

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Hidrogeles y aerogeles con almidón oxidado
de melloco entrecruzado con quitosano para la liberación
controlada de fármacos**

Michelle Stefanía Pinto Vega

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniero Químico

Quito, 4 de mayo de 2020

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Hidrogeles y aerogeles con almidón oxidado
de melloco entrecruzado con quitosano para la liberación
controlada de fármacos**

Michelle Stefanía Pinto Vega

Nombre del profesor, Título académico

José Álvarez, PhD.

Quito, 4 de mayo de 2020

DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Michelle Stefanía Pinto Vega

Código: 00130834

Cédula de identidad: 172035068-3

Lugar y fecha: Quito, 4 de mayo de 2020

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

Los almidones han sido utilizados en la ingeniería biomédica, principalmente para la ingeniería de tejidos y liberación controlada de fármacos, debido a su alta disponibilidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad y baja citotoxicidad. Estos son modificados por varios métodos, como la oxidación con peryodato sódico ($NaIO_4$), por el cual se obtiene almidón dialdehído (DAS), mejorando sus propiedades físicoquímicas. La mayoría de estudios están basados en almidón de papa y yuca, mientras que otras fuentes menos convencionales, como el melloco (*Ullucus tuberosus*) ha sido poco investigado en este campo. Por esta razón, en este trabajo se obtuvo DAS con dos grados de oxidación, llamados DAS 12 y DAS13. Este proceso fue caracterizado mediante la cuantificación de grupos carboxilos. Posteriormente, se desarrolló hidrogeles y aerogeles con DAS12 y DAS13 entrecruzado con quitosano (CHIT) a diferentes composiciones másicas para analizar la presencia de una base de Schiff por medio de FT-IR, su morfología por SEM y pruebas de hinchamiento para analizar la estabilidad. Se corroboró la formación de iminas como mecanismo de entrecruzamiento. Los aerogeles tienen mejores propiedades de absorción; es decir, su capacidad de hinchamiento es eficiente debido al tamaño de sus poros. Además, al aumentar la proporción de CHIT su degradación es paulatina ya que este recubre a la estructura porosa. Finalmente, se verificó que a menor grado de oxidación, los aerogeles son más estables, por consiguiente, se han convertido en una herramienta fundamental de estudio y aplicación en la ingeniería biomédica principalmente en la liberación controlada de fármacos.

Palabras clave: almidón dialdehído (DAS), hidrogeles, aerogeles, grado de oxidación, hinchamiento.

ABSTRACT

Starches have been used in biomedical engineering, mainly for tissue engineering and controlled drug release, due to their high availability, biocompatibility, biodegradability, and low cytotoxicity. These are modified by various methods, such as oxidation with sodium periodate ($NaIO_4$), by which dialdehyde starch (DAS) is obtained, improving its physicochemical properties. Most studies are based on potato and cassava starch, while other less conventional sources, such as melloco (*Ullucus tuberosus*), have been little investigated in this field. For this reason, in this work, DAS was obtained with two degrees of oxidation, called DAS 12 and DAS13. This process was characterized by the quantification of carboxyl groups. Subsequently, hydrogels and aerogels with DAS12 and DAS13 cross-linked with chitosan (CHIT) were developed to different mass compositions to analyze the presence of a Schiff base by means of FT-IR, its morphology by SEM and swelling tests to analyze stability. The formation of imines as a crosslinking mechanism was confirmed. Aerogels have better absorption properties; that is to say, its swelling capacity is efficient due to the size of its pores. In addition, by increasing the proportion of CHIT, its degradation is gradual since it covers the porous structure. Finally, it was verified that at a lower degree of oxidation, aerogels are more stable, therefore, they have become a fundamental tool for study and application in biomedical engineering, mainly in the controlled release of drugs.

Key words: dialdehyde starch (DAS), hydrogels, aerogels, degree of oxidation, swelling.

AGRADECIMIENTO

Deseo agradecer a Dios, por su amor e infinita bondad por permitirme alcanzar una meta y culminar una de las mejores etapas de mi vida. A mi familia, por ser mi motor, mi empuje y haberme dado el mejor regalo, la educación. También me gustaría extender mi agradecimiento de manera especial y sincera a mi Profesor José Álvarez por darme la oportunidad de llevar a cabo este trabajo bajo su dirección contando con su apoyo, orientación y consejos útiles para el desarrollo y culminación de esta investigación, al Laboratorio de Biomateriales-IDEMA y, de igual manera a Carolina Andino y Daniela Viteri del Departamento de Ingeniería Química de la USFQ por su cooperación y guía en los diferentes análisis.

TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	11
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.1.	Materiales	14
2.2.	Extracción del almidón.....	14
2.3.	Caracterización proximal del almidón nativo	14
2.4.	Oxidación del almidón de melloco.....	15
2.5.	Caracterización del almidón oxidado	15
	Grupos carboxilo.....	15
2.6.	Formulación de hidrogeles y aerogeles	16
2.7.	Microscopia electrónica de barrido (SEM)	16
2.8.	Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	16
2.9.	Grado de hinchamiento	17
2.10.	Análisis estadístico	17
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
3.1.	Extracción y caracterización del almidón	18
3.2.	Almidón oxidado.....	19
	Contenido de grupos carboxilo.....	19
3.3.	Desarrollo de hidrogeles y aerogeles	21
	Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	22
	Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).	23
	Estabilidad de hidrogeles y aerogeles	25
4.	CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES	30
5.	REFERENCIAS.....	31
6.	ANEXOS	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proporciones másicas de entrecruzamiento entre DAS12 y DAS13 con quitosano.	16
Tabla 2. Caracterización proximal del almidón de melloco.	18
Tabla 3. Contenido de grupos carboxilos en el almidón nativo (NAT) y DAS de melloco ...	19

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de elaboración: Fig. 1a) DAS, Fig. 1b) Chit, Fig. 1c) hidrogel y Fig. 1d) aerogel.....	21
Figura 2. Microscopia electrónica de barrido de las muestras liofilizadas de DAS12:CHIT a diferentes composiciones: Fig. 2a) (1:1), Fig. 2b) (1:2) y Fig. 2c) (2:1)	23
Figura 3. Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier: Fig. 3a) DAS12:CHIT y Fig.3b) DAS13:CHIT a diferentes composiciones.	24
Figura 4. Cinética de hinchamiento DAS12:CHIT a diferentes composiciones a) hidrogeles y b) aerogeles.	27
Figura 5. Cinética de hinchamiento DAS13:CHIT a diferentes composiciones de Fig. 5a) hidrogel y Fig. 5b) aerogel.....	29

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Grado de oxidación de hidrogeles para %Hinchamiento.....	35
Anexo B. Proporciones másicas hidrogeles para %Hinchamiento.....	35
Anexo C. Tiempo de hinchamiento hidrogeles.	35
Anexo D. Grado de oxidación: proporciones másicas para %Hinchamiento.....	35
Anexo E. Grado de oxidación de aerogeles para %Hinchamiento.....	35
Anexo F. Proporciones másicas aerogeles para %Hinchamiento.	36
Anexo G. Tiempo de hinchamiento para aerogeles.....	36
Anexo H. Grado de oxidación: proporciones másicas para %Hinchamiento.	36

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el estudio de la liberación controlada de sustancias activas ha sido de gran interés dentro de la ingeniería biomédica, ya que busca una alternativa que permita que los tratamientos sean más eficientes y efectivos; uno de ellos es el empleo de nuevos materiales como los hidrogeles y aerogeles (Narayanaswamy & Torchilin, 2019). Los hidrogeles se caracterizan por su permeabilidad, consistencia suave, baja tensión interfacial, facilidad de purificación y principalmente, contenido de agua con alto equilibrio que las hace similares a las propiedades físicas de los tejidos vivos (Elvira et al., 2002). Por otro lado, se encuentra los aerogeles, son materiales ultraligeros porosos sintéticos derivados de un gel, en el que el líquido del gel ha sido reemplazado por un gas (Zhu, 2019); además, estos se caracterizan por tener mayor área superficial (Siaw Chien, 2015), gran capacidad de hinchamiento debido a su alta porosidad (85.99%), permitiendo que el transporte de fármacos sea más eficiente (De Marco et al., 2016). Para ambos casos, se usan biomateriales, estos pueden ser de origen sintético y natural; para el caso de los sintéticos, se consideran a los polímeros biodegradables que, generalmente son utilizados en tratamientos médicos. Sin embargo, estos presentan algunas desventajas debido que su estructura y composición presentan diferencias con al tejido humano por lo que, su biocompatibilidad es mínima; por esta razón, se ha llevado a cabo investigaciones con biomateriales naturales tales como los basados en proteínas, polisacáridos y tejidos descelularizados (I et al., 2012). Uno de ellos es el almidón nativos; sin embargo, este independiente de su fuente no es deseable para muchas aplicaciones industriales debido que presenta ciertas limitaciones por lo que, necesariamente se tiende a modificar sus propiedades físicoquímicas para que estos sean aptos; este proceso implica la desestructuración de los gránulos semicristalinos y la dispersión efectiva de los polímeros permitiendo que los sitios activos se vuelvan asequibles por los reactivos (Martins & Rodrigues, 2012).

