



# **UNIVERSIDAD ESPECIALIZADA DE LAS AMÉRICAS**

**Facultad de Biociencias y Salud Pública**

**Escuela de Biociencias**

**Trabajo de Grado para optar por el título de Licenciado en  
Ingeniería Biomédica**

**TESIS**

**Desarrollo de andamios sintéticos 3D porosos derivados de  
desechos agrícolas para aplicaciones en la biomedicina**

**Presentado por:**

**Moreno De Gracia, Gabriel Enrique; 4-800-1192**

**Asesor Principal:**

**Diego Reginensi**

**Co-Asesores:**

**Javier Revete / Juan Lujano**

**Panamá, 2023**

## **DEDICATORIA**

A Dios Todopoderoso por darme la oportunidad de estudiar esta carrera y permitirme terminarla de forma satisfactoria y así convertirme en un profesional dentro del área científica.

A mis padres, Jorge e Ida, por ser mi ejemplo de sacrificio, trabajo, responsabilidad y entrega y por el apoyo incondicional en mis estudios.

Gabriel Moreno

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por darme salud a lo largo de todo este tiempo, por otorgarme sabiduría para afrontar las difíciles materias de esta carrera y por no abandonarme en momentos difíciles durante la misma.

A mis padres, por la educación que me han proporcionado y por darme todas las herramientas para llevar a cabo mis estudios sin muchas dificultades.

Al Dr. Diego Reginensi, por su labor como asesor y guía al brindarme su amplio conocimiento para poder realizar esta investigación de la mejor forma posible.

Al Dr. Jay Molino, por darme la oportunidad de realizar esta tesis.

A los investigadores asociados al laboratorio de ingeniería biológica: Ing. Andrea Burillo, TSU en química Javier Revete, TSU en química Juan Lujano, Dr. Luis Luis que ayudaron al desarrollo de esta tesis.

A mis compañeros y futuros colegas, quienes me ayudaron durante la carrera.

A los compañeros del laboratorio de ingeniería biológica.

Gabriel Moreno

## RESUMEN

Actualmente, en diversas áreas científicas como la ingeniería de tejidos y biomimética se están desarrollando andamios 3D para estudiar la interacción de estos con distintos tipos celulares. En Panamá, la cascarilla de arroz corresponde a uno de los desechos agrícolas más abundantes, por lo que puede ocasionar contaminación al medio ambiente, bioacumulación progresiva y otros problemas relacionados. Este desecho agrícola, se presenta como gran acumulador de sílice biogénica; considerando, que normalmente en aplicaciones biomédicas se utilizan silanos costosos en la producción. El objetivo de esta investigación es aplicar técnicas de extracción de sílice a la cascarilla de arroz (desecho arrocerero) para la preparación de andamios tridimensionales para aplicaciones de biomedicina. A partir del desecho agroindustrial, se obtiene un biocarbonizado de cascarilla de arroz, al cual se le realizó una serie de procesos metodológicos para obtención de los andamios tridimensionales. Como resultado, se obtuvo dos tipos de andamios: los hidrogeles y los xerogeles porosos, que se caracterizaron utilizando un microscopio electrónico de barrido para obtener imágenes detalladas de las topografías y características de los materiales.

**Palabras claves:** andamio 3D, biomaterial, cascarilla de arroz, desecho agrícola, porosidad, sol-gel, xerogeles.

## **ABSTRACT**

Currently, in various scientific areas such as tissue engineering and biomimetics, 3D scaffolds are being developed to study their interaction with cells and, at the same time, develop technologies that can be applied in these fields. Rice husks correspond to one of the most abundant agricultural waste in Panama, which is why it can cause environmental contamination and other related problems. This material can be reused in biomedical applications as an alternative silica precursor due to its high content of this element because expensive silanes are normally used in the production of scaffolds; Thus giving it additional value. The objective of this research is to apply extraction techniques of silica from rice waste to prepare three-dimensional scaffolds for biomedical applications. Using rice husk carbonization, a series of methodological processes were carried out, one of them the sol-gel process, to obtain the three-dimensional scaffolds. Two types of scaffolds, hydrogels and porous xerogels, were obtained as the final product and characterized using a scanning electron microscope to obtain detailed images of the topographies and characteristics of the materials.

**Keywords:** 3D scaffold, agricultural waste, biomaterial, porosity, rice husk, sol-gel, xerogels.

## CONTENIDO GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN</b>	9
<b>CAPITULO I: ASPECTOS GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN</b>	
1.1 Planteamiento del problema	11
1.1.1 Problema de investigación	14
1.2 Justificación	15
1.3 Hipótesis	19
1.4 Objetivos	19
1.4.1 Objetivo general	19
1.4.2 Objetivos específicos	19
<b>CAPITULO II: MARCO TEÓRICO</b>	
2.1 Biomateriales	21
2.1.1 Aplicaciones de los biomateriales	22
2.1.2 Características de los biomateriales	24
2.1.2.1 Biocompatibilidad	24
2.1.2.2 Bioactividad	25
2.1.2.3 Porosidad	26
2.1.2.4 Materiales Cerámicos.	32
2.1.3 Materiales silícicos porosos derivados de desechos agroindustriales.	35
2.2 Generación de biomateriales tridimensionales silícicos mesoporosos.	44
2.2.1 Desarrollo de andamios silícicos porosos, como estrategia de ciencias de materiales en bioingeniería.	44
2.2.2 Síntesis de materiales silícicos mediante el proceso sol - gel.	50
2.2.3 Desarrollo de hidrogeles de composición silícica.	55
2.2.4 Desarrollo de xerogeles silícicos	57
2.3 Aplicaciones biomédicas materiales silícicos porosos.	59

2.4 Ingeniería tisular ósea, basada en la utilización de materiales silícicos porosos.	62
2.4.1 Aplicación de células madre mesenquimales en terapia ósea.	63
2.5 Terapia combinada de materiales silícicos y células madre en lesiones óseas.	65

### **CAPITULO III: MARCO METODOLÓGICO**

3.1 Diseño de investigación y tipo de estudio	73
3.2 Población o universo	73
3.3 Variables	73
3.4 Instrumentos y materiales-equipos	74
3.5 Procedimiento experimental	76

### **CAPITULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS**

4.1 Resultado 1: Obtención de la cascarilla de arroz	89
4.2 Resultado 2: Generación del andamio tridimensional (3D).	90
4.3 Resultado 3: Caracterización de los andamios tridimensionales (3D) por microscopía electrónica de barrido (SEM).	97
4.4 Resultado 4: Desarrollar cultivos celulares en andamios tridimensionales (proyección a futuro).	98

<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS</b>	104
--	-----

<b>CONCLUSIONES</b>	109
---------------------	-----

<b>RECOMENDACIONES Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN</b>	110
---	-----

<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	112
-----------------------------------	-----

<b>ANEXOS</b>	143
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	160
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	161
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	165
<b>ÍNDICE DE GRÁFICAS</b>	166



## INTRODUCCIÓN

La ingeniería tisular tiene como objetivo la creación de tecnologías como andamios que interactúen con células destinadas a la reparación o mejora de un tejido específico que ha perdido su funcionalidad.

Para lograr este objetivo, es necesario el desarrollo y perfección de andamios que permitan el crecimiento y proliferación celular según el tejido sobre el que se quiera trabajar. Actualmente, los andamios más utilizados son los de tipo bidimensional (2D) en comparación a los tridimensionales, porque la producción de estos últimos representa un costo mayor.

Esta investigación consiste en producir andamios 3D silíceos utilizando la cascarilla de arroz como precursor de sílice para que puedan ser utilizados en aplicaciones biomédicas.

En el capítulo I se presentan los aspectos generales como el planteamiento de la problemática relacionada a la producción de andamios 3D y su utilidad en el campo biomédico, la justificación, hipótesis y objetivos de la investigación.

En el capítulo II se presenta el marco teórico de los principales temas de la investigación: biomateriales porosos, andamios 3D, desechos agrícolas como fuente de sílice, reparación ósea y aplicación de células en reparación ósea.

En el capítulo III correspondiente al marco metodológico se especifican el diseño y tipo de estudio, las variables, los sujetos, los procedimientos que se realizaron para obtener los andamios y los materiales/equipos necesarios para realizar la investigación

En el capítulo IV se presentan los análisis de los resultados obtenidos durante la investigación.

# CAPÍTULO I

## **CAPÍTULO I: ASPECTOS GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.1 Planteamiento del problema**

Los biomateriales (andamios) son aquellos materiales, ya sean naturales o sintéticos, que son capaces de interactuar con los sistemas biológicos (Paul, 2020). También, pueden definirse también como toda sustancia que ha sido diseñada o construida solo o para formar parte de un sistema con el fin de dirigir, mediante el control de la bioactividad con los tejidos, el curso de cualquier procedimiento terapéutico o de diagnóstico (Williams, 2019). El diseño de biomateriales se utiliza en una amplia gama de ciencias físicas, biológicas y químicas para aplicaciones que incluyen la síntesis y caracterización de polímeros, el diseño de vectores de genes y fármacos, la biología de la respuesta del huésped, la inmunología y la toxicología y el autoensamblaje a nanoescala (Peressotti et al., 2021).

El campo de los biomateriales es de carácter multidisciplinario, reúne los conocimientos de diferentes áreas científicas para desarrollar materiales para implantes médicos, restauración y curación de tejidos (Bronzino & Peterson, 2018). Entre las aplicaciones clínicas más importantes que impliquen el uso de biomateriales están las terapias de tecnología médica y medicina regenerativa en todas las disciplinas clínicas, y sistemas de diagnóstico.

En la disciplina de la medicina regenerativa, se trabaja frecuentemente en el desarrollo de biomateriales (andamios) para la recuperación los tejidos funcionales mediante la integración de ciertas propiedades mecánicas y estructurales que han sido pérdidas por daño y/o procesos fisiopatológicos.

Los andamios ideales deben imitar la matriz extracelular natural tanto como sea posible, porque esta matriz favorece la unión, crecimiento y diferenciación celular, lo que indica que los andamios deben contar con una bioquímica apropiada y topografías de superficie a escala nano o micrométricas con el fin de formular sitios de unión favorables para regular y controlar activamente el comportamiento de células y tejidos, mientras interactúa con las células huésped. Además, los

andamios también deben poseer una macroestructura similar a la que se encuentra de forma natural en los tejidos (S. Wu et al., 2014). Así es como, la utilización de células madre, como: las células madre mesenquimales humanas (MSCs) tienen un enorme potencial terapéutico en ingeniería tisular debido a su alto potencial regenerativo, capacidad para diferenciarse en diferentes linajes celulares (p.e osteoblastos, adipocitos y condrocitos), función inmunomoduladora, capacidad de injerto sistémico y fácil aislamiento (Hori et al., 2022).

Entre los principales andamios con los que se realizan labores de investigación están los andamios biológicos naturales, los andamios de polímeros biodegradables sintéticos y los andamios compuestos. Los bioandamios que son de origen natural tienen como característica una alta biocompatibilidad, sin embargo, carecen de buenas propiedades mecánicas. Por el contrario, los andamios sintéticos tienen fuertes características mecánicas, pero no tienen buena biocompatibilidad. Los nanoandamios han sido muy estudiados en los últimos años, pero su producción es costosa (Chung et al., 2020).

Los andamios desarrollados en medicina regenerativa son de tipo tridimensionales (3D) y, por ello, pueden proporcionar un microambiente adecuado para la incorporación de células o factores de crecimiento para regenerar tejidos u órganos dañados (Ornell et al., 2019). Actualmente, los cultivos de células 3D han ganado un interés creciente debido a sus ventajas evidentes en el suministro de información fisiológicamente más relevante y más datos predictivos en comparación con su contraparte bidimensional (2D). Estos andamios son diseñados para funcionar de igual manera que un sistema biológico de manera que las células puedan crecer en un entorno parecido al tejido original. (Loh & Choong, 2013).

Un problema que enfrenta el sector de salud a nivel mundial es la constante escasez de donantes para el trasplante de órganos, por lo tanto, la ingeniería de tejidos se ha convertido en una herramienta muy importante en el área de la medicina regenerativa para superar las limitaciones que pueden llegar a

presentarse en los tratamientos convencionales. La ingeniería de tejidos está orientada principalmente hacia el diseño y posterior obtención de diversos biomateriales, destacando los andamios cerámicos (Baino et al., 2015).

Los biomateriales cerámicos son materiales que pueden ser utilizado en algún implante o prótesis. Tienen la característica de parecerse al tejido óseo gracias a su compatibilidad e integración ósea. Una de las características es que pueden ser bioactivas, por lo que, al estar en contacto con los fluidos fisiológicos, reaccionan produciendo hueso (Mahumane et al., 2018).

Los materiales del orden de los mesoporos poseen características porosas (tamaño, distribución etc) que los convierten en estructuras de interés en el área de grupos funcionales orgánicos. Mientras que el marco de sílice proporciona estabilidad térmica y mecánica, los restos orgánicos de la superficie proporcionan control de las propiedades del material interfacial y a granel, como la flexibilidad y las propiedades ópticas (Maksoud et al., 2022).

Un tipo de andamios 3D utilizados para aplicaciones en el área de biomedicina son los xerogeles silícicos. Los xerogeles de sílice se producen utilizando procesos sol-gel a través de la hidrólisis y policondensación de un alcóxido, como el tetraetoxisilano, seguido del secado del gel para formar una red de sílice porosa (Jin, 2016). Debido a sus propiedades deseadas, se encontró que estos materiales eran adecuados para varias aplicaciones médicas y biomédicas; la alta capacidad de carga de fármaco de estos andamios y su capacidad para mantener una liberación sostenida de fármaco los hace muy deseables para las aplicaciones de administración de fármacos.

En la última década, varios estudios experimentales informaron sobre la acción reparadora crucial de la acción combinada de diversos biomateriales y célula madre mesenquimales, derivadas de médula ósea, en tejidos óseos lesionados o dañados (Han et al., 2019). Así es como, durante los último años diversos laboratorios en el mundo buscan desentrañar las características biológicas de las

células madre mesenquimales y poner a pruebas sus capacidades en la reparación de cartílagos y huesos (Moreno-Navarrete & Fernández-Real, 2017).

El principal elemento de estudio para desarrollar andamios en el área de ingeniería tisular ósea son los biomateriales. Esta rama de la biomedicina surgió como solución prometedora y alternativa a los injertos que existen actualmente. Con el objetivo de reparar la función perdida del tejido óseo en esta disciplina se combinan conocimientos y técnicas tanto de ciencias biológicas y de ingeniería (Bishop et al., 2017; Coalson et al., 2019).

Por ello, es gran importancia el desarrollo de nuevos materiales novedosos que tengan características potenciales que ayuden a las células óseas a la recuperación funcionales en las enfermedades del hueso (Caliari & Burdick, 2016).

### **1.1.1 Problema de investigación**

En el tejido óseo, enfermedades como la osteoporosis y las fracturas se estiman que, en un futuro próximo, aumentará en la población conformada por adultos mayores por lo que es necesario investigar nuevos métodos para tratarlas y uno de ellos es el estudio de células madre en andamios. Por ello, es necesario la implementación de andamios 3D que sean accesibles en costos, producción y desarrollo tecnológico (Mohan et al., 2014).

Los andamios más utilizados para aplicaciones en biomedicina son los de tipo bidimensional en comparación con los andamios de tipo tridimensional debido a que estos últimos son de costosa producción (Mohan et al., 2014), sin embargo, estos últimos tienen la ventaja de fabricación rápida, alta precisión y la producción personalizada en aplicaciones biomédicas (Farzan et al., 2020). En este trabajo, se pretende producir hidrogeles de sílice sintetizado a base de cascarilla de arroz que es uno de los principales productos que se cosechan en las diferentes provincias que conforman a Panamá. La producción arrocera aumentó, de manera significativa, a raíz de la pandemia del COVID-19 donde se les ofreció prioridad a

los productores nacionales y se le dio un alto a importaciones provenientes de otros países (MIDA, 2022) y esto supone un recurso con alta disponibilidad por lo que se reducen los costos que suponen la producción de estos andamios. La innovación de este trabajo está en que se utiliza un desecho común y se le da utilidad para aplicaciones de biomedicina por lo que implica el siguiente planteamiento: ¿Es posible sintetizar un andamio a partir de materiales de bajo costo y utilizarlo para aplicaciones de biomedicina?

## **1.2 Justificación**

La amplia actividad de los ingenieros biomédicos es ahora significativa en diversas áreas de la investigación. El campo pasó de preocuparse principalmente por el desarrollo de instrumentos médicos en las décadas de 1950 y 1960 a incluir un conjunto más amplio de nuevas actividades, tales como: la nanotecnología, la inteligencia artificial o los biomateriales. Un mayor beneficio potencial que se produce con el uso de la ingeniería biomédica es la identificación de los problemas y necesidades del actual sistema de atención médica que se pueden resolver utilizando la tecnología de ingeniería y la metodología de sistemas existentes (Bronzino & Peterson, 2018).

La economía circular es un modelo económico que se debe promover para hacerle frente a los altos niveles de contaminación y al poco cumplimiento de las normas de cuidado al ambiente y, a la vez, promover la productividad de un sector industrial con menores niveles de contaminación en los suelos (Suárez-Eiroa et al., 2019). A nivel mundial, el proceso para separar el grano de arroz de la cáscara produce alrededor de 100 millones de toneladas de desechos de cáscaras de arroz cada año.

En Panamá, se producen toneladas de desecho arrocero, esto supone una cantidad más que considerable de desperdicios; a nivel nacional, no se cuenta

con alguna tecnología y/o utilidad que pueda aprovechar toda esta gran cantidad de desecho agrícola.

En Panamá, desde hace décadas, la cascarilla de arroz es uno de los grandes problemas que tienen los productores de esta leguminosa; considerando, que existe la prohibición de quemar este desecho vegetal debido a la contaminación ambiental. Por lo cual, la cascarilla se acumula indefinidamente, sin control, desprendiendo gases nocivos para el medio ambiente y el ecosistema nacional. La búsqueda de alternativas para la eliminación de la cáscara de arroz se convierte en una gran amenaza ambiental para el territorio nacional debido a que la cáscara de arroz, generalmente, se quema en un campo abierto o se apila en tierras de cultivo, lo que genera contaminación del aire, emisión de gases de efecto invernadero y daño en la flora y fauna (Chen et al., 2011a, Johar et al., 2012). Por lo tanto, la preparación de productos derivados de la cáscara de arroz es una estrategia económicamente beneficiosa y respetuosa con el medio ambiente.

Los soportes de sílice vía sol-gel suelen sintetizarse a partir de silanos muy costosos y poco asequibles a los centros de investigación de los países en vías de desarrollo, lo cual es relevante si se persigue una solución económica sustentable para poblaciones de bajo recursos (Ciriminna et al., 2013).

Entonces, de los diversos géneros vegetales terrestres, las de mayor conveniencia por su alta capacidad de bioacumulación de silicio como sílice, son las especies del género *Oryza* (arroz), en particular, sus conchas representan un recurso económico de amplia disponibilidad en Panamá. El desarrollo de esta investigación busca darle una aplicabilidad a los desechos de la industria arrocera para tener una finalidad aplicada, como precursor de materiales porosos. De esta manera, se deja atrás el modelo lineal de “utilizar-desechar” y se explora una nueva alternativa viable que asegura que los recursos mantengan su utilidad en todo momento.



La industria de los biomateriales para la regeneración de tejido en el área de biomedicina será un mercado potencial debido, entre otros motivos, a la creciente demanda de dispositivos implantables, de biomateriales en cirugía plástica y aplicaciones de cicatrización de heridas, también a la creciente conciencia e investigación sobre la medicina regenerativa y al progresivo envejecimiento de la población lo que trae consigo diferentes tipos de enfermedades.

En este trabajo, se pretende producir andamios 3D de sílice sintetizados a partir de desecho arrocero (cascarilla de arroz), que corresponde a un producto nacional, con alta disponibilidad, lo cual reduce los costos que suponen de la producción del biomaterial. Para la producción de andamios tridimensionales se utilizan los desechos agrícolas derivados del arroz panameño, que permiten el aprovechamiento de las acumulaciones de sílice, llamadas fitolitos, como materia prima para la elaboración de los silicatos solubles y la posterior generación de los xerogeles macroporosos silícicos. De allí, se preparan los materiales de sílice, con estructura porosa, para las aplicaciones deseadas. Con ello, se le da valor agregado a un material de descarte industrial como una posible aplicación de ingeniería tisular.

Se ayudaría, de manera alternativa, a consolidar el establecimiento y la promoción de la dinamización económica de nuestras provincias centrales. También, se produciría un entorno colaborativo con el sector agricultor del interior del país debido a que los vegetales utilizados provienen de las áreas de mayor producción de arroz que se encuentran en las provincias centrales de Panamá: Chiriquí con 18,829 hectáreas Los Santos con 12,942 hectáreas, Coclé con 12,102 hectáreas, Veraguas con 11,870, Herrera con 2,532 hectáreas para una producción de 7,190,723 quintales (MIDA, 2022).

El aspecto innovador de esta investigación está en el aprovechamiento y la transformación y del principal desecho agroindustrial de Panamá (cascarilla de arroz) en un material de alto valor en el mercado, este será el primer paso para la generación de materiales biomédicos, como posibles andamios en el tratamiento

de enfermedades y otras aplicaciones (p.e liberación sostenida) en las diferentes áreas de la ciencia que para su tratamiento implican altos costos tanto para las instituciones de salud del país como para los pacientes que las sufren.

Adicional, la obtención de la cascarilla de arroz es muy accesible, como también el costo de los reactivos que se utilizan para el tratamiento del torrefaccionado (ácido acético e hidróxido de sodio) y la síntesis del xerogel macroporo silícico; en comparación, al costo promedio que conlleva realizar investigaciones científicas asociados a la generación de materiales en medicina.

Es importante destacar el hecho que para llevar a cabo investigaciones y estudios de cultivo celular tradicionalmente se realizan los cultivos sobre estructuras bidimensionales (2D) como lo son las placas de multipocillos, cubreobjetos convencionales, Flasks T-75 y T-25 o platos petri convencionales, que se consideran más económicos que los sofisticados andamio tridimensional (3D) (p.e colágeno, matrigel) debido a que estos últimos requieren para un mayor desarrollo tecnológico y un costo económico, considerando en muchos casos un difícil proceso de obtención y/o el requerimiento de equipos tecnológicos sofisticados (p.e impresión 3D, biotintas especializadas).

Otro punto importante es el limitado acceso a estas tecnologías sofisticadas mencionadas, no solo en Panamá, sino en la toda región centroamericana. En este caso, se utiliza un método de obtención simple en términos fisicoquímicos a través del proceso sol-gel para la obtención de los xerogeles macroporosos, como andamios 3D. Por lo tanto, al realizar la investigación donde se combina destrezas de síntesis químicas y técnicas de laboratorio poco desarrolladas en Panamá.

Con base a estos antecedentes, se crearía una nueva línea de investigación en Panamá a partir de un desarrollo tecnológico sustentable capaz de generar dividendos y empleos en un área inexistente, en el futuro. Es muy importante recalcar que se trabajaría con desechos de la industria agrícola panameña, lo que los hace mucho más económico y damos valor a un desecho con la posibilidad de crear fuentes de trabajo en este sector de la economía panameña. Así, Panamá

se podría convertir en unos de los primeros países de la región en la generación de estrategias de punta en el tratamiento de enfermedades óseas mediante nuevas tecnologías innovadoras y sustentables.

Con base en todo lo explicado anteriormente, se puede afirmar que el desarrollo de esta investigación presenta diversas ventajas a las técnicas actuales de preparación, en cuanto a que se tiene el control necesario para producir los materiales adecuados para las aplicaciones requeridas en sectores como salud, ambiente, energía, farmacia, entre otros.

Además, es muy importante agregar que se trabaja con desechos de la industria agrícola panameña, lo que los hace mucho más económico y se da valor a un desecho con la posibilidad de crear fuentes de trabajo en esta área.

### **1.3 Hipótesis**

H<sub>0</sub>: La cascarilla de arroz no es un precursor sustentable en la generación de xerogeles macroporosos de sílice (andamios tridimensionales).

H<sub>i</sub>: La cascarilla de arroz sirve como precursor sustentable en la generación de xerogeles macroporosos de sílice (andamios tridimensionales).

### **1.4 Objetivos**

#### **1.4.1 Objetivo General**

Aplicar técnicas de extracción de sílice de desecho arrocerero para preparar andamios tridimensionales para aplicaciones de biomedicina.

#### **1.4.2 Objetivos específicos**

- Obtener andamios tridimensionales para aplicaciones biomédicas.
- Caracterizar los andamios obtenidos mediante microscopía electrónica de barrido.

# **CAPÍTULO II**

## **CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Biomateriales**

Los biomateriales se definen como cualquier material que ha sido diseñado para interactuar con células individuales o construcciones celulares. Estos materiales se producen de una amplia gama de estrategias de síntesis y tienen composiciones químicas y características estructurales marcadamente diferentes (Kargozar et al., 2019).

La modulación controlada de estas propiedades da como resultado una variedad de biomateriales que inducen cambios morfológicos y fisiológicos en las células (Nugud et al., 2022). Los biomateriales pueden ser de tipo natural, cuando son derivados de fuentes naturales, que incluye: proteínas, polisacáridos y matrices de tejido descelularizado.

También, están los de tipo sintético, estos son derivados de fuentes sintéticas, incluidos metales, cerámicas, polímeros sintéticos y compuestos (Troy et al., 2021). Los biomateriales (andamios) son de gran importancia en la ingeniería de tejidos, porque pueden proporcionar a las células un microambiente que busca “imitar” su nicho fisiológico nativo y le permite la regeneración de tejidos (Gaharwar et al., 2020).

La biomimética se define como el desarrollo de tecnologías innovadoras a través del estudio de sistemas biológicos y su imitación en aplicaciones en biomedicina. Diversas aplicaciones en biomedicina buscan imitar el conocimiento establecido de la naturaleza; lo cual parece ser una forma prometedora de progreso en la ciencia de los materiales en aplicaciones en biomedicina.

Esta rama de la biomedicina se beneficia de los sistemas biológicos producto de millones de años de selección natural. Al crear dispositivos que cumplan con las funciones de un tejido vivo se crean nuevos campos de investigación en diferentes áreas. Actualmente, muchos materiales están hechos de compuestos de

componentes orgánicos e inorgánicos para aprovechar simultáneamente las propiedades mecánicas y bioquímicas de sus componentes (Lepora et al., 2013).

Los biomateriales han sido ampliamente desarrollados de forma que han evolucionado desde materiales inertes que carecen de interacción con el cuerpo hasta materiales biológicamente inteligente y activos que se alojan y envían señales a los tejidos circundantes (Najdanović et al., 2017).

Los biomateriales modernos de diseño, en muchas ocasiones, contienen insertadas células vivas ocasionando una respuesta activa, a nivel fisiológico. Estos biomateriales tienen el potencial de revolucionar el campo de las terapias biomédicas innovadoras, en donde este campo naciente ya ha mostrado resultados prometedores para la curación de heridas, la administración de fármacos y la terapia de células madre (Adeosun et al., 2020).

Se ha aplicado varios enfoques de fabricación para diseñar materiales vivos, incluida la impresión 3D, la microfluídica, el electrohilado y la microencapsulación (Rodrigo-Navarro et al., 2021).

### **2.1.1 Aplicaciones de los biomateriales**

En esta década muchas investigaciones están avanzando potencialmente mediante el uso de biomateriales en el campo médico orientados a la reparación de funciones humanas perdidas. Los biomateriales pueden usarse en el cuerpo de un ser humano, en base a su compatibilidad con el sistema biológico receptor (Huzum et al., 2021).

Los avances tecnológicos, de las técnicas quirúrgicas y la nueva bioinstrumentación han permitido que los materiales se utilicen de formas que antes no eran posibles. Los andamios puede reemplazar de forma parcial o en su totalidad una o más partes del cuerpo; sin embargo, antes de usar cualquier biomaterial, se debe tener en cuenta a qué categoría pertenece (p.e naturales, sintéticos) y si cumple con los requisitos principales: biocompatibilidad,

bioactividad, biodegradabilidad, capacidad de esterilización, como también sus propiedades físicas y mecánicas adecuadas; además, de su proceso de fabricación, reproducibilidad, costo económico, etc (Williams, 2015). Las características mencionadas son necesarias para clasificar los biomateriales para su uso adecuado en las industrias médicas.

Entre las principales aplicaciones biomédicas de los biomateriales diseñados destacan la detección molecular, la curación de heridas, la ingeniería de tejidos basada en células madre y la administración de fármacos (Parida et al., 2012).

Tomando en cuenta la característica de los biomateriales de controlar la capacidad regenerativa del cuerpo para la regeneración específica de tejido, se pueden definir dos enfoques.

El primer enfoque hace referencia a crear materiales capaces de la dirección celular de diferentes tipos de célula (p.e células madre) con el objetivo de reparación y regeneración de tejido dañado.

El segundo enfoque se centra en la reprogramación celular “en el sitio” mediante la administración de factores de transcripción, terapias basadas en ARN, edición de genes *in vivo* y transformación epigenética impulsada por biomateriales (Gaharwar et al., 2020).

Para la fabricación de andamios, se han utilizado numerosos polímeros naturales, como: colágeno, quitina y materiales sintéticos, como: fosfatos de calcio, carbonato de calcio y vidrios bioactivos. Los enfoques destacados recientemente, incluyen la adición de moléculas conductoras, factores inductores y señales mecánicas.

Así es como, la integración y el entrecruzamiento de los campos de la medicina, la biología, los materiales y otras disciplinas, ha ampliado la fabricación de andamios (biomateriales) en la bioingeniería de la regeneración tisular (Qu et al., 2019).

## **2.1.2 Características de los biomateriales**

### **2.1.2.1 Biocompatibilidad**

La biocompatibilidad se define como la característica de un biomaterial para que funcione en un tejido específico sin causar efectos que puedan dañarlo y a la vez generar una respuesta celular efectiva en el mismo (Raut et al., 2020).

Además de las características propias del biomaterial, hay muchas otras variables que también influyen en la biocompatibilidad de un material: naturaleza y calidad de la intervención clínica que ubica el biomaterial en contacto con los tejidos, las características del individuo (edad, sexo, estado inmunológico, movilidad física, estilo de vida, antecedentes farmacológicos), el diseño del dispositivo y la relación física entre el dispositivo y el cuerpo, la presencia o ausencia de microorganismos y endotoxinas (Lieder et al., 2013).

Diversos estudios indican resultados satisfactorios de la evaluación de seguridad de la utilización de biomateriales en aspectos de citotoxicidad, biodistribución, biodegradación y excreción en aplicaciones *in vivo* (Barry, 2019), como también se ha observado son capaces de inducir la diferenciación celular, como es el caso de la formación de células formadoras de hueso (osteoblastos) y la inhibición la diferenciación de células osteoclastos mediante la inducción de osteoprotegerina en el tratamiento de trastornos osteoporóticos (Cimino et al., 2018). Los conceptos de biodegradabilidad y compatibilidad con el tejido son clave al momento de crear materiales con fines de reparación ósea ya sea que se estudien en condiciones *in vivo* como *in vitro*.

Se ha demostrado que muchos tipos de biomateriales no son tóxicos en muchos sistemas biológicos si se preparan con ciertas características estructurales optimizadas y se aplican en las dosis correctas. Por estas razones, se han estudiado y desarrollado vigorosamente en las últimas dos décadas y han surgido durante mucho tiempo como candidatos para una variedad de aplicaciones biomédicas (Asefa & Tao, 2012).



### 2.1.2.2 Bioactividad

La bioactividad es la capacidad que tiene el material de interactuar químicamente con los tejidos (blandos y duros) del organismo (Joyce et al., 2021). Por esta razón, es clave lograr la estabilización de las células en sistemas sintéticos, de manera que se puedan estudiar las características de los materiales en este tipo de ambientes. La inmovilización sobre materiales inorgánicos inertes puede hacer frente a problemas de estabilidad y compatibilidad, favoreciendo así el avance de las aplicaciones tecnológicas. El éxito de tal estrategia depende del uso de los materiales correctos para que puedan servir de estructura de componentes bioactivos. (Tallia et al., 2022).

Ante este escenario, las investigaciones en el campo de la ciencia de los materiales buscan orientarse en la combinación adecuada de los principios de bioactividad y la cinética de la administración controlada del fármaco. Para la administración directa de fármacos, las partículas de tamaño nanométrico han atraído mucha atención.

Estos transportadores de nanopartículas pueden penetrar o pasar de manera efectiva a través de la membrana celular hacia el interior de las células, logrando un suministro celular controlado. Actualmente, la combinación de las propiedades inherentes de las nanopartículas y de las características de porosidad permite proporcionar diversas aplicaciones fascinantes de las nanopartículas en las áreas de biotecnología y biomedicina (Gao et al., 2017).

Diversos andamios poseen, además, la ventaja de un alto nivel de control sobre las propiedades químicas del material permitiendo modular su capacidad para degradarse con el tiempo. Estos polímeros se desintegran por degradación hidrolítica en masa de los enlaces éster y la tasa de degradación se puede modular cambiando la masa y las proporciones molares del monómero (I. Wu & Elisseff, 2014).

### 2.1.2.3 Porosidad

Los biomateriales tienen características estructurales interesantes que pueden aprovecharse para diferentes aplicaciones biológicas. Estas características estructurales incluyen sus tamaños a nanoescala, estructuras mesoporosas, grandes áreas superficiales, grandes volúmenes de poros y superficies fácilmente ajustables (Babaie & Bhaduri, 2017).

La porosidad es un concepto de medición de espacios en un biomaterial, y relaciona el volumen de material y el volumen de huecos en términos de porcentaje. El término se utiliza en varios campos incluyendo el de la ciencia de los materiales (Day et al., 2021).

Para investigar materiales porosos, se han desarrollado con diferentes características y variación de condiciones como el tamaño las formas, sin embargo, la característica clave de estos materiales es su superficie debido a temas de absorbancia. Así es como, modificando la superficie de los materiales, se pueden obtener materiales con diferente tamaño poroso como se puede observar en el **Anexo 1**.

La química supramolecular ha permitido el diseño y la síntesis de andamios porosos con características texturales y químicas, que permite la generación de materiales bioactivos para aplicaciones de regeneración del tejido óseo, lo cual acelerar, en gran medida, la cinética de depósito de minerales y la modulación de los procesos y, con ello, mejorar la actividad formadora de hueso (Shadjou & Hasanzadeh, 2015a).

Debido a esto se han encontrado diferentes aplicaciones a estos andamios ya sean naturales o sintetizados. La estructura porosa se suele formar en las etapas de cristalización o por tratamiento fisicoquímico y consiste, básicamente, en la formación de poros aislados o interconectados que pueden tener formas y tamaños similares o diferentes, tal como se observa en el **Anexo 2**.

