

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Desarrollo y Caracterización de un nuevo Termoplástico a base de Almidón de Yuca Oxidado y Alcohol de Polivinilo para su Potencial Uso en Ingeniería de Tejidos

Proyecto de Investigación

Ramiro Isaac Ponce Sánchez

Ingeniería Mecánica

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniero Mecánico

Quito, 04 de Mayo de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO CIENCIAS E INGENIERÍAS

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Desarrollo y Caracterización de un nuevo termoplástico a base de almidón de
yuca oxidado y alcohol de polivinilo para su potencial uso en ingeniería de
tejidos**

Ramiro Isaac Ponce Sánchez

Calificación:

Nombre del director, Título académico
Nombre del codirector, Título académico

Michel Vargas, Ph.D
José Álvarez, Ph.D

Firma del director:

Firma del codirector:

Quito, 04 de mayo de 2018

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: Ramiro Isaac Ponce Sánchez

Código: 00116031

Cédula de Identidad: 1719568907

Lugar y fecha: Quito, 04 de mayo de 2018

DEDICATORIA

A mis padres y hermano, por su incondicional apoyo y tolerancia, este proyecto no pudo haberse llevado a cabo con éxito.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermano por su afecto e incondicional apoyo durante toda la carrera. Especial agradecimiento a mis directores de tesis: Michel Vargas y José Álvarez, por su confianza en mí, directrices e interés mostrado para mi desarrollo tanto estudiantil como personal y por su gran entrega durante el proyecto, mostrando responsabilidad en el desarrollo de proyectos innovadores.

Al grupo de Biomateriales del departamento de Química, al Instituto para el Desarrollo de Energías y Materiales Alternativos (IDEMA), al departamento de Ingeniería Mecánica de la Universidad San Francisco de Quito y al Laboratorio de Nuevos Materiales de la Escuela Politécnica Nacional (LANUM-EPN), por la ayuda prestada al realizar los análisis del proyecto.

Por último, a Juan Diego Fonseca por la colaboración intelectual en el presente proyecto.

RESUMEN

La ingeniería de tejidos es un campo de la medicina regenerativa que utiliza conocimientos de la ingeniería mecánica, ingeniería química y biotecnología. Esta área de conocimiento busca que las células de los tejidos dañados se regeneren dados los factores biológicos adecuados y la presencia de soportes estructurales (andamios) hechos de materiales biocompatibles. Normalmente, los materiales usados en estas aplicaciones, como son la policaprolactona, ácido poliglicólico y ácido poliláctico de grado farmacéutico, son buenos promotores de la regeneración celular y biocompatibles. Sin embargo, tienen un alto costo y una baja biodegradabilidad. En este proyecto, se realizó el desarrollo y caracterización química, térmica y mecánica de un nuevo biomaterial producido localmente, a un bajo costo y con buenas características de biodegradabilidad, con potencial uso en la ingeniería de tejidos. El biomaterial es un termoplástico de almidón de yuca oxidado con peróxido de hidrógeno con adiciones de alcohol de polivinilo (PVA) hasta un 10% en peso. Para obtener este biomaterial, se desarrolló un protocolo de formulación y consolidación por compactación y calentamiento. Posteriormente, se realizó la caracterización química, mecánica y térmica. La caracterización química mostró la favorable formación de grupos carbonilos. El comportamiento mecánico a compresión en la zona elástica demostró que el PVA se comportó como un plastificante disminuyendo el módulo de Young. No obstante, posterior a la zona elástica, el PVA reforzó la matriz de almidón oxidado ocasionando un aumento del esfuerzo de fluencia. En la caracterización térmica, se observó un aumento de la estabilidad del material al elevarse la temperatura en relación directa al incremento de la cantidad de PVA adicionado. Sin embargo, en cuanto a la temperatura de transición vítrea, se observó un aumento de la misma en relación a la cantidad de PVA adicionado. De acuerdo a los requerimientos mecánicos a compresión necesarios para aplicaciones de regeneración de tejidos óseos, el material desarrollado es un candidato adecuado para elaboración de andamios celulares en la sección esponjosa del tejido óseo.

Palabras clave: Termoplástico, Almidón de yuca, PVA (alcohol de polivinilo), Ingeniería de tejidos óseos.

ABSTRACT

Tissue engineering is a field of regenerative medicine that builds upon knowledge of mechanical engineering, chemical engineering and biotechnology. This area of knowledge seeks to regenerate cells of damaged tissues given the appropriate biological factors and the presence of structural supports (scaffolds) made of biocompatible materials. Normally, the materials used in these applications, such as polycaprolactone, polyglycolic acid and polylactic acid with pharmaceutical grade characteristics, are good promoters of cellular regeneration and biocompatible. However, they have a high cost and low biodegradability. In this project, the development of a new locally produced biomaterial with potential use in tissue engineering was achieved. This biomaterial has good biodegradability characteristics and is produced at low cost. This thermoplastic material is made from hydrogen-peroxide-oxidized cassava starch with additions of polyvinyl alcohol (PVA) up to 10% by weight. To obtain this material, a formulation and consolidation protocol was developed. Subsequently, chemical, mechanical and thermal characterization was performed. The chemical characterization showed the favorable formation of carbonyl groups. The mechanical compression behavior in the elastic zone showed that the PVA behaved as a plasticizer decreasing the Young's modulus. However, in the plastic zone, the PVA acted as a reinforcement for the matrix of oxidized starch causing an increase in yield stress. In thermal characterization, an increase in the material's stability and glass transition temperature was observed in direct relation to the increase in the amount of PVA added. According to the mechanical compression requirements necessary for bone tissue regeneration applications, the developed material is a suitable candidate for the elaboration of scaffolds for cancellous tissue.

Key words: Thermoplastic, Cassava Starch, PVA (poly vinyl alcohol), Bone Tissue Engineering.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--|-----------|
| 1. Introducción | 14 |
| 1.1. Objetivos..... | 20 |
| 2. Desarrollo del tema..... | 21 |
| 2.1. Extracción de Almidón de Yuca..... | 21 |
| 2.2. Modificación del almidón..... | 22 |
| 2.2.1. Esterilización almidón..... | 22 |
| 2.2.2. Oxidación Almidón..... | 22 |
| 2.3. Caracterización química del almidón oxidado..... | 24 |
| 2.3.1. Determinación grupos carbonilos..... | 25 |
| 2.3.2. Determinación grupos carboxilos..... | 26 |
| 2.4. Obtención del Termoplástico..... | 27 |
| 2.5. Consolidación del termoplástico..... | 28 |
| 2.5.1. Diseño de un sistema de compactación..... | 28 |
| 2.5.2. Diseño de un sistema de calentamiento..... | 29 |
| 2.5.2.1. Sistema de control de temperatura de tipo encendido- apagado..... | 29 |
| 2.5.2.2. Sistema de control de temperatura de tipo proporcional integrativo y derivativo..... | 30 |
| 2.5.3. Condiciones de Consolidación..... | 31 |
| 2.6. Caracterización Mecánica..... | 33 |
| 2.6.1. Ensayos a compresión..... | 33 |
| 2.6.2. Ensayo a flexión..... | 34 |
| 2.7. Caracterización térmica..... | 35 |
| 2.7.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)..... | 35 |
| 2.7.2. Análisis termogravimétrico (TGA)..... | 35 |
| 2.8. Microscopía electrónica de barrido (SEM)..... | 36 |
| 2.9. Producción de andamios..... | 36 |
| 2.9.1. Método de lixiviación de sal usando polvo (SLUP)..... | 37 |
| 2.9.2. Método de molde de red de agujas (WNM)..... | 37 |
| 3. Resultados..... | 39 |
| 3.1. Oxidación de almidón..... | 39 |
| 3.2. Caracterización Química..... | 39 |
| 3.2.1. Determinación de grupos carbonilos y carboxilos..... | 39 |
| 3.3. Obtención del termoplástico..... | 40 |
| 3.4. Determinación de las condiciones óptimas de consolidación..... | 41 |

| | |
|---|-----------|
| 3.5. Caracterización mecánica..... | 43 |
| 3.5.1. Comportamiento a compresión..... | 43 |
| 3.5.2. Comportamiento a flexión..... | 48 |
| 3.6. Caracterización térmica..... | 50 |
| 3.6.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)..... | 50 |
| 3.6.2. Análisis termogravimétrico (TGA)..... | 53 |
| 3.7. Microscopía electrónica de barrido (SEM)..... | 57 |
| 3.8. Producción andamios..... | 60 |
| 3.8.1. Método de lixiviación de sal usando polvo (SLUP)..... | 60 |
| 3.8.2. Método de molde de red de agujas (WNM)..... | 60 |
| 4. Conclusiones..... | 62 |
| 5. Recomendaciones..... | 63 |
| 6. Referencias bibliográficas..... | 64 |
| ANEXO-A Programación en Arduino NANO[®] de Controlador de Temperatura tipo PID..... | 68 |
| ANEXO-B Planos sistema de compactación, piezas y conjunto..... | 77 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Composición termoplástico..... | 27 |
| Tabla 2. Condiciones consolidado..... | 33 |
| Tabla 3. Contenido grupos carbonilos, carboxilos y oxidación total del almidón de yuca modificado con peróxido de hidrógeno..... | 40 |
| Tabla 4. Consolidación con respecto al tiempo y temperatura del proceso, “0” consolidado no apreciable, “1” consolidado apreciable..... | 42 |
| Tabla 5. Propiedades mecánicas a compresión..... | 47 |
| Tabla 6. Módulo de Young obtenido en flexión por analizador termomecánico..... | 49 |
| Tabla 7. Temperatura de fusión (Tf), entalpía de fusión (ΔH_f) y temperatura de transición vítrea (Tg)..... | 53 |
| Tabla 8: Degradación de materia a 10% y residuo a 495 °C..... | 56 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Segmento de la molécula de amilosa y segmento de la molécula de amilopectina (Ruiz, G., 2006)..... | 17 |
| Figura 2. Pasos de la elaboración de un termoplástico a base de almidón de yuca oxidado y su caracterización..... | 21 |
| Figura 3. Modificación almidón de yuca por oxidación por peróxido de hidrógeno..... | 24 |
| Figura 4. Diseño CAD piezas sistema de compresión: Pistón, molde cilíndrico, base y sistema armado..... | 29 |
| Figura 5. Sistema de control de temperatura de tipo encendido-apagado..... | 30 |
| Figura 6. Sistema de control de temperatura de tipo proporcional, integrativa y derivativa | 31 |
| Figura 7. Molde método de red de aguas (WNM)..... | 38 |
| Figura 8. Almidón oxidado seco..... | 39 |
| Figura 9. Termoplástico formado con Almidón-PVA al 10%PVA..... | 41 |
| Figura 10. Estados de consolidación: consolidación no apreciable “0” y consolidación apreciable “1” | 42 |
| Figura 11. Muestras de termoplástico consolidadas con diferentes composiciones de PVA: 0%, 2%, 5% y 10%. Porcentaje en peso de PVA con respecto al peso de almidón oxidado..... | 43 |
| Figura 12. Esfuerzo (MPa) en función de la deformación (%) en compresión a 0%PVA..... | 45 |
| Figura 13. Comportamiento mecánico a compresión 2%PVA..... | 45 |
| Figura 14. Comportamiento mecánico a compresión 5%PVA..... | 46 |
| Figura 15. Comportamiento mecánico a compresión muestra 10%PVA..... | 46 |

| | |
|---|----|
| Figura 16. Recopilación de comportamiento a compresión, curva Esfuerzo-Deformación..... | 47 |
| Figura 17. Diagrama esfuerzo-deformación a flexión 0%PVA, 2%PVA, 5%PVA, 10%PVA..... | 49 |
| Figura 18. Termograma flujo de calor (W/g) en función de la temperatura (°C), composiciones con PVA: 0%, 2%, 5% y 10%..... | 51 |
| Figura 19. Temperatura de transición vítrea por DSC: 0%PVA, 2%PVA, 5%PVA y 10%PVA..... | 52 |
| Figura 20. Termograma flujo de calor (W/g) en función de la temperatura (°C)..... | 52 |
| Figura 21. Termograma de porcentaje de peso (%) en función de la temperatura (°C): 0%PVA, 2%PVA, 5%PVA y 10%PVA..... | 55 |
| Figura 22. Termograma de análisis termogravimétrico porcentaje de de peso (%) en función de la temperatura (°C), de todas las composiciones..... | 56 |
| Figura 23. Micrografías electrónicas de barrido de almidón de yuca nativo: 250x; 500x; 1000x y 2000x..... | 58 |
| Figura 24. Micrografía electrónica de barrido de almidón oxidado de yuca a magnificaciones de 1000x y 2000x..... | 58 |
| Figura 25. Micrografía electrónica de barrido de almidón gelatinizado a magnificaciones de 500x, 1000x..... | 59 |
| Figura 26. Micrografía electrónica de barrido a un aumento de 2000x de muestras 0%, 2%, 5% y 10% de PVA..... | 59 |
| Figura 27. Consolidación de TPS-NaCl método SLUP y lixiviación de NaCl en agua destilada..... | 60 |

Figura 28. Diseño CAD molde de red de agujas (WNM), consolidación de termoplástico de almidón de yuca oxidado a 10%PVA en molde de agujas.....61

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de nuevos polímeros ha sido un tema de gran interés en gran número de investigadores, como se puede ver en el aumento de publicaciones realizadas cada año con respecto a este tema (Elsevier, 2018). La motivación de los investigadores yace en reemplazar plásticos derivados del petróleo, que causan contaminación ambiental debido a su carente capacidad de biodegradarse (Zhang, Y., *et. al*, 2013). El uso de almidón para realizar polímeros termoplásticos es una alternativa que ha llamado la atención debido a la abundancia de este material, su bajo precio de obtención, su biodegradabilidad (Bergel, 2018) y la facilidad de modificarlo químicamente (Labet, Thielemans, y Dufresne, 2007).

Las propiedades del termoplástico y sus características estructurales difieren dependiendo de la fuente del almidón, como ha sido reportado en estudios anteriores (Zhu, *et. al.*, 2017). En el presente proyecto, se utiliza como fuente de almidón la yuca, ya que es la quinta fuente de almidón con mayor producción en el mundo, la tercera más importante en regiones tropicales, y es de gran facilidad de adquisición en el Ecuador (FAOSTAT, 2009). Además, a diferencia de otros tubérculos, el 80% del peso de la yuca es almidón seco, rico en vitamina C, carotenoides y minerales (Tonukari, 2004). El almidón, junto al colágeno y al quitosano se destacan de los polímeros naturales por su buena respuesta al cuerpo humano, como su buena biocompatibilidad y biodegradabilidad (Lee, Singla, Lee,

2001;Bensaid, 2003), haciendo de estos polímeros buenos prospectos para su uso en ciencias de la salud como la ingeniería de tejidos, específicamente para tejidos óseos.

La ingeniería de tejidos es un campo de la medicina regenerativa con el objetivo de promover el cuidado de la salud incorporando nuevos materiales y nueva tecnología (Zarrintaj, *et. al.*, 2018). Los principales componentes de la ingeniería de tejidos son las células y el biomaterial. Ambos componentes se combinan para crear un dispositivo de restauración del tejido que se encuentra afectado (Babensee, *et. al*, 1997). Para la regeneración celular se implementan andamios, estructuras de soporte hechas de biomateriales, usados para facilitar el crecimiento de células de tejidos y transporte de nutrientes. Estos andamios se degradan gradualmente, dejando una matriz extracelular de tejido inmaduro (Zhu y Chen, 2013).

La formación del biomaterial y sus características depende del tejido que tienen que reemplazar y regenerar. Asimismo, para el diseño y obtención del biomaterial se debe considerar varios factores importantes que son: biocompatibilidad, biodegradabilidad, propiedades mecánicas y arquitectura del andamio que se fabricará con el mismo (O'Brien, 2011).

Biocompatibilidad en un biomaterial es la capacidad de los mismos en mantener una actividad celular normal, incluyendo direccionamiento de moléculas, sin provocar efectos tóxicos en los tejidos del huésped (Williams, D., 2008). En estudios previos, la

biocompatibilidad de compuestos hechos con almidón ya ha sido comprobada. Compuestos formados a partir de almidón y policaprolactona (PCL) han demostrado ser biocompatibles, al no presentar inflamaciones tras su implantación (Marques *et al.*, 2005). Estos estudios han demostrado la utilización del almidón como un adecuado biomaterial.

El segundo factor a considerar para el desarrollo del biomaterial es la biodegradabilidad. Este factor es de suma importancia debido a que el organismo necesita generar tejido inmaduro producido por la generación de células dentro de una matriz extracelular generada en el andamio. De esta manera, el andamio se degrada y da paso a esta matriz extracelular (Babensee, 1998). En el estudio de Li *et al.* (2014), se reporta la biodegradación de películas de almidón y el análisis de procesos que permiten la aceleración de esta biodegradación.

El tercer factor a tomar en cuenta para que un biomaterial tenga un adecuado funcionamiento son sus propiedades mecánicas, donde el material debe poseer características mecánicas similares al tejido que se va a regenerar. (Cho *et al.*, 2014) Las propiedades mecánicas para un ideal andamio de hueso dependen de la zona donde se va a aplicar. La región esponjosa responsable de la generación de células de sangre posee propiedades mecánicas débiles (módulo de Young de 0,1 a 2GPa y esfuerzo a compresión de 2 a 20MPa); mientras que la región exterior o cortical es responsable de la protección de los órganos (con mayor densidad, esfuerzo entre 100 a 200MPa, y módulo de Young de 15 a 25GPa) (Olszta, *et al.*, 2007).

El almidón al estar compuesto por dos polímeros de glucosa principales: una cadena lineal, amilosa (Fig. 1a) y una cadena compleja amilopectina (Fig. 1b), posee un gran número de grupos hidroxilos, lo que da al termoplástico una pobre resistencia al agua y un pobre comportamiento mecánico (Müller, Yamashita, y Laurindo, 2008; Schieker, *et. al.*, 2006).

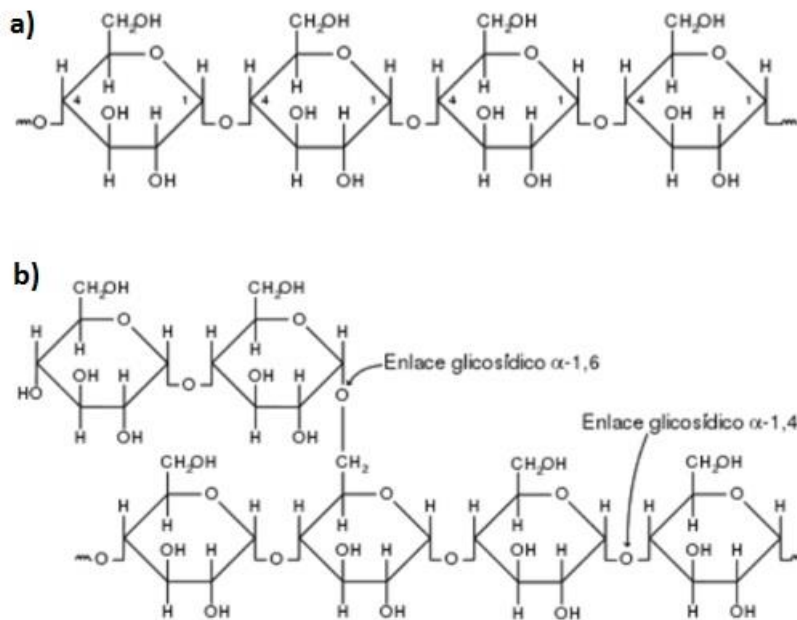


Fig. 1: (a) Segmento de la molécula de amilosa, (b) segmento de la molécula de amilopectina. (Ruiz, G., 2006)

Con el fin de mejorar estas propiedades, se realizan modificaciones químicas, como la oxidación del almidón. Durante la oxidación, el almidón pierde su cristalinidad y los grupos hidroxilos en el anillo de glucosa son parcialmente oxidados en aldehídos y cetonas, debilitando enlaces de hidrógeno en las cadenas del almidón (introducción de grupos carbonilos), resultando en un mejoramiento de las propiedades mecánicas o endurecimiento del comportamiento termoplástico e hidrofobicidad (Wang, Yu et al., 2007). Estudios anteriores han reportado la mejora de propiedades mecánicas a

comprensión y resistencia al agua con el aumento del contenido de grupos carbonilos por unidad de glucosa en almidón modificado de maíz (Yu, Z., et. al. 2009).

