



## HIDROGELES A BASE DE CASEÍNA FOTOPOLIMERIZABLE Y SU PROCESAMIENTO POR IMPRESIÓN 3D/UV

**Sebastián Locatelli**

*Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC)*

Directora: Ronco, Ludmila Irene  
Codirectora: Luque, Gisela Carina

Área: Ingeniería

Palabras claves: Hidrogel, Impresión 3D, Fotopolimerización.

### INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles se definen como sólidos blandos cuya estructura se conforma por una red polimérica entrecruzada con un alto contenido de agua. Hoy en día, son diversas las aplicaciones encontradas para este tipo de materiales, entre ellas su uso para administración de fármacos, como sensores o electrolitos sólidos e incluso en regeneración de tejidos. En este trabajo se busca obtener hidrogeles completamente biocompatibles para su potencial uso en biomedicina mediante un proceso de fotopolimerización, extendiendo el estudio hacia la procesabilidad de estos materiales mediante impresión 3D/UV, proceso altamente atractivo dentro del campo de la biomedicina para obtener estructuras con formas especiales y prediseñadas (Sanchez-Rexach et al., 2021).

### OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es sintetizar hidrogeles biocompatibles a base de caseína metacrilada mediante fotopolimerización, evaluando el empleo dos entrecruzantes de diferentes longitudes de cadena, dimetilacrilato de etilenglicol (EGDM) y diacrilato de polietilenglicol (PEGD), y empleando un fotoiniciador no tóxico como es la riboflavina (vitamina B2). Además, se pretende estudiar la producción de estos hidrogeles mediante impresión 3D/UV.

Título del proyecto: Nuevas plataformas poliméricas para su uso en biotecnología Instrumento: CAI+D Año convocatoria: 2020 Organismo financiador: UNL Director/a: Gugliotta, Luis Marcelino
---





## METODOLOGÍA

### Funcionalización de la caseína

La funcionalización de la caseína se realizó disolviendo 10 % p/p de la proteína y 0,3% p/p de azida de sodio en buffer  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (pH 10), a 50°C con agitación. Una vez disuelta la caseína se agregó 2 % p/p de glicidil metacrilato (GMA) y se dejó reaccionar durante 4 h a 50°C con agitación. Finalmente, la solución se liofilizó para obtener el compuesto en estado sólido.

### Síntesis de los hidrogeles

Para la síntesis de los hidrogeles, primeramente, se disolvió en agua ultrapura 0,5 mM del fotoiniciador riboflavina a 70°C. Seguidamente, se enfrió la solución a 50°C y se incorporó la caseína funcionalizada. Una vez disuelta la proteína se agregó el entrecruzante (EGDM o PEGD) y se mantuvo la solución a 50°C con agitación durante 10 minutos. Este procedimiento se repitió en diferentes formulaciones variando las proporciones de entrecruzante y proteína. Las soluciones obtenidas se colocaron en moldes con forma de discos de 1 mm de espesor, y se irradió con luz UV (longitud de onda de 365 nm), durante 20 minutos (10 minutos por cada cara plana del hidrogel). Para evitar la evaporación del agua de la solución debido al calor producido por la lámpara, se utilizaron láminas de etileno-propileno-fluorado transparentes al UV, aislando la solución del ambiente.

### Impresión 3D/UV

Se usó una impresora de resina 3D/UV Creality LD-002R con tecnología LCD. La impresión se realizó con tiempos de exposición de 120 segundos, con capas de 50  $\mu\text{m}$  de espesor.

### Caracterizaciones

La caseína funcionalizada analizó por  $^1\text{H}$ -RMN para cuantificar los sitios activos (dobles enlaces metacrílicos) incorporados. Además, se realizaron análisis de FTIR a los hidrogeles secos con el fin de estudiar su estructura y composición. Por otro lado, se estudió el grado de entrecruzamiento de los hidrogeles, determinando el contenido de gel (fracción insoluble) por extracción con agua. Para esto, los hidrogeles secos se colocaron en vasos de precipitados con agua a temperatura ambiente y con leve agitación. Luego de 24 horas, la proteína y el entrecruzante sin reaccionar quedan disueltos en el agua y el hidrogel no disuelto se secó por liofilización. Finalmente, por diferencia de pesos del hidrogel antes y luego de este proceso, se determinó su contenido de gel.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los análisis  $^1\text{H}$ -RMN realizados a la caseína funcionalizada permitieron cuantificar la cantidad de GMA efectivamente ligado a la proteína, obteniéndose un valor de 25,7 moles de GMA por cada mol de proteína, consiguiendo que reaccionara un 64% de los moles de GMA



