



[VIGILADA MINEDUCACIÓN Res. 12220 de 2016]

Sistema implantable de encapsulación y liberación controlada de H₂ terapéutico empleando herramientas de procesamiento de polímeros.

Amy Sofia Parra Mejía – Alejandra Ospina García

Directora:

PhD Viviana Marcela Posada Pérez

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero/a Biomédico/a

Facultad de Ingeniería y Ciencias
Programa de Ingeniería Biomédica
Cali, Colombia
2026

Agradecimientos

En primer lugar, agradecemos a Dios por guiarnos, fortalecernos y acompañarnos durante todo este proceso académico. Su amor y sabiduría fueron fundamentales para superar cada reto y alcanzar esta meta. A nuestras familias, por su apoyo incondicional, comprensión y motivación constante a lo largo de esta etapa. Gracias por creer en nosotras y brindarnos la fuerza necesaria para continuar incluso en los momentos más difíciles.

A nuestros docentes y asesores, en especial a la Profesora Viviana Posada, por compartir sus conocimientos, orientarnos durante el desarrollo de este trabajo y contribuir significativamente a nuestra formación profesional y personal. Asimismo, queremos agradecer especialmente a nuestros amigos Gustavo Alejandro Monsalve, Carlos Alberto Ogonaga, Daniela Lasso Gómez, Laura Sofía Ramírez y Catalina Pulido Rubiano, quienes estuvieron presentes con su apoyo, compañía y palabras de ánimo durante este proceso. Gracias por acompañarnos en cada etapa y hacer este camino más llevadero y significativo. Finalmente, agradecemos a todas las personas e instituciones que hicieron posible la realización de esta investigación, aportando su tiempo, colaboración y confianza. Cada experiencia y aprendizaje vivido durante esta etapa fortaleció no solo nuestra formación como futuras ingenieras biomédicas, sino también nuestro crecimiento personal y humano.

Contenido

Título: Sistema implantable de encapsulación y liberación controlada de H ₂ terapéutico empleando herramientas de procesamiento de polímeros.....	5
Resumen ejecutivo.....	5
1. Fase de Análisis	6
1.1 Planteamiento del problema	6
1.2 Justificación.....	7
1.3 Objetivos.....	7
1.4 Marco teórico y estado del arte	8
1.5 Requisitos del diseño	19
1.6 Restricciones del diseño	21
1.7 Contribución del proyecto a la formación en ingeniería.....	24
1.8 Metodología	24
1.9 Plan de trabajo (cronograma).....	27
2 Fase de Síntesis	28
2.1 Diseño conceptual	28
2.2 Generación de alternativas.....	30
2.3 Selección de la solución preliminar	32
2.4 Bocetos.....	37
2.5 Construcción de un prototipo inicial.....	38
2.6 Realización de procedimientos experimentales	40
3 Fase de Evaluación.....	45
3.1 Indicadores de éxito	45
3.2 Plan de pruebas y validación.....	47
3.3 Prototipo final testeado	63
3.4 Descripción de los siguientes pasos de avance en la tecnología	64
4. Declaración de uso de Inteligencia Artificial	65
5. Referencias.....	65
6. Anexos.....	69

Título: Sistema implantable de encapsulación y liberación controlada de H₂ terapéutico empleando herramientas de procesamiento de polímeros.

Título corto: H₂ Terapéutico en Sistemas Poliméricos.

Programa: Ingeniería Biomédica

Autores: Amy Sofia Parra y Alejandra Ospina García

Directora: PhD Viviana Marcela Posada Pérez

Resumen ejecutivo

El presente proyecto de grado se centra en el diseño de un sistema de encapsulamiento para la liberación controlada de hidrógeno molecular, utilizando polímeros biocompatibles y técnicas de procesamiento de polímeros, con potencial aplicación en el ámbito biomédico. La importancia de este trabajo radica en la necesidad de optimizar la administración de componentes esenciales como el hidrogeno molecular, con el fin de facilitar el tratamiento de pacientes con múltiples afecciones, dado su potencial en el tratamiento de diversas condiciones relacionadas con inflamación, estrés oxidativo y daño celular. La gran dificultad de capturar y encapsular H₂ motiva la búsqueda de alternativas más eficientes y personalizables para lograr la correcta absorción de este gas. En este contexto, la combinación de policaprolactona, un polímero de lenta biodegradación, con partículas de magnesio, plantea una solución innovadora para lograr una liberación sostenida del gas, reduciendo efectos secundarios y mejorando la biodisponibilidad.

Para abordar esta problemática, se establecieron cuatro objetivos: primero, una revisión bibliográfica sistemática para comprender el estado del arte en técnicas de encapsulamiento y aplicaciones biomédicas del magnesio; segundo, el diseño conceptual del sistema; tercero, la integración del magnesio en la matriz polimérica evaluando su interacción química y física; cuarto, la integración del magnesio en el sistema diseñado empleando técnicas de procesamiento de polímeros y, finalmente, la evaluación experimental de la tasa de liberación del hidrógeno molecular generado mediante pruebas in-vitro. Como resultado, se desarrolló un prototipo funcional de matriz polimérica de PCL cargada con magnesio metálico, fabricado mediante tres métodos de procesamiento: calentamiento y moldeo, disolución y extrusión (denominado "extrusión manual asistida por solvente"), y disolución y moldeo. Los prototipos fueron evaluados durante cinco semanas bajo condiciones fisiológicas simuladas (37°C, solución salina 0,9% con actividad enzimática de pancreatina/simeticona (lipasa, amilasa y proteasa) obteniendo perfiles de liberación cuantificables y reproducibles mediante espectrofotometría y cromatografía flash.

El análisis comparativo de absorbancia, turbidez y variación de masa permitió identificar el método de disolución y moldeo como el de mejor desempeño, al presentar un perfil de liberación más estable y sostenido a lo largo del periodo de evaluación, tener una mayor homogeneidad en la distribución del Mg dentro de la matriz polimérica y la mejor reproducibilidad entre muestras. Este

método obtuvo el mayor puntaje ponderado en la matriz de decisión (4,45/5), superando al método de calentamiento y moldeo (3,00/5) y a la extrusión manual asistida por solvente (3,05/5).

El azul de metileno, empleado como marcador indirecto del par redox MB/LMB, permitió monitorear la actividad reductora generada por la degradación del Mg y por ende liberación de H₂ en el medio acuoso, validando su uso como herramienta de evaluación no invasiva en sistemas de este tipo. Estos resultados confirman la viabilidad del procesamiento de polímeros como estrategia para la fabricación de sistemas de administración controlada de H₂ molecular terapéutico, con potencial aplicación en afecciones inflamatorias o enfermedades como el cáncer. Este proyecto, no contempla ensayos en humanos, pero sienta bases para investigaciones futuras que integren medición directa de H₂, validación de biocompatibilidad in-vitro, ampliación del periodo de evaluación y escalabilidad hacia entornos clínicos en el ámbito de la ingeniería biomédica.

1. Fase de Análisis

1.1 Planteamiento del problema

La creación de sistemas de liberación controlada de medicamentos mediante el uso y procesamiento de polímeros es un avance importante en la ingeniería biomédica y farmacología. El uso de polímeros, tanto naturales como sintéticos, para encapsular fármacos ofrece beneficios significativos, como una mejor dosificación, una reducción de efectos secundarios y la capacidad de dirigir el medicamento a áreas específicas del cuerpo. Sin embargo, a pesar de estos progresos, persisten diversas dificultades, especialmente al encapsular gases como el hidrógeno, que desempeña un papel vital en varias funciones corporales y tratamientos médicos.

El hidrógeno molecular terapéutico (H_2) ha emergido como un agente bioactivo de considerable interés clínico debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiapoptóticas selectivas, con potencial terapéutico documentado en condiciones como el cáncer, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares y los trastornos neurodegenerativos [1] [2] [3]. Sin embargo, uno de los principales obstáculos para su aplicación clínica es la dificultad de administrarlo de manera localizada, sostenida y controlada en el sitio de acción. Por su naturaleza gaseosa, el H_2 presenta baja solubilidad en medios acuosos, alta difusividad y tendencia a dispersarse rápidamente desde el sitio de administración, lo que limita significativamente su biodisponibilidad terapéutica y dificulta su dosificación precisa [1].

Frente a este desafío, la liberación de magnesio (Mg) se presenta como una fuente sólida y controlable de H_2 , dado que al reaccionar con medios acuosos genera H_2 de forma progresiva según la reacción $Mg + 2H_2O \rightarrow Mg(OH)_2 + H_2$. Esta reacción, aunque termodinámicamente favorable, puede controlarse mediante el encapsulamiento del Mg en matrices poliméricas, las cuales actúan como barrera física que regula el acceso del medio acuoso al mineral, y por ende, la velocidad y cantidad de H_2 liberado [4]. De esta manera, el procesamiento de polímeros se presenta como una estrategia innovadora para transformar el Mg en un sistema implantable de generación localizada y sostenida de H_2 terapéutico, superando las limitaciones propias de las vías de administración convencionales como la inhalación o la ingesta de agua enriquecida. En este contexto, la policaprolactona (PCL) resulta particularmente adecuada como material de matriz, dada su biocompatibilidad, su lenta tasa de biodegradación en ambientes fisiológicos y su capacidad de ser procesada mediante varias técnicas de manufactura. No obstante, la selección del método de procesamiento, la concentración óptima de Mg y el diseño geométrico del sistema son variables que influyen directamente en el perfil de liberación del H_2 y requieren investigación experimental sistemática.

El objetivo del presente proyecto es enfrentar esta problemática mediante el diseño y evaluación de un prototipo de sistema implantable de PCL cargado con Mg metálico capaz de liberar H_2 terapéutico de forma controlada y sostenida. Para lograrlo se formula la siguiente pregunta de trabajo ¿Cómo influye el encapsulamiento de magnesio dentro de una matriz polimérica procesada en el perfil de liberación de hidrógeno molecular terapéutico?

El desarrollo de este proyecto tiene un impacto potencialmente significativo en la medicina personalizada y la farmacología, al ofrecer una plataforma de administración local de Mg y H₂ que podría aplicarse al tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas, el acompañamiento de terapias oncológicas y otras condiciones de estrés oxidativo desempeña un papel central en la progresión del daño tisular. Además, el enfoque metodológico basado en el procesamiento de polímeros biocompatibles abre la posibilidad de escalar y adaptar el sistema a diferentes necesidades terapéuticas, impulsando el avance de la tecnología de liberación controlada de gases terapéuticos en el ámbito biomédico.

1.2 Justificación

La terapia con H₂ representa una de las líneas de investigación biomédica con mayor proyección en el tratamiento de enfermedades asociadas al estrés oxidativo y la inflamación crónica, entre ellas el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes tipo 2 y los trastornos neurodegenerativos. A pesar de la creciente evidencia sobre su eficacia terapéutica, su implementación clínica enfrenta una barrea fundamental: la ausencia de sistemas que permitan administrar el H₂ de forma localizada, sostenida y dosificable, en el sitio de acción. Las estrategias actuales, como la inhalación de gases o el consumo de agua enriquecida, no garantizan una concentración terapéutica estable en tejidos específicos, ni permiten personalizar la dosis según las necesidades del paciente [1].

En este sentido, el desarrollo de un sistema implantable que genere H₂ localizado, a partir de la degradación controlada de Mg metálico encapsulado en una matriz de PCL constituye una solución innovadora y pertinente desde el punto de vista clínico y tecnológico. Este enfoque no solo resuelve el problema de la biodisponibilidad del H₂, sino que además aprovecha los beneficios fisiológicos del Mg liberado simultáneamente, mineral que interviene en más de 300 procesos bioquímicos del organismo y cuya deficiencia se ha asociado a hipertensión, osteoporosis y trastornos neuromusculares entre otras condiciones [5] [6].

Desde una perspectiva social, el impacto de este proyecto es significativo, ya que es ofrecerles a los pacientes un sistema de tratamiento más efectivo, de liberación sostenida y adaptable a sus necesidades individuales representa un avance concreto hacia la medicina personalizada. En particular, en el contexto oncológico, donde el H₂ ha demostrado capacidad para reducir los efectos adversos de la quimioterapia y la radioterapia sin interferir con su acción antitumoral [7], contar con una plataforma implantable de generación local de H₂ podría mejorar sustancialmente la calidad de vida de los pacientes durante el tratamiento.

Finalmente, este proyecto tiene el potencial de generar conocimiento científico y tecnológico en un campo aún poco explorado a nivel experimental, como lo es la fabricación de sistemas poliméricos implantables para la liberación de gases terapéuticos. Los resultados obtenidos sientan las bases para investigaciones futuras orientadas a la validación biológica, el escalado del sistema y su eventual integración en protocolos clínicos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Desarrollar un prototipo de sistema implantable mediante procesamiento de polímeros para la liberación controlada de hidrógeno terapéutico para diferentes aplicaciones médicas.

1.3.2 Objetivos específicos

- a) Investigar las técnicas de encapsulamiento de fármacos y aplicaciones de magnesio mediante artículos científicos recientes.
- b) Diseñar el sistema de encapsulamiento utilizando exploración de técnicas de manufactura de polímeros.
- c) Integrar el magnesio en la policaprolactona mediante formas de encapsulamiento de polímeros.
- d) Comprobar la tasa de liberación del sistema a través de métodos in-vitro.

1.4 Marco teórico y estado del arte

El presente marco teórico tiene como objetivo establecer los conceptos fundamentales y teorías que sirven como base conceptual para el desarrollo de un prototipo para la liberación de fármacos usando polímeros y técnicas de procesamiento de este tipo de materiales. Este apartado explora las definiciones claves para el correcto entendimiento de la investigación y el proyecto a desarrollar.

1.4.1 ¿Qué es un polímero?

Para contextualizar al lector, un polímero es una macromolécula constituida por una multitud de unidades de repetición de pequeñas partículas químicas más simples [8]. Su explotación es favorable debido a la abundancia natural, renovabilidad y baja huella de carbono de los polímeros derivados de recursos renovables [9].

1.4.2 Clasificación de los polímeros: Los polímeros se clasifican en dos tipos principales:

1.4.2.1 Polímeros naturales: Son aquellos que han sido creados directamente con materiales de origen vegetal o animal como principal componente, algunos ejemplos del día a día son la lana, el algodón, la seda, la celulosa o el caucho natural, con el que se consigue el látex [10]. En el campo de la ingeniería biomédica, los polímeros marinos, son utilizados constantemente debido a su abundancia y características inherentes como su biocompatibilidad, biodegradabilidad y actividad biológica; sin embargo, algunos de estos compuestos (como los polisacáridos) tienen limitaciones en cuanto a su solubilidad en agua y solventes orgánicos debido a fuertes enlaces de hidrógeno intermoleculares.

1.4.2.2 Polímeros sintéticos o manufacturados: Son aquellos elaborados científicamente por las empresas y laboratorios, usando diferentes monómeros y catalizadores [11], estos comúnmente se derivan de petróleo y su composición principal consta de enlaces carbono – carbono [9]. A

diferencia de los polímeros naturales, estos no son biodegradables, ya que no se descomponen por sí solos al estar en contacto con el ambiente, debido a su baja reactividad química. Además, al no contar con un orden en su estructura, las moléculas tienden a ocupar mayor volumen, lo que generan que sean poco densas.

1.4.3 Encapsulación de fármacos con polímeros

Estos polímeros se usan comúnmente en la encapsulación de fármacos, la cual consiste en rodear el fármaco con una matriz polimérica para mejorar su dosificación y administración, ofreciendo ventajas sobre otros métodos [12]. (Ver Figura 1.) Esta técnica permite gestionar los procesos metabólicos de agentes encapsulados y su administración al lugar específico de acción, así, mejorar la administración de fármacos que son difíciles de disolver, tóxicos o que se degradan fácilmente. El material que se encierra o se rodea suele ser un líquido, sin embargo, también puede ser sólido o un gas en algunas ocasiones; el material que forma el revestimiento se denomina material de pared, soporte, membrana o envoltura [13].

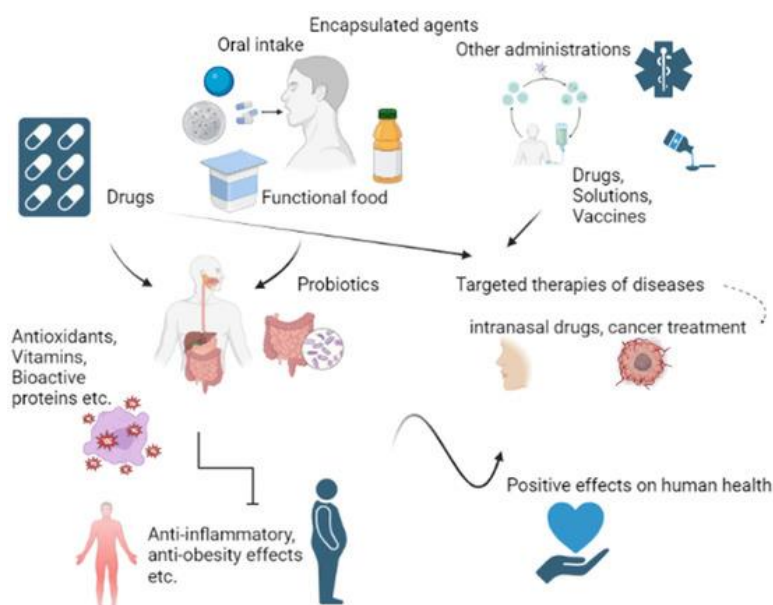


Figura 1. Uso del encapsulamiento. Tomado de [14]

1.4.3.1 Policaprolactona (PCL)

En este proyecto se busca trabajar con la policaprolactona (PCL), el cual es un polímero semicristalino biodegradable que pertenece a la familia de poliésteres alifáticos, este tipo de plásticos son de origen fósil, es decir, materiales derivados del petróleo. Principalmente, se compone de unidades de metileno, que se agrupan para formar grupos éster, esto le permite una transición vítrea (temperatura en la que se permite pasar de estado rígido a uno blando) y punto de fusión de -60°C y 60°C . Su composición le permite ser un material muy práctico a la hora de la liberación de medicamentos, debido a que es bio-asimilable y se adhiere bien a distintos tipos de sustratos, en el caso de este proyecto se requiere que se adhiera al Mg para llevar a su liberación

controlada. Aparte de esto, el PCL es transpirable, lo que podría permitir su correcto proceso de liberación a través de sudoración.[15]

Como se mencionó anteriormente, este tipo de polímeros tiene una amplia gama de aplicaciones, tales como la liberación controlada de medicamentos, la ingeniería de tejidos y empaque de algunos elementos. Sin embargo, en este proyecto se busca profundizar en la técnica de liberación controlada de medicamentos. Se dice que los PCL son materiales aptos para llevar a cabo esta práctica, gracias a su alta permeabilidad con los medicamentos, su biocompatibilidad y que permite una lenta degradación en el cuerpo humano, lo que permite una administración del medicamento a largo plazo o si se prefiere combinar con otros polímeros para modificar su tiempo de degradación según el fármaco, también es adaptable a estos parámetros [16].

1.4.3.2 Técnicas de encapsulación

Actualmente, existen varios procesos para la encapsulación de fármacos en medicina, algunos de los principales son:

1. Microencapsulación: Se enfoca en partículas de tamaño comprendido entre micrómetros a milímetros, en las que depende de propiedades fisicoquímicas del material de la pared (monómeros y polímeros) para su correcto encapsulamiento; este tipo de encapsulado cuenta con diversas técnicas, las cuales son polimerización interfacial, gelificación iónica, desplazamiento de solventes.
2. Nanoencapsulación: implica el atrapamiento de biopartículas activas, en donde el material de soporte cuenta con dimensiones a nano escala, y permite mejorar la biocompatibilidad y absorción de los componentes encapsulados en el cuerpo [17].

1.4.3.3. Técnicas de procesamiento de polímeros:

El procesamiento de polímeros consiste en el conjunto de métodos empleados para transformar materiales poliméricos en productos con formas, propiedades y funcionalidades específicas. En el ámbito biomédico, estas técnicas se emplean para fabricar dispositivos, recubrimientos y sistemas de liberación controlada de fármacos o gases terapéuticos como el H₂.

- A. Electrohilado o electrospinning:** Para realizar la integración del Mg con el polímero se buscará aplicar la técnica de electrohilado o electrospinning (ver Figura 2) ; la cual consiste en someter la solución polimérica de PCL y Mg un campo eléctrico para estirar soluciones y formar las fibras ultrafinas [18]. Se consideró esta técnica gracias a que diversos estudios han demostrado que la inclusión de Mg al polímero mejora sus propiedades mecánicas y la biodegradabilidad del sistema, lo cual son factores clave en el desarrollo del proyecto[4].

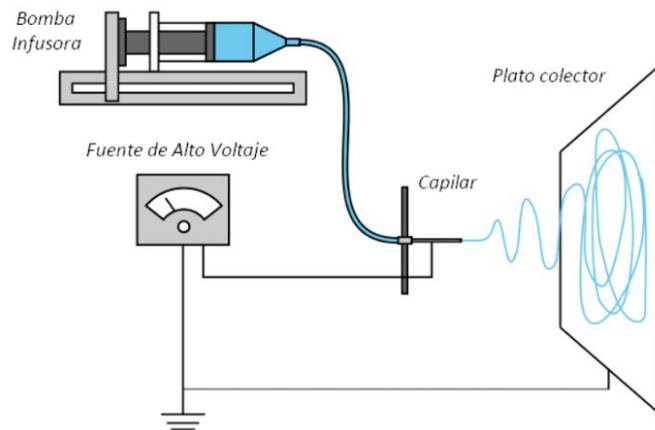


Figura 2. Sistema básico de electrohilado. Tomado de [19].

- B. Extrusión:** Este método consiste en hacer pasar un polímero fundido a través de una boquilla para obtener filamentos, tubos o películas de estos (Ver Figura 3), con el fin de crear filamentos para impresión 3D, fibras para suturas y algunos dispositivos implantables. Sin embargo, esta técnica no es apta para polímeros muy sensibles al calor, debido a que puede dañar las propiedades físicas y mecánicas de estos.[20]

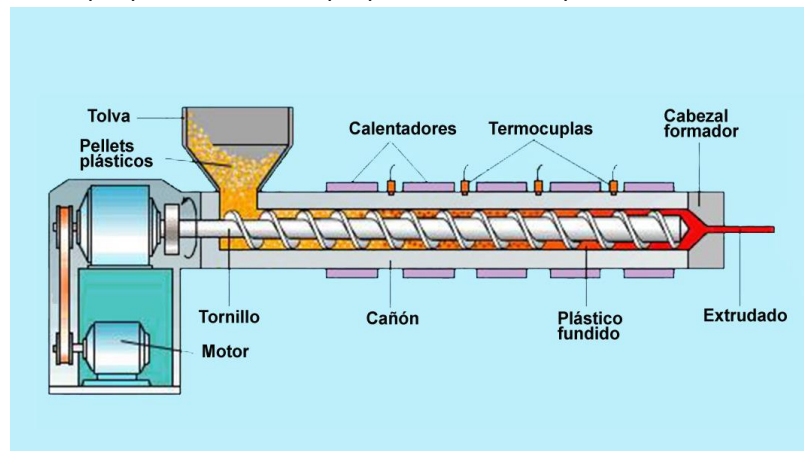


Figura 3. Sistema básico de extrusión de materiales. Tomado de [21].

- C. Impresión 3D en la liberación de fármacos:** Se debe tener en cuenta que la impresión 3D es una tecnología que, en el ámbito médico, especialmente en industria farmacéutica, permite la fabricación de medicamentos y formas de dosificación personalizadas (Ver Figura 4.). Gracias a la impresión 3D, es posible producir tabletas y dispositivos de liberación de fármacos con características específicas que serían difíciles de lograr mediante métodos convencionales. [22]

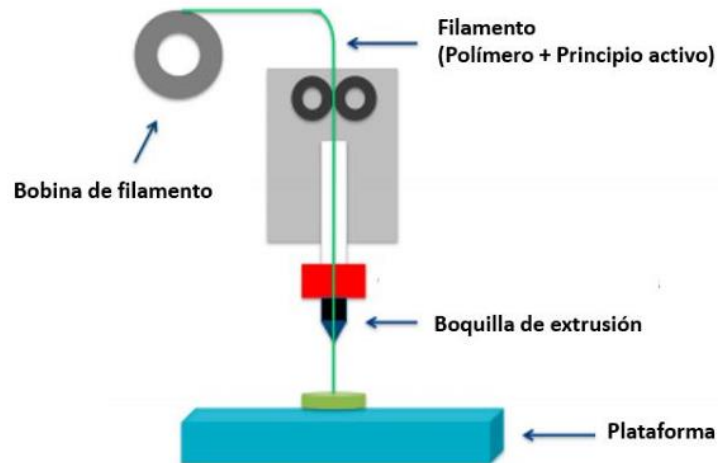


Figura 4. Esquema de impresión 3D con principios activos. Tomado de [23].

- D. Moldeo por inyección:** En la cual el polímero se funde y se inyecta a presión en un molde cerrado, donde se solidifica con la forma de este (Ver Figura 5.). Esta técnica es mayormente usada en casos en los que se requiere mayor precisión, como lo son cápsulas, válvulas o contenedores de una forma específica. No obstante, no es utilizado en procesos de dispositivos implantables. [24]

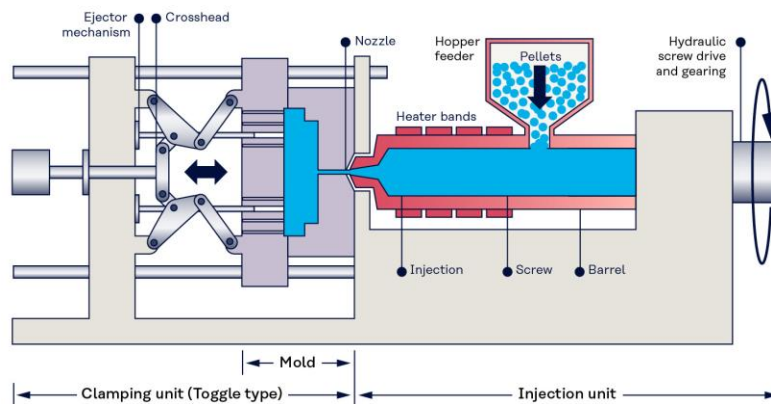


Figura 5. Sistema básico de extrusión. Tomado de [25].

- E. Liofilización:** Su objetivo principal es separar el agua de una disolución empleando congelación y posterior sublimación del hielo a presión reducida (Ver Figura 6.). Con esta técnica se asegura que las propiedades cualitativas y cuantitativas de un sistema no se modifiquen. Algunas limitaciones que se conocen en la industria farmacéutica mencionan que los tiempos de liberación del mineral son menores y menos controlados; para este proyecto podría ser usada como una técnica alterna al electrohilado para evaluar su funcionalidad. [26]

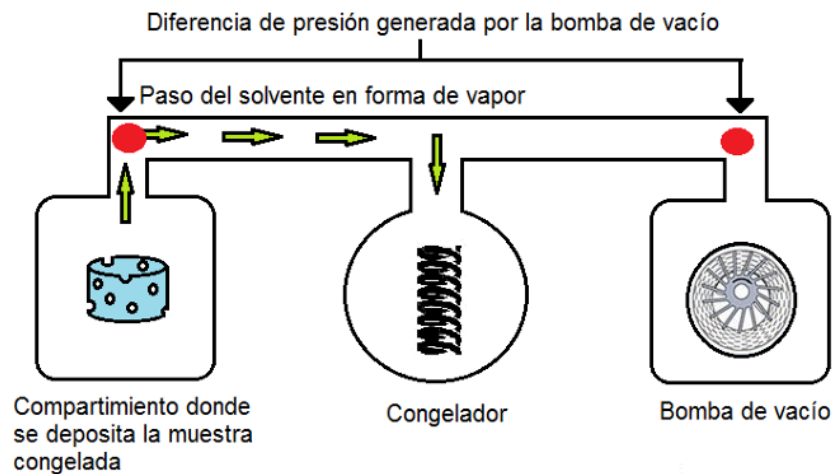


Figura 6. Esquema básico del sistema de liofilización. Tomado de [27]

F. Microesferas de polímero: Consiste en la encapsulación del compuesto elegido en el polímero usando diferentes técnicas para su formación (Ver Figura 7.), con este enfoque se facilita la liberación precisa de la cantidad deseada de Mg en el sitio de acción; de igual manera, esta técnica garantiza la protección del compuesto antes y después de la administración [28]. No obstante, posee algunas limitaciones funcionales, en las que, si la distribución de las esferas no es uniforme, la liberación podría volverse irregular y liberar el Mg incluso antes de que el PCL empiece a degradarse. Además, como el objetivo es trabajar con Mg en estado metálico, se deben optimizar las condiciones de dispersión de este, pues por su composición este tiende a oxidarse o sedimentarse durante el proceso de emulsión.[29]

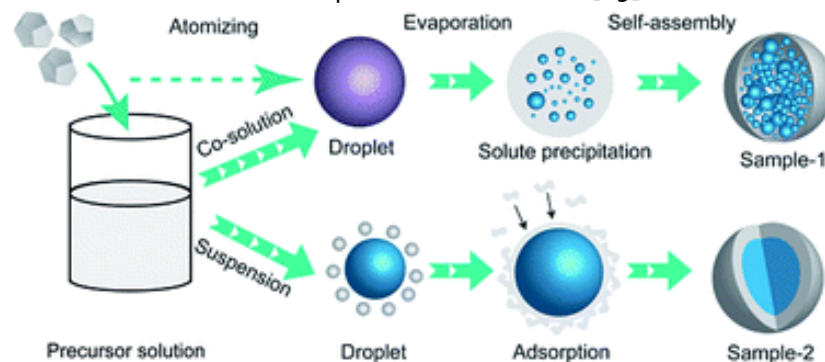


Figura 7. Proceso de Microesferas de polímeros. Tomado de [30].

1.4.4 ¿Qué es el hidrógeno molecular?

Es la molécula más pequeña y abundante del universo, es incolora y no tóxica. Tiene un enorme potencial, promoviendo la salud y el bienestar. Se refiere al hidrógeno diatómico o gas H_2 : donde hay dos átomos de hidrógeno combinados. Es neutral y no polar, por ende, tiene gran biodisponibilidad. Sin embargo, no se disocia de sus electrones y protones cuando se disuelve en agua, por lo que no alterará el pH del agua o de su cuerpo [31].