La formación de los andamios porosos está ligada a la existencia de agentes direccionales o de una plantilla preformadora, esto dependerá de la técnica química con la que se sintetizan. La creación de plantillas es el proceso donde una especie orgánica actúa como un soporte para que se formen en él redes cristalinas.

El tamaño de poro se define como la distancia que hay entre dos paredes opuestas o como el ancho del mismo (Hernandez & Woodrow, 2022). La forma del poro se puede aproximar mediante tres modelos básicos de poro: cilíndrico embotellado de tinta y poros en forma de hendidura (Allothman, 2012).

Los materiales porosos se pueden fabricar utilizando compuestos orgánicos con base que funcionan como elementos formadores de poro o como moldes a través de un proceso no tensioactivo como el sol-gel en la que compuestos orgánicos no tensioactivos son eliminados por extracción con el uso de solventes orgánicos (Singh et al., 2019).

También, se pueden utilizar diversos agentes de tipo tensioactivos, que actúan como agentes directores de estructura, ampliamente utilizados, que pueden controlar el crecimiento de polímeros inorgánicos en varios tamaños y formas en la mesoescala (es decir, la escala entre átomos y objetos macroscópicos). Así es como, los materiales porosos con diversas composiciones y estructuras, como nanopartículas, nanotubos y materiales nanoporosos, se pueden sintetizar a través de una química de solución simple utilizando micelas de tensioactivos para dirigir la estructura (Solano-Umaña & Vega-Baudrit, 2015).

Este tipo de materiales se clasifican según su tamaño en microporosos, mesoporosos y macroporosos, como se observa en el **Anexo 3**. Los andamios microporosos presentan un diámetro menor a 2 nanómetros; los mesoporosos cuando su diámetro es mayor a 2 nanómetros pero menor a 50 nanómetros y los macroporosos cuando su diámetro es mayor a 50 nanómetros (B. Wang et al., 2017).

Las propiedades de los materiales micro, meso y macroporosos, basadas en el tamaño de los poros, la rugosidad, los canales interconectados, la superficie funcionalizada incluidas las paredes de los poros son capaces de inducir la regeneración de tejidos. Los poros permiten albergar (adsorción o absorción) y liberar biomoléculas específicas para la promoción del crecimiento celular tanto internamente, como de forma externa de la superficie porosa (Thananukul et al., 2021). Así surge la posibilidad de administrar localmente péptidos y proteínas es de gran importancia científica mediante el diseño de estructuras porosas que permiten la promoción de la formación de hueso, la reconstrucción de órganos, el crecimiento de células y tejidos dañados.

Algunas características importantes de los materiales mesoporosos son:

- i. Poseen grandes áreas superficiales, los habilitan para procesos de absorción.
- ii. Su distribución de tamaño de poro suele ser bastante estrecha y el tamaño de poro se puede variar de 2 a 30 nanómetros.
- iii. Tienen una estructura porosa ordenada de largo alcance.
- iv. Se puede obtener una alta estabilidad térmica e hidrotérmica después de la modificación.
- v. Se pueden obtener diferentes estructuras de estos materiales, como varillas, láminas y estructuras 3D, utilizando diferentes tensioactivos (Kumar et al., 2017).

Los biomateriales orgánicos poseen, de forma intrínseca, una estructura porosa de naturaleza flexible y con función de control múltiple, lo cual los hace muy atractivos para muchas aplicaciones avanzadas como detección, usos médicos y conversión selectiva de materiales. Sin embargo, a diferencia de los materiales porosos inorgánicos, éstos andamios presentan varias ventajas comparativas: (i) son mecánicamente mucho más fuertes, (ii) permiten la difusión en los espacios mesoporosos, (iii) poseen alta flexibilidad en la fabricación (formas y tamaños), (iv) tienen la posibilidad de permitir la generación de superficies hibridadas, lo cual

aumenta las propiedades de adsorción y absorción (Solano-Umaña & Vega-Baudrit, 2015).

Los materiales inorgánicos porosos consisten en óxidos de metales inorgánicos, como sílice o alúmina. Estos materiales tienen la característica de ser hidrosolubles, estables químicamente, tener buena resistencia mecánica y biocompatibilidad. La superficie de los materiales de sílice mesoporosos contiene grupos silanol que se pueden utilizar para la inmovilización de enzimas mediante enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo y los grupos carbonilo o amino en las moléculas de enzima (Peter et al., 2021).

En biomedicina, los materiales porosos presentan amplia aplicación en dermatología. Por ejemplo, las opciones actualmente disponibles para la adherencia rápida cutánea son el pegamento de fibrina, los adhesivos de cianoacrilato y otros (Moreno-Egea, 2013). Sin embargo, el problema de los parches de fibrina es el alto costo, requiere equipo especial y elevado tiempo de preparación; mientras que los adhesivos de cianoacrilato son capaces de promover una reacción inmunogénica y calor severo producido en el punto de aplicación y el daño del tejido, además estos últimos pueden liberar formaldehído, que es muy tóxico (Hoshikawa et al., 2019); otras soluciones disponibles son las suturas quirúrgicas y las grapas médicas, pero las marcas posteriores permanecen en el caso de las suturas, ocasionando un daño estético cutáneo (Goel, 2015).

Por definición, una herida es una lesión que interrumpe las funciones de un tejido. Como respuesta, el cuerpo busca detener inmediatamente la hemorragia y evitar infecciones por medio de células especiales como macrófagos, células inmunitarias y neutrófilos. Por ello, es fundamental restaurar la función del tejido o la célula dañados mediante una curación rápida (Powers et al., 2016). La cicatrización de heridas es un proceso gradual que incluye: una etapa inflamatoria caracterizada por infiltración de macrófagos o leucocitos y producción de citoquinas; una etapa proliferativa que incluye la eliminación del tejido dañado y la

formación de tejido de granulación en la herida; una etapa de maduración en la que la matriz extracelular producida por el tejido proliferativo se vuelve bien definida; y la etapa de formación de tejido cicatricial que indica la finalización del proceso de cicatrización de heridas (Mogoşanu & Grumezescu, 2014).

Para aplicaciones en la piel se han desarrollado andamios porosos de diferentes tipos como mallas, esponjas o fibras que se biodegradan sin problemas para la curación cutánea. (Sundaramurthi et al., 2014). La fabricación de andamios porosos generalmente se realiza mediante: el uso de porógenos para controlar el tamaño y la forma deseados de los poros en los biomateriales, la creación de materiales prototipos y el desarrollo de nanofibras tejidas o no tejidas mediante tecnología de electrohilado y la impresión 3D más reciente. Los andamios porosos se pueden fabricar utilizando biomateriales sintéticos, naturales o compuestos biodegradables.

La naturaleza porosa de los andamios permite la siembra de las células y el intercambio adecuado de nutrientes y dichos injertos porosos sembrados con células se utilizan luego para la implantación en los huéspedes (Altuntaş et al., 2017). Se han aplicado en tejido rígido como el óseo y biogénesis de tejidos y órganos. Estos andamios tienen redes de poros interconectados con mayores porosidades para simular la construcción de matriz extracelular para una interacción efectiva de las células con su entorno.

Los andamios porosos proporcionan una superficie física para que las células se unan y produzcan su propia matriz extracelular y, lo que es más importante, proporcionan un mejor suministro de nutrientes al centro del dispositivo a través de poros interconectados, lo que reduce las posibilidades de desarrollar un centro necrótico.

Un andamio poroso ideal tiene un tamaño de poro específico con mayor porosidad y una relación superficie-volumen adecuada que permite la difusión de los nutrientes, el fármaco, etc (Garg et al., 2012).

Un andamio poroso ideal en la ingeniería de tejidos de la piel es el que imita el entorno natural para el crecimiento de la piel a través de la infiltración, proliferación y diferenciación celular adecuada. Debe ser biodegradable, permeable al intercambio de oxígeno, agua y nutrientes y debe proteger contra infecciones y daños mecánicos (Naseri et al., 2014; Ravichandran et al., 2012). Hasta la fecha, se han descrito varias formas de andamios porosos para la regeneración del tejido de la piel y la mayoría de ellos pueden clasificarse como andamios fibrosos porosos.

También, se utilizan para la regeneración cutánea andamios con alta porosidad como los esponjosos o esponjosos. La mayoría de estos andamios porosos tienen colágeno como base y luego se siembran queratinocitos o fibroblastos en los andamios (Aghmiuni et al., 2020). Un ejemplo de este tipo de andamio es Orcel, el cual es una construcción de piel diseñada para aplicaciones de ingeniería tisular hecha a partir de esponja de colágeno bovino tipo I bicapa que es porosa en la base.

La estructura bicapa de la esponja tiene una capa superior de gel de colágeno no poroso, encima de la cual se agregan queratinocitos y la capa debajo es una esponja de colágeno porosa donde se siembran los fibroblastos. Este andamio ha sido aprobado por la administración de alimentos y medicamentos (del inglés; U.S FDA, Food and Drug Administration) para tratar los sitios donantes en quemaduras. Para la cicatrización de heridas se ha utilizado esponjas de colágeno por su característica de generar factores de crecimiento (Chocarro-Wrona et al., 2019).

Existe un sustituto exclusivamente dérmico compuesto por esponja de colágeno bovino denominado Terudermis, en el que la esponja de colágeno se une a una capa de silicona. Para complicaciones producidas por traumas o para la restauración de tejido dañado por quemaduras se ha utilizado este material (Hsu et al., 2021). También funciona para tratar quemaduras graves y defectos de la piel. Al utilizar materiales de esponja en conjunto con materiales bioactivos, como

la queratina humana y el alcohol podrían utilizarse como sustitutos de la piel (Chaudhari et al., 2016).

#### **2.1.2.4 Materiales cerámicos**

Dentro los materiales sintéticos destacan, los materiales cerámicos que son sólidos inorgánicos formados por compuestos metálicos o no metálicos; son duros, resistentes a la corrosión y quebradizos. También, conocidos como biocerámicos, incluyen macro y nanomateriales utilizados principalmente para aplicaciones óseas, dentales y médicas (Malik et al., 2020).

La combinación de las propiedades de los bloques de construcción orgánicos e inorgánicos dentro de un solo material es particularmente atractiva desde el punto de vista de los científicos de materiales debido a la posibilidad de combinar la enorme variación funcional de la química orgánica con las ventajas de un sustrato inorgánico resistente y térmicamente estable como en el caso de la catálisis heterogénea (Rial et al., 2019).

Estos son importantes en el campo biomédico debido a sus buenas propiedades fisicoquímicas y compatibles con algunas de las partes del cuerpo humano. En un inicio, biocerámicos de porcelana se utilizaron en el siglo XVIII para tratamientos.

Después, durante el siglo XIX, para aplicaciones en el área odontológica se utilizó el yeso de Paris (Abbasi et al., 2015). En el siglo XX en el campo de la biomedicina, las aplicaciones de los materiales cerámicos aumentaron por los avances en tecnología de procesamiento.

Los materiales biocerámicos presentan baja tenacidad a la fractura, fragilidad y dureza en comparación con el hueso (Jazayeri et al., 2018; Kaur & Singh, 2019). Con respecto a las biocerámicas sintéticas como alúmina, zirconia, titania, materiales porosos a base de calcio y fósforo, los vidrios/cerámicas de vidrio bioactivos se utilizan en odontología, ortopedia, tejidos calcificados, implantes, recubrimientos, sensores médicos y muchas otras aplicaciones (Danewalia & Singh, 2021).



El uso de biocerámicas también abre un nuevo horizonte en el contexto de la reparación y regeneración de tejidos blandos (Kargozar et al., 2020). Los biovidrios/cerámicas de vidrio han surgido como un material versátil que se puede moldear de acuerdo con los requisitos de los usuarios. Por el valor de los biovidrios, estos materiales se están convirtiendo en un producto de gran demanda en el mercado. (Punj et al., 2021).

El término se refiere a una gama de composición de los materiales que originalmente se fabricaban a partir de caolín (aluminosilicato hidratado), cuarzo (sílice) y aluminosilicatos de potasio y sodio, tras elevadas temperaturas (Hammas et al., 2019). Las biocerámicas son materiales avanzados empleados en aplicaciones odontológicas y médicas, principalmente en reemplazos e implantes. Algunos ejemplos de estos materiales son el biovidrio, la hidroxiapatita y fosfatos de calcio reabsorbibles. (Nandhini et al., 2021).

Entre los tipos más importantes de materiales biocerámicos propuestos para regeneración ósea y otros tejidos están los biovidrios, los nanocarbonos y la nanohidroxiapatita. La ventaja de estos materiales está en que pueden perfeccionar la angiogénesis, inducir la diferenciación celular y mejorar la respuesta antibacteriana (Pagar et al., 2018).

La simbiosis de componentes orgánicos e inorgánicos puede dar lugar a materiales cuyas propiedades difieren considerablemente de las de sus componentes individuales y aislados como es el caso de los materiales silícios mesoporosos (González-Muñoz et al., 2022). Por ejemplo, los xerogeles de sílice son materiales cerámicos con propiedades excepcionales tales como alta área superficial, poros pequeños y baja conductividad térmica; las cuales permiten su aplicación como soportes catalíticos, aislantes térmicos y acústicos, materiales adsorbentes y membranas (Palmero, 2015).

A lo largo de las décadas, los biocerámicos han sido aplicados para la reconstrucción de tejido dañado y reparación ósea. Las biocerámicas se definen como compuestos inorgánicos que pueden ser sintéticos o naturales, de

composición metálica o no metálica. Estos biomateriales pueden ser de estructura amorfa y son sólidos cristalinos.

Generalmente, sus propiedades mecánicas están definidas por el tamaño inicial de la partícula y de la composición del material. Debido a su característica de tener una biocompatibilidad alta los andamios biocerámicos son aplicados en ingeniería de tejido óseo para la investigación en regeneración del hueso, rara vez devuelven una respuesta inmune.

Son osteoinductores y promueven la diferenciación ósea. Como desventajas los biomateriales cerámicos pueden ser frágiles y de lenta degradación, esto limita su uso en investigaciones en ingeniería de tejidos (Bose et al., 2012). Las categorías de los biomateriales cerámicos son: (i) bioinertes: inertes al entorno biológico en su totalidad; (ii) reabsorbibles: el material se puede disolver en fluidos biológicos y (iii) bioactivas: forman enlaces químicos con la superficie celular (Q. Chen et al., 2014). Los biomateriales cerámicos más comunes utilizados para la regeneración de tejidos son: el fosforo de calcio, incluida la hidroxiapatita (HA), el fosfato beta-tricálcico (BTF), calcio bifásico fosfato (mezcla de hidroxiapatita y fosfato beta-tricálcico), biovidrio, alúmina y óxido de circonio.

Los biomateriales de fosforo de calcio a menudo se seleccionan para el injerto óseo, ya que imitan la composición del tejido óseo. Uno de los primeros biomateriales cerámicos utilizados para la reparación esquelética fue el fosfato beta tricálcico en 1920 por Albee y Morrison (Dolcimascolo et al., 2019).

Los biomateriales como el biovidrio, la hidroxiapatita, el fosfato de calcio, el silicato de calcio, las vitrocerámicas han sido objeto de estudio para aplicaciones en biomedicina. Una característica importante de un material bioactivo es que se forma una capa de hidroxiapatita carbonatada similar al hueso en su superficie cuando se implanta en el cuerpo y se une al hueso vivo a través de esa capa de apatita. Además de los biomateriales anteriores, también se ha demostrado que el amorfo y el nanosílice son biocompatibles y biodegradables en los tejidos vivos. Se ha propuesto que algunas cerámicas que contienen sílice son más bioactivas

y degradables que el biomaterial de fosfato de calcio. Las cerámicas de sílice bioactivas generalmente se preparan utilizando precursores de alcoxilano como ortosilicatos de alto costo. Se estudiaron la síntesis de sílice amorfa bioactiva y vitrocerámicas del carbonizado de cascarilla de arroz e investigaron su comportamiento mecánico y bioactividad.

La vitrocerámica basada en óxido de silicio-óxido de sodio-óxido de calcio se sintetizó a través del proceso sol-gel utilizando el carbonizado de la cascarilla de arroz como precursor de sílice. Las mejores propiedades mecánicas fueron descubiertas en las vitrocerámicas desarrolladas por tratamiento térmico a 1000°C. Del mismo modo, la biodegradabilidad de la muestra sinterizada a 900 °C, fue mejor. Con el aumento de la temperatura de sinterización, tanto la bioactividad como la biodegradabilidad de la vitrocerámica disminuyeron debido a la transformación del vidrio en fases cristalinas.

Por lo tanto, una temperatura óptima de tratado térmico para trabajar con el biomaterial debe estar en un rango de 950 °C y 1000°C en términos de resistencia y bioactividad. Se podría concluir que el carbonizado de cascarilla de arroz puede ser una materia prima de bajo costo para la síntesis sol-gel de materiales bio-vidrio-cerámicos como se observa en el **Anexo 4** (Shen et al., 2014).

### **2.1.3 Materiales silícicos porosos derivados de desechos agroindustriales**

El dominio de la síntesis de materiales silíceos constituye hoy una de las principales áreas de investigación y desarrollo de los principales centros científicos del mundo. Esto se debe a la gran versatilidad que estos materiales exhiben de acuerdo con sus características fisicoquímicas: distribución porosa, volumen de poros, área superficial, entre muchas otras.

#### ***1. Fuentes de biomateriales silícicos a partir de desechos agroindustriales.***

Los materiales mesoporosos de silicato han recibido un gran interés debido a sus aplicaciones potenciales como soportes para catálisis, separación, adsorción selectiva, materiales funcionales novedosos y uso como estructuras para el

confinamiento de moléculas, debido a sus áreas superficiales extremadamente altas combinadas con tamaños de poro grandes y uniformes (Yu & Xiao, 2021).

Los materiales de silicato, con tamaños de poro bien definidos superan la restricción del tamaño de poro de las zeolitas microporosas; y también poseen áreas superficiales extremadamente altas y distribuciones estrechas de tamaño de poro. Para ello, en lugar de utilizar pequeñas moléculas orgánicas como compuestos de plantilla, se emplearon moléculas de tensioactivo de cadena larga como agente director de estructura durante la síntesis de estos materiales altamente ordenados.

Durante la síntesis de estos materiales, se pueden variar los parámetros químicos (p.e estequiometría, reacciones) para obtener estructuras, tamaños y composición de los poros controlados (Allothman, 2012).

Los materiales de silicato poseen áreas superficiales extremadamente altas y distribuciones de tamaño de poro estrechas. Al momento de producir estos materiales por lo general se utilizan agentes de dirección con el objetivo de guiar la formación de tipos particulares de poros y canales, sin embargo, en las nuevas síntesis desarrolladas en lugar de un agente de dirección, los ensamblajes de moléculas que componen el material son responsables de la formación de estos sistemas de poros.

Estas técnicas de direccionamiento supramolecular han permitido del desarrollo de materiales con propiedades porosas controladas en el momento de la síntesis por medio de variaciones de parámetros determinados como la estequiometría o las condiciones de las reacciones por ejemplo (Allothman, 2012).

Los descubrimientos al trabajar con materiales mesoporosos formados por compuestos inorgánicos y tensioactivos orgánicos han despertado el interés por parte de los investigadores para desarrollar biomateriales con estructuras y formas controladas para su aplicación en diversas características de biomateriales porosos como adsorción y polimerización controlada (J. Wu et al., 2019).

Tratar muestras de biomasa para calcinarla a altas temperaturas es considerada una de las tecnologías emergentes en la producción sostenible de combustible que podrían utilizarse para producir energía.

La pirólisis es un proceso de descomposición de la biomasa que ocurre a alta temperatura en ausencia de oxígeno. Los productos finales de la pirólisis se pueden obtener en estado líquido o gaseoso, así como también se encuentran en forma de residuos ricos en carbono.

El carbón de cáscara de arroz o la ceniza de cáscara de arroz es un producto típico de la pirólisis de cáscara de arroz. La eliminación de este material podría ser un problema debido a su voluminoso resultado de su menor densidad. En algunas áreas, una gran cantidad de cascarilla de arroz carbonizada se trata como desecho y se deposita en vertederos, lo que genera contaminación del aire y del agua. Las partículas en el aire se han relacionado con enfermedades respiratorias en humanos.

Debido a que este material está disponible en forma abundante, sostenible y casi gratuita, cada vez más investigadores se interesan en cómo utilizar este desecho industrial como recurso.

En las últimas décadas, la cascarilla de arroz carbonizada se ha utilizado ampliamente como material de construcción para producir hormigón, o como adsorbente para adsorber colorantes orgánicos, como el colorante índigo carmín, y metales inorgánicos como el plomo, el mercurio, iones metálicos. Debido a su alta composición de sílice, la cascarilla de arroz carbonizada puede ser considerada como una materia prima viable para la síntesis de silicatos y materiales de silicio.

Algunos investigadores han sintetizado zeolita ZSM-5 o MCM-48 a partir de cascarilla de arroz carbonizada, pero el tiempo prolongado (generalmente unos días) y la alta temperatura (generalmente a 150 °C) para sintetizar estos materiales han limitado este método. La sílice amorfa contenida en estas muestras

por lo general se extrae generalmente se extrae con hidróxidos solubles en agua, como hidróxido de sodio y carbonato de sodio (Shen et al., 2014).

El objetivo de usar KOH o NaOH es eliminar la sílice para aumentar la porosidad de la cascarilla de arroz. Hasta donde se sabe, el contenido de sílice amorfa en este material está en torno al 20%, y más aún en su versión carbonizada porque tiene un alto contenido de sílice y la estructura húmeda suelta de la cascarilla de arroz se destruye después de la pirólisis a alta temperatura. Si bien el SiO<sub>2</sub> se extrae, el contenido de carbono aumenta considerablemente en el residuo, lo que es más económico con el fin de obtener el mayor valor de los residuos agrícolas (Shen et al., 2014).

La cascarilla de arroz es un desecho agrícola proveniente de la separación del grano al momento de la cosecha. La cascarilla de arroz es de alta disponibilidad y de poco valor comercial. Este residuo agrícola es conocido por contener un alto contenido silícico en su composición. El contenido de sílice en la cascarilla de arroz es mayor que en otras plantas. Los componentes orgánicos de la cascarilla de arroz son celulosos (32-47 %), hemicelulosa (19-27 %), lignina (5-24 %) y ceniza (13-20 %). Los componentes de la ceniza dependen del tipo de arroz, las condiciones climáticas y geográficas donde se cultiva el arroz.

El porcentaje de composición de la presencia de sílice en la cascarilla de arroz es de 17 a 25 %. La composición de la cáscara de arroz depende de muchos factores, como la variedad de arroz, el tipo de fertilizante utilizado, la química del suelo e incluso la ubicación geográfica de la producción (Risfaheri et al., 2018). En el caso del carbonizado de cascarilla de arroz el contenido de sílice varía entre 83 y 98 %.

La presencia de una gran cantidad de sílice lo convierte en un material valioso para su uso en diversas aplicaciones (Korotkova et al., 2016). Hay varios factores que afectan las propiedades del carbonizado, como las condiciones de incineración (temperatura y duración), la velocidad de calentamiento y la técnica de combustión (Mohamed et al., 2015; Nita Babaso & Sharanagouda, 2017). Actualmente, este material es tratado en su mayoría como un desecho por lo que

se deposita en vertederos y podría ser causante de contaminación ambiental incluso de incendios. Además, las partículas que se originan del polvo producido al quemar las cáscaras de arroz pueden causar daños para la salud humana.

Aparte de la cascarilla de arroz, la mazorca de maíz y el bagazo son desechos agrícolas que pueden ser utilizados como fuente de sílice como se observa en el **Anexo 5** que han sido investigados y transformados en productos más valiosos.

Las mazorcas de maíz son otro tipo de desecho agroindustrial proveniente de las cosechas de esta planta. En su composición este material posee más de 60% de sílice y en menor cantidad metales. El carbonizado de mazorca de maíz obtenida en forma de un polvo fino después de la combustión para que no requiera mayor molienda, y la ceniza de mazorca de maíz es la fuente más económica de sílice (Velmurugan et al., 2015) campo de investigación actual. Las mazorcas de maíz son un desecho agrícola obtenido del maíz y se pueden utilizar como materia prima económica en la producción de sílice (Okoronkwo et al., 2016).

El bagazo es otro de los desechos agrícolas que contienen sílice, a su estructura vegetal. El método utilizado para su obtención es la disolución por NaOH alcalino y la precipitación por ácido sulfúrico. Al ser analizado este material se ha podido constatar que contiene altos niveles de sílice, así como también impurezas como potasio y calcio (Permatasari et al., 2016; Vaibhav et al., 2015).

En el **Anexo 6**, se observa un esquema la composición silícica de la cascarilla de arroz, las mazorcas del maíz y el bagazo.

#### ii. Métodos de obtención de biomateriales silícicos a partir de desechos agroindustriales.

Uno de los componentes más abundantes en la corteza de la tierra y usado para aplicaciones tecnológicas es la sílice y es obtenida mediante síntesis química. La sílice generalmente se encuentra comercialmente en compuestos de alcoxisilano (es decir, como ortosilicato de tetraetilo (TEOS), silicato de sodio y ortosilicato de tetrametilo) cuyo coste de procesamiento es elevado (He et al., 2014). Por ello, es

inevitable el desarrollo de nuevos enfoques para encontrar la fuente de sílice que sea más segura, más barata y más respetuosa con el medio ambiente (Permatasari et al., 2016).

La sílice de origen natural, principalmente la que es obtenida de desechos agrícolas, se puede usar como precursor alternativo a los que se obtienen de forma comercial (Athinarayanan et al., 2015). Para la obtención de la sílice de los desechos agrícolas se emplea una combinación de procesos químicos y térmicos. Existen tres métodos principales para obtener sílice de desechos agrícolas: tratamiento químico, térmico y microbiano (Nandiyanto et al., 2016).

La cascarilla de arroz es un residuo agrícola abundante en los países productores de arroz. Se estima que en 2009 la producción mundial de arroz fue de 678 millones de toneladas (Alyosef et al., 2013), a su vez generó 140 millones de cascarilla de arroz aproximadamente (Gu et al., 2015).

Se tiene conocimiento del contenido de sílice en la cascarilla de arroz desde 1938. Debido a su alto contenido de silicio, el carbonizado de cáscara de arroz se ha convertido en una fuente para la preparación de sílice (Hossain et al., 2018). Este material es ampliamente utilizado en muchas de las industrias como la electrónica, cerámica, industria de pinturas, materiales poliméricos, industria de neumáticos, cosméticos, agente de refuerzo en caucho, agente espesante en pinturas, aislantes térmicos, rellenos compuestos entre otros (Nita Babaso & Sharanagouda, 2017).

La mayor parte de la cáscara de arroz se trata solo como desecho y se desecha en vertederos, mientras que estos desechos pueden provocar incendios y contaminación ambiental. Además, las partículas que se originan del polvo producido por la quema de cáscaras de arroz pueden causar enfermedades respiratorias si son inhaladas por humanos (Vaibhav et al., 2015).

La cáscara de arroz es un material que contiene un alto porcentaje de sílice por naturaleza, lo que le convierte en un precursor prometedor para la producción de



nanosílices amorfas (Shen, 2017). Las propiedades físicas y químicas únicas de la cáscara de arroz, como el alto contenido de cenizas, el contenido de sílice, se pueden usar de manera efectiva en el procesamiento doméstico e industrial; entre las aplicaciones que se han investigado de la cascarilla de arroz se encuentran su uso como combustible para diferentes propósitos, como sustrato o medio para jardinería, incluidos ciertos hidrocultivos, como materia prima para la producción de silicato de sodio donde es utilizada como precursor silíceo y como agente de limpieza o pulido en la industria metalúrgica y mecánica (Nita Babaso & Sharanagouda, 2017).

Debido al alto contenido de sílice de la cascara de arroz, este desecho agrícola se convierte en una fuente de una serie de compuestos de silicio, nitruro de silicio, tetracloruro de silicio, incluido el carburo de silicio, sílice, zeolita, silicio puro y también, de materiales avanzados de silanos (Patil et al., 2014).

La obtención de sílice de la cascarilla de arroz inicia en una etapa de eliminación de impurezas, luego se solubiliza la sílice con una solución de NaOH de manera que se obtiene silicato de sodio. Luego en la siguiente etapa se trata la cascarilla con alguna solución ácida para la deposición de sílice en solución de silicato de sodio. Las impurezas y demás compuestos orgánicos presentes en la cascarilla u otros desechos se pueden disolver mediante tratamiento con reactivos ácidos (Vaibhav et al., 2015).

La lixiviación ácida es otro método para eliminar las impurezas y mejorar la pureza de la sílice presente en los desechos. Los productos obtenidos se secan a 800 °C durante 12 horas. Como resultados de estas pruebas se obtuvo sílice de la cascarilla en un 91% aproximadamente. Sin embargo, esta sílice obtenida contiene menos de 5% de impurezas en su composición lo que significa que requiere de un lavado para reducir la concentración de estas impurezas (Sapawe et al., 2018).

Otro método sugerido, es la combinación de la fermentación microbiana y el tratamiento térmico; la cáscara de arroz se somete a fermentación microbiana utilizando especies de hongos de pudrición blanca (*Cyathus*).

La fermentación de la cascarilla de arroz fue realizada en dos meses con condiciones estándar de sustrato y temperatura. Se ha informado que después del proceso de cosecha, la cáscara que ha sido fermentada y secada a una temperatura de 800 °C y luego, se filtra a través de un tamiz con un tamaño diferente para separar las partículas pequeñas. Este filtrado se quema a temperaturas altas y se obtiene como resultado la eliminación de materia orgánica y el aumento de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) (Ross et al., 2017).

Otra forma de la producción de partículas de nanosílice a partir de desechos de cáscara de arroz a través de un método de tratamiento microbiano utilizando gusanos rojos de California. En este estudio, lombrices fueron alimentadas con cascarilla de arroz durante 152 días. El humus que excretaban las lombrices era neutralizado con carbonato de calcio y calcinado a diferentes temperaturas temperaturas de 500 a 700 grados específicamente y luego digerido con una solución de ácido clorhídrico y ácido nítrico con una relación 1:3. Las partículas de sílice obtenidas medían entre 55 a 250 nm, dependiendo de la temperatura de calcinación (Esteves et al., 2009).

La biocarbonización de la cáscara de arroz permite obtener una ceniza que contiene más de un 60 % de sílice, entre un 10 % y un 40 % de carbono y otra composición mineral menor, que es el subproducto durante el proceso de gasificación/pirólisis de la cáscara de arroz (Akhter et al., 2021). La reacción entre el  $\text{SiO}_2$  de la ceniza de cascarilla de arroz y el NaOH se puede observar en el **Anexo 7**.

Diversas investigaciones se han centrado en cómo utilizar este desecho industrial, porque la ceniza de cáscara de arroz está disponible en abundancia, de forma sostenible y es literalmente, casi gratuita. En los últimos años, la ceniza de cáscara de arroz se ha utilizado ampliamente como material de construcción para producir

hormigón y también, como adsorbente para adsorber colorantes orgánicos, iones de metales inorgánicos y gases residuales (Amran et al., 2021). Debido a su alto contenido de sílice, este carbonizado de arroz puede ser una materia prima con viabilidad económica para la producción de silicatos y materiales compuestos de sílice como se puede observar en el **Anexo 8**.

El carbonizado de cascarilla de arroz juega un papel importante en diversas aplicaciones industriales, como el procesamiento de la industria refractaria, cerámica, cemento, rellenos de compuestos de caucho y plástico, cemento, adsorbente y soporte de catalizadores heterogéneos (Turmanova et al., 2012). El carbonizado de cáscara de arroz utilizada en esmaltes cerámicos también se utiliza para la síntesis de pigmentos cerámicos y materiales cerámicos porosos de SiO<sub>2</sub> (Serra et al., 2016).

El carbonizado de cascarilla de arroz se usa de manera eficiente y eficaz en la síntesis de nanopartículas de sílice de manera ecológica. La nanosílice se sintetiza a partir de una solución de silicato de sodio mediante el método de precipitación (Nita Babaso & Sharanagouda, 2017). La reacción se puede observar en el **Anexo 9**.

El biocarbón y la biosílice a partir de biomasa con alto contenido de silicio biogénico (p.e cascarilla de arroz, mazorca del maíz) pueden ser utilizados para fabricar materiales porosos de carbono y silicio de alto valor agregado como se observa en el **Anexo 10**.

Estos materiales pueden ser nanopartículas de sílice o sílice mesoporosa, al caracterizar estos materiales se ha determinado que por su composición química pueden llegar a tener aplicaciones en áreas diversas desde el campo biomédico hasta el electrónico.

Significativamente, el carbonizado de arroz, se puede convertir en un nano compuesto homogéneo de carbono y sílice como se muestra en el **Anexo 11** que se utiliza directamente para la síntesis de materiales mesoporosos altamente

ordenados. Además, estos materiales podrían utilizarse ampliamente como adsorbentes y catalizadores para el tratamiento de otros contaminantes ambientales. Por lo tanto, tiene un significado en diversos trabajos de investigación que busca la utilización de biomasa residual para cumplir con las reglas de las tres erres de reducción, reutilización y reciclaje (Shen et al., 2014).

## **2.2 Generación de biomateriales tridimensionales silicicos mesoporosos**

### **2.2.1 Desarrollo de andamios silicicos porosos, como estrategia de ciencias de materiales en bioingeniería.**

Los andamios pueden ser porosos, permeables o fibrosos y son diseñados con el objetivo de permitir la interacción celular, la viabilidad y la degradación controlada a la vez que sirven como matriz extracelular (H. Zhang et al., 2014).

Gracias a los conocimientos obtenidos durante las últimas tres décadas de investigación científica en andamios, podemos estudiar los diversos tipos de materiales, las propiedades de andamiaje que son necesarios para una adecuada regeneración tisular, la biocompatibilidad con los diferentes tipos de tejidos y las propiedades mecánicas adecuadas, los materiales que se pueden utilizar para fabricar el andamio, y los métodos de caracterización de andamios (Shimojo et al., 2020).

Actualmente, los biomateriales más utilizados son los materiales de andamios compuestos (Turnbull et al., 2018). Estos se benefician de la buena biocompatibilidad de los andamios biológicos naturales y las fuertes propiedades mecánicas de los andamios de polímeros biodegradables sintéticos (Qiu et al., 2019).

Los andamios tridimensionales (3D) se usan comúnmente para la administración de fármacos, la investigación del comportamiento celular y los estudios de materiales en el campo de la ingeniería de tejidos. Los andamios tridimensionales suelen ser materiales porosos, biocompatibles y biodegradables que sirven para

proporcionar microambientes adecuados (Hao et al., 2017). La porosidad y el tamaño de los poros de los andamios 3D tienen implicaciones directas en su funcionalidad durante las aplicaciones biomédicas. Las redes interconectadas que confirman la estructura interna de los biomateriales al ser porosas influyen en la proliferación y migración celular para la génesis de tejidos y vascularización de los mismos (Loh & Choong, 2013).