Entre las sustancias oxidantes más comunes se encuentran ozono, hipoclorito de sodio y peróxido de hidrógeno. Sin embargo, el peróxido de hidrógeno no es costoso y es efectivo en obtención de contenido de grupos carbonilos (Wang, Yu et al., 2007). No es dañino para el ser humano por la ausencia de sustancias nocivas en su composición y es amigable con el medio ambiente, debido a su degradación en hidrogeno y oxígeno (Sangseethong, Termvejsayanon & Sriroth, 2010).

Para mejorar las propiedades mecánicas del almidón se puede adicionar plastificantes. Los plastificantes son sustancias de bajo peso molecular que son fácilmente incorporadas en la matriz polimérica, destruyendo uniones inter e intramoleculares de hidrógeno y aumentando el volumen libre de las cadenas poliméricas, lo que incrementa la movilidad de las mismas (Zhang, Wang, Zhao y Wang, 2013). Esta incorporación de plastificante en la matriz polimérica provoca mayor estabilidad térmica en el procesamiento del termoplástico (A.P. Mathew, A. Dufresne, 2002).

En la formación de biopolímeros para ingeniería de tejidos se suele usar polímeros sintéticos como alcohol de polivinilo (PVA), ácido poliglicólico (PGA), ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL) y sus mezclas. Estos polímeros pueden utilizarse como material matriz o plastificante y prometen ser alternativas versátiles, debido a la facilidad de su

procesamiento (Stevens, 2008). De acuerdo a Follain (2005), el polímero sintético PVA es una buena opción para realizar enlaces con polímeros naturales de almidón, debido a su buena solubilidad en agua, su biodegradabilidad y biocompatibilidad.

Para efectos de este proyecto, se ha decidido explorar el uso de almidón de yuca oxidado como material matriz con adiciones de PVA como plastificante para obtener un nuevo biomaterial para realizar andamios celulares. Adicionalmente, se explorará la factibilidad de realizar estos andamios mediante dos métodos: lixiviación de sal usando polvos (SLUP) (Cho *et. al.*, 2014) y molde de red de agujas (WNM) (Cho *et.al.*, 2014).

1.1. OBJETIVOS:

Objetivo General:

- Desarrollar y caracterizar un termoplástico obtenido a base de almidón de yuca (*Manihot Esculenta*) oxidado con adiciones de alcohol de polivinilo (PVA) y validar su potencial uso en la ingeniería de tejido óseo.

Objetivos Específicos:

1. Elaborar un protocolo de obtención del termoplástico a base de almidón de yuca oxidado con adiciones de alcohol de polivinilo (PVA).
2. Determinar sus características químicas, mediante la determinación del contenido de grupos carbonilos-carboxilos.
3. Determinar sus características mecánicas, mediante ensayos de compresión en una máquina de ensayos universal (UTM) y ensayo de flexión, de acuerdo a la norma ASTM E2769.
4. Determinar sus características térmicas, mediante análisis termo-gravimétrico (de acuerdo a la norma ASTM E1582 y ASTM E2550), y calorimetría diferencial de barrido (de acuerdo a las normas ASTM E968 y ASTM D3418).
5. Observar características morfológicas en un microscopio electrónico de barrido (SEM).

2. DESARROLLO DEL TEMA

Para la elaboración de un termoplástico a base de almidón de yuca oxidado con adiciones de PVA y su caracterización se llevó a cabo los pasos que se observan en la figura 2:

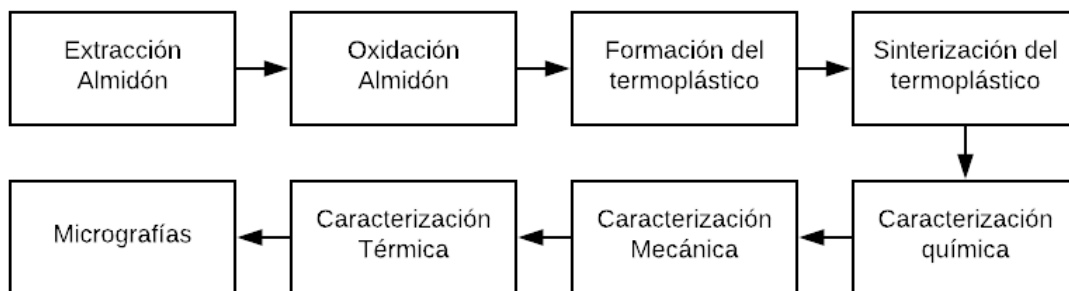


Fig. 2: Pasos de la elaboración de un termoplástico a base de almidón de yuca oxidado y su caracterización

2.1. EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN DE YUCA

La extracción del almidón de yuca se llevó a cabo mediante una adecuación del proceso propuesto por Rocha, *et. al.*, (2011) La yuca fue triturada y mezclada con agua destilada en proporción 75:25 respectivamente en relación peso en volumen, hasta que se formó una mezcla homogénea. Después, fue filtrada con una malla sintética de nylon para separar los residuos sólidos. Se dejó precipitar, se removió el sobrenadante y el precipitado fue lavado con agua destilada cuatro veces consecutivas para mantener el almidón limpio. El almidón fue extraído del recipiente, después colocado en moldes de aluminio y llevado a un horno a 40°C, hasta obtener un residuo totalmente seco.

2.2. MODIFICACIÓN DEL ALMIDÓN

2.2.1. Esterilización del Almidón

Para iniciar la modificación del almidón, éste fue esterilizado mediante el uso de etanol al 70% v/v, después centrifugado por 10 min a 5100 rpm. Cuatro ciclos de lavados se hicieron desalojando el sobrenadante, re-suspendiendo el almidón en agua destilada, y centrifugando nuevamente. Una vez esterilizado el almidón, se efectúa su gelatinización.

2.2.2. Oxidación del Almidón

Los granos de almidón a temperaturas mayores a los 53°C, y en presencia de agua comienzan a hincharse hasta formar una pasta uniforme. Este proceso es conocido como gelatinización (Liu, H., 2009). Durante la gelatinización, se da la pérdida de cristalinidad de los granos de almidón en presencia de calor y grandes cantidades de agua. En este proceso, los enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares son destruidos, permitiendo que en estos sitios se pueda atraer más agua y se facilite la modificación (Ratnayake y Jackson, 2008). En esta condición de gelatinización, el almidón es oxidado por el peróxido de hidrógeno (Wang, Zhang, Zhang y Wang, 2007).

La oxidación fue llevada a cabo mediante una modificación de la metodología propuesta por Zhang, y Wang (2009) con peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Se preparó una solución del almidón al 2% en relación peso en volumen (p/v) con agua destilada, y se gelatinizó el almidón a 80°C, durante 30 min, bajo agitación constante, utilizando una plancha de

agitación magnética y calentamiento. Una vez gelatinizado, el almidón se dejó enfriar hasta llegar a 40°C.

Para la oxidación, se agregaron 6.25ml de H₂O₂ al 5% en volumen (v/v) por cada 2 g de almidón gelatinizado de manera gradual y constante durante 60 min, a temperatura ambiente y bajo agitación moderada. Durante este tiempo, se mantuvo el pH en un valor de 7, utilizando alícuotas de HCl y NaOH de 0,1mol/L.

Estudios revelan que la cinética del proceso de oxidación del almidón a altos valores de pH se facilita, sin embargo estos altos valores promueven también la degradación del mismo. Por ello, en pH 7, el rendimiento de la cinética de formación de grupos carbonilos demostró ser la mayor, con un rendimiento de 95% (Salmi, T., *et al*, 2016). Se utilizó H₂O₂ al 5% v/v de acuerdo a investigaciones previas realizadas en el grupo de biomateriales de la Universidad San Francisco de Quito. En ellas se encontró que a esta concentración se obtuvo mayor contenido de grupos carbonilos en relación con el contenido de grupos carboxilos.

Al finalizar el proceso de oxidación, se realizó una precipitación del almidón oxidado con etanol al 50% en volumen (v/v), para después realizar centrifugación a 5000rpm por 5 minutos para separar el precipitado (almidón oxidado) del peróxido de hidrógeno, etanol y agua. Este proceso es similar al reportado por Zhang, y Wang (2009), pero con modificaciones (precipitación en etanol) debido a la alta viscosidad de la solución oxidada y la dificultad de centrifugar directamente la solución obtenida. Esta condición no permitió

extraer el H_2O_2 , que generalmente se descarta por simple centrifugación. Seguidamente, el almidón oxidado fue secado a $40^\circ C$ durante 2 días. Después del secado, el almidón modificado fue triturado para la subsecuente etapa de consolidación y compactación.

En la figura 3, se presenta un esquema representativo de las etapas de modificación del almidón:

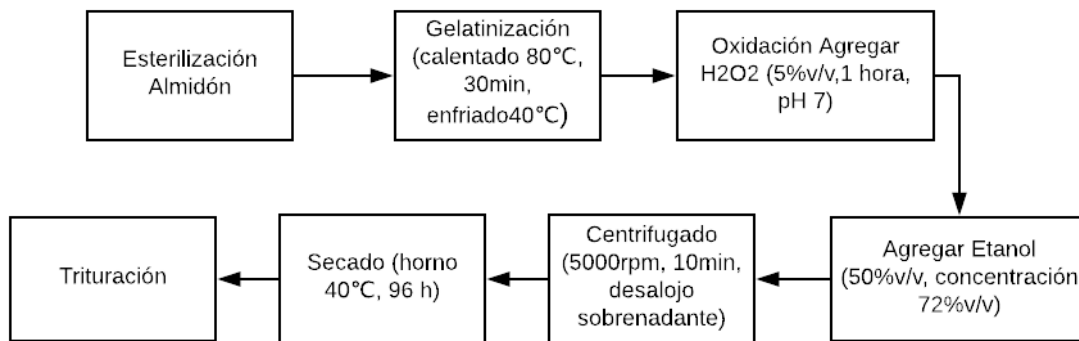


Fig.3: Modificación almidón de yuca por oxidación utilizando peróxido de hidrógeno

2.3. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL ALMIDÓN OXIDADO

La modificación que se realiza al biopolímero es la oxidación del almidón, provocando un cambio en sus características mecánicas, térmicas e hidrofobicidad (por oxidación de grupos hidroxilos y formación de grupos carbonilos y carboxilos). Por lo tanto, es crucial determinar el contenido de grupos carbonilos y carboxilos de la muestra. Para esta determinación, se realizaron 3 análisis por cada muestra de 3 muestras de almidón nativo como control/blanco y 3 muestras de almidón oxidado.

2.3.1. Determinación de grupos carbonilos

La determinación de grupos carbonilos fue realizada de acuerdo al protocolo reportado por Smith (1967). 4 g de muestra (almidón nativo o almidón oxidado) fue suspendido en 100mL de agua destilada y calentada a 80°C en constante agitación hasta lograr una completa gelatinización durante 30 minutos. Después fue enfriada hasta 40°C. Inmediatamente el pH fue ajustado a 3.2 con soluciones de ácido clorhídrico (HCl) de 0.1mol/L. Seguidamente fue agregada 15 mL de solución de cloruro de hidroxilamina. Posteriormente, la muestra fue cubierta con film de plástico y puesta en un horno a 38 °C por 4 horas. Finalmente, fue titulada rápidamente a pH 3.2 con 0.1mol/L de HCl. Cabe destacar que la solución de cloruro de hidroxilamina fue obtenida disolviendo 25 gramos de cloruro de hidroxilamina en grado reactivo en agua, añadiendo 100mL de solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0.5mol/L y posteriormente aforado a un volumen de 500mL.

El contenido de grupos carbonilos por cada 100 unidades de glucosa es calculado de acuerdo a la siguiente expresión (ecuación 1):

$$\frac{CO}{100GU} = \frac{(V_b - V_s) * M * 0.028 * 100}{W} \quad (1)$$

Donde V_b es el volumen de HCl usado en la muestra de control/blanco (en este caso, almidón nativo) para titular a pH 3.2 (mL), V_s es el volumen de HCL requerido para la muestra oxidada, M corresponde a la molaridad del HCl y W es el peso de la muestra.

2.3.2. Determinación grupos carboxilos

La determinación del contenido de grupos carboxilos fue realizada de acuerdo al protocolo de Parovuori, *et. al.*, (1995). 5 gramos de muestra seca (almidón nativo o almidón oxidado) fue suspendida en 25mL de agua destilada. La mezcla fue agitada por 30 minutos y después centrifugada. El sobrenadante de agua fue retirado y el residuo lavado con agua destilada. Después, la muestra fue suspendida en 300 mL de agua destilada y calentada a 80°C en constante agitación por 30 minutos logrando una completa gelatinización. Finalmente, fueron tituladas a pH 8.2 con NaOH al 0.01mol/L.

El contenido de grupos carboxilos por 100 unidades de glucosa fue calculado de acuerdo a la siguiente expresión (ecuación 2):

$$\frac{COOH}{100GU} = \frac{(V_s - V_b) * M * 0.045 * 100}{W} \quad (2)$$

Donde V_s es el volumen de NaOH requerido por la muestra oxidada (mL), V_b corresponde al volumen de NaOH (mL) usado en la muestra de control/blanco (almidón nativo), M es la molaridad de NaOH y W es el peso de la muestra.

2.4. OBTENCIÓN DEL TERMOPLÁSTICO

El almidón oxidado molido fue gelatinizado en agua destilada al 2%, peso en volumen (p/v), a 80 °C durante una hora y después enfriado a 40 °C. El PVA es disuelto en 50mL de agua destilada en un tubo Falcon tapado, sumergido en agua a 90 °C. Una vez que el PVA se disolvió totalmente, fue agregado al almidón oxidado gelatinizado. La mezcla es homogenizada con agitación constante durante 30 minutos. Posteriormente, fue colocada en un molde y secada en el horno a 40 °C hasta que el peso se mantuvo constante. Las composiciones de los termoplásticos realizados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Composición de termoplástico

| Muestra | Almidón Oxidado %(p/p) | PVA %(p/p) (con respecto al peso de almidón oxidado) |
|----------------|-------------------------------|---|
| 0%PVA | 100 | - |
| 2%PVA | 98 | 2 |
| 5%PVA | 95 | 5 |
| 10%PVA | 90 | 10 |

Las composiciones formadas tienen como porcentaje máximo 10 % PVA, ya que no se debe exceder del 20 % del plastificante en relación al peso total de la composición (Meneses, Corrales, y Valencia, 2007). Una vez seco el termoplástico, éste fue molido para realizar su consolidación.

2.5. CONSOLIDACIÓN DEL TERMOPLÁSTICO

El proceso de consolidado consiste en producir piezas sólidas a partir de polvos. Para ello, se compactaron los polvos a presión para después calentarlos a una temperatura menor que su temperatura de fusión, provocando la consolidación del material. Por esta razón, se diseñó un sistema de compactación axial a presión homogénea con capacidades de calentamiento controlado. Posteriormente, se realizó un protocolo de consolidación del nuevo biopolímero.

2.5.1. Diseño de sistema de compactación

Para aplicar presión axial de manera homogénea, se diseñó una prensa con un molde cilíndrico compuesto por 3 piezas mostradas en la figura 4. La fuerza se aplica sobre el pistón (a), provocando una presión axial homogénea en los polvos que se coloquen dentro del molde cilíndrico (b) al ser soportados por la base (c). El diseño fue inspirado por el mecanismo de compactación del kit de prensa rápida de pastillas de bromuro de potasio (KBr) de SIGMA - ALDRICH®. El dispositivo tiene un diámetro en el área de compactación de 1 cm y una altura del pistón de 3 cm (más detalles en Anexos).

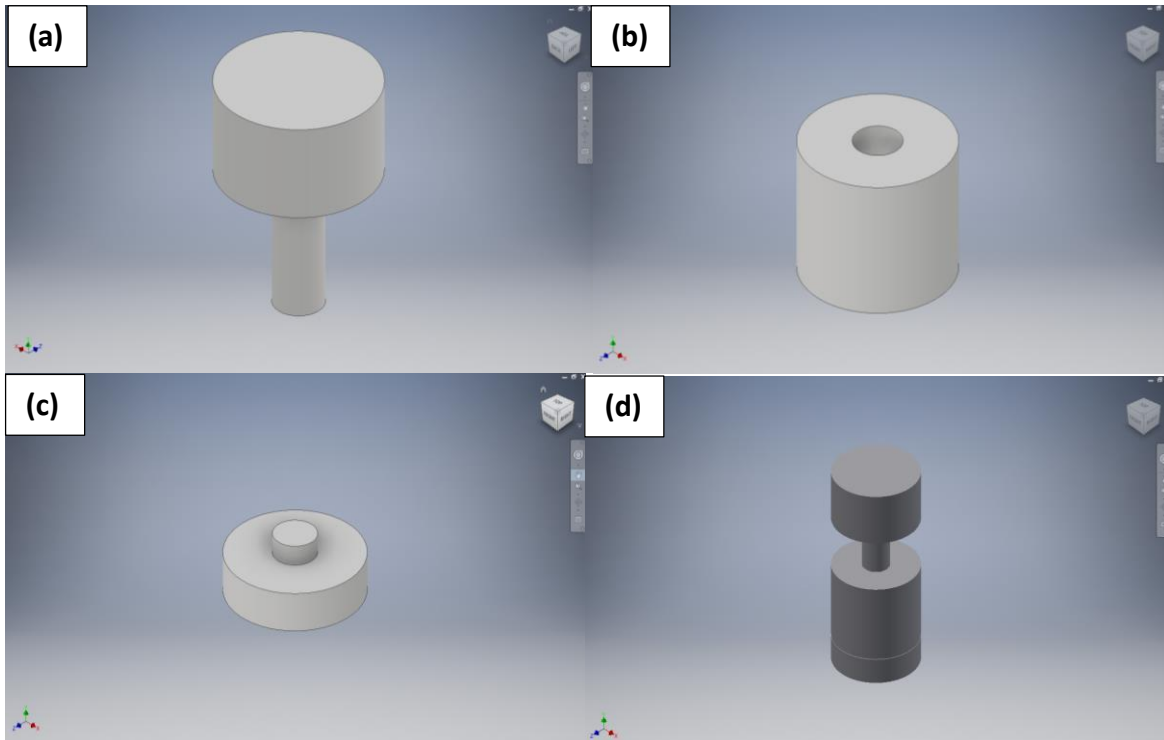


Fig. 4: Diseño CAD piezas sistema de compactación: a) Pistón; b) molde cilíndrico; c) base y d) sistema armado

2.5.2. Diseño del sistema de calentamiento

Para el control de la temperatura de calentamiento en el sistema de compactación, se desarrolló dos sistemas de control de temperatura.

