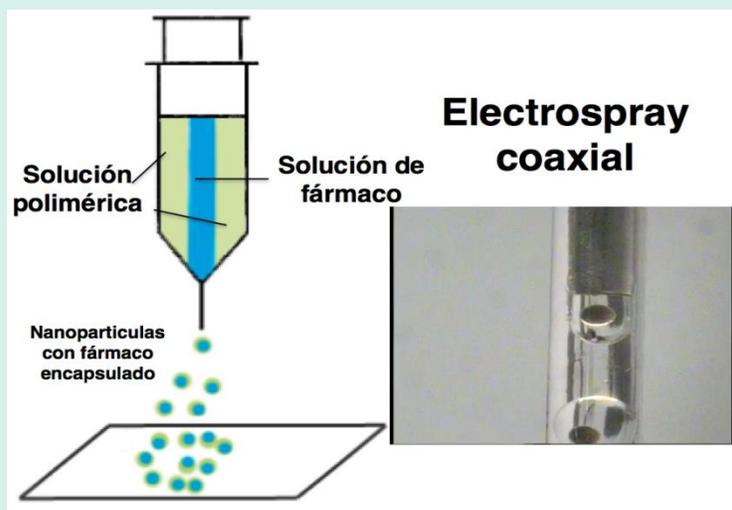


Figura 7. Principio de electro-spray coaxial

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la incorporación de agentes biológicos en nanofibras y nanopa utilizando la técnica de electrohilado.

Ventajas	Desventajas	Ref.
Electrohilado de mezcla simple		
<p>Mejora la manipulación de las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las fibras funcionalizadas.</p> <p>Permite el desarrollo de formulaciones para la liberación controlada de fármaco, los cuales los rangos de liberación pueden ser modificados alterando la proporción de los polímeros utilizados</p>	<p>Es esencial un claro entendimiento de los parámetros ambientales y la naturaleza de los polímeros para poder ser utilizable, no es claramente reproducible</p>	<p>Tipduangta P. et al. 2016; Ravi Kumar, R.M.V. 2016).</p>
Electrohilado coaxial		
<p>Mejora la funcionalidad de las biomoléculas. La sustancia que se encuentra en el núcleo de las fibras es protegida por la coraza polimérica impidiendo el contacto directo con el ambiente biológico externo.</p>	<p>Necesidad de una aguja especial coaxial</p>	<p>(Ravi Kumar, R.M.V. 2016).</p>
Electrohilado por emulsión		
<p>No es necesario un solvente común, ya que los polímeros pueden disolverse cada uno en su solvente de optima disolución</p>	<p>No cualquier agente terapéutico puede ser cargado por este método</p>	<p>(Ravi Kumar, R.M.V. 2016).</p>
Electrohilado de modificación de superficie		

Resolver problemas de una liberación espontanea del agente biológico y un tiempo de liberación corto mientras la biomolécula es inmovilizada en la superficie.	Depende de la naturaleza del polímero y la sustancia que será movilizada	(Ravi Kumar, R.M.V. 2016).
Electrospray		
Fácil control de los parámetros de operación, rápida preparación en un solo paso.	Esta técnica puede inducir degradación en las macromoléculas junto con el estrés involucrado en los parámetros de operación (estrés térmico)	Sridhar R. et al. 2013
Electrospray coaxial		
Alta eficiencia de encapsulación, protección efectiva de la bioactividad y distribución uniforme del tamaño	Proceso de control es desafiado por la naturaleza polimérica y los parámetros de la técnica	Zhang, L. et al. 2012

Este método permite una alta eficiencia en la encapsulación de agentes biológicos, control preciso de la estructura núcleo-coraza y protección de agentes terapéuticos frágiles y lábiles al proceso inducido de desnaturalización y agregación. También, es un proceso escalable para producción en masa de micropartículas cargadas de fármaco y nanopartículas (Zhang, L. et al. 2012).

