2012/2013

Variación de las Propiedades Mecánicas de Hidrogeles de Tipo Elastina con la Temperatura, el Tiempo y la Concentración

Máster en Física de los Sistemas de Diagnóstico, Tratamiento y Protección en Ciencias de la Salud

Ariana Velasco del Olmo

Tutor: J. Carlos Rodríguez-Cabello

(G.I.P Bioforge)

2012/2013

ÍNDICE

1. **Introducción**

   1.1. **La ciencia de los biomateriales**

   1.2. **Los materiales biológicos:**

   - **La elastina**
   - **Los polibloques y los hidrogeles**

   1.3. **La reología**

   - **Modelo Reológico**

2. **Plan de trabajo**

   2.1. **Preparación de geles / elección de polímeros.**

   2.2. **Pruebas reológicas.**

   a) **Rampa de temperatura**

   - **Para concentraciones de 150 mg/ml con agua y distintas concentraciones de PBS**
   - **Para distintas concentraciones con agua y PBS**

   b) **Rampa de tiempo**

3. **Desarrollo del trabajo y resultados obtenidos.**

   - **Rampa de temperatura**
   - **Rampa de Tiempo**

4. **Conclusiones**

5. **Agradecimientos**

6. **Bibliografía**

1. Introducción:

En este trabajo tiene como principal objetivo, realizar un estudio para saber cómo varían las propiedades mecánicas de los hidrogeles formados por tetrabloques y pentabloques de tipo elastina con la concentración de polímero, la concentración de iones en el medio, la temperatura y el tiempo.

En esta introducción, se realizará un breve análisis de la situación, el desarrollo existente y las características de este tipo de materiales. Posteriormente se planteará el método experimental seguido en el proceso de trabajo dónde se han obtenido las medidas que aquí se exponen. Y por último un análisis de los resultados obtenidos con sus conclusiones finales.

1.1. La ciencia de los biomateriales

Los biomateriales son materiales utilizados para ser incorporados o implantados dentro de un sistema vivo para reemplazar o restaurar alguna función perdida permaneciendo en contacto permanente o intermitente con fluidos corporales. Debido a que estos materiales van a estar en contacto con tejido vivo, es preciso exigir que realicen su función de forma segura, fiable y fisiológicamente aceptable, además una compatibilidad acorde con el organismo en el que van a ser alojados.

Por tanto, las características fundamentales que deben reunir este tipo de materiales, son la biocompatibilidad, buenas propiedades mecánicas y en general, una ausencia de degradación del compuesto durante su uso. La biocompatibilidad y la estabilidad a largo plazo determinan el éxito o fracaso de los dispositivos.

Los biomateriales, aparte de ser biocompatibles, pueden presentarse según sus características como materiales *bioinertes*, los cuales producen una mínima respuesta biológica en el organismo; *bioactivos*, poseen reactividad con el tejido vivo permitiendo la unión entre los tejidos y el material; o *bioabsorbibles*, dónde el material se va reemplazando gradualmente por los tejidos sin provocar daño en los mismos.

1.2. Los materiales biológicos:

Los biomateriales tuvieron un gran crecimiento en el último medio siglo abarcando aspectos de la medicina, la biología, la química y ciencia de los materiales. Desde hace muchos años, en la ciencia de materiales se intenta imitar las propiedades presentes en los materiales de la naturaleza, pero, ¿por qué no utilizar las biomoléculas que la forman? Las extraordinarias propiedades de los materiales biológicos han sorprendido a varias generaciones de científicos de materiales, ya que sus materiales sintéticos cayeron muy por debajo de dicha actuación extraordinaria. Cada día, se necesitan materiales en aplicaciones que requieren propiedades más exigentes dónde los materiales biológicos son los mejores candidatos para suplirlas.

Gracias a los últimos descubrimientos en la ciencia de materiales, se han empezado a utilizar moléculas biológicas. La combinación de sus propiedades físico-químicas y la posibilidad de no ser rechazado por el sistema inmune cuando son introducidos en el cuerpo humano, hace que cada vez sean más interesantes en el campo de los biomateriales.

Los materiales de los dispositivos diseñados con fines biomédicos no deben ser considerados como un cuerpo extraño por nuestro sistema inmune. Si el dispositivo acaba siendo considerado como un cuerpo extraño se produciría una pérdida de función del mismo a corto, medio o largo plazo. Cabe pensar entonces, que los mejores materiales para

ser utilizados, son los que forman parte del sistema biológico dónde van a ser implantados, asegurándonos de esta forma evitar el rechazo del dispositivo.

Las biomoléculas que forman los seres vivos pueden ser inorgánicas u orgánicas. Las moléculas orgánicas son moléculas que solamente son sintetizadas por los seres vivos, basadas en la química del carbono. Entre ellas podemos encontrar glúcidos, lípidos, ácidos nucleicos y proteínas.

Las proteínas son los biopolímeros más complejos de la naturaleza y poseen todo el material genético para formar un organismo. Todos los organismos realizan su función por medio de las proteínas, formadas por la combinación de aminoácidos. Mediante la combinación de aminoácidos distintos, los materiales proteicos ofrecen la posibilidad de creación de proteínas sintéticas con una combinación de características físico-químicas, mecánicas y topología precisas, diseñadas y sintetizadas para conseguir una simulación de materiales naturales.

- **La elastina**

Como se ha indicado al inicio de este trabajo, se han utilizado materiales proteicos de tipo elastina. Son materiales inspirados en la elastina natural y poseen una gran elasticidad. Lo que hace tan atrayente a este material, es que posee una buena bioactividad, ya que son capaces de sustituir y regenerar el tejido dañado, se adaptan y remodelan si es necesario y se degradan gracias a su similitud con la elastina natural. En definitiva, posee un amplio rango de propiedades que no se es capaz de encontrar de otra forma. Entre los campos de aplicación, se encuentra la ingeniería de tejidos, el relleno de tejidos y la dosificación controlada de principios activos y allá dónde se requiera de un biomaterial blando.

La elastina natural nos ofrece unas buenas propiedades mecánicas, una muy buena biocompatibilidad al formar parte de los tejidos naturales, una naturaleza inteligente o la sensibilidad a estímulos generando respuestas a estímulos así como una bioactividad.

Los polímeros de tipo elastina, son polipéptidos compuesto por secuencias de aminoácidos no natural. La composición más básica de éstos, implica la repetición del pentapéptido VPGXG, dónde X representa un aminoácido natural excepto la prolina. Dependiendo de qué aminoácido X tengan, el polímero tendrá unas propiedades físico-químicas u otras.