El H₂ tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiapoptóticas selectivas. Se destaca grandemente las propiedades antioxidantes, pues esta función ha atraído la mayor atención entre las numerosas actividades biológicas propuestas, ya que el H₂ es un depurador específico de OH y ONOO₂, oxidantes muy potentes que reaccionan indiscriminadamente con ácidos nucleicos, lípidos y proteínas, lo que provoca fragmentación del ADN e inactivación proteica [1].

1.4.4.1 Aplicaciones del hidrógeno molecular

La administración de H₂ disminuye la expresión de varios marcadores de estrés oxidativo, como mieloperoxidasa, malondialdehído, 8-hidroxi-desoxiguanosina 8-OHdG, 8-iso-prostaglandina F_{2a} y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en todas las enfermedades humanas y modelos de roedores [32].

El H₂ inhibe la lesión tisular inflamatoria inducida por estrés oxidativo a través de la regulación negativa de citocinas proinflamatorias e inflamatorias, como la interleucina, el factor de necrosis tumoral, la molécula de adhesión celular intercelular, el grupo de alta movilidad. También, gracias a que en un estudio el H₂ mejoró la tasa de supervivencia y redujo el daño orgánico en ratones sépticos al regular negativamente las citocinas proinflamatorias tempranas y tardías en suero y tejido, esto sugiere un uso potencial del H₂ como agente terapéutico para afecciones asociadas con el síndrome de sepsis/disfunción orgánica múltiple relacionado con la inflamación [2].

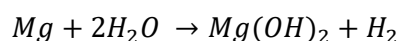
El H₂ presenta ventajas únicas en aplicaciones clínicas. Penetra eficazmente en las biomembranas para alcanzar los núcleos celulares y las mitocondrias y puede penetrar fácilmente la barrera hematoencefálica por difusión gaseosa, algo que la mayoría de los compuestos antioxidantes no puede. El H₂ también se ha estudiado como posible tratamiento para la enfermedad de Alzheimer, su administración puede aliviar otras enfermedades y lesiones cerebrales, como la lesión cerebral por hipoxia-isquemia, el estrés o el deterioro cognitivo relacionado con la edad, la lesión cerebral traumática, la lesión cerebral por isquemia y reperusión (I/R), y la lesión cerebral temprana inducida por hemorragia subaracnoidea (SAH). Un estudio demostró que la administración de H₂ sin cirugía no ejerció efectos neuroprotectores ni mejoró los resultados funcionales en ratas después de una hemorragia intracerebral [2].

El tratamiento con H₂ protege contra la lesión miocárdica y el desarrollo de aterosclerosis y otras enfermedades vasculares. Además, la inhalación de H₂ protege contra la lesión hepática por I/R, demostró que la inyección intraperitoneal de HS podría ser un método ampliamente aplicable para atenuar la lesión hepática I/R en un modelo de rata. El H₂ colónico generado a partir de fructano pareció mitigar el estrés oxidativo inducido por la inflamación, su tratamiento mitiga el desarrollo de diabetes tipo 2 al reducir el estrés oxidativo y mejora el metabolismo de la glucosa. En otro estudio, se demostró que el H₂ podría ejercer efectos metabólicos similares a los de la insulina y también puede ser una nueva alternativa terapéutica a la insulina en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 1. El tratamiento con H₂ es beneficioso para tratar diversas enfermedades del sistema respiratorio. La inyección de HS protege contra la lesión pulmonar aguda por I/R en modelos de rata y conejo a través de mecanismos antioxidantes, antiinflamatorios y antiapoptóticos. La inhalación de H₂ también mejoró la lesión por I/R inducida por el trasplante de pulmón [3].

El H₂ puede aliviar los efectos adversos inducidos por la radioterapia contra el cáncer o los fármacos antitumorales. De esta manera, la administración de H₂ protegió contra la nefrotoxicidad inducida por cisplatino y la lesión cardíaca y hepática inducida por doxorubicina. Estos hallazgos sugieren que el H₂ tiene potencial como tratamiento anticancerígeno y podría utilizarse para reducir los efectos secundarios de la radioterapia y la quimioterapia en pacientes [7].

1.4.5 Reacción química del Mg con un medio acuoso

En el marco del proyecto a trabajar, la utilización de Mg como fuente H₂ representa una estrategia innovadora para desarrollar sistemas de liberación controlada con aplicaciones biomédicas. Se debe tener en cuenta que el Mg al reaccionar con el agua (H₂O) libera hidróxido de magnesio (Mg(OH)₂); un proceso que, aunque es favorable para factores termodinámicos y que ocurre de manera natural, se ve limitado por la formación de una capa alrededor del Mg que actúa como barrera y hace que el proceso vaya más lento. A continuación, se puede ver la reacción química que se genera:



Reacción 1. Oxidación del Mg en agua para la liberación de H₂

La interacción del Mg con el agua es relevante, gracias a que la cantidad de agua disponible y como se controla, influye directamente en la velocidad y cantidad de H₂ que se libera; en este sentido, la incorporación del Mg en sistemas poliméricos, como el PCL, se plantea como una estrategia eficaz para controlar la liberación del H₂ de manera más lenta y regulada y así se pueden aprovechar sus beneficios antioxidantes y antiinflamatorios de forma segura y durante más tiempo en aplicaciones terapéuticas [4] (Ver Figura 8.).

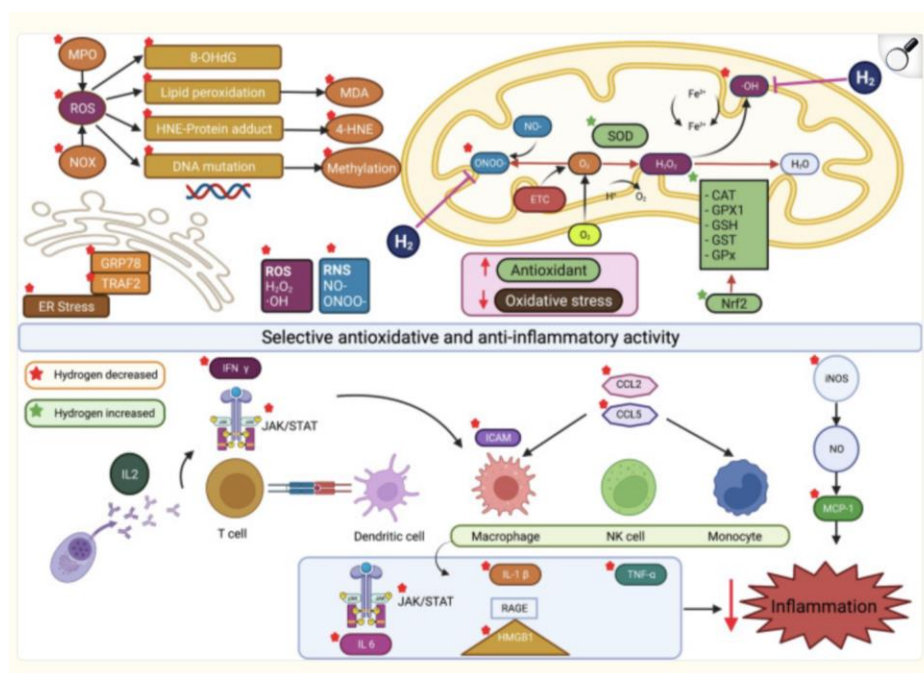


Figura 8. Proceso bioquímico del H₂.

Además de esto, para calcular la cantidad de H₂ a liberar se realiza el siguiente procedimiento:

1. De la Reacción 1, se ve que 1 mol de Mg genera 1 mol de H₂. Por lo que se usan las masas molares de ambas moléculas: Mg = 24.305 g/mol, H₂ = 2.015 g/mol.
2. Realizando la fracción de masa de H₂ producido por masa de Mg, se obtiene:

$$\frac{\text{masa } H_2}{\text{masa } Mg} = \frac{2.015 \text{ g/mol}}{24.305 \text{ g/mol}} \cong 8.29\%$$

Operación 1. *Relación estequiométrica de conversión de Mg a H₂ basada en masas molares.*

Por lo que se puede decir que aproximadamente 8.29% de la masa de Mg se transforma, teóricamente, en masa de H₂ (Ver Operación 1.).

1.4.6. Métodos de evaluación

1.4.6.1. Lector de absorbancia y turbidez: El lector de microplacas Multiskan Skyhigh es un espectrofotómetro UV/Vis diseñado específicamente para realizar mediciones de absorbancia y turbidez en una amplia gama de aplicaciones de investigación. Este equipo permite cuantificar moléculas que absorben luz (como en ensayos ELISA o análisis de ácidos nucleicos) y medir la dispersión de luz producida por partículas sólidas en suspensión.

- a) Absorbancia: Utilizada cuando el ensayo contiene moléculas que absorben luz proporcionalmente a su concentración siguiendo la ley de Beer-Lambert. El principio de funcionamiento consiste en hacer pasar un haz de luz monocromática a través de la muestra; la diferencia entre la intensidad de la luz incidente y la transmitida se registra como el valor de absorbancia, la cual es directamente proporcional a la concentración de la especie de interés en el medio.
- b) Turbidez: Es una propiedad óptica de una muestra que hace que la radiación luminosa sea dispersada y absorbida en múltiples direcciones, en lugar de transmitirse en línea recta a través de ella. Esta propiedad es causada por la presencia de partículas en suspensión en el medio que se esté analizando, cuanto mayor sea la cantidad y tamaño de estas partículas, mayor será la dispersión de la luz y, por tanto, mayor la turbidez del sistema. Es ideal para medir el crecimiento microbiano o la calidad de líquidos donde las partículas dispersan la luz.[33]

1.4.6.2. Sistema de cromatografía flash: Es un sistema automatizado de laboratorio diseñado para la purificación rápida y eficiente de mezclas orgánicas, utilizando presión para forzar el disolvente a través de un cartucho de sílice. Esta técnica se fundamenta en una cromatografía de adsorción en la que la separación de los componentes de una mezcla ocurre debido a sus diferentes afinidades por la fase estacionaria y la fase móvil. Los componentes con mayor afinidad por la parte estacionaria se desplazan más lentamente y son de carácter polar, lo que hace que interactúe más fuertemente con su superficie; por el contrario, la fase móvil es aquella que mueve o arrastra a la

mezcla de compuestos a través de la fase estacionaria y de todo el sistema cromatográfico, generalmente esta es siempre líquida y su polaridad puede ajustarse para optimizar la separación. [34]

1.4.7. Estado del arte

El presente estado del arte tiene como objetivo principal analizar los avances más recientes en el encapsulamiento de fármacos en procesamiento de polímeros y las aplicaciones del Mg en algunos campos de la medicina. Se realizó la revisión de artículos científicos, patentes y desarrollos tecnológicos publicados entre 2019 y 2024.

Con las técnicas de procesamiento de polímeros mencionadas anteriormente, se lograron realizar los siguientes proyectos orientados al campo de salud:

- a) Dispositivo de administración transdérmica: el cual es comprendido por microcápsulas que son selladas por una capa microporosa. El objetivo de este sistema es mejorar la liberación controlada de medicamentos a través de la piel, lo que optimiza su absorción y biodisponibilidad. [35].
- b) Dispositivos de liberación de fármacos recargables: este sistema permite la recarga de un dispositivo implantado sin necesidad de cirugía, mediante la administración de cargas activas de fármacos por vías sistémicas. Estas cargas migran y se acoplan a dispositivos de liberación previamente implantados en el cuerpo, permitiendo un suministro prolongado y controlado de medicamentos [36].
- c) En el estudio de Genina y colaboradores se exploró la viabilidad del uso de la impresión 3D mediante inyección de tinta (inkjet-based 3D printing) para fabricar implantes capaces de liberar fármacos de manera controlada. Se diseñaron estructuras personalizadas que incorporaban distintos principios activos, y se realizaron pruebas in-vitro para validar su eficacia. Los resultados demostraron un control preciso sobre la forma y dosificación, destacando el potencial de esta tecnología para terapias personalizadas en medicina [37].
- d) Sánchez y colaboradores realizaron un estudio en el que se propuso la realización de membranas porosas empleando PCL y quitosano (CS) usando la técnica de electrohilado sometida a diferentes condiciones para evaluar la capacidad de liberación de la vitamina B₁, también conocida como tiamina. El método de evaluación se realizó de manera in-vitro, tal como los objetivos de este proyecto [38].
- e) Reyes en este estudio se desarrolló y analizó películas nanoestructuradas de PCL y óxido de polietileno (PEO) usando la técnica de electrohilado, con el propósito de evaluar la liberación controlada de espermidina en condiciones fisiológicas simuladas para aplicaciones biomédicas. [39] Este trabajo es valioso, gracias a que es una técnica que se podría tener en cuenta para el desarrollo del proyecto.

A pesar de los progresos en la aplicación de polímeros en farmacéutica, siguen existiendo desafíos importantes en el campo. Por ejemplo, aunque los dispositivos de administración transdérmica de fármacos han mejorado el tratamiento de estos y que ofrecen una alternativa no invasiva para

tratar diversas condiciones médicas; todavía se enfrentan limitaciones en cuanto a la variabilidad de absorción según el tipo de piel y el metabolismo del paciente. Así mismo, los dispositivos de liberación de fármacos recargables ofrecen una solución prometedora para tratamientos prolongados, pero se necesita una infraestructura específica para la administración y monitoreo de las cargas, llegando a ser poco rentable para los pacientes. No obstante, este tipo de patentes, en relación con el objetivo del proyecto a realizar, podrían ser de difícil accesibilidad para las personas de todos los estratos y nada compatibles con los sistemas de salud existentes, lo que limitaría su uso e impacto social. Teniendo en cuenta la liberación controlada de fármacos para diversos tratamientos, se analiza el siguiente estudio:

- a) Se describe un sistema de cápsulas de gelatina del tamaño de un grano de arroz que están integradas con nanopartículas magnéticas y son guiadas a través del torrente sanguíneo para llegar a lugares de tratamiento específico en el cuerpo, usando campos electromagnéticos externos.[40]

El análisis realizado muestra avances significativos en la aplicación de procesamiento de polímeros en la industria farmacéutica especialmente en la administración personalizada de medicamentos, sin embargo, siguen existiendo muchos desafíos en cuanto a su implementación a gran escala, debido a barreras regulatorias, costos de producción y la necesidad de infraestructura especializada.

Dando por terminada la parte de procesamiento de polímeros y técnicas especializadas, se destacan también algunos trabajos e investigaciones llevadas a cabo con el Mg, sus aplicaciones y sus beneficios en distintos tipos de pacientes, además de estudios sobre el uso de polímeros y degradación de medicamentos:

- a) En el presente estudio se llevaron a cabo evaluaciones en el comportamiento corrosivo del Mg en una solución simulada, en la que se usaron algunas técnicas de fosfatado y aplicación de películas biopoliméricas (quitano y gretina) para controlar su velocidad de degradación. En este estudio se llevaron a cabo varias pruebas en la que se modificaban las condiciones en las que se aplicaba la película de biopolímeros y la cantidad de fosfatado para analizar en qué parámetros se sacaba el mayor provecho del Mg. [41]
- b) En la revisión de Johnsen y colaboradores se presenta un análisis exhaustivo de los estudios clínicos y publicaciones científicas que evalúan el potencial terapéutico del H₂ en humanos. Conocido por sus propiedades antioxidantes selectivas, el H₂ ha demostrado ser eficaz en estudios in-vitro, en animales y humanos, especialmente en enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Además, el documento analiza 81 ensayos clínicos y 64 publicaciones centradas en humanos, encontrando indicios positivos en áreas como enfermedades cardiovasculares, cáncer, patologías respiratorias, trastornos del sistema nervioso central e infecciones. A pesar del creciente cuerpo de evidencia, la implementación clínica enfrenta desafíos como la baja solubilidad acuosa del H₂, su naturaleza explosiva y la falta de documentación regulatoria suficiente. [1]

1.5 Requisitos del diseño

1.5.1. Marco legal y normativo

Aunque este proyecto se encuentra en fase de investigación y desarrollo, y no contempla pruebas con pacientes ni producción industrial, es fundamental tener en cuenta el marco normativo que regula los procesos de diseño, fabricación y evaluación de un prototipo de dispositivos médicos, especialmente por el uso de polímeros biocompatibles, técnicas de encapsulamiento y técnicas de procesamiento de polímeros.

En primer lugar, se incluye la norma ISO 13485, la cual establece los requisitos para un sistema de gestión de calidad aplicable a dispositivos médicos [42]. Esta norma es ampliamente aplicada al desarrollo de productos biomédicos, debido a que se cerciora de que los procesos de diseño, fabricación y control cumplan con criterios de seguridad, trazabilidad y eficacia.

Por su parte, la norma ISO 10993, orienta la evaluación biológica de materiales utilizados en dispositivos médicos. Este proyecto va más enfocado en los apartados 5 y 12, los cuales abordan ensayos de citotoxicidad in-vitro y la preparación de muestras [43], respectivamente, aspectos clave al trabajar con polímeros como la PCL y su contacto con fármacos como el Mg. Adicionalmente, se tienen en cuenta las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) definidas por organismos como la FDA y la Organización Mundial de la Salud (OMS) [44], las cuales garantizan condiciones adecuadas de fabricación, almacenamiento y control de calidad de productos médicos y farmacéuticos, además de garantizar la trazabilidad, reproducibilidad y fiabilidad de los datos en las pruebas físico-químicas y biológicas.

En el caso del correcto procesamiento de polímeros y las técnicas de evaluación, se tienen en cuenta las normas ASTM F3268 y ASTM D638. En primera instancia la norma ASTM F3268-18a es una guía para ensayos in-vitro de degradación de metales absorbibles, lo cual se encuentra ampliamente relacionado con los objetivos del proyecto al trabajar con Mg y las pruebas en ambientes controlados [45]. Adicionalmente, la norma ASTM D638 abarca los estándares de clasificación de las propiedades de tracción de los plásticos, tales como la elongación, resistencia a la ruptura, elasticidad, entre otras [46]; gracias a esta norma se podrían evaluar las propiedades de la PCL, polímero escogido para desarrollar el proyecto.

Finalmente, pasando a un marco normativo a nivel nacional, se debe tener en cuenta el Decreto 4725 del 2005 del Ministerio de Salud de Colombia, que regula dispositivos médicos en el país [47]; así como la Resolución 8430 de 1993, que establece las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Según esta resolución, el presente trabajo de grado se clasifica como investigación sin riesgo, ya que no involucra pruebas in vivo, ni pacientes humanos [48].

Asimismo, con el fin de cumplir con el marco ético legal vigente, se lleva a cabo lo pactado en la Declaración de Helsinki (2013), aquella que es la base ética para cualquier investigación médica, ya sea que involucre directamente seres humanos o, como en el caso del proyecto a presentar, contacto indirecto. En este proyecto se establece el compromiso de respetar aspectos como la proporcionalidad riesgo – beneficio.

1.5.2 Definición de Stakeholders

Teniendo en cuenta que los stakeholders son individuos, grupos u organizaciones que pueden influir, estar interesados o verse afectados por el desarrollo del presente proyecto de investigación [49]. En este trabajo se clasificaron 4 tipos de stakeholders; primeramente, dentro de los stakeholders internos se incluyen el equipo de investigación, es decir las integrantes de este proyecto, ingenieros biomédicos y asesores académicos, quienes participan directa y activamente en el diseño y validación del prototipo. Los stakeholders externos abarcan el grupo de personas que no forman parte del equipo directo del proyecto, sin embargo, influyen en la toma de decisiones; tales como el INVIMA, Ministerio de Salud, médicos, empresas fabricantes de polímeros y distribuidores de Mg. Por otra parte, los stakeholders primarios son aquellos que se benefician directamente con que este proyecto se lleve a cabo, por ejemplo, los pacientes que padecen de alguna enfermedad como el cáncer, hospitales y/o clínicas que aplicarían el sistema, la Pontificia Universidad Javeriana Cali y, si se llega al caso, patrocinadores. Por último, los stakeholders secundarios, son aquellos que no se ven afectados de forma directa, pero pueden llegar a tener un interés en el proyecto, en los que se podrían incluir los proveedores de materiales necesarios para la realización del sistema, la comunidad académica, sociedades científicas y la sociedad en general. Para tener una visión más clara de la organización de los stakeholders ver la Figura 9.

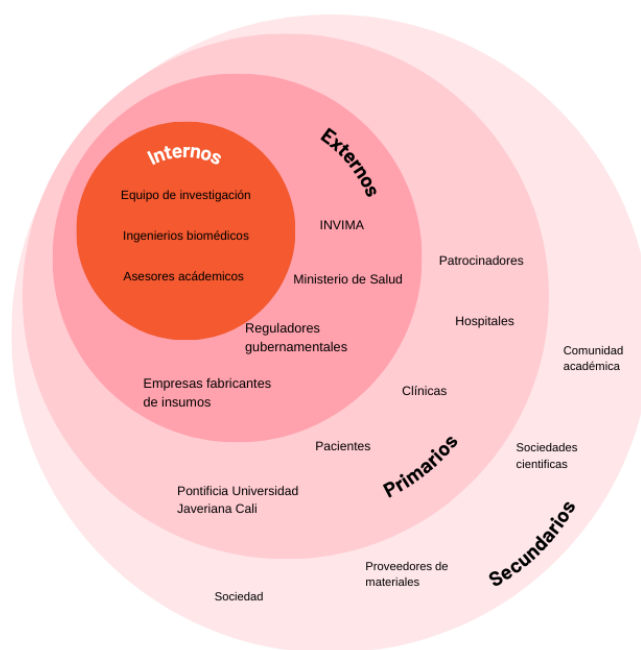


Figura 9. Representación gráfica de Stakeholders.

1.5.3. Requisitos técnicos

Según los objetivos del proyecto, se consideró pertinente establecer los siguientes requisitos técnicos, funcionales y clínicos para el sistema de liberación a diseñar:

- a) **Biocompatibilidad:** Al ser un dispositivo implantable, se buscó un material biocompatible en la que su degradación en el cuerpo humano no causara efectos secundarios indeseados,

tales como alergias, inflamaciones, irritación o incluso la muerte. Es por esto por lo que se trabajó con la PCL, en el que, aunque no se utilizaron pruebas in-vivo con células, es un material altamente biocompatible, del cual ya se habló anteriormente.

- b) **Estabilidad:** Con este requisito se buscó evaluar la conservación de la esencia del fármaco, por lo que en el encapsulamiento el fármaco se conservaron sus propiedades iniciales.
- c) **Degradación:** En este apartado, se buscó que su degradación fuera controlada y en el tiempo establecido según las condiciones en las que se trabajó el encapsulamiento y el polímero; además de que se buscó generar una degradación total del polímero y por ende del Mg y H₂ terapéutico.
- d) **Tasa de liberación:** Al igual que en la degradación, la tasa de liberación debió ser controlada y las condiciones de medición fueron evaluadas en gramos de Mg liberado por unidad de tiempo; las cuales, en ensayos futuros dependerán en las necesidades del paciente.
- e) **Tamaño:** Teniendo en cuenta los objetivos planteados, se quiso que el tamaño fuera adecuado para un sistema implantable.
- f) **Buen uso del material:** Con el fin de usar solamente la cantidad necesaria de material durante el proyecto y no generar desperdicios de este, se llevó un conteo del material gastado, por lo que lo desperdiciado se midió en los gramos del polímero y se estableció un límite de material a utilizar.

1.6 Restricciones del diseño

En el diseño del sistema se contemplaron una serie de requisitos que aseguraron su viabilidad técnica, económica y experimental. Estos requisitos partieron tanto de las condiciones funcionales y de desempeño que se esperaron del prototipo, como de las limitaciones prácticas derivadas de los recursos disponibles. En este sentido, resultó fundamental establecer de manera clara las restricciones asociadas al proyecto, ya que estas orientaron la selección de materiales, métodos de fabricación y herramientas de trabajo, garantizando que el desarrollo se mantuviera dentro de los parámetros realistas y alcanzables.

1.6.1 Presupuesto

Materiales y consumibles:

- PCL grado biomédico - 500g: \$15.000
- Mg (polvo) - 500 g: \$150.000
- Solventes y reactivos (buffers, disolventes, reactivos de ensayo): \$200.000
- Consumibles de laboratorio (vidrio, filtros, jeringas): \$150.000

Teniendo en cuenta los recursos físicos necesitados para la realización de los componentes prácticos del proyecto, se utilizaron los siguientes espacios y equipos proporcionados por la Universidad:

- Uso de equipos de laboratorios básicos

- Acceso a software especializado
- Ingenieros de apoyo
- Espacio físico y energía

1.6.2 Alcance

Dentro del alcance del proyecto se incluye el desarrollo de un prototipo a escala de laboratorio o piloto, que permitiera la fabricación de muestras experimentales compuestas de PCL y Mg. Estas muestras fueron sometidas a ensayos in-vitro de liberación controlada, complementadas con controles de calidad como la evaluación dimensional, el porcentaje de Mg incorporado y el perfil de liberación obtenido en condiciones simuladas. Asimismo, se contempló la elaboración de un informe técnico que consolidara los resultados y análisis obtenidos, garantizando un registro sistemático del proceso y de las conclusiones derivadas.

Por otro lado, se excluyó del presente proyecto cualquier tipo de ensayo clínico en humanos, así como la implementación de validaciones completas bajo normativa BPM (Buenas Prácticas de Manufactura), dado que estas corresponden a etapas posteriores y de mayor complejidad regulatoria. Tampoco se abordó el escalado industrial masivo de la tecnología, ni estudios de estabilidad a largo plazo bajo lineamientos ICH (Consejo Internacional para la Armonización de Requisitos Técnicos para Productos Farmacéuticos de Uso Humano), salvo pruebas acotadas a corto plazo que aportan información preliminar sobre la estabilidad de las muestras en condiciones controladas de laboratorio.

1.6.3 Recursos por emplear

- **Personal:** líder del proyecto, técnico de laboratorio, operador de equipo de procesamiento de polímero, responsable de coordinación de análisis externo.
- **Equipos:** impresora/extrusora compatible con PCL; horno/secador; balanza analítica; micrómetro; baño termostato con agitación; pH-metro; equipo para muestreo.
- **Insumos/materiales:** PCL grado biomédico, Mg (en estado metálico), aditivos biocompatibles limitados, soluciones tampón, material de vidrio, consumibles de laboratorio.
- **Infraestructura:** Laboratorio con ventilación, almacenamiento seco y frío si requerido, área limpia básica para muestreos.

1.6.4 Materiales disponibles

- **Materiales disponibles (supuesto):** PCL (grado laboratorio), Mg en polvo, consumibles de laboratorios normales.
- **Acceso a laboratorios:** laboratorio universitario de polímeros/mecánica; posibilidad de servicios externos
- **Restricciones críticas:** sumar costos y tiempo para análisis externo, pruebas in-vitro con células.

1.6.5 Tiempo

- **Plazo sugerido (fase prototipo):** 5-8 semanas

- **Restricción real:** disponibilidad de equipo (horas máquina), tiempo de análisis externo y tiempos de entrega de insumos.
- **Impacto:** demoras en análisis o en compra de materiales retrasan iteraciones y validaciones.

1.6.6 Entorno de uso

- **Destino inicial:** uso in-vitro y pruebas en laboratorio; manejo por personal entrenado.
- **Condiciones ambientes previstas:** temperatura ambiente controlada (20-25 °C), almacenamiento en sitio seco y protegido de luz.
- **Restricción:** no diseñado para uso domiciliario ni para aplicación clínica sin validaciones adicionales.

1.6.7 Barreras regulatorias y éticas

- **Regulatorias:** requerimientos de ISO 10993 (biocompatibilidad) en fases avanzadas; documentación para registro sanitario; trazabilidad y control de proveedores.

1.6.8 Restricciones de contexto

- **Costo:** presupuesto limitado impone priorizar pruebas clave y usar servicios externos solo para analítica crítica; priorizar métodos de cribado rápido (calidad del material, desempeño de un prototipo, la liberación de Mg) cuando sea posible.
- **Ambiente:** condiciones de laboratorio universitario; limita tolerancias de producción y control de contaminación.
- **Usuarios:** personal entrado en esta fase; son los estudiantes investigadores y docentes supervisores; se requiere que los procedimientos sean claros, replicables y seguros, considerando la capacitación limitada en manipulación de biomateriales y reactivos especializados.
- **Tiempo:** el cronograma está determinado por la duración del proyecto de grado (aproximadamente 6-12 meses), lo cual restringe la posibilidad de realizar pruebas a largo plazo o estudios clínicos, limitándose a experimentación in-vitro y caracterización inicial.
- **Normativo/ ético:** al tratarse de un sistema con potencial aplicación biomédica, se debe considerar en esta fase las normativas de biocompatibilidad y las buenas prácticas de laboratorio; sin embargo, no se contempla aún un proceso de aprobación regulatoria completo.

1.7 Contribución del proyecto a la formación en ingeniería

El presente proyecto de grado representa un ejercicio formativo integral en el campo de la ingeniería biomédica, gracias a que permite aplicar de manera práctica y articulada los conocimientos técnicos adquiridos a lo largo del programa académico y su articulación en el diseño de una solución innovadora para un problema planteado. El desarrollo del prototipo implantable de encapsulación y liberación controlada de H₂ terapéutico, requiere la integración de fundamentos en biomateriales, modelado computacional, técnicas de solución de problemas y métodos de evaluación in-vitro. Este proceso impulsa la capacidad de abordar problemas complejos con un enfoque interdisciplinario, aplicando principios de bioquímica, biofísica, biología molecular e ingeniería de materiales en un mismo contexto, que es el diseño biomédico.

Asimismo, el proyecto es una oportunidad clave para fortalecer el trabajo en equipo, mediante la coordinación de tareas, la comunicación efectiva entre las partes involucradas y la construcción de soluciones. La interacción con el cuerpo docente y la retroalimentación académica aportan a la simulación de entornos profesionales, en los cuales el éxito de la investigación y el diseño dependen de factores como la colaboración entre varios campos y la integración de diferentes perspectivas.

Además de esto, la toma de decisiones dentro del proyecto ha estado limitada a situaciones reales como condiciones presupuestales, cantidad de material disponible, acceso a equipos y normatividad relacionada con el proyecto. En este sentido, el ejercicio permite desarrollar competencias como la priorización de recursos, la selección de posibles alternativas en caso de contratiempos y gestión de criterios de seguridad y reproducibilidad de resultados; características que son aplicadas ampliamente en la práctica de la ingeniería en escenarios reales.

Finalmente, el proyecto se crea a partir de una necesidad clínica específica, por lo que se busca un enfoque centrado en los requerimientos del usuario. Con este sistema se busca mejorar la calidad de vida de pacientes que presentan deficiencia de magnesio y enfermedades derivadas por esta razón, ofreciendo un tratamiento personalizado, de liberación controlada y con menores efectos secundarios que los métodos de administración más usados actualmente; es por esto que por lo que la propuesta presenta un enfoque claro que va direccionado hacia la innovación biomédica con impacto social.