Además, el electrospray coaxial permite la micro encapsulación y la nano-encapsulación de fármacos en las partículas poliméricas. Para desarrollar este método es necesario el uso de una aguja coaxial para liberar dos líquidos independientemente. Pueden ser utilizados diferentes soluciones incluyendo el glicerol, agua destilada o desionizada, etanol, etilen glicol, etc. Para la síntesis de micropartículas y nanopartículas con una coraza dura, pueden ser utilizadas soluciones poliméricas de PCL, PLA, PLGA, PMMA, PE, entre otros (Zhang, L. et al. 2012).

En general, todos los métodos para la incorporación de fármaco utilizando la técnica de electrohilado tienen sus desventajas y limitaciones (Tabla 3).

Conclusión

Este ensayo resume las técnicas de incorporación de agentes biológicos utilizando la técnica de electrohilado a través de nanofibras y nanopartículas, desde los polímeros que se utilizan hasta una comparación crítica entre las diferentes técnicas. El electropray y electrohilado coaxial pueden ser utilizados cuando se necesitan estructuras núcleo-coraza, por ejemplo, en casos cuando el agente terapéutico es sensible al ambiente. El electrohilado de mezcla simple y emulsión no necesitan adaptaciones especiales y son los métodos más simples para incorporar agentes terapéuticos a las nanofibras. Finalmente, la modificación de superficie es necesaria cuando el efecto ráfaga quiere ser inhibido y se quiere que la liberación del fármaco sea más duradera. Todas las técnicas son útiles, versátiles, baratas y fáciles de realizar para la incorporación de macromoléculas a nanofibras para ser utilizada como sistemas de liberación de fármaco, dependiendo de la naturaleza de los agentes terapéuticos a ser cargado es el método a ser elegido.

III. SENSIÓN PRESENCIAL

3.1. Material y Equipo

Reactivos

- Poli (vinil alcohol) (PVA), Sigma Aldrich
- Poli (vinil pirrolidona) (PVP), Sigma Aldrich
- Agua destilada (H₂O_d)
- Etanol al 70 %
- Jeringa desechable de 5 ml

Equipo

- Vaso de precipitado de 50 ml
- Espátula
- Vidrio de reloj
- Vial de vidrio de 20 ml
- Mosca magnética
- Plancha de calentamiento con agitación
- Sistema de electrohilado
- Probeta de 10 ml
- Pipeta serológica de 5 ml
- Balanza analítica
- Soporte universal

3.2. Procedimiento

1. Preparación de soluciones

- a) Las soluciones poliméricas ya sea de poli (vinil alcohol) o de poli (vinil pirrolidona), se prepararon disolviendo cierto porcentaje de polímero en un solvente iónico. Para el caso de poli (vinil pirrolidona) (PVP) se utiliza etanol puro, el cual puede prepararse al 13%, en el caso del poli (vinil alcohol) (PVA) este se disuelve con agua destilada al 15%, ambos polímeros se agitan de manera constante (200 rpm) utilizando la plancha de calentamiento con agitador magnético a temperatura ambiente hasta su completa disolución.
- b) Realizar los cálculos necesarios para conocer la cantidad en gramos de polímero que será utilizado para preparar una solución con un volumen determinado por el profesor.
- c) Posteriormente, se medirá el solvente en la probeta de 10 ml, y se vaciará en el vaso precipitado de 50 ml o el vial de vidrio de 20 ml (depende del solvente seleccionado, utilizar la campana de extracción de gases, siguiendo las instrucciones del profesor).
- d) Pesar los gramos calculados del polímero (PVA o PVP) (Figura 8).



Figura 8. Pesado del polímero en balanza analítica.

- e) Colocar la mosca magnética al contenedor donde se vertió el solvente y ponerla a agitar a 200 rpm y agregar lentamente el polvo del polímero (el contenedor debe de ajustarse con un soporte universal) (figura 9).



Figura 9. Ajustar el vial de vidrio con el soporte universal y colocar el agitador magnético dentro del vial y agitar a 200 rpm.

- f) Dejar agitar hasta su disolución completa (la solución debe de verse transparente (sin partículas suspendidas) (Ver figura 10).