2.5.2.1. Control de temperatura encendido-apagado

El control de temperatura encendido-apagado comprende el manejo del encendido y apagado de una fuente de calentamiento. En este sistema sólo existen 2 estados: a) prendido: cuando la temperatura del sistema está por debajo de la temperatura deseada y b) apagado: cuando está por encima de esta temperatura. El sistema construido está compuesto por un termostato Rainbow 50 - 320 °C TS-320SR, una pantalla analógica, una

resistencia eléctrica Omega (80 W de potencia, 110V) y una fuente eléctrica a 110V. (Figura 5)



Fig. 5: Sistema de control de temperatura de tipo encendido-apagado

2.5.2.2. Control de temperatura proporcional, integral y derivativa (PID)

Este control de temperatura calcula el error entre el valor deseado de temperatura y la temperatura del sistema. Posee 3 parámetros para el control que son: el proporcional, el integral y la derivativa. El proporcional evalúa el error actual, el integral evalúa el error pasado y la derivativa estima el error futuro. La suma de los tres factores es usada para suministrar la potencia adecuada a un elemento calefactor. El control de temperatura PID usado está conformado por: una resistencia eléctrica Omega (80W de potencia, 110V), un arduino nano, un sensor LM35 (encargado de suministra el valor de entrada al algoritmo programado en el arduino), un transformador de 110V a 5V y una pantalla LSD. (Figura 6) El algoritmo programado se encuentra disponible en los anexos de este trabajo.

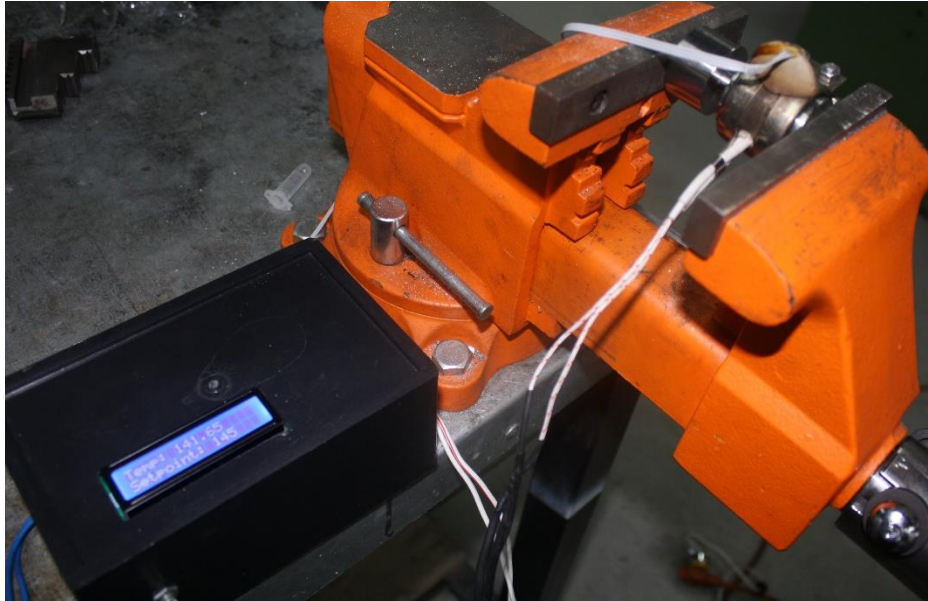


Fig. 6: Sistema de control de temperatura de tipo proporcional, integrativo y derivativo (PID)

2.5.3. Condiciones de Consolidación

Tras haber realizado pruebas de ambos sistemas de control de temperatura en el sistema de compactación diseñado, se observó que el sistema de control de temperatura encendido-apagado no controlaba de manera efectiva la temperatura, debido al error en el rango de temperatura deseada. A diferencia del sistema PID que reguló de mejor manera la potencia enviada a la fuente de calor y por ende la temperatura de calentamiento.

En estudios similares de consolidación en un molde a presión y con calentamiento, se reportó que termoplásticos a base de PCL-NaCl se lograron consolidar a una presión de 30MPa y una temperatura de 100°C durante 1 minuto (Cho, Y., *et. al.* 2014). No obstante, tras aplicar estas condiciones en este trabajo no se obtuvo consolidación apreciable. Por tal razón, se definió subir la presión a 75 MPa y se decidió variar la temperatura y el tiempo de compactación hasta lograr la consolidación de la muestra.

La presión de 75 MPa fue alcanzada mediante el apriete manual del molde cilíndrico dentro de las mordazas de una entenalla. Para tal efecto se realizó el cálculo del torque necesario a aplicar con un torquímetro SURTEK, modelo 107103.

Primero, la fuerza necesaria a ejercer en el pistón del molde cilíndrico se calcula con la ecuación 3:

$$F = PA \quad (3)$$

En donde, la presión $P = 75$ MPa, el área de contacto del pistón con el termoplástico $A = \pi r^2 = 78.54 \text{ mm}^2$, y F corresponde a la fuerza necesaria a aplicar en (N). La fuerza necesaria es de 23507,91 N.

Dado que la entenalla es en esencia un tornillo de potencia, se puede aplicar la ecuación 4 para obtener el torque necesario para generar la presión deseada en el pistón.

$$T = \frac{F * d_m}{2} * \left(\frac{l + \pi f d_m * \sec(\alpha)}{\pi * d_m - f * l * \sec(\alpha)} \right) \quad (4)$$

Donde, “ F ” es la fuerza que se transmite, “ d_m ” es el diámetro medio de la rosca, “ f ” es la fricción, “ α ” es el ángulo de la rosca y “ l ” es el avance de la rosca (Budynas, R. y Nisbett, J., 2015).

Para el cálculo se tuvo en cuenta que el tornillo tiene un diámetro exterior de 22,22 mm, una rosca ACME estándar de $\alpha = 29^\circ$, un diámetro medio $d_m = 21,16\text{mm}$ y se asume un

coeficiente de fricción de 0,15 entre la rosca y el collarín de ajuste. Finalmente, el torque requerido es de 101.68 N•m. Para efectos prácticos, se aplicó un torque de 102 N•m.

En la tabla 2 se muestra la matriz experimental para realizar las pruebas de consolidación a presión constante (75MPa) del biopolímero con diferente contenido de PVA. El tiempo se varía en intervalos de 15 minutos y la temperatura de calentamiento en intervalos de 30 °C a partir de 80 °C.

Tabla 2: Matriz experimental de pruebas de consolidación

| Variable | Valores | | | |
|--------------------------|----------------|----|-----|-----|
| Composición %PVA | 0 | 2 | 5 | 10 |
| Temperatura [°C] | 25 | 80 | 110 | 140 |
| Tiempo [min] | 15 | 30 | 45 | 60 |

2.6. CARACTERIZACIÓN MECÁNICA

Debido a que se desea determinar el potencial uso de este biomaterial para ingeniería de tejidos óseos, las características mecánicas requeridas y monitoreadas fueron la resistencia a la compresión y el módulo de rigidez. Para determinar estas características, se emplean dos tipos de ensayos: a compresión y a flexión.

2.6.1. Ensayo a Compresión:

Se llevó a cabo un ensayo de esfuerzo uniaxial a compresión en las pastillas obtenidas del molde cilíndrico (diámetro de 10 mm y espesor de 3 mm). Para ello, se utilizó la máquina de ensayos universales (UTM) Tinius Olsen, H25KS. Al

tratarse de un termoplástico, se prefirió no ensayar hasta la ruptura en compresión por las limitaciones asociadas a la prueba. Por cuanto, el ensayo fue llevado a cabo hasta 200 MPa solamente. Se realizaron 5 ensayos por cada composición a una velocidad de 0.05 mm por minuto. El ensayo reporta la deformación y el esfuerzo que se aplica. De esta manera, se obtuvo el esfuerzo de fluencia, y el módulo de Young de cada muestra.

2.6.2. Ensayo a Flexión:

El ensayo a flexión se realiza con el fin de obtener el módulo de rigidez. Por limitaciones del pequeño tamaño de muestras obtenidas, se escogió realizar un ensayo de flexión en una pequeña barra soportada en dos puntos. Este ensayo fue realizado en un analizador termo mecánico TMA Q400, TA INSTRUMENTS (a temperatura ambiente (25 °C) y de acuerdo a la norma ASTM E2769 – 16),. La geometría de la muestra corresponde a una barra de 12mm de longitud x 3mm de ancho x 1mm de espesor. Para el ensayo, se aplicó una fuerza de 0 a 1 N en el centro del espécimen, y se realizaron 3 ensayos por cada composición. El ensayo devuelve la fuerza aplicada y el desplazamiento de la barra. A partir de las ecuaciones 5 y 6, se obtiene la curva esfuerzo-deformación de la muestra:

$$\text{Esfuerzo} = \sigma = \frac{3 * F * L}{2 * b * d^2} \quad (4)$$

$$\text{Deformación} = \varepsilon = \frac{6 * D * d}{L^2} \quad (5)$$

Donde “*b*” es el ancho de la barra (mm), “*d*” es el espesor de la barra (mm), “*D*” es el desplazamiento de la barra, “*F*” corresponde a la fuerza que se aplica (N), “*L*” es la longitud de la barra.

2.7. CARACTERIZACIÓN TÉRMICA

Para la caracterización térmica de las muestras, se llevaron a cabo 2 tipos de análisis: la calorimetría diferencial de barrido (DSC) y el análisis termogravimétrico (TGA).

2.7.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Este análisis fue realizado usando un equipo DSC Q1000 de TA Instruments, calibrado bajo la norma ASTM E968, con atmosfera de nitrógeno, desde -90 °C hasta 250 °C, con una rampa de calentamiento de 10 °C/min. La cantidad de muestra utilizada fue de 20mg por cada composición. De este ensayo se obtuvo la temperatura de transición vítrea, la entalpía de fusión y la temperatura de fusión de la muestra de acuerdo a la norma ASTM D3418.

2.7.2. Análisis termogravimétrico (TGA)

Este análisis fue realizado usando un equipo TGA Q500, de TA Instruments calibrado bajo la norma ASTM E1582. El análisis termogravimétrico se efectuó desde temperatura ambiente (25 °C) hasta 500 °C, con tasa de calentamiento de

10 °C/min, en una atmósfera de nitrógeno y con muestras de 20 mg por composición. El ensayo permite analizar la pérdida porcentual de masa con el aumento de la temperatura. De esta manera fue obtenida la estabilidad térmica de la muestra bajo la norma ASTM E2550.

2.8. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO (SEM)

Se realizó microscopía electrónica de barrido para comparar la morfología y características superficiales del almidón al ser procesado como del biopolímero obtenido. No se realizó ninguna preparación ni recubrimiento de la superficie de las muestras. La microscopía fue ejecutada en el microscopio electrónico de barrido JEOL, modelo IT300, con una presión extendida de 50 Pa, un voltaje de aceleración de 5kV para la muestra de almidón nativo y 8 kV para el almidón modificado. Se observó: el cambio entre el almidón nativo antes de realizar alguna modificación y después de gelatinizarlo; el cambio de los granos de almidón al pasar por el proceso de hinchamiento y entrar a la etapa de gelatinización; el almidón después de ser modificado; y, finalmente, el biopolímero consolidado.

2.9. PRODUCCIÓN DE ANDAMIOS

Adicionalmente, se evaluó la posibilidad de realizar andamios celulares con el biopolímero obtenido, utilizando dos métodos: el método de lixiviación de sal

usando polvo (SLUP por sus siglas en inglés) y el método de molde de red de alambres (WNM por sus siglas en inglés).

2.9.1. Método de lixiviación de sal usando polvo (SLUP)

El método SLUP realizado corresponde a una adaptación del método propuesto por Cho *et. al.* (2014). Para este método, se realiza mezclas de cada composición de termoplástico con sal. En primera instancia, se pulveriza el termoplástico y la sal separadamente, para después ser tamizados a un tamaño de 250 a 320 μm . Luego, se realiza composiciones termoplástico-sal en 50% en peso. Después, se sinteriza de acuerdo a la metodología explicada anteriormente. Por último, la muestra consolidada es extraída del molde y colocada durante 24 horas en constante agitación en un recipiente con agua destilada. Posteriormente, la muestra es secada en un horno a 40°C durante 48 horas.

2.9.2. Método de molde de red de agujas (WNM)

El proceso fue adecuado del método descrito por Cho *et. al.* (2014). Se realizó un sistema de presión similar al propuesto en la figura 4. Sin embargo, en vez de ser un molde cilíndrico sólido, se realizó un molde con rendijas de espesor de 500 μm como se observa en la figura 7. Posteriormente, se coloca una red de agujas (de 475 μm de diámetro cada una) entrecruzadas para formar la red buscada y se realiza el proceso de consolidación descrito anteriormente. De esta

manera, los polvos de termoplástico se consolidan alrededor de las agujas, dejando una red interna de cavidades después desmontar las mismas.

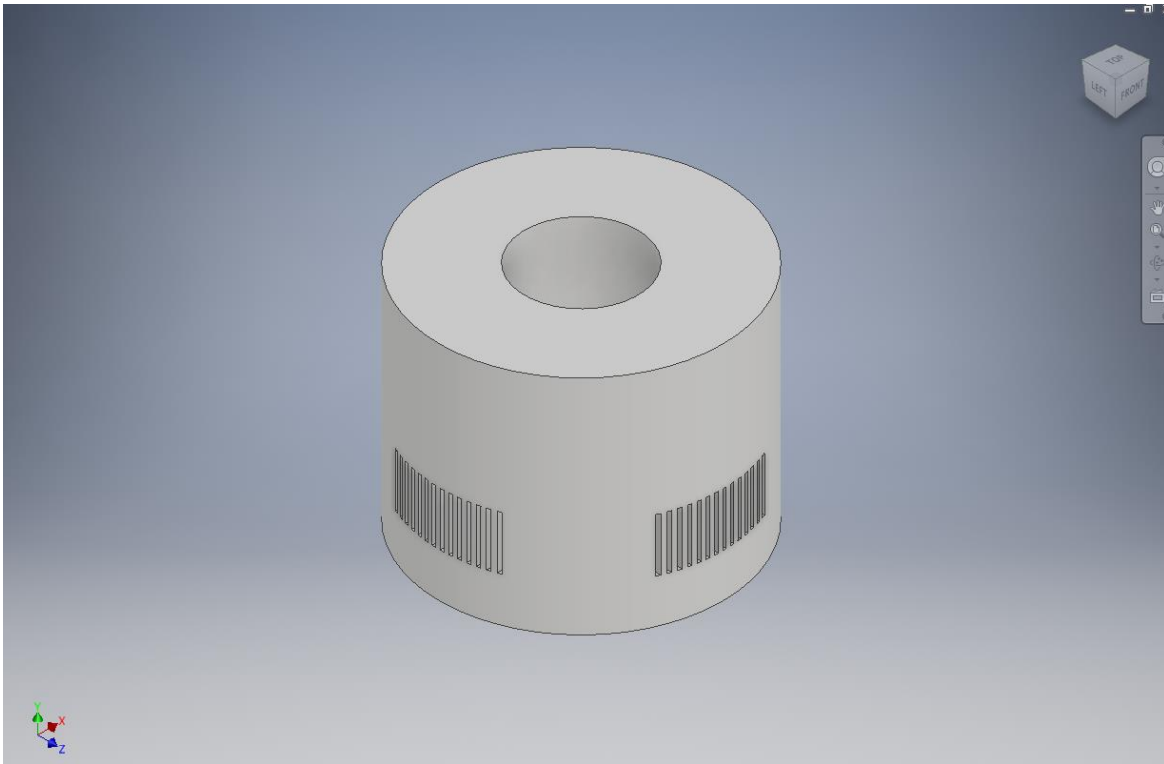


Fig. 7: Diseño CAD molde para método WNM

3. RESULTADOS

3.1. OXIDACIÓN DE ALMIDÓN

Después del secado en el horno durante 96 horas se observó que el almidón oxidado (Figura 8) ha quedado totalmente seco y con la geometría del molde de secado. Sin embargo, cuenta con una superficie irregular debido a la acumulación de material en ciertas regiones del molde.



Fig. 8: Almidón oxidado seco

3.2. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA

3.2.1. Determinación de grupos carbonilos y carboxilos

La determinación de grupos carbonilos, carboxilos y la suma de estos grupos que representa la oxidación total del almidón se presenta en la tabla 3. Como se

puede observar, tras el proceso de oxidación efectivamente se formaron grupos carbonilos al aplicar el peróxido de hidrógeno (5%v/v); demostrando la efectividad del uso de H₂O₂ para la oxidación de los grupos hidroxilos del almidón. Un mayor contenido de grupos carbonilos implica mejores propiedades mecánicas a compresión (Zhang, 2009).

Tabla 3: Contenido grupos carbonilos, carboxilos y oxidación total del almidón de yuca modificado con peróxido de hidrógeno

| Contenido grupos Carbonilos (CO/100GU) | Contenido grupos Carboxilos (COOH/100GU) | Oxidación total del almidón |
|---|---|------------------------------------|
| 0.303±0.021 | 0.071±0.005 | 0.374±0.025 |

* GU: unidades de glucosa

Estos resultados son consistentes con otros estudios realizados en el grupo de biomateriales de la Universidad San Francisco de Quito; donde, mediante el mismo método de oxidación, se encontró que el almidón de papa y camote mantiene un mayor contenido de grupos carbonilos respecto a grupos carboxilos, por un orden de magnitud.

3.3. OBTENCIÓN DEL TERMOPLÁSTICO

El termoplástico seco adquiere la geometría del molde de secado y mantiene una superficie irregular, debido a acumulaciones aleatorias de almidón-PVA en la solución gelatinizada (Figura 9).



Fig. 9: Termoplástico obtenido de Almidón Oxidado y 10%PVA

3.4. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE CONSOLIDACIÓN

Para determinar las mejores condiciones de consolidación, se varió tiempo de compactación y temperatura de calentamiento según tabla 2. Todos los procesos fueron llevados a cabo a una misma presión de 75 MPa, de acuerdo a la metodología explicada anteriormente. La tabla 4 muestra los resultados obtenidos. En ella, se marca como valor “0” si no se observa un consolidado apreciable (Figura 10a) y “1” si se observa un consolidado apreciable de toda la muestra (Figura 10b).

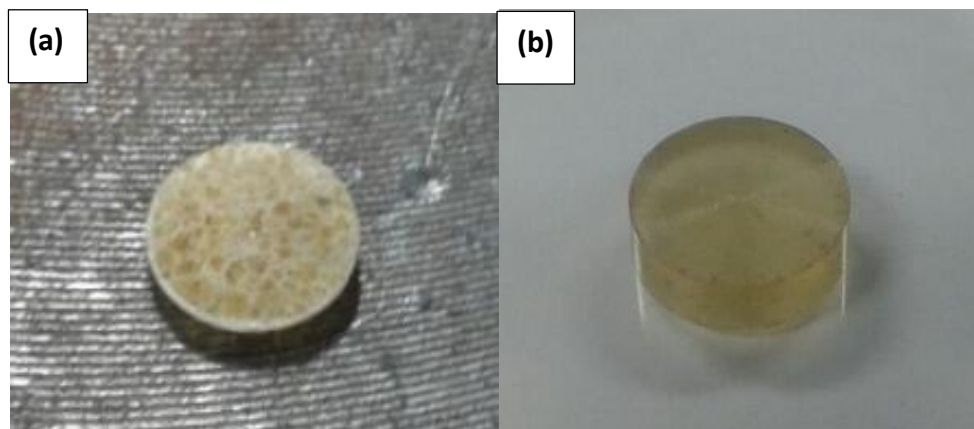


Fig. 10: Estados de consolidación a) consolidación no apreciable “0”, b) consolidación apreciable “1”

Tabla 4: Consolidación con respecto al tiempo y temperatura del proceso, “0” consolidado no apreciable, “1” consolidado apreciable

| 0%PVA | | | | | 2%PVA | | | | |
|-------------|------------------|----|-----|-----|-------------|------------------|----|-----|-----|
| Tiempo(min) | Temperatura (°C) | | | | Tiempo(min) | Temperatura (°C) | | | |
| | 25 | 80 | 110 | 140 | | 25 | 80 | 110 | 140 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 1 | 1 | 30 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 45 | 0 | 0 | 1 | 1 | 45 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 60 | 0 | 0 | 1 | 1 | 60 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 5%PVA | | | | | 10%PVA | | | | |
| Tiempo(min) | Temperatura (°C) | | | | Tiempo(min) | Temperatura (°C) | | | |
| | 25 | 80 | 110 | 140 | | 25 | 80 | 110 | 140 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 1 | 1 | 30 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 45 | 0 | 0 | 1 | 1 | 45 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 60 | 0 | 0 | 1 | 1 | 60 | 0 | 0 | 0 | 1 |

Como se puede observar en la tabla 4, a medida que aumentaba el valor de alcohol de polivinilo (PVA), la temperatura a la cual se aprecia consolidación aumentó. Esto se debe a la presencia de alcohol de polivinilo, ya que su temperatura de fusión ha sido reportada en 228 °C (Tubbs, R., 1965). Con 30 minutos de consolidación, se observó consolidación apreciable de cada muestra. Por ende, se estandarizó el proceso de consolidado para todas

las muestras a una presión de 75MPa, durante 30 minutos a 140°C. Las muestras obtenidas con este proceso se pueden observar en la figura 11.