La región andina del Ecuador es conocida por su gran diversidad de tubérculos y cereales debido a su alta cantidad de carbohidratos que estos poseen, principalmente del almidón (Vimos et al., 1993). Varios estudios han demostrado que las plantas tuberosas presentan alrededor de 16 – 24% del almidón en su estructura, pero ciertos tubérculos como el melloco (*Ullucus tuberosus*) poseen 35% del mismo y una alta resistencia a cambios de temperatura y sequías (Pacheco et al., 2019). Como se mencionó anteriormente, el almidón es de gran interés investigativo debido que está conformado por dos polisacáridos como la amilosa y amilopectina; a su vez son de fácil obtención y económicos. Además, este polisacárido se caracteriza por la fuerza de sus enlaces de hidrógeno entre las moléculas del almidón por esto, los pesos moleculares son significantes lo que facilita la absorción de agua, degradación y envejecimiento (Zuo et al., 2017). Sin embargo, en su estado natural, presenta ciertas propiedades que no favorecen a su estabilidad en medios acuosos, dificultando su aplicación en tecnologías biomédicas; por esto, se realizan modificaciones físicas, químicas o enzimáticas que favorezcan a su estructura y mejoren dichas propiedades para diversas aplicaciones (Ismail et al., 2013).

La técnica más común de modificación hacia las propiedades de biomateriales es la química como por ejemplo la oxidación, esterificación, eterificación entre otros (Bonilla et al., 2013). La oxidación consiste en la transformación de grupos hidroxilos a grupos carbonilos y carboxilos en las moléculas del material obteniendo en este caso almidón dialdehído (DAS). La obtención de dicho material se debe al empleo de agentes oxidantes como el hipoclorito de sodio y calcio; permanganato, peróxidos, persulfatos y peryodatos (Zhang et al., 2012). En el presente proyecto, se propone utilizar al peryodato sódico como agente oxidante debido a que varias investigaciones han demostrado que los cambios producidos en sus propiedades fisicoquímicas han proporcionado mejores resultados en el entrecruzamiento con otros elementos biocompatibles (Charhouf et al., 2014). Este almidón oxidado tiene la capacidad de

interactuar con varios biopolímeros, como el quitosano. La oxidación generará grupos dialdehídos en la estructura del almidón; estos podrán reaccionar con los grupos aminos del quitosano para la formación de una base de Schiff y contribuir a la formación del hidrogel y su estabilidad (Wu et al., 2018).

El quitosano, polisacárido derivado de la quitina que se aísla de los exoesqueletos de crustáceos, es biocompatible, biodegradable y tiene propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Lozano-Navarro et al., 2018). Esto se debe a que este material se encuentra ligado a cadenas de glucosamina y N-acetilglucosamina (Charhouf et al., 2014); además, por esta razón, el grupo amina presente tiene la facilidad de reaccionar con grupos carbonilos y carboxilos del DAS, generando una mayor estabilidad en el entrecruzamiento y por lo tanto, estructuras de potencial uso en las biomedicina, donde pueden ser utilizadas como apósitos y en la liberación controlada de fármacos (Rodríguez, 2019).

Existe, en la literatura, reportes de hidrogeles de quitosano y almidón oxidado, con un alto potencial de aplicación biomédica (Ratnayake & Jackson, 2003): sin embargo, la mayor parte de estos estudios se han realizado con almidón de papa debido a su alta cantidad de amilosa y amilopectina. Si bien es cierto que las propiedades del almidón no dependen de su fuente, no se ha estudiado la implementación de otros almidones en estos sistemas de hidrogel. En consecuencia, el enfoque de este estudio es con una fuente de almidón típica del Ecuador, melloco (*Ullucus tuberosus*). De esta manera, el objetivo de este trabajo es observar el comportamiento de los hidrogeles y aerogeles de almidón oxidado (DAS) entrecruzado con quitosano para aplicaciones futuras en la liberación controlada de fármacos. El almidón extraído será oxidado a diferentes concentraciones de peryodato sódico y entrecruzarlo con quitosano para la formación de hidrogeles y, posteriormente, de aerogeles con la finalidad de analizar los cambios en sus propiedades fisicoquímicas luego de dicha modificación como la

cuantificación de grupos funcionales, morfología, y estabilidad en un fluido simulado al cuerpo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

En esta investigación se usó el almidón de Melloco (*Ullucus tuberosus*) de la región interandina del Ecuador; Peryodato sódico al 99% para la oxidación; Propilenglicol (propano-1,2-diol) para detener la reacción y finalmente, Quitosano de peso molecular medio (Sigma, 417963).

2.2. Extracción del almidón

La extracción del almidón de *melloco* se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por Valcárcel-Yamani et al., (2013). Brevemente, los tubérculos fueron pesados, lavados y cortados, para luego ser homogeneizados en la licuadora con agua destilada (1: 2). El homogenizado fue filtrado, y el almidón se dejó sedimentar por 4. Posteriormente, este se lavó cinco veces con agua destilada; y etanol al 97%; para luego ser secado a 40°C. El rendimiento porcentual, se obtiene por la ecuación (1) descrito por en el protocolo de Elmi Sharlina et al., (2017):

$$\% \text{ Almidón} = \frac{\text{almidón extriado [g]}}{\text{tubérculo fresco [g]}} \times 100\% \quad (1)$$

2.3. Caracterización proximal del almidón nativo

El contenido de grasas se determinó de acuerdo al método EPA 3540 descrito por Abrha & Raghavan (2000). El contenido de proteínas fue analizado por el método Kjeldahl descrito por da Silva et al., (2016), y el porcentaje de cenizas fue cuantificado por el método gravimétrico dado por Brener y Diconsa, (1978.)

2.4. Oxidación del almidón de melloco

La preparación del almidón oxidado, también almidón dialdehído (DAS), se basó en el protocolo de Usman et al., (2016) con ciertas modificaciones. Se utilizó el almidón de melloco al 5 (%*p/v*) y peryodato sódico al 2 (%*p/v*), se homogeneizaron ambas soluciones. La oxidación se llevó a cabo protegida de la luz, a un pH de 3, durante 5 horas, y se detuvo a la reacción con 2 mililitros de propilenglicol. Finalmente, la muestra se filtró, se lavó por 3 veces con agua destilada y se dejó secar en el horno a 40°C. La oxidación se realizó con proporciones de DAS:periyodato 1: 2 y (1: 3), en adelante estos serán llamados DAS12 y DAS13, respectivamente

2.5. Caracterización del almidón oxidado

Grupos carboxilo.

El almidón oxidado se caracteriza por la cuantificación de grupos carboxilos presentes luego de su modificación.

Para los carboxilos, se modifica el método empleado por Parovouri, et al., se utilizó un 1 gramo de DAS en 60 mililitros de agua destilada. Se calentó hasta que la muestra espese o gelatinice, se dejó enfriar a temperatura ambiente. Finalmente, se reguló el pH a 8.2 utilizando hidróxido de sodio (*NaOH*) 0.01 [M] (citado en Matsuguma et al., 2009). La cantidad de grupos carboxilos presentes, se calcula por la ecuación (3):

$$\frac{COOH}{100GU} = \frac{(V_s - V_b) \times M \times 0.045 \times 100}{W} \times 100\% \quad (3)$$

Donde, V_b es el volumen de la titulación del blanco, V_s volumen de la titulación de la muestra, M molaridad del *NaOH* y W es el peso de la muestra inicial (seca). Este análisis se realiza por triplicado y de igual manera al almidón nativo.