Gracias a los avances en nano medicina y nanotecnología, ahora se están desarrollando hidrogeles sintéticos para obtener andamios con características biológicas, bioquímicas y biofísicas definidas, con el objetivo de proporcionar alternativas efectivas a una matrigel y una serie de nuevos productos que podrían ser utilizados en aplicaciones clínicas (Mandal et al., 2020). Entre ellos, los polímeros sintéticos más utilizados son: poli(etilenglicol) (PEG), poliláctido-co-glicólido (PLG), ácido poliláctico (PLLA), policaprolactona (PCL) (o una combinación de ellos) y también péptidos autoensamblables (Marchini et al., 2019).

Los andamios son diseñados con varias macros y micros arquitecturas de diferentes biomateriales. El diseño de un andamio incluye requisitos mecánicos (rigidez, módulo elástico, etc.), fisicoquímicos (química de la superficie, porosidad, biodegradación, etc.) y biológicos (adhesión celular, vascularización, biocompatibilidad, etc.), consideraciones relativas a la esterilización y factibilidad comercial (Eltom et al., 2019).

Así es como, para mejorar la bioactividad y la funcionalidad de los andamios 3D que actúan como estructuras o matrices sintéticas, la forma, el tamaño, la resistencia, la porosidad y la tasa de degradación se controlan fácilmente.

Los andamios deben diseñarse de forma que imite el entorno original del tejido en términos de estructura, función y mecánica para poder reparar tejidos dañados. (Laranjeira et al., 2017). El andamio tridimensional debe tener una buena estructura capaz de mantener las cargas y posibles fuerzas externas producidas por la formación de tejido en él sin perder las características mecánicas iniciales.

Diversos estudios, han demostrado que las características mecánicas específicas del tejido, en particular, la rigidez, podrían controlar la diferenciación de las células mesenquimales (Wan et al., 2019).

Por otro lado, se ha observado que el diseño de andamios como esponjas, mallas y espumas, es capaz de controlar la biodegradación del material, el cual es un factor clave en la ingeniería de tejidos (Sheikh et al., 2015). La biodegradación se da a través de procesos químicos, físicos o combinados que a la vez repercuten en la biocompatibilidad del andamio tridimensional (Nikolova & Chavali, 2019). La tasa de degradación de los biomateriales puede ser superficial o masiva y debe coincidir con el crecimiento del tejido evitando la liberación de subproductos tóxicos (Davison et al., 2014).

La elección de biomateriales derivados de sílice, como material de andamio, puede ser beneficiosa debido a su bioinercia, biocompatibilidad y capacidad de integración de factores solubles (Shadjou & Hasanzadeh, 2015a). Actualmente, se han desarrollado andamios híbridos nanofibrosos innovadores de policaprolactona cubiertos con sílice mesoporosa.

Este nanocompuesto tiene dos ventajas: la cubierta de sílice servía como una interfaz biológicamente activa y la estructura fibrosa a nanoescala en 3D que actúa como una matriz estimulante de células. Juntos mejoraron la regeneración ósea. Al recubrir las nanofibras, la humectabilidad de la superficie y las reacciones iónicas mejoraron significativamente, lo que dio como resultado la formación sustancial de mineral similar al hueso en un medio simulado por el cuerpo. Como resultado estas nanofibras híbridas presentaron buenas características mecánicas.

Las excelentes propiedades nanomecánicas de la superficie del nanomaterial favorecieron la reparación del tejido duro donde las células madre mesenquimales de rata tenían una mejor unión, crecimiento y proliferación (Ghosh & Webster, 2021).

Los materiales mesoporosos son altamente investigados en el área de biomedicina, por su tamaño, poros y superficie lo que los convierte en buenos candidatos para el crecimiento y la proliferación de células (Eivazzadeh-Keihan et al., 2020). Destacan, los materiales mesoporosos, a base de sílice, que han sido ampliamente utilizados aplicaciones médicas, como los cerámicos en la regeneración ósea. Estos andamios exhiben áreas superficiales y volúmenes de poros altos, con distribuciones de poro estrechas y fácil capacidad de funcionalización. Los biomateriales pueden cumplir su función de ser matrices para células gracias a las propiedades descritas (Morris et al., 2017).

Los silicatos mesoporosos son materiales bioactivos candidatos prometedores que se han investigado para la reparación tisular, ya que la presencia de poros puede servir como sitios de nucleación para la mineralización, como depósitos localizados de nutrientes y factores de crecimiento y la promoción de la infiltración celular (Shadjou & Hasanzadeh, 2015a).

Los materiales mesoporosos silícicos son óxidos de metales, como sílice, que tienen tamaños de poro de 2 a 50 nm. Se sintetizan mediante el uso de un tensioactivo que forman conjuntos alineados regularmente que se utilizan como plantilla para el óxido metálico, seguido de la eliminación de la plantilla. De igual manera, son hidrosolubles, biocompatibles y de buena estabilidad mecánica.

La síntesis de material mesoporoso silícico es un tema importante en el área de la ciencia farmacéutica moderna. La síntesis y las aplicaciones de materiales mesoporosos preparados utilizando plantillas de surfactantes han atraído gran atención desde el descubrimiento de la familia de tamices moleculares mesoporosos.

Los materiales mesoporosos de sílice se sintetizan utilizando moléculas anfifílicas como plantilla para su estructura interna. Variando las condiciones de las síntesis pudimos obtener dos tipos diferentes de estructuras internas: estructura hexagonal bidimensional también conocida como MCM-41, estructura cúbica tridimensional conocida como MCM-48. Las principales características de los

materiales MCM-41 son su alta estabilidad térmica, gran área superficial y estrecha distribución de poros. Se han propuesto y utilizado con éxito diferentes estrategias de síntesis.

Sin embargo, todos estos procedimientos tienen en común además de la presencia obvia de una fuente de sílice, un agente de plantilla. Una plantilla es un agente director de la estructura, que suele ser una molécula o un ion relativamente simple, alrededor del cual se construye un marco.

Las plantillas utilizadas para la obtención de MCM 41 son los iones de amonio con un grupo hexadecilo. La forma de micelas energéticamente más favorable es la esférica, porque en esta geometría la energía superficial se minimiza de manera más eficiente. Cuando se obtiene una estructura hexagonal bidimensional, pero en lugar de un tensioactivo catiónico usamos copolímeros tribloc ese material también se denomina SBA-15 (Verma et al., 2020).

Los materiales silícicos porosos pueden proporcionar a nuestra sociedad varias ventajas en el área médica, tales como liberación de fármacos controlada, el desarrollo de implantes para regeneración de tejido óseo, cicatrización de heridas entre otras (Al-Harbi et al., 2021).

También, en el área ambiental se utilizan para la remoción de componentes que se encuentran en aguas residuales y eliminación de compuestos volátiles en el aire (Jing et al., 2020; Thevenet et al., 2014). Estos materiales son de gran interés en el área de liberación de fármacos porque podrían ser utilizados para la encapsulación proteica en su estructura porosa (Ma, 2014).

Las características de estos silicatos mesoporosos tienen que ser óptimas para promover la protección de las enzimas, pero al mismo tiempo, deben permitir un cierto movimiento y la difusión del sustrato a través de sus porosidades y por ello, se requiere de un tamaño de óptimo de poro (Thommes et al., 2002).

Los materiales mesoporosos silíceos tienen excelentes propiedades fisicoquímicas de superficie, alta bioactividad y porosidad, se utilizan en ingeniería



de tejidos, especialmente, en la diferenciación ósea y la formación de tejido óseo (Yi Zhang et al., 2014). En los materiales mesoporosos derivados de silicio, los grupos silanol en la superficie pueden reaccionar con los fluidos corporales para generar apatita carbonatada nanométrica activa, desarrollando una capa superficial de fosforo de calcio dándole la capacidad de unirse al hueso natural.

La estructura del mesoporo puede afectar la bioactividad y la cinética de la generación de la capa de apatita se puede regular y mejorar agregando vidrios y otros ingredientes bioactivos. Esta capa bioactiva facilita la generación de hueso y asegura la integración del hueso implantado; mientras tanto, la sílice liberada promueve la mineralización de los osteoblastos (Zhai et al., 2017).

Estudios con nanofibras nanocompuestas biomiméticas compuestas de nanopartículas de sílice mesoporosas/quitosano preparadas mediante electrohilado, obteniendo un andamio nanofibroso híbrido multifuncional para la ingeniería de tejido óseo (Lei et al., 2020).

El diseño del andamio juega un papel importante en la remodelación de tejidos (Cheng et al., 2019). En ingeniería de tejido ósea se han investigado aplicaciones de andamios tridimensionales basados en material poroso para diversas aplicaciones. Por ejemplo, un andamio 3D bioinspirado de fibras de sílice mesoporosas y gelatina para la ingeniería de tejido óseo.

La malla de nanofibras de sílice y el gel de gelatina imitan la red de colágeno y el gel de glicosaminoglicanos de la matriz extracelular nativa. Los andamios tridimensionales obtenidos como resultado de esta investigación presentan un microentorno apropiado para la bioactividad celular (W. Zhang et al., 2021). Se descubrió que la bioactividad de la fibra de sílice mesoporosa junto con la película de gelatina 2D promueve la viabilidad de las células similares a los osteoblastos humanos y la actividad de la fosfatasa alcalina. La expresión génica de colágeno I, fosfatasa alcalina, osteocalcina, osteopontina y sialoproteína ósea indicaron una buena proliferación, maduración e infiltración de osteoblastos. Este novedoso

andamio 3D de sílice-gelatina posee características prometedoras para mejorar la regeneración del tejido óseo (Shadjou & Hasanzadeh, 2015a).

El gran desafío al que se enfrenta ahora la comunidad de materiales mesoporosos es trasladar los estudios de laboratorio a aplicaciones industriales además del diseño, la síntesis y la modificación de los mismos (Alothman, 2012; Pagar et al., 2018).

Los implantes biocompatibles permiten que el cuerpo humano restablezca las funciones biológicas y mecánicas; logrando así aumentar la calidad de vida. Según la aplicación en biomedicina el andamio tridimensional desarrollado debe tener las características biomecánicas necesarias para funcionar como soporte y matriz de manera que permita la bioactividad celular.

La capacidad de soporte está delimitada por las propiedades volumétricas del implante y su superficie regirá la interacción con el tejido (Solano-Umaña & Vega-Baudrit, 2015). Aunque las aplicaciones potenciales de dichos materiales han sido ampliamente estudiadas en muchas áreas, aún se necesitan más esfuerzos para continuar el estudio de sus aplicaciones prácticas para comercializar materiales mesoporosos en el futuro (Pagar et al., 2018).

### **2.2.2 Síntesis de materiales silícicos mediante el proceso sol - gel**

En biociencias, el sol-gel es un proceso para obtener biomateriales de estructura sólida a partir de pequeñas moléculas predecesoras. De acuerdo con la definición convencional de Brinker y Scherer, el proceso sol-gel se define como una ruta coloidal utilizada para sintetizar cerámicos con una fase intermedia, incluyendo un estado solo gel (Tamar & Sasson, 2013). En este proceso químico, existe una transición donde el sol (también conocido como solución) cambia para formar un sistema de dos fases lo que significa que posee una fase sólida y una líquida. (Owens et al., 2016). Esto se puede lograr de distintas formas. Los términos que se destacan son:

*i. Sol:* suspensión estable de partículas sólidas en un líquido. Para que se dé un sol se deben contrarrestar las fuerzas de gravedad sobre las partículas. El término coloidal hace referencia a partículas sólidas incapaces de atravesar una membrana; de entre 2 y 100 nm. Para obtener un sol se utiliza agua o mezclas con agua por ejemplo alcohol.

*ii. Gel:* Red 3D con poros interconectados que son limitados por el medio. De contener el gel partículas coloidales, se considera un gel coloidal, y si está compuesto por unidades químicas subcoloidales, es un gel polimérico. Por naturaleza el gel necesita de una red sólida y un medio por lo general líquido. Dependiendo de este líquido puede ser acuagel si es un medio de agua, alcolgel si el medio es de alcohol y si el medio ha sido eliminado por completo y dependiendo del proceso de secado utilizado puede ser xerogel o aerogel.

*iii. Gelación:* Durante este proceso se forman redes poliméricas por lo tanto el gel obtiene una estructura más rígida o el nivel de viscosidad aumenta. El sistema al pasar de líquido a sólido se considera que ha gelado.

La fracción volumétrica de las partículas en el caso de los coloides podría llegar a ser lo suficientemente pequeña que se debe de retirar una gran cantidad de fluido para mantener las propiedades del gel. Un proceso que puede simplificar este paso es separar las fases por centrifugación o esperar la sedimentación de los líquidos.

Para la obtención de silicio y titanio este método es muy utilizado. El proceso involucra a una solución (sol) como precursora para la formación de una red de partículas o polímeros. Los precursores típicos son alcóxidos (Danks et al., 2016). Mediante el proceso sol-gel se da un cambio en un sistema de un sol (fase líquida) hasta un gel (fase sólida) mediante hidrólisis y condensación de precursores, por lo general, metálicos.

El proceso de sol-gel se inicia al formarse una suspensión coloidal (sol) mediante la reacción de precursores específicos. El sol luego forma una red continua por

hidrólisis y condensación en la fase líquida llamada gel (Klein et al., 2018). Una vez que se forma el gel, se puede secar más, estabilizar químicamente o densificar a temperaturas más altas según la aplicación. El proceso sol-gel podría ser el más apropiada con el fin de emular el procesamiento biológico debido a que funciona en condiciones ambientales, además de permitir la creación de una etapa mineral proveniente de la solución inicial y la adición de un componente secundario (Sarker et al., 2013).

Para eliminar el solvente del material se requiere de un proceso de secado; el cual va de la mano de procesos de densificación y contracción (Wright & Sommerdijk, 2018). La porosidad del gel determinará el flujo de eliminación del solvente. De ocurrir un cambio en la planilla estructural en el material influirá en la estructura microscópica del material final.

Para mejorar las características mecánicas, estabilidad en la estructura y se forme mayor policondensación se necesita un tratamiento térmico. De esta forma, aumenta el tamaño del poro del material. Una de las ventajas del uso de este método, a diferencia de otros más tradicionales, es que la densificación normalmente es alcanzada a temperaturas mucho más bajas (Pilliar, 2015).

Este conjunto de características convierte al método sol-gel en un proceso de gran interés en la ciencia y tecnología. Se ha utilizado este procedimiento para sintetizar una serie de sistemas de interés, entre ellos diversos derivados silícicos (Kajihara, 2018).

En el caso, de las nanosílice esférica obtenidas a partir de cáscaras de arroz pueden sintetizarse mediante el método sol-gel, sin el uso de plantillas, a través del proceso de calcinación (Kim et al., 2021).

El proceso sol-gel puede ser utilizado para el procesamiento y fabricación de materiales a base de sílice, como los xerogeles de sílice, por la capacidad de control que ofrece lo que permite adaptar y modificar la sílice coloidal. Los silanos, generalmente, son los precursores más utilizados para las redes basadas en sílice

tanto en la ciencia sol-gel. Los silanos son compuestos de silicio con cuatro sustituyentes que incluyen un grupo orgánico como organosilano mientras que un siloxano es un grupo funcional de silanos u organosilanos con enlace Si-O-Si (Somasundaram, 2018).

Debido a que el método sol-gel se puede realizar a baja temperatura, sea repetible y controlable se considera de gran interés para la preparación de materiales. Esta tecnología es considerada única por el control de las propiedades físico-químicas al momento de obtener material lo que deriva en productos de tamaño y morfología deseados. (Zorkipli et al., 2016).

Además, esta técnica abre la posibilidad de ajustar la composición química fundamental y la estructura de los materiales de sílice sintetizados; se diferencia de otros métodos que requieren alta temperatura para desarrollar material puro porque la tecnología sol-gel permite obtener el mismo material cerámico de calidad, a baja temperatura (Vinogradov & Vinogradov, 2014).

El gel de sílice se forma ya sea por el crecimiento de partículas discretas o por la formación de una red tridimensional, que está controlada por los precursores, el pH, el tiempo de procesamiento y las proporciones molares entre los agentes reaccionantes, y estos parámetros influyen en el producto final formado durante la reacción sol-gel.

En general, los precursores que forman cargas superficiales inorgánicas reactivas que no provocan coagulación ni precipitación, deben utilizarse como material de partida en el proceso sol-gel (Nair et al., 2021). Las fases del proceso sol-gel son:

*i. Fase de condensación:*

La condensación sigue un patrón similar, siendo catalizada por o base y resulta en la formación de enlaces siloxano (o enlaces metaloxano para otros metales). La realización de la etapa de condensación depende del proceso de hidrólisis. Esto se observa en condiciones básicas, donde los pasos de hidrólisis se hacen progresivamente más rápidos. Múltiples pasos de condensación dan como

resultado pequeños aglomerados altamente ramificados en el "sol" que eventualmente se entrecruzan para formar un gel coloidal. La condensación comienza antes de que el proceso de hidrólisis termine en condiciones ácidas. La condensación a menudo ocurre en los silanoles terminales, lo que da como resultado estructuras en forma de cadena en el sol y geles en forma de red (Danks et al., 2016).

*ii. Fase de gelación:*

Es la fase donde ocurre el cambio de un estado líquido a un estado de gel. La gelificación del sistema está definida por la divergencia de propiedades como la viscosidad. En este punto, los monómeros y otras especies moleculares constituyen el sol precursor siendo los monómeros los más abundantes al inicio del proceso. Las moléculas de mayor tamaño y peso molecular se crean a partir de las más pequeñas durante las reacciones ocurridas en la condensación. La distribución de estas moléculas irá cambiando mientras se da la transición de sol a gel. Las especies moleculares más grandes alcanzarán un máximo y luego disminuirán en concentración tan pronto como comiencen a formarse grupos más grandes (Goujon et al., 2017).

Después de la etapa de gelación, el líquido que sobra sigue siendo un sol lo que significa que las reacciones continuarán aun cuando el sistema haya gelado. El evento no se puede medir de forma termodinámica, pero se entiende que uno de los grupos que crece en el sistema se expande de una pared a otra. Las partículas de sol forman una red interconectada entre las paredes del recipiente cuando el sistema haya gelado correctamente. El espacio no ocupado por las redes es ocupado por líquido (Innocenzi, 2020).

*iii. Fase de secado:*

Es la fase final para obtener el material deseado. Esta etapa tiene como objetivo secar cuerpos húmedos porosos derivados de sol-gel sin inducir grietas en los

mismos. El gel húmedo preferiblemente se sumerge en un solvente líquido antes de colocarlo dentro de una cámara de secado capaz de soportar presiones y temperaturas relativamente altas.

Después de cargar el gel húmedo, la cámara se sella del entorno exterior y luego se calienta desde el exterior de la cámara de manera controlada hasta que se alcanza una presión subcrítica prescrita. La temperatura y la presión finales son siempre más bajas que la temperatura y la presión críticas del disolvente de secado.

A continuación, el vapor de disolvente se evacua de la cámara de forma controlada para disminuir la presión hasta que se alcance la presión ambiental, manteniendo preferiblemente la temperatura dentro de la cámara en el nivel prescrito. El interior de la cámara se purga con un gas inerte durante un período de tiempo prescrito, después del cual la cámara se enfría a temperatura ambiente y se elimina el gel poroso seco y sin grietas. Los geles secos resultantes no deben tener grietas y deben ser monolíticos (Jastrzębska et al., 2016).

Los materiales sol-gel funcionales también pueden sintetizarse a través de la policondensación hidrolítica, a temperatura ambiente, de precursores líquidos como los alcóxidos de silicio, en condiciones controladas. La síntesis se realiza generalmente en un solvente orgánico, mediante reacciones simultáneas o secuenciales de hidrólisis y policondensación, liberando agua y/o alcohol (Ciriminna et al., 2013).

### **2.2.3 Desarrollo de hidrogeles de composición silícica**

Entre los andamios tridimensionales destacan los hidrogeles los cuales son redes tridimensionales compuestas de polímeros hidrófilos entrecruzados mediante enlaces covalentes o unidos mediante atracciones físicas intramoleculares e intermoleculares (El-Sherbiny & Yacoub, 2013). Los hidrogeles son una forma de material poroso tridimensional, que consisten en cadenas de polímeros con entrecruzamiento físico o químico. Los hidrogeles se han estudiado ampliamente

como un material alternativo para aplicaciones de biomedicina. Al seleccionar cuidadosamente los monómeros y los reticulantes, se pueden desarrollar las capacidades deseadas de los hidrogeles, como la hidrofiliidad y la porosidad (S. Li et al., 2018)

Los hidrogeles son redes tridimensionales hidrofílicas que pueden absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos y, por lo tanto, tienen el potencial de usarse como candidatos principales como: vectores de administración de fármacos y portadores o matrices para células en ingeniería de tejidos (Ahadian et al., 2015). Los hidrogeles, según su composición química, responden a diversos estímulos, incluidos el calor, el pH, la luz y los productos químicos (Chai et al., 2017). En estado hinchado, los hidrogeles son blandos y gomosos, pareciéndose en gran medida a los tejidos vivos y su alto contenido de agua puede proporcionar un entorno ideal para la supervivencia celular y una estructura que imita los tejidos nativos (Mantha et al., 2019).

Las matrices derivadas de hidrogeles, han utilizado nanomateriales de sílice para mejorar las propiedades de la estructura y mejorar el cultivo de células. La incorporación de secuencias peptídicas de adhesión celular en las nanopartículas de sílice porosas puede aumentar la captura de factores de crecimiento y permitir propiedades de estimulación celular sostenidas con fines de ingeniería de tejidos lo cual ocurre debido a la formación de una red reticulada de péptido-célula dentro de los sustratos de hidrogel (Xu et al., 2014). En la matriz de los hidrogeles, los ligandos de unión aumentan las interacciones entre los nano componentes y los receptores superficiales de las células. Además, el uso de una matriz de hidrogel de compuesto de sílice para la ingeniería de tejidos es capaz de permitir el crecimiento de células óseas (Yue et al., 2020). En este sentido se han incorporado diversos péptidos formadores de hueso en las nanopartículas de sílice sobre un sustrato de hidrogel de alginato para mejorar la viabilidad celular y las propiedades de proliferación. En este estudio, las células óseas fueron sembradas en hidrogeles con nanopartículas de sílice cargadas con péptidos de



ácido úsnico, alginato, péptido formador de hueso-1 y alginato modificado, como cuatro sustratos diferentes, para estudios en modelos murinos. A continuación, las muestras se extrajeron a las 2 y 4 semanas después de la implantación y se compararon entre sí mediante varios ensayos (Eivazzadeh-Keihan et al., 2020).

#### **2.2.4 Desarrollo de xerogeles silícicos**

Los hidrogeles son de naturaleza hidrofílica, lo que significa que tienen afinidad agua, también son blandos, se hinchan (aumento de volumen) al contacto con el agua, y mantienen su forma para alcanzar un equilibrio físico-químico, cuando pierden todo su contenido líquido (xerogel) son cristalinos (Carrasco-Díaz et al., 2017).

Un xerogel se define como un gel con estructura rígida y es el resultado final obtenido de la etapa de secado ya sea por tratamiento térmico o por secado criogénico. Una vez terminado el secado se procede con el tratamiento térmico, de ser menor a 100°C se puede dar la posibilidad de la presencia de agua en los poros por lo que se considera un gel aún. Para que pueda ser identificado como un xerogel el líquido debe eliminarse en su totalidad, es decir que debemos tener un material seco y poroso sin ningún tipo de solvente dentro (Innocenzi, 2020)

Un xerogel es un material estructural poroso que se puede obtener mediante el secado por evaporación del gel húmedo de cualquier precursor. Aunque la porosidad y el área superficial de los xerogeles son inferiores a los de los aerogeles, se caracterizan por su fabricación fácil y poco expansiva, mejor estabilidad mecánica y mayor densidad en comparación con los aerogeles.

Un xerogel es un material sólido y poroso resultante del secado lento de hidrogeles con una contracción ilimitada según el tipo de precursor. Las propiedades mecánicas de los xerogeles varían según el tipo de materiales precursores. Las propiedades de los xerogeles biopoliméricos están muy influenciadas por dos factores principales: los materiales precursores y la interfase líquido-vapor, además del medio solvente, que afecta el proceso de secado. Por lo tanto,

cambiar estos factores conducirá a xerogeles con diferentes propiedades físicas y morfológicas (Abdul Khalil et al., 2022).

Estos materiales se han preparado a partir de varios precursores, incluidos sílice, carbonos, sintéticos y biopolímeros. Los xerogeles biopoliméricos poseen diferentes propiedades físicas, químicas, mecánicas y biológicas, dependiendo de varios factores, incluidos los materiales precursores, el medio solvente y las condiciones de secado. Estos factores también influyen en la contracción de los geles biopoliméricos, lo que conduce a un aumento de la densidad y una reducción de la porosidad (Abdul Khalil et al., 2022).

Para la caracterización de los estados de estos materiales: hidrogeles y xerogeles, se hace uso de varios métodos de microscopía avanzada como: la microscopía electrónica de barrido (SEM), la microscopía confocal de barrido láser (LSCM) y la microscopía de fuerza atómica (AFM) (Mayakova et al., 2013). Por lo general estos microscopios especializados trabajan en condiciones de vacío, considerando que estos materiales no son conductores es necesario que a las muestras se les realice un recubrimiento con algún elemento conductor (p.e oro) como se puede observar en el **Anexo 13**.

La microscopía electrónica de barrido revela la porosidad y la naturaleza de la estructura de los materiales lo cual es importante para la caracterización morfológica de estos; además, puede observar características como la porosidad y el efecto de la modificación sobre el tamaño del poro se mediante imágenes en este tipo de microscopía avanzada.

La muestra en este caso generalmente se prepara primero hinchando los hidrogeles, luego congelando en nitrógeno líquido y finalmente liofilizando y pulverizando con oro antes de la observación como se explicó antes para efectos de conductividad. El microscopio de fuerza atómica ayuda a evaluar los atributos topológicos de los materiales, y también revela la uniformidad de la rugosidad de la superficie de los andamios (Rahman et al., 2019).

### **2.3 Aplicaciones biomédicas materiales silícicos porosos**

Los materiales silícicos porosos se han utilizado para muchas aplicaciones, desde la biodetección y la administración dirigida de fármacos hasta los nanoadhesivos y la mejora de la solubilidad, imagenología, reparación de tejidos y cicatrización de heridas.

Además, las partículas de sílice a nanoescala tienen el potencial de inducir la diferenciación y mineralización de los osteoblastos y también de inhibir la diferenciación de los osteoclastos (Alshatwi et al., 2015). Sin embargo, los materiales cerámicos en aplicaciones en biomedicina representan un alto costo en su materia prima y proceso de manufactura, lo cual se presenta como un desafío por resolver en el área de ciencias tecnológicas.

Recientemente, se han desarrollado materiales de sílice con tamaños de poro ajustables que oscilan entre 2 y 20 nm con excelentes estructuras mesoporosas y permiten un mejor control de la cinética de carga en diversas aplicaciones en medicina (Lei et al., 2020).

En la entrega de fármacos dirigido y controlada se realizan diferentes funcionalizaciones y conjugaciones con los materiales porosos de sílice para proporcionar sistemas inteligentes de administración de fármacos (Bakhshian Nik et al., 2020).

La velocidad de liberación del fármaco se puede retardar modificando la funcionalización o la carga superficial; como también, depende del tamaño del poro y la capacidad de carga. Así es como, el direccionamiento de fármacos puede facilitarse mediante una adecuada funcionalización de la superficie, siendo la propiedad de tamaño de los poros muy importantes en el caso de moléculas más grandes (Peretti et al., 2018).

Actualmente, los materiales mesoporosos con geometrías regulares están generando mucha atención debido a su gran potencial en aplicaciones. Los materiales se clasifican en material poroso y su vez se clasifican según su

diámetro de poro. Los investigadores habían realizado un gran esfuerzo para sintetizar materiales mesoporosos como sílices, alúminas de transición y arcillas pilares (Pagar et al., 2018).

La fabricación de implantes porosos también es un elemento clave de la ingeniería de tejidos. Para dichos implantes óseos de ingeniería tisular, se han aplicado varios métodos de fabricación en las últimas décadas. Sin embargo, métodos como el secado por congelación, el electrohilado, la lixiviación con sal, la formación de espuma con gas o la deposición de fibras no son adecuados para fabricar andamios precisos con una macroporosidad diseñada y con tamaños de poro definidos (J. Li et al., 2016).

Además, cobran importancia propiedades relacionadas con el ajuste individual a enfermedades y/o pacientes (medicina personalizada). Para hacer coincidir las formas específicas de fracturas o lesiones del paciente, así como la macroporosidad del material, los poros interconectados y los tamaños de poro definidos, la fabricación aditiva, especialmente la impresión 3D, es un método ampliamente utilizado (Rößler et al., 2021).

En aplicaciones de mejora de la solubilidad los materiales mesoporosos silícicos han demostrado ser ventajosos para fármacos poco solubles al aumentar su solubilidad. Los materiales mesoporosos de sílice tienen un área de superficie específica alta, un volumen de poro alto y tamaños de poro apropiados en el rango molecular, estructuras de poro ordenadas y grupos silanol en sus superficies que pueden interactuar con una variedad de moléculas de fármacos (Moritz & Geszke-Moritz, 2015).

La solubilidad de los fármacos aumenta notablemente debido al confinamiento de los fármacos en los diminutos poros que tienen un tamaño de 3 a 50 nm. El atrapamiento del fármaco en estos materiales se realiza mediante el método de impregnación con disolvente. No solo aumenta la solubilidad del fármaco debido al atrapamiento, sino que también el fármaco puede protegerse de diferentes entornos destructivos. Debido a esta naturaleza ha demostrado ser un excelente

potenciador de la solubilidad y también de la biodisponibilidad. El mecanismo de mejora de la solubilidad de la sílice mesoporosa está claramente asociado con la conversión de una forma cristalina inestable a una forma amorfa estable (Pote et al., 2020; Song et al., 2019).

Otra aplicación de los materiales mesoporosos de sílice es la administración de genes en biomedicina (Y. Wang et al., 2019). Varios desarrollos han tenido lugar en este contexto utilizando diferentes funcionalizaciones, diferentes compuertas y diferentes mecanismos de activación. La entrega específica de destino de los genes a las células seleccionadas es el desafío más importante en la entrega dirigida de genes (Y. Wang et al., 2019).

En general, los vectores de administración de genes se pueden clasificar en dos categorías: vectores virales y vectores no virales; cada uno de ellos ha sido ampliamente informado para la entrega de genes. Aunque los sistemas de vectores virales y no virales están disponibles para la administración de genes, existen muchos problemas asociados con ellos, como biocompatibilidad, inmunogenicidad y otros, pero como la sílice mesoporosa es un portador biocompatible y biodegradable podrían ser adecuadas para la entrega de genes dirigidos (Ling et al., 2014).

Es importante tener en cuenta que la sílice mesoporosa tiene esas tres propiedades principales que se requieren para administrar el gen con éxito: si bien existen nucleasas en el torrente sanguíneo y en las matrices intracelulares pueden proteger al gen de la degradación, tienen la capacidad de pasar el gen a través de los complejos de membrana plasmática, endosoma y/o poro nuclear y no presenta toxicidad por naturaleza (Yixian Zhou et al., 2018).

Estos materiales, también tienen su aplicación en el área de la cicatrización de heridas y reparación de tejido (Zhu et al., 2021). La accesibilidad y la difusión de las proteínas promotoras de la coagulación hacia y desde las superficies interiores de los materiales mesoporosos silíceos pueden estar asociadas entre sí, ya que el tamaño de los poros se ve afectado directamente y los poros de la superficie se

eliminan debido a la diferencia de curvatura causada por el tamaño de las partículas (Suib, 2017). Por ejemplo, en estudios de modelos animales la hemostasia rápida de los materiales mesoporosos silíceos en la lesión de la arteria femoral de conejo atestiguó la característica de excelente eficacia hemostática. Así es como, estos materiales tienen un efecto hemostático y puede implementarse con éxito en la cicatrización de heridas; además, si se combina con otras nanopartículas de óxidos metálicos, potenciará su efecto y ampliará su aplicabilidad. Además, el efecto de nanopuente podría probarse como una formulación de puntos líquidos para el cierre rápido de heridas (Yu Zhang et al., 2019).

Por otro lado, a los materiales silíceos mesoporosos se les puede injertar/encapsular agentes osteogénicos que promuevan la formación de hueso nuevo *in vivo* para aumentar el proceso de regeneración ósea; además, la modificación con diferentes grupos (como grupos tiol o amino) pueden reclutar o unirse a proteínas específicas (como péptidos osteogénicos y factores de crecimiento) *in vivo* para acelerar la recuperación tisular (Yinghong Zhou et al., 2018). Por ejemplo, materiales mesoporosos se injertaron covalentemente con un péptido derivado de la proteína morfogenética ósea y se cargaron con dexametasona para construir sistemas de administración osteogénicos (Lei et al., 2020; Pote et al., 2020).

#### **2.4 Ingeniería tisular ósea, basada en la utilización de materiales silícicos porosos**

La ingeniería de tejido óseo busca la regeneración ósea a través de la integración sinérgica de andamios de biomateriales, células progenitoras óseas y factores formadores de hueso (Amini et al., 2012a; J. R. Pérez et al., 2018). Una aplicación de ingeniería de tejido óseo exitosa basada en terapia celular requeriría una combinación de abundantes progenitores mesenquimales, biofactores adecuados y biomateriales amigables (Yongtao Zhang et al., 2020).

Actualmente, se están desarrollando esfuerzos significativos en todo el mundo en los campos de la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa, pero la regeneración completa de tejidos u órganos sigue siendo un desafío primordial. Por lo tanto, estos campos científicos multidisciplinarios aplican una amplia variedad de metodologías, donde los equipos de investigación multidisciplinarios pueden brindar insumos adecuados para su desarrollo (Amado et al., 2017).

#### **2.4.1 Aplicación de células madre mesenquimales en terapia ósea**

El campo de la medicina regenerativa tiene un tremendo potencial para mejorar los resultados de diferentes tratamientos y ha sido mejorado por los avances realizados en bioingeniería en las últimas décadas. En el área médica diseñar tejido y estructuras que cumplan con la función de restauración de tejido ha causado un alto impacto porque se logra restaurar una función perdida de un sistema biológico. Las técnicas de combinación de materiales que aplican principios biomiméticos, células y moléculas bioactivas juegan un papel decisivo para promover la regeneración de tejidos dañados o como sistemas terapéuticos.

El rápido desarrollo de la biología molecular y las técnicas de trasplante ha beneficiado las aplicaciones con estas células en medicina regenerativa. Su disponibilidad en los diferentes tejidos es la base fundamental para sus extensas investigaciones y aplicaciones. Estas células madre se pueden obtener de muchos tipos de tejidos (p.e la médula ósea y el cordón umbilical humano). Las células mesenquimales (MSCs) existen en varios tejidos y órganos además de la médula ósea, con células de múltiples linajes de la sangre del cordón umbilical humano (Han et al., 2019). El trasplante de células madre puede ser autólogo, alogénico y singénico para la inducción de la regeneración tisular y la inmunólisis de células patógenas o malignas (Mahla, 2016).