1.8 Metodología

El presente proyecto siguió los principios del método de diseño en ingeniería, el cual permite abordar problemas técnicos basados en un sistema de resolución, donde se identifica una necesidad y se implementa una solución funcional. En este se llevaron a cabo tres fases basadas en los objetivos específicos mencionados anteriormente, con el propósito de desarrollar un prototipo de encapsulamiento de Mg utilizando técnicas de procesamiento de polímeros.

1.8.1 Fase uno: Análisis e investigación del contexto, y definición del problema

El objetivo de la presente fase es recopilar y analizar información relevante para el proyecto; en esta se investigaron las técnicas de encapsulamiento de fármacos, así mismo como las distintas aplicaciones médicas y fisiológicas del H₂, con el propósito de definir el problema de diseño y establecer los requerimientos necesarios para llevar a cabo el prototipo funcional. Las actividades por desarrollar para esta primera fase son las siguientes:

1.8.1.1 Revisión de bibliografía: se buscaron y analizaron artículos científicos, libros y fuentes confiables sobre las técnicas actuales de encapsulamiento y su relación con las técnicas de procesamiento de polímeros. Por otro lado, se reunió información sobre posibles polímeros existentes que cumplieran con los requisitos para llevar a cabo el prototipo, tales como sus condiciones de degradación, mecanismos de liberación y algunas ventajas y limitaciones; en el caso de este proyecto, se profundizó la información en la PCL como polímero de interés para realizar los

análisis. Por último, al ser el magnesio el mineral de interés, se buscó información sobre sus funciones en el organismo, enfermedades tratadas y usos médicos existentes.

1.8.1.2 Análisis del estado del arte: Con el fin de enriquecer el proyecto, se indagó en estudios previos que integraran procesamiento de polímeros con liberación controlada de fármacos. Además de explorar algunos avances y prototipos similares existentes, evaluando sus ventajas, desventajas y posibles oportunidades de mejora. En este campo se pudieron incluir también estudios que involucraran el magnesio y su utilización en campos relacionados con la liberación controlada de H₂; con el propósito de definir un problema específico, que llevara a una solución funcional y valiosa en el desarrollo del proyecto.

1.8.1.3 Definición del problema de diseño: A partir de la información recolectada, se formuló una descripción clara del problema que se buscaba resolver en el proyecto; en el que se identificaron las necesidades médicas y tecnológicas no cubiertas en los tratamientos ya existentes de la liberación de H₂.

1.8.1.4 Determinación de requisitos preliminares: Junto con la definición del problema se establecieron criterios funcionales básicos que se buscaba cumplir con el prototipo, además de las características fundamentales que se debían tener en cuenta a la hora de diseñar el prototipo. Algunas de ellas fueron la biocompatibilidad del material, el tipo de liberación, la forma de dosificación, la escalabilidad del procedimiento, degradación del polímero, entre otras.

1.8.2 Fase 2: Diseño conceptual y técnico del prototipo

En este apartado se buscó diseñar un prototipo funcional de cápsula o implante que fuera biocompatible y permitiera la liberación regulada de H₂, integrando los conocimientos adquiridos en la fase informativa anterior. Las actividades por desarrollar son las siguientes:

1.8.2.1 Definición de especificaciones técnicas: Para poder realizar el diseño correctamente se establecieron algunos requerimientos funcionales y estructurales del prototipo, tales como sus dimensiones, geometría interna y externa, tipo de liberación según la necesidad, dosis estimada de Mg y biocompatibilidad con el entorno fisiológico.

1.8.2.2 Selección del polímero: Debido a las características de la PCL, se encontró que es el polímero más adecuado para el proyecto. Este es adecuado para tener contacto con el cuerpo humano y es compatible con técnicas de procesamiento de polímeros, que fueron mencionadas anteriormente en el marco teórico; algunas de las propiedades esenciales que se tuvieron en cuenta para la elección fueron su degradabilidad, porosidad, tiempo de liberación y capacidad de encapsulación.

1.8.2.3 Revisión de técnica a trabajar: Con el fin de determinar la técnica a utilizar en el proyecto, se hizo una revisión de la literatura consultada en las fases anteriores en la que se comparan las técnicas que se están teniendo en cuenta para el desarrollo experimental del sistema implantable. El propósito de esta fase fue identificar los métodos más adecuados para garantizar que el sistema cumpla con los requisitos preliminares establecidos, como la biocompatibilidad con el medio,

tiempo de degradación del polímero, estabilidad estructural, reproducibilidad de los resultados y liberación controlada del Mg e H₂.

Se evaluaron cuatro alternativas de fabricación: electrohilado, impresión 3D, liofilización y microesferas de polímero, las cuales fueron comparadas mediante una matriz Quality Function Deployment (QFD) que priorizó la tasa de liberación, la estabilidad del sistema y la biocompatibilidad como criterios de mayor importancia relativa. La impresión 3D fue descartada por limitaciones de compatibilidad del Mg con las altas temperaturas de extrusión y la resolución insuficiente de los equipos disponibles. Las tres técnicas restantes dieron origen a protocolos experimentales implementados en la fase siguiente. Adicionalmente, se realizaron pruebas preliminares de disolución del polímero mediante baño maría a 100°C durante 10 minutos, verificando las condiciones térmicas bajo las cuales la PCL alcanza su fusión completa y adquiere una consistencia moldeable.

1.8.3 Fase 3: Fabricación y evaluación del prototipo

En esta última fase se tuvo como propósito construir y validar el comportamiento del prototipo funcional diseñado en la fase anterior. Se utilizaron las técnicas de procesamiento de polímeros seleccionados y se llevaron a cabo ensayos in-vitro que permitan evaluar el desempeño en términos de liberación de H₂, capacidad de retención y eficiencia del diseño, con el fin de determinar futuras mejoras. Las actividades que se desarrollaron en esta fase fueron las siguientes:

1.8.3.1 Fabricación del prototipo: Se investigaron y ejecutaron tres técnicas de procesamiento del polímero PCL para la fabricación de los prototipos, elegida por su biocompatibilidad, biodegradabilidad y propiedades mecánicas adecuadas. Las técnicas evaluadas fueron:

- **Calentamiento y moldeo (Negro):** Se fundieron 2 g de PCL en baño maría a 100 °C durante 10 minutos. Posteriormente se incorporó 1/3 del volumen total de magnesio recolectado (0,33 ml) y se homogenizó mediante vórtex. Dado el rápido endurecimiento del PCL, la mezcla se devolvió al baño maría por aproximadamente 5 minutos antes de proceder con el moldeo en una caja para puntas de 1000 µL. Tras secado overnight, se obtuvieron 10 muestras con pesos entre 0,06 g y 0,12 g, evidenciando cierta variabilidad en la estandarización del proceso.
- **Extrusión manual asistida por solvente (Rojo):** Se disolvieron 2 g de PCL en 4,5 ml de DCL dentro de una jeringa, dejando reaccionar overnight (tiempo de reacción estimado: 15-20 minutos). Una vez disuelto completamente el polímero, la mezcla fue extruida y depositada en un molde de caja para puntas acondicionado con papel Parafilm. Tras un segundo secado overnight, se obtuvieron 3 muestras con pesos de 0,12 g, 0,17 g y 0,15 g, observándose una estructura porosa en las mismas.
- **Disolución y moldeo (Azul):** Se disolvió 1 g de PCL en 5 ml de DCL en un beaker, dejando reaccionar overnight hasta obtener una masa moldeable. Se incorporaron 0,25 ml de magnesio y la mezcla se depositó sobre papel Parafilm, moldeándose manualmente hasta obtener una forma circular, usando una caja para puntas como guía. Se obtuvieron 6 muestras con pesos entre 0,10 g y 0,17 g.

1.8.3.2 Integración del Mg al sistema: El magnesio fue integrado al polímero mediante métodos físicos directos, variando según la técnica empleada. En el método de calentamiento, el magnesio fue incorporado directamente al PCL fundido y homogenizado por vórtex. En el método de disolución, se añadió a la masa polimérica ya formada antes del moldeo final. En total, se trabajó con 1 ml de magnesio medido en volumen, dividido proporcionalmente entre los tres métodos (0,33 ml cada uno). Para evaluar la estabilidad estructural e iniciar el análisis de retención, el 14/03/2026 se sumergieron 8 muestras representativas (3 azul, 3 negro y 2 rojo) en 3 ml de solución salina durante 24 horas, registrándose el peso inicial y el peso tras ese periodo como indicador preliminar de integridad estructural.

1.8.3.3 Evaluación de la tasa de liberación de PCL, Mg y H₂ indirecto:

Se diseñaron 2 protocolos experimentales, el primero para evaluar la degradación del PCL y el segundo para evaluar indirectamente la tasa de liberación del H₂ respectivamente:

- **Solución salina:** Como se mencionó anteriormente, se utilizó este medio para evaluar la degradación de la PCL; por lo que las muestras fueron sumergidas en vasos con 3 ml de solución salina, midiendo peso y absorbancia a las 24 horas mediante un lector multiscanner (Multiscan SkyHigh) a $\lambda_1 = 700 \text{ nm}$ y $\lambda_2 = 600 \text{ nm}$. Los valores de absorbancia a las 24 horas oscilaron entre 0,050 y 0,087 para las distintas muestras y controles.
- **Azul de metileno (medición indirecta de H₂):** Para la evaluación indirecta de H₂, el 14/03/2026 se prepararon tubos de centrifuga con 1 gota de azul de metileno completados a 5 ml con agua, midiendo absorbancia a $\lambda = 600 \text{ nm}/595 \text{ nm}$. Los valores del control con magnesio alcanzaron 3,33-3,56, mientras que las muestras azules, negro y rojo registraron valores de 3,371, 3,550 y 3,379 respectivamente. Dado que la alta concentración dificultaba la lectura del equipo, se diluyeron las muestras con 2 ml de agua hasta completar 7 ml.

Dado que el tiempo de degradación natural del PCL resultó ser prolongado, el 17/03/2026 se decidió incorporar actividad enzimática (Pancreatina/simeticona de MK) para acelerar el proceso de degradación, simulando condiciones pancreáticas con actividad proteasa, lipasa (6500 U FIP por cápsula) y amilasa. Se añadieron 1,7 ml de la solución enzimática por cada 2,5 ml de medio en los vasos y 4,76 ml por cada tubo de centrifuga con azul de metileno. Adicionalmente, las muestras fueron incubadas a 37°C para simular las condiciones fisiológicas de degradación del sistema.

El seguimiento de absorbancia y turbidez se realizó en intervalos definidos cada 1-2 días. La turbidez fue medida a 600 nm y 595 nm para las muestras en solución salina, observándose una tendencia variable entre muestras. El 26/03/2026 se realizó cambio completo del medio, reponiendo solución salina fresca con actividad enzimática (1 cápsula triturada en 35 ml de solución salina), y en el caso de azul de metileno se agregó 1 gota de colorante completando hasta 7 ml con agua y añadiendo 4,7 ml de mezcla enzimática.

1.8.3.4 Determinación de la capacidad de retención del Mg y la degradación del PCL:

Para evaluar la capacidad de retención del Mg en los prototipos fabricados, se realizó un seguimiento gravimétrico de cada muestra a lo largo del tiempo. Previo a la inmersión en el medio de degradación, se registró el peso inicial de cada muestra como valor de referencia. Posteriormente, las muestras fueron pesadas en intervalos definidos durante el periodo experimental, permitiendo comparar la masa retenido frente a la masa inicial e identificar las pérdidas progresivas asociadas a la degradación del sistema. Con esta información se buscó determinar si el diseño cumplió adecuadamente su función de contener el magnesio hasta el momento deseado de liberación.

1.9 Plan de trabajo (cronograma)

Fases	Actividades	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Análisis, investigación de contexto y definición del problema	Revisión bibliográfica												
	Análisis del estado del arte												
	Definición del problema de diseño												
	Determinación de requisitos												
Diseño conceptual y técnico del prototipo	Definición de especificaciones técnicas												
	Selección del polímero												
	Revisión de técnica a utilizar												
Fabricación y evaluación del prototipo	Fabricación del prototipo												
	Integración del Mg al sistema												
	Evaluación de la tasa de liberación												
	Determinación de la capacidad de retención del magnesio												
Cierre	Documentación												
	Informe final												

Figura 10. Cronograma de actividades.

2 Fase de Síntesis

2.1 Diseño conceptual

Previo a la definición de los parámetros específicos del sistema, se realizó un diagrama de caja negra con el fin de identificar y relacionar las entradas, los procesos intermedios y las salidas del sistema propuesto. Como se observa en el Figura 11, las entradas corresponden a las materias primas, como el Mg y el PCL, así como los recursos de procesamiento necesarios para la fabricación del sistema. A partir de estas entradas, se desencadena una serie de procesos intermedios que incluyen la implantación del sistema en un entorno simulado, la interacción con la matriz polimérica y la degradación progresiva de la PCL, procesos que en conjunto favorecen tanto a la generación de H₂, como a su liberación controlada. Como resultado, el sistema genera tres salidas principales: Mg, H₂ y el polímero degradado.

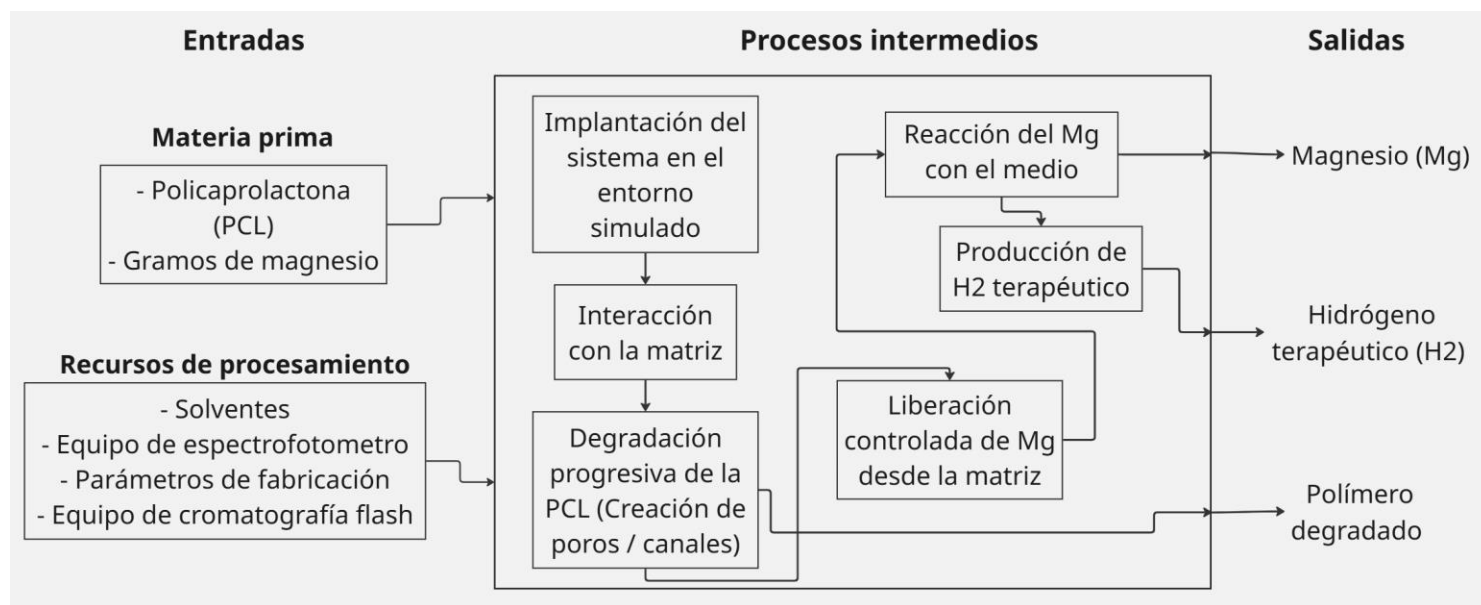


Figura 11. Diagrama de caja negra.

2.1.1 Cuantificación de los requisitos del diseño:

En orden de cumplir con los requisitos del diseño planteados en la fase anterior, se propone la siguiente cuantificación:

- a) **Biocompatibilidad:** Cuantificar la biocompatibilidad se basa en los ensayos realizados en la ISO 10993 en el que se emplean técnicas de citotoxicidad y el criterio de aceptación es de $\geq 70\%$. Asimismo, la normativa estipula que la PCL es completamente segura para entrar en contacto con fluidos y tejidos humanos, además de ser un polímero que se degrada

completamente en el cuerpo, por lo que es seguro que no dejará residuos nocivos en el paciente. Cabe resaltar que este proyecto no llegará a pruebas in vivo.

- b) **Estabilidad:** Para realizar una medición de esta característica del sistema, se tuvieron en cuenta el porcentaje de los gramos de magnesio liberado por día, según las características planteadas a la hora de realizar el sistema implantable. Teniendo en cuenta estas unidades se puede plantear la Ecuación 1:

$$E(t) = \frac{C(t)}{C_0} \times 100\%$$

Ecuación 1. *Porcentaje de liberación* relativa respecto a la concentración inicial.

Donde E(t) es la estabilidad en el tiempo t, C(t) concentración del fármaco en este mismo tiempo y C_0 a concentración inicial del fármaco. En este caso, el criterio de aceptación para determinar que el sistema es estable es de $\geq 90-95\%$ de la concentración inicial.

- c) **Degradación:** Como fue mencionado en la anterior fase, este criterio consistió en calcular la pérdida de masa del polímero y evaluar la liberación total del Mg y del H₂ terapéutico. En adición, la unidad de medida es el porcentaje de pérdida de masa y porcentaje de liberación acumulada. La duración de la terapia usualmente es de 2-3 meses, en lo que la concentración de magnesio dependerá del género y edad de cada paciente. Para hombres se encuentra en un rango de 400 mg/ día – 420 mg/día y para las mujeres entre 310 mg/día – 320 mg/día [50]. Teniendo en cuenta que también se busca liberar H₂ y que se llegó a la conclusión de que aproximadamente 8,29% de la masa de Mg se transforma, teóricamente, en masa de H₂, se realiza el siguiente cálculo para determinar la cantidad de liberación del H₂:

1. Para los hombres se transforman los 400 mg – 420 mg de magnesio por día (Ver Operación 2.):

$$400 * 0.0829 = 33.16 \text{ mgH}_2/\text{día}$$

$$420 * 0.0829 = 34.81 \text{ mg H}_2/\text{día}$$

Operación 2. Cálculo de cantidad de H₂ en hombres por día.

2. Para las mujeres se realiza el mismo procedimiento (Ver Operación 3.), solo que con rangos de 310 mg – 320 mg por día:

$$310 * 0.0829 = 25.69 \text{ mgH}_2/\text{día}$$

$$320 * 0.0829 = 26.52 \text{ mg H}_2/\text{día}$$

Operación 3. Cálculo de cantidad de H₂ en mujeres por día.

Teniendo en cuenta que las terapias con magnesio duran de 2-3 meses, se estima que la cantidad de Mg liberada durante ese tiempo es de 24000 mg por el tiempo de la terapia.

- d) **Tasa de liberación:** Como su nombre lo indica, la métrica que se cuantificó iba a ser de Mg liberado por unidad de tiempo (mg/día o g/día), sin embargo, el H₂ al ser complejo de cuantificar, se evaluó indirectamente mediante la reacción par redox MB/LMB. El criterio de aceptación es que la liberación sostenida tenga una variabilidad $< \pm 20\%$ entre muestras experimentales.
- e) **Tamaño:** Las métricas de medición de este requisito son las dimensiones máximas y masa del implante. Basándose en las técnicas ya existentes de dispositivos implantables, se considera que el tamaño óptimo del implante sería de aproximadamente 1mm x 5mm, para que se pueda implantar utilizando un catéter.
- f) **Buen uso del material:** La métrica que se evaluó fue la cantidad de material desperdiciado con respecto al total utilizado. Para realizar la cuantificación llevó un registro de los gramos de material inicial y de producto final. En este caso, se quiso generar el mínimo desperdicio en el proyecto, por lo que el criterio de aceptación de esta métrica debe ser $\leq 15\%$ del PCL por lote.

2.2 Generación de alternativas

A lo largo del planteamiento del proyecto se dialogaron posibles soluciones al problema a trabajar, las más destacadas fueron las siguientes (Ver Tabla 1):

- a. **"Sistema de liberación controlada de H₂ empleando electrohilado":** Mediante esta solución se busca generar una geometría de tipo "andamio" para incorporar el Mg al sistema. Con esta técnica se permite tener un control sobre la porosidad y el diámetro de la fibra, lo que permite regular la entrada y salida de componentes como el Mg y el H₂ terapéutico. Además de esto, el electrohilado es una técnica accesible y versátil para obtener las muestras e implementar en las pruebas de laboratorio; en la que se puede modular el tiempo de degradación y liberación, ajustando parámetros como el voltaje, concentración de solución o flujo. Sin embargo, una desventaja notable es que se corre un riesgo de que se presente una liberación inicial rápida, lo que podría reducir la eficacia terapéutica y generar efectos indeseados.
- b. **"Impresión 3D en PCL del modelo de píldora implantable cargada de Mg":** Al iniciar el proyecto se tenía el propósito de trabajar con modelado en CAD para implantar el Mg en el modelo impreso con el polímero a utilizar. Esta técnica nos permitiría un amplio margen de estructura para lograr una optimización, diseño y del perfil de liberación del fármaco. Una de las principales desventajas encontradas en la solución es que requiere de instrumentos especializados para su realización y por la técnica se pueden presentar fallas en la degradación específica.
- c. **"Liofilización de una matriz porosa de PCL cargada de Mg":** En esta solución se plantea obtener una matriz porosa mediante la técnica de procesamiento de polímeros denominada liofilización, en la cual se busca separar el agua de una disolución empleando congelación y posteriormente sublimación del hielo a una presión específica. De esta forma, el resultado sería una matriz sólida altamente porosa que favorece a una liberación controlada del Mg y el H₂; no obstante, esto condiciona la precisión en la forma y el tamaño

del sistema. Asimismo, se ha comprobado que para preservar las biomoléculas y evitar daños por formación de cristales de hielo en los sistemas, es necesario contar con crioprotectores. De igual manera, si se desea aumentar la producción debido a evaluaciones del sistema, se podría perder efectividad en este.

- d. **"Microesferas de PCL cargadas de Mg"**: Como fue mencionado anteriormente en el marco teórico, este método consiste en encapsular el Mg dentro de esferas de PCL para lograr una liberación controlada y sostenida. Una de las ventajas fundamentales de esta técnica es que el Mg se liberará de manera gradual conforme se degrada la microesfera de PCL, evitando liberaciones rápidas que podrían generar toxicidad local o acumulación de este. Además de esto, este método permite ajustar el tamaño, morfología y distribución del sistema, lo cual se vuelve muy útil a la hora de reproducir el procedimiento. No obstante, en caso de que ocurra alguna reacción adversa no se podrá retirar el sistema, solamente se podría recuperar el estado inicial cuando el sistema se haya degradado totalmente, y se haya liberado y eliminado completamente el Mg del cuerpo del paciente. Un punto a tener en cuenta es que, si las microesferas no tienen una distribución uniforme y simétrica, la liberación puede volverse irregular.

Tabla 1. Alternativas de solución

Función / Requisito	Alternativa a	Alternativa b	Alternativa c	Alternativa d
Método de fabricación (elementos empleados)	Electrohilado (uso de equipo especializado)	Impresión 3D (impresoras 3D y preparación de filamentos)	Liofilización (Congelación y sublimación al vacío)	Microesferas (disolvente orgánico, emulsión simple o doble)
Dilución del polímero	Calor / Solvente (Diclorometano (DCM), Cloroformo (CHCL ₃))	Calor	Solvente (Diclorometano (DCM), Cloroformo (CHCL ₃))	Solvente (Diclorometano (DCM), Cloroformo (CHCL ₃))
Forma del sistema	Fibras nanométricas / micrométricas	Andamio poroso 3D con geometría controlada	Estructura esponjosa, porosa y ligera	Esferas microscópicas.
Método de incorporación	Mezcla en filamento para imprimir	Inclusión en la solución polimérica para electrohilado	Dispersión de Mg en la solución antes de congelar y sublimar	Encapsulación directa, dispersión del Mg en la solución de PCL antes de la emulsión.
Estabilidad de la estructura	Alta estabilidad mecánica, pero puede ser sensible a degradación por hidrólisis	Muy alta, controlada por el diseño geométrico; estructuras robustas y reproducibles.	Menor estabilidad mecánica, estructura frágil y quebradiza.	Buena estabilidad estructural gracias a la forma del sistema, pero depende del tamaño de la esfera y la técnica de emulsión empleada.

Control de liberación	Controlada por porosidad y diseño geométrico	Inicial rápido pero ajustable por diámetro de fibra	Dependiente del hinchamiento y degradación de la espuma	Liberación controlada por tamaño de partícula y densidad polimérica.
Desventajas	Riesgo de liberación inicial rápida	Instrumentos especializados para su realización y posibles fallas en la degradación	Necesidad de crioprotectores, escalabilidad limitada, proceso lento y costoso, poca precisión del tamaño y forma del sistema.	Si las microesferas no tienen una distribución uniforme, la liberación puede volverse irregular. Uso de solventes orgánicos que puede generar toxicidad residual, difícil reproducibilidad de un tamaño específico.
Costo	Medio-alto, ya que se necesita equipo especializado e insumos para este.	Alto, se requiere de impresoras 3D, software de modelado y preparación de filamentos.	Alto costo energético y de insumos necesarios para la fabricación del sistema.	Bajo-medio, depende de solventes y homogenizadores, pero es más económico que la liofilización e impresión 3D
Figuras	Ver Figura 2.	Ver Figura 4.	Ver Figura 6.	Ver Figura 7.

2.3 Selección de la solución preliminar

Teniendo en cuenta los requisitos y restricciones de diseño, se realizó el siguiente gráfico QFD (Ver Figura 12), con el fin de identificar las características que se deben priorizar a la hora de realizar un prototipo funcional; además de esto, sirve como guía para el cumplimiento de los objetivos planteados al inicio del proyecto.

En la Figura 12 se clasificaron en una escala de 0-9 según el nivel de importancia entre los requerimientos del cliente y los requerimientos técnicos que fueron planteados en secciones anteriores para determinar cuáles niveles priorizar y de esa manera dimensionar los valores más altos. A partir de este análisis, se identificaron como variables críticas la tasa de liberación (Importancia absoluta de 287), la estabilidad del sistema (Importancia absoluta de 265) y biocompatibilidad (Importancia absoluta de 181), las cuales orientan directamente las decisiones de diseño y fabricación.

En este sentido, la selección de los métodos de fabricación se realizó con base en la capacidad de cada técnica para responder a estos criterios priorizados. Para la tasa de liberación, se requieren métodos que permitan un control preciso de la porosidad y la geometría del sistema, como la impresión 3D. En cuanto a la estabilidad del sistema, se priorizan técnicas que garantizaran

uniformidad estructural y reproducibilidad, como la extrusión de filamentos. Finalmente, la biocompatibilidad exige el uso de materiales y procesos que no alteraran las propiedades biológicas del sistema, favoreciendo métodos como la fabricación con polímeros biodegradables (ej. PCL) mediante técnicas de manufactura aditiva.

De esta manera, el QFD no solo permitió priorizar requerimientos, sino que también fundamentó la selección de las técnicas de fabricación más adecuadas para el desarrollo del sistema propuesto. Es por esto, que se evaluaron las alternativas planteadas anteriormente en la sección 2.2, entre ellas, el electrohilado, la impresión 3D, la liofilización y microesferas. Por un lado, la impresión 3D fue descartada ya que cuenta con un costo alto, equipos y software especializados, así como la complejidad en la preparación de filamentos con una incorporación homogénea de magnesio.

Se esquematizaron los siguientes procedimientos experimentales, con el propósito de simplificar los procesos para realizar la correcta elección de la solución preliminar. En las Figuras 13 A), B) y C) se pueden observar los protocolos preliminares que se planean ejecutar empleando distintas técnicas planteadas a lo largo del documento; las cuales están sujetas a cambios que puedan surgir en la ejecución del proyecto.