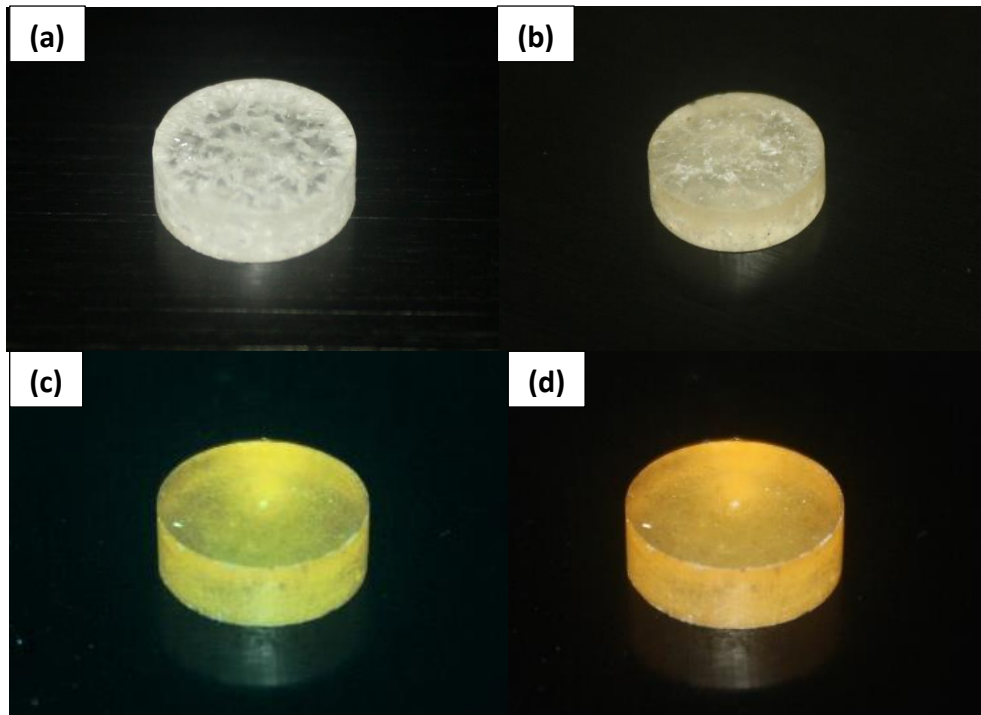


Fig. 11: Muestras de termoplástico consolidadas, con diferentes composiciones de PVA: a)0%, b)2%, c) 5%, y d) 10%. Porcentaje en peso de PVA con respecto al peso de almidón oxidado.

Es apreciable y distinguible que a medida de que se aumenta el %PVA, el biopolímero cambia su color de un semitransparente a un tono amarillento.

3.5. CARACTERIZACIÓN MECÁNICA

3.5.1. Comportamiento a compresión

Mediante los ensayos a compresión se obtuvo el esfuerzo de fluencia (σ_y), y el módulo de Young (E) de cada composición. Como se puede observar en las figuras 12 a 15, a medida

que aumentaba la proporción del PVA, el módulo de Young disminuyó y el esfuerzo de fluencia aumentó. En la figura 16 se puede comparar el comportamiento de cada curva de Esfuerzo-Deformación para cada muestra. Estos resultados son comparables con los de otros estudios de aplicación de plastificantes, donde se reporta disminución de tenacidad del material (Mathew, Dufresne, 2002), ocasionado por un aumento en el volumen libre y mayor movilidad de las cadenas moleculares.

En la curva Esfuerzo-Deformación de la composición 0%PVA (Figura 12), es posible observar el cambio de comportamiento entre la región elástica y plástica. Mientras que en la curva de la composición de 10%PVA (Figura 15), es más complicado diferenciar el cambio de zona elástica a plástica, por haber una disminución en el cuello de transición de región elástica a la plástica. La composición con mayor esfuerzo de fluencia fue la de 10%PVA, y la composición con mayor módulo de Young fue de 0%PVA.

En la figura 16 se puede apreciar un punto de inflexión alrededor de los 6MPa en todas las composiciones sin importar la cantidad de PVA colocado. Este comportamiento es una propiedad intrínseca del material base, debido a que el almidón oxidado al estar conformado por moléculas lineales (amilosa) y ramificadas (amilopectina), las reordena al estar sometido a compresión.

En la tabla 5 se encuentran resumidas las propiedades mecánicas a compresión (módulo de Young y esfuerzo de fluencia) de los materiales ensayados.

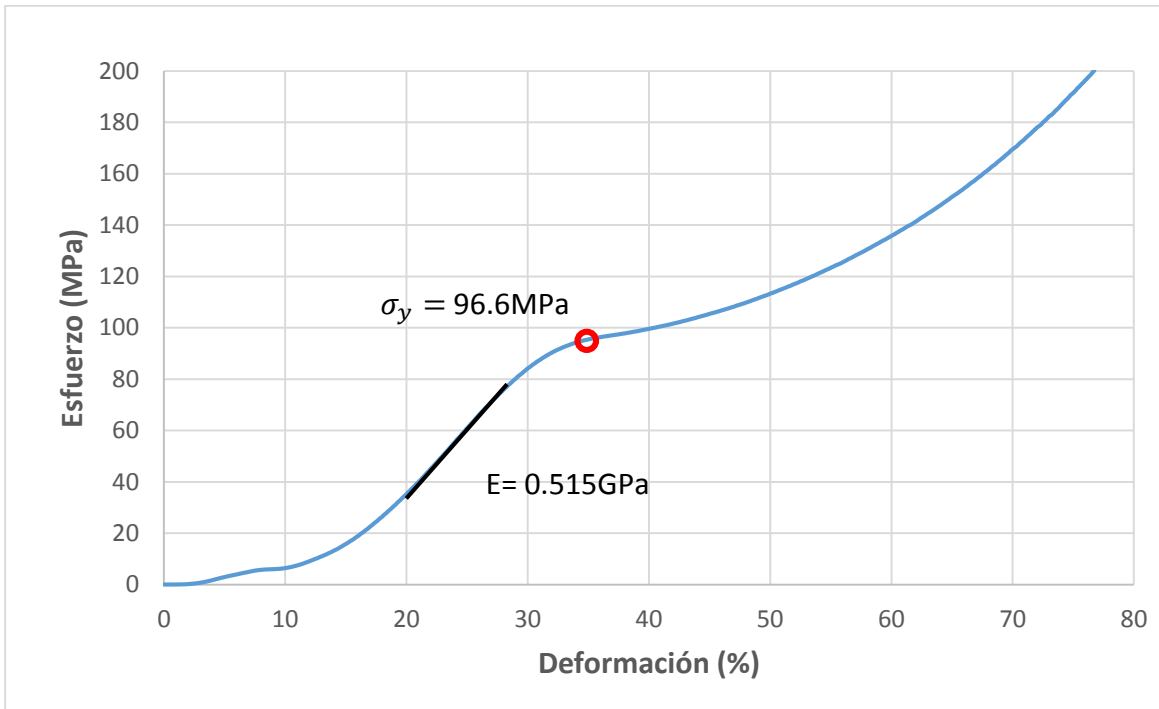


Fig. 12: Esfuerzo (MPa) en función de la deformación (%) en ensayo de compresión de la muestra con contenido de 0% PVA

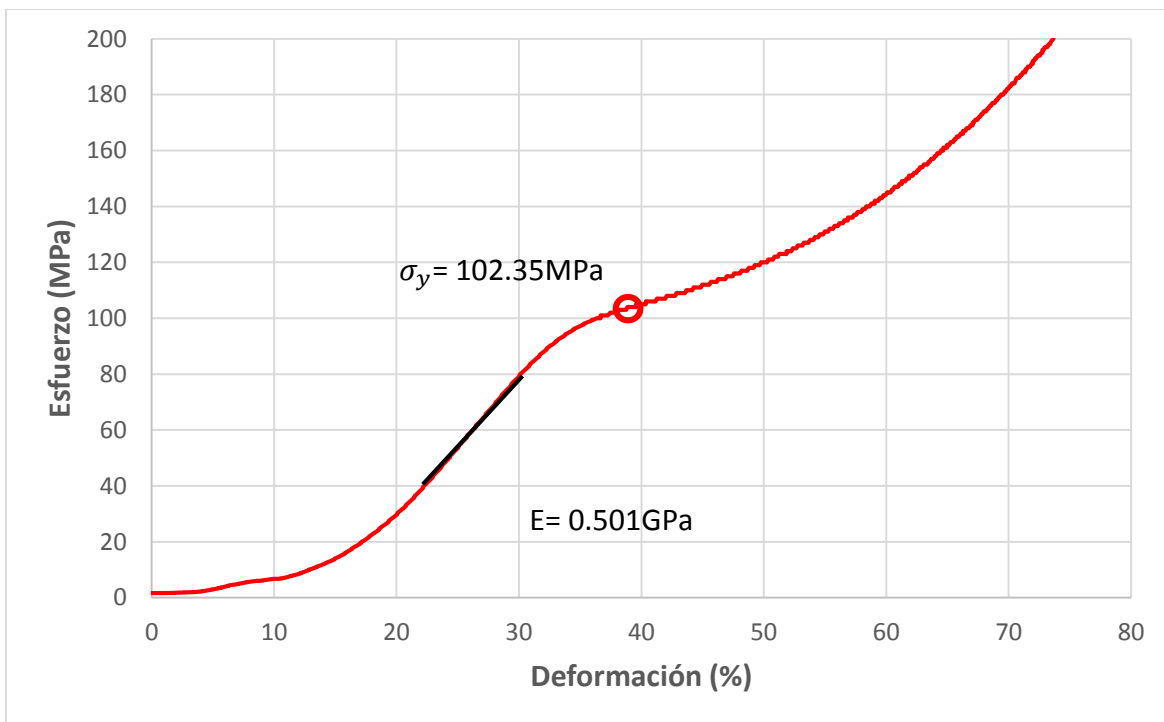


Fig. 13: Esfuerzo (MPa) en función de la deformación (%) en ensayo de compresión de la muestra con contenido de 2%PVA

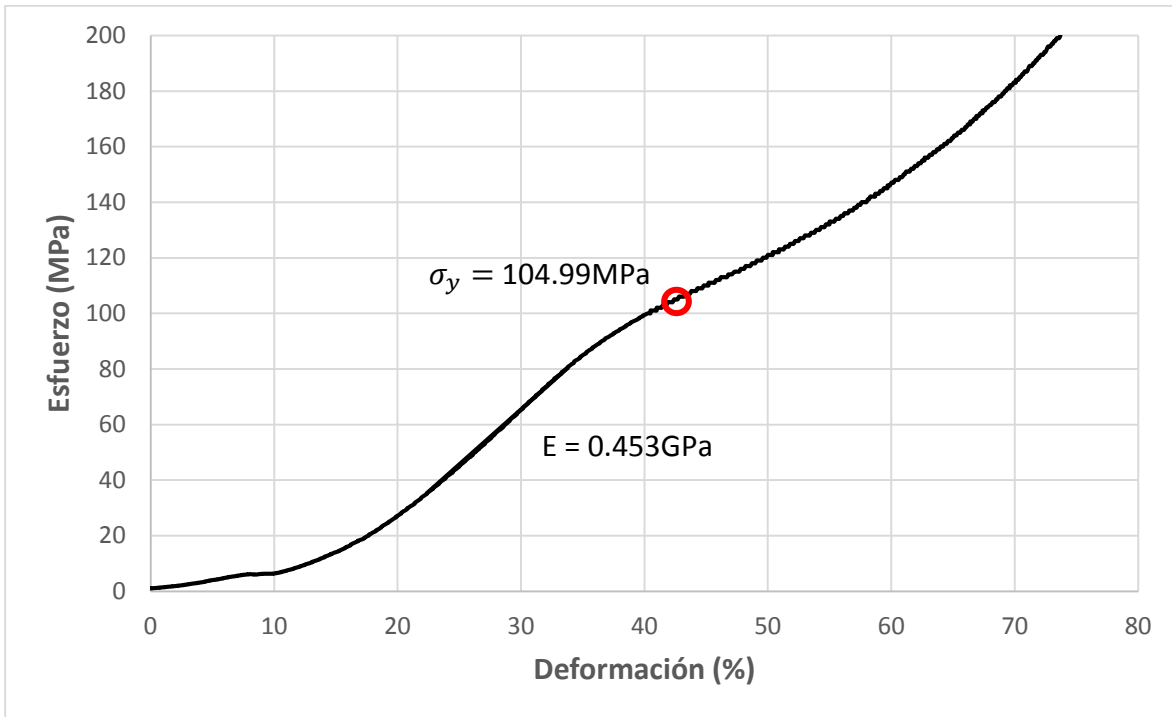


Fig. 14: Esfuerzo (MPa) en función de la deformación (%) en ensayo de compresión de la muestra con contenido de 5%PVA

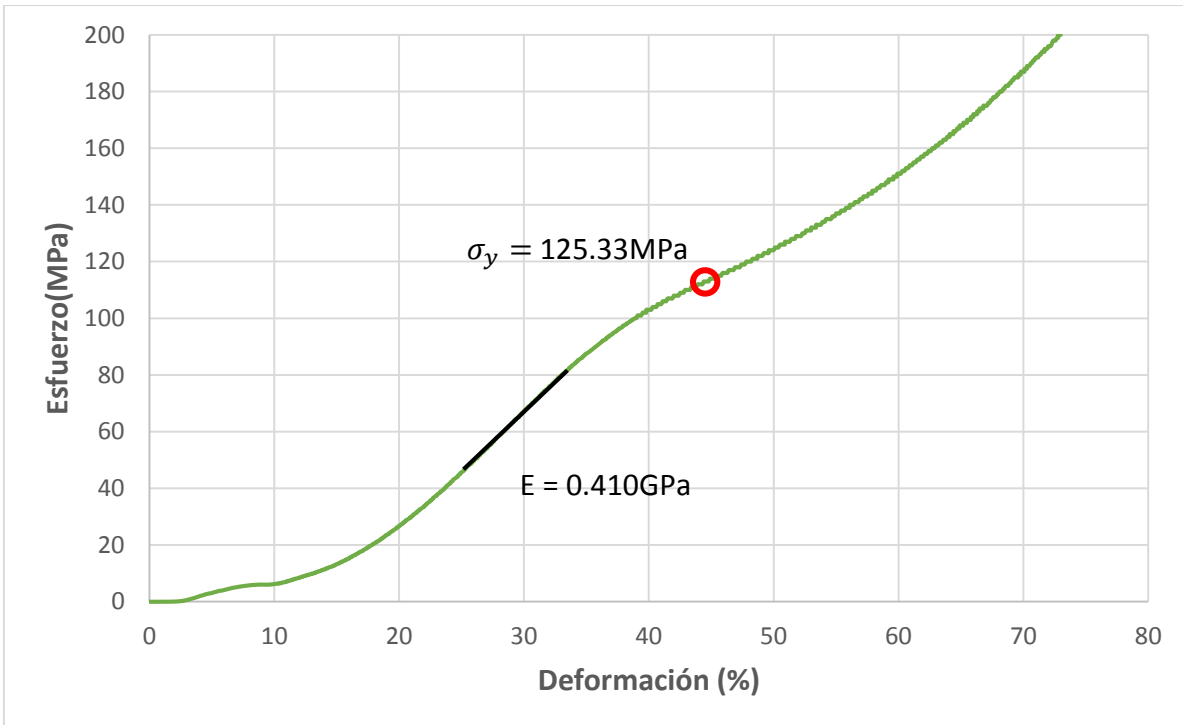


Fig. 15: Esfuerzo (MPa) en función de la deformación (%) en ensayo de compresión de la muestra con contenido de 10%PVA

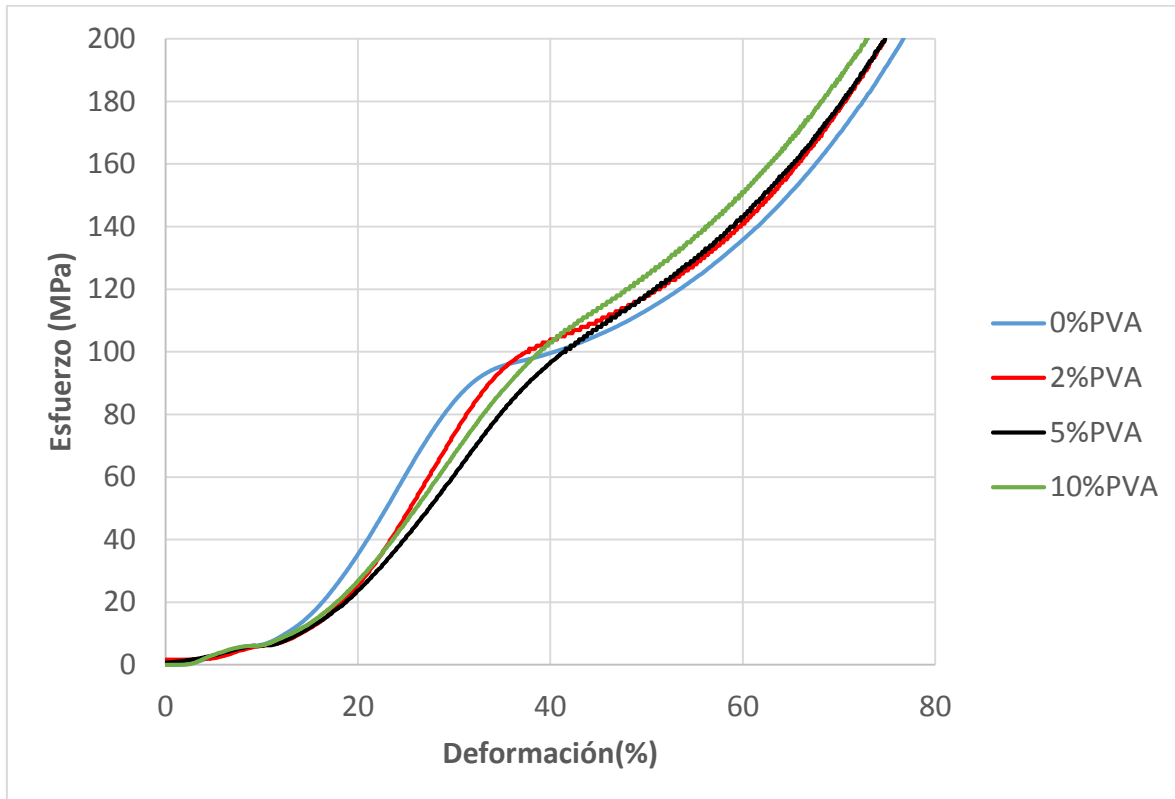


Fig. 16: Comparación de curvas Esfuerzo (MPa) en función de la deformación (%) en ensayo de compresión de las 4 diferentes formulaciones

Tabla 5: Propiedades mecánicas a compresión

| | Módulo de Young (GPa) | Esfuerzo de Fluencia (MPa) |
|---------------|-----------------------|----------------------------|
| 0%PVA | 0,525±0.007 | 96,600±4.755 |
| 2%PVA | 0,501±0.043 | 102,352±5.362 |
| 5%PVA | 0,453±0.042 | 104.991±8.111 |
| 10%PVA | 0,410±0.009 | 125,331±10,123 |

El comportamiento mecánico reportado en termoplásticos de almidón con aceite de linaza maleinizado (MLO) (Ferri, J., 2016), es similar al obtenido en este trabajo. Se observa que a mayor contenido de plastificante (MLO), el material disminuye su módulo de Young. Esto se explica gracias a un mayor movimiento de las cadenas moleculares, por la teoría del efecto de lubricación de los plastificantes.