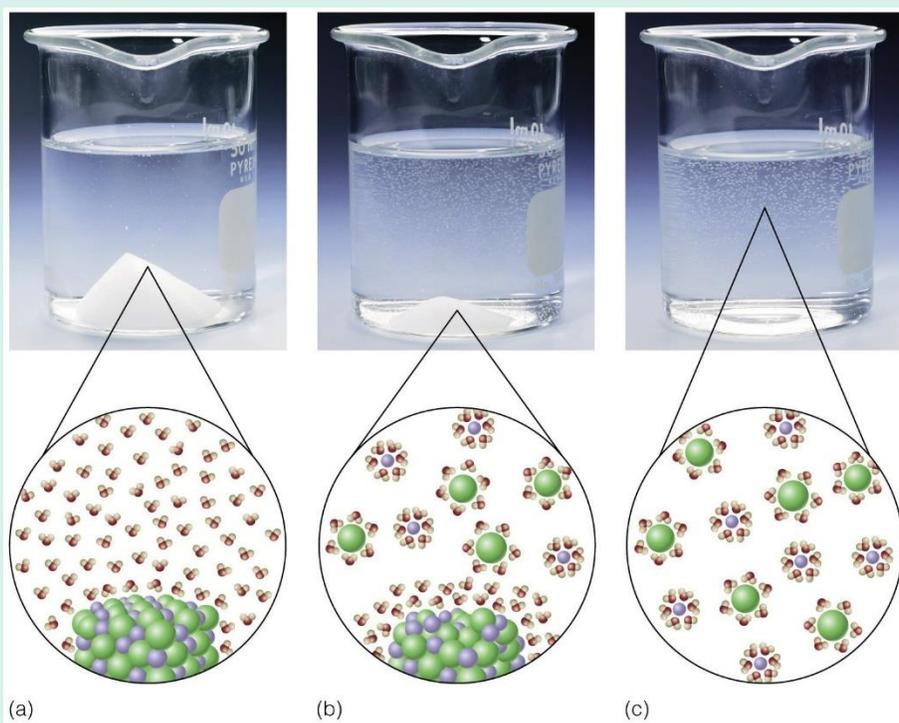


Figura 10. Ilustración del proceso de disolución del soluto en un solvente (Tomado de <https://qph.fs.quoracdn.net/main-qimg-55842a14783b241e28e9fbf7f1b13033.webp>. 09 de mayo del 2020).

2. Proceso de electrohilado

- a) Una vez teniendo la solución polimérica lista. Colocar de 1 a 2 ml de la solución a una jeringa desechable de 5 ml, luego colocar la aguja de metal (figura 11).



Figura 11. Cargar la solución polimérica a una jeringa desechable de 5 ml.

- b) Colocar la jeringa carga de la solución polimérica a la bomba de inyección (figura 12).



Figura 12. Jeringa cargada en la bomba de inyección.

- c) Ajustar el flujo de inyección a 1 ml/hr o ajustar dependiendo de las instrucciones del profesor (figura 13).



Figura 13. Programar el flujo de inyección en la bomba.

- d) Ajustar el voltaje a 20 kV (figura 14).

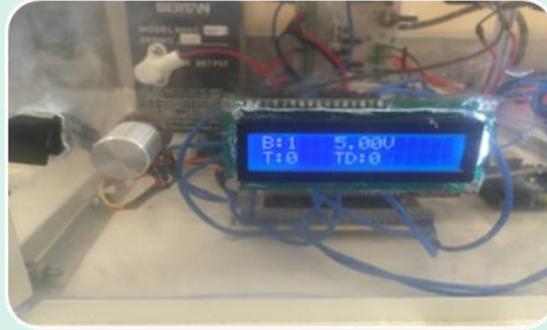


Figura 14. Programar el voltaje a 20 kV.

- e) Preparar el colector con papel de aluminio recubriéndolo por completo (figura 15).



Figura 15. Colector metálico.

- f) Colocar los electrodos del sistema, una en el colector y otro en la punta de la aguja metálica. Iniciar el sistema (figura 16). Nota: la temperatura debe de estar a temperatura ambiente y 20 a 30% de humedad.



Figura 16. Colocar los electrodos e iniciar el sistema de electrohilado. El colector debe estar a una distancia de 10 cm con el inyector.

g) Verificar la formación de las fibras que se acumulan en el colector (figura 17).