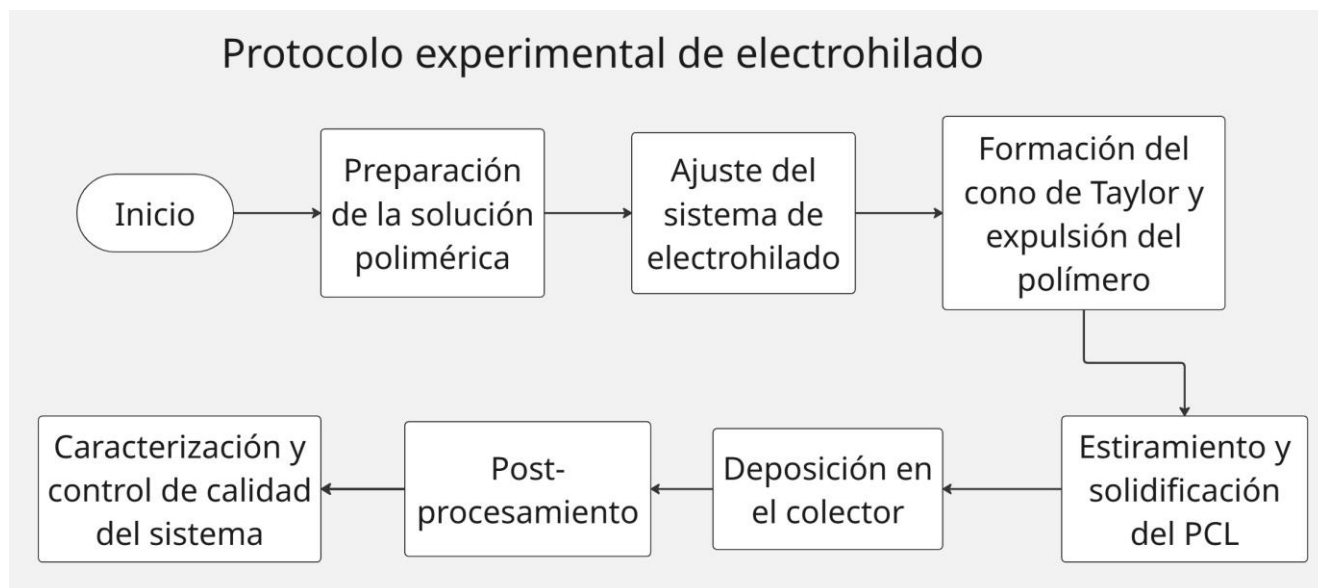
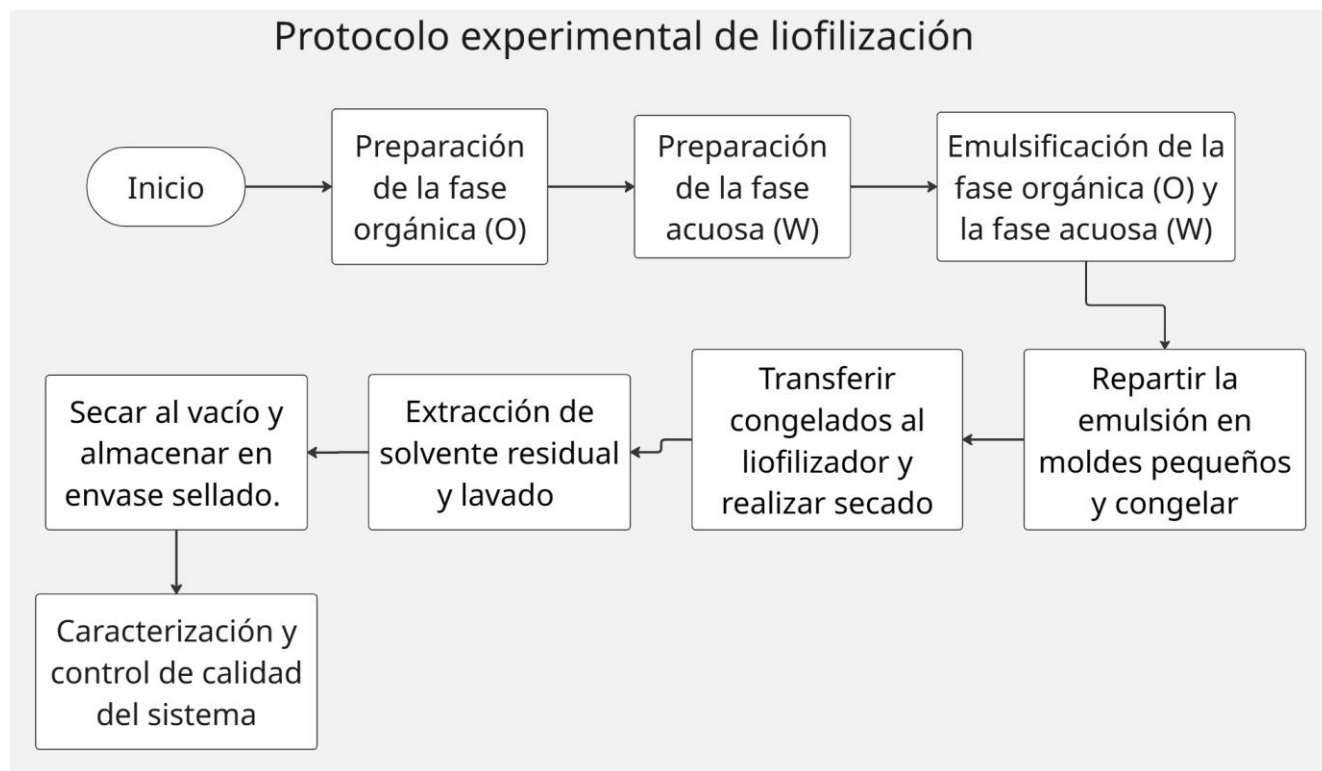
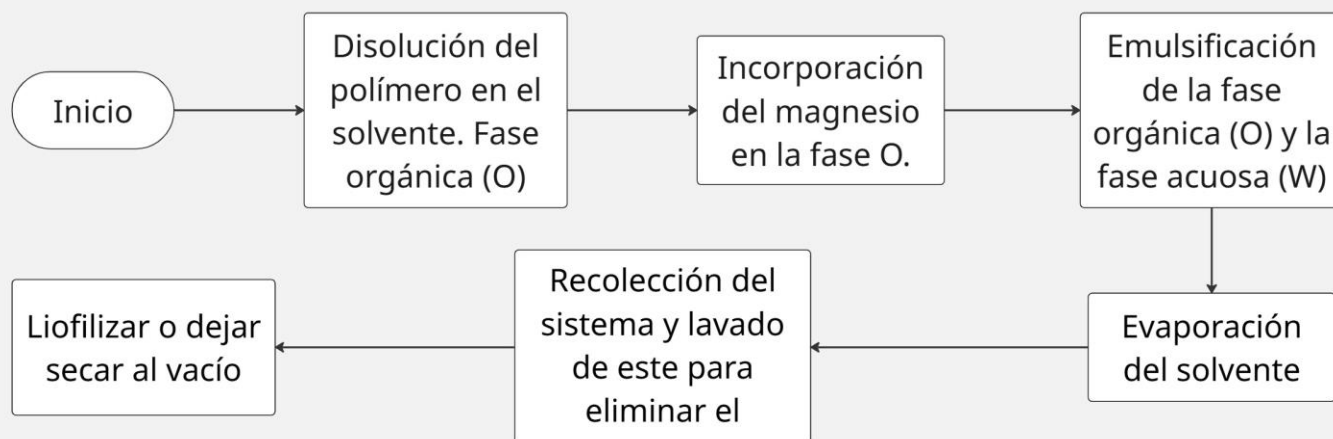


Figura 13. A) Protocolo experimental de electrohilado.



B). Protocolo experimental de liofilización.

Protocolo experimental de microesferas



C). Protocolo experimental de micro esferificación.

Para tener una visión más clara del funcionamiento del sistema, se plantea realizar los anteriores protocolos de las soluciones mencionadas en la Tabla 1; además de esto, como se mencionó en secciones anteriores, se descartó la utilización del método de impresión 3D debido a limitaciones con la compatibilidad del Mg con las altas temperaturas de extrusión del polímero y la posible oxidación del mineral durante el proceso. Por otro lado, la resolución de las impresoras disponibles no permitiría alcanzar la microestructura porosa requerida para el control efectivo de la liberación.

2.3.1.1 Parámetros experimentales:

Tabla 2. parámetros de liofilización

Etapa	Temp. plato (°C)	Presión (mTorr / Pa)	Duración	Fin de etapa (criterio)
Enfriamiento del plato (pre-ciclo)	-50 °C	Vacío en espera (≤ 1000 mTorr)	30–45 min	Plato a -50 °C estabilizado
Carga de muestras	-50 °C	Romper vacío brevemente con N ₂ seco	< 5 min carga	Muestras sobre plato en -50 °C
SECADO PRIMARIO (sublimación)	-40 °C	≤ 100 mTorr (13 Pa)	20–24 horas	Curva Pirani converge con curva de capacitancia; o temperatura del producto = temperatura del plato. Presión se estabiliza sin caer más.
Rampa calentamiento (secado 1→2)	-40 → 0 °C	≤ 80 mTorr (11 Pa)	4 horas (0.33 °C/min)	Monitoreo continuo de presión. No aumentar si hay pico de presión.
SECADO SECUNDARIO (desorción)	+20 °C (hasta +25 °C)	≤ 50 mTorr (6.7 Pa)	8–10 horas	Humedad residual Karl Fischer < 1%. Presión estable.
Romper vacío y sellar	Temperatura ambiente	Purgar con N ₂ seco (purity 99.999%)	10 min purga + sellado automático o manual	Viales sellados bajo N ₂ . Presionar tapones inmediatamente con crimpadora.

Tabla 3. parámetros de electrohilado.

Parámetro	Valor Óptimo Inicial	Rango de Exploración	Efecto sobre las fibras
Temperatura del fundido	82 °C	75–90 °C	↑ T → ↓ viscosidad → ↓ diámetro fibra
Voltaje de la fuente (HV)	28 kV	22–35 kV	↑ V → mayor elongación → ↓ diámetro
Flujo de la bomba de jeringa	0.05 mL/h	0.01–0.20 mL/h	↑ flujo → ↑ diámetro, ↑ producción
Distancia aguja–colector	8 cm	5–15 cm	↑ distancia → mayor solidificación antes de depositar
Diámetro de la aguja	18G (0.838 mm ID)	18G–21G	Aguja mayor → ↑ flujo, ↑ diámetro fibra
Temperatura ambiente	22 ± 2 °C	18–28 °C	↑ T amb → solidificación más lenta
Humedad relativa	35–50 %	20–60 %	Alta HR puede oxidar Mg; mantener < 55 %
Velocidad colectora (si rotatorio)	500 rpm	0 (plano)–2000 rpm	↑ rpm → fibras alineadas
Polaridad HV	Positivo en aguja, tierra en colector	Fijo	Configuración estándar MEW
Tiempo de corrida por batch	90–120 min continuos	60–180 min	↑ tiempo → ↑ espesor membrana

2.3.2. Combinación de soluciones preliminares

- Electrohilado + microesferas: Esta alternativa es viable debido a que consiste en incorporar microesferas con Mg dentro de fibras obtenidas en el electrohilado; por lo que esta combinación permite que las microesferas funcionen como reservorios internos del mineral, mientras que las fibras regulan el paso del medio acuoso hacia su interior. De esta manera se logra una liberación más controlada y sostenida del Mg, además de una estructura con mayor estabilidad mecánica.
- Microesferas + liofilización: Esta combinación se basa en integrar microesferas en una solución polimérica y luego someterla a un proceso de liofilización. De esta forma, se obtiene una matriz porosa con microesferas distribuidas de manera uniforme, lo que permite una liberación gradual de Mg y brinda mayor protección contra la oxidación y disolución acelerada.
- Electrohilado + liofilización: Esta opción consiste en combinar el electrohilado con la liofilización utilizando el primero para formar una capa fibrosa que recubre una matriz porosa obtenida mediante la liofilización, lo cual permitiría generar estructuras tridimensionales con diferentes niveles de porosidad, mejorando así la resistencia del material y la interacción con el medio biológico. Además, favorece la adhesión celular y el intercambio de nutrientes, lo que resulta beneficioso en aplicaciones biomédicas.

2.4 Bocetos

Se realizaron bocetos digitales en los cuales se puede observar la reacción del sistema empleando la técnica del electrohilado; como se puede observar en la Figura 14. En este boceto se pueden observar las fibras de magnesio metálico en el interior del polímero y la porosidad de este para la debida liberación del H₂.

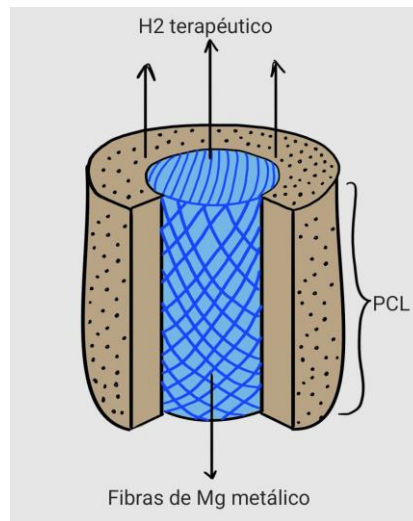


Figura 14. Boceto de sistema de liberación por método de electrohilado.

En el caso del método de liofilización (Ver Figura 15) se presenta un boceto respaldado por inteligencia artificial (IA) donde se ilustra la etapa final del método (secado). Este esquema permite visualizar el mineral previamente congelado, el cual es sometido a condiciones de baja presión y temperatura controlada para eliminar la humedad residual mediante sublimación. Este paso es fundamental para obtener una estructura porosa estable, conservando las propiedades del polímero y del Mg incorporado.

Sistema polimérico liofilizado cargado con Mg para liberación de H₂

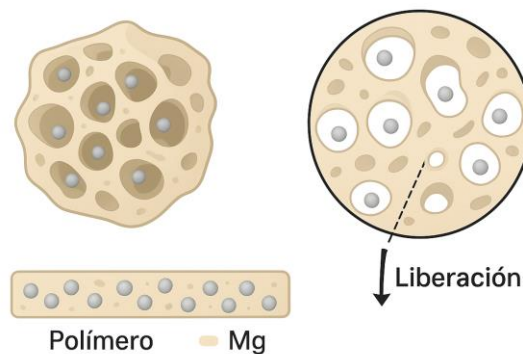


Figura 15. Boceto de sistema de liberación por liofilización.

La Figura 16 presenta un boceto ilustrativo igualmente respaldado por IA del resultado final del método de microesferas, donde se observa la formación de esferas poliméricas con Mg integrado; obtenidas tras la evaporación del solvente y la solidificación del material.

Sistema de microesferas poliméricas cargadas con Mg para liberación de H_2

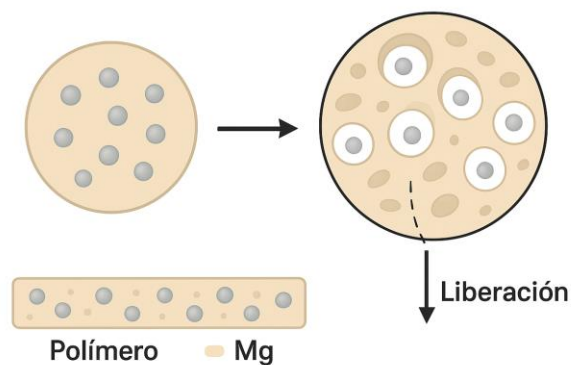
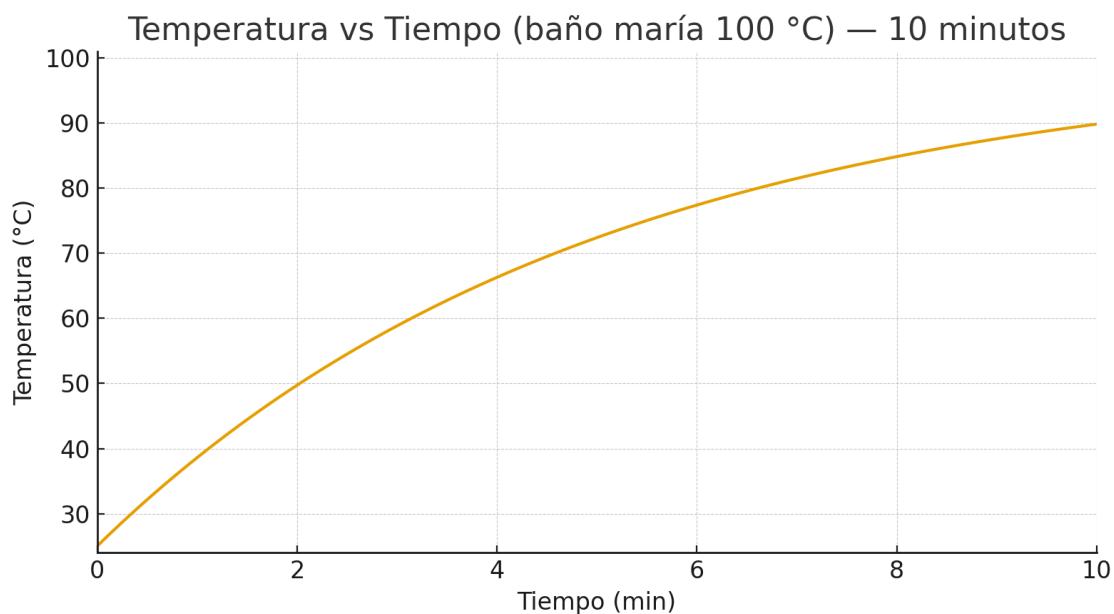


Figura 16. Boceto de sistema de liberación por microesferas.

2.5 Construcción de un prototipo inicial

Inicialmente, se han llevado a cabo pruebas para la disolución del polímero empleando la técnica del baño maría para medir la reacción del polímero con las altas temperaturas. Se realizó la siguiente curva de temperatura vs. tiempo (Ver Gráfica 1) para mostrar gráficamente las condiciones en las que el polímero se empieza a disolver.



Gráfica 1. Curva de temperatura vs. tiempo de la disolución del polímero.

Primeramente, en la Figura 20. A) se puede observar la PCL en su estado inicial en forma de pellets, este material, como ya se ha mencionado en ocasiones anteriores, es un termoplástico biodegradable que se derrite a bajas temperaturas (60 °C aproximadamente), cuando este empieza a derretirse, cambia su color de blanco a transparente. Asimismo, en la parte B) se aprecia el sistema de baño maría, junto con el polímero ya empezando a disolverse. Cuando el polímero es disuelto en su totalidad, toma una consistencia moldeable y fácil de manipular, tal como se puede notar en la parte C).



Figura 17. A) PCL en diferentes estados.



B) PCL disuelta



C) PCL moldeable

2.5.1 Pruebas mecánicas del material

Se realizaron pruebas mecánicas de la PCL en la que se evaluaron cómo reacciona bajo diferentes fuerzas para lograr determinar propiedades como resistencia, dureza, tenacidad y ductilidad [51]. Es por esto por lo que se construyó una probeta tipo IV, según la norma ASTM D638, en la cual se estipulan las medidas estándar, el grosor o espesor y los protocolos necesarios para llevar a cabo las pruebas de tracción, alargamiento, resistencia, entre otras mencionadas en la norma [52].

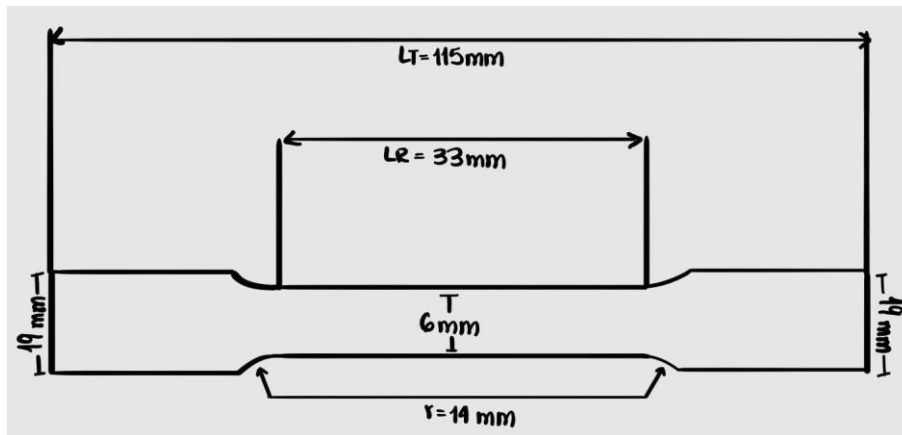
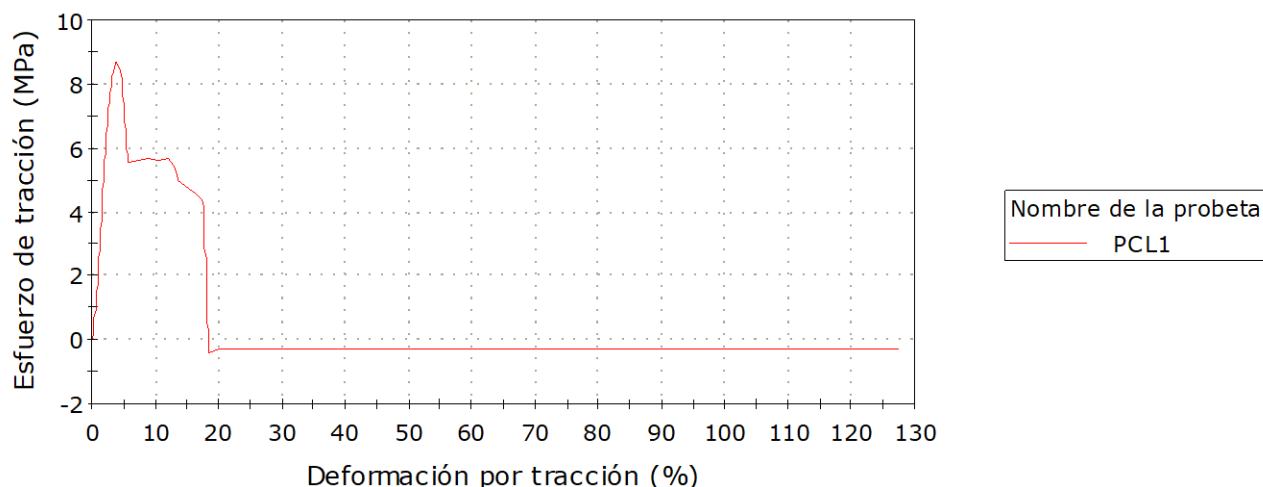


Figura 18. Probeta tipo IV con sus respectivas medidas.

En la Figura 18 se pueden observar las medidas estándar establecidas por la norma para una probeta tipo IV, la cual se utiliza para plásticos / polímeros no rígidos. La ASTM D638, establece que el rango de espesor está entre 1,0 mm a 3,5 mm, por lo que en este caso se estipula que la probeta a utilizar es de 3.0 mm de grosor; el sistema tiene una longitud total (LT) de 115 mm, un radio de transición (r) de 14 mm y una longitud de la zona reducida (LR) de 33 mm. Por último, el ancho de la sección de sujeción es de 19 mm y el de la sección reducida es de 6 mm.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: la probeta de PCL realizada, presentó un ancho de 4,48 mm, un espesor de 2,55 mm y un área de sección transversal de 11,42 mm². A partir de este ensayo se obtuvo la curva de esfuerzo-deformación característica del material (Ver Gráfica 2), la cual permitió identificar tres regiones diferenciadas.

Probeta 1 a 1



Gráfica 2. Curva esfuerzo - deformación del PCL

En la región elástica, comprendida entre 0% y aproximadamente 4,0% de deformación, el material exhibió un comportamiento lineal a partir del cual se calculó el módulo de Young (E) mediante ajuste lineal, obteniendo un valor de 262 MPa, consistente con los valores reportados en la literatura para el PCL de grado biomédico [16]. Superado este límite, la curva alcanzó el esfuerzo máximo de tracción de 8,68 MPa, a partir del cual se observó una reducción progresiva del esfuerzo asociada al inicio de deformación plástica localizada y formación de estricción.

Finalmente, el material ingresó en una fase de deformación plástica sostenida hasta la fractura, registrando una elongación total a la ruptura de 127,35%, lo que confirma el carácter altamente dúctil del polímero. La Tabla 4 resume las propiedades mecánicas obtenidas

Tabla 4. Propiedades mecánicas de la PCL obtenidas durante ensayo de tracción ASTM638

Propiedad	Valor
Módulo de Young (E)	262 MPa
Esfuerzo máximo de tracción ($\sigma_{\text{máx}}$)	8,68 MPa
Deformación en fluencia	4,0%
Elongación a la ruptura	127,35%
Ancho de la sección reducida	4,48 mm
Espesor	2,55 mm
Área transversal	11,42 mm ²

Estos resultados son relevantes para el proyecto, ya que confirman que la PCL posee una combinación adecuada de rigidez inicial, capacidad de deformación plástica y ductilidad suficiente para soportar las condiciones de implantación y degradación progresiva propias del sistema diseñado. Cabe mencionar que, dado que el ensayo se realizó sobre una sola probeta,

los resultados tienen carácter exploratorio; idealmente la norma ASTM D638 recomienda un mínimo de cinco replicas para obtener valores estadísticamente representativos, lo cual se podría plantear como trabajo a desarrollar en fases futuras del proyecto.

2.6 Realización de procedimientos experimentales

2.6.1 Preparación de materiales e insumos

Previo a la fabricación de los prototipos, se realizó la medición y distribución de los materiales a utilizar en los tres métodos de procesamiento evaluados. El Mg metálico en polvo fue medido volumétricamente, obteniendo un volumen total de 1ml; si se tiene en cuenta la densidad del Mg ($1,738 \text{ g/cm}^3$) y la fórmula de masa: $m = \rho * V$, se obtendría que 1ml de Mg es igual a 1,738 g, los cuales fueron divididos en tres partes iguales para su incorporación en cada método. Las proporciones de materiales y denominaciones asignadas por cada método son las siguientes:

- Calentamiento y moldeo (método Negro): 2g de PCL, sin solvente, 0,579 g de Mg metálico
- Extrusión manual asistida por solvente (método Rojo): 2g de PCL, 4,5 ml de DCM, 0,579 g de Mg metálico.
- Disolución y moldeo (método Azul): 1g de PCL, 5 ml de DCM, 0,579 g de Mg metálico.

2.6.2 Calentamiento y moldeo (Método Negro)

Este método consistió en la incorporación del Mg metálico a la matriz de PCL mediante fusión térmica, aprovechando el bajo punto de fusión característico del PCL (aproximadamente 60°C) [16]. El procedimiento realizado fue el siguiente:

1. Se pesaron 2 g de PCL en forma de pellets y se introdujeron en un recipiente de vidrio resistente al calor. La muestra fue sometida a un baño maría a una temperatura de 100°C durante 10 minutos, hasta lograr la fusión completa del polímero y obtener una masa homogénea y moldeable, tal como se ilustra en la Figura 17. A), B) y C).
2. Paralelamente, se midió el volumen total del Mg metálico disponible (1 ml) y se separó una tercera parte (aproximadamente 0,579 g) para su incorporación a este método.
3. El Mg fue adicionado a la PCL fundida y la mezcla fue sometida a agitación mecánica utilizando el vórtex, con el fin de garantizar una distribución homogénea del mineral dentro de la matriz polimérica.
4. Debido al rápido tiempo de endurecimiento de la PCL al retirarla del calor, la mezcla fue reintroducida al baño maría por aproximadamente 5 minutos adicionales, con el objetivo de recuperar la fluidez necesaria para el moldeo.
5. Una vez alcanzada nuevamente la consistencia adecuada, la mezcla fue retirada del baño maría y moldeada con una caja de puntas de 1000 μl , aprovechando la geometría regular de sus orificios para obtener muestras de forma y tamaño estandarizados (Ver Figura 19. A) y B)
6. Las muestras fueron dejadas a temperatura ambiente durante 24 horas para garantizar su solidificación completa. Transcurrido este tiempo, se cortaron, obteniendo un total de 10 muestras para su posterior evaluación.

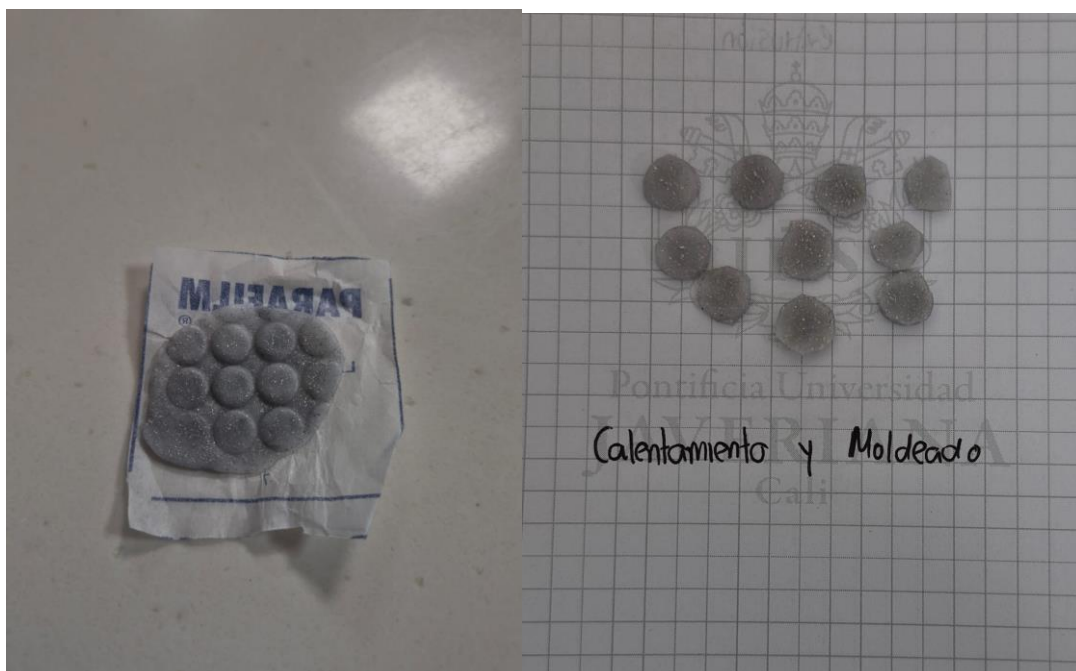


Figura 19. A) Método "Negro".

B) Moldeado del polímero.

2.6.3 Extrusión manual asistida por solvente (Método Rojo)

Este método consistió en la disolución de la PCL en diclorometano (DCM) como solvente orgánico, seguida de la extrusión manual de la mezcla para obtener las muestras (Ver Figura 20: A) y B)). A diferencia del método Negro, en este caso no se empleó calor como mecanismo principal de procesamiento, sino la capacidad disolvente del DCM sobre la PCL a temperatura ambiente. El procedimiento realizado fue el siguiente:

1. Al igual que en el método anterior, se pesaron 2 g de PCL en forma de pellets y se introdujeron directamente en una jeringa de plástico. Posteriormente, se adicionaron 4,5 ml de DCM a la misma jeringa, con el objetivo de evaluar la interacción entre el solvente orgánico y el polímero; además de evaluar su viabilidad como medio de procesamiento para la fabricación del prototipo.
2. Inmediatamente tras la mezcla de ambos componentes no se observaron cambios morfológicos repentinos en la PCL. Sin embargo, se registró un tiempo de reacción de entre 15 y 20 minutos, durante el cual el DCM empezó a disolver progresivamente la matriz polimérica.
3. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente durante un periodo de 24 horas, con la jeringa sellada para evitar la evaporación del solvente, permitiendo la disolución del polímero en el solvente.
4. Transcurrido este tiempo, se verificó la disolución total de la PCL, obteniendo una mezcla viscosa y homogénea dentro de la jeringa. La mezcla fue homogenizada mediante

agitación suave por rotación de la jeringa y se extruyó manualmente a través de la punta de esta, depositando el material de manera controlada en el molde.

5. Se mezcla la masa viscosa, junto con los 0,579 g de Mg y se agita en el vortex hasta su incorporación.
6. El material extruido fue depositado en una caja para puntas de 1000 μ l, la cual fue previamente acondicionada con el papel Parafilm en su interior para evitar la pérdida de material por adherencia y facilitar el posterior desmolde de las muestras.
7. Una vez depositada la mezcla en el molde, se utilizó una espátula para distribuirlo uniformemente en los orificios, ajustando su forma a la geometría de la caja y garantizando una mayor homogeneidad dimensional entre las muestras.
8. Las muestras fueron dejadas a temperatura ambiente durante 24 horas adicionales para permitir la evaporación completa del solvente residual y la solidificación del sistema, obteniendo las muestras finales para su posterior evaluación.