En un intento por estandarizar la definición de MSC, la Sociedad Internacional de Terapia Celular propuso el concepto de criterios mínimos esenciales para las MSC

en cultivo. Los cuatro criterios mínimos que definen las MSC son: i) adherencia al plástico en condiciones estándar de cultivo de tejidos ii) expresión de CD105, CD73, CD90 iii) falta de expresión de CD45, CD34, CD14/CD11b, CD79/CD19 y superficie y iv) diferenciación en adipocitos, osteoblastos y condroblastos in vitro (STEMCELL Technologies, 2015).

El potencial de diferenciación multidireccional es una de las características más críticas de las células mesenquimales como se muestra en el **Anexo 14**. Además, las diferentes fuentes de tejido afectan la tendencia de diferenciación y la capacidad de proliferación (Ciria et al., 2017).

Las MSCs están respaldadas con un potencial de división celular indefinido, lo cual le permiten la habilidad de diferenciarse en otros tipos de células como: osteoblastos, condroblastos o adipocitos, por ejemplo, como se observa en el **Anexo 15**.

En la actualidad, han surgido como fuente principal de medicina regenerativa de primera línea, para la reparación de anomalías de tejidos y órganos que ocurren debido a defectos congénitos, enfermedades y efectos asociados con la edad. Las células madre mesenquimales sientan las bases para todos los tejidos y sistemas de órganos del cuerpo y median diversas funciones en la progresión de la enfermedad, el desarrollo y los procesos de reparación de tejidos en el huésped (Gnecchi et al., 2016).

Como una fuente crítica de células mesenquimales para la ingeniería de tejidos, las MSC derivadas de la médula ósea presentan capacidades superiores para la osteogénesis y la condrogénesis bajo protocolos de diferenciación estándar, y las derivadas del sinovio muestran un potencial condrogénico y de proliferación más significativo que las derivadas de tejido adiposo (Fellows et al., 2016).

Las mesenquimales derivadas de la sangre del cordón umbilical exhiben ventajas biológicas en relación con otras fuentes adultas, incluida su capacidad para tiempos de cultivo más prolongados, expansión a mayor escala, retraso más



significativo de la senescencia y mayores efectos antiinflamatorios. Los investigadores deben elegir el tipo deseado según el propósito específico (Han et al., 2019).

## **2.5 Terapia combinada de materiales silícicos y células madre en lesiones óseas.**

La medicina regenerativa, la rama más reciente y emergente de la ciencia médica, se ocupa de la restauración funcional de tejidos u órganos para el paciente que sufre lesiones graves o enfermedades crónicas. Gracias a los avances en investigación con células madre mesenquimales se crean las bases del inicio de terapias para enfermedades que no tienen cura de forma tradicional. (Su et al., 2018).

La autorrenovación indefinida y el potencial para diferenciarse en otros tipos de células como se observa en el **Anexo 16** representan a las células madre como fronteras de la medicina regenerativa. Estas razones, hacen a las células madre mesenquimales una excelente estrategia para la reparación de tejido óseo (Deng et al., 2021). Sin embargo, las células madre mesenquimales necesitan integrarse, multiplicarse y moverse en la zona lesionada durante el proceso de reparación; por ello, la utilización de andamios tridimensionales (biomateriales) es un aspecto clave del proceso de recuperación ósea (Mazzoni et al., 2021).

Estudiar la forma en que las células se comportan en entornos extracelulares y observar las señales mecánicas, estructurales y topográficas son claves para el desarrollo de la terapia celular (Cho et al., 2018). Diversos estudios indican que el desarrollo de materiales tridimensionales presenta un subconjunto definido de estas señales tanto físicas, como moleculares que empujan el correcto desarrollo de los procesos celulares en la zona lesionada (Rößler et al., 2021).

Los andamios son elementos de apoyo clave en estas construcciones 3D, y Matrigel es la matriz más utilizada a pesar de sus importantes limitaciones de traducción, incluidas las fuentes derivadas de animales, la composición no

definida, la variabilidad de lote a lote y las propiedades poco adaptables. Alternativamente, los andamios sintéticos 3D, incluidos los péptidos de autoensamblaje, muestran propiedades biomiméticas y de biocompatibilidad prometedoras, y pueden adaptarse a células como se muestra en el **Anexo 17** (Marchini & Gelain, 2021).

El potencial de diferenciación de las células madre varía según la fuente y, de acuerdo con eso, también cambian las aplicaciones regenerativas. Los avances en la edición de genes y la tecnología de ingeniería de tejidos han respaldado la remodelación *ex vivo* de células madre cultivadas en organoides 3D y estructuras de tejidos para aplicaciones personalizadas (Mahla, 2016).

Por todas estas razones, las mesenquimales se introdujeron en las clínicas para el tratamiento de varias enfermedades óseas, tales como: la osteoporosis (Jiang et al., 2021), osteoartritis (Baykal, 2016) y la osteogénesis imperfecta (Liu et al., 2014).

En ortopedia, se sabe que el hueso tiene una alta tasa de recambio ya que se somete a una regeneración y remodelación continuas durante el proceso de curación. El tejido óseo es una parte integral del esqueleto, está activo durante toda su vida, ya que lleva a cabo una remodelación estructural para brindar protección mecánica a los órganos internos (Amini et al., 2012b). Sin embargo, el proceso de curación a menudo se retrasa por la necrosis vascular, la falta de unión atrófica y la osteoporosis.

Cuando se incurre en una pérdida excesiva de hueso por afecciones como fracturas, accidentes, degeneración asociada con la edad y extirpación posterior a un tumor, se requiere un injerto óseo para estimular la cicatrización y restaurar la fuerza (Demontiero et al., 2012; Gandhimathi et al., 2019).

A nivel mundial, más de 2,2 millones de personas se someten a procedimientos de injerto óseo cada año por problemas relacionados con los huesos, que incluyen injertos óseos tanto autólogos como alogénicos. Sin embargo, el éxito del injerto

óseo se ve obstaculizado por el rechazo inmunitario, la contaminación por patógenos y la escasez de injertos óseos de donantes disponibles debido a la gran demanda médica (W. Wang & Yeung, 2017). Estos problemas se pueden evitar fácilmente con la medicina regenerativa utilizando las propias células de los pacientes, y la ingeniería de tejidos puede servir como plataforma.

Se puede fabricar potencialmente un andamio biocompatible para proporcionar un microambiente adecuado para la regeneración de tejidos mediante la promoción de la proliferación celular, la adhesión celular, la diferenciación, la mineralización y el depósito de matriz extracelular (Khan & Tanaka, 2017).

El hueso se puede considerar como un tejido cambiante ya que a lo largo de la vida procesos de osteogénesis renuevan este tejido constantemente con la ayuda de células óseas (osteoblastos y osteoclastos). De existir un fallo en estos procesos donde los osteoblastos producen nuevo tejido y los osteoclastos reabsorben el hueso desgastado, empiezan a aparecer enfermedades relacionadas como osteoporosis o fracturas.

Para hacerle frente a estos problemas se trabaja en el desarrollo de biomateriales con componentes biocompatibles como la sílice. Resultados recientes indican que las nanopartículas de este material poseen efectos inhibidores de osteoclastos y estimulantes sobre los osteoblastos en condiciones in vitro (Shadjou & Hasanzadeh, 2015b).

Se han realizado estudios de nano-ingeniería con osteoblastos humanos primarios cultivados en un microambiente 3D para estudiar la diferenciación celular y para explorar la variabilidad de la respuesta del paciente individual a los productos de ingeniería de tejidos (Nasello et al., 2020). También se han realizado trabajos con andamios 3D para la regeneración de tejido cerebral (Mahumane et al., 2018).

La ingeniería de tejidos ha emergido como un enfoque válido para las terapias actuales de regeneración/sustitución ósea. Las construcciones óseas de

ingeniería tisular tienen el potencial de aliviar la demanda que surge de la escasez de materiales de autoinjerto y aloinjerto adecuados para aumentar la cicatrización ósea. Los nanomateriales mesoestructurados a base de sílice que poseen tamaños de poro en el rango de 2 a 50 nm y funcionalidades reactivas en la superficie han suscitado un gran interés debido a sus interesantes perspectivas en la ingeniería de tejido óseo. Al desarrollar biomateriales mesoporosos que sirvan de fibras continuas se pueden aprovechar para aplicaciones de ingeniería de tejidos por ser una característica diferente para investigar.

Un factor clave en la restauración de tejido dañado es el diseño del andamio (Keane & Badylak, 2014). Se han reportado varios trabajos de investigación sobre la aplicación de andamios 3D basados en materiales mesoporosos a base de sílice para la ingeniería de tejido óseo. El ortosilicato de tetraetilo, la polivinilpirrolidona (PVP) y el copolímero de tres bloques P-123 se electrohilieron para fabricar nanofibras de sílice mesoporosas ordenadas continuas mediante la optimización de la solución y los parámetros del proceso.

Los andamios tridimensionales preparados de esta forma ofrecen un microambiente adecuado para la infiltración celular y el crecimiento de tejidos. Se descubrió que la bioactividad de la fibra de sílice mesoporosa junto con la película de gelatina 2D promueve la viabilidad de las células similares a los osteoblastos humanos y la actividad de la fosfatasa alcalina. Se llegó a la conclusión de que hubo una buena proliferación y crecimiento de osteoblastos al expresarse osteopontina, colágeno 1, fosfatasa alcalina entre otros (Shadjou & Hasanzadeh, 2015a).

Se ha desarrollado una matriz 3D enrollando los compuestos de hidrogel de colágeno comprimidos plásticamente con nanopartículas de vidrio bioactivas mesoporosas con un tamaño de 90 nm y se incorporó dentro de la matriz de colágeno que tiene una estructura nanofibrilar. La compresión del hidrogel mejoró las propiedades mecánicas de este material. Además, la tasa de proliferación y la diferenciación osteogénica de las células madre mesenquimales derivadas de la

médula ósea de rata cultivadas dentro de los hidrogeles compuestos se mejoraron mediante la incorporación de este material de vidrio bioactivo. Los resultados indicaron que el hidrogel de colágeno nanocompuesto reforzado físicamente sería útil en aplicaciones de ingeniería de tejidos duros (Shadjou & Hasanzadeh, 2015a).

Por otra parte, se desarrollaron nuevos microportadores hechos de vidrio bioactivo derivado de sol-gel para administrar moléculas terapéuticas de manera efectiva mientras se cultivan células madre para la ingeniería de tejido óseo. Recientemente, los microportadores derivados de sol-gel a base de sílice que contienen calcio, estos demostraron una alta mesoporosidad con tamaño de poro, volumen y área de superficie ajustables; bioactividad ósea caracterizada por una rápida mineralización; autoendurecible; y la incorporación simple y segura de moléculas biológicas como factores de crecimiento para una liberación sostenible a largo plazo con una cinética de orden casi cero durante meses (R. A. Perez et al., 2014). Un estudio *in vivo* realizado en un modelo subcutáneo de rata demostró la biocompatibilidad satisfactoria de las microesferas preparadas.

Como molécula diana terapéutica, se incorporó factor de crecimiento de fibroblastos básico en los microportadores y se observó un patrón de liberación lenta. Se observó mayor proliferación y adherencia celular en los microportadores cargados lo que demuestra su eficacia.

Las microesferas de vidrio bioactivas mesoporosas desarrolladas representan una nueva clase de portadores de administración de células terapéuticas, potencialmente útiles en la administración sostenible de moléculas terapéuticas como factores de crecimiento, así como en el apoyo a la proliferación de células madre y la osteogénesis para la ingeniería de tejido óseo (Shadjou & Hasanzadeh, 2015b).

Aunque la nanotecnología ha hecho un gran progreso en el dominio de la atención médica en las últimas décadas, existe una necesidad continua de combinar nanoestructuras novedosas con andamios que puedan imitar el microambiente del

tejido y la matriz extracelular natural. Este enfoque es un requisito previo para desarrollar estrategias de ingeniería de tejidos basadas en nanomateriales y terapias con células madre para la regeneración de tejidos.

Las propiedades únicas de las nanopartículas de sílice mesoporosas, como la alta área de superficie específica, la morfología ajustable y el tamaño de los poros, la multifuncionalidad y la biocompatibilidad mejorada, las han convertido en nanomateriales ideales para la ingeniería de tejido ósea. Los materiales mesoporosos silíceos funcionalizados pueden responder eficazmente a una gran cantidad de estímulos como la temperatura, el pH, la luz, el potencial redox y las enzimas que los convierten en los nanoportadores más adecuados para la administración dirigida de fármacos y la liberación desencadenada. Se pueden conjugar varios agentes de contraste en los materiales porosos para obtener bioimágenes efectivas que ayuden a monitorear su biodistribución, acumulación y orientación específica de órganos (Ghosh & Webster, 2021).

El riesgo de sufrir una infección después de una operación es un problema crítico para la restauración de una herida ósea. La infección postoperatoria es uno de los problemas críticos que desafía la recuperación y curación de las lesiones óseas. Por esta razón se han investigado el desarrollo de nanocompuestos que sean capaces de inducir la osteogénesis y hacerles frente a infecciones patógenas en el sitio de la lesión por medio de la liberación de fármacos.

Se ha fabricado un andamio compuesto por nanopartículas de sílice mesoporosas cargadas con vancomicina y una matriz de gelatina mezcladas en una solución homogénea que luego se introdujo en un molde y se convirtió en un gel manteniéndolo a 4 °C durante 1 h. Los compuestos resultantes eran altamente porosos con una compresibilidad eficiente.

La liberación sostenida de vancomicina del nanocompuesto dio como resultado una inhibición superior de staphylococcus aureus mientras que no mostró efectos adversos sobre la proliferación y diferenciación de las células madre mesenquimales óseas (BMSC) (Ghosh & Webster, 2021)

En otro estudio para determinar aplicaciones de los materiales mesoporosos de sílice se desarrolló un método funcionalizado con amino como material biocompatible y biodegradable para la inmovilización de proteína morfogénica ósea en el tejido óseo.

Estos materiales se utilizaron para fomentar la diferenciación osteoblástica de células madre mesenquimales humanas derivadas de tejido adiposo. Se consiguió la inmovilización de las proteínas en los materiales mesoporosos funcionalizados mediante interacciones electrostáticas, de enlaces de hidrógeno e hidrofóbicas entre las nanopartículas y la estructura de la proteína. Este enfoque podría depender del tipo de célula madre a utilizar. Las células mostraron una viabilidad adecuada (Neumann et al., 2013).

La liberación direccionada o controlada de moléculas pequeñas puede ser prometedora porque podría inducir la diferenciación de células o combatir infecciones en un tejido diana específico. La vitamina D3 tiene efectos significativos sobre la actividad de la fosfatasa alcalina y la deposición de calcio y, por lo tanto, desempeña un papel clave en el crecimiento de las células óseas. La vitamina D3 al ser lipofílica impide controlar el flujo de liberación por parte de los andamios.

Andamios novedosos han sido desarrollados para la carga y el suministro de vitamina D3 utilizando nanopartículas de celulosa/hidroxiapatita/sílice mesoporosa. Se estimularon la proliferación y adhesión de células madre óseas y la activación osteoinductiva de la fosfatasa alcalina, lo que los llevó a proponer que los andamios cargados de vitamina D3 podrían usarse para el tratamiento de defectos óseos (Eivazzadeh-Keihan et al., 2020).

# **CAPÍTULO III**



## **CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO**

### **3.1 Diseño de investigación y tipo de estudio**

Diseño de investigación: El diseño es de tipo cuasi experimental, porque involucra investigación experimental y estudio observacional además de que los sujetos a estudiar se seleccionan previamente, no de forma aleatoria.

Tipo de estudio: El tipo de estudio es mixto porque la investigación tiene enfoque cualitativo y cuantitativo. El enfoque cualitativo busca especificar las características y propiedades de los materiales obtenidos y explicar las razones de porque ocurren los resultados en función de las condiciones que se presenten en la experiencia. La investigación también tiene un enfoque cuantitativo, porque se estudiarán las características de los materiales con base a los datos numéricos que se obtendrán al variar condiciones como el pH, concentraciones de porcentajes peso volumen y observar cómo afecta el tiempo y la gelación.

### **3.2 Población o universo**

Población: arroz de grano corto con cascarilla amarilla, *Oryza sativa*.

Sujetos: Cascarilla proveniente del arroz producido en la ciudad de Panamá por la empresa agrosilos s.a.

Tipo de muestra estadística: no probabilística intencional.

### **3.3 Variables**

Variables en la etapa de síntesis de los andamios

1. Masa de torrefaccionado:

Definición conceptual: Cascarilla de arroz carbonizada producto de gasificación a altas temperaturas.

Definición operacional: masa en gramos de cascarilla de arroz calcinada utilizada como precursor de sílice para obtener los andamios 3D

## 2. pH:

Definición conceptual: Grado de acidez o basicidad del solgel.

Definición operacional: Lectura mediante un medidor de pH para controlar la gelación en la etapa de síntesis del hidrogel.

## 3. Tiempo de gelación:

Definición conceptual: segundos o minutos que tarda en gelar el sol-gel en el molde donde se sirve

Definición operacional: El tiempo de gelación proporciona una relación pH-gel que puede ser estudiada para mejorar la síntesis.

### **3.4 Instrumentos y materiales-equipos**

#### **Equipos:**

Balanza analítica Goldenwall

pHmetro PH700 marca Apera

Horno de calentamiento marca 101 horizontal series, 10°C-300°C

Plato agitador magnetico (con calentador) marca Four E'S scientific.

Pipeteador eléctrico marca fisherbrand

Microscopio invertido Olympus CKX53

Microscopio electrónico de barrido Thermo Scientific Quattro S (INDICASAT)

#### **Materiales**

Cascarilla de arroz (*Oryza, sativa*)

Torrefaccionado (cascarilla carbonizada)

Hidróxido de sodio (NaOH)

Agua destilada

Ácido acético glacial 100%

Alcohol isopropílico

### **Instrumentos**

Papel filtro tipo Whatman

Vasos químicos 10ml, 25 ml, 400ml, 150ml

Embudo pequeño

Papel parafilm

Pastilla de agitación magnética pequeña

Espátula con cuchara estándar

Pipetas serológicas 5ml,10ml,25ml

Probeta 50 ml

Propipeta

Gotero plástico 3ml

Pinzas de laboratorio (punta fina, de disección, para cubreobjetos)

Tubos químicos (15 ml, 50 ml).

Macerador cerámico y mortero

### **3.5 Procedimiento Experimental**

#### **Etapa 1: Obtención de la cascarilla de arroz**

La primera etapa del procedimiento experimental consiste en la obtención de la cascarilla de arroz la cual es el subproducto derivado de la molienda del arroz que se cosecha directamente de la planta y es la materia prima necesaria con la que se trabajará en etapas posteriores para obtener el producto final. Esta biomasa fue proporcionada por la empresa Agrosilos S.A cuyo molino se encuentra en la ciudad de Panamá.

La cascarilla de arroz es considerada un desecho agroindustrial y es de alta disponibilidad en Panamá. Por su contenido silíceo, fue seleccionada como precursor de sílice para esta investigación y pasa de ser un desecho a ser un material con valor agregado en el campo de biomateriales.

#### **Etapa 2: Carbonizado de la cascarilla de arroz**

El objetivo principal en esta etapa es obtener el carbonizado de cáscara de arroz que es el producto de la transformación termoquímica de la cáscara de arroz (Liou & Liou, 2021) que se utilizará para la síntesis de los andamios. La carbonización fue realizada a través de la gasificación la cual es un proceso de descomposición de la biomasa que ocurre a alta temperatura en ausencia de oxígeno (Fu et al., 2012).

El equipo utilizado para llevar a cabo esta etapa fue el reactor de flujo ascendente del tipo TLUD (de las siglas en inglés top-lit updraft) (Wijianto et al., 2021). El reactor consiste en un cilindro hecho de acero negro de 10 centímetros de diámetro y 140 centímetros de alto. Este reactor fue operado bajo diferentes flujos de aire provenientes de un compresor de aire de 6 galones.

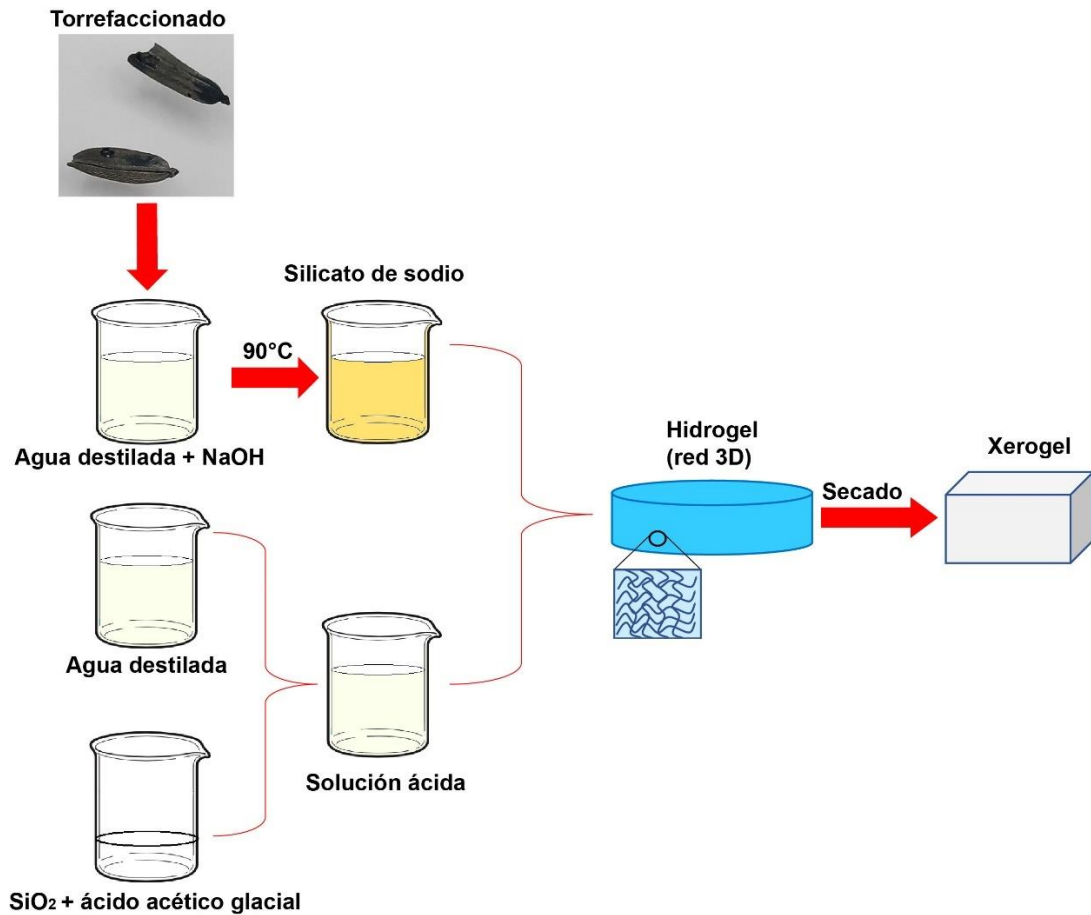
La temperatura dentro del reactor se midió en tres niveles diferentes utilizando un sistema especial de adquisición de datos (HOBO, USA) y termopares. La cantidad de biomasa agregada fue de aproximadamente 2000 g. El material final, es decir, el carbonizado de cascarilla de arroz tiene un alto contenido de sílice y la

estructura húmeda suelta de la cáscara de arroz se destruye después de la gasificación a alta temperatura (Alhadhrami et al., 2022). El carbonizado se obtuvo a una temperatura de 935°C con un flujo de aire a 24 ml/min (Bethancourt et al., 2019).

### **Etapas 3: Obtención de andamios tridimensionales para estudios *in vitro***

#### **Etapas 3.1: Obtención de hidrogeles silícicos**

Para la obtención de los precursores silícicos del andamio, se realiza una serie de pasos secuenciales como se observa en la figura 1 que involucran la conversión progresiva de la cascarilla de arroz (desecho agrícola) hasta un biocarbonizado amorfo que sirve de precursor silícico para la obtención de silicato de sodio y posterior estructuración porosa del andamio sintético 3D (Lujano et al, In progress; Parada et al, 2016; González et al, 2012).



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 1: Esquema del proceso de generación de los andamios 3D.** Partiendo de la extracción de la sílice del torrefaccionado para obtener el silicato de sodio y del lavado del remanente de sílice con la solución ácida mediante el proceso sol-gel se obtienen los hidrogeles a los cuales se les aplica un proceso químico y un secado final para obtener los xerogeles.

Para la preparación de silicato de sodio, se requiere tener torrefaccionado limpio para evitar impurezas (Moayedi et al., 2019) en la solución. Primero el torrefaccionado se pesa en la balanza la cantidad determinada y se coloca en un recipiente reactor, seguido se mezcla hidróxido de sodio en agua destilada para obtener la solución que se va a agregar al torrefaccionado para obtener el silicato de sodio (Le et al., 2013) luego de 4 horas al horno.

Luego, viene el lavado de torrefaccionado con moles de ácido (Amirhandeh et al., 2023) y que consiste básicamente en mezclar una solución de ácido acético en

agua destilada con el torrefaccionado seco del día anterior para recuperar la sílice no extraída con el hidróxido.

Cuando se obtiene la solución ácida final esta contendrá sílice en su composición y estará lista para la etapa de agregado de silicato. Posteriormente, la última etapa de obtención síntesis del hidrogel silícico es donde que se agrega el silicato de sodio, producido previamente, a la solución ácida (Katouezadeh et al., 2020) a través de la técnica de goteo para no tener una solución con precipitado. Mientras se agrega se verifica el pH de la solución y se observa el cambio de viscosidad que indica la transición de sol a gel.

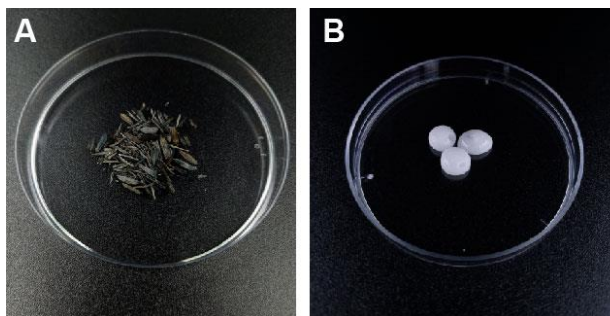
Cuando la solución está en estado líquido adopta la forma del recipiente donde se sirve y se deja reposar para el proceso gelación (Tsao et al., 2015) y formación del hidrogel de sílice que se requiere obtener.

Las etapas del procedimiento de la obtención del hidrogel silicico, en su detalle de la metodología experimental, vienen dados a continuación:

### **3.1.1 Preparación de silicato de sodio**

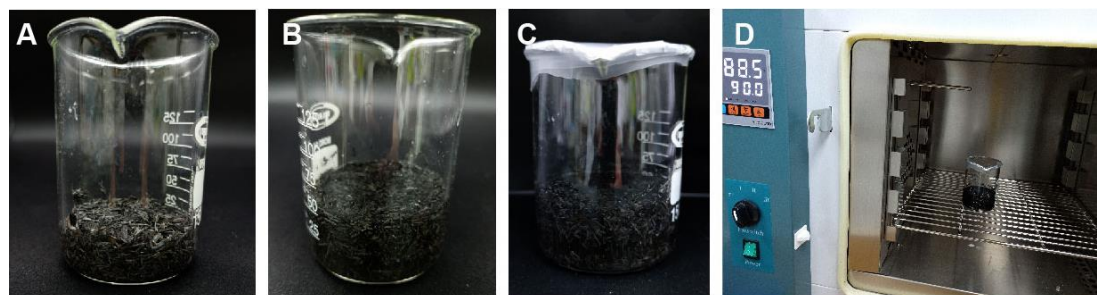
- i. Pesar 3.74670 g de torrefaccionado y colocarlo en un recipiente reactor como se expone en la figura 2 (A).
- ii. Pesar 0.7 g de NaOH como se representa en la figura 2 (B) y esta cantidad de hidróxido de sodio se disuelve en 12.5ml de agua destilada y se vierte encima del torrefaccionado en el recipiente reactor tal como se expone en la figura 3 (A).
- iii. Luego se agrega agua suficiente para cubrir el torrefaccionado como se puede ver en la figura 3 (B) (aproximadamente 30mL en esta preparación).
- iv. Se cubre el recipiente reactor como se muestra en la figura 3 (C) para evitar fugas de agua.
- v. Se coloca en el horno a 90°C por 4 horas como se expone en la figura 3 (D), con agitación cada 15 minutos durante la primera hora, y después cada 30 minutos durante las 3 últimas horas.

- vi. Al terminar las 4 horas, se filtra por gravedad el torrefaccionado con el silicato de sodio a través de un filtro tipo Whatman #1 como se puede observar en la figura 4(A). Se lava con el mismo volumen de agua adicional a los 12.5mL agregado para cubrir el torrefaccionado.
- vii. Una vez lavado el torrefaccionado, se recupera y se coloca en el mismo envase para secar en el horno a 110°C hasta el día siguiente.
- viii. El silicato de sodio se evapora para eliminar el exceso de agua (punto de ebullición 100°C).
- ix. Una vez alcanzado el volumen final se filtra nuevamente para remover impurezas sólidas que pueda tener.



Fuente:Gabriel Moreno 2022

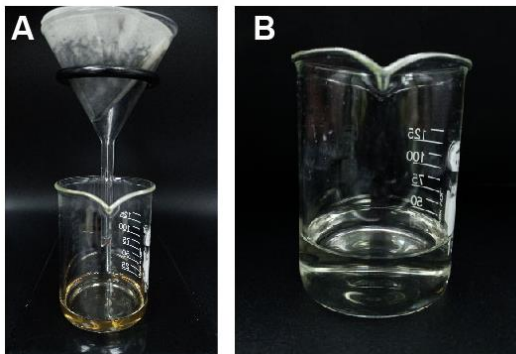
**Figura 2: Torrefaccionado y NaOH utilizado en la síntesis.** (A) Gramos de torrefaccionado e (B) hidróxido de sodio pesados previamente para realizar la síntesis.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 3: Preparación del silicato de sodio.** (A) La solución de NaOH se vierte sobre el torrefaccionado previamente pesado; (B) luego, se procede a la agregación de 40 ml de agua destilada para cubrirlo. (C) Finalmente, se tapa el recipiente y (D) se coloca en el horno por 4 horas a 90°C (3d)



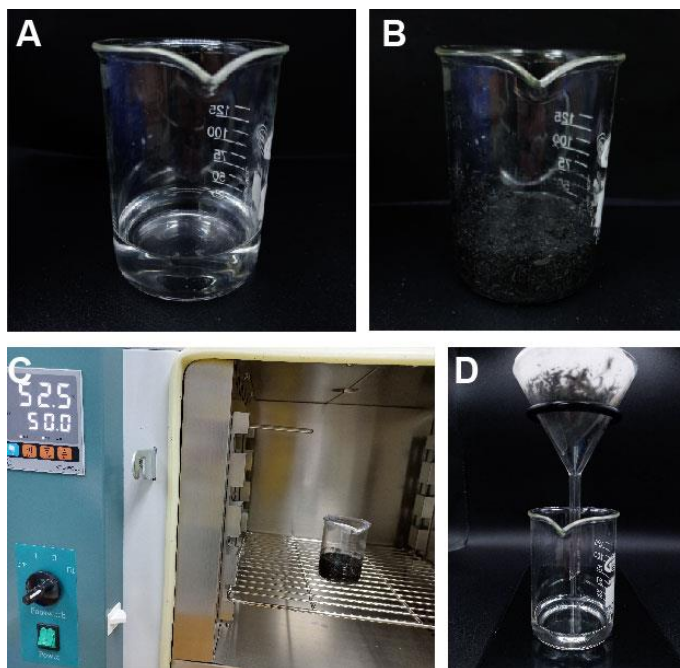


Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 4: Filtrado y obtención del silicato de sodio.** (A) El silicato de sodio se filtra pasadas las 4 horas en el horno y (B) se guarda en un recipiente para poder ser utilizado en la siguiente fase.

### **3.1.2 Lavado de torrefaccionado con moles de ácido en exceso.**

- i. Medir 2.6ml de ácido acético (60.05 g/mol) y mezclar en un volumen de agua necesario para cubrir todo el torrefaccionado como se muestra en la figura 5 (A) (para esta preparación aproximadamente 40mL).
- ii. Agregar el torrefaccionado a la solución ácida como se expone en la figura 5 (B), mezclar bien y cubrirlo bien. Colocar en el horno a 50°C por una hora como en la figura 5 (C).
- iii. Una vez pasada la hora, filtrar el torrefaccionado y solución ácida como se presenta en la figura 5 (D). De ser necesario, ajustar el volumen por evaporación hasta 12.5mL, máximo 15mL. Si contiene partículas finas de torrefaccionado, filtrar nuevamente.
- iv. Medir el pH y tomar nota.



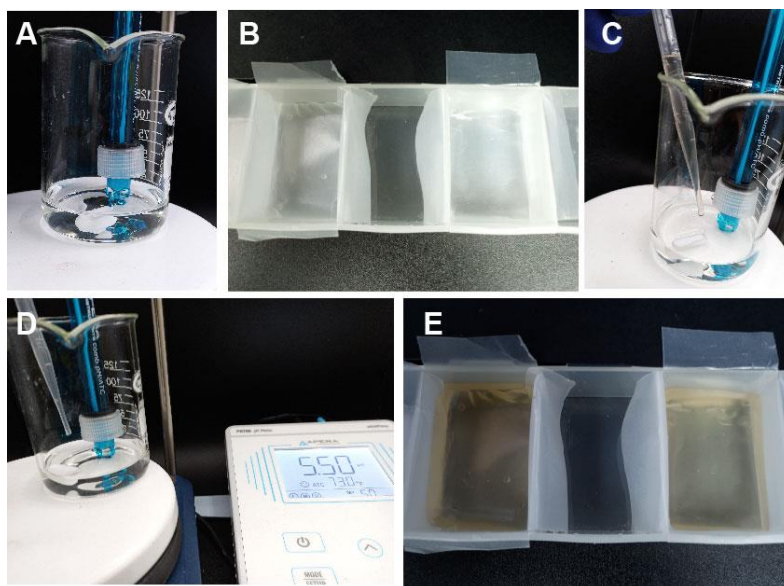
Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 5: Lavado con moles de ácido acético.** (A) Se mezcla el ácido acético en 40ml de agua destilada, (B) luego se agrega el torrefaccionado a esta solución. (C) Se lleva el recipiente al horno por una hora a 50°C finalmente (D) se filtra la solución.