Estos polímeros son producidos por técnicas recombinantes de ADN y no sintetizados químicamente, lo que hace posible el control total de la secuencia de los polímeros permitiendo diseñar de forma muy precisa las funcionalidades finales del biomaterial.

La naturaleza inteligente de estos polímeros reside en su comportamiento en medios acuosos. Se trata de una transición molecular de la cadena polimérica de la cual depende sus características macroscópicas: La Temperatura de Transición Inversa, "TTI". Todos los polímeros funcionales del tipo elastina presenta este comportamiento reversible de fase transicional:

- En disolución y por debajo de la temperatura crítica de transición (T_t), las cadenas de proteína se encuentran extendidas y desordenadas completamente hidratadas por medio de una hidratación hidrofóbica. Esta hidratación se caracteriza por la existencia de moléculas de una estructura en forma de "*jaula*" alrededor de la parte apolar de la molécula.

- Por lo contrario por encima de la temperatura crítica de transición (T_t), las "jaulas" se deshacen plegándose la cadena hasta que precipita.

Esta temperatura depende esencialmente de la composición, el pH del medio así como de la cantidad de iones presentes en el mismo. El interés de esta temperatura, reside en la capacidad que nos ofrece para purificar a la proteína y para la caracterización del material en las aplicaciones relacionas con esta aplicación.

- **Los polibloques y los hidrogeles.**

Los polibloques se tratan de la formación de cadenas poliméricas dónde se alternan bloques VPGXG con carácter hidrofílico o hidrofóbico alternamente. La parte hidrofílica tiene tendencia a estar en contacto con el agua y la parte hidrofóbica lo evitará formando estructuras tipo micelas o vesículas.

Los tetrabloques y pentabloques *(polibloques formados por repetición de 4 y 5 bloques)* cuando se sobrepasa la TTI se forma un entramado físico entre las zonas apolares interaccionando entre ellas, generando un hidrogel. Se obtiene así unas propiedades mecánicas similares a la de la matriz celular para el poder ser usados en el crecimiento de células. En estos geles, al contrario que en otros materiales, cuando aumenta su temperatura, aumenta su viscosidad hasta su gelificación. Los hidrogeles posibilitan la inyección del material cómo un líquido y que puedan realizar la acción para la que están diseñados en forma de gel en el interior del organismo al aumentar la temperatura.

En los *tetrabloques* utilizados en este estudio, están compuestos por la repetición de dos bloques E50I60:

El bloque E: Tiene un carácter **hidrofílico** y es sensible al pH

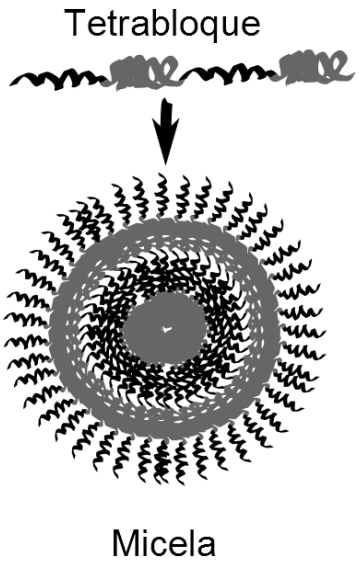
Su composición está dada por: $[(VPGVG)_2\text{-}(VPGEG)\text{-}(VPGVG)_2]_n$

El bloque I: Tiene carácter **hidrofóbico**.

Compuesto por: $[VPGIG]_m$

Los *pentabloques* están formados por $(E50I60)_2$-RGD: se añade el tripéptido formado por arginina-glicina-aspartato. El RGD es una de las proteínas que forman parte del citoesqueleto de la matriz extracelular evitado la apoptosis de la célula (muerte programada de la célula). Tiene carácter **hidrofílico**.

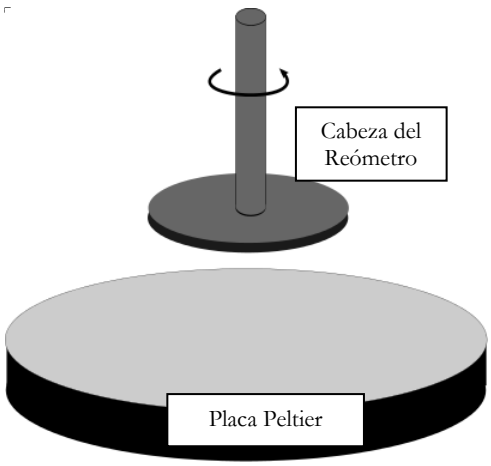
Todos estos bloques tienen carácter anfifílico. Debido a este carácter, los co-polímeros de elastina en solución fría, mediante el aumento de temperatura, forman de forma espontánea un autoensamblado para evitar el contacto del agua con las cadenas hidrofóbicas. La forma de ese autoensamblado está actualmente en proceso de estudio, pero todo apunta a que se forman micelas como las descritas en el dibujo siguiente, dónde las partes hidrofóbicas se unen en el centro para evitar su contacto con el agua y son rodeadas por las hidrofílicas.



1.3. La reología.

La reología es la ciencia que estudia el flujo de la materia. Es decir, podemos definir la reología como el estudio de las relaciones entre esfuerzos y deformaciones. La relación entre el esfuerzo y la deformación es propia de cada material. Se utiliza para estudiar las relaciones existentes entre esfuerzos (fuerzas) y deformaciones (deformación de cizalla y velocidad de cizalla) en los materiales.

El reómetro se compone de una cabeza encargada de aplicar la fuerza de cizalla, una placa Peltier para el control de la temperatura y una unidad de control. La cabeza girará para someter a la muestra el esfuerzo de cizalla deseado. Existen multitud de ensayos posibles para realizar un reómetro: a deformación constante, esfuerzo constante, rampa de temperatura, rampa de tiempos, barrido de frecuencias…



Los polímeros son fluidos viscoelásticos, que se comportan de forma viscosa o elástica, dependiendo de la rapidez con que fluyen o se deforman en el proceso. En concreto, los hidrogeles descritos con anterioridad, para temperaturas menores a su temperatura de transición, tiene un comportamiento cercano al de un líquido, y para

temperaturas superiores, el hidrogel se encontrará estado gelificado comportándose de forma similar a un sólido. Gracias a este cambio de comportamiento del hidrogel, esta técnica puede ser utilizada, mediante una rampa de temperaturas controlada, utilizada para caracterizar la temperatura de transición del hidrogel.

La reología es una fase importante de la caracterización, dado que se puede observar de las propiedades físicas que los geles va a tener en condiciones similares a las de su aplicación.