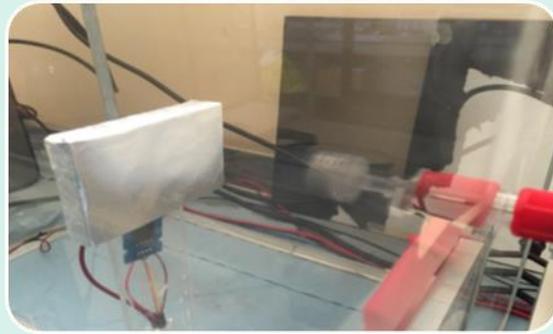


Figura 17. Fibras fabricadas en el colector metálico.

h) Revisar la formación de las fibras resultantes (figura 18).

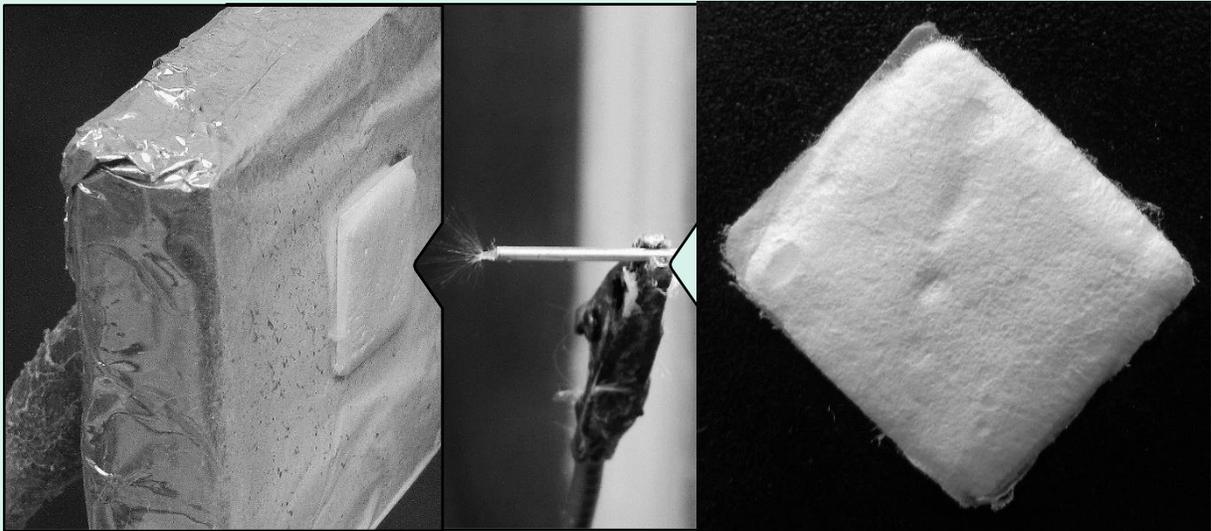


Figura 18. Fibras de electrohilado resultantes.

IV. SENSIÓN EN LINEA

Pre-laboratorio

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 4.2 Comprender las aplicaciones en Biomateriales e Ingeniería de Tejidos**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de pre-laboratorio que viene en este documento, las preguntas del pre-laboratorio deben de ser investigadas en la literatura.

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Pre-laboratorio práctica 4**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

Reporte

En **Blackboard Ultra**, abrir la **Meta 4.2 Comprender las aplicaciones en Biomateriales e Ingeniería de Tejidos**. Luego, abrir la carpeta nombrada “**Laboratorio**” y contestar la actividad de reporte de laboratorio que viene en este documento, las preguntas del reporte deben de ser contestadas a partir de la revisión del video “**Laboratorio de Electrohilado con PVA**”

Contestar la “prueba” nombrada “**Buzón de tareas: Reporte Práctica 4**” en la plataforma blackboard antes del término de la fecha límite publicada en la plataforma.

El pre-laboratorio es **INDIVIDUAL**.