### 3.1.3 Síntesis del hidrogel

- i. En un vaso químico mantener bajo agitación la parte ácida del sol con la sonda del medidor de pH en contacto con la misma como se muestra en la figura 6 (A) (para monitorear el pH a través del proceso de síntesis).
- ii. Preparar los moldes antes de agregar el silicato a la solución ácida de forma que se pueda servir inmediatamente se haya alcanzado el pH deseado en la solución. Como se presenta en la figura 6 (B) se cubre la superficie del molde seleccionado con parafilm de manera que facilite el desmolde.
- iii. Bajo agitación, empezar a agregar el silicato de sodio, gota por gota como se muestra en la figura 6 (C), dejando que el pH se estabilice entre cada adición. Evitar la formación de precipitados blancos mientras se agrega el silicato.
- iv. Una vez terminada la adición de todo el silicato, dejar que el pH se estabilice y tome nota del pH final antes de servir en los moldes

- v. El pH final del sol se desea entre 5.5 y 6.0 como se ve en la figura 6 (D), y de ser necesario ajustar con gotas de NaOH 1M.
- vi. Servir en los moldes como se muestra en la figura 6 (E).
- vii. Verificar que la solución geló correctamente colocando el molde perpendicular a la horizontal.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 6: Síntesis de hidrogel.** (A) Una vez obtenida la solución ácida se monitorea el pH y se lleva a agitación magnética. (B) Se prepara el molde a utilizar con papel parafilm, luego (C) se agrega el silicato de sodio obtenido en la fase previa por goteo para evitar precipitado. (D) Luego de agregar el silicato el pH de la solución debe estar entre 5.5 y 6. (E) Servir en los moldes y esperar a que gele la solución.

Hasta este punto se han sintetizado hidrogeles. A continuación, se describen los procesos que se le deben aplicar a los hidrogeles para obtener xerogeles.

### **Etapas 3.2: Obtención de xerogeles silícicos**

A partir del hidrogel silícico se procedió obtener el xerogel porosos silícico y para ello: (i) en primer lugar, se realiza la etapa de maduración (Taveri et al., 2018) que

consiste en sumergir los hidrogeles en agua destilada a una temperatura determinada con el objetivo de fortalecer su estructura para que adquieran más rigidez y resistencia al momento de encogerse en posteriores procesos también para decolorar el material.

El agua contenida en el recipiente se debe cambiar si se observa un cambio de color, de lo contrario se puede cambiar una vez antes del siguiente paso; (ii) en segundo lugar, se realiza un cambio de solvente en que se reemplaza el agua del proceso de maduración con isopropanol a diferentes concentraciones (Muñoz-Pinto et al., 2012) con el objetivo de empezar a eliminar el agua dentro del material y evitar la ruptura durante el proceso de secado. (iii) En tercer lugar, la etapa de secado en que los hidrogeles (R. Chen et al., 2013) sumergidos en isopropanol se colocan a diferentes temperaturas en un horno por periodos de 1 hora cada uno y un periodo final de un día o durante la noche.

El objetivo de la etapa de secado es eliminar por completo el líquido contenido en los poros del hidrogel que por efecto de la etapa de cambio de solvente contendrá el isopropanol en su composición y este se evaporará a medida que se aumenta la temperatura dejando un material poroso y de estructura rígida sin ningún tipo de líquido en su interior.

Las etapas del procedimiento de la obtención del xerogel silicico, en su detalle de la metodología experimental, vienen dados a continuación:

### **3.2.1 Maduración**

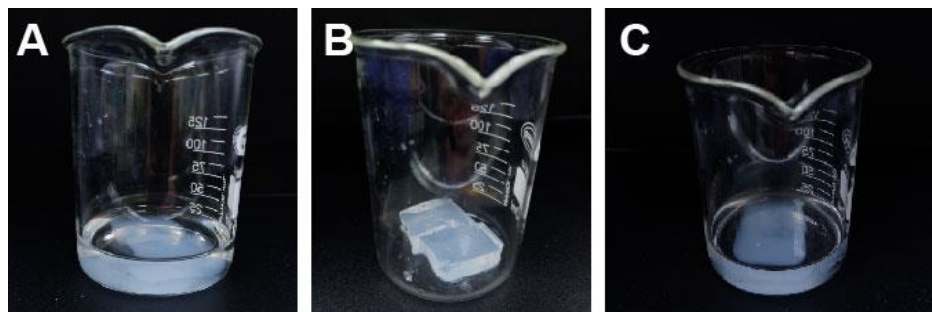
- i. Una vez el sol haya gelificado se procede a desmoldar con cuidado.
- ii. Si quiere no se retira el Parafilm y se colocan los geles tal cual en un vaso químico con agua desmineralizada a 50°C para empezar el proceso de maduración.
- iii. Después de este proceso los geles adquieren más rigidez por lo que se puede mantener el Parafilm durante este paso para evitar fragmentación no deseada. Se pueden quedar por una noche en agua fresca. Hacerles

recambios frecuentes antes de finalizar el día (cada 30 minutos o cuando vea que el color del agua cambie).

### 3.2.2 Cambio de solvente

Una vez finalizado el proceso de maduración, se procede con el cambio de solvente para generar un alcoholgel.

- i. Se inicia al sustituir el agua con isopropanol al 20% como se muestra en la figura 7 (A) por 30 minutos. Repetir este recambio, una vez más.
- ii. Acto seguido, se le agrega 25% del volumen total del isopropanol al 20% ya presente en el vaso en isopropanol 99+% (ejemplo si se agregaron 30 ml de isopropanol al 20% se agregarían 7.5 ml de isopropanol al 99%) y se deja por 45 minutos.
- iii. Una vez terminado este lapso se retira esta mezcla tal como se expone en la figura 7 (B) y se repone con isopropanol al 99+% por 30 minutos como se presenta en la figura 7 (C).
- iv. Repetir este recambio una vez más antes del secado final. Se puede detener en este punto y dejar para el día siguiente de ser necesario.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 7: Cambio de solvente.** (A) Durante el cambio de solvente se reemplaza el agua destilada por isopropanol al 20% y (B-C) después de un lapso de tiempo se vuelve a cambiar por isopropanol al 99%.

### 3.2.3 Secado

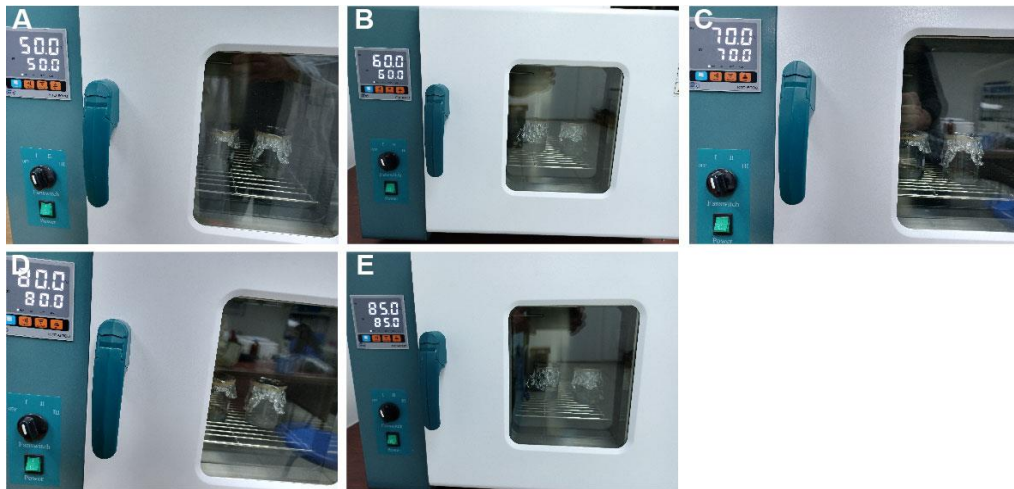
El objetivo de esta etapa es eliminar el líquido existente en el gel, principalmente en sus poros. El secado secuencial se realiza al finalizar la etapa de cambio de solvente luego se agregar un último recambio de isopropanol al 99%, el volumen

justo para cubrir todo el material. Para el secado se utilizó un horno de calentamiento marca 101 horizontal series con capacidad de trabajar con temperaturas de 10 a 300 grados.

El recipiente se preparó antes de introducirlo al horno para el secado, cubriéndolo con papel aluminio ajustado con una liga. Se le hizo un pequeño agujero en el centro del papel aluminio para permitir que el isopropanol al evaporarse pueda escapar y favorecer la salida de vapor de agua sobre el isopropanol debido a que el vapor tiene menor masa molar y mayor difusión, de manera que se empieza a evaporar la poca agua en los poros del material.

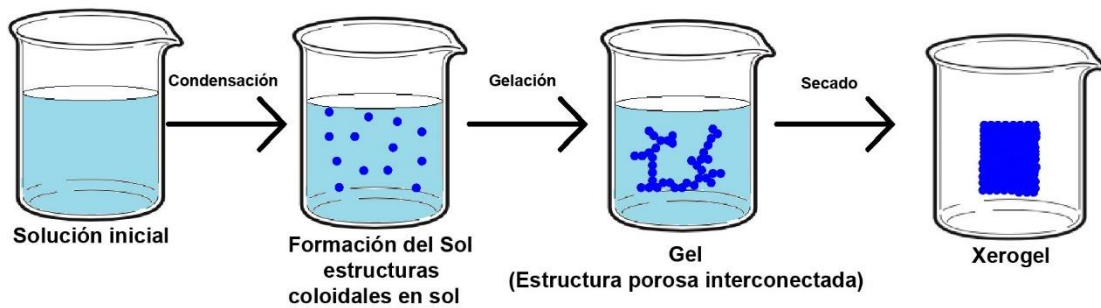
El secado se realizó de forma escalonada, primero se colocan los recipientes con los geles suspendidos en isopropanol en el horno a 50°C como se muestra en la figura 8 (A), seguido la temperatura se cambia a 60°C como se muestra en la figura 8 (B), luego como se presenta en la figura 8 (C) se elevó la temperatura del horno a 70°C y 80°C como se expone en la figura 8 (D), el tiempo de secado en cada temperatura fue de 1 hora.

Finalmente, se subió la temperatura hasta 85°C como se puede observar en la figura 9 (E), es en este paso donde el isopropanol empieza a evaporarse debido a su punto de ebullición. En este punto se dejó secar hasta el día siguiente para obtener el material.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 8: Secado secuencial de los geles.** Secado secuencial para obtener los xerogeles se empieza con (A) 50° luego (B) 60°, (C) 70°, (D) 80°, (E) 85° y luego se deja secando durante la noche.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

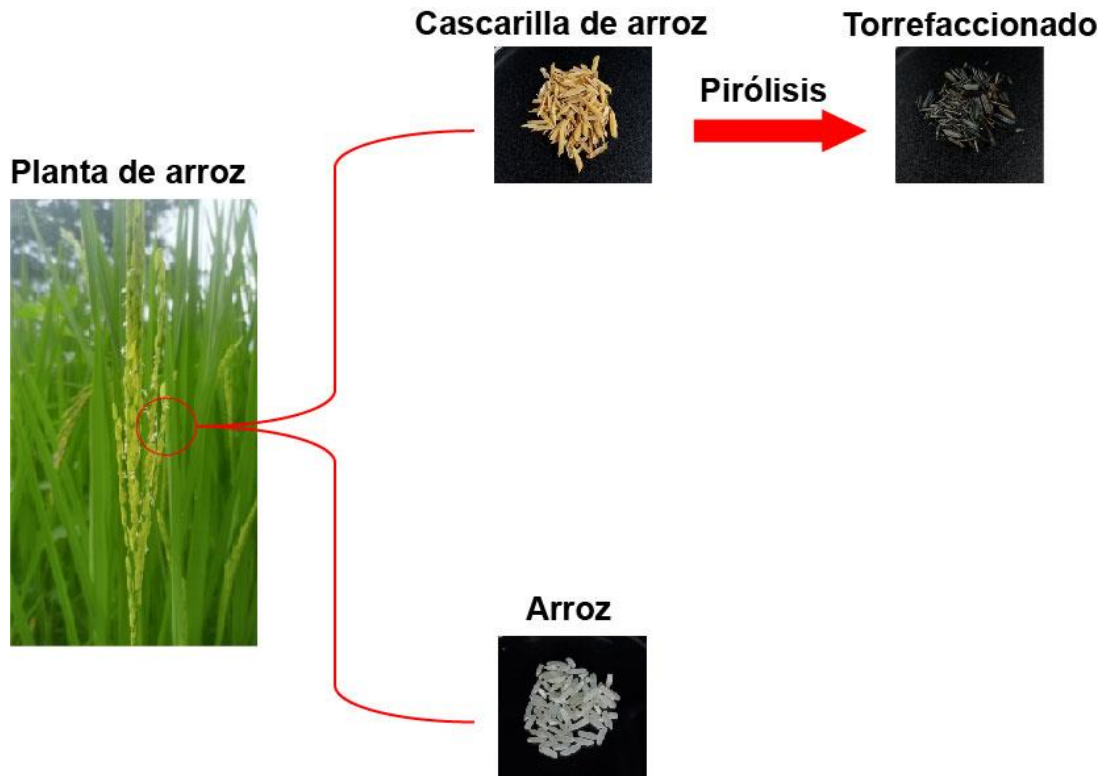
**Figura 9: Proceso sol-gel.** Esquema de las etapas básicas del proceso sol-gel para producir un xerogel. Este esquema se presenta para comprender de forma directa los pasos que se cumplen para la formación del xerogel.

# **CAPÍTULO IV**



## CAPÍTULO IV ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1 RESULTADO 1: Obtención de la cascarilla de arroz



Fuente Gabriel Moreno (2022)

**Figura 10: Esquema de la obtención de cascarilla de arroz carbonizada (torrefaccionada) desde la planta de arroz y sus derivados.**

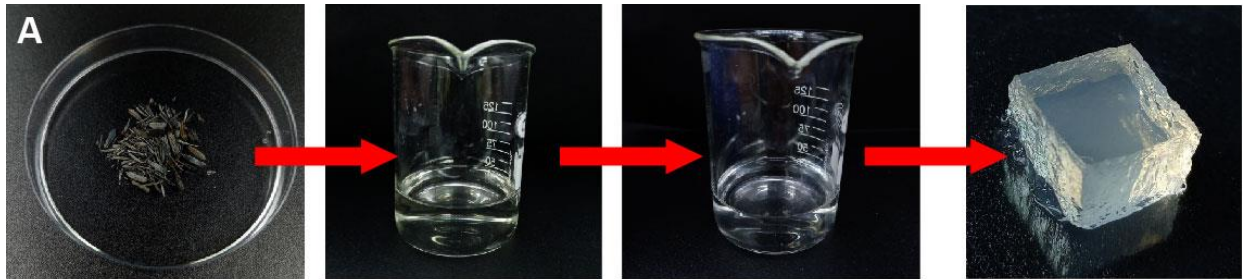
Como se puede observar en la figura 9, la cascarilla de arroz obtenida para realizar el procedimiento presenta un color amarillo, tiene un tamaño promedio de 0.8 cm, fue proporcionada por la empresa Agrosilos S.A.

El primer material necesario para realizar la síntesis de los andamios 3D (xerogeles e hidrogeles) es el torrefaccionado de cascarilla de arroz el cual es obtenido luego de tratar la biomasa de cascarilla en el reactor de flujo como se describe en la etapa 1 de la metodología.

El torrefaccionado se obtuvo con condiciones de 935°C. Presenta un color carbón producto de las altas temperaturas y un tamaño promedio de 0.7 cm. Este material contiene sílice lo cual lo convierte en un excelente precursor para poder producir silicato de sodio posteriormente el cual es necesario para el proceso sol-gel de la siguiente etapa donde se producen los andamios para las aplicaciones determinadas.

#### 4.2 RESULTADO 2: Generación del andamio tridimensional (3D)

Resultado 2.1: Obtención de hidrogeles silícicos:



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 11: Esquema del proceso para generar los andamios (hidrogeles).** (A) Esquema básico donde se muestra que el silicato y la solución ácida se derivan del carbonizado para obtener el hidrogel.

La figura 10 (A) muestra de forma breve el esquema del proceso que se realizó para obtener los andamios correctamente desde el pesado del torrefaccionado al cual se le extrae el contenido de sílice en forma de silicato de sodio, luego se lava con moles de ácido acético y a la solución ácida resultante se le agrega el silicato de sodio para ajustar el pH entre 5.5 y 6 para obtener el hidrogel.

Resultado 2.2: Obtención de xerogeles porosos silícicos:

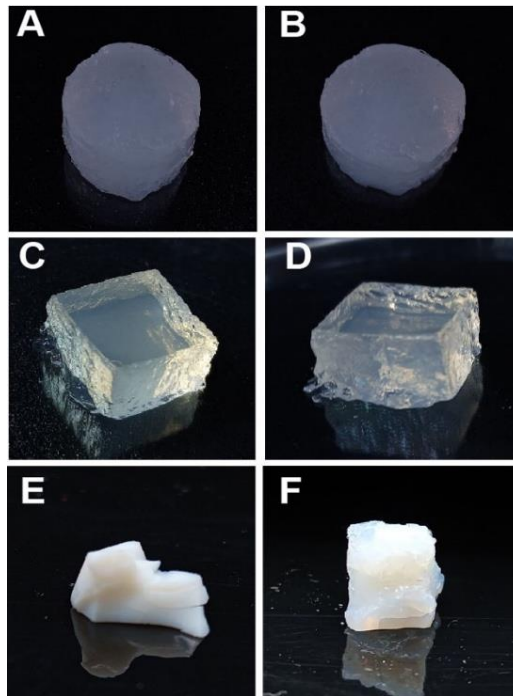
Partiendo de la etapa 2 de la metodología (Obtención de andamios tridimensionales para estudios in vitro) es posible realizar un diagrama de flujo para presentar de forma secuencial el procedimiento sol-gel que se realizó para sintetizar los xerogeles y los hidrogeles y facilitar el entendimiento del mismo. Se

empieza por la generación del silicato de sodio y la solución acida, seguido de la obtención del hidrogel, maduración de oswalt, cambio de solvente y secado final. Como puntos críticos del procedimiento está la gelación y la obtención del xerogel.

La gelación es un subproceso que depende del pH de la solución y de la relación silicato-solución ácida, el pH influye en el tiempo de gelación ya que a un pH entre 5 y 6 demora aproximadamente 5 minutos en gelar y con un pH entre 6.5 y 7 tarda solo segundos para gelar se debe tener cuidado al momento de servir en los moldes y evitar que la solución gelee en el vaso.

La relación silicato-solución debe ser 12.5ml-12.5ml (puede ser 15 y 15) ya que se considera en los cálculos un sol de 25ml una desviación alta entre esta relación (ejemplo 12.5ml de silicato y 20 ml de ácido) puede afectar el tiempo de gelación de minutos a horas por eso se recomienda evaporar para igualar volúmenes y eliminar el agua en exceso que pueda haber.

El otro punto crítico es la obtención del xerogel porque al final del secado puede haber pulverizado en vez de quedar sólido el material por esto es muy importante realizar los procesos de maduración, cambio de solvente y secado secuencial. Una vez terminado el secado el xerogel debe presentar una estructura sólida. A la mitad de esta etapa se obtienen los hidrogeles de sílice y al final se obtienen los xerogeles de sílice como se explicará en el siguiente resultado.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

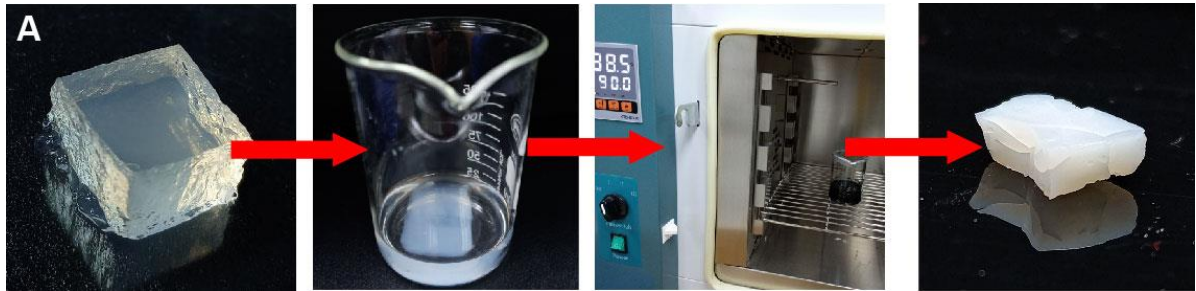
**Figura 12: Andamios 3D obtenidos.** (A-B) Se muestran hidrogeles de sílice de forma cilíndrica obtenidos durante el proceso sol-gel. (B-C) Hidrogeles síliceos de forma cúbica, se aprecia la topografía característica de un gel. (E-F) Xerogeles de sílice obtenidos luego del secado del material anterior, presenta diferentes formas en sus estructuras.

El primer andamio obtenido del proceso sol-gel es el hidrogel, producto de la formación y unión de redes tridimensionales mediante enlaces químicos en la etapa de gelación de la solución a un pH entre 5.5 y 6.

Generalmente, toma la forma del molde donde se sirve por ejemplo puede tener desde forma cilíndrica como se puede observar en la figura 12 (A-B) hasta cúbica como en la figura 12 (C-D). Como resultado final de la segunda etapa de la metodología están los xerogeles como se muestran en la figura 12 (E-F) los cuales son los andamios tridimensionales de estructura sólida.

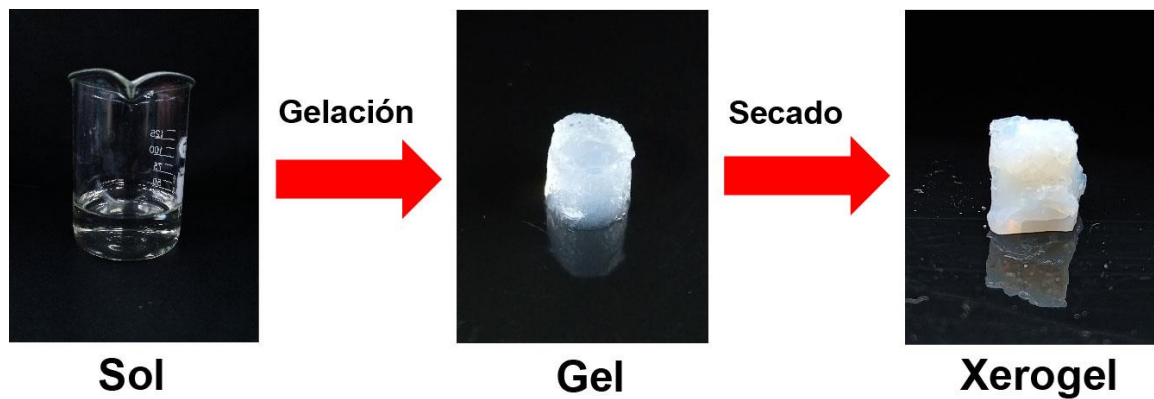
Tienen la característica de ser microporosos, esto fue comprobado con una prueba de sumergir el xerogel en agua destilada y se observaron pequeñas burbujas saliendo de los andamios. Los xerogeles obtenidos son estructuras

sólidas y secas lo que significa que todo el contenido de agua o ácido que pudo haber estado presente se elimina en los procesos de cambio de solvente y secado. Para la siembra se seleccionan los que posean superficie lisa para que no sea tan hostiles para la célula y facilitar el enganche.



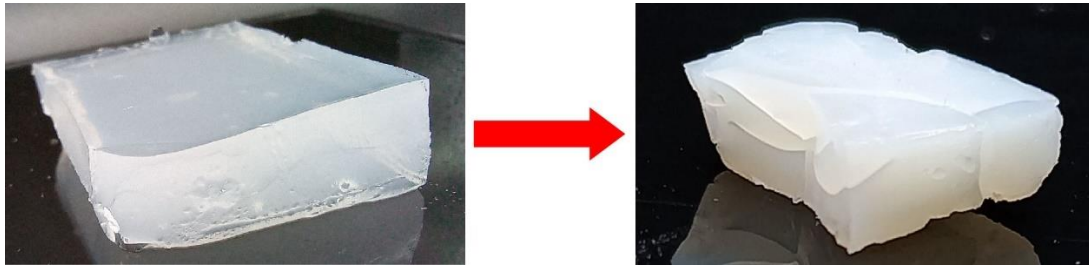
Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 13: Esquema del proceso para generar los xerogeles.** (A) Esquema básico donde se muestra una serie de procesos que involucran el cambio de solvente del hidrogel y posterior secado para obtener el andamio final (xerogel).



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 14: Esquema de obtención de xerogel a partir del hidrogel.** Al inicio se tiene la solución (sol) que se sirve en un molde para que se dé el proceso de gelación y obtener el hidrogel. Al hidrogel se le realiza una serie de cambios de solventes y secados para obtener el xerogel.

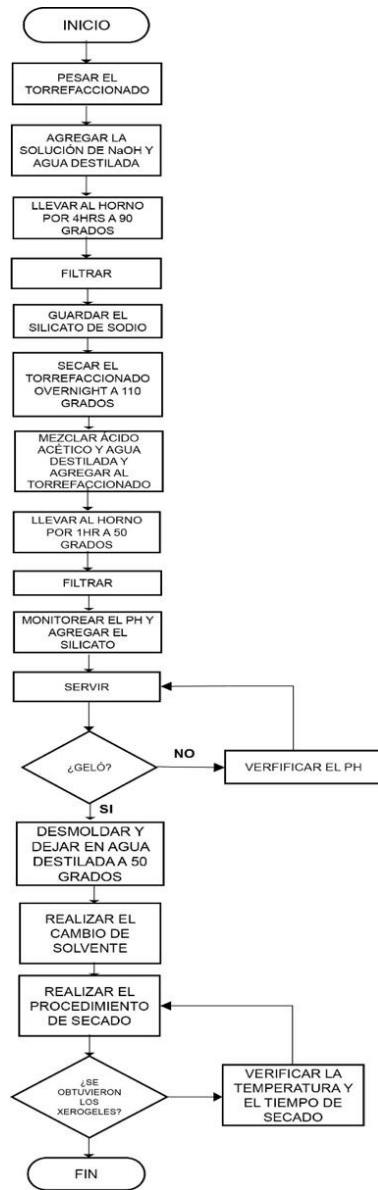


Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 15: Cambio de hidrogel a xerogel.** Ilustración donde se muestra el cambio en la estructura y topografía del material luego de los procesos de cambio de solvente y secado secuencial. Se puede observar que pasa a tener una estructura sólida sin contenido de agua.

Resultado 2.3: Obtención de diagrama de bloques del proceso de generación de andamio tridimensional (3D):

En la figura 10 (B) se muestran los pasos donde al hidrogel se le realiza cambios de solvente con isopropanol antes de secarlo y obtener finalmente el xerogel como producto final. El proceso se presenta de una forma secuencial en la figura 11.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 16: Diagrama de flujo de generación del xerogel**

**Resultado 2.4: Estudio de la relación pH- tiempo en el proceso de gelación de formación del andamio tridimensional (3D):**

Para esta determinación, se realizó la síntesis del hidrogel a diferentes pH y se tomó el tiempo en el que tarda en gelar. Los valores de pH de solución se variaron

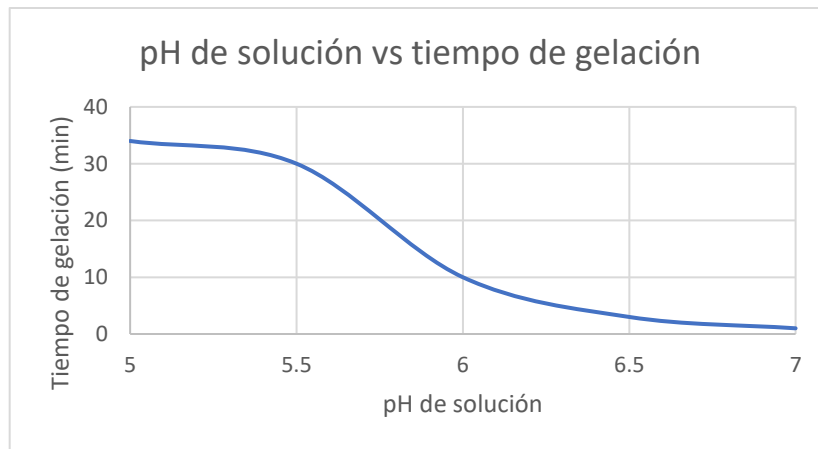
de la siguiente forma: 5, 5.5, 6, 6.5, 7. El tiempo fue medido en minutos y se realizó la gráfica para observar la curva producto de la relación tiempo-pH

Tabla 1 pH de solución y tiempos de gelación

pH	tiempo (mins)
5	34
5.5	30
6	10
6.5	3
7	1

Fuente: Gabriel Moreno (2023)

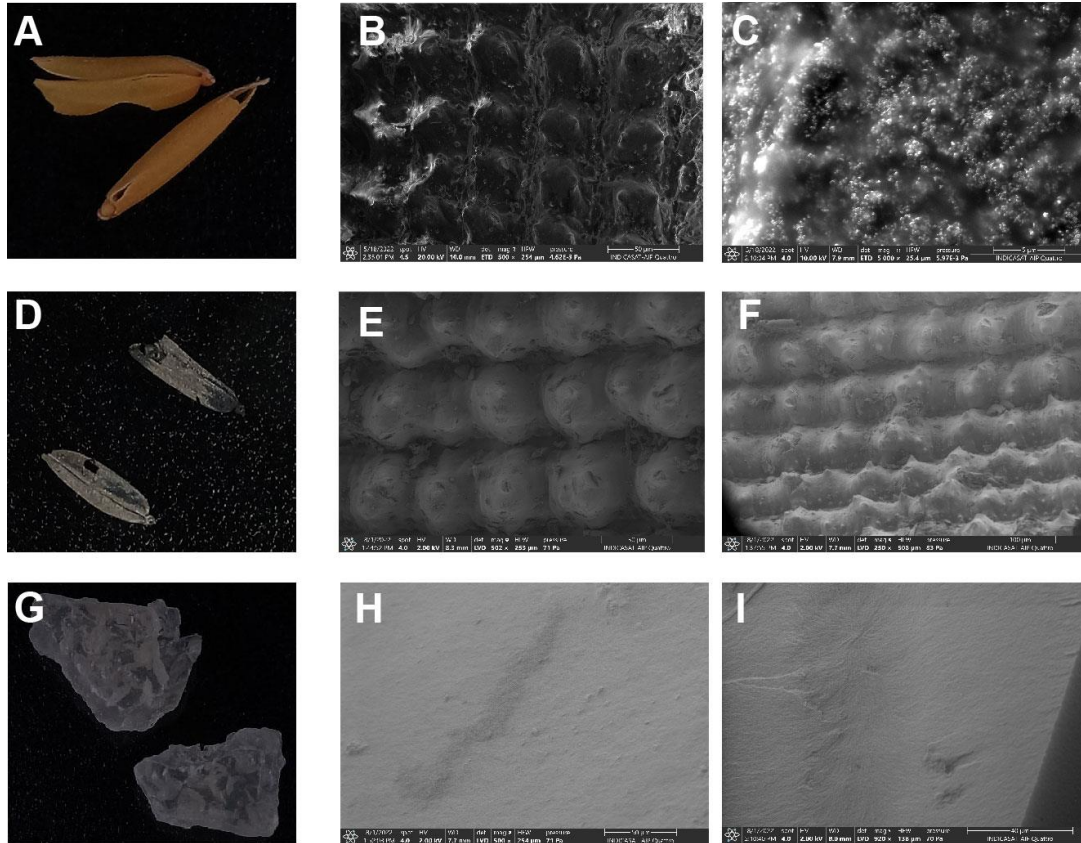
Gráfica 1: Relación entre el pH de solución y el tiempo de gelación



Fuente: Gabriel Moreno (2022)



### 4.3 RESULTADO 3: Caracterización de los andamios tridimensionales (3D) por microscopía electrónica de barrido (SEM)



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 17: Caracterización de los materiales.** (A) Muestra de la cascarilla de arroz utilizada para la síntesis. (B) Imagen SEM de la cascarilla para observar su topografía y (C) comprobar su composición silícea. (D) Muestra del carbonizado de cáscara de arroz y (E-F) su estructura porosa. (G) Muestra de xerogeles obtenidos y (H-I) la topografía del material.

La caracterización de estos materiales tanto para la morfología como la topografía se realizó mediante la técnica microscopía electrónica de barrido (SEM) con un microscopio Thermo Scientific Quattro S, para observar de forma altamente detallada su topografía y estructura. Con este tipo de microscopio, se obtuvo imágenes por exploración con un haz de electrones de alto voltaje de 20kv como se observa en la figura 14 (E-F, H-I), 20kv como se muestra en la figura 14 (B) y 10kv como se expone en la figura 14 (C). Los electrones al chocar con los átomos

de los xerogeles producen señales que muestran información de la topografía de estos.

En la figura 14 (B) se ve la estructura clásica de la cascarilla a nivel microscópico la cual es de estructura densa cubierta con protuberancias ordenadas que contienen sílice en su exterior y a la vez se puede observar una topografía superficial sin ningún poro y en la figura 14 (C) se pueden observar nanopartículas de sílice confirmando de esta manera que la cascarilla contiene un porcentaje de este elemento en su composición, para tener un material con mayor porcentaje silíceo es necesario someterlo a altas temperaturas.

Con respecto a la cascarilla carbonizada, se pueden observar en la figura 14 (E-F) su superficie exterior elevaciones con estructuras porosas lo que significa que la sílice permanece y aumenta su porcentaje en el material porque durante la combustión, se expone la estructura porosa reticular interna con alto contenido de sílice y la superficie exterior de la cáscara de arroz se desprende total o parcialmente y los demás componentes orgánicos se eliminan de tal manera se confirma que gracias a las altas temperaturas se puede obtener material con mayor porcentaje silíceo.

Al obtener las imágenes SEM del xerogel se puede observar en la figura 14 (H-I) que su topografía, en su superficie presenta algunos relieves (producto de posibles movimientos al momento de la gelación y posterior formación del gel) y poros. Su superficie no es en su totalidad lisa, sin embargo, posee áreas con pocas perturbaciones y sin fisuras lo que lo convierte en un material apto para poder realizar pruebas de cultivos celulares.

#### **4.4 RESULTADO 4: Desarrollar cultivos celulares en andamios tridimensionales (proyección a futuro).**

Resultado 4.1: Generación de xerogeles silicicos, con contenido de cáscara de huevo, como posible estrategia en aplicaciones in vitro:

Una de las finalidades que se requiere como proyección a futuro de estos materiales es el cultivo de células óseas. Según los principios de biomimética se debe emular el entorno natural de las células. La cáscara de huevo contiene un alto contenido de carbonato de calcio al igual que el hueso.

Por lo tanto, una opción interesante es producir xerogeles con contenido de cascarilla de huevo. Para esto se debe determinar el rango del porcentaje peso-volumen en el que la solución gela bien y mantiene su estructura.