- **Modelo Reológico**

Para poder entender correctamente los datos obtenidos de las pruebas reológicas, debemos entender el modelo físico que hay detrás de todo ello.

La reología de fluidos estudia la relación que existe entre la fuerza motriz que provoca el movimiento (esfuerzo cortante, σ) y la velocidad de flujo que se origina (el gradiente del perfil de velocidades, γ)

El esfuerzo es la fuerza por unidad de área aplicada paralelamente al desplazamiento. La cabeza aplica un esfuerzo en forma de cizalla que viene dado por:

$$\sigma = k_\theta \cdot M = k_\theta \cdot I \cdot \gamma$$

Dónde σ es el esfuerzo, k_θ es una constante de deformación, M troque o momento de par de fuerzas, I Momento de inercia de la cabeza y γ la deformación. Se mide en $N \cdot m^{-2}$.

La viscosidad, η, es la propiedad de un fluido para oponerse a fluir, en este caso a un esfuerzo de cizalla. La viscosidad viene definida como el cociente del esfuerzo y la velocidad deformación. Se mide en $kg\ m^{-1}\ s^{-1}$.

$$\frac{M\,x\,K_{\sigma}}{\Omega\,x\,K_{\gamma}}=\frac{\sigma}{\dot{\gamma}}=\eta\rightarrow\sigma=\eta\cdot\dot{\gamma}$$

El esfuerzo en un experimento dinámico se denota como un esfuerzo complejo, σ^*:

$$|\sigma^*| = \sigma' + i\sigma''$$

Este esfuerzo complejo puede separarse en dos componentes:

- Un esfuerzo elástico en fase con la deformación. σ' da una idea del grado de comportamiento elástico del material.

- Un esfuerzo viscoso en fase con la velocidad de deformación. σ'' da una idea del grado de comportamiento como líquido ideal del material.

Definimos entonces al módulo complejo para poder medir la resistencia del material al ser deformado. Se mide en Pa.

$$G^* = G' + iG'' = \frac{Esfuerzo^*}{Deformación}$$

- El módulo elástico o de almacenamiento G' mide la elasticidad del material. La capacidad del material para almacenar energía.

- El módulo viscoso o de pérdidas G'' nos informa de la capacidad del material para disipar energía. La energía se pierde en forma de calor.

- Para ver la relación que existe entre la energía disipada con la almacenada utilizamos la $tg\delta$ $\left(tg\delta = \frac{G''}{G'}\right)$.

Cuanto más elástico sea un material el módulo G" será mucho mayor al de pérdidas G", porque será capaz de almacenar mucha energía. Cuanto más viscoso se trate el material mayor será el de pérdidas G".

En este trabajo se va a poner especial interés en observar cómo cambia el módulo G' en función de las variaciones de temperatura, de tiempo, de concentración y de la presencia de iones.

2. Plan de trabajo y/o metodología utilizada.

- **Preparación de geles / elección de polímeros.**

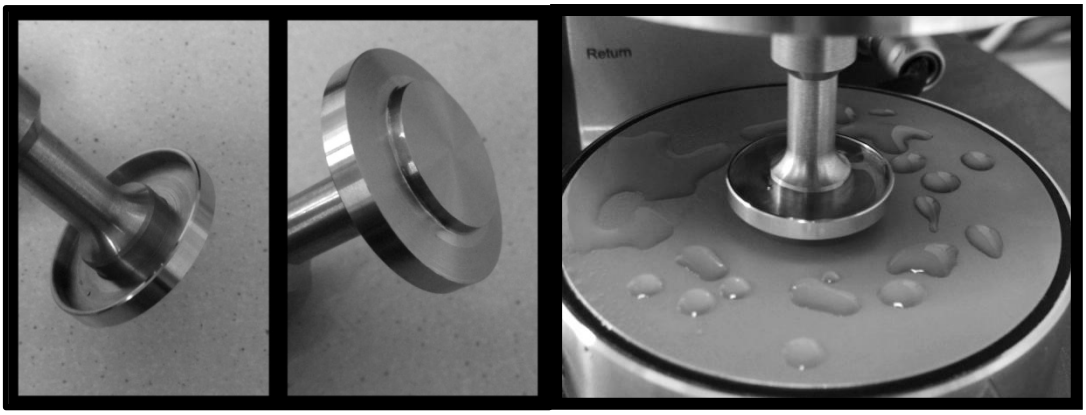
La preparación de los hidrogeles se realizó con una antelación de al menos 24h antes de la realización de la medida. Se trata de una simple disolución de polímero proteico. Se han preparado disoluciones de distintas concentraciones 150 mg/ml, 200 mg/ml y 250 mg/ml con un volumen de muestra de 200 µl. Los solventes utilizados han sido agua milli-Q (agua deionizada y ultrapurificada) y distintas concentraciones de PBS (solución tampón de fosfato salino que contiene cloruro sódico, fosfato sódico, cloruro potásico y fosfato de potasio). De esta forma, conseguiremos disoluciones de distintas concentraciones con distintos solventes para poder realizar un estudio de la dependencia de la concentración, la concentración de sales y con el pH.

Los polímeros elegidos han sido un conjunto de tetrabloques y pentabloques resumidos en la siguiente tabla. *(Los valores del NIP son códigos utilizados en el laboratorio bioforge para su identificación).*

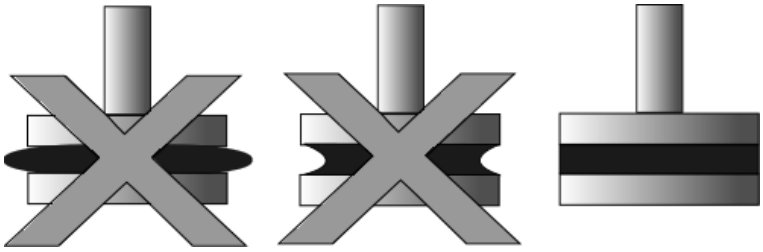
Tetrabloques	Pentabloques
NIP 933	NIP 879
NIP 929	NIP 926
NIP 925	NIP 853
NIP 933*	NIP 899
	NIP 843
	NIP 879*
	NIP 896

- **Pruebas reológicas.**

Se ha utilizado un reómetro AR 2000 ex con una cabeza de 20 mm de diámetro con depósito para evitar las evaporaciones durante el proceso. Durante las medidas, aparte para evitar la desecación del polímero se añaden gotas de agua en la placa Peltier alrededor de la muestra pero sin que llegue a contactar con la misma para evitar un cambio en las propiedades de la misma.



