

Síntesis y caracterización del grado de metacrilación ideal para la Gelatina Metacrilóila (GelMA)

(Synthesis and characterization of the ideal methacrylation degree for Methacryloyl Gelatin (GelMA))

Shirley Dayana Cuzco Vargas¹ , María Fernanda Heredia Moyano¹ ,
Caterine Yesenia Carrasco Montesdeoca² .

¹ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador

² Universidad Experimental Yachay Tech, Urcuquí, Ecuador

shirley.cuzco@espoch.edu.ec, mariaf.heredia@espoch.edu.ec,

cccarasco@yachaytech.edu.ec

Resumen: La finalidad de este estudio fue sintetizar gelatina metacrilóila mediante la modificación de la gelatina tipo A de piel porcina con anhídrido metacrílico con base en la técnica de reacción utilizando la solución salina de fosfato, variando dos parámetros que son el anhídrido metacrílico y el tiempo de reacción. En total se obtuvieron seis muestras que fueron estudiadas a través de pruebas de caracterización para confirmar la formación de GelMA y el análisis morfológico. En la espectroscopía infrarrojo con transformada de Fourier se mostró los grupos químicos de cada muestra resaltando los picos de los grupos aminos funcionales NH, amidas I, II y III. En la microscopía electrónica de barrido se analizó la morfología de gelatina metacrilóila y su naturaleza porosa, se obtuvo una muestra con un tamaño promedio de poro de aproximadamente 150 micras lo que beneficiará a la difusión de oxígeno y apoyo al crecimiento celular; el ángulo de contacto de las muestras está en un rango de 53° y 65° por ende tienen un alto grado de mojabilidad.

Palabras clave: anhídrido metacrílico, espectroscopía, Gelatina metacrilóila, morfología, tiempo.

Abstract: The purpose of this study was to synthesize methacryloyl gelatin by modifying type A gelatin from porcine skin with methacrylic anhydride based on the reaction technique using phosphate saline solution, there were two variable parameters that are methacrylic anhydride and the time of reaction. A total of six samples were obtained that were studied through characterization tests to confirm GelMA formation and morphological analysis. In the infrared spectroscopy with Fourier transform, the chemical groups of each sample were shown, highlighting the peaks of the functional amino groups NH, amides I, II and III. In scanning electron microscopy, the morphology of methacryloyl gelatin and its porous nature were analyzed, obtaining a sample with an average pore size of approximately 150 microns, which will benefit oxygen diffusion and support cell growth; the contact angle of the samples is in a range of 53° and 65°, therefore they have a high degree of wettability.

Keywords: methacrylic anhydride, spectroscopy, gelatine methacryoyl, morphology, time.

1. INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales con cadenas flexibles de polímeros que logran absorber líquidos como agua o fluidos corporales sin disolverse y pueden liberarlos con el tiempo [1]. Además, tienen una excelente interacción con los tejidos vivos siendo adecuados para aplicarlos en la medicina porque poseen propiedades de biocompatibilidad, son blandos, elásticos, solubles en el agua, conjuntamente de tener bajo coeficiente de fricción y permeabilidad [2].

La gelatina se crea por hidrólisis del colágeno [3] que es una proteína fibrosa y se trata del conjunto de 27 familias de proteínas isoformas que se encuentran en animales multicelulares y distribuidos en el tejido no conectivo del cuerpo, como huesos, cartílagos, venas, piel, tendones, los vasos sanguíneos, los dientes, la córnea y otros músculos [4].

El colágeno está conformado por cadenas polipeptídicas de dos aminoácidos glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina y alanina, las cuales forman sus fibras pues están organizadas en paralelo y tienen como función la resistencia y elasticidad de la estructura presente [5]. Esta elección es muy importante debido a que la gelatina tiene varias propiedades como biocompatibilidad, solubilidad y es un producto de fácil acceso, pero tiene desventajas como su rápida degradación y poca resistencia mecánica [6]. Entonces, lo que se procede a hacer en este estudio es combinar el hidrogel a base de gelatina con el anhídrido metacrílico [7], con la técnica de reacción de PBS. Este procedimiento se mencionó por primera vez en los estudios de Van Den Bulcke et al. [8]; los cambios o reacción ayudaron a la regulación del grado de degradación y propiedades mecánicas obteniendo el hidrogel GelMA que es perfecto para aplicaciones como la ingeniería de tejidos, la medicina, regenerativa, entre otros.

Existen otros métodos de síntesis por ejemplo en el que emplean el tampón de carbonato-bicarbonato, pero el anterior es el más rentable [9], debido a que, esta reacción introduce grupos de sustitución de metacrililo en los grupos amina e hidroxilo reactivos de los residuos de aminoácidos, también los materiales para el tampón son accesibles [10].

GelMA fue mencionado por primera vez en 2000 por Van Den Bulcke et al. [8]. Implicó una reacción directa entre gelatina y anhídrido metacrílico (MA). Los grupos resultantes de esta reacción son grupos metacrilamida y grupos metacrilato. En comparación con los grupos de metacrilato, la proporción de grupos de metacrilamida aumenta. Como resultado, el nombre completo de GelMA que es metacrililo de gelatina [11].