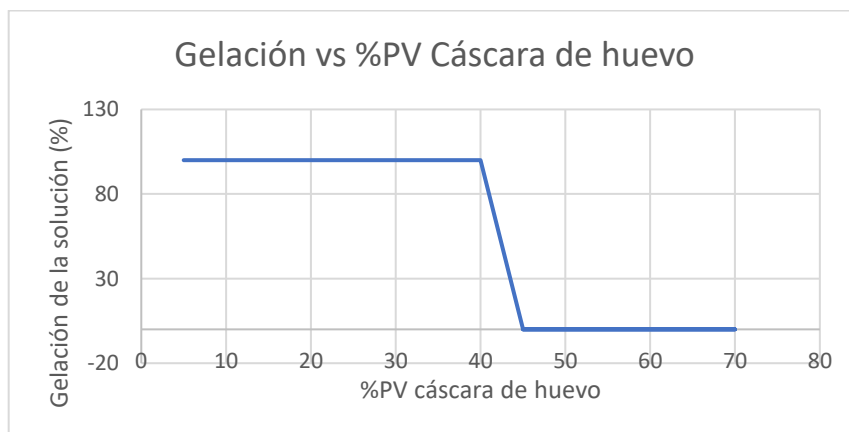
Para esto, la cáscara de huevo se trituró utilizando un mortero con el fin de obtener polvo de cáscara de huevo para que se pudiera mezclar con la solución en gelación y se produjeron hidrogeles para agregarle la cáscara de huevo a diferentes porcentajes peso-volumen. El rango de los porcentajes con el que se realizó la prueba fue: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 y 75.

Tabla 2: % de Gelación según el % PV de cáscara de huevo

%PV	% Gelación
5	100
10	100
15	100
20	100
25	100
30	100
35	100
40	100
45	0
50	0
55	0
60	0
65	0
70	0
45	0

Fuente: Gabriel Moreno (2022)

Gráfica 2: Relación Gelación de solución-%Peso volumen



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

Se puede observar en el gráfico una caída cuando el porcentaje peso volumen es de 45% lo que sugiere que se debe trabajar con valores menores y en un rango de 5 a 40. Desde 45% la solución pierde sus características y se forma una especie de masa grumosa producto de la combinación del alto contenido de cáscara de huevo indicando que no se puede trabajar de forma correcta con estos porcentajes tan altos de cáscara de huevo. De 5 a 40 el gel mantiene su estructura y se puede observar que no se forman grumos y que no afecta en su gelación, ya que se forma el material sin problemas.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

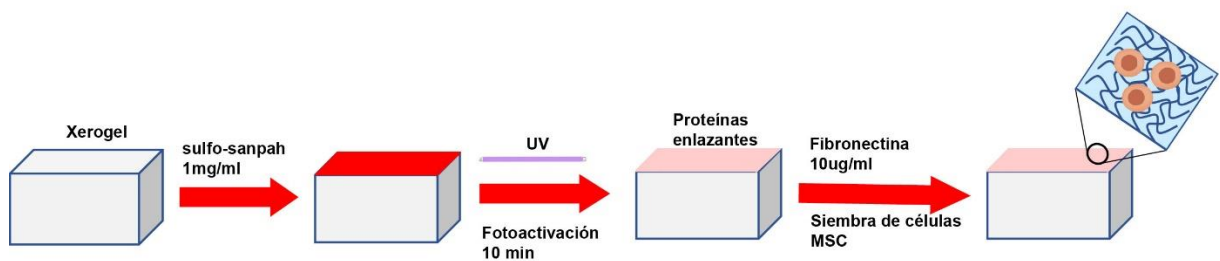
**Figura 18: Resultado de la prueba de %PV.** Experimento del porcentaje peso volumen agregando cascarilla de huevo triturada a los diferentes pocillos con diferentes porcentajes.

Desde los pocillos (A1-6, C1-2) correspondientes a los porcentajes 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 se puede observar que la solución geló sin problemas y se obtiene un material estable con contenido de cáscara de huevo. En los pocillos (C3-6) y (D3-5) correspondientes a los porcentajes más altos de 45, 50, 55, 60, 65, 70 y 75 se puede observar como no geló bien y la formación de grumos producto del exceso de cáscara de huevo molida en la solución por lo tanto no es óptimo trabajar con estos porcentajes.

Resultado 4.1: Generación de xerogeles silicicos, con contenido de cáscara de huevo, como posible estrategia en aplicaciones in vitro:

Resultado 4.2: Materiales silicicos derivados de cascarilla de arroz, como posible estrategia en aplicaciones in vitro:

En esta etapa, se desarrollan los cultivos de células mesenquimales en el laboratorio y la implementación de un estudio de interacción célula-andamio, como posible estrategia de estudio en lesiones óseas.



Fuente: Gabriel Moreno (2022)

**Figura 19: Modelo de interacción andamio-célula.** Modelo propuesto de la forma en que el xerogel puede interactuar con la célula. Necesitaría una proteína enlazante fotoactiva para mejorar la adherencia celular.

La proyección a futuro de esta investigación es estudiar los materiales obtenidos para poder ser utilizados en aplicaciones es cultivo celular. El objetivo es lograr una buena viabilidad de células en los andamios. Una de las características de estos materiales es su porosidad por lo tanto podrían ser aptos para realizar

cultivos de células. Se podría investigar cómo reaccionan las células a los andamios sintetizados de forma general y en aquellos que contienen composición de cáscara de huevo. Con estos últimos, sería interesante la siembra de osteoblastos, ya que el entorno sería parecido al tejido óseo.

Para usar este material, se pueden hacer pruebas con el medio que se utiliza normalmente para crecimiento celular con el fin de estudiar cómo reacciona el material ante este tipo de solución. Las células crecen en un pH de 7 por lo tanto es importante conocer si el pH del medio de crecimiento se mantiene estable al estar en contacto con este biomaterial.

Otra característica de estos materiales es que su superficie por naturaleza no permite la adherencia celular por lo tanto se requeriría utilizar proteínas fotoenlazantes (crosslinkers) para ayudar y mejorar la adherencia del material.

Generalmente, después de sembrar células en xerogeles, para su estudio se fijan y se les hace un recubrimiento con algún conductor para que puedan ser analizados con la ayuda de un microscopio electrónico de barrido y de esta forma determinar si hubo un correcto enganche. Para la fijación se utiliza glutaraldehído, se deshidratan en series graduadas de etanol, se les hace el recubrimiento con oro y se observa en el microscopio SEM.

Estos procesos pueden ser aplicados en los andamios obtenidos (xerogeles) como continuación de la investigación para comprobar su interacción con las células a utilizar (pueden ser células madre mesenquimales u osteoblastos).

## **DISCUSIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS**

Como se planteó en esta investigación la cascarilla de arroz es de fácil obtención al ser Panamá uno de los principales países productores de arroz de la región lo que significa que a la par de la producción se genera igual cantidad de desecho.

El aprovechamiento de la cascarilla de arroz es de alto impacto en áreas de reutilización y economía circular porque se cumple con los objetivos de utilizar desechos como materia prima para crear tecnologías de innovación para la sociedad en este caso en el sector de salud.

Estudios realizados a nivel mundial indican la presencia de sílice en diferentes muestras vegetales como en la mazorca de maíz, el bagazo, la cáscara de trigo, cascarilla de arroz entre otros, pero se resalta el contenido porcentual de sílice en la cascarilla de arroz por ser mayor al resto y se ha comprobado que es un precursor excelente de sílice.

Por lo tanto, se selecciona este material para este tipo de investigaciones y síntesis de compuestos de silicio. La cascarilla de arroz de forma natural contiene aproximadamente 25% de sílice por lo que se han estudiado formas de aprovechar al máximo su composición interna que contiene más porcentaje aún. Se ha llegado a la conclusión de que para aprovechar al máximo la cascarilla de arroz de gran cantidad de sílice en su composición es necesario eliminar su capa externa. Por ello, se han estudiado los métodos de pirólisis, gasificación, torrefacción y combustión para tal fin.

Según los resultados obtenidos con la cascarilla de arroz, después de la gasificación, la estructura porosa interna con alto contenido de sílice de la cascarilla queda expuesta debido a que se calcinó la parte externa junto con los demás compuestos orgánicos que la componen y la sílice permanece como estructura en la cáscara. Esto se puede observar mediante imágenes microscópicas de alto nivel como una imagen SEM donde se puede apreciar sus características topográficas y estructurales con gran detalle.



Para la obtención de andamios silícicos se decidió por implementar el método sol-gel porque involucra la transformación de una sustancia totalmente líquida a un material en estado sólido (en forma de gel) y porque este método es ampliamente utilizado para desarrollar biomateriales para ser utilizados en ingeniería de tejido óseo.

Se utilizó el hidróxido de sodio para solubilizar las biomineralizaciones de sílice que se encuentran en altas cantidades en la cascarilla de arroz carbonizada en forma de silicato de sodio el cual es un reactivo clave en la síntesis del andamio.

La etapa del lavado con la solución de ácido acético es clave también para recuperar el sílice adherido a la cascarilla que no se extrajo en la formación del silicato de sodio, se utiliza como ventaja porque esta solución ácida contiene una parte de la sílice del material final, el resto está en el silicato de sodio que al agregarse a la solución ácida garantiza la composición silícica final en el andamio (hidrogel o xerogel).

Para obtener el hidrogel se agrega el silicato de sodio por goteo para evitar precipitado blanco en la solución porque lo que se requiere es un material con la menor cantidad de imperfecciones al momento de la gelación ya que afectaría la obtención del material final (xerogel). Durante esta mezcla, la composición de la solución va cambiando en términos de viscosidad y pH este último es otro factor clave para generar un buen material.

La variable de pH de la solución influye en la obtención del andamio de la siguiente forma: al mezclar la solución ácida con el silicato el pH irá aumentando gradualmente

A medida que se va agregando influye en el tiempo de gelación del hidrogel como se comprobó en el experimento de relación pH-tiempo y como se puede observar en la curva en la gráfica 1. El pH de solución entre 5.5 y 6 permite servir en los moldes de manera cuidadosa en el sentido que la solución al estar en un pH de 5 hasta 6 demora unos minutos en gelar. Si el pH supera la medida de 7 gela

rápida y la solución puede quedar en el recipiente donde se produce y se puede perder un trabajo de muchas horas. Esto se dedujo con la determinación de la gelación según el pH donde se variaron los pH de la solución y se obtuvo que a mayor pH el tiempo de gelación disminuye.

Cuando la solución es servida se espera a que se complete el proceso de gelación y se debe tratar con cuidado para no dañar el hidrogel.

El procedimiento realizado en esta investigación es de carácter secuencial por lo que una vez obtenido el hidrogel no se puede detener. Inmediatamente se continúa con el proceso de maduración en agua destilada que sirve para generar hidrogeles más resistentes y para que adquieran más transparencia.

Cuando se forma el hidrogel no se puede pasar directamente al cambio de solvente con isopropanol porque en la etapa de maduración de Ostwald la estructura silicia del hidrogel se fortalece para resistir el encogimiento durante el secado.

La función de los cambios de solvente es iniciar la eliminación de agua contenida en el material. Durante los cambios el hidrogel está en un ambiente saturado de vapor de isopropanol de esta manera se impide que absorba vapor de agua atmosférica. El último cambio de solvente debe ser con isopropanol al grado más puro que se tenga. El hidrogel contendrá en su interior isopropanol en vez de agua como se encontraba al inicio.

El isopropanol alojado en los poros del hidrogel procederá a evaporarse durante la etapa de secado secuencial. Es en esta etapa donde se completa el proceso sol-gel debido a la total eliminación de líquido para obtener el xerogel final. Gracias a los procesos de maduración (adquiere rigidez) y cambio de solvente (adquiere resistencia al secado) se debe obtener un xerogel de estructura sólida y con poros en su interior. La estructura del xerogel se pudo comprobar con imágenes de microscopía electrónica de barrido las cuales presentan las características

previamente descritas. Si se llegara a obtener polvo luego del secado significa que alguna etapa no se realizó de forma correcta

Cada etapa del proceso realizado es importante y tiene su objetivo específico para obtener el producto final deseado.

El propósito de obtener estos andamios es aprovechar sus características para poder ser utilizados en estudios en ingeniería de tejidos. Específicamente, se trabaja con este tipo de materiales en la ingeniería de tejido óseo donde se cultivan células para el estudio de viabilidad y diferenciación.

Para terapias de tumor óseo se han reforzado los xerogeles de sílice con nanocristales de hidroxiapatita para la entrega de bisfosfonato de platino. Gracias al alto contenido de carbonato de calcio en la hidroxiapatita, los andamios que contienen este material han arrojado resultados positivos en pruebas de biocompatibilidad.

También, se han sembrado de forma directa osteoblastos para observar si hay formación de hueso en los andamios producidos de manera que se puedan realizar otras pruebas importantes como la biocompatibilidad del material. Se requiere generar andamios parecidos al tejido óseo, por lo tanto, se hace énfasis en que el xerogel presenta estructura sólida y porosa.

Como el objetivo de diseñar estos andamios es que sean totalmente compatibles con el hueso y que posean una composición similar, se han realizado refuerzos de andamios con otro material rico en carbonato de calcio el cual es la cáscara de huevo.

La alternativa de agregar cáscara de huevo a la solución es interesante porque se puede crear un ambiente parecido al tejido óseo con el fin de cultivar células osteoblásticas. El rango de porcentaje peso-volumen para trabajar debe ser menor a 45 debido a que desde este valor el material no se forma correctamente. Esta afirmación se dedujo de la prueba de realizar hidrogeles a diferentes

porcentajes peso-volumen para estudiar en qué punto el material no presenta buenas características.

El método de síntesis aplicado en esta investigación es eficaz para la obtención de xerogeles de sílice. Para obtener los productos esperados (xerogeles) es importante realizar los procesos tal y como se detallan en la metodología de manera que se obtenga al final un material de buena estructura sólida y porosa.

El material obtenido al final, xerogel de sílice, posee propiedades prometedoras como porosidad y estructura rígida semejante al tejido óseo, para poder ser utilizado en aplicaciones biomedicina como cultivo celular *in vitro*.

## CONCLUSIONES

1. La combustión de la cascarilla de arroz es un proceso necesario para obtener mayor porcentaje de sílice en el material.
2. El torrefaccionado de cascarilla de arroz es excelente precursor de sílice para la aplicación de síntesis de andamios 3D.
3. El método de síntesis por la vía sol-gel aplicado en esta investigación es eficaz para la obtención de los andamios hidrogeles y xerogeles de sílice.
4. La variación de pH de la solución en el proceso de síntesis influye en la obtención del andamio en el tiempo de gelación.
5. La etapa de maduración de Ostwald sirve para fortalecer la estructura silícica del hidrogel, decolorarlo y para que resista el encogimiento durante el secado.
6. Los cambios de solvente sirven para evitar la ruptura del hidrogel y para eliminar partículas de agua dentro del material.
7. El proceso de secado secuencial influye en el tamaño final del material.
8. El xerogel de sílice al ser poroso y de estructura sólida se asemeja al tejido óseo y puede ser utilizado para posteriores aplicaciones biomédicas.

## RECOMENDACIONES Y LIMITACIONES

Basado en la experiencia obtenida en la realización de esta esta investigación se expondrán un conjunto de recomendaciones y limitaciones que se consideran pertinentes para estudios posteriores o continuación de esta investigación.

### Recomendaciones

Esta investigación requiere destrezas en áreas de química para saber preparar soluciones y conocer los compuestos con los que se trabaja y también en el área de laboratorio para el manejo de instrumentos, materiales y en temas de bioseguridad como el uso de la bata, guantes y gafas protectoras. Antes de proceder, es necesario que el investigador se capacite de buena manera en estos temas.

Se deben investigar y seguir las instrucciones de los protocolos establecidos para evitar obtener resultados no deseados o fallos en la práctica.

Al desarrollar la investigación en un laboratorio multidisciplinario generalmente los recursos son compartidos en el sentido de que las pinzas, tijeras, vasos químicos, pipeteadores eléctricos, parafilm y demás son utilizados por todos. Para evitar problemas al momento de hacer la síntesis se debe preparar todos los materiales necesarios antes de empezar porque pueden ser ocupados por los demás mientras se realiza el proceso.

Algunos reactivos utilizados se compran en el extranjero, por lo que se debe estar pendiente de la cantidad restante y avisar al administrador de laboratorio con tiempo, porque de acabarse tardaría en llegar y puede ralentizar el desarrollo de la investigación por varias semanas.

Al momento de mezclar el silicato de sodio con la solución ácida se debe respetar el volumen del sol establecido de 25 ml, una varianza puede ocasionar que demore mucho más de la cuenta en gelar la solución por lo tanto se debe evaporar el silicato y la solución ácida para evitar problemas en este paso.

## **Limitaciones**

El desarrollo de esta investigación tuvo pocas limitaciones, entre las que surgieron están:

El hidrogel se sintetiza con ácido acético y queda presente en su estructura interna una vez obtenido cierto porcentaje de este químico por lo que se debe encontrar una forma de reducir la concentración de ácido en este material para poder ser utilizado en futuras aplicaciones. Además, no hay políticas de desechos químicos en la Universidad.

Para el estudio de las diferentes muestras por medio de microscopia electrónica de barrido es necesario tener a disposición un microscopio electrónico para tal fin. Este equipo se encuentra en pocos lugares de investigación en la ciudad de Panamá y su uso está sujeto a la disponibilidad de los pocos operarios calificados y a otros factores externos.

Uno de los laboratorios no cuenta con suministro de agua lo cual dificulta las actividades experimentales, además es algo prioritario en los laboratorios científicos. Es una gran limitante por resolver.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbasi, Z., Bahrololoom, M., Shariat, M. H., & Bagheri, R. (2015). Bioactive Glasses in Dentistry: A Review. *Journal of Dental Biomaterial*.
- Abdul Khalil, H. P. S., Yahya, E. B., Tajarudin, H. A., Balakrishnan, V., & Nasution, H. (2022). Insights into the Role of Biopolymer-Based Xerogels in Biomedical Applications. *Gels (Basel, Switzerland)*, 8(6), 334. <https://doi.org/10.3390/GELS8060334>
- Adeosun, S. O., Ilomuanya, M. O., Gbenebor, O. P., Dada, M. O., Odili, C. C., Adeosun, S. O., Ilomuanya, M. O., Gbenebor, O. P., Dada, M. O., & Odili, C. C. (2020). Biomaterials for Drug Delivery: Sources, Classification, Synthesis, Processing, and Applications. *Advanced Functional Materials*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.93368>
- Aghmiuni, A. I., Baei, M. S., Keshel, S. H., & Khiyavi, A. A. (2020). Design of Novel 3D-Scaffold as a Potential Material to Induct Epidermal-Dermal Keratinocytes of Human-Adipose-Derived Stem Cells and Promote Fibroblast Cells Proliferation for Skin Regeneration. *Fibers and Polymers*, 21(1), 33–44. <https://doi.org/10.1007/S12221-020-9402-1/METRICS>
- Ahadian, S., Sadeghian, R. B., Salehi, S., Ostrovidov, S., Bae, H., Ramalingam, M., & Khademhosseini, A. (2015). Bioconjugated Hydrogels for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Bioconjugate Chemistry*, 26(10), 1984–2001. [https://doi.org/10.1021/ACS.BIOCONJCHEM.5B00360/ASSET/IMAGES/MEDIUM/BC-2015-00360S\\_0006.GIF](https://doi.org/10.1021/ACS.BIOCONJCHEM.5B00360/ASSET/IMAGES/MEDIUM/BC-2015-00360S_0006.GIF)
- Akhter, F., Soomro, S. A., Jamali, A. R., Chandio, Z. A., Siddique, M., & Ahmed, M. (2021). Rice husk ash as green and sustainable biomass waste for construction and renewable energy applications: a review. *Biomass Conversion and Biorefinery 2021*, 1–11. <https://doi.org/10.1007/S13399-021-01527-5>



- Al-Harbi, N., Mohammed, H., Al-Hadeethi, Y., Bakry, A. S., Umar, A., Hussein, M. A., Abbassy, M. A., Vaidya, K. G., Al Berakdar, G., Mkawi, E. M., & Nune, M. (2021). Silica-Based Bioactive Glasses and Their Applications in Hard Tissue Regeneration: A Review. *Pharmaceuticals*, 14(2), 1–20.  
<https://doi.org/10.3390/PH14020075>
- Alhadhrami, A., Mohamed, G. G., Sadek, A. H., Ismail, S. H., Ebnalwaled, A. A., & Almalki, A. S. A. (2022). Behavior of Silica Nanoparticles Synthesized from Rice Husk Ash by the Sol-Gel Method as a Photocatalytic and Antibacterial Agent. *Materials (Basel, Switzerland)*, 15(22).  
<https://doi.org/10.3390/MA15228211>
- Alothman, Z. A. (2012). A Review: Fundamental Aspects of Silicate Mesoporous Materials. *Materials 2012, Vol. 5, Pages 2874-2902*, 5(12), 2874–2902.  
<https://doi.org/10.3390/MA5122874>
- Alshatwi, A. A., Athinarayanan, J., & Periasamy, V. S. (2015). Biocompatibility assessment of rice husk-derived biogenic silica nanoparticles for biomedical applications. *Materials Science and Engineering C*, 47, 8–16.  
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.11.005>
- Altuntaş, E., Özkan, B., & Yener, G. (2017). Porous scaffolds. *Nanobiomaterials Science, Development and Evaluation*, 27–59. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100963-5.00003-3>
- Alyosef, H. A., Eilert, A., Welscher, J., Ibrahim, S. S., Denecke, R., Schwieger, W., & Enke, D. (2013). Characterization of Biogenic Silica Generated by Thermo Chemical Treatment of Rice Husk. [Http://Dx.Doi.Org/10.1080/02726351.2013.782931](http://Dx.Doi.Org/10.1080/02726351.2013.782931), 31(5), 524–532.  
<https://doi.org/10.1080/02726351.2013.782931>
- Amado, S., Morouço, P., Pascoal-Faria, P., & NunoAlves. (2017). Tailoring Bioengineered Scaffolds for Regenerative Medicine. In *Biomaterials in Regenerative Medicine*. IntechOpen.

<https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.69857>

Amini, A. R., Laurencin, C. T., & Nukavarapu, S. P. (2012a). Bone tissue engineering: recent advances and challenges. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 40(5), 363–408.

<https://doi.org/10.1615/CRITREVBIOEMEDENG.V40.I5.10>

Amini, A. R., Laurencin, C. T., & Nukavarapu, S. P. (2012b). Bone tissue engineering: recent advances and challenges. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 40(5), 363–408.

<https://doi.org/10.1615/CRITREVBIOEMEDENG.V40.I5.10>

Amirhandeh, S. Z. H., Salem, A., & Salem, S. (2023). Treatment of tannery wastewater by silica nanoparticles produced from rice husk ash via a green route. *Environmental Science and Pollution Research International*, 30(5).

<https://doi.org/10.1007/S11356-022-23052-2>

Amran, M., Fediuk, R., Murali, G., Vatin, N., Karelina, M., Ozbakkaloglu, T., Krishna, R. S., Kumar, A. S., Kumar, D. S., & Mishra, J. (2021). Rice Husk Ash-Based Concrete Composites: A Critical Review of Their Properties and Applications. *Crystals 2021*, Vol. 11, Page 168, 11(2), 168.

<https://doi.org/10.3390/CRYST11020168>

Asefa, T., & Tao, Z. (2012). Biocompatibility of mesoporous silica nanoparticles. *Chemical Research in Toxicology*, 25(11), 2265–2284.

[https://doi.org/10.1021/TX300166U/ASSET/IMAGES/MEDIUM/TX-2012-00166U\\_0007.GIF](https://doi.org/10.1021/TX300166U/ASSET/IMAGES/MEDIUM/TX-2012-00166U_0007.GIF)

Athinarayanan, J., Periasamy, V. S., Alhazmi, M., Alatiah, K. A., & Alshatwi, A. A. (2015). Synthesis of biogenic silica nanoparticles from rice husks for biomedical applications. *Ceramics International*, 41(1), 275–281.

<https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2014.08.069>

Babaie, E., & Bhaduri, S. B. (2017). *Fabrication Aspects of Porous Biomaterials in Orthopedic Applications: A Review*.

<https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.7b00615>

Baino, F., Novajra, G., & Vitale-Brovarone, C. (2015). Bioceramics and scaffolds: A winning combination for tissue engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3, 202.

<https://doi.org/10.3389/FBIOE.2015.00202/BIBTEX>

Bakhshian Nik, A., Zare, H., Razavi, S., Mohammadi, H., Torab Ahmadi, P., Yazdani, N., Bayandori, M., Rabiee, N., & Izadi Mobarakeh, J. (2020). Smart drug delivery: Capping strategies for mesoporous silica nanoparticles. *Microporous and Mesoporous Materials*, 299, 110115.

<https://doi.org/10.1016/J.MICROMESO.2020.110115>

Barry, F. (2019). MSC Therapy for Osteoarthritis: An Unfinished Story. *Journal of Orthopaedic Research : Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, 37(6), 1229–1235. <https://doi.org/10.1002/JOR.24343>

Baykal, B. (2016). Mesenchymal stem cells for the treatment of various diseases. *Journal of Stem Cell Research and Medicine*, 1(2).

<https://doi.org/10.15761/JSCRM.1000110>

Bethancourt, G., James, A., Villarreal, J. E., & Marin-Calvo, N. (2019). Biomass carbonization - production and characterization of biochar from rice husks. *Proceedings - 2019 7th International Engineering, Sciences and Technology Conference, IESTEC 2019*, 40–45.

<https://doi.org/10.1109/IESTEC46403.2019.00016>

Bishop, E. S., Mostafa, S., Pakvasa, M., Luu, H. H., Lee, M. J., Wolf, J. M., Ameer, G. A., He, T. C., & Reid, R. R. (2017). 3-D bioprinting technologies in tissue engineering and regenerative medicine: Current and future trends. *Genes & Diseases*, 4(4), 185.

<https://doi.org/10.1016/J.GENDIS.2017.10.002>

Bose, S., Roy, M., & Bandyopadhyay, A. (2012). Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 546–554.

<https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2012.07.005>

- Bronzino, J. D., & Peterson, D. R. (2018). The Biomedical Engineering Handbook. In *The Biomedical Engineering Handbook*.  
<https://doi.org/10.1201/b18423>
- Caliari, S. R., & Burdick, J. A. (2016). A practical guide to hydrogels for cell culture. *NATURE METHODS* |, 13(5), 405.  
<https://doi.org/10.1038/nmeth.3839>
- Carrasco-Díaz, M. R., Castillejos-López, E., Cerpa-Naranjo, A., & Rojas-Cervantes, M. L. (2017). On the textural and crystalline properties of Fe-carbon xerogels. Application as Fenton-like catalysts in the oxidation of paracetamol by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Microporous and Mesoporous Materials*, 237, 282–293. <https://doi.org/10.1016/J.MICROMESO.2016.09.035>
- Chai, Q., Jiao, Y., & Yu, X. (2017). Hydrogels for Biomedical Applications: Their Characteristics and the Mechanisms behind Them. *Gels 2017, Vol. 3, Page 6*, 3(1), 6. <https://doi.org/10.3390/GELS3010006>
- Chaudhari, A. A., Vig, K., Baganizi, D. R., Sahu, R., Dixit, S., Dennis, V., Singh, S. R., & Pillai, S. R. (2016). Future Prospects for Scaffolding Methods and Biomaterials in Skin Tissue Engineering: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12). <https://doi.org/10.3390/IJMS17121974>
- Chen, Q., Baino, F., Spriano, S., Pugno, N. M., & Vitale-Brovarone, C. (2014). Modelling of the strength–porosity relationship in glass-ceramic foam scaffolds for bone repair. *Journal of the European Ceramic Society*, 34(11), 2663–2673. <https://doi.org/10.1016/J.JEURCERAMSOC.2013.11.041>
- Chen, R., Qu, H., Agrawal, A., Guo, S., & Ducheyne, P. (2013). Controlled release of small molecules from silica xerogel with limited nanoporosity. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, 24(1), 137–146.  
<https://doi.org/10.1007/S10856-012-4783-3>

- Cheng, A., Schwartz, Z., Kahn, A., Li, X., Shao, Z., Sun, M., Ao, Y., Boyan, B. D., & Chen, H. (2019). Advances in Porous Scaffold Design for Bone and Cartilage Tissue Engineering and Regeneration. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, 25(1), 14–29.  
<https://doi.org/10.1089/TEN.TEB.2018.0119/ASSET/IMAGES/LARGE/FIGURE7.JPEG>
- Cho, H., Kim, D., & Kim, K. (2018). Engineered Co-culture Strategies Using Stem Cells for Facilitated Chondrogenic Differentiation and Cartilage Repair. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 23(3), 261–270.  
<https://doi.org/10.1007/S12257-018-0149-0>
- Chocarro-Wrona, C., López-Ruiz, E., Perán, M., Gálvez-Martín, P., & Marchal, J. A. (2019). Therapeutic strategies for skin regeneration based on biomedical substitutes. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33(3), 484–496. <https://doi.org/10.1111/JDV.15391>
- Chung, J. J., Im, H., Kim, S. H., Park, J. W., & Jung, Y. (2020). Toward Biomimetic Scaffolds for Tissue Engineering: 3D Printing Techniques in Regenerative Medicine. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 1251. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2020.586406/BIBTEX>
- Cimino, M., Gonçalves, R. M., Bauman, E., Barroso-Vilares, M., Logarinho, E., Barrias, C. C., & Martins, M. C. L. (2018). Optimization of the use of a pharmaceutical grade xeno-free medium for in vitro expansion of human mesenchymal stem/stromal cells. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 12(3), e1785–e1795.  
<https://doi.org/10.1002/TERM.2588>
- Ciria, M., García, N. A., Ontoria-Oviedo, I., González-King, H., Carrero, R., De La Pompa, J. L., Montero, J. A., & Sepúlveda, P. (2017). Mesenchymal Stem Cell Migration and Proliferation Are Mediated by Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$  Upstream of Notch and SUMO Pathways. *Stem Cells and Development*,

26(13), 973. <https://doi.org/10.1089/SCD.2016.0331>

Ciriminna, R., Fidalgo, A., Pandarus, V., Béland, F., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. (2013). The Sol–Gel Route to Advanced Silica-Based Materials and Recent Applications. *Chemical Reviews*, 113(8), 6592–6620. <https://doi.org/10.1021/CR300399C>

Coalson, E., Bishop, E., Liu, W., Feng, Y., Spezia, M., Liu, B., Shen, Y., Wu, D., Du, S., Li, A. J., Ye, Z., Zhao, L., Cao, D., Li, A., Hagag, O., Deng, A., Liu, W., Li, M., Haydon, R. C., ... Reid, R. R. (2019). Stem cell therapy for chronic skin wounds in the era of personalized medicine: From bench to bedside. *Genes & Diseases*, 6(4), 342–358. <https://doi.org/10.1016/J.GENDIS.2019.09.008>

Danewalia, S. S., & Singh, K. (2021). Bioactive glasses and glass–ceramics for hyperthermia treatment of cancer: state-of-art, challenges, and future perspectives. *Materials Today Bio*, 10, 100100. <https://doi.org/10.1016/J.MTBIO.2021.100100>

Danks, A. E., Hall, S. R., & Schnepf, Z. (2016). The evolution of ‘sol–gel’ chemistry as a technique for materials synthesis. *Materials Horizons*, 3(2), 91–112. <https://doi.org/10.1039/C5MH00260E>

Davison, N. L., Barrère-de Groot, F., & Grijpma, D. W. (2014). Degradation of Biomaterials. *Tissue Engineering: Second Edition*, 177–215. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420145-3.00006-7>

Day, G. S., Drake, H. F., Zhou, H. C., & Ryder, M. R. (2021). Evolution of porous materials from ancient remedies to modern frameworks. *Communications Chemistry 2021 4:1*, 4(1), 1–4. <https://doi.org/10.1038/s42004-021-00549-4>

Demontiero, O., Vidal, C., & Duque, G. (2012). Aging and bone loss: new insights for the clinician. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, 4(2), 61–76. <https://doi.org/10.1177/1759720X11430858>

- Deng, Z., Wang, W., Xu, X., Nie, Y., Liu, Y., Gould, O. E. C., Ma, N., & Lendlein, A. (2021). Biofunction of Polydopamine Coating in Stem Cell Culture. *ACS Applied Materials and Interfaces*, *13*(9), 10748–10759.  
[https://doi.org/10.1021/ACSAMI.0C22565/SUPPL\\_FILE/AM0C22565\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACSAMI.0C22565/SUPPL_FILE/AM0C22565_SI_001.PDF)
- Dolcimascolo, A., Calabrese, G., Conoci, S., Parenti, R., Dolcimascolo, A., Calabrese, G., Conoci, S., & Parenti, R. (2019). Innovative Biomaterials for Tissue Engineering. *Biomaterial-Supported Tissue Reconstruction or Regeneration*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.83839>
- Eivazzadeh-Keihan, R., Chenab, K. K., Taheri-Ledari, R., Mosafer, J., Hashemi, S. M., Mokhtarzadeh, A., Maleki, A., & Hamblin, M. R. (2020). Recent advances in the application of mesoporous silica-based nanomaterials for bone tissue engineering. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, *107*. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2019.110267>
- El-Sherbiny, I. M., & Yacoub, M. H. (2013). Hydrogel scaffolds for tissue engineering: Progress and challenges. *Global Cardiology Science & Practice*, *2013*(3), 316. <https://doi.org/10.5339/GCSP.2013.38>
- Eltom, A., Zhong, G., & Muhammad, A. (2019). Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review. *Advances in Materials Science and Engineering*, *2019*.  
<https://doi.org/10.1155/2019/3429527>
- Farzan, A., Borandeh, S., Zanjanizadeh Ezazi, N., Lipponen, S., Santos, H. A., & Seppälä, J. (2020). 3D scaffolding of fast photocurable polyurethane for soft tissue engineering by stereolithography: Influence of materials and geometry on growth of fibroblast cells. *European Polymer Journal*, *139*, 109988.  
<https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2020.109988>
- Fellows, C. R., Matta, C., Zakany, R., Khan, I. M., & Mobasheri, A. (2016). Adipose, bone marrow and synovial joint-derived mesenchymal stem cells

- for cartilage repair. *Frontiers in Genetics*, 7(DEC), 213.  
<https://doi.org/10.3389/FGENE.2016.00213/BIBTEX>
- Fu, P., Hu, S., Xiang, J., Yi, W., Bai, X., Sun, L., & Su, S. (2012). Evolution of char structure during steam gasification of the chars produced from rapid pyrolysis of rice husk. *Bioresource Technology*, 114, 691–697.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.03.072>
- Gaharwar, A. K., Singh, I., & Khademhosseini, A. (2020). Engineered biomaterials for in situ tissue regeneration. *Nature Reviews Materials* 2020 5:9, 5(9), 686–705. <https://doi.org/10.1038/s41578-020-0209-x>
- Gandhimathi, C., Quek, Y. J., Ezhilarasu, H., Ramakrishna, S., Bay, B. H., & Srinivasan, D. K. (2019). Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells with Silica-Coated Gold Nanoparticles for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5135.  
<https://doi.org/10.3390/IJMS20205135>
- Gao, Y., Han, Y., Cui, M., Tey, H. L., Wang, L., & Xu, C. (2017). ZnO nanoparticles as an antimicrobial tissue adhesive for skin wound closure. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(23), 4535–4541.  
<https://doi.org/10.1039/C7TB00664K>
- Garg, T., Singh, O., Arora, S., & Murthy, R. S. R. (2012). Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 29(1), 1–63.  
<https://doi.org/10.1615/CRITREVTHERDRUGCARRIERSYST.V29.I1.10>
- Ghosh, S., & Webster, T. J. (2021). Mesoporous Silica Based Nanostructures for Bone Tissue Regeneration. *Frontiers in Materials*, 8, 213.  
<https://doi.org/10.3389/FMATS.2021.692309/BIBTEX>
- Gnecchi, M., Danieli, P., Malpasso, G., & Ciuffreda, M. C. (2016). Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cells in tissue repair. *Methods in Molecular Biology*, 1416, 123–146. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3584->



0\_7/COVER

Goel, A. (2015). Surgical Sutures - A Review. *The Official Scientific Journal of Delhi Ophthalmological Society*, 26(3), 159–162.