Por otro lado, se observó que, después de la región elástica, existió un reforzamiento del material base (almidón oxidado) al aumentar el contenido de PVA; con el debido aumento del esfuerzo de fluencia de compresión desde 96.042MPa hasta 124.968MPa.

3.5.2. Comportamiento a flexión

Este ensayo fue realizado en la máquina TMA Q500 que determina el comportamiento mecánico de esfuerzo-deformación hasta la aplicación máxima de una fuerza de 1 N (según norma ASTM E2769). En los resultados se aprecia que se obtuvieron diferentes valores de los módulos de rigidez en flexión del material. En el rango ensayado, a medida que aumentó la cantidad de plastificante aumento el módulo de rigidez del material (Figura 17).

En la tabla 6 se presentan los módulos obtenidos por los ensayos a flexión.

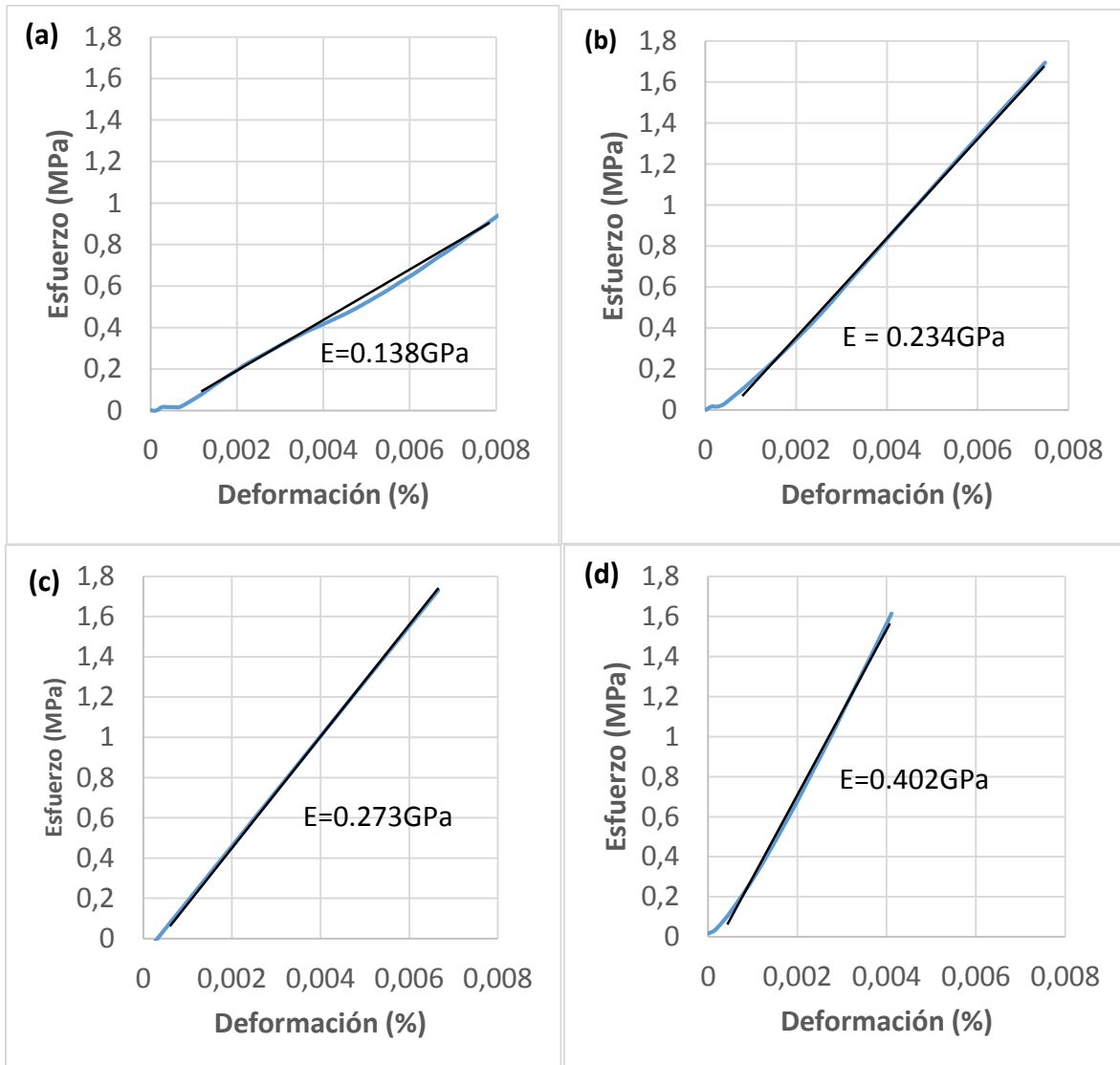


Fig. 17: Curva esfuerzo-deformación a flexión en las formulaciones: a) 0%PVA, b) 2%PVA, c)5%PVA, y d) 10%PVA

Tabla 6: Módulo de Young obtenido en flexión utilizando analizador termomecánico a temperatura ambiente

| Muestra | Módulo de Young (E) (GPa) |
|---------|---------------------------|
| 0%PVA | 0,134±0,008 |
| 2%PVA | 0,230±0,053 |
| 5%PVA | 0,247±0,050 |
| 10%PVA | 0,405±0,008 |

Este aumento en el módulo de rigidez en flexión, en contraste a los resultados obtenidos en compresión, indica que estos materiales progresan de manera diferente conforme se aplica un esfuerzo. Pasan primero por un comportamiento de aumento de rigidez; luego, por una disminución y finalmente por un aumento. Esto indica que existe un reordenamiento de las cadenas moleculares del biopolímero con influencia del contenido de PVA.

3.6. CARACTERIZACIÓN TÉRMICA

3.6.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El ensayo DSC permitió determinar las propiedades térmicas del material como la temperatura de fusión (T_f), entalpía de fusión (ΔH_f) y la temperatura de transición vítrea (T_g). La figura 18 muestra el flujo de calor en función de la temperatura de las muestras y su comportamiento endotérmico. De acuerdo a estos termogramas, se observa que la temperatura de fusión del material aumenta al adicionar PVA, pero el cambio de contenido de PVA no tiene un efecto aparente, como se puede observar en la tabla 7.

Por otro lado, el almidón oxidado sin contener PVA presentó la mayor entalpía de fusión de todas las muestras. Al variar el contenido de PVA en la composición no tiene un efecto apreciable en la entalpía de fusión, ya que la misma es muy similar entre las diferentes muestras que contenían PVA.

En cuanto a la temperatura de transición vítrea se puede observar un aumento conforme se incrementa el porcentaje de PVA (Figura 19). Siendo la composición de 10%PVA, la que tiene una mayor temperatura de transición vítrea (139.5 °C) y la composición de 0%PVA la que presentó menor temperatura de transición vítrea alrededor de 130°C. En la tabla 8 se puede observar un resumen de las propiedades de cada muestra.

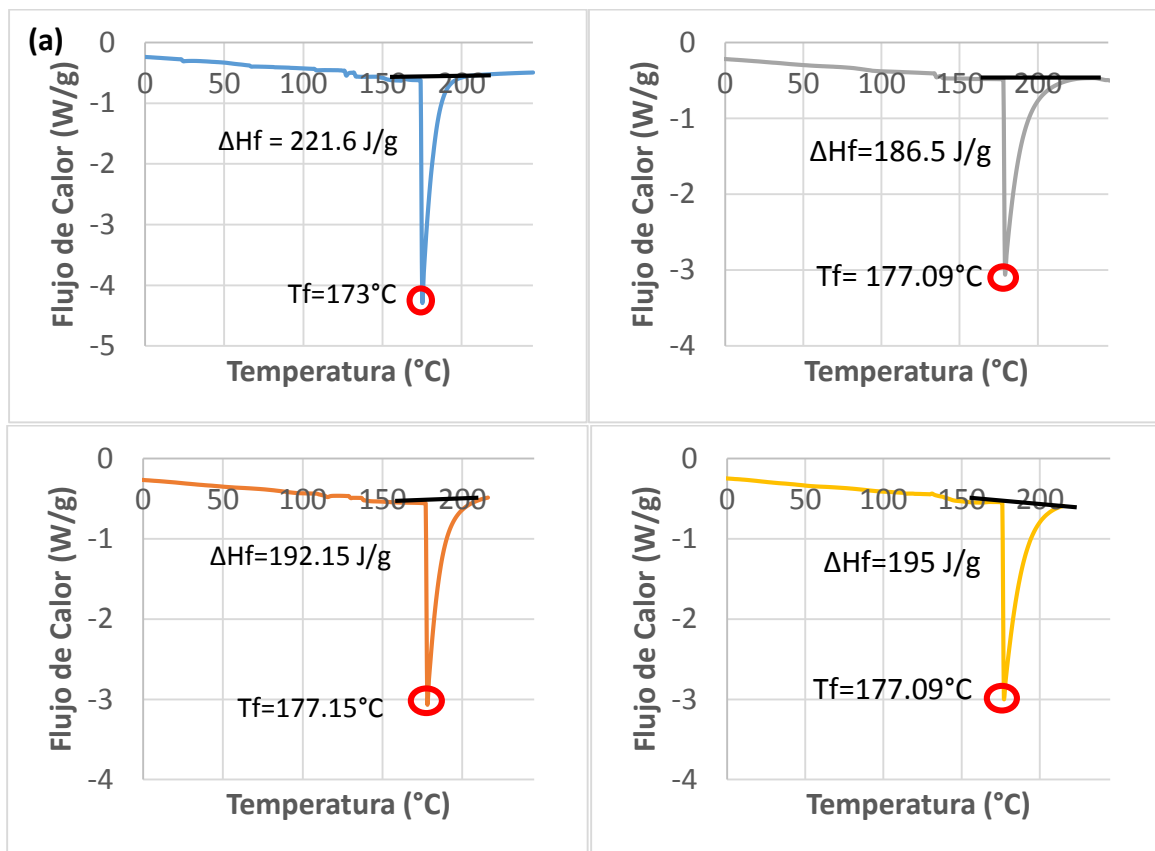


Fig. 18: Flujo de calor (W/g) en función de la temperatura (°C) para composiciones con: a) 0% PVA, b) 2% PVA, c) 5% PVA, y d) 10% PVA

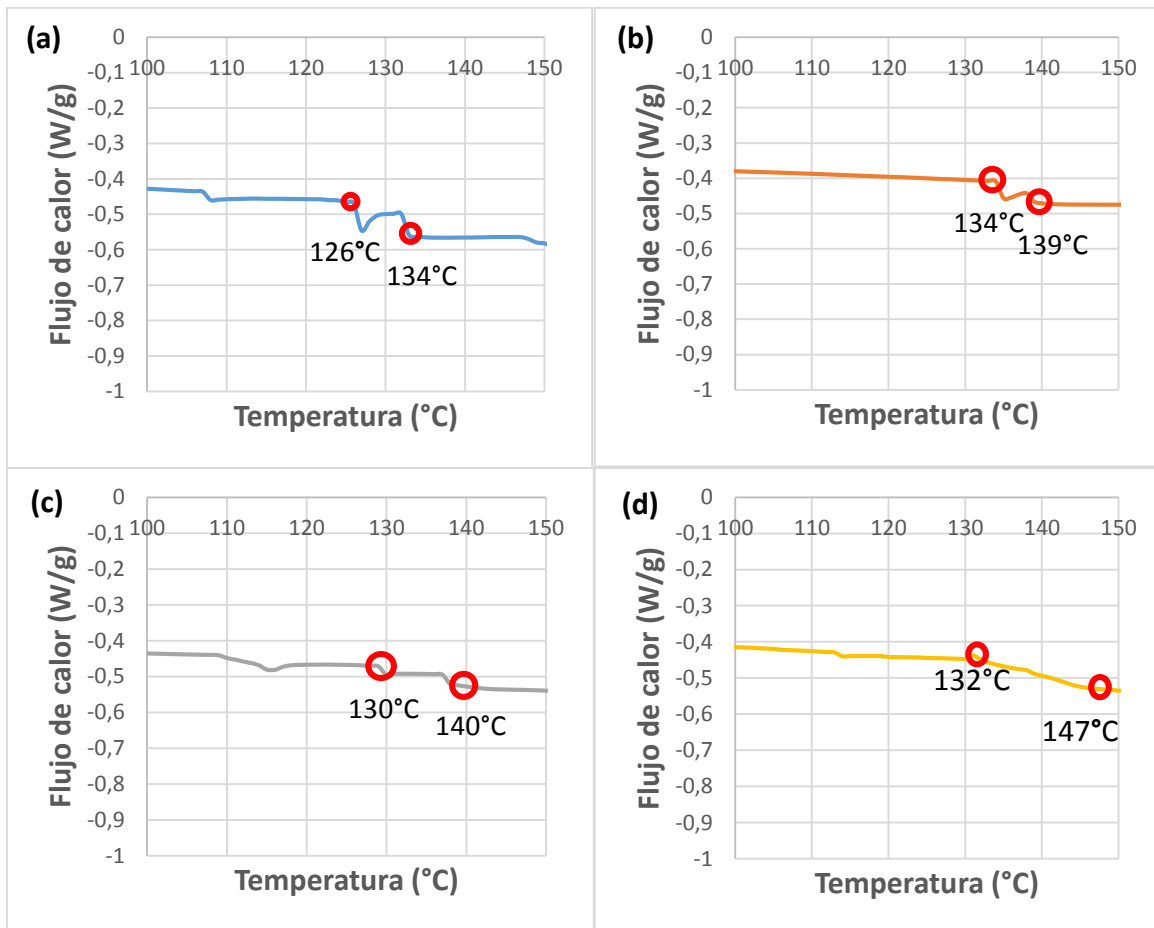


Fig. 19: Temperatura de transición vítrea T_g (obtenidas por DSC) para composiciones con: a) 0%PVA, b) 2%PVA, c) 5%PVA, y d) 10%PVA

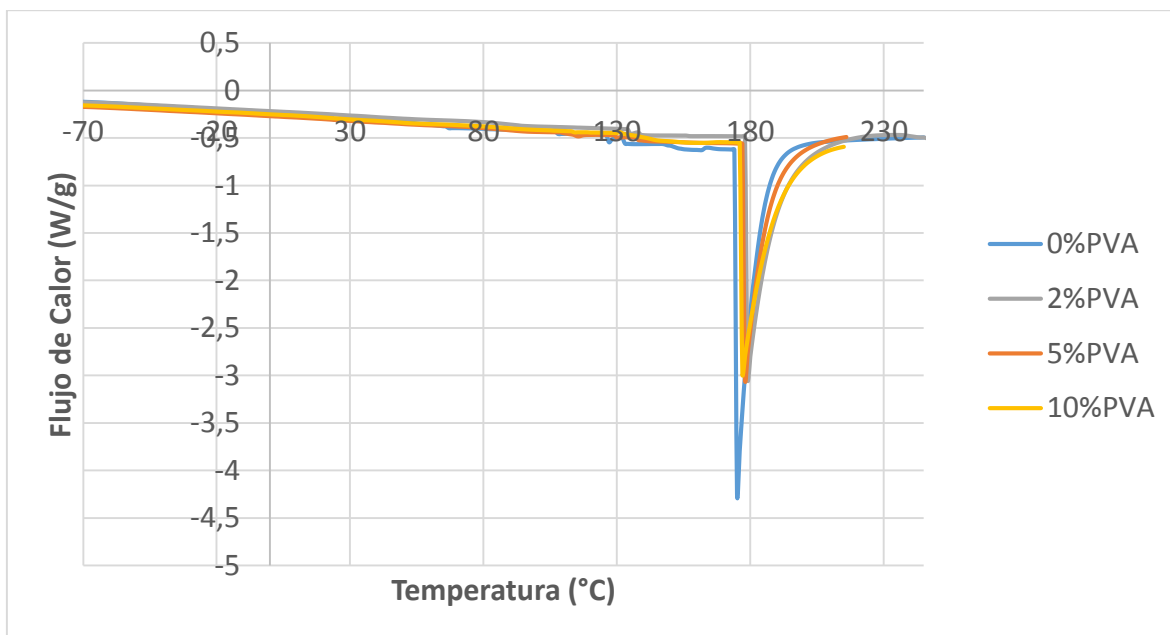


Fig. 20: Gráfica comparativa de flujo de calor (W/g) en función de la temperatura (°C)

Tabla 7: Temperatura de fusión (T_f), entalpía de fusión (ΔH_f) y temperatura de transición vítrea (T_g) para muestras ensayadas.

| Muestra | T_f (°C) | ΔH_f (J/g) | T_g (°C) |
|----------------|------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 0%PVA | 173.15 | 221.6 | 130 |
| 2%PVA | 177.09 | 186.5 | 136.5 |
| 5%PVA | 177.15 | 192.15 | 135 |
| 10%PVA | 177.09 | 195 | 139.5 |

Para efectos comparativos, en el estudio presentado por Ferri (2016), a medida que aumenta la cantidad de plastificante (MLO en su caso), la temperatura de fusión no varía significativamente. Este comportamiento es similar al de las muestras ensayadas. Mientras que la temperatura de transición vítrea disminuye, debido al aumento de la movilidad de las cadenas poliméricas explicada por la teoría del efecto de lubricación por adición de plastificante. Este comportamiento es contrario al obtenido para las muestras ensayadas. Para el caso de las muestras de almidón oxidado con PVA, se puede inferir que el plastificante actúa como un gel entre las cadenas poliméricas, disminuyendo las interacciones entre polímeros (reduciendo el efecto de fuerzas intermoleculares por uniones de hidrógeno, van der Waals, etc.) y bajando la entalpía de fusión (ΔH_f).

3.6.2. Análisis termogravimétrico (TGA)

Mediante este ensayo se determinó la estabilidad térmica durante la consolidación. Se observa que todas las muestras, en el rango de temperatura entre 80°C a 250°C, comienzan a tener una disminución de porcentaje en peso, excepto la composición a 5%PVA. Esta

primera disminución de peso, corresponde a pérdida de elementos volátiles como humedad, monómeros y solventes. Esto se atribuye a que las muestras de composiciones 0%PVA, 2%PVA y 10%PVA se dejaron varios días al contacto con el medio ambiente y sin controlar la humedad previo al análisis por TGA, a diferencia de la muestra de 5% PVA que fue ensayada 2 horas después de su obtención y no absorbió humedad ambiental.

La degradación del compuesto almidón oxidado-PVA se divide en 3 etapas. La primera es la evaporación de elementos volátiles, como humedad. La segunda etapa es la descomposición rápida por deshidratación de los grupos hidroxilos. Por último, la tercera etapa es la formación de residuos de carbono. El almidón oxidado de yuca con respecto al PVA, posee en general una mejor estabilidad térmica. Sin embargo, al realizar una formulación de almidón oxidado con PVA, se reportó una mejor estabilidad térmica (Sin, *et.al.*, 2010).

Se puede observar que alrededor de los 290 °C en todas las muestras, se produjo una degradación rápida del material. Mientras que alrededor de 315 °C, se ha producido una formación de residuos de carbono, con una pérdida del 50% del peso de la muestra. Posteriormente a los 340 °C ocurre una carbonización del almidón. Al final del proceso (a los 500 °C), se observa el residuo en cenizas que aumenta por la adición de PVA, indicando que el PVA forma una mayor cantidad de residuos.