La colocación de la muestra ha de ser cuidadosa para realizar las medidas de forma correcta y conseguir medir lo que nos interesa: no debe quedar ni aplastada ni sin el suficiente contacto con la cabeza.



Con este aparato se puede realizar distintos tipos de estudios variando las distintas variables con las que se juega dentro de la reometría: rampa de temperatura, rampa de tiempos, barrido de frecuencias... Gracias a ellos se obtendrá valores de viscosidad,

deformación, relación entre ambas, comportamiento hacia distintas temperaturas y frecuencias y por ende, la temperatura de gelificación por el cambio de las anteriores propiedades.

Se han realizado tres tipos de estudios:

- Rampa de temperatura de 4 a 60 ºC con una concentración de 150 mg/ml en agua.
- Rampa de temperatura de 4 a 60 ºC para distintas concentraciones con agua y PBS.
- Rampa de tiempo de 40 min a 37ºC para distintas concentraciones con agua y PBS x1.

a) Rampa de temperatura

Se ha realizado una rampa de temperatura de 4 a 60ºC con una duración de 15 min, es decir, a un paso de 3,73 ºC/min.

Se ha definido la frecuencia de oscilación constante con un valor de 1Hz y la deformación también constante al 1%.

- **Para concentraciones de 150mg/ml con agua y distintas concentraciones de PBS.**

Para ver las diferencias existentes, en lo que se refiere al módulo y a las temperaturas de transición, entre tetrabloques y pentabloques, se han utilizado todos los polímeros disponibles mencionados con anterioridad (excepto el 896) en agua.

Para los polímeros 879* y 899 se ha realizado además el mismo estudio pero con PBS a x1, x1,2, x1,4, x1,6 y a x1,8. De esta forma, se puede comprobar el efecto que produce la cantidad de sal con fosfato del medio en la temperatura de transición y en el módulo.

- **Para distintas concentraciones con agua y PBS**

Para los polímeros 896 y 899 se han utilizado disoluciones en agua y en PBS x1, x1,2 y x1,5 a las concentraciones de 200mg/ml y 250 mg/ml. Se pretende comprobar de esta manera, la influencia de la concentración frente a la que produce el la variación de la cantidad de sales en el medio.

b) Rampa de tiempo

Con los polímeros 879, 899 (pentabloques) y el polímero 933 (tetrabloque) se ha realizado un estudio sobre como varía su módulo en el tiempo. Se ha utilizado únicamente polímeros disueltos en agua Milli-Q y PBS x1. La muestra ha sido sometida durante 40 min a una temperatura de 37ºC con unos valores de frecuencia y deformación iguales a los citados en el anterior apartado, 1Hz y 1% deformación constante.

A su vez podremos ver el tiempo sin que el polímero se degrade a la temperatura de 37ºC (supuesta temperatura de aplicación del polímero).

3. Desarrollo del trabajo y resultados obtenidos.

- **Rampa de temperatura**

Si se comparan los tetrabloques y pentabloques en una rampa de temperatura a una concentraciónde 150 mg/ml en agua, se observa que los pentabloques poseen una temperatura de transición menor a la de los tetrabloques.

Realizando una gráfica con los valores de para una misma concentración de polímero ver como varía su comportamiento según su medio, obtenemos lo siguiente:

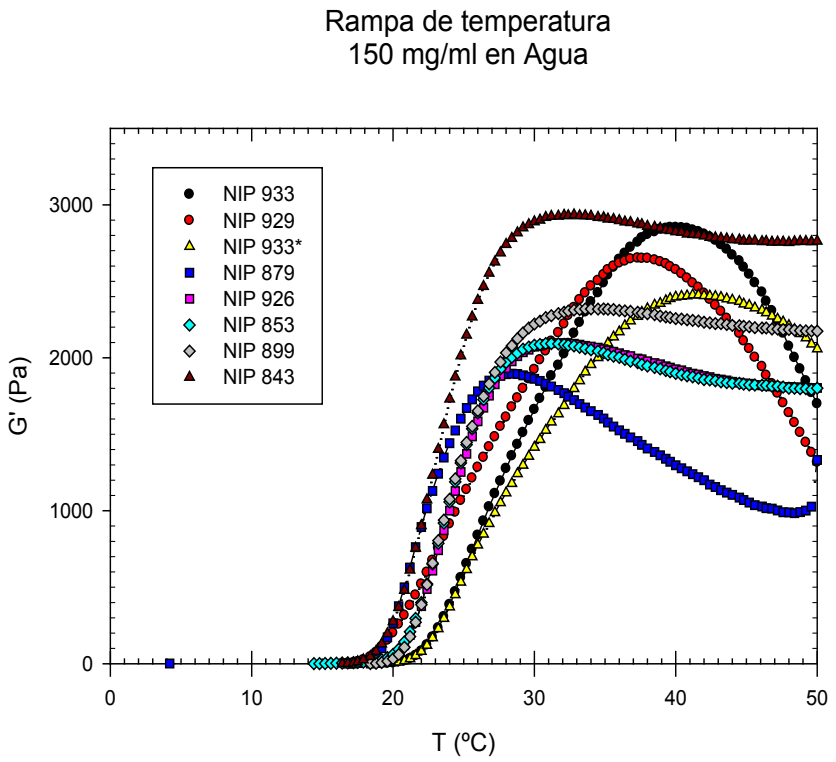


Gráfico 1: Rampa de Temperatura de 4ºC a 50ºC para muestras en agua a una concentración de 150 mg/ml

Si se separan las gráficas pertenecientes a los tetrabloques y a los pentabloques , podemos ver la diferencia existente entre ambos.

En el *gráfico 3*, se puede observar cómo los módulos en los tetrabloques una vez formado el gel son mayores que en los pentabloques, pero no se trata de una diferencia significativa. La temperatura de transición en los pentabloques es menor de forma

significativamente que en los tetrabloques, al igual que la temperatura a la que el gel se ha formado completamente. A su vez podemos observar cómo, la trasición en los pentabloques es más brusca que en los tetrabloques.