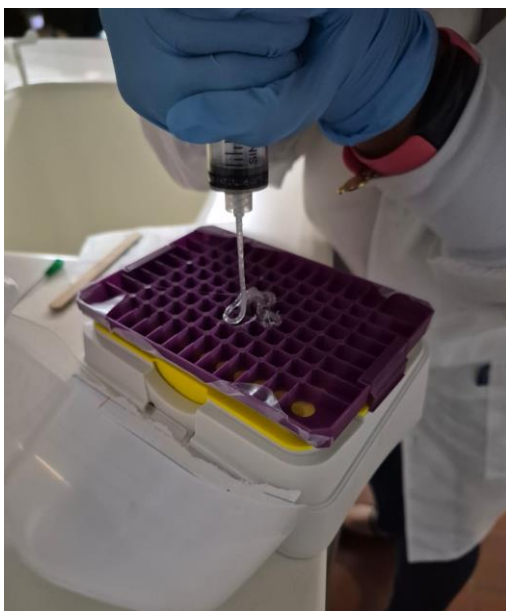
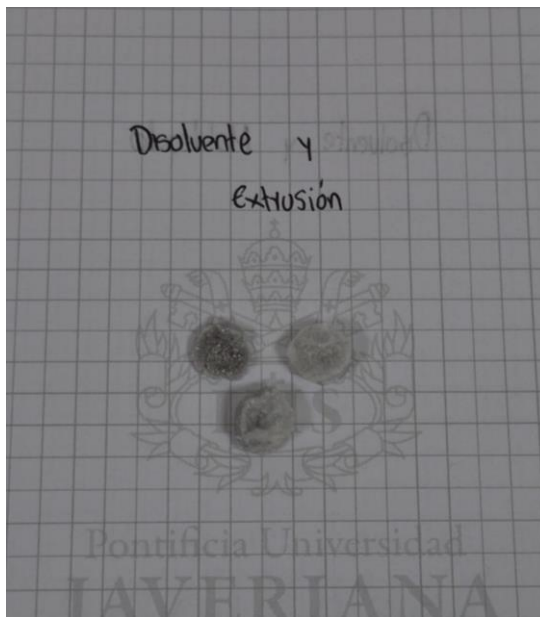


Figura 20. A) Extrusión del polímero



B) Método "Rojo".

2.6.4 Disolución y moldeo

Consistió en la disolución del PCL en DCM dentro de un beaker seguida de la incorporación del Mg metálico a la masa polimérica resultante y su moldeo manual. A diferencia del método Rojo, en este caso el solvente fue empleado en mayor proporción relativa respecto al polímero (5 ml de DCM por 1 g de PCL), lo que favoreció a que se tuviera una disolución más completa y una consistencia más uniforme de la mezcla final. El procedimiento realizado fue el siguiente:

1. En un beaker de vidrio se pesó 1 g de PCL en forma de pellets y se adicionaron 5 ml de DCM. Los componentes fueron mezclados suavemente dentro del recipiente, el cual fue cubierto para minimizar la evaporación del solvente durante el proceso de disolución.

2. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura por 24 horas, permitiendo la interacción completa entre el solvente orgánico y el polímero hasta obtener una masa viscosa, homogénea y moldeable.
3. Transcurrido este tiempo, se verificó la disolución total de la PCL. A la masa resultante se le adicionaron 0,579 g de Mg metálico, el cual fue incorporado manualmente mediante amasado directo hasta lograr una distribución visualmente homogénea del mineral dentro de la matriz polimérica.
4. Una vez integrado el Mg, el sistema fue extraído del beaker y depositado sobre una hoja de papel Parafilm previamente utilizada, aprovechando la superficie no adherente del material para facilitar el moldeo sin la pérdida de muestra.
5. La mezcla fue moldeada manualmente hasta obtener una forma circular. Posteriormente se depositó en una caja de puntas de 1000 μ l sobre la lámina circular para utilizarla como molde por presión, definiendo la geometría y espesor de las muestras de manera semiestandarizada.
6. Las muestras fueron dejadas a temperatura ambiente durante varias horas hasta lograr su solidificación parcial. Transcurrido este tiempo se procedió a cortar las muestras para remover imperfecciones en la forma del sistema, obteniendo un total de 6 muestras (Ver Figura 21)



Figura 21. Método "Azul".

El método Negro produjo 10 muestras, el Rojo un número menor por perdidas en la extrusión (3 muestras restantes) y el Azul 6 muestras.

2.7 Análisis comparativo de los métodos de fabricación

A partir de los procedimientos experimentales descritos en la sección 2,6, se identificaron algunas diferencias entre los métodos de fabricación, esto en términos de proceso, características morfológicas de las muestras obtenidas y fabricación en general. La tabla 5 muestra estas diferencias de manera resumida y comparativa.

Tabla 5. Comparación de los métodos de fabricación

Parámetro	Método Azul	Método Negro	Método Rojo
Forma de procesamiento	Disolución en solvente con molde manual	Fusión térmica	Disolución en solvente con extrusión manual
Solvente utilizado	DCM (5 ml /1 g de PCL)	N/A	DCM (4,5 ml /2 g de PCL)
Temperatura del proceso	100°C (baño maría)	Ambiente	Ambiente
Tiempo de procesamiento	24 horas de disolución y varias horas de solidificación	~ 15 minutos activo y 24 horas de solidificación	24 horas de disolución y 24 horas de evaporación
Muestras totales obtenidas	6	10	3 (pérdidas por la extrusión)
Muestras utilizadas en la evaluación	3	3	2
Morfología superficial	Homogénea y un poco traslúcida, Mg distribuido más uniformemente (Figura 24 A)	Heterogénea, partículas de Mg visibles a simple vista (Figura 24 B)	Rugosa e irregular, mayor densidad superficial de Mg (Figura 24 C)
Porosidad estimada	Baja – media	Media	Alta (Mayor contacto con el medio)
Facilidad de fabricación	Media	Alta	Baja (perdidas en la extrusión)

Se sabe que las diferencias morfológicas entre métodos implican directamente en el comportamiento del sistema durante la evaluación. El método Azul, con una mayor de proporción de solvente respecto al polímero, permitió una disolución más completa de la PCL y una incorporación más uniforme del Mg, lo que se reflejó en muestras más homogéneas superficialmente y como se verá en la fase de evaluación, en perfiles de liberación más sostenibles. El método Negro, al no utilizar un solvente, generó muestras más densas, pero como una distribución más heterogénea del Mg, gracias al mezclado mecánico en la masa fundida. El método Rojo produjo estructuras más porosas que lo demás métodos, lo que favorece en gran medida a tener un contacto inicial mayor entre el Mg y el medio acuoso pero que dificulta el control de liberación, lo que genera una liberación inicial muy rápida.

3 Fase de Evaluación

3.1 Indicadores de éxito

Teniendo en cuenta los objetivos propuestos y los requisitos técnicos mencionados en etapas tempranas del proyecto, se pueden dividir los indicadores de éxito en 3 categorías: Fabricación, liberación/degradación y validación experimental; tal como se plantea en la Tabla 6.

Tabla 6. Indicadores de éxito

Indicador	Categoría	Métrica	Criterio de aceptación	Método de medición	Objetivo	Actividades clave
Encapsulación efectiva de Mg en matriz PCL	Fabricación	% de Mg retenido vs. Incorporado	$\geq 85\%$	Comparación de masa inicial vs. Liberación total acumulada	OE c)	- Preparación de la solución PCL-Mg por método. - Pesaje inicial de todas muestras fabricadas. - Registro sistemático de masa a lo largo del tiempo
Reproducibilidad entre muestras del mismo método	Fabricación	Desviación estándar (SD) de masa inicial	$SD \leq 10\%$	Balanza analítica – Tabla 5.	OE c)	- Fabricación de mínimo 3 réplicas por método (Azul, Negro, Rojo) - Estandarización del protocolo de cada método.
Uso eficiente del material polimérico	Fabricación	Gramos de PCL desperdiciada por lote.	$\leq 2 \text{ g}$	Registro de masa inicial y producto final por lote.	OE b) c)	- Llevar bitácora de gramos de PCL usados por sesión.
Dimensiones del implante dentro del rango establecido	Fabricación	Dimensiones del prototipo (mm)	$1 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \pm 0,2 \text{ mm}$	Micrómetro	OE b)	- Medición dimensional de al menos 3 muestras por método.
Estabilidad de la concentración del sistema	Liberación	Porcentaje E(t) según Ecuación 1.	$\geq 90\%$ en los primeros 7 días.	Espectrofotometría - Lector Multiskan.	OE d)	- Toma de muestras del medio en intervalos definidos. - Medición de absorbancia en cada punto temporal. - Cálculo de E(t) con la Ecuación 1 del documento.
Perfil de liberación sostenida y controlada.	Liberación	Variabilidad entre muestras del mismo lote	Variabilidad $< \pm 20\%$	Absorbancia y turbidez a lo largo del tiempo. Gráficas 2 y 3.	OE d)	- Ensayo de degradación en solución salina 0,9% a 37°C. - Incorporación de actividad enzimática (pancreatina/ simeticona) al medio. - Registro de absorbancia y turbidez en cada fecha de muestreo.
Liberación bifásica identificable	Liberación	Identificación de fase rápida inicial y	Ambas fases presentes y	Curva de absorbancia vs. Tiempo. Gráfica 2.	OE d)	- Análisis visual e interpretación de la curva de absorbancia.

		fase sostenida tardía.	diferenciables en gráfica.			- Comparación del patrón entre los métodos.
Degradación progresiva del polímero	Liberación	% de pérdida de masa acumulada durante la evaluación (1 mes)	Degradación total al final del período de evaluación.	Pesaje periódico. Tabla 5.	OE c) d)	- Pesaje de muestras en cada punto temporal del protocolo. - Registro fotográfico del estado visual de las muestras a lo largo del tiempo.
Diferencia entre muestras con Mg y control de PCL puro	Validación	Diferencia estadísticamente identificable en absorbancia.	Diferencia visible y sostenida en ≥ 3 puntos temporales.	Comparación de curvas. Gráfica 2.	OE d)	- Inclusión de control de PCL puro (sin Mg) en todas las sesiones de medición. - Medición de absorbancia en los mismos puntos temporales para control y muestras
Identificación del mejor método de fabricación	Validación	Puntaje comparativo entre métodos Azul, Negro y Rojo	Un método con mejor desempeño en ≥ 4 de 6 criterios.	Matriz de decisión (Absorbancia, turbidez, masa, reproducibilidad)	OE b) d)	- Comparación cuantitativa de los tres métodos. - Construcción de matriz de decisión. - Selección justificada del método con mejor desempeño.
Biocompatibilidad del material según normativa	Validación	Viabilidad celular según ISO 10993	$\geq 70\%$ de viabilidad (criterio normativo)	Ensayo de citotoxicidad in-vitro (posible fase futura)	OE a) b)	- Investigación sobre biocompatibilidad de polímeros.

3.2 Plan de pruebas y validación

La validación del sistema de liberación controlada de Mg encapsulado y liberación de H₂ (medición indirecta) en matrices de PCL se realizó mediante un diseño experimental comparativo entre tres métodos de fabricación: calentamiento y moldeo (método Negro) ((Figura 19 A) y 19B) extrusión manual asistida por solvente (método Rojo) (Figura 20 A) y B), y disolución y moldeo (método Azul) (Figura 21). Cada uno de estos métodos permitió obtener muestras con características físicas distintas, lo cual fue clave para analizar su comportamiento durante los procesos de degradación y liberación del compuesto activo [54].

3.2.1 Ensayo de degradación en solución salina

Inicialmente, las muestras se sometieron a ensayos de degradación en solución salina al 0,9% p/v (NaCl), con el fin de simular condiciones fisiológicas básicas [54]. Durante estos ensayos se evaluaron cambios en la masa de las muestras, así como variaciones en la turbidez del medio, utilizadas como indicadores indirectos de la liberación de H₂ y la degradación del polímero. En este sistema, el magnesio presente en la matriz polimérica reacciona con el medio acuoso según la reacción 1, mencionada en apartados anteriores. Esta reacción permite la generación de H₂ y la formación de hidróxido de magnesio, el cual puede contribuir al aumento de la turbidez del medio.

Es por esto por lo que a lo largo del tiempo de evaluación se realizaron pruebas de turbidez periódicas, con el fin de evaluar la tasa de liberación y la cantidad de degradación del PCL.

3.2.2 Evaluación mediante azul de metileno

Como método complementario, se implementó el uso de azul de metileno como marcador, ya que permite monitorear cambios en la concentración de sustancias liberadas al medio. Las variaciones en la absorbancia del sistema con este colorante facilitaron la evaluación indirecta del comportamiento de liberación del magnesio [55]; gracias a que el azul de metileno es fácilmente identificable en estudios de espectrofotometría.

Por otro lado, este marcador presenta un comportamiento redox reversible, denominado "Par redox (azul de metileno / leucoazul de metileno)"; su uso es fundamental como marcador indirecto para medir la degradación del Mg y la cantidad de H₂ liberado al medio, dado que el ambiente reductor generado por la reacción del Mg con el agua es proporcional a la cantidad de Mg liberado y, por ende, al H₂ producido según la Reacción 1 [55]. Como se puede observar en la Figura 28, el azul de metileno (MB, forma oxidada, color azul) reacciona químicamente al ambiente reductor generado por la degradación de Mg, transformándose en leucoazul de metileno (LMB, forma reducida, transparente). Este proceso modifica la estructura electrónica conjugada responsable de la absorción de luz visible.

Cuando el sistema entra en contacto con el oxígeno del aire, el LMB es reoxidado espontáneamente a MB, recuperando su coloración azul original, lo que confirma la naturaleza de la reacción reversible del par MB/LMB [56]; esta cuestión también puede ser analizada observando sus estructuras moleculares, como en la Figura 23, en la cual se observa que un átomo de hidrógeno se agrega a la estructura del MB para así convertirse en el LMB incoloro. De esta manera, la caída en la absorbancia medida a 665 nm en la Figura 22, refleja la actividad del sistema, permitiendo estimar de forma indirecta tanto la degradación del Mg como la generación de H₂ molecular terapéutico a lo largo del tiempo.

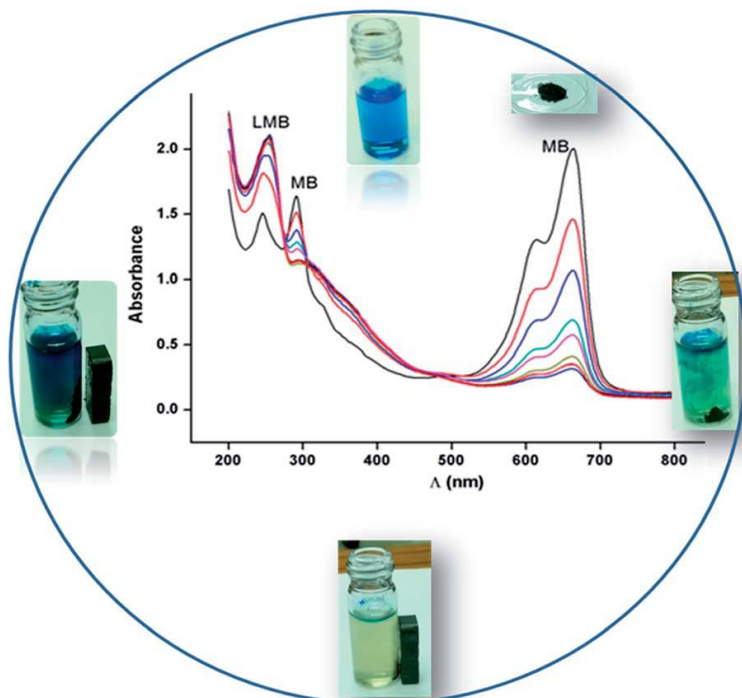


Figura 22. Ciclo redox reversible MB/LMB [56].

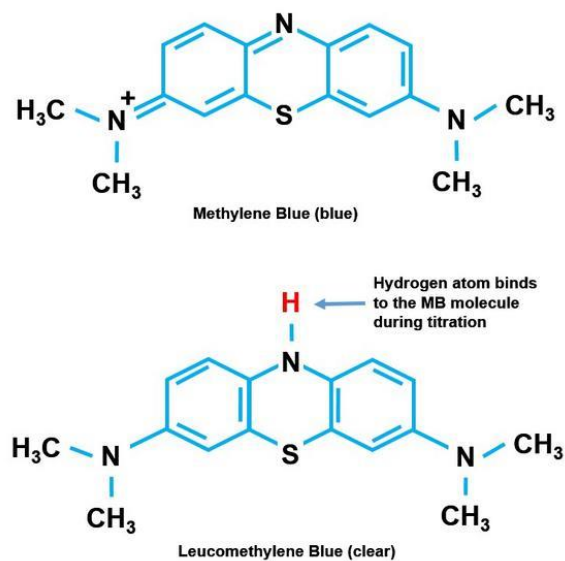


Figura 23. Reacción molecular MB/LMB [57]

Adicionalmente, el método de evaluación mediante el azul de metileno constituyó el indicador principal de la liberación de H₂ terapéutico, en el presente proyecto, dado que la medición directa de H₂ gaseoso representa una limitación técnica significativa en sistemas de liberación controlada a escala de laboratorio; gracias a que es una molécula de tamaño muy pequeño, altamente difusiva y poco soluble en agua, lo que dificulta la cuantificación directa mediante métodos convencionales sin equipos especializados como cromatógrafos de gases o sensores específicos.

3.2.3. Ajuste del medio con actividad enzimática

En las primeras pruebas se evidenció que la degradación del PCL en estos medios era bastante lenta, lo que dificultaba observar cambios significativos en tiempos experimentales cortos. Por esta razón, se decidió ajustar el protocolo incorporando actividad enzimática (pancreatina /simeticona), la cual es un cóctel de enzimas que contiene 170 mg de Pancreatina (correspondiente a 6.500 unidades FIP de actividad lipasa, 5.500 unidades FIP de actividad amilasa, 400 unidades FIP de actividad proteasa), 80 mg de Simeticona e incipientes, con el objetivo de simular un entorno biológico más cercano a condiciones reales, como las del sistema digestivo, donde la presencia de enzimas acelera la degradación de materiales poliméricos.

Para ello, se empleó una solución de pancreatina con una concentración reportada de 1444,4 unidades de actividad enzimática por mL, según la información del medicamento comercial utilizado (6500 U por cápsula reconstituida en 4,5 mL de solución salina). Se adicionó un volumen de 1,7 mL de esta solución a un medio de NaCl total de 4,7 mL, obteniendo una actividad enzimática final de 522,46 UI/mL en el sistema. Para las muestras de azul de metileno contenidas en un volumen inicial de 7 mL, el volumen de solución enzimática fue ajustado mediante una relación proporcional, adicionando 4,76 mL de la solución, para un volumen total de 11,76 mL, lo que resultó en una actividad enzimática final de 584,82 UI/mL. Esta proporción fue seleccionada con el fin de garantizar una actividad suficiente que favoreciera la degradación del polímero sin alterar de manera drástica las condiciones del ensayo.

Gracias a que la pancreatina contiene estas enzimas [58], se favorece la degradación de la matriz polimérica, debido a la hidrólisis enzimática de enlaces éster presentes en la estructura del polímero. Este ajuste permitió simular un entorno biológico más representativo, incrementando la velocidad de degradación y facilitando la observación de cambios en tiempos experimentales más cortos. Las muestras fueron incubadas bajo las mismas condiciones de temperatura (37°C), manteniendo agitación suave para favorecer la interacción entre el medio enzimático y el sistema polimérico.

3.2.4 Medición de absorbancia y turbidez

Las mediciones experimentales se realizaron utilizando un lector de microplacas tipo Multiskan SkyHigh (Thermo Fisher Scientific) [59], que permite realizar análisis espectrofotométricos a longitudes de onda específicas. En el caso de la absorbancia de las muestras con azul de metileno y agua, se trabajó en un rango entre 700 nm y 600 nm [60], adecuado para detectar cambios asociados al azul de metileno. Por otro lado, la turbidez en las muestras con NaCl, se evaluó a partir de la dispersión de la luz en el medio [61], la cual aumenta con la presencia de partículas en suspensión producto de la degradación del material, se trabajó con un rango entre 600 nm y 595 nm. El principio de funcionamiento del equipo se basa en la emisión de luz monocromática a través de la muestra y la cuantificación de la luz absorbida o dispersada, lo que permite estimar la concentración de especies presentes en el medio [59].

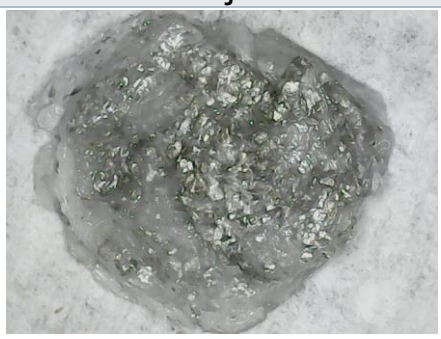
3.2.5 Evaluación de los métodos de fabricación

Adicionalmente, se evaluó la reproducibilidad de los métodos de fabricación. Se observó que el método de calentamiento y moldeo presenta variabilidad en las masas iniciales, lo que sugiere menor homogeneidad en la distribución del Mg en el sistema. La extrusión manual asistida por solvente (m. Rojo) generó estructuras con mayor porosidad, lo cual podría influir en la liberación del magnesio. En contraste, el método de disolución y moldeo (m. Azul) mostró resultados más uniformes, posicionándose como una alternativa más estable para este tipo de aplicaciones. [61]

3.2.5.1. Estado visual inicial de cada método y caracterización del Mg

Previo al inicio de los ensayos de evaluación se realizó un registro fotográfico del estado visual inicial de las muestras obtenidas mediante cada método de fabricación, con el fin de documentar las diferencias morfológicas superficiales entre los tres sistemas y establecer las bases para el seguimiento visual a lo largo de la evaluación.

Como se puede observar en la Figura 26, los tres métodos produjeron muestras con características visuales diferentes entre sí. La muestra Azul (Figura 24 A)), obtenida por disolución y moldeo, presenta una superficie más homogénea y translúcida, con partículas de Mg distribuidas de manera relativamente uniforme y una morfología más compacta, lo que es consistente con el proceso de disolución completa del polímero en PCL previo al moldeo. La muestra del método Negro (Figura 24 B)), obtenida por calentamiento y moldeo, muestra una distribución más heterogénea del Mg, con partículas visibles a simple vista. Por su parte, la muestra del método Rojo (Figura 24 C)), obtenida por hilado y extrusión, presenta la mayor densidad superficial de partículas de Mg visibles, con una textura rugosa e irregular que evidencia una menor homogeneidad en la distribución del material dentro de la matriz polimérica, posiblemente relacionada con la viscosidad de la mezcla durante la extrusión manual, lo que a su vez genera que este método sea el más poroso de los tres métodos de fabricación.

Métodos		
Azul	Negro	Rojo
		
Figura 24. A) Muestra Azul inicial.	B) Muestra Negro inicial.	C) Muestra Rojo inicial.

3.2.5.1.1. Caracterización del tamaño de partícula de Mg mediante ImageJ

Con el fin de estimar el tamaño aproximado de las partículas de Mg metálico incorporados en los sistemas, se realizó un análisis de imagen utilizando el software ImageJ, herramienta ampliamente

empleada para investigación biomédica para la medición y análisis morfológico de estructuras a partir de imágenes digitales [62]. Para la calibración del sistema, se tomó como referencia de longitud conocida la tapa del borrador de un micropunta con una longitud de 1,5 cm, la cual fue utilizada como escala para convertir las mediciones en píxeles a unidades de longitud.

La imagen analizada corresponde a una fotografía del Mg metálico en polvo bajo el microscopio previo a su incorporación al polímero (Figura 25), capturada a una resolución de 640 x 480 píxeles, con dimensiones reales de 1,51 x 1,13 cm según la calibración realizada en ImageJ. A partir de esta imagen, se realizaron las mediciones de longitud de las partículas, obteniendo valores de entre aproximadamente 300 μm - 600 μm , con un ángulo de orientación variable entre partículas de aproximadamente 37°, con respecto al eje X, como se puede observar en la parte inferior de la Figura 26.

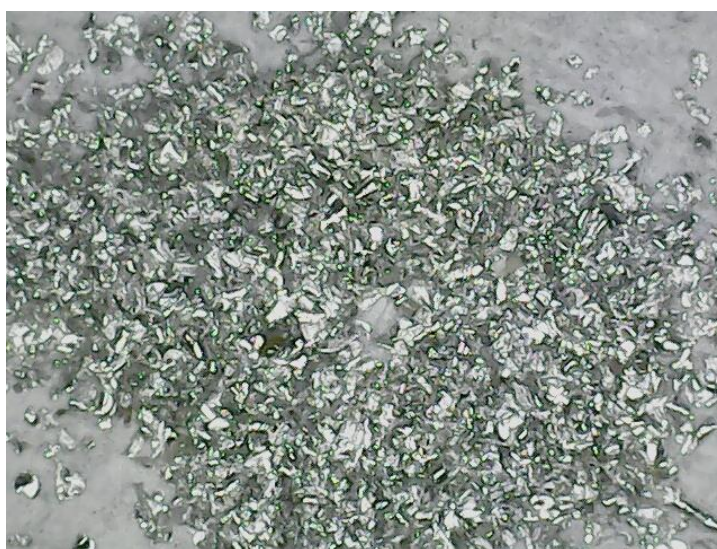


Figura 25. Mg metálico bajo el microscopio.

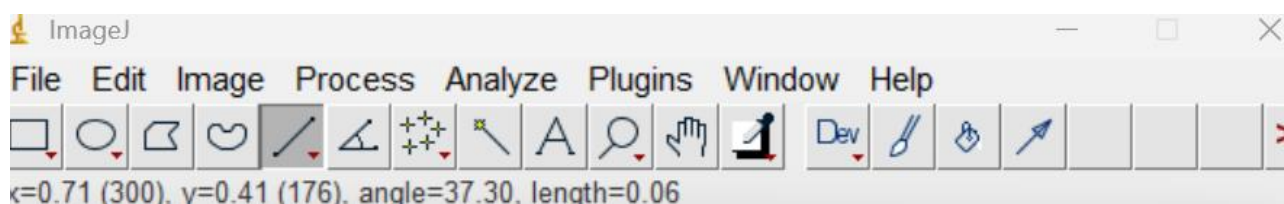


Figura 26. Interfaz de ImageJ con los parámetros de medición

3.2.6 Criterios de validación

La validación del sistema se realizó mediante la observación de los resultados experimentales y su comparación entre cada método de fabricación, considerando criterios como precisión, estabilidad, sensibilidad, reproducibilidad y facilidad de implementación. Esto permitió identificar el método más adecuado para aplicaciones de liberación controlada.

3.2.7. Plan de análisis de resultados

El análisis de los resultados se realizó mediante un enfoque cuantitativo y comparativo, con el fin de identificar el método de fabricación con mejor desempeño en términos de liberación controlada de H₂ y estabilidad del sistema. En primer lugar, se llevó a cabo un análisis descriptivo de los datos, incluyendo el cálculo de promedios para variables como absorbancia, turbidez y cambios en el peso de las muestras. Esto permitirá evaluar la reproducibilidad de los resultados y la consistencia de cada método.

Posteriormente, se compararon los diferentes métodos de fabricación para identificar posibles diferencias en su comportamiento. En caso de ser necesario, este análisis se complementará mediante la evaluación de variables propias de la cromatografía flash, tales como la polaridad de la fase móvil, el tipo de fase estacionaria, la velocidad de flujo y los tiempos de elución de los compuestos. Adicionalmente, se considerarán variables como el gradiente de elución, la cantidad y tipo de muestra, así como parámetros dependientes como el tiempo de retención, el volumen de elución, la resolución de los compuestos, el área de los picos y la absorbancia registrada mediante detector UV. Asimismo, se mantendrán constantes condiciones como el tipo de fase estacionaria (sílica gel), el tamaño de partícula, las dimensiones de la columna, la presión del sistema y la longitud de onda del detector, con el fin de garantizar la reproducibilidad del proceso.

La cromatografía flash permitirá evaluar la separación e identificación de los compuestos liberados desde la matriz de PCL con magnesio, basándose en su afinidad por la fase estacionaria y su solubilidad en la fase móvil. De esta manera, los compuestos menos polares eludirán más rápidamente, mientras que los más polares presentarán mayores tiempos de retención, lo que facilitará el análisis de la eficiencia del sistema de liberación y la comparación entre los distintos métodos de fabricación.

Con el propósito de organizar de manera clara estas variables y facilitar su análisis, se presenta a continuación la Tabla 7 en la que se clasifican en independientes, dependientes y controladas, junto con su respectiva función dentro del proceso de cromatografía flash. Esta clasificación permite identificar los factores que influyen en la separación de los compuestos y aquellos que deben mantenerse constantes para asegurar la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos.

Tabla 7. Variables de cromatografía flash.

Tipo de Variable	Variable	Descripción/ Función
Independiente	Composición de la fase móvil	Determina la capacidad de arrastre de los compuestos según su polaridad
Independiente	Gradiente de elución	Permite modificar la polaridad del sistema durante el proceso para mejorar la separación.

Independiente	Flujo de la fase móvil	Controla la velocidad de elución y afecta la resolución de los compuestos.
Independiente	Cantidad de muestra	Influye en la saturación de la columna y la calidad de la separación.
Independiente	Tipo de muestra	Define la naturaleza de los compuestos a separar (productos de degradación, interacciones, etc.).
Dependiente	Tiempo de retención (tR)	Tiempo que tarda un compuesto en eluir; permite su identificación.
Dependiente	Volumen de elución	Volumen necesario para que el compuesto salga de la columna.
Dependiente	Resolución	Capacidad de separar claramente dos o más compuestos.
Dependiente	Área de los picos	Relacionada con la cantidad relativa de cada compuesto presente.
Dependiente	Absorbancia (detector UV)	Permite detectar y monitorear los compuestos durante la elución.
Controlada	Fase estacionaria (sílica gel)	Se mantiene constante para garantizar condiciones reproducibles.
Controlada	Tamaño de partícula	Afecta la eficiencia de separación; se mantiene fijo.
Controlada	Dimensiones de la columna	Influyen en la capacidad y resolución del sistema.
Controlada	Presión del sistema	Característica de la cromatografía flash; se mantiene constante.
Controlada	Longitud de onda del detector	Se fija según el compuesto para asegurar mediciones consistentes.

También se analizó la evolución de las variables a lo largo del tiempo, especialmente la absorbancia y la turbidez, con el objetivo de identificar tendencias relacionadas con el proceso de degradación. La relación entre la pérdida de masa de las muestras y el aumento de la turbidez y absorbancia será clave para entender la dinámica de liberación del material.