2.6. Formulación de hidrogeles y aerogeles

Se realizó el entrecruzamiento con el almidón oxidado y la solución de quitosano (CHIT) con $pH = 5.5$, mencionado en el protocolo de Rodríguez, (2019). El almidón al 5%, se gelatinizó entre $80 - 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agitación constante. Finalmente, se utilizaron proporciones másicas de entre DAS:CHIT; los cuales se muestran en la Tabla 1. Estas soluciones se colocaron en un caja de 6 pocillos, se mezclaron rápidamente, y se dejaron entrecruzar durante 4 horas a temperatura ambiente, formando los hidrogeles. Para la obtención de los aerogeles, los hidrogeles fueron congelados a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y liofilizados. La Tabla 1 detalla las composiciones estudiadas para la formulación de ambas estructuras (hidrogeles y aerogeles) tanto para DAS12 y DAS13, respectivamente.

Tabla 1

Proporciones másicas de entrecruzamiento entre DAS12 y DAS13 con quitosano.

DAS	Quitosano 3%
1	1
1	2
2	1

2.7. Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Se cortó una sección de la muestra y se colocó en una cita de carbono. Las muestras fueron observadas en un Microscopio Electrónico de Barrido, JEOL JSM-IT300, a 5 kV, 50 Pa y un aumento entre 500X-1500X, utilizando electrones secundarios.

2.8. Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Se utilizó el espectrómetro Cary 630 FTIR de Agilent Technologies, para analizar las muestras de diferentes formulaciones de aerogeles de DAS:Quitosano.

2.9. Grado de hinchamiento

A partir del método descrito por Li et al., (2016)., se midió el grado de hinchamiento de los hidrogeles y aerogeles. Se colocó las muestras en placas de 6 pocillos, y se sumergieron en buffer fosfato salino (PBS. pH 7.4) dentro de una incubadora a 30°C. Se tomó el peso inicial de las muestras y posteriormente, se registraron las variaciones de peso durante 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300, 1440, 2880 y 4320 *minutos*.,. El porcentaje de hinchamiento se determinó mediante la ecuación (4).

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{(w_t - w_0)}{w_0} \times 100\% \quad (4)$$

Donde w_0 es la masa inicial del hidrogel o aerogel y w_t es la masa de las muestras correspondiente al tiempo.

2.10. Análisis estadístico

Los análisis se llevaron a cabo por triplicado ($n = 3$); cada resultado presenta el promedio y su desviación estándar correspondiente. Efectos significativos se determinaron por un análisis de varianza (ANOVA), y diferencias se determinaron por la prueba de comparación por pares de Tukey, con un nivel de confianza del 95% ($p > 0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente proyecto estudia la aplicación de un almidón poco investigado en la creación de hidrogeles con potencial uso en la ingeniería biomédica. Se utilizó el almidón de melloco de la región andina del Ecuador, el cual fue extraído por un proceso mecánico, y oxidado para generar un almidón dialdeído, DAS, con dos diferentes grados de oxidación. Finalmente, se generaron hidrogeles y aerogeles, entrecruzados con quitosano (CHIT), a diferentes composiciones, y se analizaron distintas propiedades de estos.

3.1. Extracción y caracterización del almidón

El proceso de extracción del almidón de melloco (*Ullucus tuberosus*) tuvo un rendimiento del 10% con respecto a la masa inicial del tubérculo. Este valor difiere con lo reportado previamente en la literatura, que fluctúa entre 5 y 7% (Espín et al., 2004) (Surco, 2005), quizás debido a diferencias en condiciones climáticas y geográficas.

Adicionalmente, el almidón nativo se caracterizó por los análisis de grasa, proteínas y cenizas con los métodos mencionados anteriormente, los mismos fueron comparados con datos obtenidos en la literatura, descritos en la Tabla 2.

Tabla 2

Caracterización proximal del almidón de melloco.

Valores Análisis	Experimental [%p/p]	Literatura [%p/p]
Grasa [%]	0.87±0.005	0.14-0.34 *
Proteínas [%]	0.82±0.002	0.29-1.18 *
Cenizas [%]	1.26±0.001	0.24-1.24 **
Pureza [%]	97.05±0.007	98.45 *

* (Cruz et al., 2016).

** (Velásquez-Barreto & Velezmoro, 2018).

De los valores reportados en la Tabla 2., el almidón de melloco de la región andina del Ecuador, mostró mayor cantidad para los tres análisis, pero dentro de los parámetros; sin embargo, el valor de las cenizas esta fuera del registrado en la literatura, esto puede ocurrir debido a las impurezas como de igual manera a la variación genética del tubérculo, su origen geográfico, clima y condiciones de cultivo (Velásquez-Barreto & Velezmoro, 2018). Adicionalmente, se observó una pureza de 97.05% que si se compara con el valor dado por la literatura es próximo, lo que quiere decir que el proceso con el cual se extrajo el almidón fue el adecuado. Cabe mencionar que los componentes más importantes del almidón son la amilosa y amilopectina, para este se registra una composición de 26% y 74%, respectivamente (Velásquez, 2014), estos valores como el rendimiento son similares a los estudios realizados del almidón de papa para aplicaciones biomédicas los cuales fueron de 24%, 76% y del 12% (Ratnayake & Jackson, 2003) por ello, se puede deducir que los hidrogeles y aerogeles de almidón de melloco tendrá un comportamiento semejante a los de papa.

3.2. Almidón oxidado

Contenido de grupos carboxilo.

La caracterización de la oxidación del almidón dialdehído (DAS), resulta en dos grupos funcionales, carbonilos y carboxilos. En este trabajo, se cuantificó el contenido de carboxilos (Tabla 3) como un indicio de grados de oxidación.

Tabla 3

Contenido de grupos carboxilos en el almidón nativo (NAT) y DAS de melloco.

Muestras	COOH/100 GU
NATIVO	0.063±0.001
DAS 12	0.485±0.001
DAS 13	0.527±0.001

GU: unidades de glucosa.

Como se observa en la Tabla 3., el contenido de carboxilos de NAT fue inferior a los registrados en DAS para ambos casos. Esto ocurre debido que a medida que se va modificando el almidón con una concentración de un agente oxidante en este caso de peryodato sódico, la cantidad de grupos carboxilos se irá incrementando, es decir, es directamente proporcional como se puede percibir entre DAS12 y DAS13. Sin embargo, según la literatura el contenido de carbonilos será aún mayor ya que el peryodato se caracteriza por ser selectivo y por ende, promueve la producción de grupos aldehídos (Wongsagon et al., 2005).

Cabe mencionar que hay que considerar que la formación de estos grupos funcionales no se comprende exactamente a pesar que ya exista estudios previos para esta reacción; es decir, como por ejemplo, el peróxido de hidrógeno, ha demostrado mayor formación de grupos carbonilos que carboxilos (Real-Enriquez, 2019) mientras que el uso de peryodato ha constatado que los dos grupos muestran un incremento considerable (Laufer, 2019). Por esta razón, hay que destacar que este agente ha demostrado en otras investigaciones la mejora de propiedades fisicoquímicas por consiguiente un mejor entrecruzamiento.

3.3. Desarrollo de hidrogeles y aerogeles

La elaboración de hidrogeles, y posteriormente de aerogeles ocurrió por entrecruzamiento entre DAS12 y DAS13 con quitosano en proporciones másicas descritas en la Tabla 1. Este proceso de formulación se muestra en la Figura 1., se observa el almidón dialdehído gelatinizado y quitosano en suspensión viscosa estado sólido. Se puede constatar que DAS tiene una cierta opacidad esto puede deberse a los componentes del almidón, principalmente a la cantidad de amilopeptina, ya que esta refleja o dispersa una cantidad significativa de la luz (Velásquez-Barreto & Velezmoro, 2018). Además, se aprecia el producto generado luego del entrecruzamiento, hidrogel y aerogel (Fig. 1c-1d). En la estructura externa del hidrogel (Fig. 1c) se puede notar una presencia de gránulos, estos pueden ser DAS que, debido a su alto grado de oxidación, se dificultó su desintegración completa; mientras que el aerogel (Fig. 1d), muestra una estructura más homogénea y porosa a simple vista.