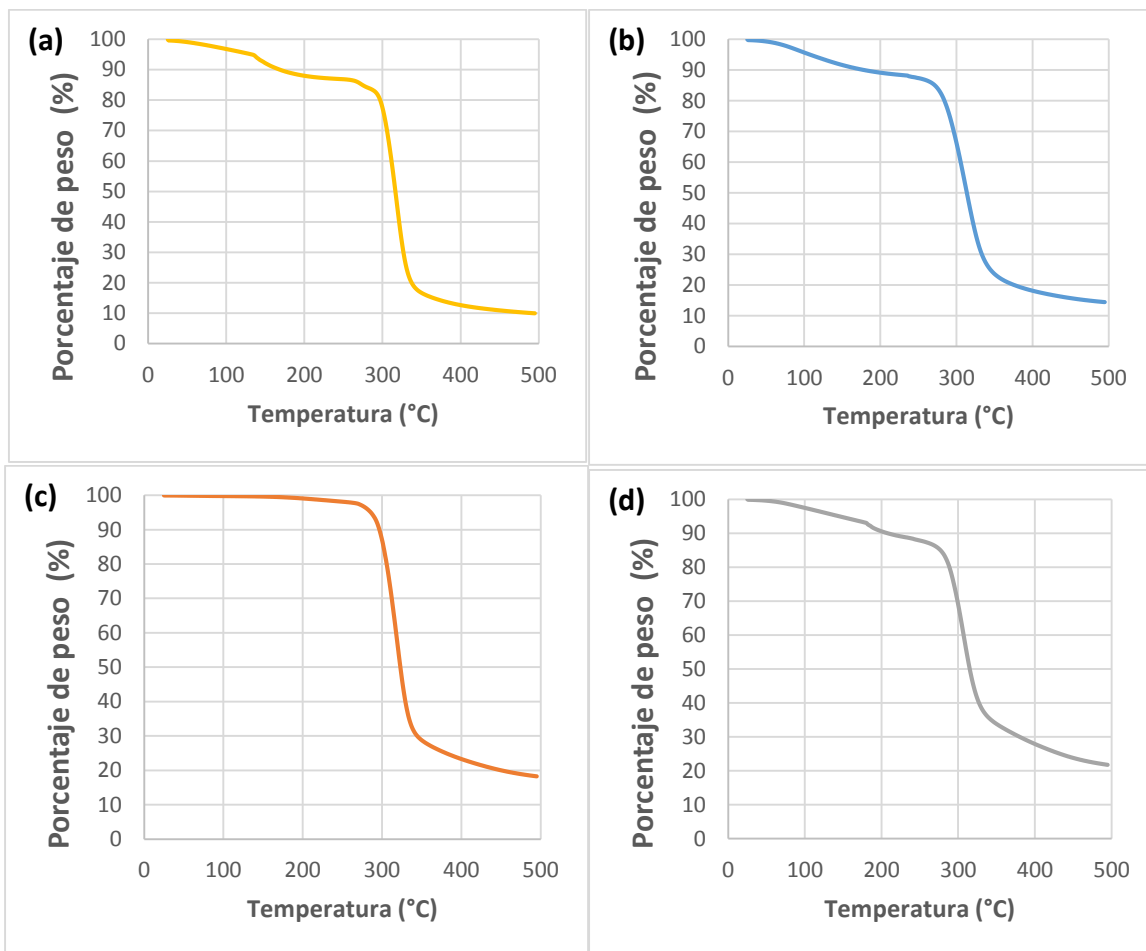


Fig. 21: Pérdida de peso (%) en función de la temperatura (°C) para composiciones de: a) 0%PVA, b) 2%PVA, c) 5%PVA y d) 10%PVA

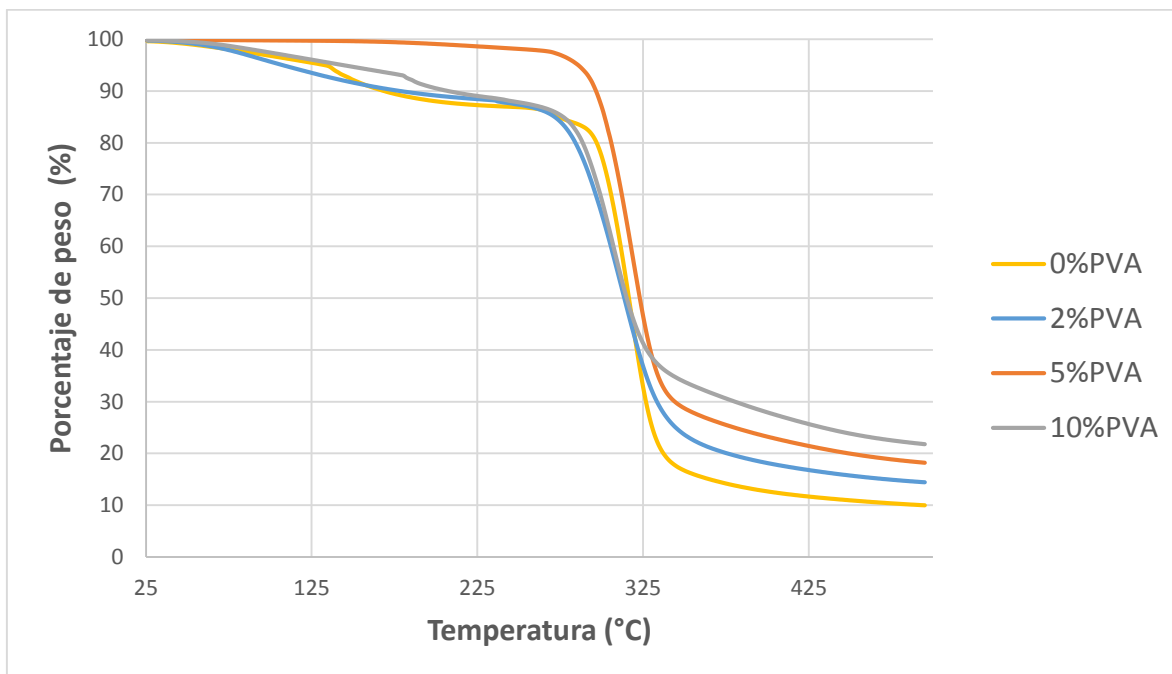


Fig. 22: Gráfica comparativa de pérdida de peso (%) en función de la temperatura (°C) para todas las composiciones ensayadas.

Tabla 8: Temperatura de inicio de degradación (cuando la pérdida de peso de materia es 10%) y porcentaje en peso de residuo al llegar a 495 °C

| Muestra | Temperatura inicio degradación (% peso = 10) | Residuo (%) T=495 °C |
|----------------|---|-----------------------------|
| 0%PVA | 169 | 10 |
| 2%PVA | 174 | 14,41 |
| 5%PVA | 296 | 18,21 |
| 10%PVA | 207 | 21,81 |

De acuerdo a resultados obtenidos en otros estudios con plastificantes como MLO (Ferri, J., 2016), el aumento del contenido de plastificante en la formulación provee una mayor estabilidad térmica. El comportamiento de las muestras ensayadas es similar a lo reportado en la literatura, como se corrobora en la tabla 8. Al aumentar el contenido de plastificante,

la temperatura a la que se obtiene una pérdida de 10% del peso de la muestra va aumentando.

3.7. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Mediante la microscopía electrónica de barrido se pudo observar el cambio de la estructura del almidón nativo, modificado, procesado como termoplástico y por último consolidado.

En la figura 23 se puede observar los granos de almidón nativo antes y después de ser modificados. Los granos de almidón mantienen la misma forma geométrica (Figura 24). Sin embargo, como se demostró anteriormente, en su estructura molecular ya se encuentran agregados grupos carbonilos en sus enlaces hidroxilos. Después de ser gelatinizado y secado (Figura 25) se puede observar que los granos de almidón se han hinchado hasta formar una pasta homogénea.

Por último, se realizó micrografías del termoplástico consolidado con adiciones de PVA. Se puede apreciar grietas en la superficie del material, ocasionadas por desecado gradual de la muestra o por un enfriamiento brusco después del consolidado. De la misma manera, se puede observar canales en la superficie correspondientes al molde donde fue consolidado, indicándonos la facilidad de procesamiento del material. En la superficie se puede apreciar un material totalmente consolidado sin porosidad, indicándonos la efectividad del proceso de consolidado (Figura 26).

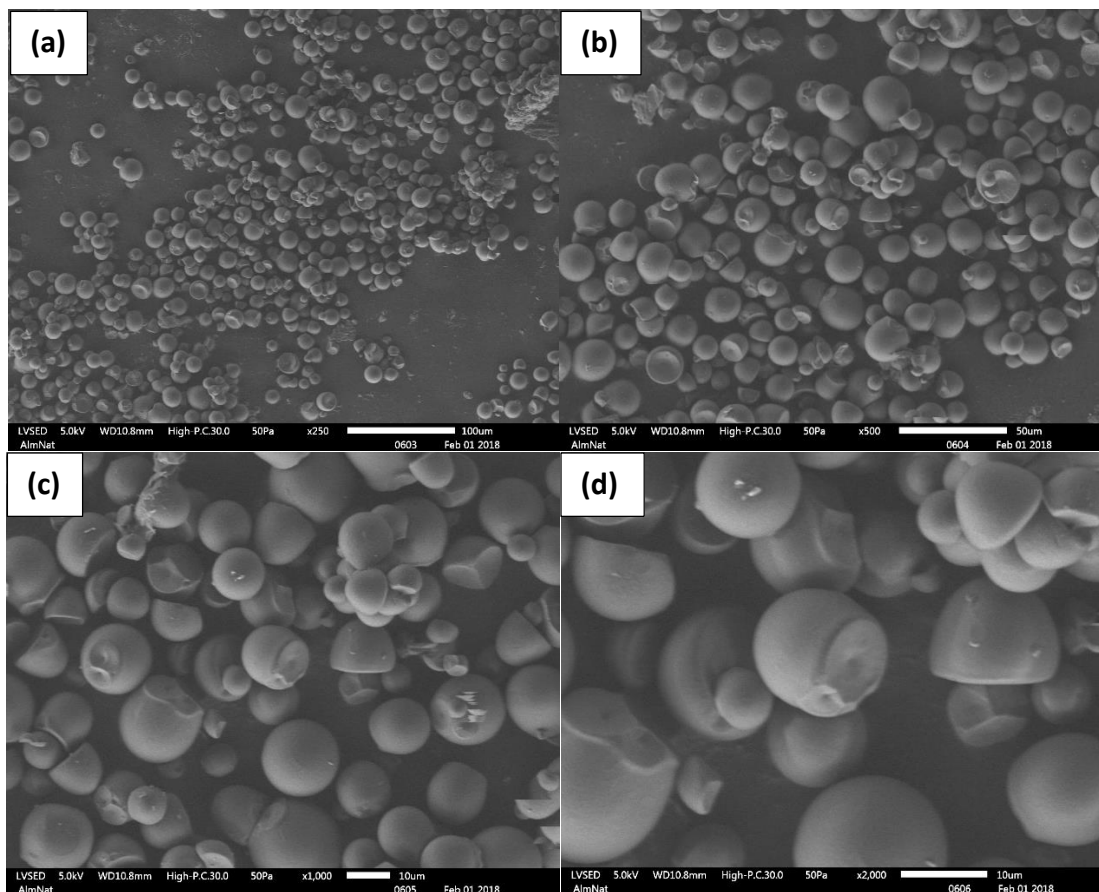


Fig. 23: Micrografías electrónicas de barrido de almidón de yuca nativo: a) 250x; b) 500x; c) 1000x; d) 2000x

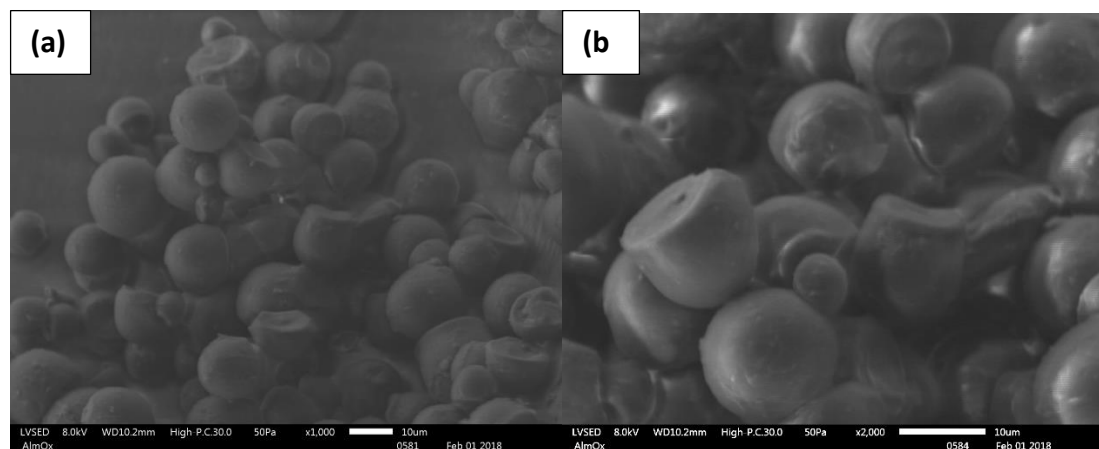


Fig. 24: Micrografía electrónica de barrido de almidón oxidado de yuca a magnificaciones de a) 1000x y b) 2000x

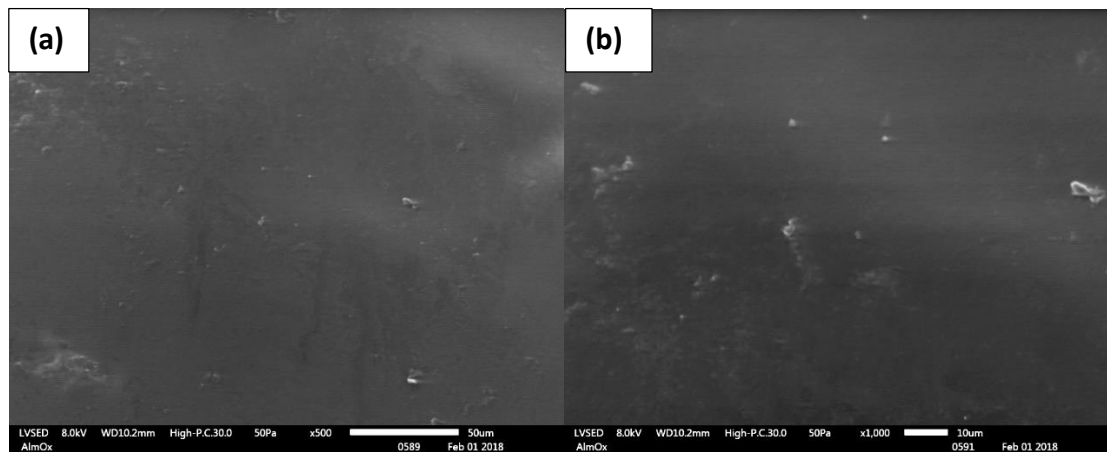


Fig. 25: Micrografía electrónica de barrido de almidón gelatinizado a magnificaciones de a) 500x, b) 1000x

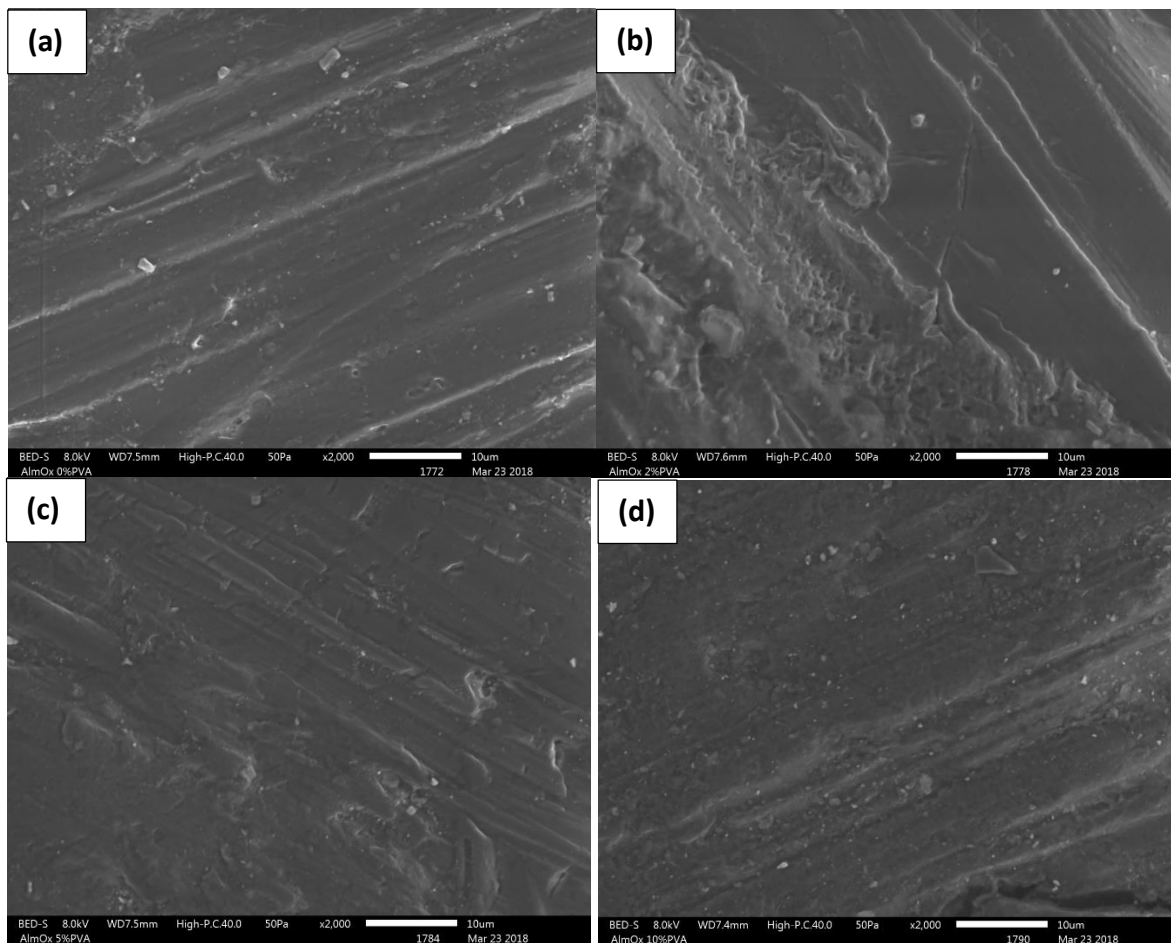


Fig. 26: Micrografía electrónica de barrido a un aumento de 2000x de muestras con contenido de PVA de a) 0%, b) 2%, c) 5% y d) 10%

3.8. PRODUCCIÓN ANDAMIOS

3.8.1. Método de lixiviación de sal usando polvo (SLUP)

El proceso fue llevado a cabo de acuerdo a lo descrito anteriormente. Se realizó la consolidación exitosamente a las condiciones especificadas (Figura 27a). Sin embargo, al realizar la lixiviación de sal, la muestra fue desintegrada (Figura 27b). Esto indica la necesidad latente de mejorar las propiedades hidrofóbicas del material.