Adicionalmente, se evaluará el efecto de la actividad enzimática comparando los resultados obtenidos antes y después de su implementación, lo que permitirá determinar qué tan representativo es el modelo experimental frente a condiciones biológicas reales.

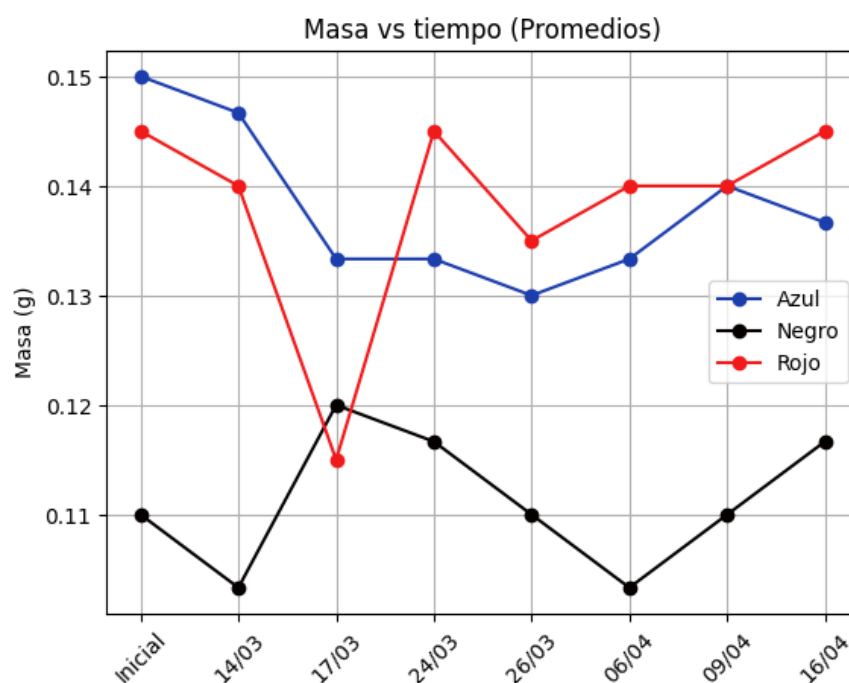
Finalmente, a partir de los resultados obtenidos, se propondrán posibles mejoras al sistema, como ajustes en la concentración de Mg, cambios en el método de fabricación o modificaciones en las condiciones del medio de degradación.

3.2.8. Análisis e interpretación de resultados

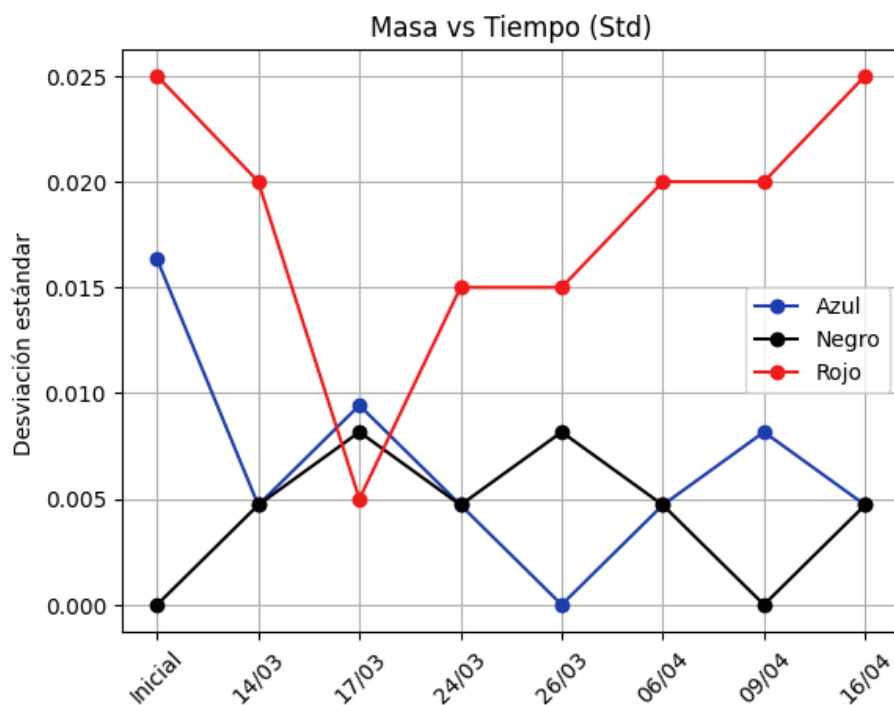
Se debe tener en cuenta que los métodos evaluados fueron denominados de acuerdo con un código de colores (azul, negro y rojo), con el fin de facilitar su identificación y comparación a lo largo del análisis. Para cada uno de estos métodos, se registraron mediciones de masa en diferentes fechas, así como valores de absorbancia y turbidez asociados a la liberación de H₂ en el medio.

Tabla 8. Masas por muestra a lo largo del tiempo.

Método y Muestra	Masa Inicial	Masa 14/03	Masa 17/03	Masa 19/03	Masa 24/03	Masa 26/03	Masa 06/04	Masa 09/04	Masa 16/04
Azul (M ₁)	0.15 g	0.15 g	0.14 g	0.14 g	0.13 g	0.13 g	0.15 g	0.15 g	0.13 g
Azul (M ₂)	0.17 g	0.15 g	0.14 g	0.13 g	0.13 g	0.13 g	0.14 g	0.14 g	0.14 g
Azul (M ₃)	0.13 g	0.14 g	0.12 g	0.13 g	0.13 g	0.14 g	0.13 g	0.14 g	0.14 g
Negro (M ₁)	0.11 g	0.10 g	0.11 g	0.12 g	0.11 g	0.10 g	0.11 g	0.11 g	0.11 g
Negro (M ₂)	0.11 g	0.10 g	0.12 g	0.12 g	0.12 g	0.10 g	0.11 g	0.11 g	0.12 g
Negro (M ₃)	0.11 g	0.11 g	0.13 g	0.11 g	0.10 g	0.11 g	0.11 g	0.11 g	0.12 g
Rojo (M ₁)	0.12 g	0.12 g	0.11 g	0.13 g	0.12 g	0.12 g	0.12 g	0.13 g	0.12 g
Rojo (M ₂)	0.17 g	0.16 g	0.12 g	0.16 g	0.15 g	0.16 g	0.16 g	0.17 g	0.17 g



Grafica 3. Masa vs tiempo (Promedios)



Gráfica 4. Masa vs tiempo (Desviación estándar (SD))

En el análisis de la variación de masa de las muestras, se observa una tendencia general de disminución entre el 14/03 y el 24/03-26/03 en todos los grupos evaluados (azul, negro y rojo). Este comportamiento sugiere la ocurrencia de procesos de degradación del material base (PCL) y la posible liberación de magnesio al medio. La pérdida de masa es consistente con mecanismos de lixiviación y degradación progresiva del sistema.

Posteriormente, hacia el 06/04, se evidencia una ligera recuperación o estabilización de la masa en algunas muestras, particularmente en los grupos azul y rojo. Este fenómeno puede atribuirse a la absorción de líquido por parte del material (hinchamiento), al proceso de oxidación del Mg, a la acumulación de residuos en la superficie o a posibles variaciones experimentales durante la medición.

Al comparar los diferentes métodos, las muestras azules presentan un comportamiento más estable, con menor variabilidad en los valores registrados. En contraste, las muestras negras muestran mayores fluctuaciones, lo que podría indicar una distribución menos homogénea del Mg o diferencias estructurales en el material. Por su parte, las muestras rojas tienden a conservar valores de masa ligeramente superiores, lo que podría estar relacionado con una mayor carga inicial o una interacción distinta con el medio.

3.2.8.1. Absorbancia del sistema

A lo largo del proceso de evaluación se midió la absorbancia en las muestras que contenían azul de metileno, agua y el sistema. Previo al análisis cuantitativo, se documentó visualmente el comportamiento del colorante durante el proceso, con el fin de corroborar de manera cualitativa el mecanismo del par redox MB/LMB como indicador principal de la liberación de H_2 , descrito en secciones anteriores. Como se puede observar en la Figura 27 A), el estado inicial del sistema se caracterizó por tener una coloración azul intensa en todos los tubos, correspondiente al azul de metileno en su forma oxidada. Tras el periodo de reposo de las muestras y la adición de la actividad enzimática, los tubos que contenían las muestras del sistema presentaron una decoloración progresiva hasta volverse prácticamente transparentes (Figura 27 B)), correspondiente a la formación del leucoazul de metileno, confirmando la generación del ambiente reductor producto de la generación de H_2 terapéutico según la Reacción 1.

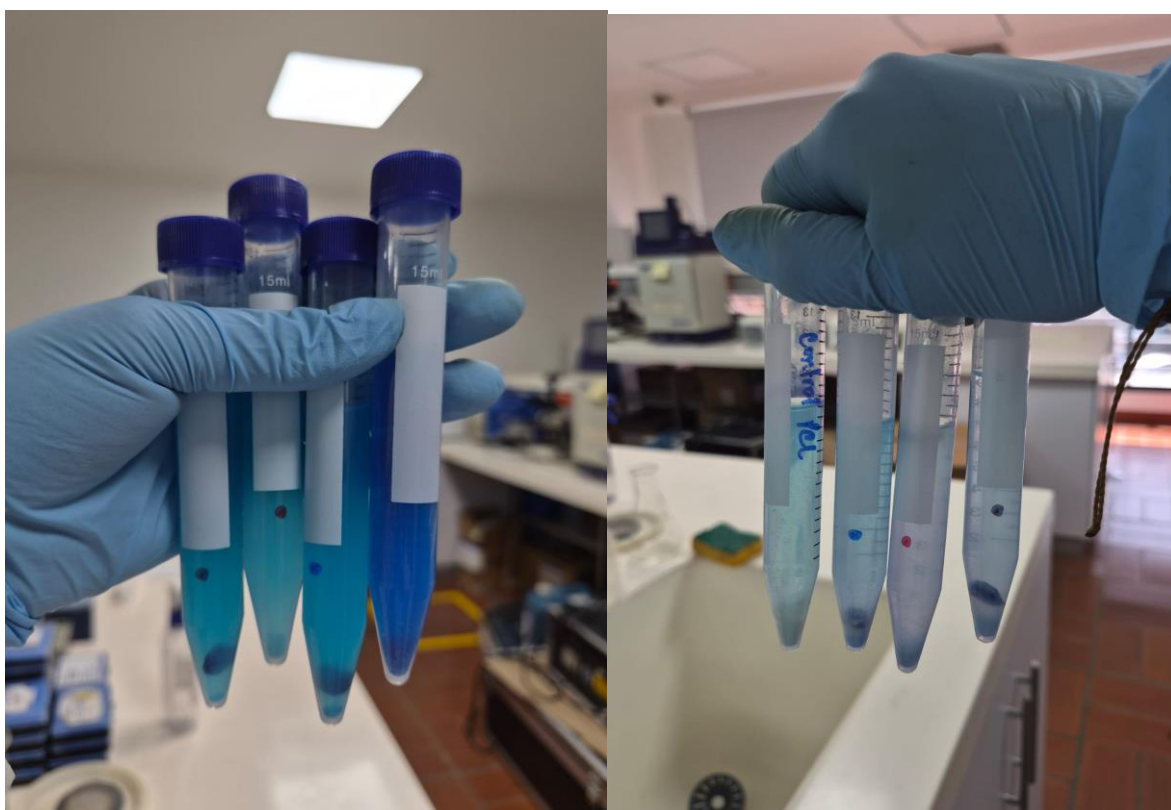


Figura 27. A) MB (oxidado) en el medio acuoso.

B) LMB en el medio acuoso.

Este comportamiento visual es consistente con los valores cuantitativos registrados en la Tabla 9, en la cual se pueden observar los promedios de las absorbancias obtenidas hasta el final de la etapa de evaluación.

Tabla 9. Promedio de resultados de absorbancia por fecha.

Método y muestra	14/03	18/03	19/03	24/03	26/03	06/04	09/04	10/04	13/04	16/04	29/04
------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Control de PCL	0,184	1,572	1,798	1,106	1,203	1,274	0,820	0,905	1,008	0,985	0,855
Control	3,445	3,478	1,461	0,766	0,771	0,750	0,861	1,106	0,965	1,050	0,984
Azul (M°4) (0,11g)	3,371	1,694	1,814	0,914	0,978	2,210	2,056	2,126	2,146	2,244	2,271
Negro (M°4) (0,12g)	3,550	1,818	1,669	0,347	1,374	1,982	1,732	2,046	1,951	2,047	1,779
Rojo (M°3) (0,15g)	3,379	1,565	1,664	0,395	1,260	2,084	1,966	1,856	1,958	2,010	1,766

La absorbancia presentó una tendencia general caracterizada por valores altos al inicio del experimento (aproximadamente de 3,3-3,5) en la mayoría de los tratamientos, seguida de una disminución pronunciada hasta valores cercanos a 0,3-1,1 alrededor del 24/03. Posteriormente, se observa un incremento progresivo en varios sistemas, especialmente a partir del 06/04, evidenciando un comportamiento no lineal a largo tiempo.

En los resultados de la absorbancia, el control de PCL presenta valores iniciales bajos, lo cual es coherente con la ausencia de magnesio en su composición. Sin embargo, muestra un incremento hasta el 19/03 (aproximadamente 1,8) y luego fluctuaciones moderadas en el tiempo (entre 0,82 y 1,27), lo que sugiere posibles interacciones del polímero con medio o la liberación de subproductos de degradación, aunque sin alcanzar niveles comparables a los sistemas con Mg.

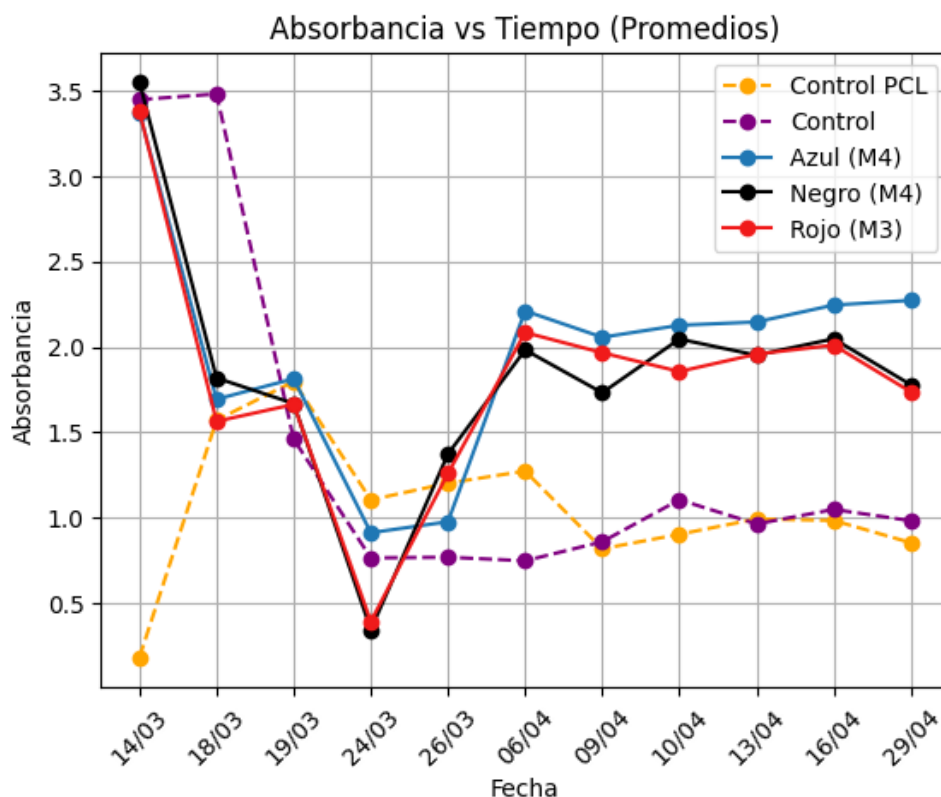
Por otro lado, el control presenta valores iniciales elevados de absorbancia (3,4) que disminuyen significativamente hasta estabilizarse en un rango cercano a 0,75- 1,1, lo que indica una alta concentración inicial de la especie absorbente seguida de procesos de consumo, degradación o dilución en el medio.

Las muestras con magnesio (azul, negro y rojo) evidencian un comportamiento no lineal en la absorbancia (Ver Gráfica 5). Inicialmente, presentan valores altos, seguidos de una disminución marcada hacia el 24/03 (mínimos de 0,91 en azul, 0,34 en negro y 0,39 en rojo), y posteriormente un incremento hacia el 06/04. Este comportamiento sugiere una cinética de liberación en múltiples etapas, con una fase inicial rápida atribuida al magnesio superficial, seguida de una fase de menor liberación y, finalmente, una liberación secundaria desde el interior del material.

En etapas posteriores, se observaron diferencias importantes entre los tratamientos. El sistema azul presenta una disminución inicial y luego un incremento sostenido, alcanzando valores superiores a 2,2 hacia el final del ensayo, lo que sugiere una liberación secundaria estable y prolongada. El sistema negro muestra una caída más pronunciada (0,34) seguida de un aumento hasta valores cercanos a 2,0 pero con mayores fluctuaciones, lo que indica un comportamiento más inestable, posiblemente asociado a una distribución heterogénea del magnesio o a interacciones más variables con el medio. Por su parte, el sistema rojo presenta una disminución inicial marcada y posteriormente un incremento sostenido (2,08 el 06/04 y valores cercanos a 2,0 en adelante), lo

que indica un mecanismo de liberación sostenida y tardía, altamente deseable en aplicaciones de liberación controlada.

En conjunto, los sistemas con magnesio tienden a estabilizarse en valores relativamente altos de absorbancia después del 06/04 (1,7-2,3), a diferencia del control, lo que confirma una liberación continua del compuesto activo. Las diferencias observadas entre los métodos indican que la forma de preparación influye directamente en la degradación de Mg y en la liberación asociadas (incluyendo la posible generación de H_2), afectando tanto la velocidad como la estabilidad del proceso. Entre los sistemas evaluados, el comportamiento del sistema rojo y azul sugiere perfiles más favorables para aplicaciones de liberación controlada a mediano plazo.



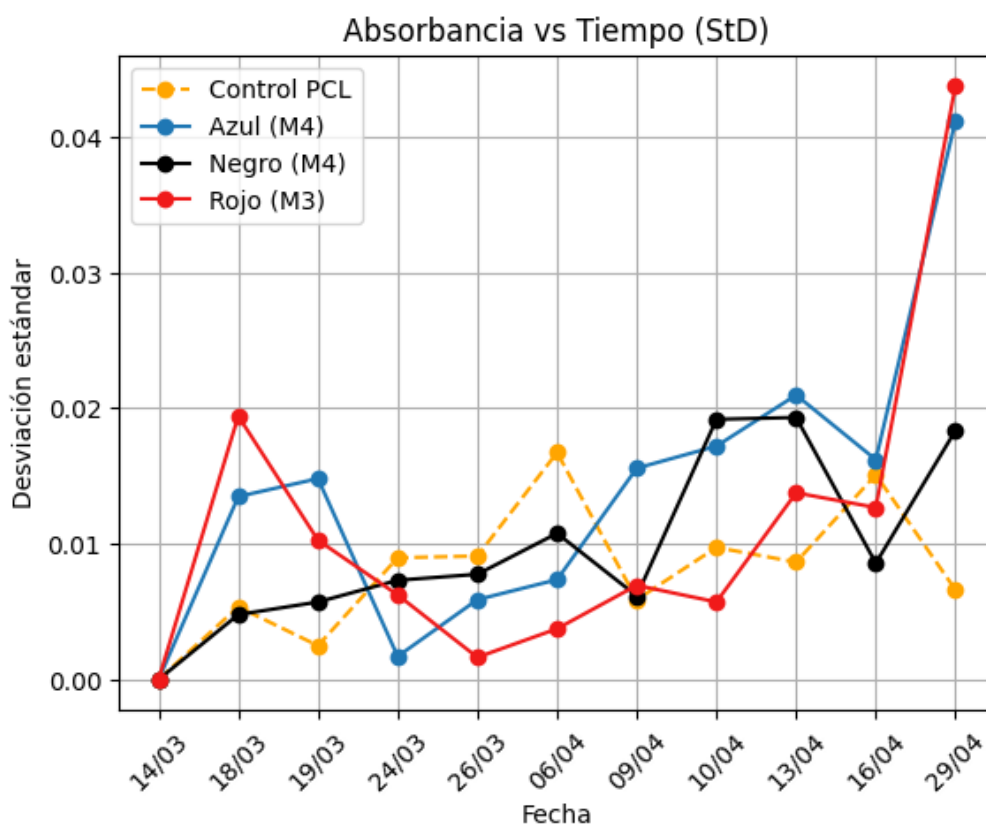
Gráfica 5. Absorbancia vs tiempo (Promedios)

La gráfica 2 permite identificar claramente el comportamiento de cada uno de los tratamientos evaluados y evidencia diferencias importantes en la cinética de liberación. En primer lugar, se observa que las muestras con magnesio (azul, negro y rojo) presentan valores iniciales elevados de absorbancia (3,3-3,5), seguidos de una disminución pronunciada hasta alcanzar un mínimo alrededor del 24/03. Este descenso indica una fase de liberación inicial rápida del compuesto, asociada a la difusión del magnesio superficial desde la matriz polimérica hacia el medio.

Posteriormente, las curvas correspondientes a los tratamientos azul, negro y rojo muestran un incremento en la absorbancia a partir del 06/04, lo que sugiere una segunda fase de liberación. En

particular, el sistema azul alcanza los valores más altos en etapas tardías (2,2 – 2,3), seguido del sistema rojo (1,7-2,0), lo que indica una liberación más sostenida y estable en el tiempo. El sistema negro, aunque también presenta recuperación (1,7-2,0), muestra mayor variabilidad en su comportamiento, lo que podría estar relacionado con una menor estabilidad del sistema o con una distribución heterogénea del magnesio en la matriz.

Por otro lado, el control presenta una disminución inicial en la absorbancia (de 3,4 a 0,75) seguida de una leve estabilización en valores cercanos a 1,0, sin una recuperación significativa. Esto evidencia la ausencia de un mecanismo de liberación controlada. En contraste, el control de PCL muestra valores bajos y relativamente estables (0,8-1,2), con un incremento inicial y posteriores fluctuaciones moderadas, lo cual confirma que el polímero por sí solo no contribuye significativamente a la liberación del compuesto.



Gráfica 6. Absorbancia vs tiempo (Desviación estándar (SD))

Adicionalmente, el análisis de la desviación estándar (Ver Gráfica 6) muestra que la variabilidad de los datos es baja durante las etapas iniciales del experimento, con valores cercanos a 0,00-0,01 hasta aproximadamente el 24/03, lo que indica una buena reproducibilidad en la fase de liberación inicial. A partir del 06/04, se observa un incremento progresivo en la dispersión, especialmente en los sistemas con magnesio, coincidiendo con la segunda fase de liberación.

El sistema azul presenta una variabilidad moderada que aumenta gradualmente, pasando de valores cercanos a 0,007-0,015 en etapas intermedias hasta aproximadamente 0,04 hacia el 29/04, manteniendo un comportamiento relativamente estable. El sistema negro, por su parte, muestra una dispersión intermedia (0,008-0,02) con algunos incrementos puntuales, particularmente alrededor del 10/04 y 13/04, lo que sugiere fluctuaciones en la liberación posiblemente asociadas a heterogeneidades en la matriz.

En contraste, el sistema rojo evidencia el mayor incremento en la variabilidad hacia el final del ensayo, alcanzando valores cercanos a 0,045 el 29/04, a pesar de mantener una tendencia promedio relativamente estable. Este aumento en la desviación estándar podría estar relacionado con procesos más dinámicos de liberación o con cambios en la interacción del material con el medio. Estos resultados indican que, aunque los sistemas con magnesio presentan una liberación más sostenida en el tiempo, también tienden a mostrar mayor variabilidad en etapas tardías, siendo ese efecto más notable en el sistema rojo.

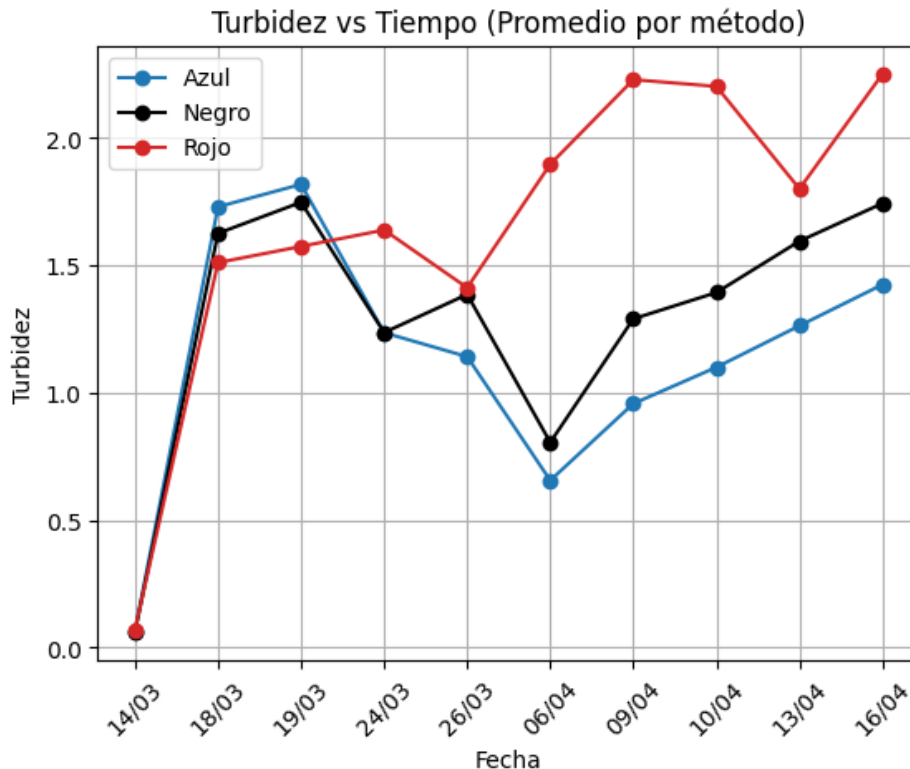
En conjunto, la gráfica evidencia un comportamiento bifásico en los sistemas con magnesio, caracterizado por una liberación inicial rápida seguida de una fase de liberación sostenida. Este patrón es más evidente en los tratamientos azul y rojo, los cuales muestran mayor capacidad para mantener concentraciones elevadas del compuesto en etapas tardías, lo que los posiciona como los sistemas más prometedores para aplicaciones de liberación controlada. Adicionalmente, se descartó el uso de la variable Control en la Gráfica 3, debido a que sus valores iniciales eran muy altos e imposibilitaban realizar un correcto análisis de las variables restantes.

3.2.8.2. Turbidez del sistema

Asimismo, se midió la turbidez en las muestras que contenían NaCl y el sistema. En la Tabla 10 se pueden observar los promedios de la turbidez obtenidos hasta el final de la etapa de evaluación y en la Gráfica 7, se observa la representación gráfica de dichos datos.

Tabla 10. Promedio de resultados de turbidez por fecha.

Método y muestra	14/03	18/03	19/03	24/03	26/03	06/04	09/04	10/04	13/04	16/04
Azul (M°1)	0,059	1,842	1,825	1,485	1,414	0,588	0,964	1,074	1,314	1,415
Azul (M°2)	0,077	1,746	1,930	1,061	1,044	0,687	0,817	0,941	1,049	1,049
Azul (M°3)	0,056	1,600	1,698	1,160	0,966	0,692	1,090	1,284	1,425	1,425
Negro (M°1)	0,064	1,736	1,804	0,822	0,919	0,702	1,125	1,235	1,248	1,248
Negro (M°2)	0,053	1,543	1,765	1,016	1,129	0,819	1,060	1,169	1,328	1,328
Negro (M°3)	0,069	1,597	1,673	1,870	2,109	0,894	1,684	1,775	2,208	2,208
Rojo (M°1)	0,057	1,570	1,641	1,545	1,122	1,809	2,303	2,038	2,042	2,042
Rojo (M°2)	0,084	1,451	1,507	1,732	1,702	1,984	2,154	2,366	1,558	1,558



Gráfica 7. Turbidez vs Tiempo (Promedios)

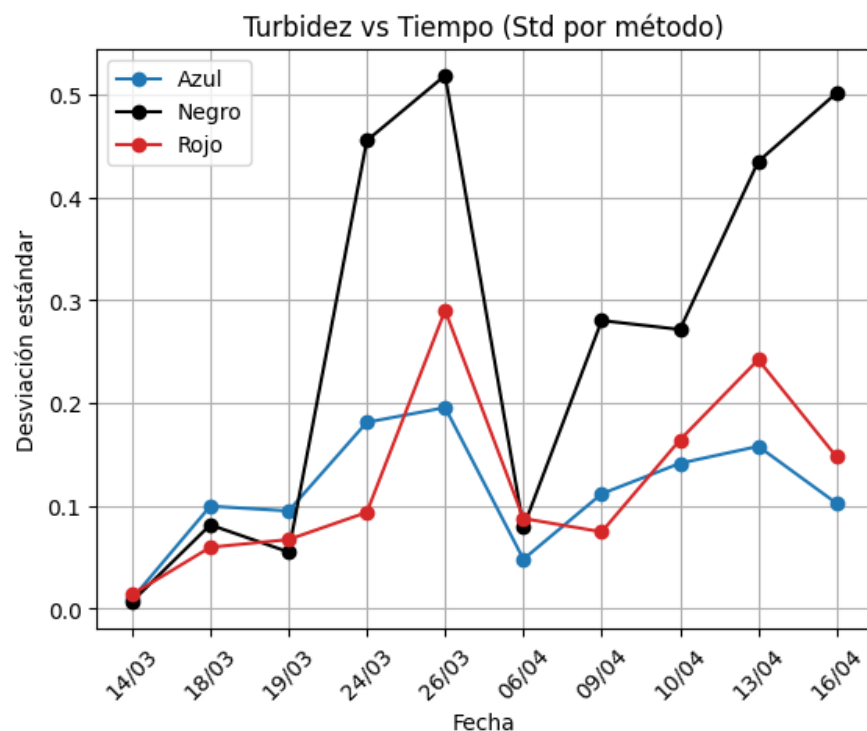
Los resultados de turbidez muestran un comportamiento dinámico caracterizado por un incremento inicial en todas las muestras, seguido de una disminución y, en algunos casos, un nuevo aumento en etapas posteriores. En primer lugar, se observa que todas las muestras parten de valores muy bajos el 14/03 (0,05-0,08) y experimentan un aumento significativo hacia el 18/03-19/03, alcanzando valores entre 1,5 y 1,9 en la mayoría de los casos. Este incremento inicial se asocia con la liberación de partículas al medio durante las primeras etapas de degradación del sistema, así como la formación de hidróxido de magnesio ($Mg(OH)_2$), producto de la reacción del magnesio con el agua, lo cual genera partículas en suspensión que incrementan la dispersión de la luz.