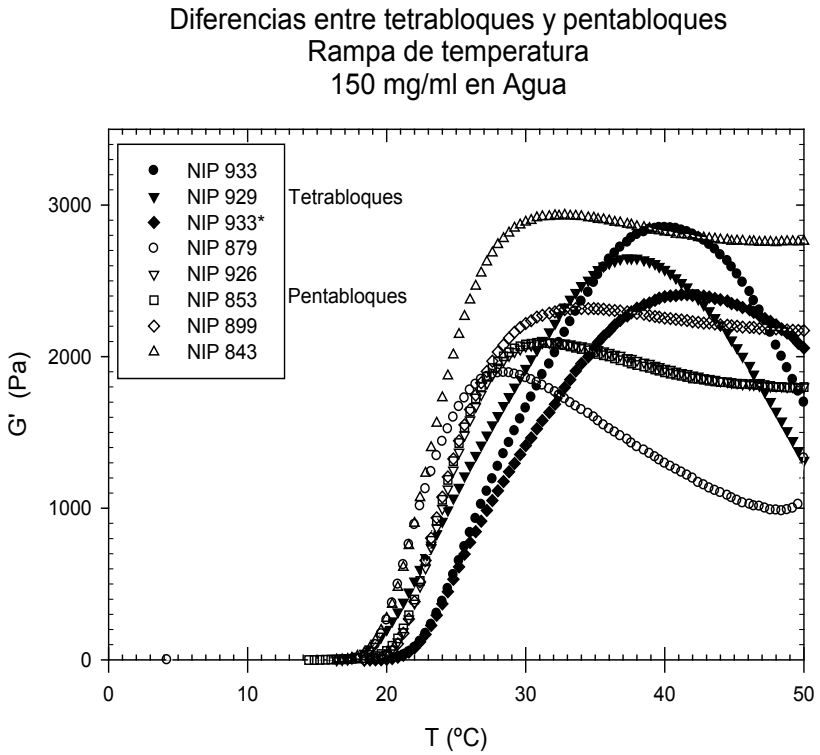


Gráfico 2: Diferencias entre tetrabloques y pentabloques en la rampa de temperatura a 150 mg/ml en agua

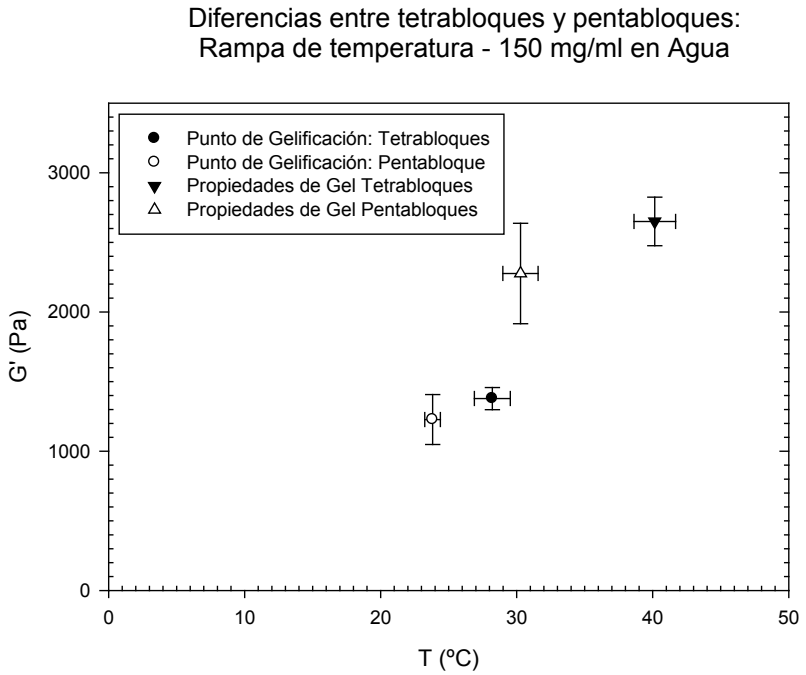


Gráfico 3: Diferencias entre las temperaturas y módulos en el momento de la gelificación y tras el proceso completo entre tetrabloques y pentabloques a una concentración de 150mg/ml en agua.

Si se comparan para distintas concentraciones de polímero se encuentra:

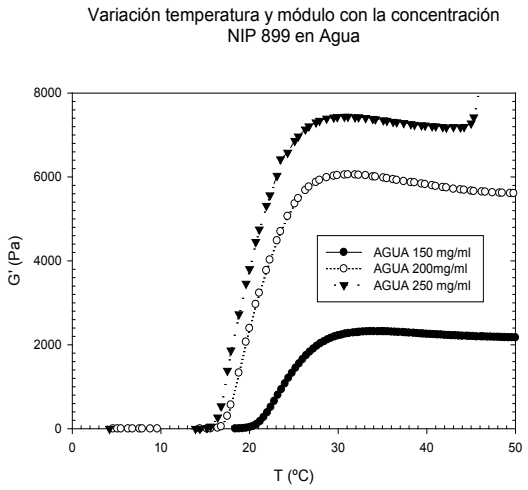


Gráfico 4: Variación de la temperatura y el módulo con la concentración del pentabloque 899 en agua

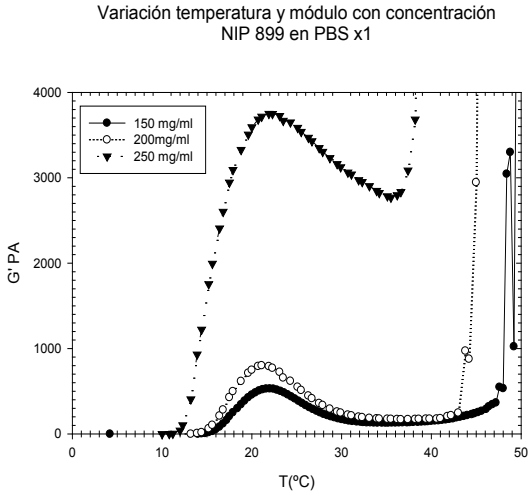


Gráfico 5: Variación de la temperatura y el módulo con la concentración del pentabloque 899 en PBS x1

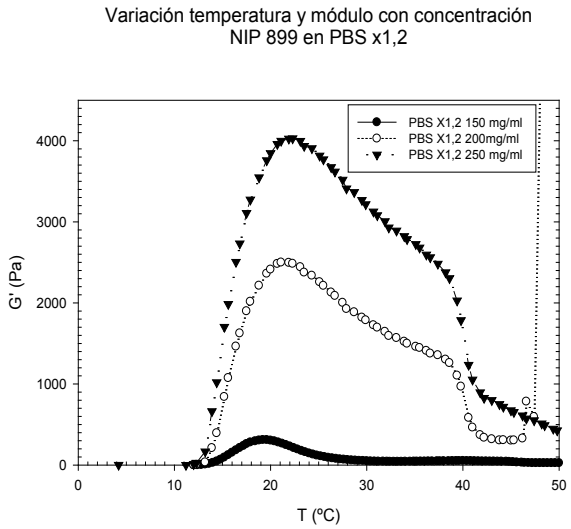


Gráfico 6: Variación de la temperatura y el módulo con la concentración del pentabloque 899 en PBS x1,2