4.1. Pre-laboratorio

I. Ordena según corresponda

1.- Ventajas de la técnica de electrohilado

	Técnica de electrohilado	Ventaja
A	Electrohilado de mezcla simple	() No es necesario un solvente común, ya que los polímeros pueden disolverse cada uno en su solvente de optima disolución
B	Electrohilado coaxial	() Resolver problemas de una liberación espontanea del agente biológico y un tiempo de liberación corto
C	Electrohilado por emulsión	() Alta eficiencia de encapsulación, protección efectiva de la bioactividad y distribución uniforme del tamaño
D	Electrohilado de modificación de superficie	() La sustancia que se encuentra en el núcleo de las fibras es protegida por la coraza polimérica impidiendo el contacto directo con el ambiente biológico externo.
E	Electrospray	() Fácil control de los parámetros de operación, rápida preparación en un solo paso.
F	Electrospray coaxial	() Mejora la manipulación de las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las fibras funcionalizadas.

2.- Desventajas de la técnica de electrohilado

	Técnica de electrohilado	Desventaja
A	Electrohilado de mezcla simple	() No cualquier agente terapéutico puede ser cargado por este método

- B Electrohilado coaxial () Causa estrés térmico
- C Electrohilado por emulsión () Necesidad de una aguja especial
- D Electrohilado de modificación de superficie () Depende de la naturaleza del polímero y la sustancia que será movilizad
- E Electropray () No es claramente reproducible
- F Electropray coaxial () Proceso de control es desafiado por la naturaleza polimérica y los parámetros de la técnica

II. Contesta Falso o Verdadero según corresponda

2.- Parámetros a tomar en cuenta en la técnica de electrohilado

2.1. Mayor peso molecular, menor probabilidad de llenar de gotas al colector

() Verdadero () Falso

2.2. Menor voltaje, mayor probabilidad de goteo, reducción del diámetro de las fibras

() Verdadero () Falso

2.3. Mayor temperatura, mayor diámetro en la fibra

() Verdadero () Falso

2.4. Mayor concentración, menor goteo e incremento en el diámetro de las fibras

() Verdadero () Falso

2.5.- Mayor distancia, menor diámetro en las fibras y menor humedad en ellas

() Verdadero () Falso

2.6.- Alta humedad, evaporación rápida del solvente, alta humedad, engrosamiento de las fibras

Verdadero

Falso

2.7.- Aumentar la conductividad reduce los defectos en la fibra, incrementa su diámetro.

Verdadero

Falso

2.8.- Mayor velocidad, mayor humedad de la fibra. El aumento de la formación de esferas.

Verdadero

Falso

2.9.- Menor tensión, favorece la producción de fibras

Verdadero

Falso

2.10. Diferentes colectores, diferentes acomodos de las fibras

Verdadero

Falso

4.2. Reporte

1.- Con tus propias palabras define el fundamento del electrohilado

2.- En el video, ¿Que concentración se utilizó para preparar la solución a electrohilar?

3.- ¿Cuantos gramos de poli (vinil pirrolidona) (PVP) se necesitan para preparar una solución al 35 % en 3 ml de solvente?

a) 35 gr de PVP b) 35 gr de PVA c) 1.05 gr de PVP d) 10.5 gr de PVP

4.- Colocar las condiciones de electrohilado que se utilizaron en la práctica de la sesión presencial

Distancia del colector

Voltaje

Concentración del polímero

Temperatura

Gasto de inyección

% Humedad

6.- Incorpora y llena la siguiente tabla en un archivo Word o excel. Revisa artículos científicos en ingles que hayas revisado. Revisa que solventes se pueden utilizar para preparar soluciones poliméricas listas para electrohilar.