En el mundo el tema de los biomateriales ha llegado a estar entre las temáticas de investigación más sustanciales obteniendo así un desarrollo activo, debido a que son considerados como nuevos materiales para la regeneración de tejidos como huesos, tendones, cartílagos, músculo esquelético, piel, tejidos vasculares, que por varias enfermedades se han desgastado o por la mínima cicatrización que estos presentan. Por consiguiente, englobamos los motivos de estudio de los biomateriales en dos puntos importantes que son la aceleración en el proceso de cicatrización y la regeneración de tejidos que de forma autónoma no pueden hacerlo debido a sus características morfológicas [12-13].

Estos biomateriales han comenzado a revolucionar el campo de la medicina pues son económicos y más factibles, aunque existen falencias en el método y no hay una comprensión completa de la influencia de algunos parámetros en la metacrilación de estos materiales por lo que en este estudio se sintetizó gelatina metacrililo variando parámetros fisicoquímicos para identificar aquellos que logren una reacción óptima y por ende controlar y generar un esquema de GelMA más efectivo.

2. METODOLOGÍA

Materiales

Gelatina de piel de porcino en polvo, tipo A con fuerza de gelificación de 300g Bloom, adecuado para electroforesis y para cultivo celular, Anhidrido metacrílico contiene 2000 ppm, topanol A como inhibidor 94% estos dos materiales se adquirieron de Sigma-Aldrich (EE. UU). Membranas de diálisis de 50 pies de largo por 1-5/16 pulgadas de ancho, código 41131902, de material de membrana de celulosa sin costuras (Estados Unidos de la marca Frey Scientific). Cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato monopotásico y el fosfato disódico (se encuentran en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo)

Síntesis de tampón fosfato salino (PBS)

Se combinó el cloruro de sodio (NaCl), cloruro de potasio (KCl), fosfato disódico (Na_2HPO_4) y fosfato monopotásico (KH_2PO_4) en concentraciones de g/L (Tabla 1).

Se pesó cada sal, posteriormente se colocó en un vaso de precipitación con 800 ml de agua natural Vivant. Se agitó constantemente hasta diluir totalmente las sales. Después se aumentó agua hasta llegar a tener un litro de la solución; es necesario dos litros de PBS para la síntesis de GelMA por ende se debe repetir este proceso.

Finalmente se llevó la solución a medir el pH y como este era menor a 7.4 que es el adecuado se comenzó a agregar de manera lenta hidróxido de sodio (NaOH) hasta llegar a aquel valor; se almacenó el tampón en una botella de plástico a temperatura ambiente. Todo este proceso fue acorde a aportes previos.

Tabla 1. Concentración de cada sal a utilizar en el tampón fosfato salino.

Sal	Concentración (g/L)
Cloruro de sodio (NaCl)	8.0
Cloruro de potasio (KCl)	0.2
Fosfato disódico (Na_2HPO_4)	1.44
Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)	0.24

Síntesis de gelatina metacrilóila.

Se realizó seis muestras: las muestras 1, 2 y 3 tuvieron el tiempo de reacción constante, mientras que el anhidrido metacrílico se varió. En las muestras 4, 5 y 6 se realizó lo contrario; es decir, el MA es un parámetro constante (Tabla 2).

- Se pesó 2.5 g de gelatina de piel porcina, luego en vasos de precipitación se colocó la gelatina junto a 25 ml de PBS.
- Con la ayuda de un agitador magnético con calefacción se mezcló durante una hora con una temperatura constante de 50° C. Posteriormente se colocó gota a gota el anhidrido metacrílico correspondiente para cada muestra. Esto se realizó dentro de la Sorbona por el fuerte olor emanado.
- Las muestras se agitaron por el tiempo de reacción adecuado. Finalizado ese periodo se agregó la doble cantidad de PBS del inicio del proceso y se filtró en un equipo de filtración al vacío.
- Se colocó las membranas en agua destilada para que se ablanden y se realizó un nudo en uno de los extremos
- Se llenó las membranas de diálisis de aproximadamente 30 cm de largo con la solución final.

- A las membranas que contienen la solución se les colocó en vasos de precipitación con agua destilada suficiente para que se encuentren totalmente sumergidas por aproximadamente cinco días, pero el agua se cambia diariamente.
- Se realizó el proceso de liofilización.

Tabla 2. Cantidad para utilizar en cada muestra de los diferentes parámetros en la síntesis de gelatina metacrilato.

Muestra	Anhídrido metacrílico (ml)	Tiempo de reacción (minutos)	v/v (%)
Muestra 1	2	180	8
Muestra 2	2.5		10
Muestra 3	0.75		3
Muestra 4	2	180	8
Muestra 5		120	8
Muestra 6		60	8

Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Se ocupó el equipo de la marca Jasco FT/IR-4100. Se conectó el equipo a un tomacorriente de 110 V. Posteriormente a encenderlo, se aguardó hasta que los parámetros de análisis se estabilicen. El uso de esta prueba se da de forma cualitativa y cuantitativa debido a que ayuda a la identificación de grupos funcionales y a la determinación de la concentración de la muestra [14]. Realizar el barrido espectral. Se utilizó el programa Spectra Analysis para procesar el espectro (corregir las escalas y línea de base y eliminar el CO₂) e identificar y etiquetar los picos más relevantes. Posteriormente se trabajó con el programa Origin para realizar las gráficas.