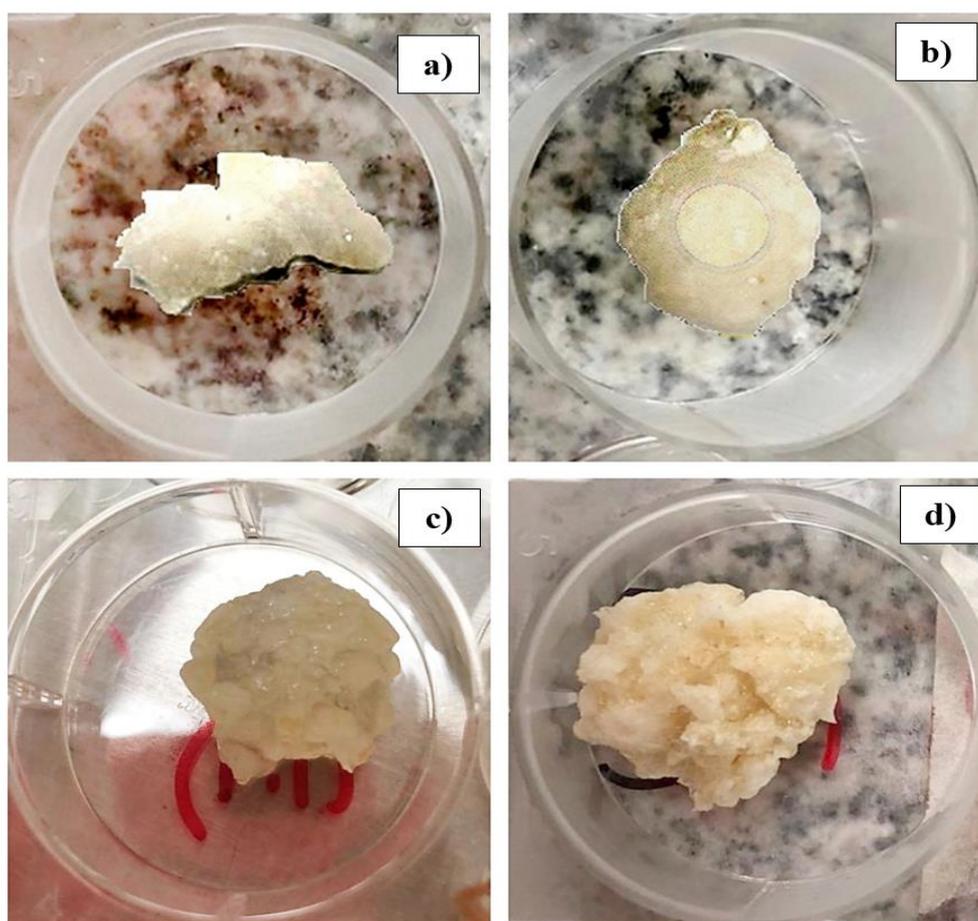


Figura 1. Proceso de elaboración: Fig. 1a) DAS, Fig. 1b) Chit, Fig. 1c) hidrogel y Fig. 1d) aerogel.

Microscopia electrónica de barrido (SEM).

En la Figura 2., se encuentran las micrografías de aerogeles DAS12:CHIT con aumento de 100x, a las composiciones másicas mencionadas en la Tabla 1. Al comparar estas imágenes, se puede observar que en la Fig. 2a-b., mediante las flechas rojas, la porosidad es superficial ya que el quitosano actúa como una capa que recubre al almidón dialdehído. Por otro lado, en la Fig. 2c., la porosidad es más profunda, es decir, se puede observar con mayor facilidad la presencia de los poros, esto puede deberse a la cantidad de DAS utilizado en el entrecruzamiento. Cabe mencionar que en la mayoría de estos materiales es totalmente necesario que la porosidad sea abundante ya que permite una absorción, distribución y liberación de agentes activos de una manera homogénea por lo que, es importante que exista un equilibrio entre la porosidad y estabilidad mecánica (Annabi et al., 2010), lo que permite que estos sean aptos para diversas aplicaciones en áreas biomédicas como por ejemplo, como andamio en reparaciones de defectos óseos (Hua et al., 2019). Cabe mencionar que el uso de este biopolímero es de gran beneficio para dicha aplicación ya que provee de estabilidad al momento de liberación de algún compuesto activo. No obstante, en las imágenes de SEM y en la Figura 1., se observa que tienen una superficie no lisa esto ocurre debido a una homogeneización insuficiente entre los componentes (Viteri, 2018). De igual manera, este comportamiento ocurrió para la formulación de geles con DAS13.

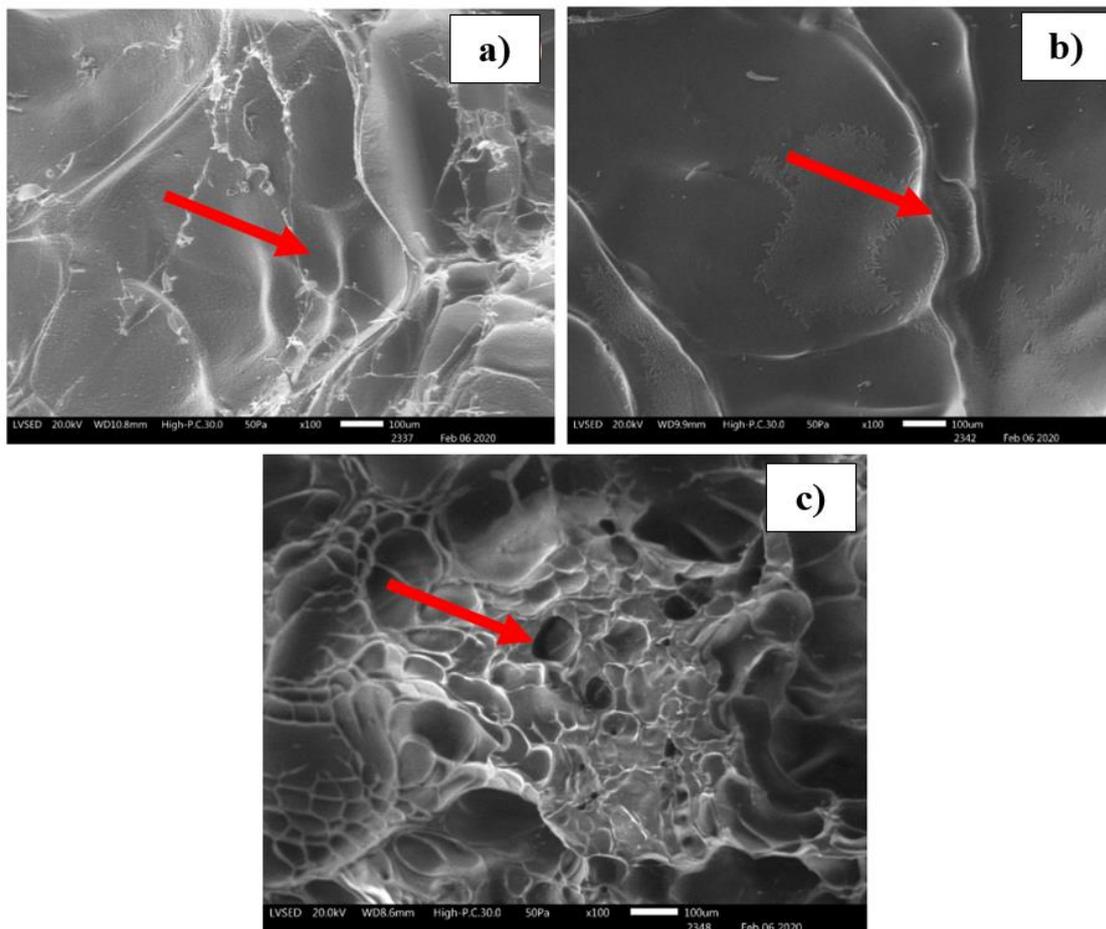


Figura 2. Microscopía electrónica de barrido de las muestras liofilizadas de DAS12:CHIT a diferentes composiciones: Fig. 2a) (1:1), Fig. 2b) (1:2) y Fig. 2c) (2:1).

Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).

Este método se utilizó con el objetivo de determinar la presencia de grupos funcionales y enlaces relevantes tales como la base de Schiff y el grupo imina enlace ($C = N$) en las muestras liofilizadas con respecto al grado de oxidación a diferentes formulaciones. La reacción de Schiff es catalogada en el campo biomédico como extraordinaria debido a su simplicidad, reversibilidad, sensibilidad al pH y biocompatibilidad (Xu et al., 2019) por lo que, estos hidrogeles y aerogeles que presentan dichos enlaces son altamente relevantes para el uso en ambientes fisiológicos. Es necesario mencionar que la longitud de onda de la base de Schiff se encuentra entre $1649 - 1635 \text{ cm}^{-1}$ (Bruce, 2011). Por ello, se puede analizar que en la Figura 3a-b., presentan una serie de picos más grandes entre los 1600 cm^{-1} cuando la cantidad

de almidón dialdehído es mayor que la del quitosano, es decir, cuando la proporción másica para ambos grados de oxidación es de (2: 1), mientras que, a una cantidad constante de DAS, la longitud de onda se mantiene. En la Fig. 3a., el pico se encuentra alrededor de los 1638.42 cm^{-1} mientras que, en la Fig. 3b., está a 1645.48 cm^{-1} , por ello, se analiza un cierto incremento en la intensidad de onda lo cual es favorable para diversas aplicaciones ya que genera una mejora en las actividades biológicas, antifúngicas, antibacterianas, antipalúdicas, propiedades antiproliferativas, anti-inflamatorias, antivirales y antipiréticas (Perentena et al., 2015).

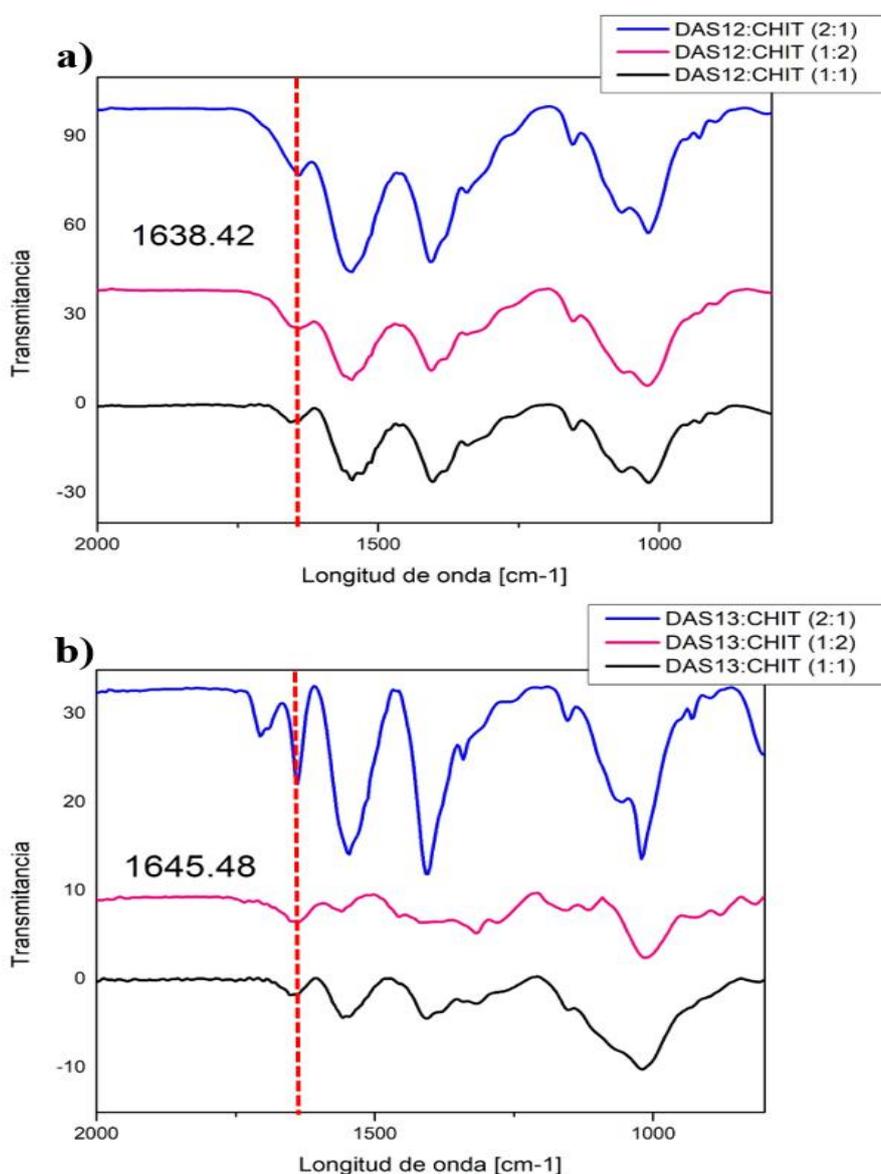


Figura 3. Espectrometría infrarroja por transformada de Fourier: Fig. 3a) DAS12:CHIT y Fig.3b) DAS13:CHIT a diferentes composiciones.

Estabilidad de hidrogeles y aerogeles

Las pruebas de hinchamiento, fueron realizadas para constatar dos fundamentos, el primero la estabilidad, ya que a mayor grado de hinchamiento de los hidrogeles y aerogeles muestra la capacidad que tiene al mantener el compuesto activo (CA) atrapado con respecto al tiempo sin degradarse. Por otro lado, se encuentra la cinética de hinchamiento ya que permite tener una idea de cómo será el comportamiento de la cinética de liberación de CA. Además, el poder de hinchamiento tiene relación con la cantidad de amilosa y amilopectina presente en el almidón ya que estas juegan un papel importante para la formación del gel, solubilidad, capacidad de absorción de agua, estabilidad frente a la degradación dando una idea en el comportamiento para los perfiles de liberación.

3.3.1.1. DAS12: Quitosano.

En la Figura 4., se observan los comportamientos de hinchamiento de hidrogeles y aerogeles a diferentes composiciones másicas por lo que, en el caso de los hidrogeles, se pudo observar que todos se desintegran debido a su grado de hinchamiento negativo que se muestra en la Fig. 4a., esto indica que existe una pérdida importante de masa, por lo que la formulación (1:1) es la menos estable en comparación con (1:2) y (2:1) debido que su grado de degradación es mayor con respecto al tiempo. Por otro lado, los aerogeles de almidón presentan una mayor estabilidad debido que posee propiedades hidrofílicas por lo que, se han convertido en gran interés para la liberación controlada de fármacos debido al tamaño de sus poros que según la literatura están entre (2 – 50 nm) (Baudron et al., 2019) por esta razón, su capacidad de hinchamiento en el tiempo será más eficiente que la del hidrogel como se puede observar en la Fig. 4b. Hay que mencionar que en la composición (1:1) de los aerogeles, se degrada con mayor rapidez comparado con las demás composiciones, pero teniendo en cuenta que su estabilidad se mantiene constante y paulatina a los 1500 minutos de la prueba realizada mientras que en la Fig. 4a., no sucede este fenómeno. Entonces, al observar que los aerogeles

(1:2) y (2:1) son más estables con respecto al tiempo puede ser que para la primera composición la cantidad de quitosano es mayor y en estudios previos se ha evidenciado que la aplicación de este compuesto en la ingeniería de tejidos ha perfeccionado las propiedades química, morfológicas y térmicas (Lozano-Navarro et al., 2018); sin embargo, la capacidad de hinchamiento aumenta cuando la porción de almidón aumenta por ende, también los grupos fosfatos presentes en la amilopectina; este grupo tiende a repelarse entre sí lo que genera una mayor hidratación al debilitar el grado de unión dentro del dominio cristalino (Kaur et al., 2007).