<https://doi.org/10.7869/DJO.161>

González-Muñoz, D., Gómez-Avilés, A., Molina, C. B., Bedia, J., Belver, C., Alemán, J., & Cabrera, S. (2022). Anchoring of 10-phenylphenothiazine to mesoporous silica materials: A water compatible organic photocatalyst for the degradation of pollutants. *Journal of Materials Science & Technology*, 103, 134–143. <https://doi.org/10.1016/J.JMST.2021.07.004>

Goujon, A., Mariani, G., Lang, T., Moulin, E., Rawiso, M., Buhler, E., & Giuseppone, N. (2017). Controlled Sol-Gel Transitions by Actuating Molecular Machine Based Supramolecular Polymers. *Journal of the American Chemical Society*, 139(13), 4923–4928.

[https://doi.org/10.1021/JACS.7B00983/ASSET/IMAGES/LARGE/JA-2017-00983Q\\_0005.JPEG](https://doi.org/10.1021/JACS.7B00983/ASSET/IMAGES/LARGE/JA-2017-00983Q_0005.JPEG)

Gu, S., Zhou, J., Yu, C., Luo, Z., Wang, Q., & Shi, Z. (2015). A novel two-staged thermal synthesis method of generating nanosilica from rice husk via pre-pyrolysis combined with calcination. *Industrial Crops and Products*, 65, 1–6.

<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2014.11.045>

Hammam, A., Lecomte-Nana, G., Azril, N., Daou, I., Peyratout, C., & Zibouche, F. (2019). Kaolinite-Magnesite Based Ceramics. Part I: Surface Charge and Rheological Properties Optimization of the Suspensions for the Processing of Cordierite-Mullite Tapes. *Minerals 2019, Vol. 9, Page 757*, 9(12), 757.

<https://doi.org/10.3390/MIN9120757>

Han, Y., Li, X., Zhang, Y., Han, Y., Chang, F., & Ding, J. (2019). Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells*, 8(8).

<https://doi.org/10.3390/CELLS8080886>

Hao, Z., Song, Z., Huang, J., Huang, K., Panetta, A., Gu, Z., & Wu, J. (2017).

- The scaffold microenvironment for stem cell based bone tissue engineering. *Biomaterials Science*, 5(8), 1382–1392.  
<https://doi.org/10.1039/C7BM00146K>
- He, F., Wang, X., & Wu, D. (2014). New approach for sol–gel synthesis of microencapsulated n-octadecane phase change material with silica wall using sodium silicate precursor. *Energy*, 67, 223–233.  
<https://doi.org/10.1016/J.ENERGY.2013.11.088>
- Hernandez, J. L., & Woodrow, K. A. (2022). Medical Applications of Porous Biomaterials: Features of Porosity and Tissue-Specific Implications for Biocompatibility. *Advanced Healthcare Materials*, 11(9), 2102087.  
<https://doi.org/10.1002/ADHM.202102087>
- Hori, H., Sakai, K., Ohashi, A., & Nakai, S. (2022). Chitin powder enhances growth factor production and therapeutic effects of mesenchymal stem cells in a chronic kidney disease rat model. *Journal of Artificial Organs : The Official Journal of the Japanese Society for Artificial Organs*.  
<https://doi.org/10.1007/S10047-022-01346-Z>
- Hoshikawa, N., Ono, Y., Shioda, H., Suzuki, T., Inomata, A., & Moriyasu, T. (2019). [Evaluation of the Cytotoxicity of Commercially Available Nail Adhesives]. *Yakugaku Zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 139(1), 135–140. <https://doi.org/10.1248/YAKUSHI.18-00148>
- Hossain, S. K. S., Mathur, L., & Roy, P. K. (2018). Rice husk/rice husk ash as an alternative source of silica in ceramics: A review. *Https://Doi.Org/10.1080/21870764.2018.1539210*, 6(4), 299–313.  
<https://doi.org/10.1080/21870764.2018.1539210>
- Hsu, K. F., Chiu, Y. L., Chiao, H. Y., Chen, C. Y., Chang, C. K., Wu, C. J., Peng, Y. J., Wang, C. H., Dai, N. T., Chen, S. G., & Tzeng, Y. S. (2021). Negative-pressure wound therapy combined with artificial dermis (Terudermis) followed by split-thickness skin graft might be an effective treatment option

- for wounds exposing tendon and bone: A retrospective observation study. *Medicine*, 100(14), e25395. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000025395>
- Huzum, B., Puha, B., Necoara, R. M., Gheorghevici, S., Puha, G., Filip, A., Sirbu, P. D., & Alexa, O. (2021). Biocompatibility assessment of biomaterials used in orthopedic devices: An overview (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 22(5). <https://doi.org/10.3892/ETM.2021.10750>
- Innocenzi, P. (2020). Understanding sol–gel transition through a picture. A short tutorial. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 94(3), 544–550. <https://doi.org/10.1007/S10971-020-05243-W>
- Jastrzębska, A. M., Jureczko, J., Karcz, J., Kunicki, A., Ziemkowska, W., & Olszyna, A. (2016). Controlled synthesis of graphene oxide/alumina nanocomposites using a new dry sol–gel method of synthesis. *Chemical Papers 2016 71:3*, 71(3), 579–595. <https://doi.org/10.1007/S11696-016-0040-4>
- Jazayeri, H. E., Rodriguez-Romero, M., Razavi, M., Tahriri, M., Ganjawalla, K., Rasoulianboroujeni, M., Malekoshoarai, M. H., Khoshroo, K., & Tayebi, L. (2018). The cross-disciplinary emergence of 3D printed bioceramic scaffolds in orthopedic bioengineering. *Ceramics International*, 44(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2017.09.095>
- Jiang, Y., Zhang, P., Zhang, X., Lv, L., & Zhou, Y. (2021). Advances in mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of osteoporosis. *Cell Proliferation*, 54(1), e12956. <https://doi.org/10.1111/CPR.12956>
- Jin, C. (2016). Porous Silica Xerogel. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.02335-3>
- Jing, X., Jiang, Y., Wang, Y., Liu, E., Cheng, R., Dai, J., Dai, X., Li, C., & Yan, Y. (2020). Phosphate removal using free-standing functionalized mesoporous silica films with excellent recyclability. *Microporous and Mesoporous Materials*, 296, 109953.

<https://doi.org/10.1016/J.MICROMESO.2019.109953>

Joyce, K., Fabra, G. T., Bozkurt, Y., & Pandit, A. (2021). Bioactive potential of natural biomaterials: identification, retention and assessment of biological properties. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2021 6:1, 6(1), 1–28. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00512-8>

Kajihara, K. (2018). Recent advances in sol–gel synthesis of monolithic silica and silica-based glasses. <https://doi.org/10.1016/j.jascer.2013.04.002>, 1(2), 121–133. <https://doi.org/10.1016/J.JASCER.2013.04.002>

Kargozar, S., Ramakrishna, S., & Mozafari, M. (2019). Chemistry of biomaterials: future prospects. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 10, 181–190. <https://doi.org/10.1016/J.COBME.2019.07.003>

Kargozar, S., Singh, R. K., Kim, H. W., & Baino, F. (2020). “Hard” ceramics for “Soft” tissue engineering: Paradox or opportunity? *Acta Biomaterialia*, 115, 1–28. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2020.08.014>

Katoueizadeh, E., Rasouli, M., & Zebarjad, S. M. (2020). A comprehensive study on the gelation process of silica gels from sodium silicate. *Journal of Materials Research and Technology*, 9(5), 10157–10165. <https://doi.org/10.1016/J.JMRT.2020.07.020>

Kaur, M., & Singh, K. (2019). Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications. *Materials Science and Engineering: C*, 102, 844–862. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2019.04.064>

Keane, T. J., & Badylak, S. F. (2014). Biomaterials for tissue engineering applications. *Seminars in Pediatric Surgery*, 23(3), 112–118. <https://doi.org/10.1053/J.SEMPEDSURG.2014.06.010>

Khan, F., & Tanaka, M. (2017). Designing Smart Biomaterials for Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1). <https://doi.org/10.3390/IJMS19010017>

- Kim, S., Park, J. Y., Gu, Y. M., Jang, I. S., Park, H., Oh, K. K., Lee, J. H., & Chun, J. (2021). Eco-friendly and facile synthesis of size-controlled spherical silica particles from rice husk. *Nanoscale Advances*, 3(24), 6965–6973.  
<https://doi.org/10.1039/D1NA00668A>
- Klein, L., Aparicio, M., & Jitianu Andrei. (2018). Handbook of Sol-Gel Science and Technology Processing, Characterization and Applications. In *Handbook of Sol-Gel Science and Technology: Processing, Characterization and Applications* (2nd ed.). Springer International Publishing.  
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-32101-1/COVER>
- Korotkova, T. G., Ksandopulo, S. J., Donenko, A. P., Bushumov, S. A., & Danilchenko, A. S. (2016). *ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY Physical Properties and Chemical Composition of the Rice Husk and Dust*. 32(6), 3213–3219. <https://doi.org/10.13005/ojc/320644>
- Kumar, S., Malik, M. M., & Purohit, R. (2017). Synthesis Methods of Mesoporous Silica Materials. *Materials Today: Proceedings*, 4(2), 350–357.  
<https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2017.01.032>
- Laranjeira, M., Domingues, R. M. A., Costa-Almeida, R., Reis, R. L., & Gomes, M. E. (2017). 3D Mimicry of Native-Tissue-Fiber Architecture Guides Tendon-Derived Cells and Adipose Stem Cells into Artificial Tendon Constructs. *Small*, 13(31), 1700689.  
<https://doi.org/10.1002/SMLL.201700689>
- Le, V. H., Thuc, C. N. H., & Thuc, H. H. (2013). Synthesis of silica nanoparticles from Vietnamese rice husk by sol-gel method. *Nanoscale Research Letters*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-58>
- Lei, Q., Guo, J., Nouredine, A., Wang, A., Wuttke, S., Brinker, C. J., & Zhu, W. (2020). Sol–Gel-Based Advanced Porous Silica Materials for Biomedical Applications. *Advanced Functional Materials*, 30(41), 1909539.  
<https://doi.org/10.1002/ADFM.201909539>

- Lepora, N. F., Verschure, P., & Prescott, T. J. (2013). The state of the art in biomimetics. *Bioinspiration & Biomimetics*, 8(1), 013001. <https://doi.org/10.1088/1748-3182/8/1/013001>
- Li, J., Chen, M., Fan, X., & Zhou, H. (2016). Recent advances in bioprinting techniques: approaches, applications and future prospects. *Journal of Translational Medicine* 2016 14:1, 14(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12967-016-1028-0>
- Li, S., Dong, S., Xu, W., Tu, S., Yan, L., Zhao, C., Ding, J., & Chen, X. (2018). Antibacterial Hydrogels. *Advanced Science*, 5(5). <https://doi.org/10.1002/ADVS.201700527>
- Lieder, R., Petersen, P. H., & Sigurjónsson, Ó. E. (2013). Endotoxins-the invisible companion in biomaterials research. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 19(5), 391–402. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEB.2012.0636>
- Ling, D., Gao, L., Wang, J., Shokouhimehr, M., Liu, J., Yu, Y., Hackett, M. J., So, P. K., Zheng, B., Yao, Z., Xia, J., & Hyeon, T. (2014). A General Strategy for Site-Directed Enzyme Immobilization by Using NiO Nanoparticle Decorated Mesoporous Silica. *Chemistry – A European Journal*, 20(26), 7916–7921. <https://doi.org/10.1002/CHEM.201403071>
- Liou, T. H., & Liou, Y. H. (2021). Utilization of Rice Husk Ash in the Preparation of Graphene-Oxide-Based Mesoporous Nanocomposites with Excellent Adsorption Performance. *Materials (Basel, Switzerland)*, 14(5), 1–21. <https://doi.org/10.3390/MA14051214>
- Liu, Y., Wu, J., Zhu, Y., & Han, J. (2014). Therapeutic application of mesenchymal stem cells in bone and joint diseases. *Clinical and Experimental Medicine*, 14(1), 13–24. <https://doi.org/10.1007/S10238-012-0218-1/METRICS>
- Loh, Q. L., & Choong, C. (2013). Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size.

- <https://Home.Liebertpub.Com/Teb>, 19(6), 485–502.  
<https://doi.org/10.1089/TEN.TEB.2012.0437>
- Ma, G. (2014). Microencapsulation of protein drugs for drug delivery: Strategy, preparation, and applications. *Journal of Controlled Release*, 193, 324–340.  
<https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2014.09.003>
- Mahla, R. S. (2016). Stem cells applications in regenerative medicine and disease therapeutics. *International Journal of Cell Biology*, 2016.  
<https://doi.org/10.1155/2016/6940283>
- Mahumane, G. D., Kumar, P., Du Toit, L. C., Choonara, Y. E., & Pillay, V. (2018). 3D scaffolds for brain tissue regeneration: architectural challenges. *Biomaterials Science*, 6(11), 2812–2837.  
<https://doi.org/10.1039/C8BM00422F>
- Maksoud, F. J., Velázquez de la Paz, M. F., Hann, A. J., Thanarak, J., Reilly, G. C., Claeysens, F., Green, N. H., & Zhang, Y. S. (2022). Porous biomaterials for tissue engineering: a review. *Journal of Materials Chemistry B*, 10(40), 8111–8165. <https://doi.org/10.1039/D1TB02628C>
- Malik, Q. ul A., Iftikhar, S., Zahid, S., Safi, S. Z., Khan, A. F., Nawshad, M., Ghafoor, S., Khan, A. S., & Tufail Shah, A. (2020). Smart injectable self-setting bioceramics for dental applications. *Materials Science and Engineering: C*, 113, 110956. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2020.110956>
- Mandal, A., Clegg, J. R., Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2020). Hydrogels in the clinic. *Bioengineering & Translational Medicine*, 5(2), e10158.  
<https://doi.org/10.1002/BTM2.10158>
- Mantha, S., Pillai, S., Khayambashi, P., Upadhyay, A., Zhang, Y., Tao, O., Pham, H. M., & Tran, S. D. (2019). Smart Hydrogels in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Materials*, 12(20).  
<https://doi.org/10.3390/MA12203323>

- Marchini, A., & Gelain, F. (2021). Synthetic scaffolds for 3D cell cultures and organoids: applications in regenerative medicine. *https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1932716*, 42(3), 468–486.
- Marchini, A., Raspa, A., Pugliese, R., Abd El Malek, M., Pastori, V., Lecchi, M., Vescovi, A. L., & Gelain, F. (2019). Multifunctionalized hydrogels foster hNSC maturation in 3D cultures and neural regeneration in spinal cord injuries. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(15), 7483–7492. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1818392116/SUPPL\\_FILE/PNAS.1818392116.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1818392116/SUPPL_FILE/PNAS.1818392116.SAPP.PDF)
- Mayakova, M. N., Kuznetsov, S. V., Fedorov, P. P., Voronov, V. V., Ermakov, R. P., Boldyrev, K. N., Karban', O. V., Uvarov, O. V., Baranchikov, A. E., & Osiko, V. V. (2013). Synthesis and characterization of fluoride xerogels. *Inorganic Materials*, 49(11), 1152–1156. <https://doi.org/10.1134/S0020168513110101/METRICS>
- Mazzoni, E., Mazziotta, C., Iaquinta, M. R., Lanzillotti, C., Fortini, F., D'Agostino, A., Trevisiol, L., Nocini, R., Barbanti-Brodano, G., Mescola, A., Alessandrini, A., Tognon, M., & Martini, F. (2021). Enhanced Osteogenic Differentiation of Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells by a Hybrid Hydroxylapatite/Collagen Scaffold. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 1658. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2020.610570/BIBTEX>
- MIDA. (2022). *Aumentan a 11 mil hectáreas, la siembra de arroz para este ciclo agrícola – Ministerio de Desarrollo Agropecuario | MIDA*. <https://mida.gob.pa/aumentan-a-11-mil-hectareas-la-siembra-de-arroz-para-este-ciclo-agricola/>
- Moayedi, H., Aghel, B., Abdullahi, M. M., Nguyen, H., & Safuan A Rashid, A. (2019). Applications of rice husk ash as green and sustainable biomass.



- Journal of Cleaner Production*, 237, 117851.  
<https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2019.117851>
- Mogoşanu, G. D., & Grumezescu, A. M. (2014). Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *International Journal of Pharmaceutics*, 463(2), 127–136. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2013.12.015>
- Mohamed, R. M., Mkhaliid, I. A., & Barakat, M. A. (2015). Rice husk ash as a renewable source for the production of zeolite NaY and its characterization. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(1), 48–53.  
<https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2012.12.013>
- Mohan, N., Gupta, V., Sridharan, B., Sutherland, A., & Detamore, M. S. (2014). The potential of encapsulating “raw materials” in 3D osteochondral gradient scaffolds. *Biotechnology and Bioengineering*, 111(4), 829–841.  
<https://doi.org/10.1002/BIT.25145>
- Moreno-Egea, A. (2013). Adhesivos tisulares sintéticos: lo que un cirujano de hernias y pared abdominal debe saber. *Revista Hispanoamericana de Hernia*, 1(3), 117–127. <https://doi.org/10.1016/J.REHAH.2013.04.001>
- Moreno-Navarrete, J. M., & Fernández-Real, J. M. (2017). Adipocyte differentiation. *Adipose Tissue Biology: Second Edition*, 69–90.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-52031-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-52031-5_3)
- Moritz, M., & Geszke-Moritz, M. (2015). Mesoporous materials as multifunctional tools in biosciences: Principles and applications. *Materials Science and Engineering: C*, 49, 114–151. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2014.12.079>
- Morris, A. H., Stamer, D. K., & Kyriakides, T. R. (2017). The host response to naturally-derived extracellular matrix biomaterials. *Seminars in Immunology*, 29, 72–91. <https://doi.org/10.1016/J.SMIM.2017.01.002>
- Munoz-Pinto, D. J., Grigoryan, B., Long, J., Grunlan, M., & Hahn, M. S. (2012). An approach for assessing hydrogel hydrophobicity. *Journal of Biomedical*

*Materials Research. Part A*, 100(10), 2855–2860.

<https://doi.org/10.1002/JBM.A.34289>

Nair, P. A. K., Vasconcelos, W. L., Paine, K., & Calabria-Holley, J. (2021). A review on applications of sol-gel science in cement. *Construction and Building Materials*, 291, 123065.

<https://doi.org/10.1016/J.CONBUILDMAT.2021.123065>

Najdanović, J., Rajković, J., & Najman, S. (2017). Bioactive biomaterials: Potential for application in bone regenerative medicine. *Biomaterials in Clinical Practice: Advances in Clinical Research and Medical Devices*, 333–360. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-68025-5\\_12/COVER](https://doi.org/10.1007/978-3-319-68025-5_12/COVER)

Nandhini, A., Sudhakar, T., & Premkumar, J. (2021). Ceramics and Nanoceramics in Biomedical Applications. *Handbook of Polymer and Ceramic Nanotechnology*, 763–779. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-40513-7\\_71](https://doi.org/10.1007/978-3-030-40513-7_71)

Nandiyanto, A. B. D., Rahman, T., Fadhlulloh, M. A., Abdullah, A. G., Hamidah, I., & Mulyanti, B. (2016). Synthesis of silica particles from rice straw waste using a simple extraction method. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 128(1), 012040. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/128/1/012040>

Naseri, N., Algan, C., Jacobs, V., John, M., Oksman, K., & Mathew, A. P. (2014). Electrospun chitosan-based nanocomposite mats reinforced with chitin nanocrystals for wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, 109, 7–15. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.03.031>

Neumann, A., Christel, A., Kasper, C., & Behrens, P. (2013). BMP2-loaded nanoporous silica nanoparticles promote osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *RSC Advances*, 3(46), 24222–24230. <https://doi.org/10.1039/C3RA44734K>

Nikolova, M. P., & Chavali, M. S. (2019). Recent advances in biomaterials for 3D

- scaffolds: A review. *Bioactive Materials*, 4, 271.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2019.10.005>
- Nita Babaso, P., & Sharanagouda, H. (2017). Rice Husk and Its Applications: Review. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 6(10), 1144–1156.  
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.610.138>
- Nugud, A., Alghfeli, L., Elmasry, M., El-Serafi, I., & El-Serafi, A. T. (2022). Biomaterials as a Vital Frontier for Stem Cell-Based Tissue Regeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 681.  
<https://doi.org/10.3389/FCELL.2022.713934/BIBTEX>
- Okoronkwo, E. A., Imoisili, P. E., Olubayode, S. A., & Olusunle, S. O. O. (2016). Development of Silica Nanoparticle from Corn Cob Ash. *Advances in Nanoparticles*, 05(02), 135–139. <https://doi.org/10.4236/ANP.2016.52015>
- Ornell, K. J., Mistretta, K. S., Newman, E., Ralston, C. Q., & Coburn, J. M. (2019). Three-Dimensional, Scaffolded Tumor Model to Study Cell-Driven Microenvironment Effects and Therapeutic Responses. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 5(12), 6742–6754.  
[https://doi.org/10.1021/ACSBMATERIALS.9B01267/SUPPL\\_FILE/AB9B01267\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACSBMATERIALS.9B01267/SUPPL_FILE/AB9B01267_SI_001.PDF)
- Owens, G. J., Singh, R. K., Foroutan, F., Alqaysi, M., Han, C. M., Mahapatra, C., Kim, H. W., & Knowles, J. C. (2016). Sol–gel based materials for biomedical applications. *Progress in Materials Science*, 77, 1–79.  
<https://doi.org/10.1016/J.PMATSCI.2015.12.001>
- Pagar, O. B., Nagare, H. S., Chine, Y. M., Autade, R. R., Narode, P. R., & Sanklecha, V. M. (2018). Mesoporous Silica: A Review. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*, 6, 1–12.  
<https://www.ijpda.com/index.php/journal/article/view/323>
- Palmero, P. (2015). Structural Ceramic Nanocomposites: A Review of Properties and Powders' Synthesis Methods. *Nanomaterials 2015, Vol. 5, Pages 656-*

696, 5(2), 656–696. <https://doi.org/10.3390/NANO5020656>

Parida, P., Behera, A., & Mishra, S. C. (2012). Classification of Biomaterials used in Medicine. *International Journal of Advances in Applied Sciences (IJAAS)*, 1(3), 31–35.

Patil, R., Dongre, R., & Meshram, J. (2014). Preparation of Silica Powder from Rice Husk. *Undefined*.

Paul, S. (2020). *Biomedical Engineering and its Applications in Healthcare - Google Libros* (Paul Sudip (ed.); 1st. ed 2019, Vol. 1). Springer Nature Singapore.

[https://books.google.com.pa/books?id=Ake9DwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pa/books?id=Ake9DwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Peressotti, S., Koehl, G. E., Goding, J. A., & Green, R. A. (2021). Self-Assembling Hydrogel Structures for Neural Tissue Repair. *Cite This: ACS Biomater. Sci. Eng*, 7, 4136–4163.

<https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.1c00030>

Peretti, E., Miletto, I., Stella, B., Rocco, F., Berlier, G., & Arpicco, S. (2018). Strategies to Obtain Encapsulation and Controlled Release of Pentamidine in Mesoporous Silica Nanoparticles. *Pharmaceutics*, 10(4).

<https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS10040195>

Perez, J. R., Kouroupis, D., Li, D. J., Best, T. M., Kaplan, L., & Correa, D. (2018). Tissue Engineering and Cell-Based Therapies for Fractures and Bone Defects. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6.

<https://doi.org/10.3389/FBIOE.2018.00105>

Perez, R. A., El-Fiqi, A., Park, J. H., Kim, T. H., Kim, J. H., & Kim, H. W. (2014). Therapeutic bioactive microcarriers: Co-delivery of growth factors and stem cells for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 10(1), 520–530.

<https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2013.09.042>

- Permatasari, N., Sucahya, T. N., & Nandiyanto, A. B. D. (2016). Review: Agricultural Wastes as a Source of Silica Material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 1(1), 82–106.  
<https://doi.org/10.17509/IJOST.V1I1.8619>
- Peter, J., Nechikkattu, R., Mohan, A., Maria Thomas, A., & Ha, C. S. (2021). Stimuli-responsive organic-inorganic mesoporous silica hybrids: A comprehensive review on synthesis and recent advances. *Materials Science and Engineering: B*, 270, 115232.  
<https://doi.org/10.1016/J.MSEB.2021.115232>
- Pilliar, R. M. (2015). Sol–gel surface modification of biomaterials. *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, 185–217.  
<https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-303-4.00006-5>
- Pote, A. K., Pande, V. V., Patel, V. P., Giri, M. A., Pund, A. U., & Shelke, N. V. (2020). State of the Art Review on Emerging Applications of Mesoporous Silica. *The Open Nanomedicine and Nanotechnology Journal*, 6(1), 12–20.  
<https://doi.org/10.2174/2666150002006010012>
- Powers, J. G., Higham, C., Broussard, K., & Phillips, T. J. (2016). Wound healing and treating wounds: Chronic wound care and management. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 74(4), 607–625.  
<https://doi.org/10.1016/J.JAAD.2015.08.070>
- Punj, S., Singh, J., & Singh, K. (2021). Ceramic biomaterials: Properties, state of the art and future prospectives. *Ceramics International*, 47(20), 28059–28074. <https://doi.org/10.1016/J.CERAMINT.2021.06.238>
- Qiu, Y. L., Chen, X., Hou, Y. L., Hou, Y. J., Tian, S. B., Chen, Y. H., Yu, L., Nie, M. H., & Liu, X. Q. (2019). Characterization of different biodegradable scaffolds in tissue engineering. *Molecular Medicine Reports*, 49(5), 4043–4056. <https://doi.org/10.3892/MMR.2019.10066/HTML>
- Qu, H., Fu, H., Han, Z., & Sun, Y. (2019). Biomaterials for bone tissue

- engineering scaffolds: a review. *RSC Advances*, 9(45), 26252–26262.  
<https://doi.org/10.1039/C9RA05214C>
- Rahman, M. S., Islam, M. M., Islam, M. S., Zaman, A., Ahmed, T., Biswas, S., Sharmeen, S., Rashid, T. U., & Rahman, M. M. (2019). *Morphological Characterization of Hydrogels*. 819–863. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-77830-3\\_28](https://doi.org/10.1007/978-3-319-77830-3_28)
- Raut, H. K., Das, R., Liu, Z., Liu, X., & Ramakrishna, S. (2020). Biocompatibility of Biomaterials for Tissue Regeneration or Replacement. *Biotechnology Journal*, 15(12), 2000160. <https://doi.org/10.1002/BIOT.202000160>
- Ravichandran, R., Venugopal, J. R., Sundarrajan, S., Mukherjee, S., Sridhar, R., & Ramakrishna, S. (2012). Composite poly-L-lactic acid/poly-( $\alpha,\beta$ )-DL-aspartic acid/collagen nanofibrous scaffolds for dermal tissue regeneration. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 32(6), 1443–1451. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2012.04.024>
- Rial, R., Tahoces, P. G., Hassan, N., Cordero, M. L., Liu, Z., & Ruso, J. M. (2019). Noble microfluidic system for bioceramic nanoparticles engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 102, 221–227.  
<https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2019.04.037>
- Risfaheri, R., Hoerudin, H., Risfaheri, R., Hoerudin, H., & Syakir, M. (2018). Utilization of Rice Husk for Production of Multifunctional Liquid Smoke. *Article in Journal of Advanced Agricultural Technologies*.  
<https://doi.org/10.18178/joaat.5.3.192-197>
- Rodrigo-Navarro, A., Sankaran, S., Dalby, M. J., del Campo, A., & Salmeron-Sanchez, M. (2021). Engineered living biomaterials. *Nature Reviews Materials* 2021 6:12, 6(12), 1175–1190. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00350-8>
- Ross, R. P., Hill, D., Sugrue, I., Arendt, E., Hill, C., & Stanton, C. (2017). Recent advances in microbial fermentation for dairy and health. *F1000Research*, 6.

<https://doi.org/10.12688/F1000RESEARCH.10896.1>

Rößler, S., Brückner, A., Kruppke, I., Wiesmann, H. P., Hanke, T., & Kruppke, B. (2021). 3D Plotting of Silica/Collagen Xerogel Granules in an Alginate Matrix for Tissue-Engineered Bone Implants. *Materials 2021, Vol. 14, Page 830, 14(4)*, 830. <https://doi.org/10.3390/MA14040830>

Sapawe, N., Surayah Osman, N., Zulkhairi Zakaria, M., Amirul Shahab Syed Mohamad Fikry, S., & Amir Mat Aris, M. (2018). Synthesis of green silica from agricultural waste by sol-gel method. *Materials Today: Proceedings, 5(10)*, 21861–21866. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2018.07.043>

Sarker, B., Lyer, S., Arkudas, A., & Boccaccini, A. R. (2013). Collagen/silica nanocomposites and hybrids for bone tissue engineering. *Nanotechnology Reviews, 2(4)*, 427–447. <https://doi.org/10.1515/NTREV-2013-0012>

Serra, M. F., Conconi, M. S., Gauna, M. R., Suárez, G., Aglietti, E. F., & Rendtorff, N. M. (2016). Mullite (3Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·2SiO<sub>2</sub>) ceramics obtained by reaction sintering of rice husk ash and alumina, phase evolution, sintering and microstructure. *Journal of Asian Ceramic Societies, 4(1)*, 61–67. <https://doi.org/10.1016/J.JASCER.2015.11.003>

Shadjou, N., & Hasanzadeh, M. (2015a). Bone tissue engineering using silica-based mesoporous nanobiomaterials:Recent progress. *Materials Science and Engineering: C, 55*, 401–409. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2015.05.027>

Shadjou, N., & Hasanzadeh, M. (2015b). Silica-based mesoporous nanobiomaterials as promoter of bone regeneration process. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A, 103(11)*, 3703–3716. <https://doi.org/10.1002/JBM.A.35504>

Sheikh, Z., Najeeb, S., Khurshid, Z., Verma, V., Rashid, H., & Glogauer, M. (2015). Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications. *Materials 2015, Vol. 8, Pages 5744-5794, 8(9)*, 5744–5794.

<https://doi.org/10.3390/MA8095273>

- Shen, Y. (2017). Rice husk silica derived nanomaterials for sustainable applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *80*, 453–466. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2017.05.115>
- Shen, Y., Zhao, P., & Shao, Q. (2014). Porous silica and carbon derived materials from rice husk pyrolysis char. *Microporous and Mesoporous Materials*, *188*, 46–76. <https://doi.org/10.1016/J.MICROMESO.2014.01.005>
- Shimojo, A. A. M., Rodrigues, I. C. P., Perez, A. G. M., Souto, E. M. B., Gabriel, L. P., & Webster, T. (2020). Scaffolds for tissue engineering: A state-of-the-art review concerning types, properties, materials, processing, and characterization. *Racing for the Surface: Antimicrobial and Interface Tissue Engineering*, 647–676. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-34471-9\\_23/COVER](https://doi.org/10.1007/978-3-030-34471-9_23/COVER)
- Singh, G., Ismail, I. S., Bilen, C., Shanbhag, D., Sathish, C. I., Ramadass, K., & Vinu, A. (2019). A facile synthesis of activated porous carbon spheres from d-glucose using a non-corrosive activating agent for efficient carbon dioxide capture. *Applied Energy*, *255*, 113831. <https://doi.org/10.1016/J.APENERGY.2019.113831>
- Solano-Umaña, V., & Vega-Baudrit, J. R. (2015). Micro, Meso and Macro Porous Materials on Medicine. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, *06(04)*, 247–256. <https://doi.org/10.4236/JBNB.2015.64023>
- Somasundaram, S. (2018). Silane coatings of metallic biomaterials for biomedical implants: A preliminary review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, *106(8)*, 2901–2918. <https://doi.org/10.1002/JBM.B.34151>
- Song, Y., Zhu, P., Wu, Y., Tan, L., Wei, W., Liu, S., Huang, Q., & Chen, J. (2019). Epsilon-poly-L-lysine decorated ordered mesoporous silica contributes to the synergistic antifungal effect and enhanced solubility of a



- lipophilic drug. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 99, 231–240. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2019.01.077>
- STEMCELL Technologies. (2015, June). *Mesenchymal Stromal Cells: Markers, Isolation and Culture, Differentiation, and Therapeutic Potential* .  
DOCUMENT # 29018 VERSION 4.0.0.  
<https://www.stemcell.com/mesenchymal-cells-lp.html>
- Su, P., Tian, Y., Yang, C., Ma, X., Wang, X., Pei, J., & Qian, A. (2018). Mesenchymal Stem Cell Migration during Bone Formation and Bone Diseases Therapy. *International Journal of Molecular Sciences 2018, Vol. 19, Page 2343, 19(8)*, 2343. <https://doi.org/10.3390/IJMS19082343>
- Suárez-Eiroa, B., Fernández, E., Méndez-Martínez, G., & Soto-Oñate, D. (2019). Operational principles of circular economy for sustainable development: Linking theory and practice. *Journal of Cleaner Production*, 214, 952–961. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.12.271>
- Suib, S. L. (2017). A Review of Recent Developments of Mesoporous Materials. *The Chemical Record*, 17(12), 1169–1183. <https://doi.org/10.1002/TCR.201700025>
- Sundaramurthi, D., Krishnan, U. M., & Sethuraman, S. (2014). Electrospun Nanofibers as Scaffolds for Skin Tissue Engineering. <Http://Dx.Doi.Org/10.1080/15583724.2014.881374>, 54(2), 348–376. <https://doi.org/10.1080/15583724.2014.881374>
- Tallia, F., Ting, H. K., Page, S. J., Clark, J. P., Li, S., Sang, T., Russo, L., Stevens, M. M., Hanna, J. V., & Jones, J. R. (2022). Bioactive, Degradable and Tough Hybrids Through Calcium and Phosphate Incorporation. *Frontiers in Materials*, 9, 430. <https://doi.org/10.3389/FMATS.2022.901196/BIBTEX>
- Tamar, Y., & Sasson, Y. (2013). Examination of the regime controlling sol–gel based colloidal silica aggregation. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 380, 35–41. <https://doi.org/10.1016/J.JNONCRY SOL.2013.08.018>

- Taveri, G., Grasso, S., Gucci, F., Toušek, J., Dlouhy, I., Taveri, G., Dlouhy, I., Grasso, S., Gucci, F., & Toušek, J. (2018). Bio-Inspired Hydro-Pressure Consolidation of Silica. *Advanced Functional Materials*, 28(48), 1805794. <https://doi.org/10.1002/ADFM.201805794>
- Thananukul, K., Kaewsaneha, C., Opaprakasit, P., Lebaz, N., Errachid, A., & Elaissari, A. (2021). Smart gating porous particles as new carriers for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 174, 425–446. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2021.04.023>
- Thevenet, F., Sivachandiran, L., Guaitella, O., Barakat, C., & Rousseau, A. (2014). Plasma–catalyst coupling for volatile organic compound removal and indoor air treatment: a review. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 47(22), 224011. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/47/22/224011>
- Thommes, M., Köhn, R., & Fröba, M. (2002). Sorption and pore condensation behavior of pure fluids in mesoporous MCM-48 silica, MCM-41 silica, SBA-15 silica and controlled-pore glass at temperatures above and below the bulk triple point. *Applied Surface Science*, 196(1–4), 239–249. [https://doi.org/10.1016/S0169-4332\(02\)00062-4](https://doi.org/10.1016/S0169-4332(02)00062-4)
- Troy, E., Tilbury, M. A., Power, A. M., & Wall, J. G. (2021). Nature-Based Biomaterials and Their Application in Biomedicine. *Polymers*, 13(19). <https://doi.org/10.3390/POLYM13193321>
- Tsao, C. T., Hsiao, M. H., Zhang, M. Y., Levengood, S. L., & Zhang, M. (2015). Chitosan-PEG hydrogel with sol-gel transition triggerable by multiple external stimuli. *Macromolecular Rapid Communications*, 36(3), 332–338. <https://doi.org/10.1002/MARC.201400586>
- Turmanova, S., Genieva, S., & Vlaev, L. (2012). Obtaining Some Polymer Composites Filled with Rice Husks Ash-A Review. *International Journal of Chemistry*, 4(4), p62. <https://doi.org/10.5539/IJC.V4N4P62>
- Turnbull, G., Clarke, J., Picard, F., Riches, P., Jia, L., Han, F., Li, B., & Shu, W.