La espectroscopia infrarroja se basa en que las moléculas absorben frecuencias características de su estructura. Esto se produce a frecuencias resonantes y la radiación incidente que atraviesa la muestra es la transmitancia. Con este proceso se verifica si la síntesis de gelatina metacrilato se realizó en una condición correcta [15].

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Extraer el portaobjetos y limpiarlo. Se situó pequeños pedazos de cinta conductora de doble cara y se colocó todas las muestras sobre esta. Luego, se roció aire comprimido para evitar el polvo e inmediatamente se volvió a poner el portaobjeto. Las imágenes son tratadas en el programa ImagenJ para obtener el promedio del perímetro, desviación estándar.

Técnica de la gota sésil (SD)

Colocar la muestra dentro del equipo y con una micropipeta dejar caer una gota de agua sobre ella durante todo este tiempo se realizó una serie de fotografías o imágenes. El ángulo se mide con ayuda del software Kinovea.

3. RESULTADOS

Las muestras finales tienen una estructura consistente y viscosa; su color es blanco.

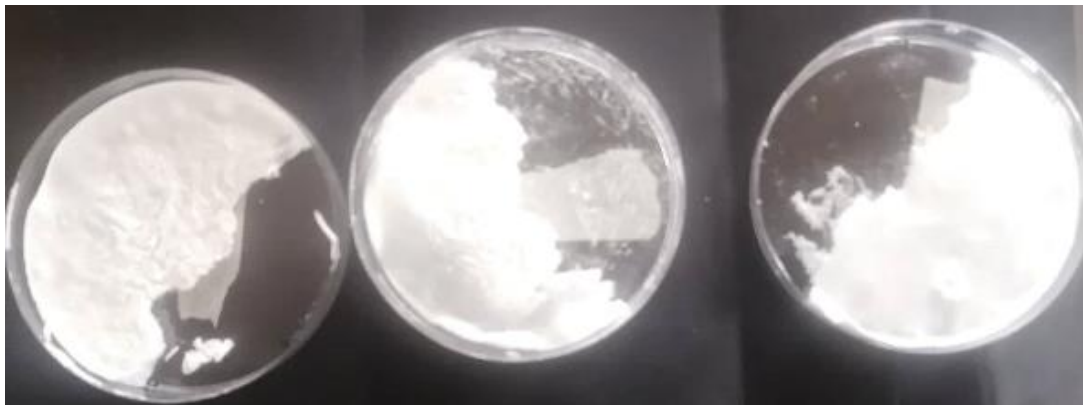


Figura 1. Gelatina metacrililoila

Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 2 (A) se presentan tres espectros FTIR de las muestras 1, 2 y 3. En las tres muestras se encuentra presente un pico que representa al grupo amino funcional con estiramiento N-H. Sin embargo, se distingue una diferencia pues tienen una transmitancia distinta observando que la muestra 2 tiene la menor transmitancia y un pico más fuerte entre ellos, se le puede visualizar en el rango 3216.68 y 3312.96 cm^{-1} .

El pico de 1635.34 cm^{-1} en las tres gráficas es el C=O (grupo de estiramiento) y está relacionado con la amina I (línea entrecortada rosa). Este es similar en las muestras 1 y 3; la línea entrecortada de color negro es donde se ubica el pico de la amida terciaria en el punto de 1230.36 cm^{-1} para las muestras 1 y 2, y 1234.22 cm^{-1} para la muestra 3. Con respecto a la amida II está representada por el color café y esta entre 1528.77 y 1442.49 cm^{-1} , el segundo valor es constante para las tres muestras mientras que el primero varía, el espectro en estas dos últimas tiene la misma forma, pero con diferentes valores de transmitancia. No obstante, es más notorio para la muestra 2 que presenta picos distinguibles fácilmente. Se observa que además en 2923.56 cm^{-1} existe un pico de un OH, aunque es más fuerte en el espectro rojo. Toda esta información se puede corroborar en la Figura 2 (A).

Muestras variando el tiempo de reacción.

En los espectros de las muestras (Figura 2 B) se percibe que son similares en su forma, pero existe una pequeña variación en sus valores, pero no muy significativa. Se observa el pico representativo del grupo amino funcional con estiramiento N-H que se encuentra alrededor del punto 3324 cm^{-1} con una transmitancia de 84%. El pico del grupo de estiramiento C=O se encuentra entre 1631 a 1635 cm^{-1} aproximadamente este se relaciona con la amina I (la línea entrecortada verde) con una transmitancia de 84%. El pico de la amida terciaria (línea entrecortada morado) está entre 1234 y 1232 cm^{-1} . Con respecto a la amida II está representada por el color naranja, tiene dos picos el uno levemente más fuerte que el otro y el primero está entre 1543 a 1545 cm^{-1} , el segundo valor está en el punto 1442 cm^{-1} , los valores de transmitancia para las muestras son similares.