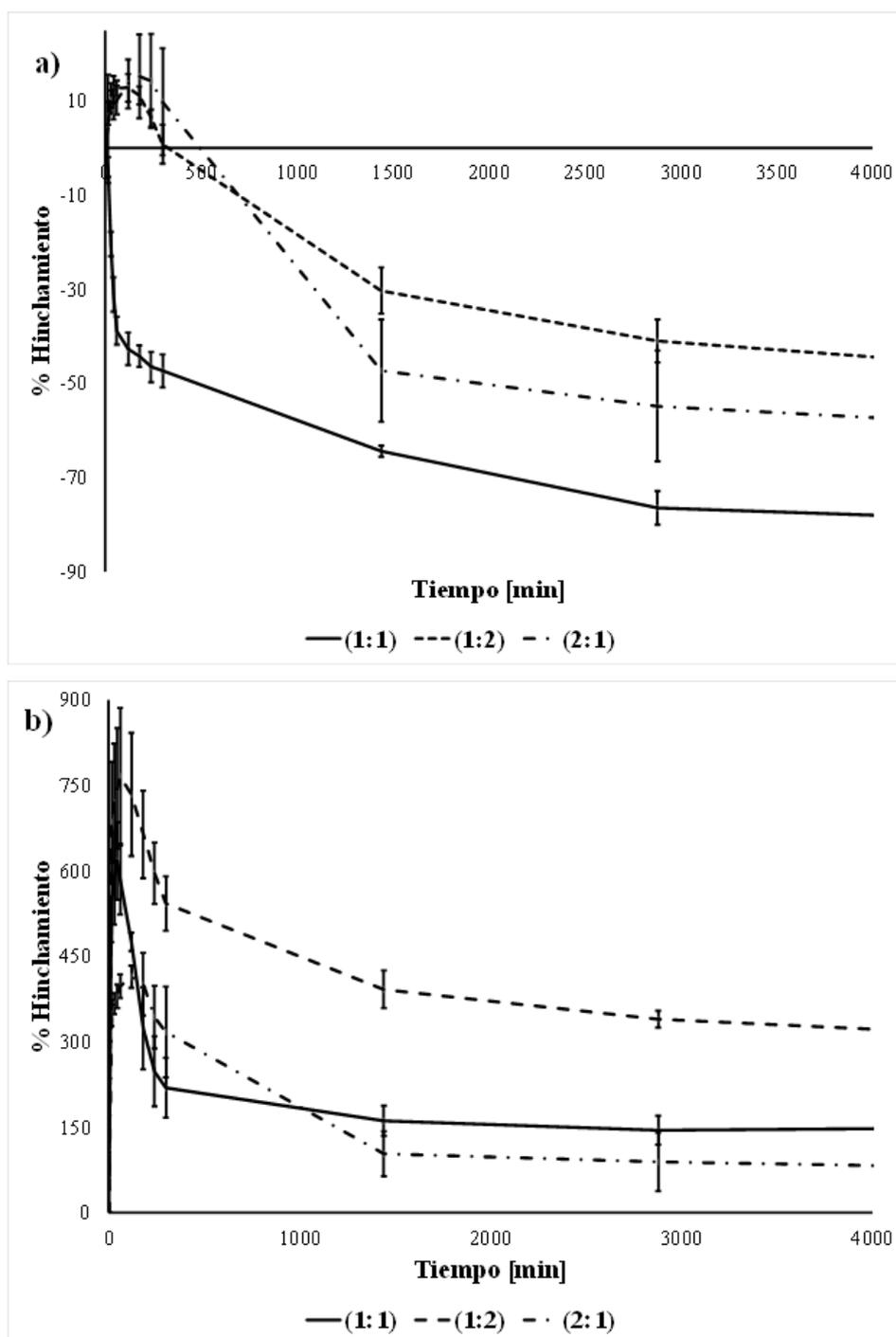


Figura 4. Cinética de hinchamiento DAS12:CHIT a diferentes composiciones a) hidrogeles y b) aerogeles.

3.3.1.2. *DAS13: Quitosano.*

Se realizaron las mismas pruebas para los hidrogeles y aerogeles con un grado de oxidación mayor con las mismas composiciones utilizadas anteriormente, por lo que se puede analizar un cierto comportamiento similar de hidrogeles con DAS12 en cuestión de

hinchamiento y, por ende, su estabilidad no es adecuada debido a un alto grado de degradación con respecto al tiempo. Por otro lado, los aerogeles con DAS13 se observa una mejor estabilidad al degradarse para las tres composiciones en comparación con los hidrogeles; sin embargo, su capacidad de absorción se encuentra afectada en cierta parte si se compara con el grado de oxidación menor esto ocurre debido que al incrementar el grado de oxidación, las propiedades hidrofílicas de los geles disminuye y en consecuencia se necesitó menos tiempo para formación de dicha la matriz.(Nguyen et al., 2019). No obstante, en la Fig 5b., al incrementar la cantidad de quitosano tiene mayor estabilidad ya que permitió que sus poros se tornes más gruesos, por ende, la tasa de degradación fue más lenta.

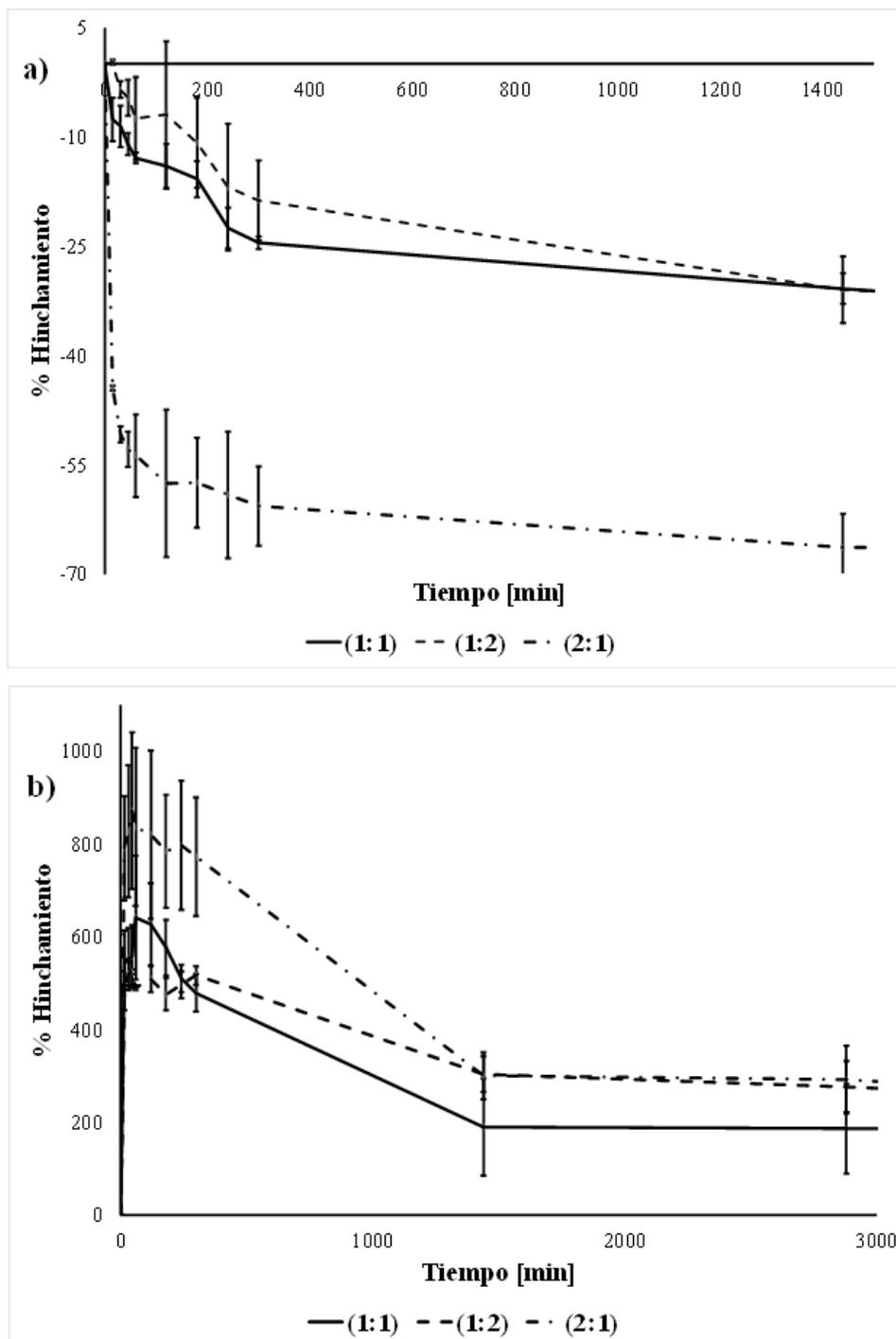


Figura 5. Cinética de hinchamiento DAS13:CHIT a diferentes composiciones de Fig. 5a) hidrogel y Fig. 5b) aerogel.