agregados. Se prepararon diversas formulaciones para la síntesis de los hidrogeles, a partir de diferentes proporciones de caseína funcionalizada y entrecruzante. Para ello, primeramente, se determinó la proporción mínima de caseína funcionalizada que sin el agregado de entrecruzante logró la formación del hidrogel luego del fotocurado, esta fue de 25% p/p con respecto al agua. A partir de allí se comenzó a disminuir la cantidad de caseína, incrementando la cantidad de entrecruzante hasta la formación del hidrogel. Una vez hallado el porcentaje mínimo de entrecruzante para cada concentración de caseína, se realizó otra formulación con 5% más de entrecruzante a fin de estudiar si existe una mejora en las propiedades de los hidrogeles. El procedimiento aquí explicado se muestra en el diagrama presentado en la Figura 1, para ambos entrecruzantes estudiados. Los resultados muestran que el entrecruzante PEGD, de mayor peso molecular, posee una capacidad más alta de entrecruzar la caseína, en comparación con el entrecruzante EGDM, logrando la formación del hidrogel a concentraciones menores.

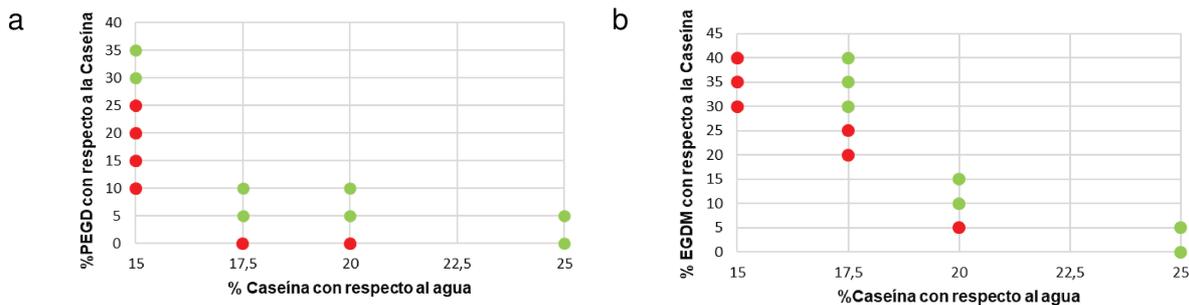


Figura 1: Diagrama representativo de las diferentes formulaciones estudiadas. Los círculos rojos representan las formulaciones que no han formado hidrogeles y los círculos verdes aquellas que sí lo han formado. (a) Formulaciones utilizando PEGD. (b) Formulaciones utilizando EGDM.

Los resultados del contenido de gel de todas las formulaciones se muestran en la Figura 2. Las formulaciones se denominaron según el siguiente código: CASX-ENTRECRUZANTEY, donde X corresponde a la concentración de caseína (% p/p con respecto al agua) e Y corresponde a la concentración de entrecruzante (% respecto a la caseína). Como se puede apreciar, el grado de entrecruzamiento es menor utilizando PEGD en comparación con las mismas formulaciones utilizando EGDM. Además, el agregado de 5% más de entrecruzante no muestra una mejora significativa por lo que se concluye que la concentración de caseína tiene una gran influencia en la formación o no del hidrogel.

En la Figura 3 se presentan los espectros de FTIR de la caseína funcionalizada y sin funcionalizar, además de los espectros de dos muestras de hidrogeles lavados y secos, Cas25-EGDM0 y Cas20-EGDM15. Se aprecia la presencia de los picos a  $1650\text{ cm}^{-1}$  y a  $1550\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a los grupos funcionales Amida I y Amida II, respectivamente, de la caseína. La presencia del GMA en las moléculas de la caseína funcionalizada se hace visible por medio del pico a  $1727\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo carbonilo del GMA. Por otro lado, la existencia de este pico en el hidrogel con 15% de entrecruzante se debe no solo a la presencia del GMA, sino también a los grupos carbonilos existentes en la molécula del entrecruzante.