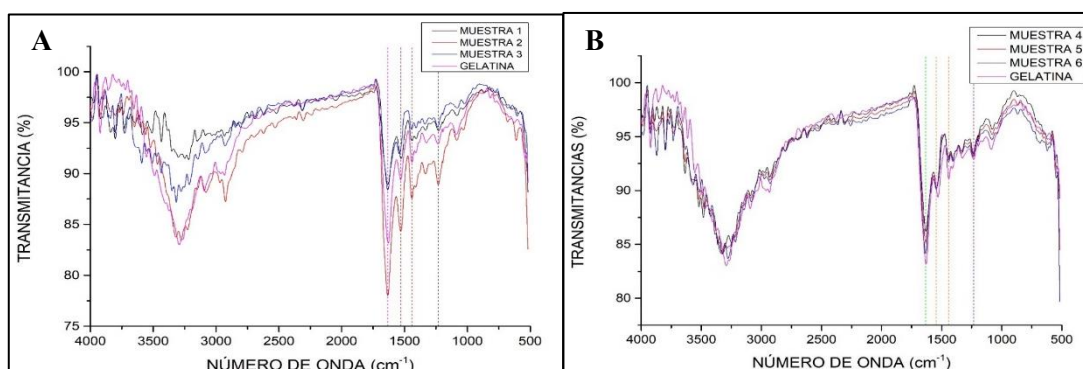


Figura 2. Análisis del espectro FTIR de las muestras de gelatina metacrililoila GelMA y gelatina (A). espectros de las muestras 1,2,3 y gelatina (B). espectros de las muestras 4, 5, 6 y gelatina.

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Muestras variando la proporción del anhídrido metacrilato

En la muestra 1 y 3 se usó la escala de 200 μm , mientras que para la muestra 2 fue de 100 μm ; los lentes fueron de 90, 140 y 74 respectivamente. En la imagen superior izquierda (muestra 1) se percibe un poro que sobresalta en el centro y otros minúsculos alrededor. En la muestra 2 la parte derecha de la imagen se encuentra más clara mientras que la izquierda es un poco distorsionada sin embargo se puede notar algunos poros. En la imagen inferior (muestra 3) se visualiza un poro de un tamaño formidable en la parte derecha de la imagen y otros pequeños (Figura 3).

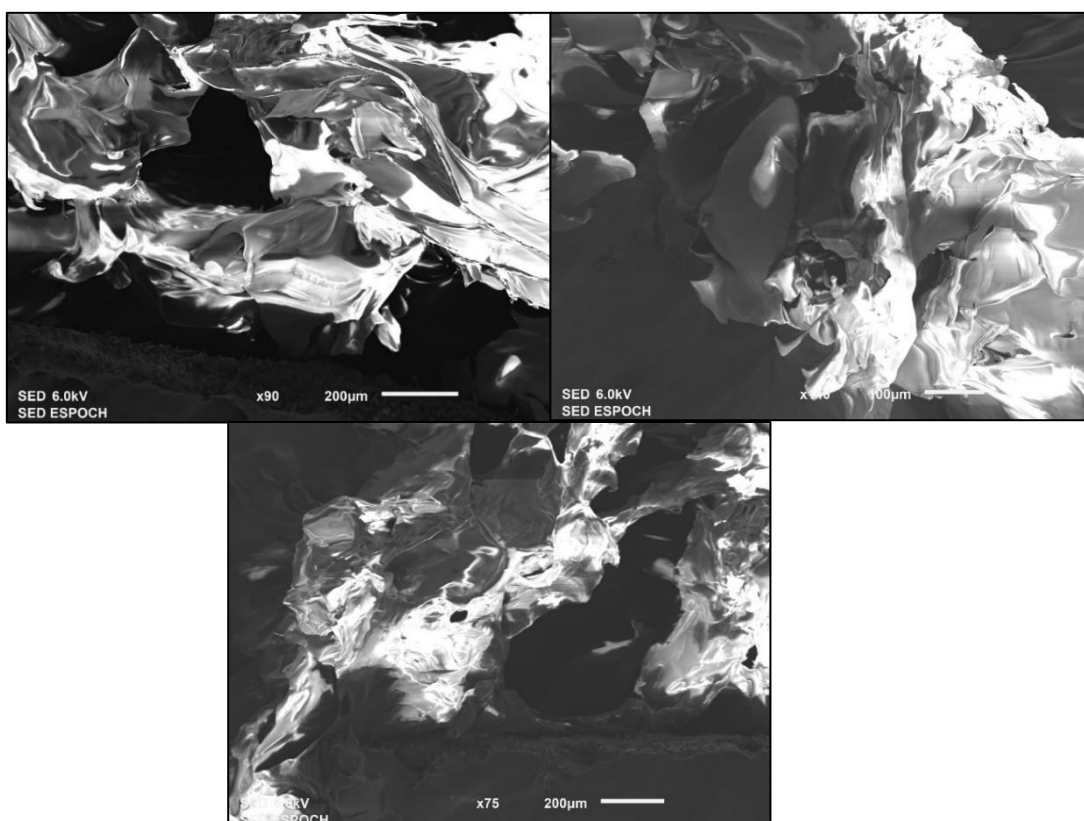


Figura 3. SEM micrografía de Gelma 8% v/v muestra 1 (imagen superior izquierda), muestra 2 (imagen superior derecha), muestra 3 (imagen inferior).