Al realizar ANOVA para las pruebas de hinchamiento se demostró que, tanto las variables de grado de oxidación, proporciones másicas y tiempo fueron significativas, tanto para los hidrogeles y aerogeles. Para el caso de los hidrogeles, la prueba Tukey mostró que los

grados de oxidación presentan diferencias significativas; sin embargo, DAS12 tiene mayor equilibrio que DAS13 (Anexo A). No obstante, las proporciones másicas de DAS12 (1: 2) y (2: 1) son más estables que (1: 1) lo que corrobora a la prueba realizada anteriormente. En cambio, para DAS13 todas las proporciones son consideradas menos estables (Anexo D). Adicionalmente, se observa una tendencia de un hinchamiento rápido temprano en todos los hidrogeles, alcanzando el equilibrio a los 2880 *minutos*, por lo que, cuando se alcanza este equilibrio no hay diferencias con el grado de oxidación (Anexo C). Por otro lado, las pruebas de Tukey para los aerogeles demostraron que la composición másica más estable de DAS12 fue (1: 2), y (2: 1) la menos estable. En cambio para DAS13 la más estable fue (2: 1), mientras que (1: 1) y (1: 2) no tuvieron diferencias significativas (Anexo H). Además, los aerogeles alcanzan el equilibrio a los 1440 *minutos*, resultando ser mejores que los hidrogeles (Anexo G).

4. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

El uso del peryodato sódico como agente oxidante para la modificación química del almidón de melloco tiene un efecto considerable en el incremento de grupos carboxilos. Así mismo la presencia del grupo iminina luego del entrecruzamiento entre DAS y CHIT y como es de esperarse hay mayor presencia de dicho grupo en DAS13. Sin embargo, se pudo observar que al elaborar los hidrogeles y aerogeles con grado de oxidación mayor las propiedades de estabilidad disminuyen, por lo que, a menor grado de oxidación tiene mejor capacidad de hinchamiento y estabilidad, siendo estas las características apropiadas para la aplicación en la ingeniería de tejidos y liberación controlada de fármacos. Así mismo, el uso de CHIT permitió una degradación paulatina en los geles. Sin embargo, los aerogeles resultaron tener mayor capacidad de absorción y estabilidad que los hidrogeles. Finalmente, se recomienda realizar la cuantificación de carbonilos y realizar pruebas de liberación de un fármaco modelo.

5. REFERENCIAS

- Abrha, Y., & Raghavan, D. (2000). Polychlorinated biphenyl (PCB) recovery from spiked organic matrix using accelerated solvent extraction (ASE) and Soxhlet extraction. *Journal of Hazardous Materials*, 80(1–3), 147–157. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(00\)00285-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(00)00285-5)
- Annabi, N., Nichol, J. W., Zhong, X., Ji, C., Koshy, S., Khademhosseini, A., & Dehghani, F. (2010). Controlling the porosity and microarchitecture of hydrogels for tissue engineering. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, 16(4), 371–383. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2009.0639>
- Baudron, V., Gurikov, P., Smirnova, I., & Whitehouse, S. (2019). Porous starch materials via supercritical-and freeze-drying. *Gels*, 5(1), 9–13. <https://doi.org/10.3390/gels5010012>
- Bonilla, R. M., Luis Hoyos, J. C., & Velasco, R. M. (2013). Efecto de oxidación de almidón de yuca sobre propiedades mecánicas y térmicas de películas biodegradables effect of cassava starch oxidation over mechanical and thermal properties of biodegradable films efeito do amido de mandioca oxidação sobre propriedades mecânicas e térmicas dos filmes biodegradáveis. In *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* (Vol. 11, Issue 1). Enero-Junio.
- Brener, E., & Diconsa, S. A. (n.d.). *NMX-F-066-S-1978*.
- Bruice, P. Y. (2011). Beauchamp Spectroscopy Tables 1. *Organic Chemistry*, 2620, A-16, A17. http://www.cpp.edu/~psbeauchamp/pdf/spec_ir_nmr_spectra_tables.pdf
- Charhouf, I., Bennamara, A., Abdelmjid, A., & Berrada, M. (2014). *Characterization of a Dialdehyde Chitosan Generated by Periodate Oxidation International Journal of Sciences : Basic and Applied Research Characterization of a Dialdehyde Chitosan Generated by Periodate Oxidation. January.*
- Cruz, G., Ribotta, P., Ferrero, C., & Iturriaga, L. (2016). Physicochemical and rheological characterization of Andean tuber starches: Potato (*Solanum tuberosum* ssp. *Andigenum*), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and Papalisa (*Ullucus tuberosus* Caldas). *Starch/Staerke*, 68(11–12), 1084–1094. <https://doi.org/10.1002/star.201600103>
- da Silva, T. E., Detmann, E., Franco, M. de O., Palma, M. N. N., & Rocha, G. C. (2016). Avaliação da etapa de digestão do método de kjeldahl para quantificação do nitrogênio total em análises voltadas à nutrição animal. *Acta Scientiarum - Animal Sciences*, 38(1), 45–51. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i1.29171>
- De Marco, I., Miranda, S., Riemma, S., & Iannone, R. (2016). LCA of starch aerogels for biomedical applications. *Chemical Engineering Transactions*, 49, 319–324. <https://doi.org/10.3303/CET1649054>
- Elmi Sharlina, M. S., Yaacob, W. A., Lazim, A. M., Fazry, S., Lim, S. J., Abdullah, S., Noordin, A., & Kumaran, M. (2017). Physicochemical Properties of Starch from *Dioscorea pyrifolia* tubers. *Food Chemistry*, 220, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.196>
- Elvira, C., Mano, J. F., San, J., An, R. !, & Reis, R. L. (2002). Starch-based biodegradable hydrogels with potential biomedical applications as drug delivery systems. In *Biomaterials* (Vol. 23).

- Espín, S., Villacrés, E., & Brito, B. (2004). Caracterización Físico -Química, Nutricional y Funcional de Raíces y Tubérculos Andinos Composición química y valor nutricional de las RTAs. *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas Para La Conservación y Uso Sostenible En El Ecuador*, 92–116. http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/06/RTAs_Ecuador_04.pdf
- Hua, Y., Gan, Y., Zhang, Y., Ouyang, B., Tu, B., Zhang, C., Zhong, X., Bao, C., Yang, Y., Lin, Q., Zhou, Q., & Zhu, L. (2019). Adaptable to Mechanically Stable Hydrogels Based on the Dynamic Covalent Cross-Linking of Thiol-Aldehyde Addition. *ACS Macro Letters*, 8(3), 310–314. <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.9b00020>
- I, Yu, C., Chen, R., Li, J. J., Li, J. J., Drahansky, M., Paridah, M. ., Moradbak, A., Mohamed, A. ., Owolabi, FolaLi, H. abdulwahab taiwo, Asniza, M., Abdul Khalid, S. H. ., Sharma, T., Dohare, N., Kumari, M., Singh, U. K., Khan, A. B., Borse, M. S., Patel, R., ... Reading, F. (2012). We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %. *Intech, i(tourism)*, 13. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.014>
- Ismail, H., Irani, M., & Ahmad, Z. (2013). Starch-based hydrogels: Present status and applications. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 62(7), 411–420. <https://doi.org/10.1080/00914037.2012.719141>
- Kaur, L., Singh, J., & Liu, Q. (2007). Starch - A potential biomaterial for biomedical applications. In *Nanomaterials and Nanosystems for Biomedical Applications* (pp. 83–98). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6289-6_5
- Laufer, A. (2019). *Desarrollo y Caracterización de un nuevo Termoplástico a base de Almidón de Yuca Oxidado y Alcohol de Polivinilo para su Potencial Uso en Extrusión de Plástico*. 1–46.
- Li, D., Ye, Y., Li, D., Li, X., & Mu, C. (2016). Biological properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin-PEG composite hydrogel fibers for wound dressings. *Carbohydrate Polymers*, 137, 508–514. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.024>
- Lozano-Navarro, J. I., Díaz-Zavala, N. P., Velasco-Santos, C., Melo-Banda, J. A., Páramo-García, U., Paraguay-Delgado, F., García-Alamilla, R., Martínez-Hernández, A. L., & Zapién-Castillo, S. (2018). Chitosan-starch films with natural extracts: Physical, chemical, morphological and thermal properties. *Materials*, 11(1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ma11010120>
- Martins, E., & Rodrigues, A. (2012). Starch: From Food to Medicine. *Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry*. <https://doi.org/10.5772/38678>
- Matsuguma, L. S., Lacerda, L. G., Schnitzler, E., Aurélio, M., Filho, S. C., Maria, C., Franco, L., & Demiate, I. M. (2009). *Characterization of Native and Oxidized Starches of Two Varieties of Peruvian Carrot (Arracacia xanthorrhiza , B .) From Two Production Areas of Paraná State , Brazil*. 52(June), 701–713.
- Narayanaswamy, R., & Torchilin, V. P. (2019). Hydrogels and their applications in targeted drug delivery. *Molecules*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/molecules24030603>
- Nguyen, N. T. P., Nguyen, L. V. H., Tran, N. M. P., Nguyen, D. T., Nguyen, T. N. T., Tran, H. A., Dang, N. N. T., Vo, T. Van, & Nguyen, T. H. (2019). The effect of oxidation degree and volume ratio of components on properties and applications of in situ cross-