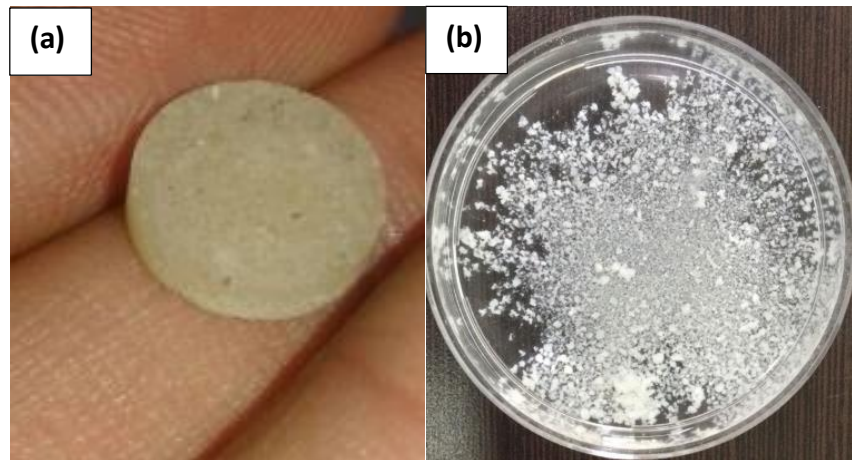


Fig. 27: a) Consolidación de Almidón Oxidado con 10%PVA-NaCl método SLUP, b) lixiviación de NaCl en agua destilada

3.8.2. Método de molde de red de agujas (WNM)

El molde fue realizado mediante corte por hilo. Para realizar el proceso de consolidación, las agujas fueron colocadas en las rendijas del molde (Figura 28^a). El termoplástico fácilmente fue consolidado dentro del molde y alrededor de las agujas (Figura 28b), demostrando la posibilidad de formación de andamios

mediante este proceso. Sin embargo, la extracción de agujas se trató de realizar una vez enfriado el molde, lo que no permitió una fácil remoción y un rompimiento de la pastilla consolidada.

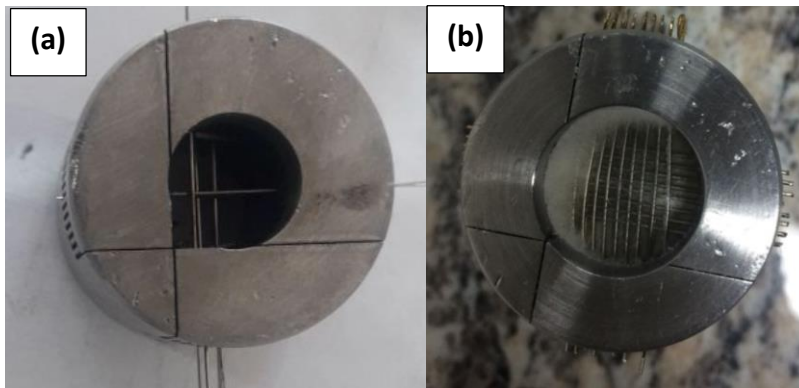


Fig. 28: a) Molde de red de agujas (WNM) b) Consolidación de termoplástico de almidón de yuca oxidado con 10%PVA en molde de agujas

4. CONCLUSIONES

Mediante la determinación de formación de grupos carbonilos (en mayor grado) y grupos carboxilos se corroboró la efectividad de la modificación del almidón por oxidación con peróxido de hidrógeno. La consolidación en las condiciones de presión de 75MPa, 30 minutos y 140 °C, permitió la correcta formación de un termoplástico sólido a partir de almidón de yuca oxidado y alcohol de polivinilo. Esta consolidación se puede corroborar en las micrografías obtenidas por el microscopio electrónico de barrido. La muestra cuenta con estabilidad térmica durante el proceso de consolidado de acuerdo a los ensayos del TGA, por lo que sus propiedades se mantienen durante su procesamiento. Esta característica nos indica que este material puede ser extruido para obtener diversas piezas y partes. En función de los requerimientos de propiedades mecánicas deseados para fabricación de un andamio celular óseo en la región esponjosa del hueso se puede observar que todas las muestras formuladas son idóneas para esta aplicación. Pues todas las muestras tienen un módulo de Young entre 0.1 y 2GPa. Además, cuentan con un esfuerzo de fluencia en compresión mayor a los 20MPa. La muestra con mejores propiedades es la de 10%PVA en lo referente a estabilidad térmica y propiedades mecánicas. No obstante, como se observó en los procesos de producción de andamios por método SLUP, el biomaterial aún cuenta con características pobres de hidrofobicidad que deben ser mejoradas. Finalmente, se validó que el método WNM es viable de ser utilizado para la formación de porosidades en estos biopolímeros.

5. RECOMENDACIONES

La metodología expuesta para formar el polímero, consolidarlo y analizarlo fue exitosa. No obstante, el material aún tiene propiedades pobres de hidrofobicidad. Por tanto, se plantea realizar técnicas de entrecruzamiento del alcohol de polivinilo con el almidón oxidado por congelamiento. Esto permitiría realizar en un futuro la obtención de andamios celulares por el método de SLUP.

Para un exitoso método WNM se recomienda realizar la extracción de las agujas cuando el molde se encuentre caliente. De esta manera, la extracción se realiza sin problemas.

Para una caracterización mecánica completa del biopolímero es importante realizar ensayos de tracción para determinar su esfuerzo de rotura.

Para determinar con mayor precisión el punto de transición vítrea sería importante utilizar una rampa de calentamiento más baja de los 10 °C/min, tomando en cuenta evitar el ruido en los termogramas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Babensee, J., et.al. (1998) Host response to tissue engineered devices. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 33(1-2), 111-139. doi: 10.1016/S0169-409X(98)00023-4 D.
- Bensaid W, Triffitt JT, Blanchat C, et al. (2003) A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation. *Biomaterials*, 24, 2497–502.
- Bergel, F.B., Machado da Luz, L. y Campomanes, R. (2018) Effect of poly(lactic acid) coating on mechanical and physical properties of thermoplastic starch foams from potato starch. *Progress in Organic Coatings*, 118, 91-96.
doi:10.1016/j.porgcoat.2018.01.029.
- Budynas, R. y Nisbett, J., (2015) Screws, Fasteners, and the Design of Nonpermanent Joints, *Shigley's Mechanical Engineering Design* (pp. 406-411). New York, NY: McGraw-Hill Education.
- Cho Y., et.al. (2014) A novel technique for scaffold fabrication: SLUP (salt leaching using powder). *Current Applied Physics*, 14(3), 371-377. doi: 10.1016/j.cap.2013.12.013
- Cho, Y., et.al. (2014) Fabrication of dual-pore scaffolds using SLUP (salt leaching using powder) and WNM (wire-network molding) techniques. *Materials Science and Engineering C*, 45, 546-555. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.009
- Ferri, J. (2016) The effect of maleinized linseed oil (MLO) on mechanical performance of poly(lactic acid)-thermoplastic starch (PLA-TPS) blends. *Carbohydrate Polymers*, 147, 60-68. doi: 10.1016/l.carbpol.2016.03.082
- Follain, N. (2005) Properties of starch based blends. Part 2. Influence of poly vinyl alcohol addition and photocrosslinking on starch based materials mechanical properties. *Carbohydrate Polymer*, 60(2), 185-192. doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.12.003

- Labet et al. (2007). Polymer grafting onto starch nanocrystals. *Biomacromolecules*, 8(9), 2916-2927.
- Lee, C., Singla A. y Lee Y. (2001) Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm*, 221, 1–22.
- Liu, H. S., et.al. (2009). Starch gelatinization under pressure studied by high pressure DSC. *Carbohydrate Polymers*, 75, 395.
- Mathew A.P., Dufresne A. (2002) Plasticized waxy maize starch: Effect of polyols and relative humidity on material properties. *Biomacromolecules*, 3, 1101-1108.
- Meneses, J., Corrales, C. M. y Valencia M. (2008) Síntesis y Caracterización de un Polímero Biodegradable a Partir de Almidón de Yuca. *Escuela de Ingeniería de Antioquía*, 8. Recuperado desde: www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372007000200006.
- Müller, C. M. O., Yamashita, F., & Laurindo, J. B. (2008). Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. *Carbohydrate Polymers*, 72, 82–87.
- O'Brien, F. (2011) Biomaterials & Scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88-95. doi: 10.1016/S1369-7021(11)70058-X
- Olszta, M.J. et al. (2007) Bone structure and formation: A new perspective. *Mater, Sci. Eng. R: Rep.* 58, 77-116.
- Parovuori, P., et.al. (1995). Oxidation of potato starch by hydrogen peroxide. *Starch/Stärke*, 43, 19–23.
- Ratnayake, W. S., y Jackson, D. S. (2008). Starch gelatinization. En L. T. Steve (Ed.) *Advances in food and nutrition research*, 221–268.

- Rocha, T. S., et.al. (2011) Structural Characterization of Peruvian Carrot (*Arracacia xanthorrhiza*) Starch and the Effect of Annealing on Its Semicrystalline Structure. *Agricultural and Food Chemistry*, 59, 4208-4216. doi:10.1021/jf104923m.
- Ruiz, A. G. (2009) *Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca*. Recuperado desde: <https://ebookcentral.proquest.com>
- Salmi, T., et.al. (2016) Mathematical modeling of starch oxidation by hydrogen peroxide in the presence of an iron catalyst complex. *Chemical Engineering Science*, 146, 19-25. doi:10.1016/j.ces.2016.02.027
- Sangseethong, K., Termvejsayanon, N., y Sriroth, K. (2010). Characterization of physicochemical properties of hypochlorite- and peroxide-oxidized cassava starches. *Carbohydrate Polymers*, 82, 446–453.
- Schieker, M., et.al. (2006) Biomaterials as scaffold for bone tissue engineering. *Eur J. Trauma*, 32(2), 114-124.
- Sin, L. T., et.al. (2011) Determination of thermal stability and activation energy of polyvinyl alcohol-cassava starch blends. *Carbohydrate Polymers*, 83 (1), 303-305. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.07.049
- Smith, R. J. (1967). Characterization and analysis of starches. In R. L. Whistler y U. F. Paschal (Eds.). *Starch: chemistry and technology*, 620–625.
- Stevens, M. (2008) Biomaterials for bone tissue engineering. *Materials Today*, 11(5), 18-25. doi:10.1016/S1369-7021(08)70086-5
- Tonukari, N.J. (2004) .Cassava and the future of starch. *Electron. J. Biotechnology*, 7, 5-8.
- Tubbs, R. (1965) Melting point and heat of fusion of poly(vinyl alcohol). *Polymer Science Part A: General Papers*, 3 (12), 4181-4189. doi: 10.1002/pol.1965.100031213.
- Wang, N., Yu, J. G., y Ma, X. F. (2007). Preparation and characterization of thermoplastic starch/PLA blends by one-step reactive extrusion. *Polymer International*, 56, 1440.

- Wang, X. L., Zhang, S. D., Zhang, Y. R., y Wang, Y. Z. (2007). Method for manufacturing oxidized starch with high carbonyl content.
- Williams, D.F. (2008) On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* 29, 2941–2953
- Zarrintaj P. et.al. (2018). Oligoaniline-based conductive biomaterials for tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 72, 16-34. doi:10.1016/j.actbio.2018.03.042
- Zhang Y., et.al. (2009) Effect of carbonyl content on the properties of thermoplastic oxidized starch. *Carbohydrate Polymers*, 78(1), 157-161.
Doi:10.1016/j.carbpol.2009.04.023
- Zhang Y., Wang X., Zhao G., Wang Y. (2013) Influence of oxidized starch on the properties of thermoplastic starch. *Carbohydrate Polymers*, 96(1), 358-364.
doi:10.1016/j.carbpol.2013.03.093
- Zhang, Y., et.al. (2013) Polymeric triglyceride analogs prepared by enzyme-catalyzed condensation polymerization. *European Polymer Journal*, 49 (4), 793-803.
doi:10.1016/j.eurpolymj.2012.11.011
- Zhu N. y Chen Xiongbiao. (2013) Biofabrication of Tissue Scaffolds. Rosario Pignatello (Eds), *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*. Recuperado desde: <https://www.intechopen.com/books/advances-in-biomaterials-science-and-biomedical-applications/biofabrication-of-tissue-scaffolds9>
- Zhu, J., et. al. (2017) Structural features and thermal property of propionylated starches with different amylose/amylopectin ratio. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 123-130. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.01.033

ANEXOS-A
Programación en Arduino NANO® de Controlador de
Temperatura tipo PID

```
#include <Wire.h>
#include <LiquidCrystal_I2C.h>
LiquidCrystal_I2C lcd(0x3F, 16, 2);

// PID variables

float Kp = 30;
float Ki = 15;
float Kd = 800;

int pot_max = 150;

float previous_error = 40;
float integral = 0;

float setpoint = 30;

int PID_millison = 0;

float errores[10] = {0,0,0,0,0,0,0,0,0,0};
float derivative = 0;
int i;

float temp_hist[10] = {0,0,0,0,0,0,0,0,0,0};

const int pin_moc = 6;

const int tiempo_power = 1000;
const int tiempo_check = 1000;

float temp_read = 1;
int pot_read = 1;

void setup() {
  //analogReference(INTERNAL);
  analogReference(DEFAULT);

  pinMode(pin_moc, OUTPUT);
  digitalWrite(pin_moc, LOW);

  lcd.begin();
```

```
lcd.clear();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("Inicio...");

Serial.begin(115200);

Serial.println("inicio");
}

void loop() {

  pot_lee();
  temp_lm35();
  LCD_refresh();

  pid_calc();

  //serialpot();

}

float pid_1(){

  float error = setpoint - temp_read;

  //mueve_array(error);

  static unsigned long t_ini = 0;
  static unsigned long t_tiempo = tiempo_check * 5;

  if ((millis() - t_ini) > t_tiempo){
    derivative = (error - previous_error);
    previous_error = error;

    t_ini = millis();
  }

  //////////// INTEGRAL 1
```

```
for (i = 9; i >= 1 ; i--){
    errores[i] = errores[i-1];
}

errores[0] = error;

integral = 0;

for (i = 0; i < 10 ; i++){
    integral = integral + errores[i];
}

////////// INTEGRAL 2

//integral = integral + error;

float output = (Kp*error) + (Ki*integral) + (Kd*derivative);
//float output = (Kp*error) + (Kd*derivative);

// Serial.print("Error: ");
// Serial.print(error);
// Serial.print(", ");
//
// Serial.print("Out: ");
// Serial.print(output);
// Serial.print(", ");
//
// Serial.print("proportional: ");
// Serial.print(Kp*error);
// Serial.print(", ");
//
// Serial.print("integral: ");
// Serial.print(Ki*integral);
// Serial.print(", ");
//
// Serial.print("derivative: ");
// Serial.print(Kd*derivative);
// Serial.print(", ");
//
// Serial.print("salida: ");
```

```
// Serial.print(PID_millison);
// Serial.println(", ");

// Serial.println(errores[0]);
// Serial.println(errores[1]);
// Serial.println(errores[2]);
// Serial.println(errores[3]);
// Serial.println(errores[4]);
// Serial.println(errores[5]);
// Serial.println(errores[6]);
// Serial.println(errores[7]);
// Serial.println(errores[8]);
// Serial.println(errores[9]);

return output;

}

void pid_calc(){
  static unsigned long t_ini = 0;
  static unsigned long t_tiempo = tiempo_check;

  float out_result;

  if ((millis() - t_ini) > t_tiempo){

    out_result = pid_1();

    if(out_result < 1){
      PID_millison = 0;
    }else{
      PID_millison = out_result;
    }
    // Serial.print("resultado: ");
    // Serial.println(out_result);
  }

  t_ini = millis();
}
```



```

    pid_control();
}

void pid_control(){
    static bool cumplido = false;

    static unsigned long t_ini = 0;
    static unsigned long t_tiempo = tiempo_power;

    if ((millis() - t_ini) > t_tiempo){

        cumplido = false;
        resistencia_power(true);
        //Serial.println(digitalRead(pin_moc));

        t_ini = millis();
    }

    if (((millis() - t_ini) > PID_millison) && !cumplido ){
        cumplido = true;
        resistencia_power(false);
        //Serial.println(digitalRead(pin_moc));
    }

}

float temp_lm35(){

    static unsigned long t_ini = 0;
    static unsigned long t_tiempo = 1000;
    static float temp_now = 1;
    static float temp_suma = 0;

    if ((millis() - t_ini) > t_tiempo){
        temp_now = (5.0 * analogRead(A0) * 100.0) / 1024;

        for (i = 9; i >= 1 ; i--){
            temp_hist[i] = temp_hist[i-1];
            if(temp_hist[i] < 5){
                temp_hist[i] = temp_now;
            }
        }
    }
}