Se verifica los datos obtenidos a través de las imágenes SEM. La muestra 1 presenta una desviación estándar de 168.164 μm y un promedio de poro de 151.020 μm . Se observa la siguiente muestra con promedio de 56.527 μm y con una desviación estándar de 47.722 μm . En la muestra 3 se tiene un promedio de 125.975 μm con una desviación estándar de 116.350 μm (Tabla 3).

Tabla 3. Promedio del perímetro y desviación estándar de las muestras 1, 2, 3.

	Promedio	Desviación Estándar
Muestra 1	151.020	168.164
Muestra 2	56.527	47.722
Muestra 3	125.975	116.350

Muestras variando el tiempo de reacción.

La escala para la muestra 4 y 5 fue de 200 μm , mientras que para la muestra 6 fue de 100 μm . Los lentes fueron de 60, 90 y 170 respectivamente. En la imagen superior izquierda (Figura 4) se visualiza aproximadamente de tres secciones en donde la imagen es más clara y a sus alrededores es opaca; en la imagen siguiente a la anterior está presente una mancha negra mientras que en la derecha se encuentra la sección de la cual se consideró los poros. La inferior es opaca, en tono gris y blanco.

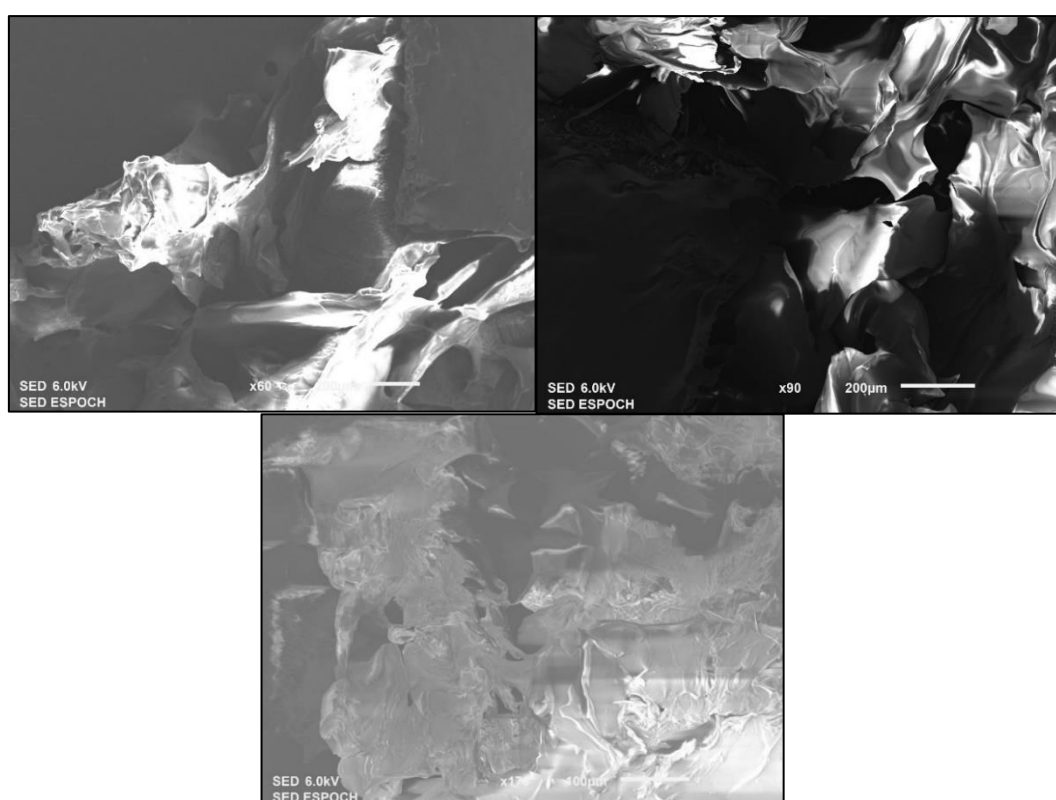


Figura 4. SEM micrografía de Gelma 8% v/v, 3 horas de tiempo de reacción muestra 4 (imagen superior izquierda), muestra 5 (imagen superior derecha), muestra 6 (imagen inferior).

El promedio de todo el grupo de datos con respecto al perímetro de la muestra 4 es de 129.915 μm ; tiene una desviación estándar de 116.567 μm . La muestra 5 tiene un promedio de 118.682 μm esta cantidad se relaciona con el tamaño promedio del poro y se conoce que la desviación estándar es de 69.581 μm . El promedio de los 12 datos de la muestra 6 es de 98.603 μm y su desviación estándar es de 104.695 μm (Tabla 4).

Tabla 4. Promedio del perímetro y desviación estándar de las muestras 1, 2, 3.

	Promedio	Desviación Estándar
Muestra 4	129.915	116.567
Muestra 5	118.682	69.581
Muestra 6	98.603	104.695

Prueba de ángulo de contacto

Muestras variando la proporción del anhídrido metacrilato

La muestra con 2 ml de anhídrido metacrílico y 180 minutos de reacción presentó un ángulo de contacto de 65° afirmando que el grado de mojabilidad es alta, con respecto a las fuerzas intermoleculares para el sólido son fuertes y del líquido son débiles (Figura 5 A). La muestra 2 tiene un ángulo de contacto de 62° por lo que tiene un alto grado de mojabilidad y sus fuerzas intermoleculares son para el sólido fuerte y para el líquido es débil como se observa en la figura 5 (B). En la Figura 5 (C) se visualiza que el ángulo de contacto es 54° , se percibe que la gota se encuentra de una manera inclinada en la muestra. El sólido tiene una fuerza intermolecular fuerte y el líquido una débil esto se debe a que el grado de mojabilidad es alto [16].