- (2018). 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioactive Materials*, 3(3), 278–314.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2017.10.001>
- Vaibhav, V., Vijayalakshmi, U., & Roopan, S. M. (2015). Agricultural waste as a source for the production of silica nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 139, 515–520.  
<https://doi.org/10.1016/J.SAA.2014.12.083>
- Velmurugan, P., Shim, J., Lee, K. J., Cho, M., Lim, S. S., Seo, S. K., Cho, K. M., Bang, K. S., & Oh, B. T. (2015). Extraction, characterization, and catalytic potential of amorphous silica from corn cobs by sol-gel method. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 29, 298–303.  
<https://doi.org/10.1016/J.JIEC.2015.04.009>
- Verma, P., Kuwahara, Y., Mori, K., Raja, R., & Yamashita, H. (2020). Functionalized mesoporous SBA-15 silica: recent trends and catalytic applications. *Nanoscale*, 12(21), 11333–11363.  
<https://doi.org/10.1039/D0NR00732C>
- Vinogradov, A. V., & Vinogradov, V. V. (2014). Low-temperature sol-gel synthesis of crystalline materials. *RSC Advances*, 4(86), 45903–45919.  
<https://doi.org/10.1039/C4RA04454A>
- Wan, W., Cheng, B., Zhang, C., Ma, Y., Li, A., Xu, F., & Lin, M. (2019). Synergistic Effect of Matrix Stiffness and Inflammatory Factors on Osteogenic Differentiation of MSC. *Biophysical Journal*, 117(1), 129–142.  
<https://doi.org/10.1016/J.BPJ.2019.05.019>
- Wang, B., Prinsen, P., Wang, H., Bai, Z., Wang, H., Luque, R., & Xuan, J. (2017). Macroporous materials: microfluidic fabrication, functionalization and applications. *Chemical Society Reviews*, 46(3), 855–914.  
<https://doi.org/10.1039/C5CS00065C>
- Wang, W., & Yeung, K. W. K. (2017). Bone grafts and biomaterials substitutes for

- bone defect repair: A review. *Bioactive Materials*, 2(4), 224–247.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2017.05.007>
- Wang, Y., Du, X., Liu, Z., Shi, S., & Lv, H. (2019). Dendritic fibrous nano-particles (DFNPs): rising stars of mesoporous materials. *Journal of Materials Chemistry A*, 7(10), 5111–5152. <https://doi.org/10.1039/C8TA09815H>
- Wijianto, Sarjito, Aklis, N., Subroto, & Sulistyanto, A. (2021). The Effect Of Adhesive Variations (Starch, Liquid Smoke, and Used Oil), And The Form Of Rice Husk Briquette (Cylinder and Block) On The Performance Of The Gasification TLUD Method. *Journal of Physics: Conference Series*, 1858(1), 012001. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1858/1/012001>
- Williams, D. F. (2015). Regulatory biocompatibility requirements for biomaterials used in regenerative medicine. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26(2), 1–2. <https://doi.org/10.1007/S10856-015-5421-7/METRICS>
- Williams, D. F. (2019). Specifications for Innovative, Enabling Biomaterials Based on the Principles of Biocompatibility Mechanisms. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 255.  
<https://doi.org/10.3389/FBIOE.2019.00255>
- Wright, J. D., & Sommerdijk, N. A. J. M. (2018). Sol-Gel Materials : Chemistry and Applications. In *Sol-Gel Materials*. CRC Press.  
<https://doi.org/10.1201/9781315273808>
- Wu, I., & Elisseeff, J. (2014). Biomaterials and Tissue Engineering for Soft Tissue Reconstruction. *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*, 235–241.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396983-5.00015-6>
- Wu, J., Xu, F., Li, S., Ma, P., Zhang, X., Liu, Q., Fu, R., & Wu, D. (2019). Porous Polymers as Multifunctional Material Platforms toward Task-Specific Applications. *Advanced Materials*, 31(4), 1802922.  
<https://doi.org/10.1002/ADMA.201802922>

- Wu, S., Liu, X., Yeung, K. W. K., Liu, C., & Yang, X. (2014). Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 80(1), 1–36. <https://doi.org/10.1016/J.MSER.2014.04.001>
- Xu, X., Lü, S., Gao, C., Wang, X., Bai, X., Gao, N., & Liu, M. (2014). One-pot facile synthesis of silica reinforced double network hydrogels based on triple interactions. *Chemical Engineering Journal*, 240, 331–337. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2013.11.084>
- Yu, F., & Xiao, F.-S. (2021). Mesostructured materials. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823144-9.00006-6>
- Yue, S., He, H., Li, B., & Hou, T. (2020). Hydrogel as a Biomaterial for Bone Tissue Engineering: A Review. *Nanomaterials 2020, Vol. 10, Page 1511*, 10(8), 1511. <https://doi.org/10.3390/NANO10081511>
- Zhai, D., Xu, M., Liu, L., Chang, J., & Wu, C. (2017). Silicate-based bioceramics regulating osteoblast differentiation through a BMP2 signalling pathway. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(35), 7297–7306. <https://doi.org/10.1039/C7TB01931A>
- Zhang, H., Zhou, L., & Zhang, W. (2014). Control of Scaffold Degradation in Tissue Engineering: A Review. *Https://Home.Liebertpub.Com/Teb*, 20(5), 492–502. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEB.2013.0452>
- Zhang, W., Zhang, Y., Zhang, A., Ling, C., Sheng, R., Li, X., Yao, Q., & Chen, J. (2021). Enzymatically crosslinked silk-nanosilicate reinforced hydrogel with dual-lineage bioactivity for osteochondral tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 127, 112215. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2021.112215>
- Zhang, Yi, Hu, Z., Xu, G., Gao, C., Wu, R., & Zou, H. (2014). Elevating mitochondrial reactive oxygen species by mitochondria-targeted inhibition of superoxide dismutase with a mesoporous silica nanocarrier for cancer

therapy. *Nano Research* 2014 7:8, 7(8), 1103–1115.

<https://doi.org/10.1007/S12274-014-0473-4>

Zhang, Yongtao, Wu, D., Zhao, X., Pakvasa, M., Tucker, A. B., Luo, H., Qin, K. H., Hu, D. A., Wang, E. J., Li, A. J., Zhang, M., Mao, Y., Sabharwal, M., He, F., Niu, C., Wang, H., Huang, L., Shi, D., Liu, Q., ... El Dafrawy, M. (2020). Stem Cell-Friendly Scaffold Biomaterials: Applications for Bone Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 1449. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2020.598607/BIBTEX>

Zhang, Yu, Chang, M., Bao, F., Xing, M., Wang, E., Xu, Q., Huan, Z., Guo, F., & Chang, J. (2019). Multifunctional Zn doped hollow mesoporous silica/polycaprolactone electrospun membranes with enhanced hair follicle regeneration and antibacterial activity for wound healing. *Nanoscale*, 11(13), 6315–6333. <https://doi.org/10.1039/C8NR09818B>

Zhou, Yinghong, Han, S., Xiao, L., Han, P., Wang, S., He, J., Chang, J., Wu, C., & Xiao, Y. (2018). Accelerated host angiogenesis and immune responses by ion release from mesoporous bioactive glass. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(20), 3274–3284. <https://doi.org/10.1039/C8TB00683K>

Zhou, Yixian, Quan, G., Wu, Q., Zhang, X., Niu, B., Wu, B., Huang, Y., Pan, X., & Wu, C. (2018). Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica. B*, 8(2), 165. <https://doi.org/10.1016/J.APSB.2018.01.007>

Zhu, H., Zheng, K., & Boccaccini, A. R. (2021). Multi-functional silica-based mesoporous materials for simultaneous delivery of biologically active ions and therapeutic biomolecules. *Acta Biomaterialia*, 129, 1–17. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2021.05.007>

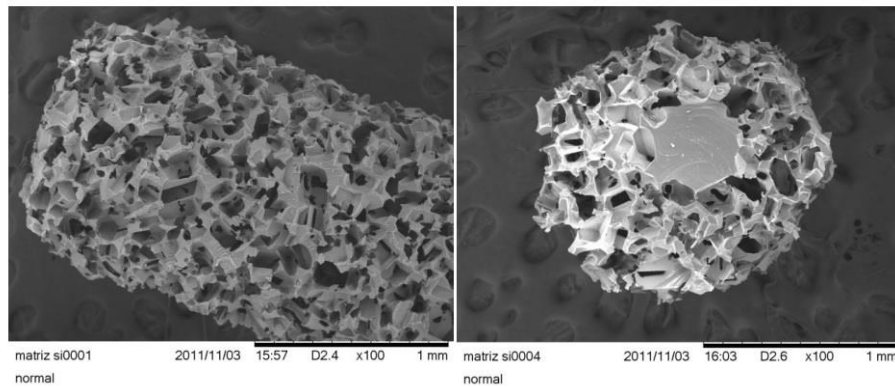
Zorkipli, N. N. M., Kaus, N. H. M., & Mohamad, A. A. (2016). Synthesis of NiO Nanoparticles through Sol-gel Method. *Procedia Chemistry*, 19, 626–631. <https://doi.org/10.1016/J.PROCHE.2016.03.062>

# **ANEXOS**

# **ANEXO A**

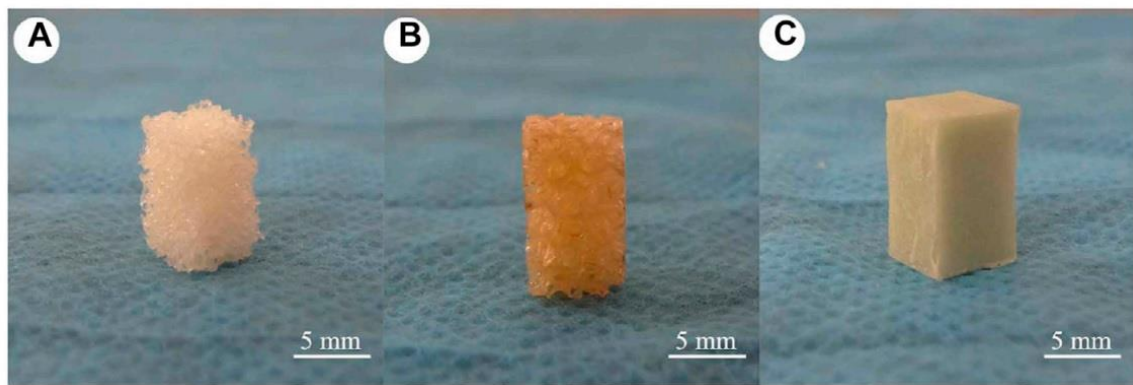
## **FIGURAS**





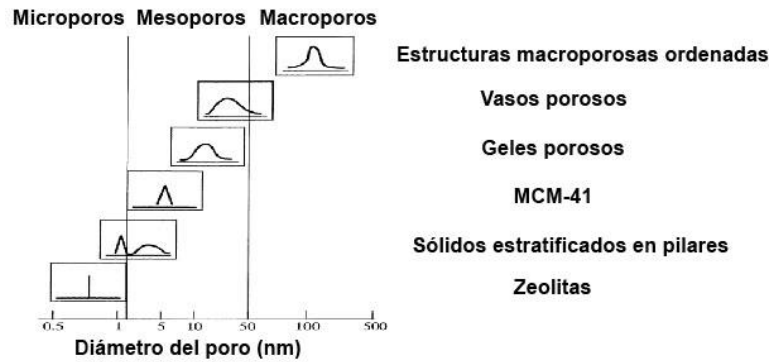
Fuente: Solano-Umaña & Vega-Baudrit (2015)

**ANEXO 1 Figura 20: Matrices porosas de sílice.** Sintetizadas con el uso de agentes formadores de poros, imágenes SEM 100x.



Fuente: Ghosh (2021)

**ANEXO 2 Figura 21: Andamios porosos.** Imágenes SEM de (B) nanopartículas de sílice preparados, (C) andamio de hidrogel modificado con sílice y (D) la imagen ampliada del andamio del hidrogel modificado con sílice.



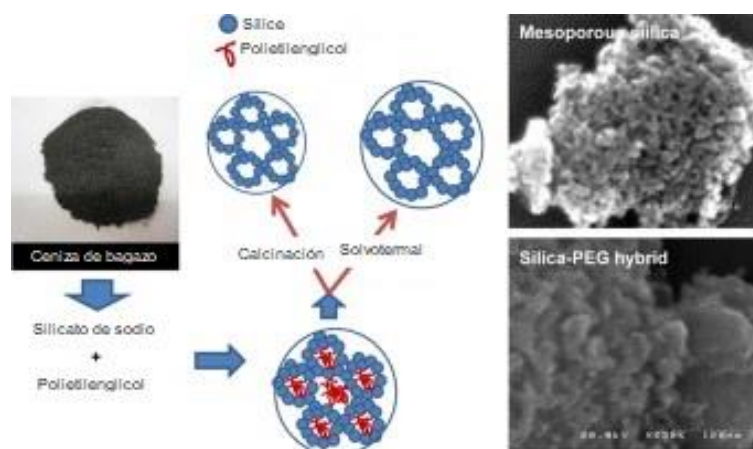
Fuente: ALothman(2012)

**ANEXO 3 Figura 22: Distribución del tamaño de poro de algunos materiales porosos.** Son considerados materiales microporosos cuando tienen diámetros de poro de hasta 2,0 nm; mesoporosos con tamaños de poro intermedios entre 2,0 y 50,0 nm; y materiales macroporosos, con tamaños de poro superiores a 50,0 nm.



Fuente: Zhang (2016)

**ANEXO 4. Figura 23: Obtención de material cerámico a partir del carbonizado de la cascarilla de arroz.**



Fuente: Rahman (2015)

**ANEXO 5. Figura 24: Obtención de material para estudios de biomedicina a partir del carbonizado de bagazo.**



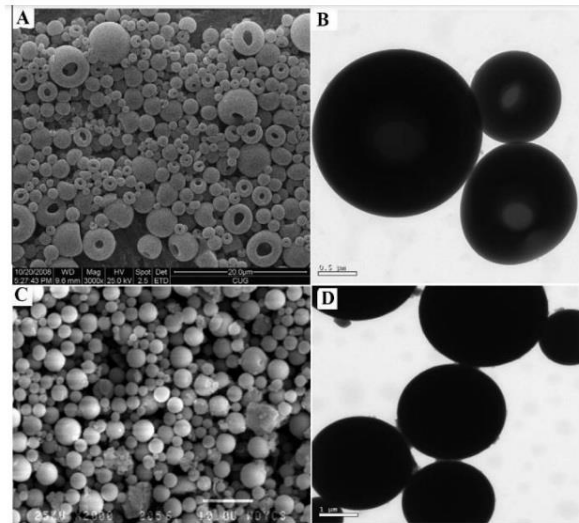
Fuente: Prabha (2021)

**ANEXO 6. Figura 25: Esquema de la composición silícica de la cascarilla de arroz, la mazorca del maíz y el bagazo**



Fuente: Babaso (2017)

**ANEXO 7 Figura 26: Reacción entre la sílice y el hidróxido de sodio.** Debido al alto contenido de sílice de la cáscara de arroz, se convierte en una fuente de una serie de compuestos de silicio.



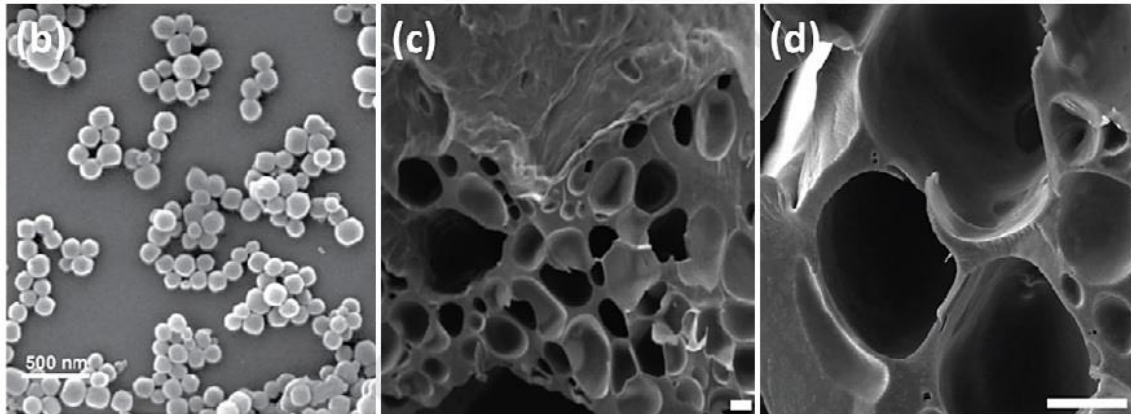
Fuente: Shen (2014)

**ANEXO 8 Figura 27: Imágenes microscópicas de los polvos de granulación de sílice de las cenizas de cáscara de arroz.** (A) imagen SEM, (B) imagen TEM; imágenes microscópicas de polvos de sílice de baja radiactividad; (C) Imagen MEB, (D) imagen TEM.



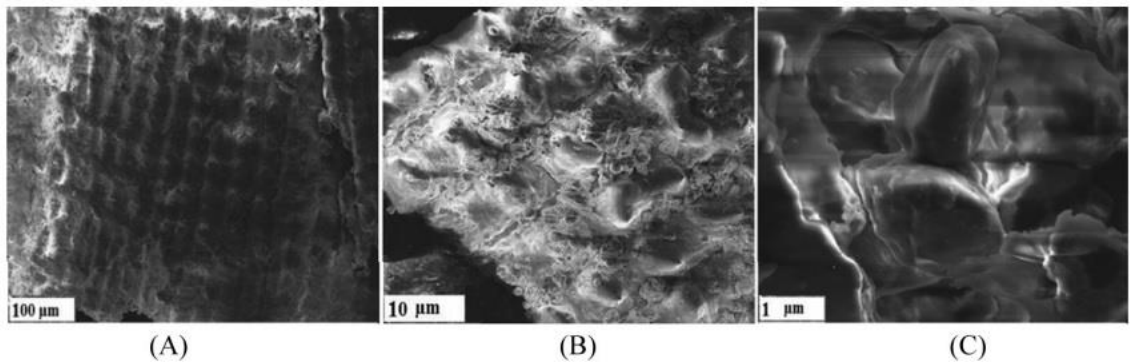
Fuente: Babaso (2017)

**ANEXO 9 Figura 28: Reacción entre la sílice del carbonizado y el hidróxido de sodio.** La nanosílice se sintetiza a partir de una solución de silicato de sodio mediante el método de precipitación.



Fuente: Eivazzadeh-Keihan et al. (2020)

**ANEXO 10 Figura 29: Materiales con partículas de sílice.** Imágenes SEM de (B) nanopartículas de sílice preparados, (C) andamio de hidrogel modificado con sílice y (D) la imagen ampliada del andamio de hidrogel modificado con sílice.

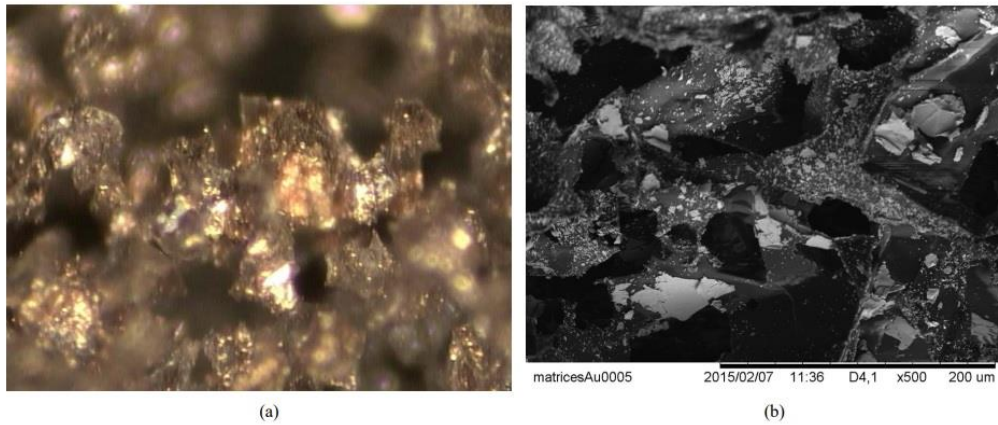


Fuente: Alyosef (2013)

**ANEXO 11 Figura 30: Imagen microscópica de una muestra de cáscara de arroz.**

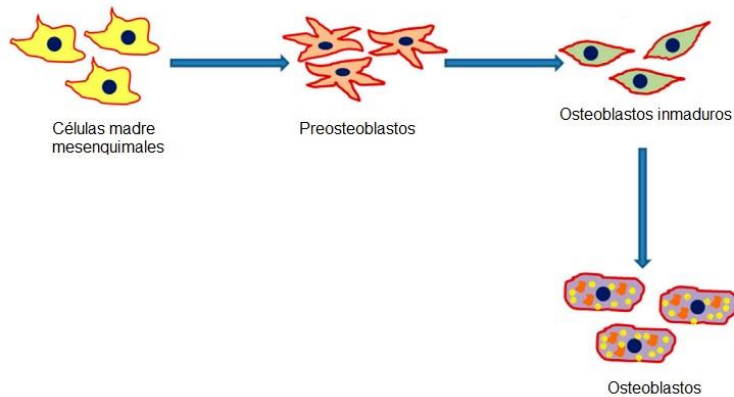
Fotografías SEM de la muestra de cascarilla de arroz de diferentes partes en la epidermis externa con aumento (A) bajo, (B) intermedio y (C) alto.





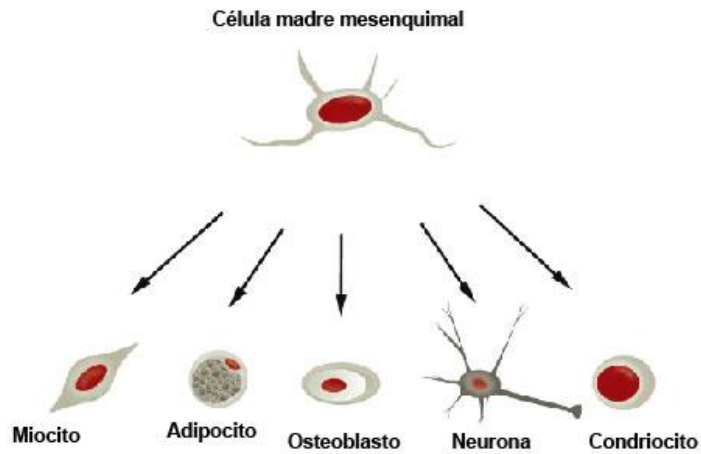
Fuente: Solano-Umaña & Vega-Baudrit (2015)

**ANEXO 13 Figura 31: Matrices porosas de sílice.** Matriz de silicio poroso después de la deposición de plata y oro, (A) imagen visual 171x, (B) imagen SEM 500x.



Fuente: Sun (2016)

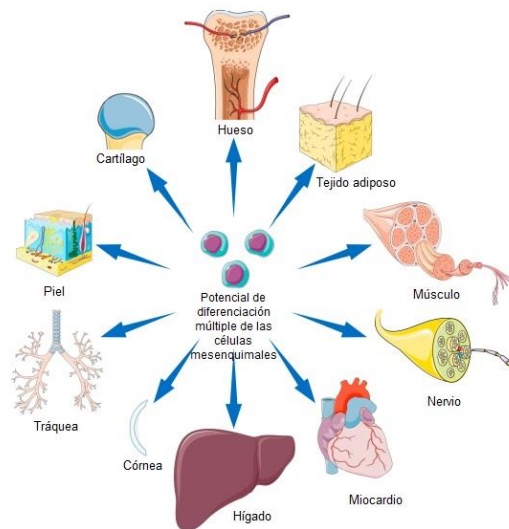
**ANEXO 14 Figura 32: Esquema de diferenciación de las células mesenquimales.** Esquema de la diferenciación de las células mesenquimales a tejido óseo (osteoblastos).



Fuente: Sigmaaldrich (2022)

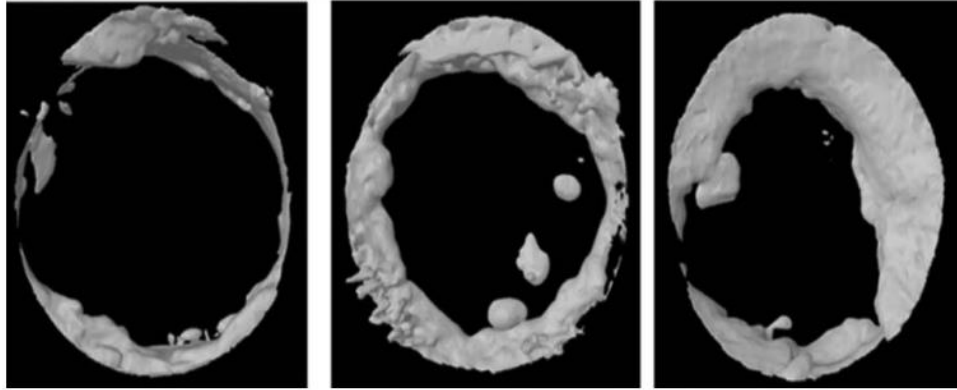
**ANEXO 15 Figura 33: Diferenciación de las células madre mesenquimales (MSC).**

Principales tejidos a los que se puede diferenciar una célula madre mesenquimal.



Fuente: Chai (2017)

**ANEXO 16 Figura 34: Potencial de diferenciación múltiple de las células madre mesenquimales.** Esquema que representa una de las características que convierten a las células madre mesenquimales en objeto de estudio en ingeniería para la reparación de diversos tejidos.



Fuente: Shadjou (2015)

**ANEXO 17 Figura 35: Formación de hueso *in vivo*.** En los andamios terapéuticos durante la implantación en defectos de cráneo de rata durante 6 semanas. Análisis de ICT de imágenes construidas en 3D de muestras que muestran regiones opacas contrastadas, que reflejan la formación de tejido duro.



# **ANEXO B**

**PORCENTAJE APROXIMADO DE SÍLICE EN EL  
TORREFACCIONADO**

## Anexo B Porcentaje aproximado de sílice en el torrefaccionado

$$\frac{\text{Torrefaccionado usado} - \text{torrefaccionado limpio}}{\text{Torrefaccionado}} \times 100\%$$

Cuadro 1: Síntesis para determinar el porcentaje de sílice en el torrefaccionado

	Torrefaccionado limpio (g)	Torrefaccionado usado (g)	Diferencia	% de sílice
Síntesis A	6.59225	3.89794	2.69431	40.87
Síntesis B	6.58150	3.76154	2.81996	42.84
Promedio				41.85

Fuente: Gabriel Moreno (2022)

Al promedio se le resta 1% considerando las pérdidas de material que se producen durante la síntesis. Por lo tanto, el porcentaje aproximado sería de 40.85%

# **ANEXO C**

**DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD**

## Anexo C Determinación del porcentaje de humedad

Antes de iniciar la síntesis se debe utilizar torrefaccionado limpio, es decir, se debe lavar con agua y ácido acético al 1%. Se realizan 3 lavados con agua destilada en exceso a la cantidad de torrefaccionado a utilizar, luego se realiza un lavado con solución de ácido acético al 1%. Finalmente, se elimina cualquier trazo de ácido con lavados de agua destilada. Verificar el pH al final

Al finalizar los lavados, se procede a secar el torrefaccionado en el horno a 110°C por una noche (debe estar tapado) al día siguiente se toma nota de la masa de torrefaccionado (base seca) después se destapa para que absorba la humedad del ambiente por una noche y se toma nota de la masa de torrefaccionado (base húmeda).

$$\frac{\text{Torrefaccionado}_{bh} - \text{torrefaccionado limpio}_{bs}}{\text{Torrefaccionado}_{bh}} \times 100\%$$

El porcentaje de humedad se obtuvo de 3 lavados

Lavado A

Torrefaccionado base humedad: 37.09 g

Torrefaccionado base seca: 36.3 g

$$\frac{37.09 - 36.3}{37.09} \times 100\% = 2.13\%$$

Lavado B

Torrefaccionado base humedad: 35.1 g

Torrefaccionado base seca: 34.18 g

$$\frac{35.1 - 34.18}{35.1} \times 100\% = 2.6211\%$$

Lavado C

Torrefaccionado base humedad :6.49 g

Torrefaccionado base seca: 6.41 g

$$\frac{6.49 - 6.41}{6.49} \times 100\% = 1.2327\%$$

Calculando el promedio da como porcentaje 1.9946%

# **ANEXO D**

**DETERMINACIÓN DE LOS GRAMOS DE TORREFACCIONADO  
PARA LA SÍNTESIS**

#### **Anexo D Determinación de los gramos de torrefaccionado para la síntesis**

Considerando un sol de 25 ml, 40.85% de sílice en el torrefaccionado, 1.9946% de humedad en la muestra y un parámetro de concentración de 6%

$$\frac{6g SiO_2}{100g sol} \times 25ml sol = 1.5g SiO_2$$

$$1.5g SiO_2 \times \frac{100g torrefaccionado}{40.85g SiO_2} = 3.67197g torrefaccionado$$

A este valor de torrefaccionado hay que aplicarle el porcentaje de humedad determinado previamente

$$\frac{3.67197g torref(bs)}{1 - \left(\frac{1.9946}{100}\right)} = 3.74670g torrefaccionado$$

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
Cuadro 1	Síntesis para determinar el porcentaje de sílice en el torrefaccionado	154



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
Figura 1	Esquema del proceso de generación de los andamios 3D	78
Figura 2	Torrefaccionado y NaOH utilizado en la síntesis	80
Figura 3	Preparación del silicato de sodio	80
Figura 4	Filtrado y obtención del silicato de sodio	81
Figura 5	Lavado con moles de ácido acético.	82
Figura 6	Síntesis de hidrogel.	83
Figura 7	Cambio de solvente.	85
Figura 8	Secado secuencial de los geles.	87
Figura 9	Proceso sol-gel	87
Figura 10	Esquema de la obtención de cascarilla de arroz carbonizada (torrefaccionada) desde la planta de arroz y sus derivados.	89
Figura 11	Esquema del proceso para generar los andamios (hidrogeles).	90
Figura 12	Andamios 3D obtenidos.	92

Figura 13	Esquema del proceso para generar los xerogeles.	93
Figura 14	Esquema de obtención de xerogel a partir del hidrogel.	93
Figura 15	Cambio de hidrogel a xerogel	94
Figura 16	Diagrama de flujo de generación del xerogel.	95
Figura 17	Caracterización de los materiales	97
Figura 18	Resultado de la prueba de %PV.	101
Figura 19	Modelo de interacción andamio-célula.	102
Figura 20	Matrices porosas de sílice	145
Figura 21	Andamios porosos	145
Figura 22	Distribución del tamaño del poro de algunos materiales porosos	146
Figura 23	Obtención de material cerámico a partir del carbonizado de la cascarilla de arroz.	146
Figura 24	Obtención de material para estudios de biomedicina a partir del carbonizado de bagazo.	147

Figura 25	Esquema de la composición silícica de la cascarilla de arroz, la mazorca del maíz y el bagazo	147
Figura 26	Reacción entre la sílice y el hidróxido de sodio	147
Figura 27	Imágenes microscópicas de los polvos de granulación de sílice de las cenizas de cáscara de arroz.	148
Figura 28	Reacción entre la sílice del carbonizado y el hidróxido de sodio	148
Figura 29	Materiales con partículas de sílice	149
Figura 30	Imagen microscópica de una muestra de cáscara de arroz.	149
Figura 31	Matrices porosas de sílice.	150
Figura 32	Esquema de diferenciación de las células mesenquimales.	150
Figura 33	Diferenciación de las células madre mesenquimales (MSC).	151

Figura 34	Potencial de diferenciación múltiple de las células madre mesenquimales.	151
Figura 35	Formación de hueso in vivo.	152

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
Tabla 1	pH de solución y tiempos de gelación	96
Tabla 2	% de Gelación según el %PV de cáscara de huevo	99

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Descripción	Página
Gráfica 1	Relación entre el pH de solución y el tiempo de gelación	96
Gráfica 2	Relación Gelación de solución-%Peso volumen	100