```

```
    }  
  }  
  
  temp_hist[0] = temp_now;  
  
  temp_suma = 0;  
  
  for (i = 0; i < 10 ; i++){  
    temp_suma = temp_suma + temp_hist[i];  
  
  }  
  
  temp_read = (temp_suma / 10.000);  
  
  // Serial.println(temp_hist[0]);  
  // Serial.println(temp_hist[1]);  
  // Serial.println(temp_hist[2]);  
  // Serial.println(temp_hist[3]);  
  // Serial.println(temp_hist[4]);  
  // Serial.println(temp_hist[5]);  
  // Serial.println(temp_hist[6]);  
  // Serial.println(temp_hist[7]);  
  // Serial.println(temp_hist[8]);  
  // Serial.println(temp_hist[9]);  
  
  t_ini = millis();  
  }  
  
  //temp_read = (float)(analogRead(A0)/9.31);  
  return temp_read;  
  }  
  
void LCD_refresh(){  
  
  static unsigned long t_ini = 0;  
  static unsigned long t_tiempo = 500;  
  
  if ((millis() - t_ini) > t_tiempo){  
    //lcd.clear();  
    // lcd.setCursor(0,0);  
    // lcd.print("  ");  
  }  
}
```

```
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("Temp: ");
lcd.print(temp_read);
lcd.print(" ");
//lcd.setCursor(0,1);

lcd.setCursor(0,1);
lcd.print("Setpoint: ");
lcd.print(pot_read);
lcd.print(" ");

    t_ini = millis();
}
}

void resistencia_power(bool onoff){
  if(onoff){
    digitalWrite(pin_moc, HIGH);
  }else{
    digitalWrite(pin_moc, LOW);
  }
}

void pot_lee(){
  pot_read = map(analogRead(A1),0,1023,pot_max,1);
  setpoint = pot_read;
}

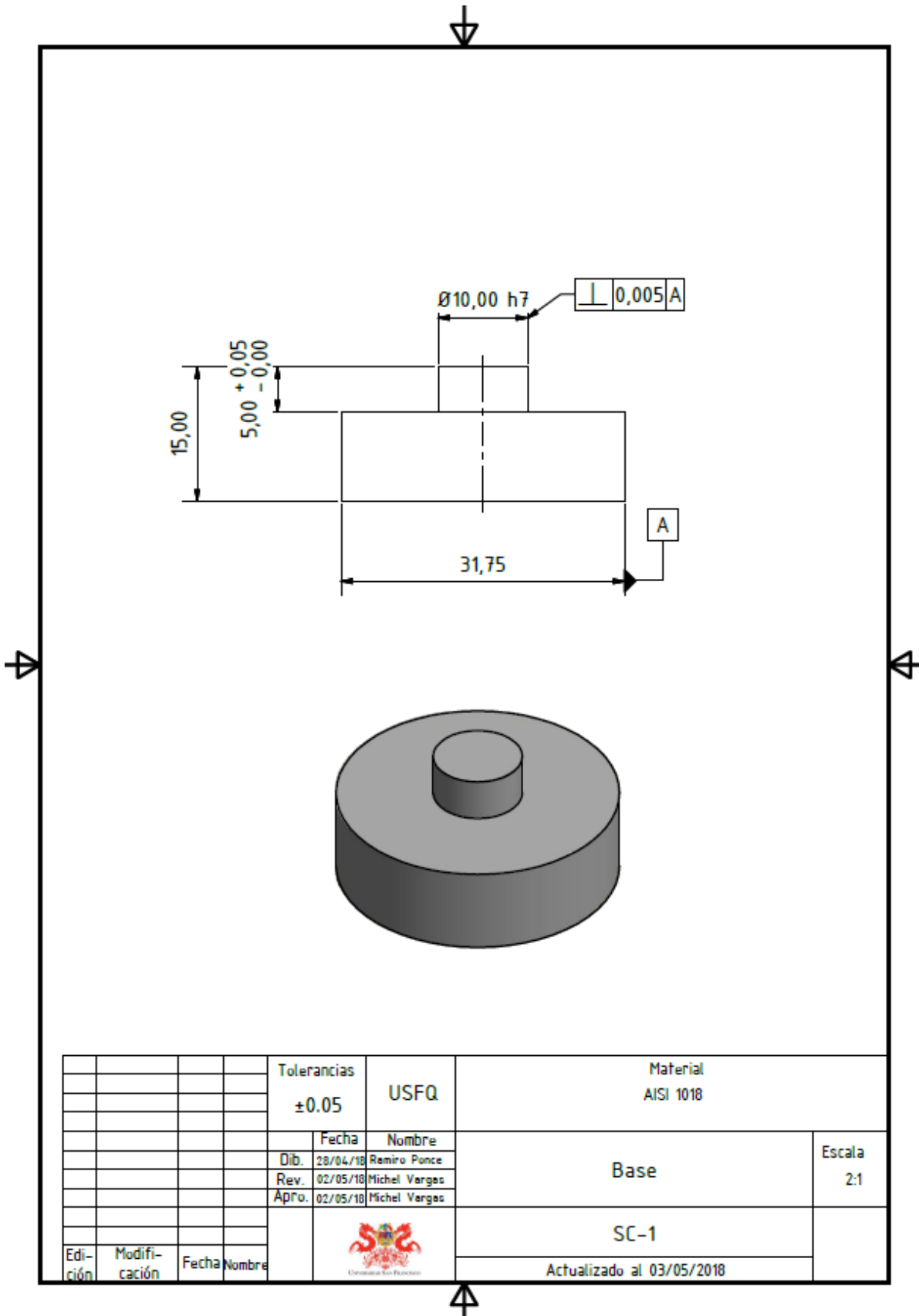
void serialpot(){


  static unsigned long t_ini = 0;
  static unsigned long t_tiempo = 500;

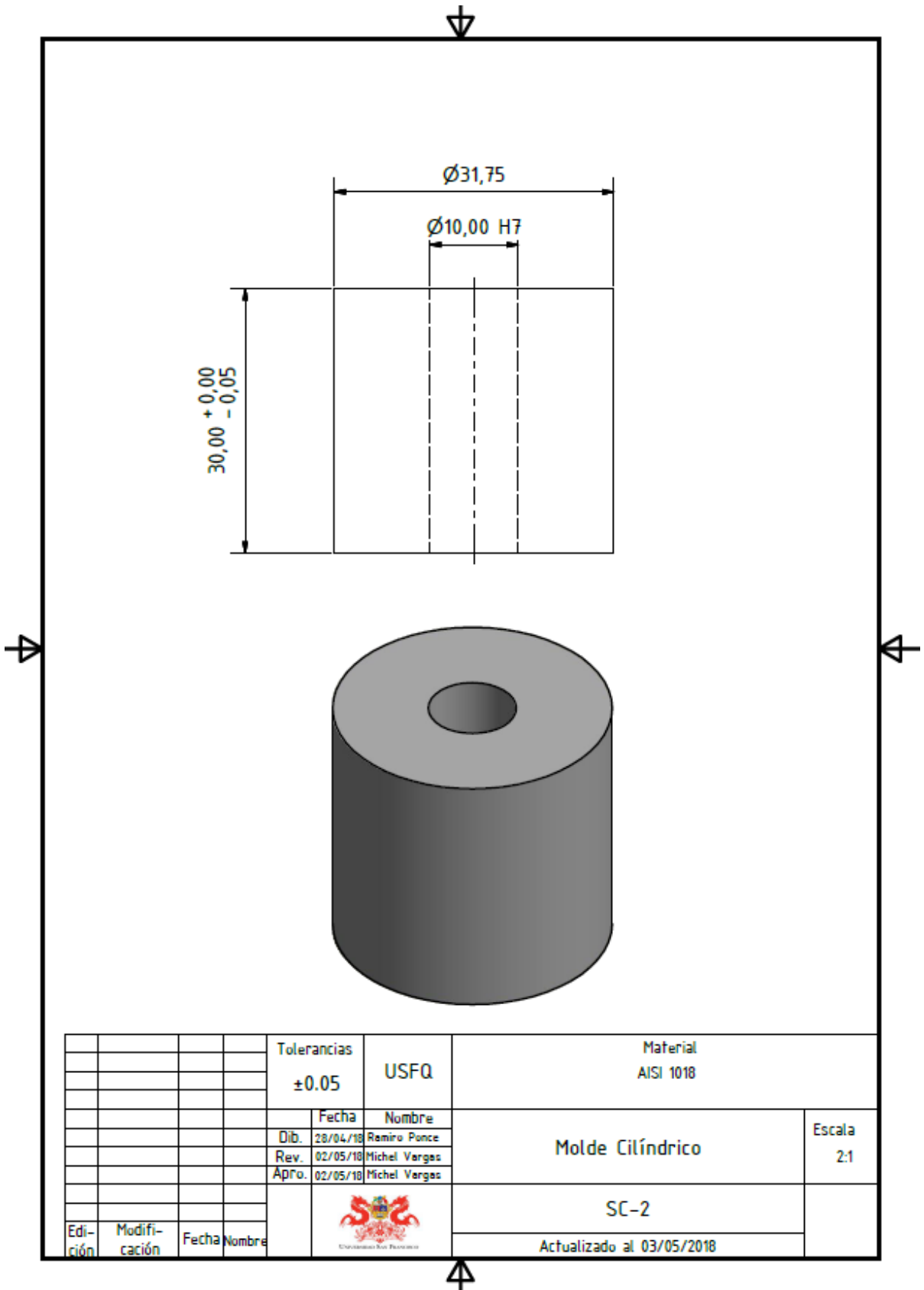
  if ((millis() - t_ini) > t_tiempo){
    Serial.print("estado: ");
    Serial.print(digitalRead(pin_moc));
    Serial.println(", ");
  }
}
```


```
    t_ini = millis();  
  }  
}
```

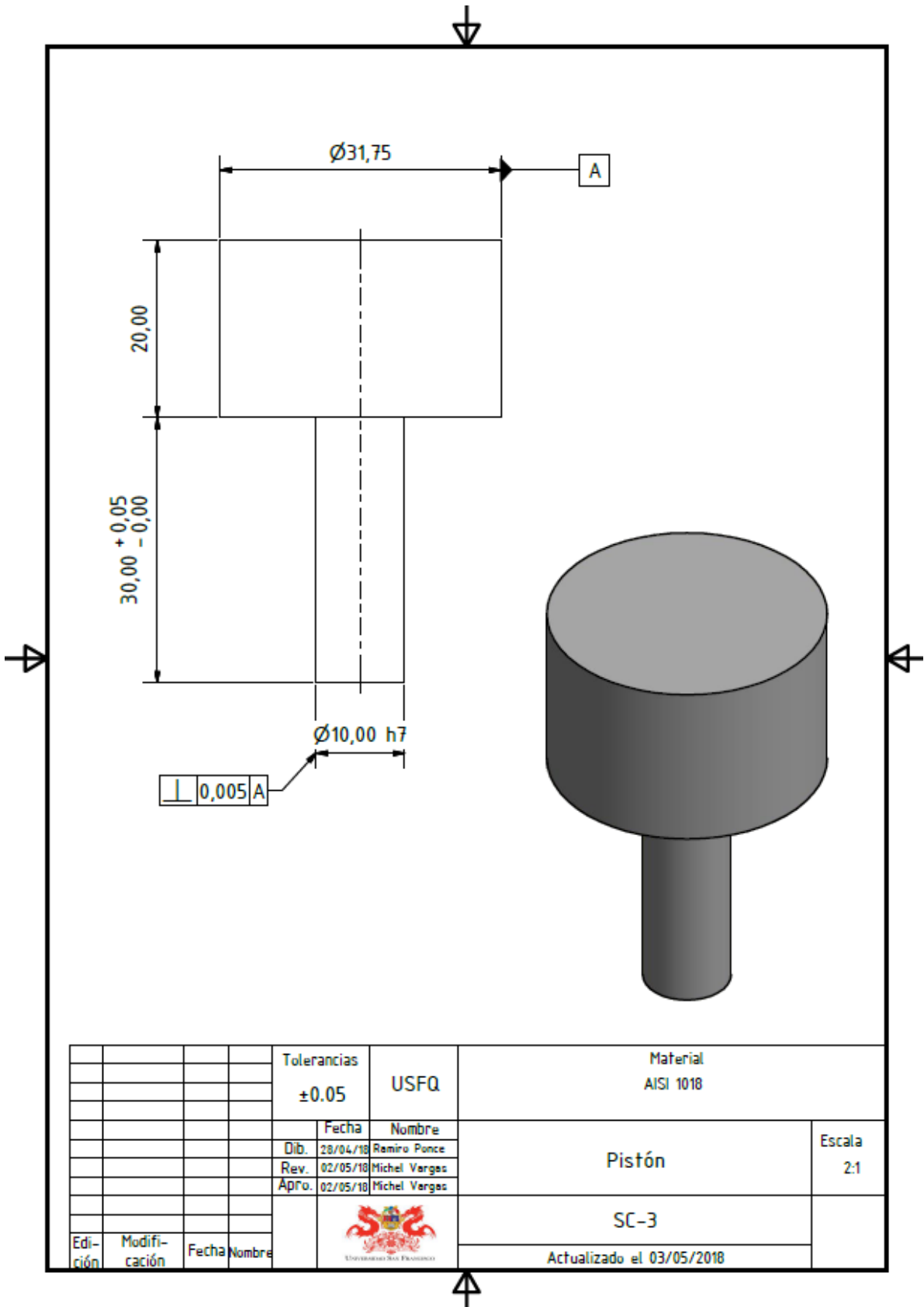
ANEXO-B
Planos Sistema de Compactación, piezas y conjunto




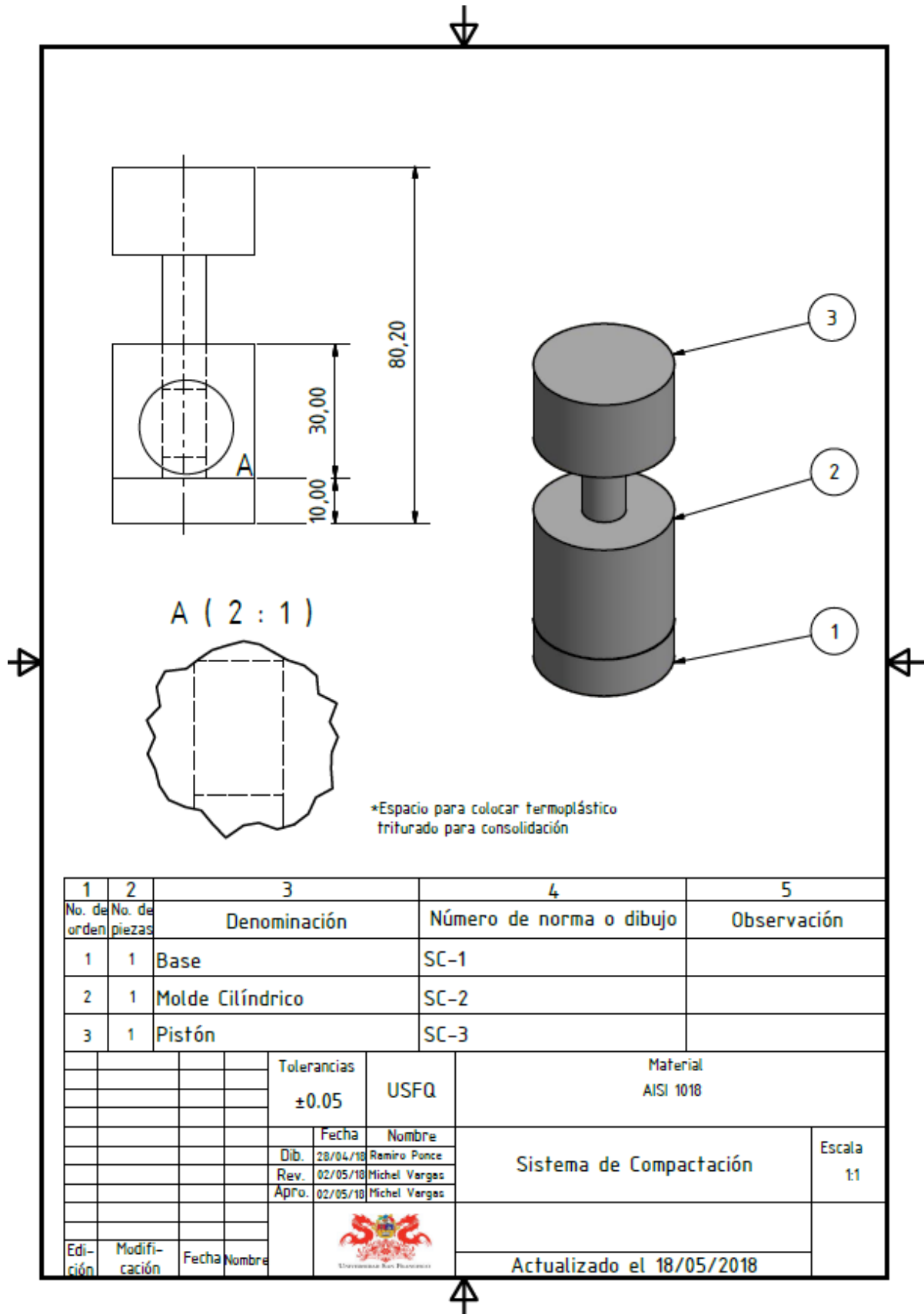
| | | | | | | | |
|---------|--------------|-------|--------|-------------|---|---------------------------|---------------|
| | | | | Tolerancias | USFQ | Material AISI 1018 | |
| | | | | ±0.05 | | | |
| | | | | Fecha | Nombre | Base | Escala 2:1 |
| | | | Dib. | 28/04/18 | Ramiro Ponce | | |
| | | | Rev. | 02/05/18 | Michel Vargas | | |
| | | | | Apro. | 02/05/18 | Michel Vargas | |
| | | | | |  Universidad San Francisco de Quito | SC-1 | |
| Edición | Modificación | Fecha | Nombre | | | Actualizado al 03/05/2018 | |

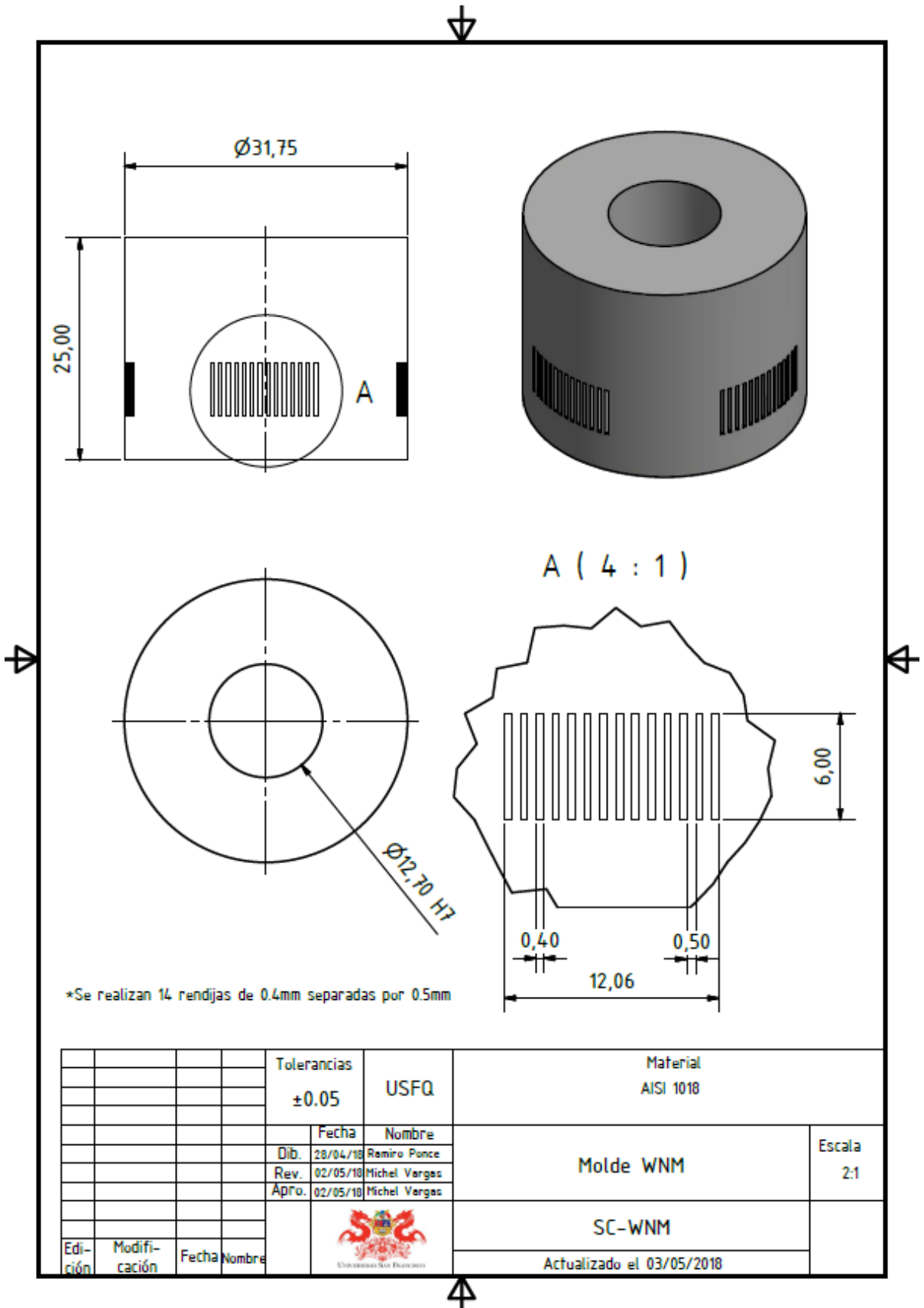


| | | | | | | | |
|---------|--------------|-------|--------|----------------|---|---------------------------|---------------|
| | | | | Tolerancias | USFQ | Material | |
| | | | | ±0.05 | | AISI 1018 | |
| | | | | Fecha | Nombre | Molde Cilíndrico | Escala 2:1 |
| | | | | Dib. 28/04/18 | Remiro Ponce | | |
| | | | | Rev. 02/05/18 | Michel Vargas | | |
| | | | | Apro. 02/05/18 | Michel Vargas | | |
| | | | | |  | SC-2 | |
| Edición | Modificación | Fecha | Nombre | | | Actualizado al 03/05/2018 | |




| | | | | | | | |
|--------------|-------------------|-------|--------|--|---------------|---------------------------|---------------|
| | | | | Tolerancias | USFQ | Material | |
| | | | | ±0.05 | | AISI 1018 | |
| | | | | Fecha | Nombre | Pistón | Escala 2:1 |
| | | | Dib. | 28/04/18 | Ramiro Ponce | | |
| | | | Rev. | 02/05/18 | Michel Vargas | | |
| | | | Apr'o. | 02/05/18 | Michel Vargas | | |
| | | | |  Universidad San Francisco | | SC-3 | |
| Edi- ción | Modifi- cación | Fecha | Nombre | | | Actualizado el 03/05/2018 | |





*Se realizan 14 rendijas de 0.4mm separadas por 0.5mm

| | | | | | | |
|---------|--------------|-------|--------|--|---------------|---------------------------|
| | | | | Tolerancias | | Material |
| | | | | ±0.05 | USFQ | AISI 1018 |
| | | | | Fecha | Nombre | Molde WNM |
| | | | | Dib. 28/04/18 | Remiro Ponce | |
| | | | | Rev. 02/05/18 | Michel Vargas | |
| | | | | Apro. 02/05/18 | Michel Vargas | Escala 2:1 |
| | | | | | | SC-WNM |
| Edición | Modificación | Fecha | Nombre |  Universidad San Francisco de Asís | | Actualizado el 03/05/2018 |