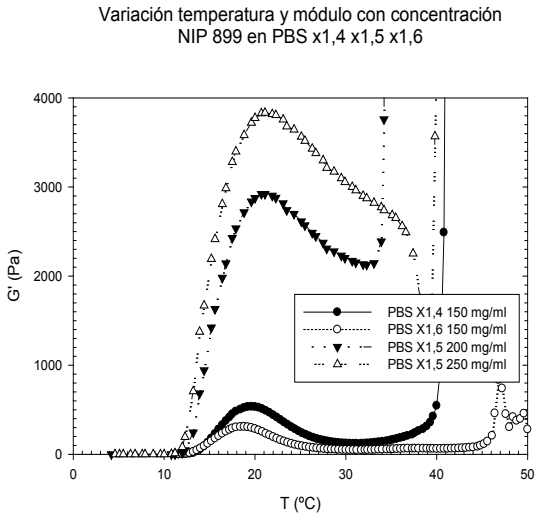


Gráfico 7: Variación de la temperatura y el módulo con la concentración del pentabloque 899 en PBS x1,4 x1,5 x1,6

Un aumento de concentración del polímero provoca un aumento del módulo G' así como una leve disminución de la temperatura de transición, en cualquier medio.

Para analizar los cambios producidos únicamente por el medio para una misma concentración, tenemos:

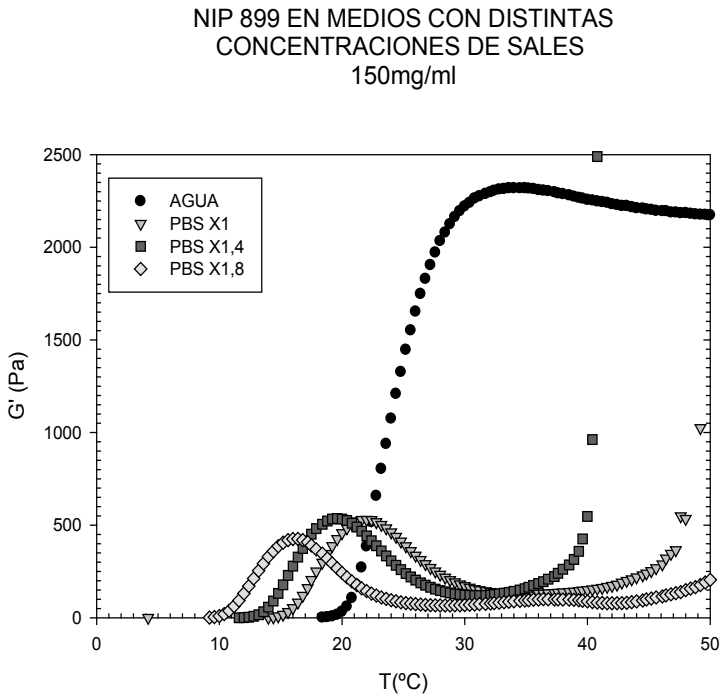


Gráfico 8: Variación de la temperatura y el módulo con la salinidad del pentabloque 899 a una concentración de 150 mg/ml

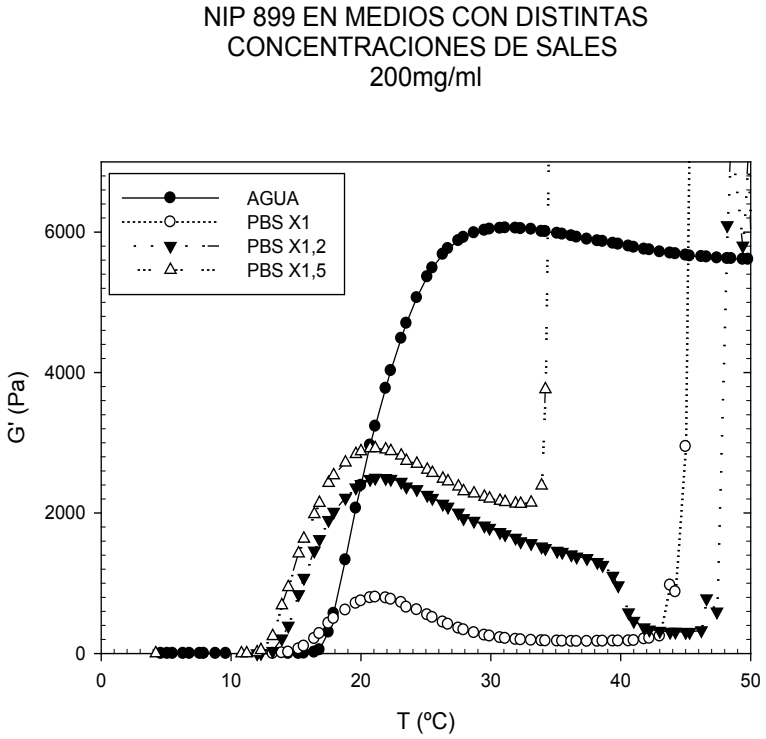


Gráfico 9: Variación de la temperatura y el módulo con la salinidad del pentabloque 899 a una concentración de 200 mg/ml

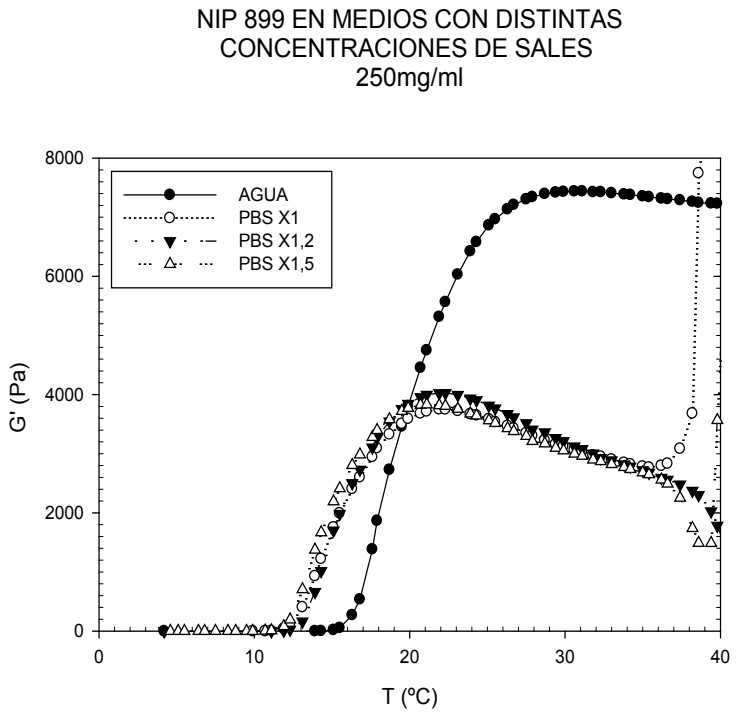


Gráfico 10: Variación de la temperatura y el módulo con la salinidad del pentabloque 899 a una concentración de 250 mg/ml

El aumento en la concentración de sales en el medio, provoca una disminución del módulo G' respecto al agua, aumentando la diferencia entra ambas, cuanto menor concentración de polímero se haya utilizado. La presencia de sales en el medio provoca una disminución en la temperatura de transición, siendo mayor esta disminución cuanto mayor presencia de sales tenemos.