Muestras variando el tiempo de reacción.

La mojabilidad es muy alta en la muestra 4, lo cual se confirma con la Figura 5 (D) donde el ángulo de contacto encontrado es de 63° por esa razón las fuerzas intermoleculares son fuertes para el sólido y débil para el líquido. Esto es parecido en la muestra con anhídrido constante y tiempo de reacción de 120 minutos se debe a que tiene un ángulo de contacto de 65° menor a 90° por esta razón también el grado de mojabilidad es alto (Figura 5 E). En la última muestra se presenta un ángulo de contacto de 64° pues el fluido se extiende sobre la superficie es decir tiene alto grado de mojabilidad y sus fuerzas intermoleculares son similares a las anteriores ver Figura 5 (F).

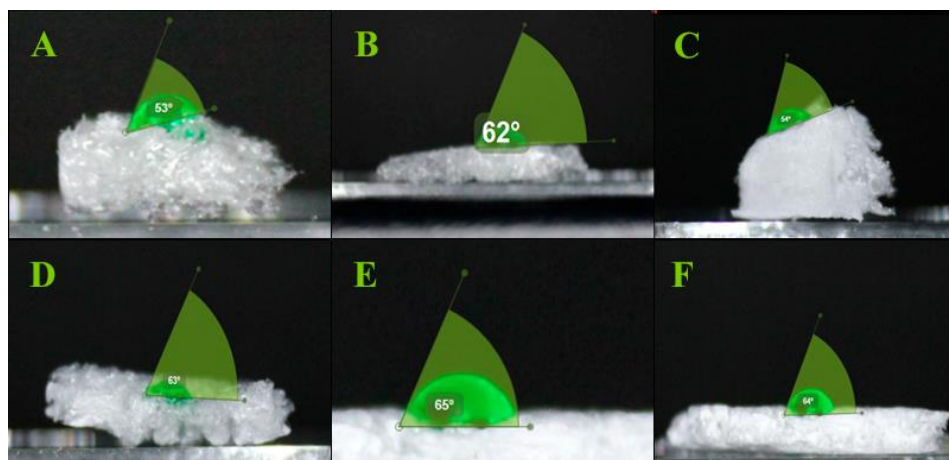


Figura 5. Ángulos de contacto de las muestras de gelatina metacrilato GelMA. (A). muestra 1. (B) muestra 2. (C) muestra 3. (D) muestra 4. (E) muestra 5. (F) muestra 6.

4. DISCUSIÓN

Se basó en los estudios de Yua et al. para la síntesis de GelMA, [17][10][13], pues este estudio tiene resultados favorables por ello se escogió para realizar las muestras variando el tiempo de reacción.

Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

El espectro FTIR de la gelatina metacrililoila muestra en general los grupos funcionales químicos y los grupos funcionales metacrílicos injertados en el residuo de lisina de la gelatina. Los picos que se encuentran entre 2923.56 cm^{-1} y 2800 cm^{-1} en el hidrogel indican la presencia de los grupos funcionales de gelatina y entre los puntos 3500 a 3700 cm^{-1} están ubicados los del anhídrido metacrílico.

Prueba de ángulo de contacto

Las muestras con tiempo de reacción constante presentan alto grado de mojabilidad porque todos sus ángulos son menores a 90° y no tiene gran diferencia entre ellos ver la Figura 6 (A). Sin embargo, la muestra 1 tiene un ángulo de contacto de 65° siendo mayor entre estas, resultando ser mejor porque mientras mayor sea este valor menor será su mojabilidad, pero su hidrofobicidad es mayor y por ende su degradación será lenta [18-19]. En la Figura 6 (B) se da a conocer que los ángulos de contacto de las muestras con anhídrido metacrílico constante son menores a 90° , teniendo un alto grado de mojabilidad, pero se puede visualizar que entre las tres la mayor es la muestra 5 con 66° teniendo menor mojabilidad y por ende su hidrofobicidad será mayor entonces su degradación en el tiempo será más lenta.

Microscopía electrónica de barrido

El resultado que se obtuvo no fue muy satisfactorio esto se debe a que las imágenes no muestran en su totalidad la estructura de cada muestra pues al no ser conductoras el sistema no las analiza perfectamente ya que el haz de electrones no se centra en el área debida para evitar esta circunstancia se debe recubrirlas de oro (Au) pero no se logró realizar por la falta del equipo. El tamaño del poro promedio y su desviación estándar podrían variar debido a que la estructura morfológica porosa se observará con claridad y se notará más específicamente el área a estudiar; es decir, aparecerán mayor cantidad de poros, cuando la muestra sea recubierta de oro. Sin embargo, los resultados e imágenes obtenidos pueden ser una guía de como mínimamente debe salir la estructura pues no se presentó demasiados cambios con investigaciones anteriores [9].