Posteriormente, entre el 24/03 y el 06/04, se evidencia una disminución general de la turbidez. Por ejemplo, en las muestras azules los valores descienden desde 1,4-1,5 hasta 0,58-0,69, mientras que en las negras se observan reducciones incluso más marcadas en algunos casos (hasta 0,70-0,82). Esta disminución puede atribuirse a fenómenos como la sedimentación de partículas, la estabilización del sistema y una reducción en la velocidad de degradación del material. Sin embargo, en etapas posteriores (a partir del 09/04), se observan diferencias claras entre los tratamientos. Las muestras azules presentan un incremento progresivo y relativamente controlado, alcanzando valores finales entre 1,0 y 1,4, lo que sugiere una liberación más estable y homogénea. Por su parte, las muestras negras muestran un comportamiento más variable,

destacándose el caso del método M₃, que alcanza valores elevados de hasta 2,1 (26/03) y 2,2 (13/04-16/04), evidenciando una liberación menos uniforme y posiblemente asociada a una mayor heterogeneidad estructural.

Las muestras rojas presentan el comportamiento más notable en etapas tardías, con incrementos sostenidos en la turbidez a partir del 06/04. Estas alcanzan valores superiores a 2,0, llegando hasta 2,3 (09/04-10/04), lo que indica una liberación continua de partículas desde el interior de la matriz. Este comportamiento sugiere una degradación más prolongada o una estructura que favorece la exposición progresiva del material encapsulado.

En conjunto, estos resultados indican la presencia de tres etapas en el sistema una fase inicial de liberación rápida (14/03-19/03), una fase inicial de disminución asociada a estabilización (24/03-06/04) y una fase final de liberación sostenida en algunos tratamientos (especialmente rojo y negro M₃). Las diferencias entre los tratamientos evidencian que el método de fabricación influye directamente en el comportamiento del sistema, ya que algunas muestras presentan mayor estabilidad, mientras que otras muestran variaciones más pronunciadas, indicando heterogeneidad en la liberación de partículas.



Gráfica 8. Turbidez vs Tiempo (Desviación estándar (SD))

La representación gráfica de la turbidez en función del tiempo permite visualizar de manera clara las tendencias observadas en los datos experimentales (Ver Gráfica 8). Se evidencia que todas las muestras presentan un aumento significativo entre el 14/03 y el 18/03-19/03, confirmando una fase inicial de liberación de partículas al medio. Posteriormente, la mayoría de las curvas muestran una

disminución hacia el 24/03-06/04, donde se alcanzan valores mínimos cercanos a 0,6-0,8 en varios tratamientos, lo que indica procesos de sedimentación y estabilización del sistema.

En etapas tardías, las curvas muestran comportamientos diferenciados entre los tratamientos. Las muestras azules presentan un perfil más controlado y estable, con incrementos moderados que reflejan una liberación controlada. Mientras que las muestras negras muestran mayor variabilidad, con cambios más abruptos como picos elevados y caídas pronunciadas que sugiere una liberación menos uniforme. Por su parte, las muestras rojas presentan incrementos en la turbidez en etapas finales, a partir del 06/04, alcanzando los valores más altos del sistema, lo que indica una liberación sostenida de partículas a lo largo del tiempo.

En conjunto, la forma de las curvas confirma un comportamiento dinámico del sistema, en el cual se distinguen una fase inicial de liberación rápida, una etapa de estabilización y una fase final de liberación sostenida en algunos tratamientos. Este comportamiento, sumado a las diferencias entre métodos, confirma la influencia de la estructura del material en la cinética de degradación y liberación.

3.2.8.3. Evaluación por cromatografía flash

La purificación de los componentes de la muestra se llevó a cabo mediante cromatografía flash en columna de fase reversa ($\varnothing$ 18 x 150 mm), con detección UV en dos canales: 210 nm, asociado a la detección de policaprolactona y 275 nm, empleado para la detección de proteína. El caudal de elución se estableció en 1.0 mL/min y se inyectaron 0.5 mL de muestra previamente centrifugada.

El sistema de elución consistió en un gradiente binario utilizando diclorometano (DCM) como fase A y acetonitrilo (ACN) como fase B, estructurado en cuatro etapas, equilibrio inicial con 100% A / 0% B (3 minutos), primera rampa con 90% A / 10% B (5 minutos) y una segunda rampa con 75% A / 25% B (5 minutos), como se ilustra en la Figura 28.

Antes de presentar los cromatogramas de cada muestra, es importante aclarar que el método cromatográfico fue programado con una duración total de 11 minutos, tal como se mencionó anteriormente; sin embargo, en las gráficas obtenidas únicamente se observan aproximadamente los primeros 6 minutos del análisis. Esto se debe a que el cromatograma mostrando corresponde únicamente al tiempo que el detector alcanzó a registrar en ese momento y no a la duración completa programada del método.

En este caso, el método representa el tiempo total establecido para la ejecución del gradiente y funcionamiento del equipo, mientras que el cromatograma refleja únicamente los datos adquiridos por el detector durante la corrida. Por ello la gráfica finaliza alrededor del minuto seis, evidenciando que el archivo visualizado contenía información parcial de análisis. Esto puede ocurrir porque la corrida aún estaba en ejecución al momento de capturar la imagen, porque el software mostraba solo una ventana parcial del cromatograma o porque la adquisición de datos del detector se limitó a este intervalo [63].

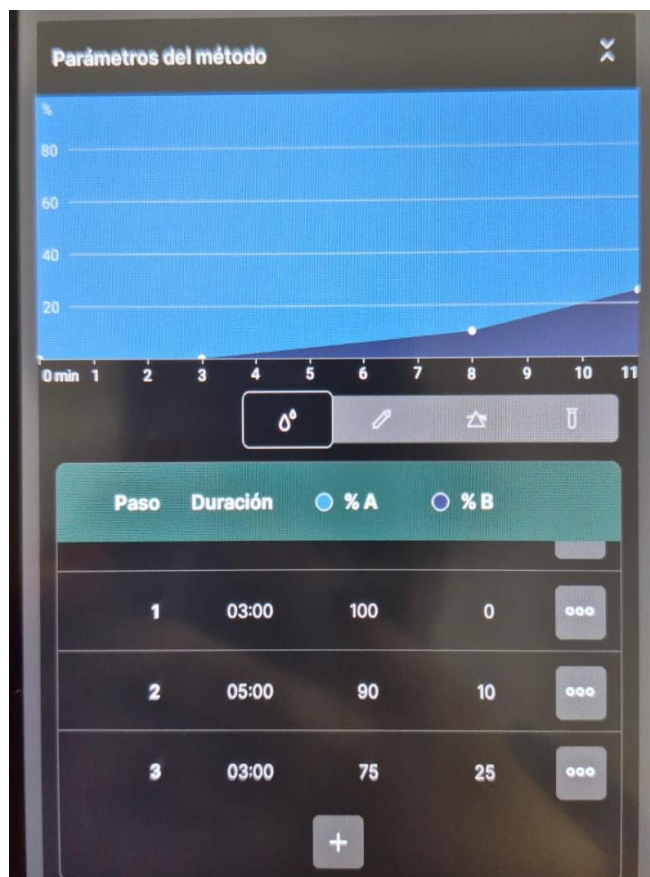


Figura 28. Parámetros del cromatograma.

3.2.8.3.1 Interpretación de cromatograma del método Azul:



Figura 28 A). Cromatograma m. Azul (275 nm)



28 B). m. Azul (254 nm)



28 C). Cromatograma m. Azul (254 nm/275 nm)

En ambos canales de detección (254 nm y 275 nm), la muestra azul presentó señales de muy baja intensidad a lo largo de toda la corrida cromatográfica, con valores de absorbancia que en ningún momento superaron los 0,07 AU. La línea base se mantuvo relativamente estable, pero con un ruido continuo y leve, característico de muestras con baja concentración de analitos o con componentes que no interactúan fuertemente con la fase funcionaria bajo las condiciones de elución empleadas.

En el canal de 275 nm (Figura 28A), asociado a la detección de proteína, no se identificaron picos cromatográficos definidos en ningún punto de la corrida. La señal fluctúa levemente alrededor de la línea base desde el inicio hasta el final del gradiente, sin mostrar ningún evento de elución claro. Esto podría interpretarse como ausencia de componentes proteicos en la muestra, o bien como una concentración insuficiente para ser detectada a esta longitud de onda bajo el volumen de inyección utilizado (0,5 mL).

En el canal de 254 nm (Figura 28B), relacionado con la detección de PCL, el comportamiento fue igualmente plano y sin características resolubles. Aunque la PCL como polímero no presenta una absorción de UV muy marcada en esta región, la ausencia total de señal podría sugerir que el material polimérico no se liberó de forma apreciable hacia el eluato, que es el líquido que sale de la columna cromatográfica después de pasar por ella, durante la corrida, lo cual podría ser indicativo de una buena integridad estructural de las muestras fabricadas por este método.

Al superponer ambas longitudes de onda en la Figura 28C, las trazas de 254 nm y 275 nm discurren de forma casi paralela y sin separación apreciable entre sí, confirmando que no existe diferenciación entre fracciones bajo estas condiciones. La similitud entre ambas señales refuerza la idea de que los componentes presentes en la muestra azul, si los hay, no se resuelven en fracciones distinguibles mediante este gradiente binario de DCM/ACN. En conjunto, el perfil cromatográfico del método Azul sugiere una muestra con bajo contenido de material eludible, posiblemente asociado a una encapsulación más contenida del magnesio dentro de la matriz polimérica, lo que limitaría su liberación bajo estas condiciones.

3.2.8.3.2 Interpretación de cromatograma del método Negro:

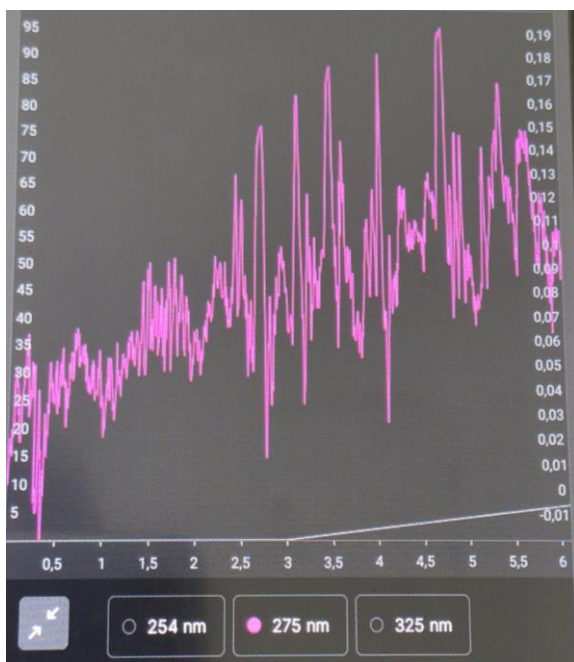
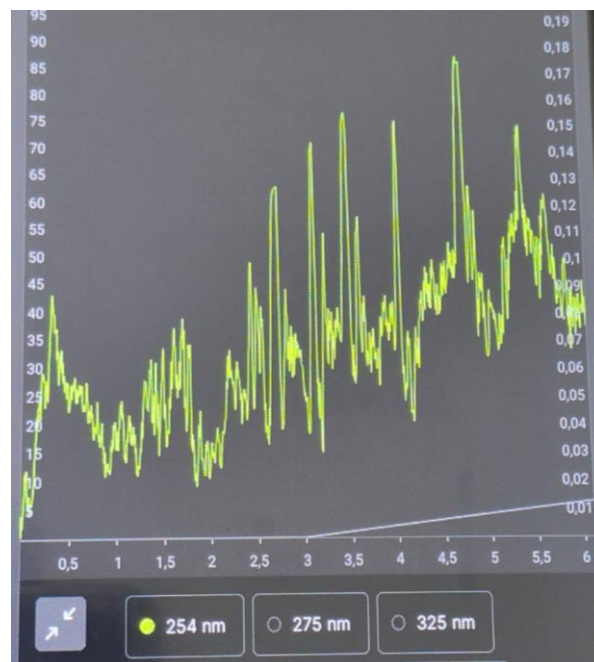
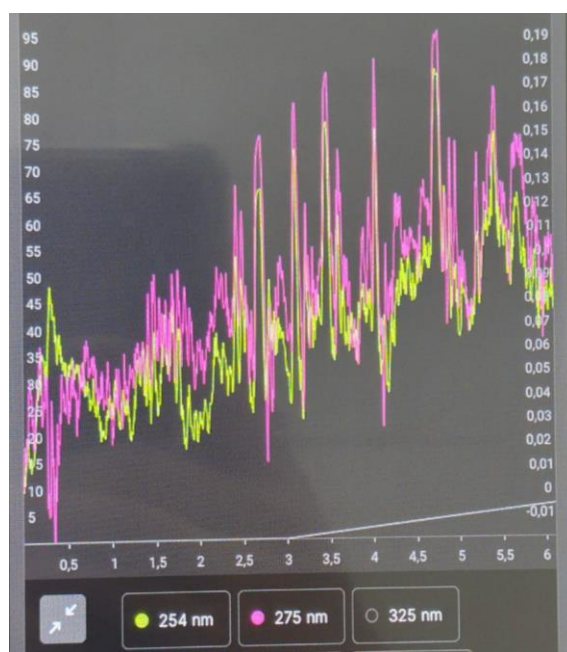


Figura 29 A). Cromatograma m.Negro (275 nm)



B). Cromatograma m.Negro (254 nm)



C) Cromatograma m. Negro (254 nm/275 m)

El método negro presentó, con diferencia, el perfil cromatográfico más complejo y activo de los tres métodos evaluados. Tanto en el canal de 275 nm como en el de 254 nm se observaron señales de alta intensidad, con múltiples picos pronunciados distribuidos principalmente entre los minutos 2,5 y 6 de la corrida, alcanzando valores máximos cercanos a 0,19 AU, lo que representa casi el triple de la señal observada en el método azul.

En el canal de 275 nm (Figura 29A), la señal comienza con cierto nivel de ruido en los primeros minutos, coherente con la fase de equilibrio del gradiente (100% DCM), y luego incrementa progresivamente su actividad a medida que aumenta la proporción de ACN en la fase móvil. Este comportamiento sugiere que los componentes de la muestra Negro requieren condiciones de mayor polaridad relativa para ser arrastrados desde la columna de fase reversa, lo cual es consistente con compuestos de carácter más apolar que se retienen inicialmente en la fase estacionaria y eluyen al modificarse la composición del solvente. Los picos observados son múltiples e irregulares, sin una forma gaussiana bien definida, lo que indica que podría tratarse de una mezcla compleja de componentes que coeluyen o se solapan parcialmente.

En el canal de 254 nm (Figura 29B), el patrón es muy similar al de 275 nm, con picos de magnitud comparable y distribuidos en los mismos intervalos de tiempo. Esta coincidencia entre canales es un dato relevante, ya que implica que los compuestos detectados absorben simultáneamente en ambas longitudes de onda, lo que podría apuntar a moléculas con estructuras que presentan cromóforos activos en ese rango del espectro UV, o simplemente a que la PCL u otros componentes del sistema contribuyen de forma inespecífica a la absorbancia en ambos canales.

La superposición de ambas señales en la Figura 29C confirma la alta correlación entre los dos canales, reforzando la hipótesis de que los picos observados corresponden a los mismos compuestos detectados simultáneamente a 254 y 275 nm. La naturaleza porosa característica de las muestras fabricadas por el método negro, observada ya desde la etapa de fabricación, probablemente jugó un papel importante en este comportamiento, ya que una mayor porosidad implica una mayor superficie de contacto con el solvente y, por tanto, una liberación más activa de componentes hacia el eluato durante la corrida cromatográfica. Esto explicaría por qué este método genera el perfil más rico en señal de los tres evaluados.

3.2.8.3.3 Interpretación de cromatograma del método Rojo

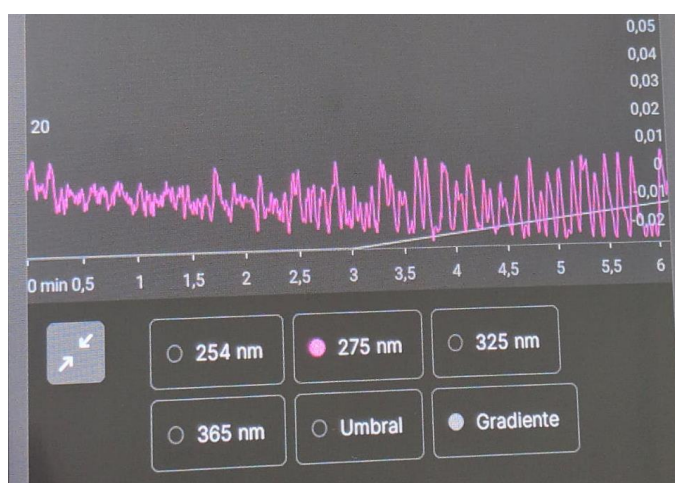


Figura 30 A). Cromatograma m. Rojo (275 nm)



B). Cromatograma m. Rojo (254 nm)



C). Cromatograma m.Rojo (254 nm/275nm)

El método Rojo exhibió un comportamiento cromatográfico intermedio entre los dos métodos anteriores, con señales de baja intensidad, pero con algunas características que lo diferencian del método Azul. En términos generales, los valores de absorbancia registrados no superaron los 0,05 AU en ninguno de los dos canales, manteniéndose por debajo de los niveles observados tanto en el método Negro como, en algunos momentos, incluso en el Azul.

En el canal de 275 nm (Figura 30A), se observa una señal con ruido moderado y continuo desde el inicio de la corrida, especialmente notable en los primeros dos minutos, coincidiendo con la fase de equilibrio inicial del gradiente. A partir del minuto 2, la señal tiende a estabilizarse en valores cercanos a la línea base, sin mostrar eventos de elución claramente definidos. Este comportamiento podría estar relacionado con la naturaleza del proceso de fabricación por extrusión, en el que el material fue disuelto en DCL y posteriormente extruido, lo que pudo haber generado una distribución más homogénea del magnesio en la matriz polimérica, reduciendo así la cantidad de material libre disponible para eluir durante la corrida.

En el canal de 254 nm (Figura 30B y 30C), la señal muestra un comportamiento similar, con algo más de actividad en los primeros minutos que luego decae progresivamente hacia la línea base. Al superponer ambos canales, se aprecia que la correlación entre 254 nm y 275 nm es algo menor que en el método negro, con pequeñas divergencias entre las trazas que podrían indicar la presencia de componentes que absorben de forma diferencial en una u otra longitud de onda, aunque la baja intensidad general dificulta extraer conclusiones definitivas al respecto.

En términos de estabilidad de la línea base, el método rojo es el que presenta el comportamiento más ordenado de los tres, con una señal que, pese al ruido, tiende a mantenerse en un rango estrecho de valores. Esto podría ser coherente con una muestra de composición más uniforme o con una menor liberación de componentes al medio cromatográfico, posiblemente asociada a la mayor compacidad estructural que otorga el proceso de extrusión en comparación con el modelo directo.

Tabla 11. Criterios de cromatograma por método.

Criterio	Azul	Negro	Rojo
Intensidad de señal	Muy baja (< 0,07AU)	Alta (< 0,19AU)	Baja (<0,05 AU)
Picos definidos	No	Múltiples, irregulares	No
Coincidencia 254/275 nm	Alta	Alta	Moderada
Estabilidad de línea base	Moderada	Baja	Alta
Liberación estimada de material	Baja	Alta	Baja-moderada

En términos generales (ver Tabla 11), el método Negro es el único que evidencia actividad cromatográfica significativa, con un perfil complejo que sugiere la presencia de múltiples componentes liberados hacia el alvato bajo las condiciones del gradiente binario empleado. Su estructura porosa, observada desde la fabricación, parece ser un factor determinante en esta mayor liberación de material. Los métodos azul y rojo, por su parte, presenta perfiles más silenciosos, lo que podría interpretarse de dos maneras: bien como su encapsulación más efectiva que retiene los componentes dentro de la matriz polimérica, o bien como una concentración de analitos insuficiente para ser detectada bajo las condiciones cromatográficas utilizadas. Para discriminar entre ambas hipótesis, sería recomendable complementar el análisis con técnicas adicionales como espectroscopía de masas o ensayos de liberación cuantitativa en condiciones controladas, que permitan confirmar si la ausencia de señal refleja verdaderamente una mejor retención del magnesio o simplemente una limitación analítica del método empleado.

3.3 Prototipo final testeado

3.3.1. Matriz de decisión

Teniendo en cuenta los requisitos de diseño anteriormente planteados y los resultados obtenidos en las evaluaciones de absorbancia, turbidez y variaciones en masa de cada uno de los métodos, se genera la siguiente matriz de decisión (Tabla 11) para determinar el mejor método generado.

Tabla 11. Matriz de decisión

Criterio	Peso (%)	M. Azul	Puntaje Azul	M. Negro	Puntaje Negro	M. Rojo	Puntaje Rojo
Estabilidad de absorbancia	20%	Valores sostenidos 2,2_2,3, variabilidad	4	Recuperación de hasta 2,0 con fluctuaciones marcadas	3	Incremento sostenido aprox de 2,0, alta variabilidad final	3

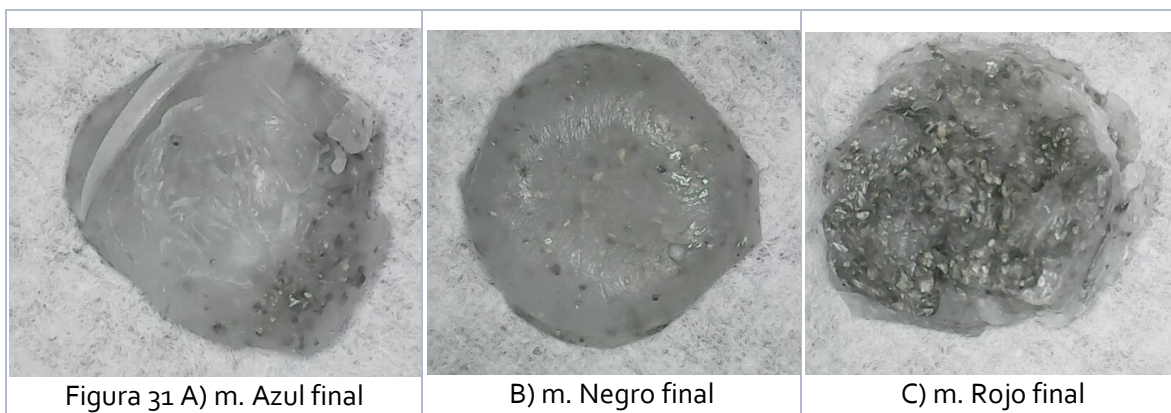
		moderada y creciente					
Estabilidad de turbidez	15%	Perfil controlado, valores finales 1,0-1,4	4	Alta variabilidad, picos hasta 2,2 en M ₃	2	Valores más altos del sistema (>2,3)	5
Reproducibilidad entre muestras (SD de masa inicial)	15%	3 muestras, SD baja y una distribución homogénea en las muestras	5	3 muestras, SD baja pero Mg heterogéneo	3	Solo 2 muestras, SD alta	2
Pérdida de masa progresiva	10%	Tendencia decreciente, estable, menor variabilidad entre muestras	5	Fluctuaciones moderadas, SD intermedia	3	SD alta por diferencia entre M ₁ y M ₂	3
Degradación del PCL controlada sostenida	20%	Incremento progresivo y estable desde el 06/04, valores >2,2 al final	5	Recuperación presente pero caídas abruptas	3	Liberación tardía sostenida pero con alta variabilidad	3
Facilidad de fabricación y reproducción	10%	Proceso sencillo, sin calor, pérdidas mínimas	4	Sin solvente, más simple, pero Mg irregular	5	Proceso complejo, pérdidas considerables	2
Diferencia respecto al control de PCL puro	10%	Diferencia sostenida en ≥ 3 puntos temporales	4	Diferencia presente pero con mayor ruido	3	Diferencia notable en etapas tardías	4
Total ponderado	100%		4,35		3,00		3,05

Escala de puntuación: 1= deficiente, 2= bajo, 3= aceptable, 4=bueno y 5= excelente.

El método Azul (Disolución y moldeo) obtuvo el mayor puntaje ponderado (4,35), lo que lo convierte en el método con mejor desempeño global en términos de estabilidad de liberación, reproducibilidad entre muestras y control del proceso de degradación.

3.3.2. Estado visual final de cada método

Métodos		
Azul	Negro	Rojo



Tras el periodo de evaluación, se realizó un registro fotográfico del estado visual final de las muestras de cada método, con el fin de documentar los cambios morfológicos superficiales ocurridos durante el proceso de degradación (Ver Figura 31).

De manera general, los tres métodos evidenciaron signos visibles de degradación respecto a su estado inicial (Figura 24), manifestados principalmente en el desgaste superficial de la matriz de PCL y en la mayor exposición de las partículas de Mg metálico. En la muestra Azul (Figura 31 A), se observa una superficie más translúcida y con mayor irregularidad respecto al estado inicial, conservando parcialmente su forma pero mostrando zonas donde la matriz polimérica presenta un aspecto más delgado y desgastado, consistente con una degradación progresiva y relativamente uniforme del polímero.

La muestra del método Negro (Figura 31 B) presenta una superficie con marcas y surcos visibles, lo que evidencia una degradación más localizada de la PCL. Se pueden notar algunas zonas en las cuales las partículas de Mg han quedado más expuestas, resultado de la pérdida de material polimérico en esas regiones, lo que es coherente con la distribución heterogénea del Mg, aquello que es característico de este método.

La muestra del método Rojo (Figura 31 C) es la que presenta cambios morfológicos más pronunciados, mostrando una superficie notablemente rugosa con amplias zonas de Mg expuesto y partes de la PCL claramente degradados. Este comportamiento es consistente con la mayor porosidad inicial de este método, que favoreció un mayor contacto entre el medio acuoso y el Mg desde etapas tempranas, acelerando tanto la reacción del mineral como la degradación superficial del polímero.

En general, el estado visual final de las muestras concuerda con los perfiles de absorbancia, turbidez y variación de masa registrados a lo largo del periodo de evaluación, sugiriendo que los tres sistemas experimentaron una degradación activa durante las cinco semanas que estuvieron siendo monitoreadas.

3.4. Discusión final

3.4.1. Desempeño diferenciado entre métodos y relación con la morfología de las muestras

Los resultados obtenidos a lo largo del periodo de evaluación evidencian que el método de fabricación influye directamente en el perfil de liberación del sistema, lo cual es consistente con lo reportado en la literatura para sistemas poliméricos de liberación controlada, donde la microestructura del material determina la accesibilidad del medio acuoso al compuesto activo encapsulado [53].

El método Azul (Disolución y moldeo) presentó el comportamiento más favorable en términos de estabilidad y reproducibilidad. Su ventaja se encuentra más que todo posicionada en la disolución completa del PCL en DCM a una relación de 5 ml por gramo de polímero, lo cual generó una matriz más homogénea, permitiendo una distribución más uniforme del Mg en la matriz polimérica, tal como se observó en el registro fotográfico inicial (Figura 24 A). Esta homogeneidad se tradujo en perfiles de absorbancia y turbidez más estables y reproducibles entre muestras, con SD menores respecto a los otros métodos.

El método Negro, aunque el más simple de fabricar al no requerir un solvente orgánico, presentó mayor heterogeneidad en la distribución del Mg, esto gracias a que el método de incorporación del Mg se hizo mediante agitación mecánica en la masa fundida, proceso que no garantiza la mayor uniformidad que una disolución completa. Esta heterogeneidad se reflejó en mayores fluctuaciones en los valores de absorbancia y turbidez, así como en las variaciones de masa registradas a lo largo del tiempo de evaluación.

El método Rojo mostró los valores de turbidez más altos en etapas tardías, lo que sugiere una liberación más activa de partículas en el medio. Sin embargo, al tener tanta porosidad superficial, generada por la extrusión manual de la mezcla PCL-DCM, generó una estructura menos compacta que expone mayor superficie de Mg al medio acuoso desde etapas tempranas, lo que dificulta el control de la liberación. Además de esto, el método presenta una baja reproducibilidad, que resultó solamente en 2 muestras evaluables por pérdidas durante el proceso de extrusión, lo que limita la validez estadística de los resultados.

3.4.2. Influencia en la degradación del PCL en el perfil de liberación

El comportamiento bifásico observado en los tres sistemas, caracterizado por una liberación inicial rápida seguida de una fase de liberación sostenida, es consistente con los mecanismos descritos para matrices poliméricas de PCL. En una primera etapa el Mg superficial expuesto reacciona rápidamente con el medio acuoso, generando el pico inicial de turbidez y la caída de absorbancia observados entre el 14/03 y el 24/03. Posteriormente, la degradación progresiva de la matriz de PCL expone gradualmente el Mg interior, dando lugar a la segunda fase de liberación sostenida evidenciada a partir del 06/04. Este patrón de liberación bifásica ha sido documentado en sistemas similares de PCL cargados de partículas metálicas, donde la barrera polimérica actúa como un modulador de la velocidad de acceso al compuesto activo [4].

3.4.3. Importancia de las condiciones experimentales: temperatura de 37°C y actividad enzimática

La incubación a 37°C fue fundamental para simular condiciones fisiológicas y garantizar que los procesos de degradación observados fueran representativos del comportamiento esperado en un entorno biológico. A esta temperatura la movilidad de las cadenas poliméricas del PCL aumenta, lo que favorece la penetración del medio acuoso a la matriz y acelera la hidrólisis de los enlaces éster característicos del polímero [16].