Polímero	Solvente	Referencia
Poli (vinil pirrolidona) (PVP)		1er. Apellido y 1era. Letra del nombre de los autores, seguido de et al., y año
Poli (vinil alcohol) (PVA)		Ejemplo. Villarreal-Gómez, L.J. et al. 2017

Poli (uretano) (PU)		
Poli (ácido láctico-co-glicolida) (PLGA)		
Poli (ácido acrílico) (PAA)		
Colágeno		
Gelatina		

7.- Conclusión de la práctica vista en el video

8.- Incorporar referencias en formato APA

Ejemplo

Álvarez-Suárez, A. S., Dastager, S. G., Bogdanchikova, N., Grande, D., Pestryakov, A., García-Ramos, J. C., ... Villarreal-Gómez, L. J. (2020). Electrospun Fibers and Sorbents as a Possible Basis for Effective Composite Wound Dressings. *Micromachines*, 11(4), 441. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/mi11040441>

V. GESTIÓN DE RESIDUOS

No se deseche en el fregadero. Pregunte al instructor como disponer de este residuo.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez-Suárez, A. S., Dastager, S. G., Bogdanchikova, N., Grande, D., Pestryakov, A., García-Ramos, J. C., ... Villarreal-Gómez, L. J. (2020). Electrospun Fibers and Sorbents as a Possible Basis for Effective Composite Wound Dressings. *Micromachines*, 11(4), 441. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/mi11040441>
- Hu, J., Prabhakaran, M. P., Tian, L., Ding, X., & Ramakrishna, S. (2015). Drug-loaded emulsion electrospun nanofibers: characterization, drug release and in vitro biocompatibility. *RSC Adv.*, 5(121), 100256–100267. <https://doi.org/10.1039/C5RA18535A>
- Gupta, K. C., & Ravi Kumar, M. N. (2000). Drug release behavior of beads and microgranules of chitosan. *Biomaterials*, 21.
- Dussan, D., Franco, E., Alava, L., Garzón, J.P., Rengifo, K., Vásquez, D. (2015). Laboratorio de electrohilado con PVA. Universidad San Buenaventura Cali. <https://youtu.be/VuGaeB1TPbE>. Tomado el 8 de Mayo del 2020.
- L. Nikkola, T. Morton, E. R. Balmayor, H. Jukola, A. Harlin, H. Redl, M. van Griensven, and N. Ashammakhi, “Fabrication of electrospun poly (d,l lactide-co-glycolide)80/20 scaffolds loaded with diclofenac sodium for tissue engineering,” *Eur. J. Med. Res.*, vol. 20, no. 1, p. 54, Jun. 2015.
- Kenawy, E.-R., Bowlin, G. L., Mansfield, K., Layman, J., Simpson, D. G., Sanders, E. H., & Wnek, G. E. (2002). Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend. *Journal of Controlled Release*, 81(1), 57–64. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00041-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00041-X)
- Meng, L., Klinkajon, W., K-hasuwan, P., Harkin, S., Supaphol, P., & Wnek, G. E. (2015). Electrospun crosslinked poly(acrylic acid) fiber constructs: towards a synthetic model of the cortical layer of nerve. *Polymer International*, 64(1), 42–48. <https://doi.org/10.1002/pi.4793>
- Luu, Y. K., Kim, K., Hsiao, B. S., Chu, B., & Hadjiargyrou, M. (2003). Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA-PEG block copolymers. *Journal of Controlled Release*, 89(2), 341–353. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(03\)00097-X](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(03)00097-X)
- Sridhar, R., & Ramakrishna, S. (2013). Electrospayed nanoparticles for drug delivery and pharmaceutical applications. *Biomater*, 3(3), e24281. <https://doi.org/10.4161/biom.24281>
- Celebioglu, A., & Uyar, T. (2019). Fast Dissolving Oral Drug Delivery System Based on Electrospun Nano fibrous Webs of Cyclodextrin / Ibuprofen Inclusion Complex Nanofibers. *Molecular Pharmaceutics*, 16, 4387–4398. research-article. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00798>

- Kumar, S., Bose, S., & Chatterjee, K. (2014). Amine-functionalized multiwall carbon nanotubes impart osteoinductive and bactericidal properties in poly(ϵ -caprolactone) composites. *RSC Advances*, 4(37), 19086–19098. <https://doi.org/10.1039/c4ra00875h>.
- Fathy, M., Kashyout, A. B., El Nady, J., Ebrahim, S., & Soliman, M. B. (2016). Electrospun polymethylacrylate nanofibers membranes for quasi-solid-state dye sensitized solar cells. *Alexandria Engineering Journal*, 55(2), 1737–1743. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2016.03.019>