Ramalingam en su estudio “Aqueous-mediated synthesis and characterization of gelatin methacryloyl for biomedical application” [9], obtuvieron el hidrogel GelMA con un tamaño promedio de poro de $80\text{ }\mu\text{m}$ y aseveran que mientras mayor sea este dato (porosidad) mejor será la difusión de oxígeno. Entonces, con base en aquello, en la Figura 7 (A) se puede observar la diferencia que existe entre las muestras con respecto a su porosidad visualizando que la muestra 2 tiene un tamaño promedio de poro menor, mientras que la 1 es la que tiene mayor promedio, por lo que se considera mejor para la difusión de oxígeno. En la Figura 7 (B) se muestra que la porosidad va reduciendo mientras el tiempo de reacción es menor, pero su variación o diferencia entre ellas no es muy amplia. La muestra 6 es la que tiene menor tamaño promedio del poro con respecto a las demás esto considerando los resultados de la microscopía electrónica de barrido con un promedio de 98.603 micras .

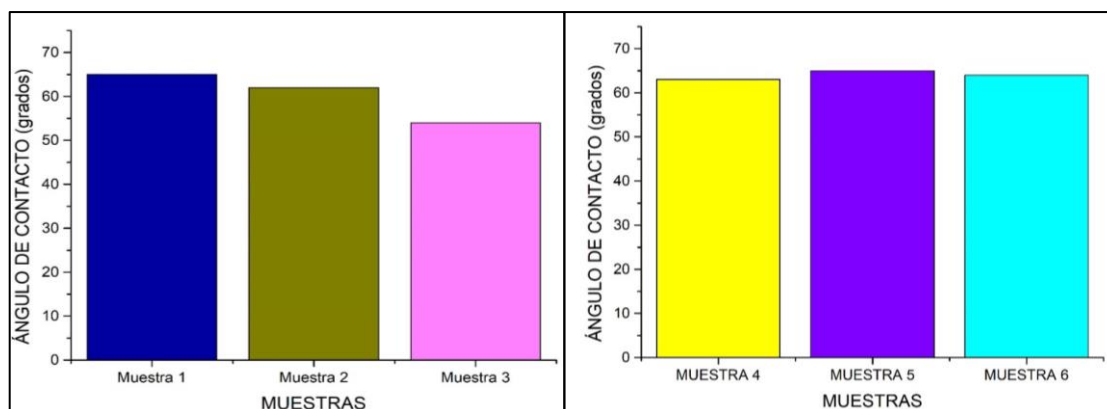


Figura 6. Comparación de los ángulos de contacto: (A) Muestras con variación de anhídrido metacrílico. (B) Muestras con variación del tiempo de reacción.

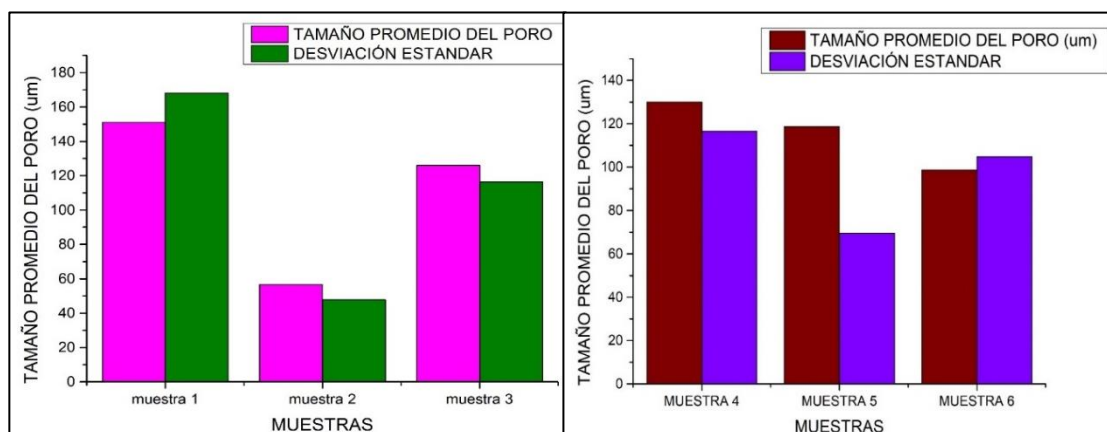


Figura 7. Comparación el tamaño promedio del poro: (A) Muestras con variación de anhídrido metacrílico. (B) Muestras con variación del tiempo de reacción.

5. CONCLUSIONES

Se sintetizó gelatina metacrilato a través del uso del anhídrido metacrílico (MA) para modificar la gelatina basándonos en la técnica de reacción con solución salina de fosfato. Al variar la cantidad de anhídrido metacrílico, su primera diferencia se presenció en los grupos químicos a través de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier pues la muestra con mayor cantidad de este parámetro (muestra 2) presenta los picos más relevantes en el grupo amino funcional NH al igual que en las aminas I, II y III. Sin embargo, la que más se apega a los grupos funcionales de la gelatina y anhídrido es la muestra 1 que tiene una concentración de 8% v/v con 15 gr de gelatina. Con la microscopía electrónica de barrido se concluyó que la muestra 1 tiene la porosidad adecuada para difusión de oxígeno ya que aquella tuvo un tamaño promedio de poro de 151 micras siendo mayor que las demás ya que, mientras el MA era menor el ángulo de contacto igualmente lo sería, pero estos ángulos se encontraban entre 0 y 90° aunque la muestra 3 presentó un ángulo de 54° siendo el menor de su grupo. No obstante, todas las muestras tienen alto grado de mojabilidad y su degradación en el tiempo es lenta.