Al aumentar la concentración de sales, además se produce un ligero aumento de módulo pero siempre lejos del valor al que toma en agua. Para concentraciones altas de polímero, el valor del módulo permanece más o menos invariante *(gráfica 10)*.

- **Rampa de tiempo**

Con las rampas de tiempo se observa la evolución en el tiempo del valor del módulo así como el tiempo de degradación de la muestra.

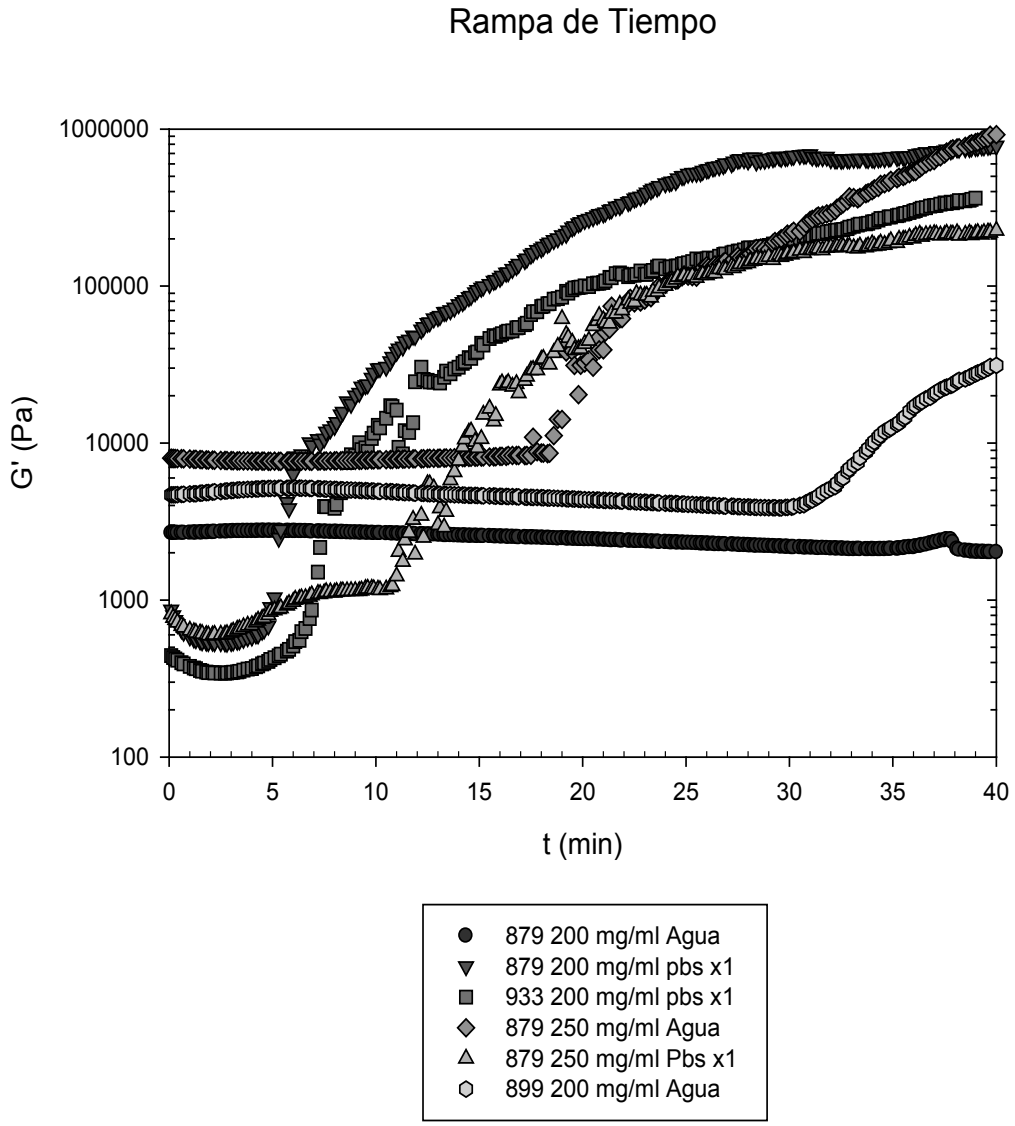


Gráfico 11: Rampa de tiempo para distintos polímeros, concentraciones y salinidades.

Los módulos van aumentando a medida que la muestra se va secando con el trascurso del tiempo, es decir, la pendiente que se observa en las rampas son fruto de la desecación de la muestra.

En las muestras dónde se ha utilizado PBS en vez de agua como disolvente, se observa una desecación de la misma, más temprana que si se utiliza el agua. Esta desecación a su vez se da de una forma menos brusca con el PBS que en el caso del agua.

Así mismo, cuanto mayor concentración de polímero tiene la muestra, se produce antes la desecación y de forma más acusada.

El orden de secado queda entonces de la forma:

1º	879	250	PBS x1
2º	879	200	PBS x1
3º	933	200	PBS x1
4º	879	250	AGUA
5º	899	200	AGUA
6º	879	200	AGUA

4. Conclusiones.

En este trabajo fin de master con carácter de investigación, se han estudiado las variaciones que mecánicas y la temperatura de gelificación de polímeros tetrabloques y pentabloques de tipo elastina con la concentración, la salinidad, temperatura y tiempo por medio de un análisis reológico.

Cuando se utilizan geles con tetrabloques se obtienen módulos mayores que los que contienen pentabloques a la misma concentración, pero no existe una diferencia significativa entre ambos. Así mismo, gelificarán a temperaturas más altas en tetrabloques que en pentabloques.