- linking hydrogels based on chitosan and hyaluronic acid. *Materials Science and Engineering C*, 103(November 2018), 109670. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.049>
- Pacheco, M. T., Moreno, F. J., Moreno, R., Villamiel, M., & Hernandez-Hernandez, O. (2019). Morphological, technological and nutritional properties of flours and starches from mashua (*Tropaeolum tuberosum*) and melloco (*Ullucus tuberosus*) cultivated in Ecuador. *Food Chemistry*, 301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125268>
- Perentena, L., Celis, B., & Valbuena, A. (2015). *SÍNTESIS DE BASES DE SCHIFF DERIVADAS DEL QUITOSANO POR METOXIBENZALDEHIDO* *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 16(1), 1–27.
- Ratnayake, W. S., & Jackson, D. S. (2003). STARCH | Sources and Processing. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 5567–5572. <https://doi.org/10.1016/b0-12-227055-x/01142-1>
- Real-Enriquez, M. (2019). *Evaluation of the Effect of Starch Source on the Properties of Oxidized Starch and Chitosan Hydrogels Proyecto de Investigación*.
- Rodríguez, G. (2019). *Elaboración de Hidrogeles Fluorescentes Basados en Quitosano-Almidón Oxidado*. 1–25.
- Siaw Chien, L. (2015). *Synthesis and characterization of starch aerogel. Faculty of Resource Science and Technology*.
- Surco, F. (2005). *Caracterización de almidones aislados de tubérculos andinos: mashua (Tropaeolum tuberosum), oca (Oxalis tuberosa), olluco (Ullucus tuberosus) para su aplicación tecnológica*.
- Usman, A. H., Salisu, A. A., & Danjani, A. G. (2016). *PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF DIALDEHYDE STARCH UREA (DASU) AND , IT ` S SORPTION POTENTIAL FOR Co (II), Pb (II) and Zn (II) IONS FROM AQUEOUS SOLUTION*. 9(2), 213–220.
- Valcárcel-Yamani, B., Rondán-Sanabria, G. G., & Finardi-Filho, F. (2013). The physical, chemical and functional characterization of starches from andean tubers: Oca (*Oxalis tuberosa molina*), olluco (*Ullucus tuberosus caldas*) and mashua (*Tropaeolum tuberosum ruiz & pavón*). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(3), 453–464. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000300007>
- Velásquez-Barreto, F., & Velezmoro, C. (2018). Rheological and viscoelastic properties of Andean tubers starches. *Scientia Agropecuaria*, 9(2), 189–197. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.02.03>
- Velásquez, M. (2014). *Desarrollo de sopa instantánea a partir de Harina de Melloco Ullucus Tuberosus*.
- Vimos, C., Nieto, C., & Rivera, M. (1993). *Melloco Características, técnicas de cultivo y potencial en Ecuador*. <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>
- Viteri, D. (2018). *Development of a Film Based on Oxidized Ipomea Batatas L. Starch with Protein Encapsulation for Potential Skin Tissue Engineering Applications*. 1–39.
- Wongsagon, R., Shobsngob, S., & Varavinit, S. (2005). Preparation and physicochemical properties of dialdehyde tapioca starch. *Starch/Staerke*, 57(3–4), 166–172.

<https://doi.org/10.1002/star.200400299>

- Wu, M., Lv, W., Wang, F., Long, Z., Chen, J., & Dong, C. (2018). *Preparation of dialdehyde chitosan/crosslinked amino starch and its effect on paper strength*. 52, 43–49.
- Xu, J., Liu, Y., & Hsu, S. hui. (2019). Hydrogels based on schiff base linkages for biomedical applications. *Molecules*, 24(16), 1–21. <https://doi.org/10.3390/molecules24163005>
- Zhang, Y. R., Wang, X. L., Zhao, G. M., & Wang, Y. Z. (2012). Preparation and properties of oxidized starch with high degree of oxidation. *Carbohydrate Polymers*, 87(4), 2554–2562. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.036>
- Zhu, F. (2019). Starch based aerogels: Production, properties and applications. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 89, pp. 1–10). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.001>
- Zuo, Y., Liu, W., Xiao, J., Zhao, X., Zhu, Y., & Wu, Y. (2017). Preparation and characterization of dialdehyde starch by one-step acid hydrolysis and oxidation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1257–1264. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.188>

6. ANEXOS

Anexo A. Grado de oxidación de hidrogeles para %Hinchamiento.

Grad. oxidación	N	Media	Agrupación
DAS12	99	-12.2724	A
DAS13	99	-19.8728	B

Anexo B. Proporciones másicas hidrogeles para %Hinchamiento.

Proporciones másicas	N	Media	Agrupación
1:2	66	-9.8418	A
2:1	66	-13.1801	A
1:1	66	-25.1958	B

Anexo C. Tiempo de hinchamiento hidrogeles.

Tiempo	N	Media	Agrupación
15	18	0.3267	A
30	18	-1.8409	A
45	18	-3.9363	A B
60	18	-5.6655	A B C
120	18	-6.6553	A B C
180	18	-7.6433	A B C
240	18	-11.5402	B C
300	18	-14.4775	C
1440	18	-35.7577	D
2880	18	-42.5698	D E
4320	18	-47.0386	E

Anexo D. Grado de oxidación: proporciones másicas para %Hinchamiento.

Grad. oxidación*Proporciones másicas	N	Media	Agrupación
DAS12 1:2	33	-3.2320	A
DAS12 2:1	33	-3.4922	A
DAS13 1:2	33	-16.4516	B
DAS13 1:1	33	-20.2986	B C
DAS13 2:1	33	-22.8681	C
DAS12 1:1	33	-30.0930	D

Anexo E. Grado de oxidación de aerogeles para %Hinchamiento.

Grad. oxidación	N	Media	Agrupación
DAS13	99	543.430	A
DAS12	99	412.498	B

Anexo F. Proporciones másicas aerogel para %Hinchamiento.

Proporciones másicas	N	Media	Agrupación
1:2	66	515.763	A
2:1	66	499.880	A
1:1	66	418.250	B

Anexo G. Tiempo de hinchamiento para aerogel.

Tiempo	N	Media	Agrupación
45	18	627.350	A
60	18	625.223	A
120	18	607.819	A B
30	18	605.182	A B
15	18	571.383	A B C
180	18	541.830	B C D
240	18	504.535	C D
300	18	480.653	D
1440	18	250.837	E
2880	18	232.778	E
4320	18	210.015	E

Anexo H. Grado de oxidación: proporciones másicas para %Hinchamiento.

Grad. oxidación*Proporciones másicas	N	Media	Agrupación
DAS13 2:1	33	721.655	A
DAS12 1:2	33	584.625	B
DAS13 1:1	33	461.736	C
DAS13 1:2	33	446.900	C
DAS12 1:1	33	374.763	D
DAS12 2:1	33	278.106	E