El tiempo de reacción con respecto a la cantidad de anhídrido son relativamente parecidos. Sin embargo, en los resultados los espectros FTIR presentan el pico del grupo funcional NH al igual que los picos de las aminas I, II y II, mientras que la porosidad no tiene mucha diferenciación entre ellos se encuentra en un rango de 90 a 130μm y en la propiedad de mojabilidad todos tienen una mojabilidad alta debido a que sus ángulos de contacto son menores a 90° pero la muestra 5

(120 min de reacción) es el mayor por lo que se considera mejor porque tiene mayor hidrofobicidad y su degradación es más lenta.

Para la aplicación en regeneración de tejidos estas propiedades de estas muestras, pero en especial de la 1, resultarán beneficiosas, pues al tener una estructura altamente porosa mejorará la difusión de oxígeno y liberación del mismo por más tiempo, el apoyo al desarrollo celular, aportación de nutrientes a las células, la expulsión de residuos de la matriz y la transmisión de masa también la degradabilidad lenta en el tiempo es necesaria para que se pueda utilizar como biomaterial en esta aplicación al momento de ser cargada con nanopartículas y esto se encuentra relacionado con la hidrofobicidad.

REFERENCIAS

- [1] D. Oto, y H. Oliva, “Métodos para preparar hidrogeles químicos y físicos basados en almidón: Una revisión”. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, vol. 32, no. 2, 2012.
- [2] A. Arredondo y M. Londoño, “Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos,” *Revista Ingeniería Biomédica*, vol. 3, no. 5, pp. 83-94, 2009.
- [3] H. Shirahama et al., “Precise Tuning of Facile One-Pot Gelatin Methacryloyl (GelMA) Synthesis,” *Scientific Reports*, vol. 6, no. 31036, pp. 1-11, 2016.
- [4] P. Fratzl, “Collagen: Structure and Mechanics,” *MA: Springer Science+Business Media*, Boston, 2008.
- [5] F. Lima, “Estudo da difusão de luz em amostras aquosas de colágeno na presença de nanopartículas de CaWO_4 , BaWO_4 , CaMoO_4 , BaMoO_4 e de pigmento de cúrcuma,” *En: repositório Tesis de masterado*, Universidade Federal do Piauí, 2015.
- [6] A. Labeaga, “Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones,” *Tesis de grado*, Universidad Nacional de educación a distancia, 2018.
- [7] L. Carbajal, “Anhídrido metacrílico,” *Thermo Fisher Scientific Inc*, 2021.
- [8] X Zhou et al., “3D Bioprinting a Cell-Laden Bone Matrix for Breast Cancer Metastasis Study,” *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 8, no. 44, pp. 30017–30026, 2016.
- [9] S. Ramesh y M. Ramalingam, “Aqueous-Mediated Synthesis and Characterization of Gelatin Methacryloyl for Biomedical Applications,” *Biointerface Research in Applied Chemistry*, vol. 12, no. 5, pp. 6269–6279, 2021.
- [10] K. Yue et al., “Synthesis, properties and biomedical applications of gelatin methacryloyl hydrogels (GelMA),” *ScienceDirect*, vol. 73, pp. 254–271, 2015.
- [11] M. Zhu et al., “Gelatin methacryloyl and its hydrogels with an exceptional degree of controllability and batch-to-batch consistency,” *Scientific Reports*, vol. 9, no. 1, pp. 1–9, 2019.
- [12] A. Sáenz, “Biomateriales,” *Revista Tecnología En Marcha*, vol. 17, no. 1, pp. 34–45, 2004.
- [13] H. Yoon et al. “Cold Water Fish Gelatin Methacryloyl Hydrogel for Tissue Engineering Application,” *PLoS One*, vol. 11, no. 10, pp. 1-18, 2016.
- [14] G. Barraza et al. “La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos,” *Revista latinoamericana de química*, vol. 41, no. 3, pp. 6–7, 2013.
- [15] A. Dilia et al., “Espectroscopia infrarroja: una técnica alternativa para la identificación de microorganismos,” *Ciencia y Salud*, vol. 4, no. 1, pp. 123-131, 2012.

- [16] G. Piña et al., “Determinación de la energía libre superficial del líquido sinovial humano en biomateriales,” *Ciencia ergo-sum*, vol. 28, no. 3, 2021.
- [17] N. Zoratto et al., “In situ forming microporous gelatin methacryloyl hydrogel scaffolds from thermostable microgels for tissue engineering. Bioengineering & Translational Medicine,” vol. 5, no. 3, pp. 1–12, 2020.
- [18] A. Colorado et al., “Análisis de biomateriales para uso en ingeniería de tejido de piel: revisión,”. *Revista Ingeniería Biomédica*, vol. 7, no. 14, pp. 11–23, 2013.
- [19] S. McCullen et al., “Nanofibrous composites for tissue engineering applications,” *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, vol. 1, no. 4, pp. 369–390, 2009