Si se aumenta la concentración de polímero, se aumentará también el valor del módulo y se obtendrá un gel a una temperatura menor debido a una disminución en su temperatura de gelificación.

Respecto a la hora de utilizar un medio salino o no tenemos que estar atentos a las diferencias que se nos presentan. El módulo obtenido en agua es mucho mayor que el que se puede obtener con cualquier medio en PBS. Además, con la utilización de PBS se produce una reducción de la temperatura de gelificación, mucho más significativa que la debida al aumento de concentración de polímero, y un ligero aumento de módulo respecto a concentraciones de PBS menores pero nunca llegando a alcanzar los módulos obtenidos en agua, llegándose a estabilizarse para concentraciones altas de polímero.

En lo que respecta a la durabilidad en el tiempo, los geles con mayor concentración de polímero se secan antes que los que poseen menos. También se ha observado que la utilización de un medio salino produce un secado más temprano y de forma más suave que en agua.

Una posible explicación a todos estos hechos podría residir en el efecto que se da en las partículas de gel cuando se utiliza PBS. Las partículas en PBS son de menor tamaño que las que se producen en geles con agua, dando lugar a un gel mucho menos duro. La reducción del tamaño de las partículas no se realiza a la vez en todas las existentes. Una mayor concentración de sales en el medio, produce un aumento en hidrofobicidad del gel para así evitar el contacto con el agua, produciéndose así una disminución en el tamaño de las partículas. Cuanta mayor concentración de sales exista en el medio, menor tamaño de partículas se tendrá, hasta que se llega a un punto límite dónde el tamaño de la partícula no puede ser reducido más, explicando así la estabilidad del valor del módulo con el aumento de la concentración salina cuando se ha aumentado la concentración de polímero.

Cómo se ha dicho antes, se trata de una posible explicación porque estos polímeros son todavía objeto de estudio para poder esclarecer de forma correcta lo observado en este trabajo.

Todas las propiedades aquí mostradas, en cuanto a valores de módulo y temperaturas de gelificación, hacen posible que este material pueda hacer utilizado para la ingeniería de tejidos y la dosificación controlada de fármacos.

5. Agradecimientos

A mi tutor, al profesor J. Carlos Rodriguez-Cabello del departamento de Fisica de la Materia Condensada de la Universidad de Valladolid por aceptarme para realizar este trabajo fin de máster bajo su dirección y confiar en mí para la correcta ejecución del mismo.

A todo el laboratorio Bioforge, por haberme ayudado tanto en todos los aspectos de este trabajo así como en dejarme usar sus instalaciones. Dentro de este laboratorio, quiero dar las gracias por toda su guía y paciencia a Israel González de Torre, que sin su ayuda no habría sido posible todo esto.

Y por último, a todos los profesores del máster, que me han aportado la base necesaria para poder entender y realizar de un modo adecuado este trabajo.

6. Bibliografía:

1. Barnes, H. A. ***Handbook of Elementary Rheology***.

2. Carlos Rodriguez-cabello, J., Reguera, J., Girotti, a, Alonso, M. & Testera, ***A Developing functionality in elastin-like polymers by increasing their molecular complexity: the power of the genetic engineering approach***. *Progress in Polymer Science* **30**, 1119–1145 (2005).

3. Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J. & Lemons, J. E. ***Biomaterials science***.

4. Faraday, M. ***Manual de Redacción científica***. at http://edicionesdigitales.info/Manual/Manual/Welcome.html

5. Febrero, A., Alberto, J. B. & Polit, C. ***Métodos de medidas reológicas Fluidos puramente Contenido.*** (2006).
at http://www.unizar.es/dctmf/jblasco/curso_reo/medidas_visco_puro.pdf

6. Girotti, A. *et al.* ***Obtención de un polímero de tipo Elastina modificado con secuencias Bioactivas y Biodegradables , para su aplicación en ingeniería***. **17**, 15–27 (2009).

7. Instruments, T. A. ***Understanding Rheology of Thermoplastic Polymers***.

8. Mallapragada, S. K., Clapp, A. R., Lamm, M. H. & Hostetter, J. M. ***Self-assembled pentablock copolymers for selective and sustained gene delivery.*** (2011).

9. Puig, J. ***Geles anfifílicos de poli (dodecil metacrilato) con entrecruzamientos físicos y químicos.***
at http://www.materiales-sam.org.ar/sitio/revista/3_2012/5_geles anfifilicos de poli dodecil metacrilato con entrecuzamientos.pdf

10. Qu, I. ***Propiedades y reología de alimentos***. 1–26

11. Rodríguez-cabello, J. C. ***Smart Elastin-like Polymers***. 1–14 (2004).

12. To, I., ***Application, T. H. E. & Rheology, O. F. P. Application of Rheology of Polymers***. 1–6

13. Valdez-Covarrubias, M. A. R. G. ***Microreología de polímeros asociativos multiuniones en solución acuosa***. **56**, 106–112 (2010).

14. Vallejo Vara, A. Hidrogeles, ***Los polímeros en medicina UVA***. at http://www.eis.uva.es/~macromol/curso05-06/medicina/hidrogeles.htm

15. ***Estructura Proteínas***.
at http://es.wikipedia.org/wiki/Estructura_de_las_proteínas

16. ***Fenómenos de hidratación***. at http://bacterio.uc3m.es/docencia/doctorado/sistemas_complejos/biofisica/biophys9.pdf

17. ***RGD***. at http://www.celldeath.de/encyclo/misc/rgd.htm

18. Grupo Bioforge. ***Development of advanced protein polymers that contain cellular adhesion sequences and other bioactivities***. 1–3 *Conocimiento y tecnología Transferible. Universidad de Valladolid*

19. JCR ***Topic Collections: HYDROGELS*** Editorial. 24–25

20. María Vallet Regí. Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. ***Biomateriales para sustitución y reparación de tejidos.***

21. Dr. Carlos A. Gracia Fernández ***Curso de Reología y Viscoelasticidad*** TA

22. Rodríguez-cabello, J. C; Girotti, A; Reguera, J; Arias, F.J; Alonso, M; Testera, A. M. ***Desing and bioproduction of a recombinantmulti(bio)functional elastin-like protein polimer containing cell adhesión sequences for tissue engineering purposes.***

23. RodrIguez-Cabello, J.C; Martín, Laura; Alonso, M; Arias, F.J; Testera, A. M ***Recombinamers as advanced materials for the post-oil age***

24. Pandit, N., et al. ***Effect of Salts on the Micellization, Clouding, and Solubilization Behavior of Pluronic F127 Solutions***