No obstante, la degradación de la PCL en solución salina pura demostró ser insuficientemente rápida para los tiempos experimentales disponibles, lo que motivó la incorporación de actividad enzimática mediante pancreatina/simeticona. Este coctel enzimático, que incluye lipasa, amilasa y proteasa, favoreció la ruptura de los enlaces éster de la PCL, lo que aceleró la degradación del polímero y permitiendo observar cambios notables en tiempos experimentales más cortos. Adicionalmente, el pH del medio fue ajustado con una mezcla de soda caustica y agua destilada, para alcanzar un pH de 7,4, con el fin de garantizar las condiciones óptimas para la actividad enzimática, en particular la lipasa, cuyo rendimiento es máximo en un entorno de pH neutro cercano al fisiológico. A lo largo del periodo de evaluación se realizó un único cambio completo del medio, aproximadamente 15 días después de iniciada la evaluación (26/03/2026), reponiendo solución salina fresca con actividad enzimática en los sistemas correspondientes y en las otras muestras, una gota de azul de metileno completada hasta 7 ml con agua en los tubos falcon, con el fin de mantener condiciones que fueran estables y representativas durante la segunda fase de liberación. Este enfoque es consistente con lo reportado por Pérez (2015), quien documentó que la actividad enzimática incrementa la velocidad de degradación de matrices poliméricas mediante mecanismos de hidrólisis enzimática [58]. La concentración enzimática final utilizada (522,46 UI/ml en el sistema con NaCl y 584,82 UI/ml en el sistema con azul de metileno) fue seleccionada para favorecer la degradación sin alterar drásticamente las condiciones del medio.

3.4.4 Validación del marcador MB/LMB y su relación con la literatura

El uso del par redox azul de metileno / leucoazul de metileno como indicador indirecto de la generación de H₂ terapéutico fue una estrategia metodológica adecuada para las condiciones de laboratorio disponibles, dado que la medición directa del H₂ gaseoso requiere equipos especializados como cromatógrafos de gases o sensores electroquímicos especializados. Es por esto, que la decoloración progresiva que fue observada en los tubos que contenían las muestras de Mg confirmó cualitativamente la generación del ambiente reductor esperado, lo que concuerda con el mecanismo del par MB/LMB descrito por Pratihari et al. (2014) y Bollinger et al. (2025) [55] [56]. Los valores cuantitativos de absorbancia registrados son consistentes con este comportamiento, mostrando una caída inicial seguida de una recuperación asociada a la reoxidación del LMB al entrar en contacto con el oxígeno del medio.

3.4.5. Limitaciones experimentales

El presente estudio presenta algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta al analizar los resultados. En primer lugar, el número de replicas evaluadas por método fue estandarizado en 3 muestras para los métodos Azul y Negro y 2 para el método Rojo, no por limitaciones de producción en los primeros, sino con el fin de mantener condiciones comparables entre métodos, dado que el método rojo presentó pérdidas significativas durante la extrusión, lo que generó que solo 2 muestras fueran útiles para evaluar. Esta decisión genera que la representación estadística del método Rojo sea un poco más limitada que las demás.

En segundo lugar, la medición directa del H₂ gaseoso no fue posible debido a las limitaciones en el acceso de equipos especializados de medición y las condiciones de laboratorio disponibles, es por esto por lo que la validación indirecta de la liberación de H₂ se hizo a partir de la reacción del par redox MB/LMB y la turbidez, lo cual no es permite establecer cuantitativamente la cantidad de H₂ que se generó y liberó efectivamente al medio.

Asimismo, el método de incorporación del Mg se hizo de forma volumétrica y no por gramos, lo que genera mayor variabilidad en la cantidad real de Mg incorporado en cada muestra. La caracterización del tamaño de las partículas mediante ImageJ, sirve como una estimación, pero presenta también limitaciones en cuanto a resolución de la muestra analizada.

Finalmente, el periodo de evaluación de aproximadamente cinco semanas no permite analizar correctamente el comportamiento de degradación a largo plazo del sistema, el cual tiene una duración de 2- 3 meses (reportado en secciones anteriores). En estudios futuros se podría extender el periodo de evaluación e incorporar la medición directa del H₂, generar mayor número de replicas y crear condiciones de medio mucho más cercanas al entorno fisiológico real del sitio de implantación.

3.5 Descripción de los siguientes pasos de avance en la tecnología

Siguiendo el marco de niveles de madurez tecnológica (TLR) definido por la NASA [64] y adoptado por Minciencias [65] para la evaluación de proyectos de investigación aplicada, el presente proyecto se ubica actualmente en un nivel TRL 3-4, correspondiente a la demostración experimental del concepto en condiciones de laboratorio controladas. A continuación, se describen los pasos propuestos para avanzar hacia niveles de mayor madurez tecnológica:

3.5.1. Corto plazo (TRL 4-5): Optimización del prototipo y validación en entorno simulado

- Ajustar la concentración de Mg en la matriz de PCL para lograr alcanzar tasas de liberación dentro del rango terapéutico [50].
- Evaluar la combinación de electrohilado + microesferas identificadas en la sección 2.3.2 como alternativa de mayor control de porosidad estructural y liberación sostenida [4].
- Evaluar la tasa de degradación del polímero en cromatografía flash empleando muestras de diferentes periodos de tiempo.

3.5.2. Mediano plazo (TRL 5-6): Validación en modelos biológicos más complejos

- Realizar ensayos en phantoms con propiedades mecánicas similares al tejido blando para evaluar el comportamiento del implante en un entorno físico más representativo, acorde con la metodología descrita en el objetivo específico (d).
- Evaluar el desempeño bajo diferentes condiciones enzimáticas y de pH, ampliando el protocolo de pancreatina desarrollado en la sección 3.1.3 y el Anexo 4.1.

3.5.3. Largo plazo (TRL 6-7): Preparación para validación preclínica

- Elaborar la documentación técnica requerida por el INVIMA para registro sanitario del dispositivo médico bajo el Decreto 4725 de 2005 [47] y las normas ISO 13485 [42] e ISO 10993 [43].
- Diseñar un protocolo de estudios in-vivo en modelos animales, después de hacer la propuesta a el comité de ética institucional, en cumplimiento de la Resolución 8430 de 1993 [48] y la declaración de Helsinki, como paso previo a cualquier desarrollo en humanos.
- Establecer alianzas con grupos de investigación clínica para diseñar ensayos piloto que validen la seguridad y eficacia del sistema en condiciones fisiológicas reales, con potencial aplicación en el tratamiento de deficiencia de Mg y como plataforma de H₂ terapéutico.

4. Declaración de uso de Inteligencia Artificial

En el desarrollo del presente proyecto se emplearon herramientas de inteligencia artificial (IA) como apoyo complementario en diversas etapas del proceso. Su uso abarcó la generación de bocetos, esquemas e imágenes ilustrativas de los procesos y sistemas propuestos, así como el apoyo en la estructuración y redacción de algunas secciones del documento.

Es importante precisar que el uso de estas herramientas se limitó estrictamente a un rol de apoyo instrumental. La totalidad de las ideas, el planteamiento, la definición de los objetivos, el diseño conceptual y técnico del prototipo, la ejecución de los procedimientos experimentales, el análisis e interpretación de los resultados y la toma de decisiones a lo largo del proyecto son producto del trabajo intelectual, el criterio académico y la formación en ingeniería biomédica. En ningún momento las herramientas de IA sustituyeron el pensamiento crítico, la validación experimental, ni el juicio técnico requeridos para el desarrollo del proyecto de esta naturaleza.

Todo el contenido generado con apoyo de IA fue revisado, validado y ajustado antes de ser incorporado al documento, garantizado su coherencia con los objetivos del proyecto, la veracidad de la información y el cumplimiento de los estándares exigidos por la Pontificia Universidad Javeriana Cali.

5. Referencias

- [1] H. M. Johnsen, M. Hiorth, y J. Klaveness, «Molecular Hydrogen Therapy—A Review on Clinical Studies and Outcomes», *Molecules*, vol. 28, n.º 23, p. 7785, nov. 2023, doi: 10.3390/molecules28237785.

- [2] L. Ge, M. Yang, N.-N. Yang, X.-X. Yin, y W.-G. Song, «Molecular hydrogen: a preventive and therapeutic medical gas for various diseases», *Oncotarget*, vol. 8, n.º 60, pp. 102653-102673, nov. 2017, doi: 10.18632/oncotarget.21130.
- [3] W. Zhou, J. Zhang, W. Chen, y C. Miao, «Prospects of molecular hydrogen in cancer prevention and treatment», *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, vol. 150, n.º 4, p. 170, mar. 2024, doi: 10.1007/s00432-024-05685-7.
- [4] U. Adhikari *et al.*, «Embedding magnesium metallic particles in polycaprolactone nanofiber mesh improves applicability for biomedical applications», *Acta Biomater.*, vol. 98, pp. 215-234, oct. 2019, doi: 10.1016/j.actbio.2019.04.061.
- [5] «Office of Dietary Supplements - Magnesium». Accedido: 27 de febrero de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Magnesium-HealthProfessional/>
- [6] «Magnesium in Prevention and Therapy». Accedido: 27 de febrero de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/7/9/5388>
- [7] S. Ohta, «Recent Progress Toward Hydrogen Medicine: Potential of Molecular Hydrogen for Preventive and Therapeutic Applications», *Curr. Pharm. Des.*, vol. 17, n.º 22, pp. 2241-2252, jul. 2011, doi: 10.2174/138161211797052664.
- [8] R. B. Seymour y C. E. J. Carraher, *Introducción a la química de los polímeros*. Reverte, 2021.
- [9] G. Satchanska, S. Davidova, y P. D. Petrov, «Natural and Synthetic Polymers for Biomedical and Environmental Applications», *Polymers*, vol. 16, n.º 8, p. 1159, abr. 2024, doi: 10.3390/polym16081159.
- [10] A. Neira-Carrillo, D. Yáñez Muñoz, P. Aguirre Zazzali, Y. Amar Marini, S. Vidal Vilches, y R. Egaña Palma, «Encapsulación de biomoléculas usando polímeros naturales: "un nuevo enfoque en la entrega de fármacos en medicina"», *Av. En Cienc. Vet.*, vol. 28, n.º 2, ene. 2014, doi: 10.5354/0716-260X.2013.30204.
- [11] R. R. Gómez y M. A. O. Téllez, «Identificación de polímeros sintéticos por prueba a la flama y su identificación en termoplásticos o termostables», *Rev. Semest.*, n.º 5, oct. 2017, [En línea]. Disponible en: <https://www.cch-naucalpan.unam.mx/RDP/ConsCiencia/ConsCiencia5.pdf#page=20>
- [12] «(PDF) DISEÑO Y EVALUACIÓN DE PARTÍCULAS POLIMÉRICAS COMO VEHÍCULOS PARA EL ENCAPSULAMIENTO Y LIBERACIÓN DE FÁRMACOS», ResearchGate. Accedido: 7 de abril de 2025. [En línea]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/388316384_DISENO_Y_EVALUACION_DE_PARTICULAS_POLIMERICAS_COMO_VEHICULOS_PARA_EL_ENCAPSULAMIENTO_Y_LIBERACION_DE_FARMACOS
- [13] S. J. Risch y G. A. Reineccius, Eds., *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*, vol. 590. en ACS Symposium Series, vol. 590. Washington, DC: American Chemical Society, 1995. doi: 10.1021/bk-1995-0590.
- [14] I. Kłodová, T. Milota, J. Smetanová, y C. Stathopoulos, «Encapsulation: A Strategy to Deliver Therapeutics and Bioactive Compounds?», *Pharmaceuticals*, vol. 16, n.º 3, Art. n.º 3, mar. 2023, doi: 10.3390/ph16030362.
- [15] Mexpolimeros, «PCL | Policaprolactona», Polímeros termoplásticos, elastómeros y aditivos. Accedido: 17 de marzo de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.mexpolimeros.com/pcl.html>
- [16] M. C. Puentes Tapia, «Propiedades, métodos de síntesis y aplicaciones de la policaprolactona», 2020, Accedido: 12 de mayo de 2026. [En línea]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/1992/48915>

- [17] M. Sandoval-Peraza, T. Cu-Cañetas, G. Peraza-Mercado, y P. Acereto-Escoffí, «Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticas», 2017, pp. 181-218. doi: 10.3926/oms358.
- [18] «Técnica de electrohilado». Accedido: 19 de mayo de 2025. [En línea]. Disponible en: <http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/22289/Capitulo4.pdf>
- [19] L. M. D. Sánchez, L. Rodriguez, y M. López, «ELECTROSPINNING: LA ERA DE LAS NANOFIBRAS», 2013, [En línea]. Disponible en: <https://en.observatorioplastico.com/ficheros/articulos/143084719207085744.pdf>
- [20] «Extrusión», Dassault Systèmes. Accedido: 1 de septiembre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.3ds.com/es/make/guide/process/extrusion>
- [21] Mariano, «EXTRUSIÓN DE MATERIALES PLÁSTICOS | Tecnología de los Plásticos», EXTRUSIÓN DE MATERIALES PLÁSTICOS | Tecnología de los Plásticos. Accedido: 6 de octubre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/03/extrusion-de-materiales-plasticos.html>
- [22] A. A. Mohammed, M. S. Algahtani, M. Z. Ahmad, J. Ahmad, y S. Kotta, «3D Printing in medicine: Technology overview and drug delivery applications», *Ann. 3D Print. Med.*, vol. 4, p. 100037, dic. 2021, doi: 10.1016/j.stlm.2021.100037.
- [23] A. H. Madinabeitia, «impresión 3d para la personalización de medicamentos administrados por vía oral».
- [24] «Moldeo por inyección», Dassault Systèmes. Accedido: 1 de septiembre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.3ds.com/es/make/guide/process/injection-molding>
- [25] R. Conrad, «¿Qué es moldeo por inyección? - Kuraray Elastomers». Accedido: 23 de octubre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.elastomer.kuraray.com/es/blog/injection-molding/>
- [26] «Tema 4. El proceso de la liofilización | Técnicas y operaciones avanzadas en el laboratorio químico (TALQ)». Accedido: 1 de septiembre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.ub.edu/talq/es/node/261>
- [27] L. M. A. Muñoz, «Desarrollo de scaffolds de Polihidroxialcanoato mediante liofilización, biofuncionalizados químicamente para su potencial aplicación en ingeniería de tejidos», [En línea]. Disponible en: <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/entities/publication/8522753b-028e-4c48-96e8-dc34902d310b>
- [28] «Microsphere - an overview | ScienceDirect Topics». Accedido: 23 de septiembre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/materials-science/microsphere>
- [29] L. Ruan *et al.*, «Progress in the application of sustained-release drug microspheres in tissue engineering», *Mater. Today Bio*, vol. 16, p. 100394, dic. 2022, doi: 10.1016/j.mtbio.2022.100394.
- [30] B. Y. Ye, C. W. An, J. Y. Wang, y X. H. Geng, «Formation and properties of HMX-based microspheres via spray drying», *RSC Adv.*, vol. 7, n.º 56, pp. 35411-35416, jul. 2017, doi: 10.1039/C7RA02737K.
- [31] E. de J. Alcañiz, «Tema 5. El hidrógeno y sus compuestos», [En línea]. Disponible en: <http://orga.blog.unq.edu.ar/wp-content/uploads/sites/58/2018/05/H-compuestos.pdf>
- [32] T. Ishibashi, «Molecular Hydrogen: New Antioxidant and Anti-inflammatory Therapy for Rheumatoid Arthritis and Related Diseases», *Curr. Pharm. Des.*, vol. 19, pp. 6375-6381, oct. 2013, doi: 10.2174/13816128113199990507.
- [33] SP&A Application Laboratory, Thermo Fisher Scientific, Vantaa, Finland, «Turbidometric performance of Thermo Scientific Multiskan FC and Multiskan GO». Accedido: 27 de abril de

2026. [En línea]. Disponible en: <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/LCD/Warranties/D20513~.pdf>
- [34] O. K. S. Ch. Anupama Swathi* V. Supriya, T. Sandhya, Md. Shakirunnissa, Dr. K. Padmalatha, «AN OVERVIEW ON FLASH CHROMATOGRAPHY», abr. 2021, doi: 10.5281/zenodo.4670500.
- [35] H. Zang, «Transdermal delivery device comprising microcaps sealed with a microporous sealing layer», US20180243233A1, 30 de agosto de 2018 Accedido: 27 de febrero de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://patents.google.com/patent/US20180243233A1/en/>
- [36] Y. Brudno *et al.*, «Dispositivos de liberación de fármacos recargables y procedimientos de uso de los mismos», ES2871029T3, 28 de octubre de 2021 Accedido: 7 de abril de 2025. [En línea]. Disponible en: [https://patents.google.com/patent/ES2871029T3/es?q=\(impresion+3d+de+farmacos\)&oq=impresion+3d+de+farmacos&page=1](https://patents.google.com/patent/ES2871029T3/es?q=(impresion+3d+de+farmacos)&oq=impresion+3d+de+farmacos&page=1)
- [37] N. Genina, J. P. Boetker, S. Colombo, N. Harmankaya, J. Rantanen, y A. Bohr, «Anti-tuberculosis drug combination for controlled oral delivery using 3D printed compartmental dosage forms: From drug product design to *in vivo* testing», *J. Controlled Release*, vol. 268, pp. 40-48, dic. 2017, doi: 10.1016/j.jconrel.2017.10.003.
- [38] Á. P. Sánchez Cepeda, R. Vera-Graziano, E. de J. Muñoz-Prieto, E. Y. Gómez-Pachón, M. J. Bernad-Bernad, y A. Maciel-Cerda, «Preparación y caracterización de membranas poliméricas electrohiladas de policaprolactona y quitosano para la liberación controlada de clorhidrato de tiamina», *Cienc. En Desarro.*, vol. 7, n.º 2, pp. 133-151, dic. 2016.
- [39] «Item 1025/733 | Repositorio CIQA». Accedido: 7 de abril de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1025/733>
- [40] «Clinically ready magnetic microrobots for targeted therapies | Science». Accedido: 15 de febrero de 2026. [En línea]. Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.adx1708>
- [41] N. Garcia-Navarro, G. Galicia-Aguilar, G. Lugo-Islas, y E. Gallardo-Castán, «Estudio de superficies de magnesio modificadas con fosfatos y películas poliméricas para aplicaciones médicas», *Rev. Ing. Tecnológica*, pp. 8-15, dic. 2019, doi: 10.35429/JTEN.2019.12.3.8.15.
- [42] «ISO 13485:2016(en), Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes». Accedido: 18 de mayo de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso:13485:ed-3:v1:en>
- [43] «ISO 10993-5:2009(en), Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity». Accedido: 18 de mayo de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso:10993:-5:ed-3:v1:en>
- [44] «TRS 1025 - 54th report of the WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations». Accedido: 18 de mayo de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240001824>
- [45] «Standard Guide for in vitro Degradation Testing of Absorbable Metals». Accedido: 12 de agosto de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://store.astm.org/f3268-18a.html>
- [46] «Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics». Accedido: 12 de agosto de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://store.astm.org/do638-14.html>
- [47] «Decreto 4725 del 2005», Ministerio de Salud. Accedido: 18 de mayo de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/lists/bibliotecadigital/ride/de/dij/decreto-4725-de-2005.pdf>
- [48] «Resolución 8430 de 1993», Ministerio de Salud. Accedido: 18 de mayo de 2025. [En línea]. Disponible en:

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-8430-de-1993.pdf>

- [49] P. Landau, «What Is a Stakeholder? Definitions, Types & Examples», ProjectManager. Accedido: 12 de agosto de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.projectmanager.com/blog/what-is-a-stakeholder>
- [50] «Magnesio en la dieta: MedlinePlus enciclopedia médica». Accedido: 15 de septiembre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002423.htm>
- [51] V. R. Measurlabs, «Mechanical Testing of Plastic Materials | Measurlabs». Accedido: 19 de noviembre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://measurlabs.com/blog/mechanical-testing-of-plastic-materials/>
- [52] Mexpolimeros, «ASTM D638», Polímeros termoplásticos, elastómeros y aditivos. Accedido: 19 de noviembre de 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.mexpolimeros.com/LAB/astm-d638.html>
- [53] «Biomaterials Science», ScienceDirect. Accedido: 12 de abril de 2026. [En línea]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9780123746269/biomaterials-science>
- [54] J. A. Johnson, N. J. Turro, J. T. Koberstein, y J. E. Mark, «Some hydrogels having novel molecular structures», *Prog. Polym. Sci.*, vol. 35, n.º 3, pp. 332-337, mar. 2010, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2009.12.002.
- [55] J.-C. Bollinger, E. C. Lima, L. Mouni, S. Salvestrini, y H. N. Tran, «Molecular properties of methylene blue, a common probe in sorption and degradation studies: a review», *Environ. Chem. Lett.*, vol. 23, n.º 5, pp. 1403-1424, oct. 2025, doi: 10.1007/s10311-025-01856-1.
- [56] S. Pratihari, R. Pegu, K. Majumder, y D. Talukdar, «Oxalate capped Iron Nano: From Dye degradation to Catalysis», *RSC Adv.*, vol. 4, jul. 2014, doi: 10.1039/C4RA04214J.
- [57] «H2 Sciences Inc. Technical Page», H2 Sciences Inc. Accedido: 12 de mayo de 2026. [En línea]. Disponible en: <http://www.h2sciencesinc.com/how-does-h2blue-detect-h2.html>
- [58] R. I. Pérez Naimán, «Estudio de la cinética de degradación enzimática de microcápsulas usando análisis de imágenes», p. 27, 2015.
- [59] «Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer - CO». Accedido: 12 de abril de 2026. [En línea]. Disponible en: <https://www.thermofisher.com/ht/en/home/life-science/lab-equipment/microplate-instruments/plate-readers/models/multiskan-skyhigh.html>
- [60] K. Miyata, T. Nakanishi, K. Fushimi, y Y. Hasegawa, «Solvent-dependent luminescence of eight-coordinated Eu(III) complexes with bidentate phosphine oxide», *J. Photochem. Photobiol. Chem.*, vol. 235, pp. 35-39, may 2012, doi: 10.1016/j.jphotochem.2012.03.005.
- [61] A. Procopio *et al.*, «Recent Fabrication Methods to Produce Polymer-Based Drug Delivery Matrices (Experimental and In Silico Approaches)», *Pharmaceutics*, vol. 14, n.º 4, p. 872, abr. 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14040872.
- [62] You Tec, *IMAGE J - Análisis de imagen*, (29 de octubre de 2020). Accedido: 2 de mayo de 2026. [En línea Video]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=wCeOyqtwzoU>
- [63] «Diagnosing Chromatography Problems & Troubleshooting». Accedido: 12 de mayo de 2026. [En línea]. Disponible en: <https://www.ssi.shimadzu.com/service-support/faq/liquid-chromatography/knowledge-base/diagnosing-chromatography-problems-troubleshooting/index.html>
- [64] «Technology Readiness Levels - NASA». Accedido: 25 de abril de 2026. [En línea]. Disponible en: <https://www.nasa.gov/directorates/somd/space-communications-navigation-program/technology-readiness-levels/>

- [65] Ministerio de Ciencias, Tecnología e innovación, «ANEXO 5. Technology Readiness Levels (TRL)». [En línea]. Disponible en:
https://minciencias.gov.co/sites/default/files/upload/convocatoria/anexo5_7.pdf
- [66] J. Zampolli, D. Vezzini, S. Brocca, y P. Di Gennaro, «Insights into the biodegradation of polycaprolactone through genomic analysis of two plastic-degrading *Rhodococcus* bacteria», *Front. Microbiol.*, vol. 14, p. 1284956, ene. 2024, doi: 10.3389/fmicb.2023.1284956.
- [67] M. G. Ortiz-Aldaco, M. Estévez, B. L. España-Sánchez, J. Bonilla-Cruz, E. Rodríguez-deLeón, y J. E. Báez, «Monodisperse oligo(ϵ -caprolactones) with terpenes and alkyl end-groups: synthesis, isolation, characterization, and antibacterial activity», *RSC Adv.*, vol. 15, n.º 1, pp. 276-288, doi: 10.1039/d4ra08104h.

6. Anexos

6.1 Protocolo de degradación de PCL con pancreatina

1. Preparar solución de pancreatina
 - a) Disolver
 - Pancreatina: 1mg/ml
 - Solución salina 0,9% NaCl
 - b) Mantener pH cercano a 7.4 (Importante para actividad lipasa)
2. Preparar muestras
 - PCL
 - Solución pancreatina: 5 ml

Controles

- PCL + Solución salina (sin enzima)
 - Solución pancreatina sin PCL
3. Incubación
 - a) Condiciones, 37°C y tapa cerrada.
 - b) Tiempos recomendados:
 - 1 día
 - 3 días.
 - 7 días
 - 14 días
 - 21 días
 4. Detener la reacción
 - a) Calentar a 90°C por 5 minutos para desactivar la pancreatina y enfriar a temperatura ambiente.
 5. Separar sólido
 - a) Centrifugar a 4000 rpm por 5 minutos y recuperar sobrenadante.
 - b) Guardar también el sólido para analizar pérdida de masa.
 6. Extracción

- a) Al sobrenadante agregar 5 ml de acetato de etilo y agitar fuerte. (puede ser en el vórtex)

6.2. Protocolo operativo C900: purificación de PCL [66] [67]

Análisis de degradación enzimática con pancreatina (30 días)

Nota: Restricción crítica de solvente: máximo 20 ml

1. Especificaciones del sistema C900
 - a) Bomba: Binaria de 3 pistones (Línea A: DCM / Línea B: ACN)
 - b) Presión máxima segura: 50 bares (No exceder para proteger cartuchos de polímero)
 - c) Detección: Monitor UV con longitudes fijas (Usar 250 nm para PCL y 280 nm para proteína).
 - d) Interfaz: Pantalla táctil tipo Tablet.
2. Configuración del método (Icono Vaso / Hoja)

Paso 1: Crear método "+" y nombrarlo.

Paso 2: Definir Columna (Cartucho Sílice 4g o 12g)

Paso 3: Ajustar flujo a 1,0 mL/min.

Programación de rampas (Gradiente)

Etapas	Tiempo (min)	% Solvente B (ACN)	Volumen
Equilibrio	0-3	0%	3 ml
Rampa 1 (Oligómeros)	3-8	0% -> 10%	5 ml
Rampa 2 (Monómero)	8-15	10% -> 25%	7 ml
Lavada (Proteína)	15-20	40%	5 ml
Total consumido			20 ml

3. Paso a paso en el laboratorio

Paso 1: Cebado (Menú servicio): Realizar cebado de bombas A y B por 30 s. Usar bypass para no gastar solvente en la columna.

Paso 2: Equilibrio: conectar columna, dar "play", esperar línea base estable en display.

Paso 3: Inyección: Al aviso de "Carga de muestra", inyectar 0,5 ml de extracto con jeringa, Dar "Listo".

Paso 4: Recolección: Configurar colector en "Colectar todo" con fracciones de 1,5ml.

Paso 5: Fotosensibilidad: Desactivar luz de gradilla en ajustes si es necesario.
4. Registro y reporte (Icono Lista / Registro)

Al finalizar, guardar la ejecución. El sistema registrará los cromatogramas automáticamente. Insertar USB en el display para exportar el reporte en PDF.

6.3. Protocolo Micro- Flash gráfico [66] [67]

Purificación de Ácido 6-hidroxicaproico | Enzima: Pancreatina

VOLUMEN TOTAL DISPONIBLE: 20 mL (NO EXCEDER)

1 PREPARACIÓN DE FASES Y MUESTRA

FASES MÓVILES



Filtrar ambas fases con membrana de 0.22 µm

TRATAMIENTO DE MUESTRA

- Centrifugar extracto de 30 días.
13,000 rpm / 10 min.
- Filtrar sobrenadante (PTFE 0.22 µm).
- Concentrar bajo N₂ hasta un volumen final de 0.5 mL.

Conoce tu equipo



COLUMNA (CARTUCHO)

Silice Normal
(4 g o el menor volumen disponible)

PANTALLA TÁCTIL

Configuración, método, monitoreo de picos y control del sistema.

BOMBA

Binaria (2 solventes)
3 pistones

COLECTOR DE FRACCIONES

Recoge automáticamente los tubos con el eluido.

2 CONFIGURACIÓN DEL EQUIPO (SOFTWARE)



CARTUCHO
Selección: Silice Normal (4 g).



DETECCIÓN UV
Canal 1: 210 nm (PCL)
Canal 2: 280 nm (Proteína)



FLUJO
Ajustar estrictamente a 1.0 mL/min.



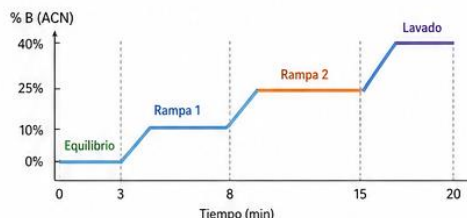
MODO DE INYECCIÓN
Manual (inyección líquida directa).

Ajustar parámetros antes de conectar la columna para evitar consumo innecesario.

3 PROGRAMA DE GRADIENTE (RAMPAS)

ETAPA	TIEMPO (min)	% B (ACN)	VOL. ETAPA	ACCIÓN / OBSERVACIÓN
Equilibrio	0 – 3	0%	3 mL	Estabilizar línea base UV
Rampa 1	3 – 8	0% → 10%	5 mL	Salida de oligómeros cortos
Rampa 2	8 – 15	10% → 25%	7 mL	Elución del Monómero (6-HHA)
Lavado	15 – 20	40%	5 mL	Eliminación de Pancreatina

CONSUMO TOTAL ESTIMADO 20 mL



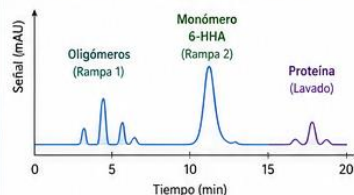
4 OPERACIÓN PASO A PASO



¿QUÉ SUCEDE DENTRO DE LA COLUMNA?

POLARIDAD DE ELUCIÓN	BAJA	ALTA		
0% B (Equilibrio)	0–10% B (Rampa 1)	10–25% B (Rampa 2)	40% B (Lavado)	
				
Compuestos muy polares se retienen más.	Salen los oligómeros más cortos.	Eluye el monómero: Ácido 6-hidroxicaproico (objetivo).	Se eliminan proteínas (pancreatina) y restos fuertemente retenidos.	

CROMATOGRAMA EJEMPLO (UV 210 nm)



RESULTADO ESPERADO

Recolectar fracciones correspondientes al pico del monómero (10-16 min).

- ✓ Concentrar fracciones
- ✓ Analizar (LC/MS, NMR, etc.)
- ✓ Guardar y registrar resultados



PUNTOS CRÍTICOS

- No exceder 20 mL de consumo total.
- Flujo fijo: 1.0 mL/min.
- Inyección pequeña: 0.5 mL (evita sobrecarga).
- Recolección en la ventana correcta (10-16 min).
- Detener flujo al final del lavado.
- Mantener columna húmeda en todo momento.



CONSUMO RESUMEN

Total: 20 mL
(15 mL DCM + 5 mL ACN)



NOTA

Este método está optimizado para máximo rendimiento con el mínimo volumen disponible.