Se distingue incluso, un mayor tamaño del pico en el hidrogel con 15% de EGDM en comparación con el hidrogel gel sin entrecruzante.

Finalmente, a partir de la formulación Cas20-EGDM10, siendo la misma elegida por la capacidad de formar hidrogeles con alto grado de entrecruzamiento, se ha logrado imprimir hidrogeles en forma de discos de 2 cm de diámetro como se muestra en la Figura 4, demostrando la capacidad de procesamiento por impresión 3D/UV de este tipo de formulaciones.

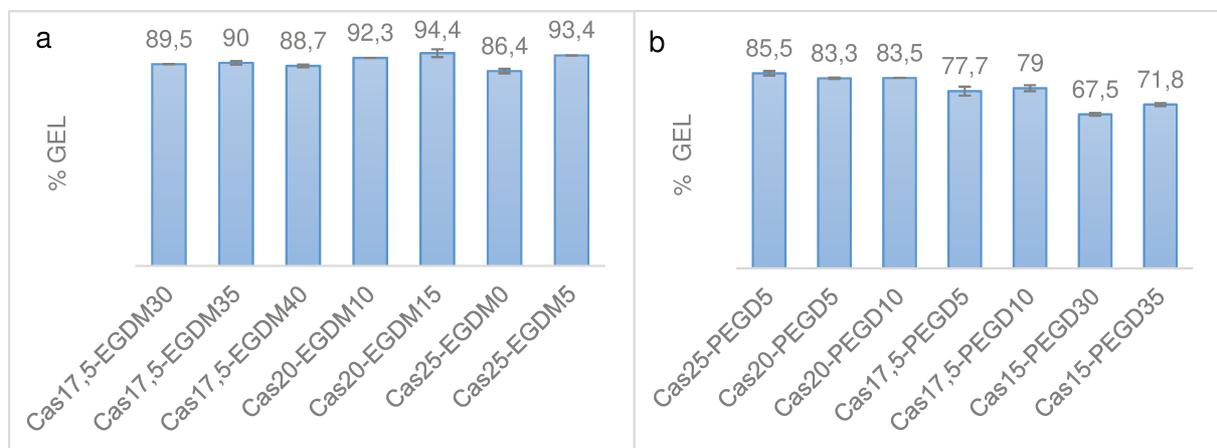


Figura 2: Contenido de gel de los hidrogeles obtenidos a partir de distintas formulaciones variando la concentración de caseína y entrecruzante. (a) Entrecruzante: EGDM. (b) Entrecruzante: PEGD.

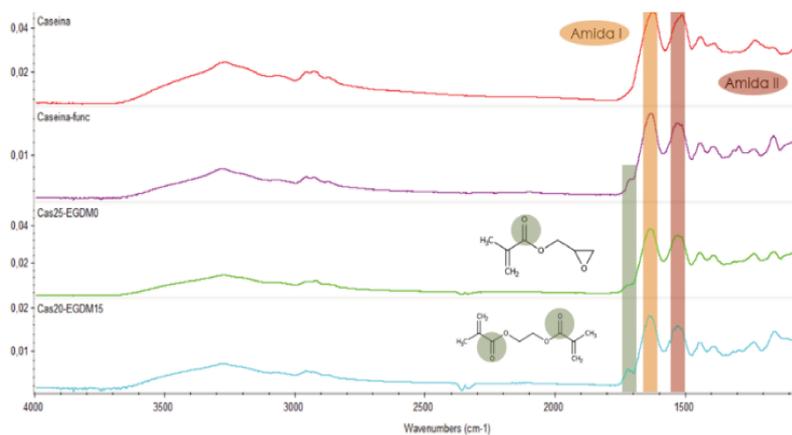


Figura 3: Espectro FTIR



Figura 4: Hidrogeles Cas20-EGDM10 impresos.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Sanchez-Rexach E., Smith P. T., Gomez-Lopez A., FernandezM., Cortajarena A. L., Sardon H., and Alshakim Nelson. 2021. 3D-Printed bioplastics with shape-memory behavior based on native bovine serum albumin. ACS Appl. Mater. Interfaces, 13, 19193–19199