



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIEROS
INDUSTRIALES VALENCIA

TRABAJO FIN DE MÁSTER EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

CARACTERIZACIÓN DE SUPERFICIES POLIMÉRICAS DE POLIGLICEROL SEBACATO Y ESTUDIO DE SU INFLUENCIA EN EL COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO

AUTOR: FERNANDO ESPINOSA ASENSIO

TUTORES: DRA. ANA VALLÉS LLUCH, DR. JOSÉ CARLOS
RODRÍQUEZ

Tutor Experimental: RUBÉN MARTÍN CABEZUELO

Curso Académico: 2018-19

Índice

Agradecimientos	6
Resumen.....	7
Resum.....	8
Abstract	9
Glosario	10
Documento I: Memoria	
1. Introducción	12
1.1. El ser humano y su interacción con los biomateriales	12
1.2. Poliglicerol Sebacato: síntesis, degradación y biocompatibilidad	15
1.2.1. Estado del arte – aplicaciones y comercialización	17
1.3. Técnicas desarrolladas en este Trabajo de Fin de Máster	18
1.3.1. <i>Spin-coating</i> y microscopía de fuerza atómica.....	18
1.3.2. Ángulo de contacto	20
1.3.3. Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier	20
2. Objetivos	21
3. Materiales y métodos	22
3.1. Lavado inicial portamuestras	22
3.2. <i>Spin-coating</i>	23
3.2.1. Efecto de la concentración.....	23
3.2.2. Efecto de otras variables.....	23
3.3. Curado	25
3.4. Lavado post-curado.....	26
3.5. Ángulo de contacto y tensión superficial	27
3.6. Interacción proteína – material	28
4. Resultados y discusión	30
4.1. Estudio de rugosidad superficial y espesor	30
4.2. Ángulo de contacto, tensión superficial y polaridad.....	34
4.3. Adsorción de proteínas	43
4.3.1. Ensayo de cuantificación de proteína	43
4.3.2. Estudio espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier	44
5. Conclusiones.....	48
6. Estudios en paralelo y líneas futuras.....	49
7. Bibliografía	50
8. Anexo 1 – Medidas ángulo de contacto	52

Documento II: Presupuesto

1. ALCANCE Y DESARROLLO DEL PRESUPUESTO	74
1.1. Cuadro de precios de recursos por clase	75
1.2. Cuadro de mediciones y presupuesto.....	77
1.3. Cuadro de presupuesto resumido.....	84
1.4. Cuadro de resumen de capítulos	85

Índice de figuras

Figura 1. Prótesis de dedo encontrado en momia egipcia (izquierda), réplica de prótesis de pierna romana (derecha).(Finch, 2011)(London, no date).....	12
Figura 2. Sir Nicholas Harold Lloyd Ridley (1906-2001) (izquierda) y una de sus lentes intraoculares (derecha). (American Academy of Ophtalmology, no date).....	12
Figura 3. Ejemplos de administración controlada de fármacos (de izquierda a derecha): Inyectables: micro/nanoesferas; Implantables: núcleo sólido, láminas finas; Hidrogel. (Liechty et al., 2010; Yang and Pierstorff, 2012).....	13
Figura 4. Ejemplo de scaffold de Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) visto al microscopio electrónico de barrido. (Akbarzadeh, James and Yousefi, 2015).....	14
Figura 5. Prótesis de tráquea con recubrimiento de copolímero azulado. Se observa cómo desaparece de la vista el copolímero azul. En el día 180 hay presencia de vascularización señalado por las flechas. (Sato et al., 2010).....	14
Figura 6. Fases de síntesis: 1- monómeros; 2- prepolímero, 3- polímero entrecruzado. (Wang et al., 2016).....	16
Figura 7. Ensayos de caracterización del Módulo de Young a 50mm/min. (Mitsak, Dunn and Hollister, 2012).....	16
Figura 8. Ensayos de caracterización de la deformación máxima soportada a 50mm/min. (Mitsak, Dunn and Hollister, 2012)	17
Figura 9. Ejemplo de imagen de nanotubos de carbono y partículas de hierro, obtenida en un microscopio de fuerza atómica.....	19
Figura 10. Imagen óptica (izquierda) e imagen de microscopio electrónico de barrido (SEM) (derecha) de un cantiléver de modo de imagen por repiqueteo. (Tapping mode MyScope, no date)	19
Figura 11. Portamuestras y equipo de lavado por ultrasonidos VWR USC600TH.	22
Figura 12. Equipo de spin-coating: WS-650MZ-23NPPB, Laurell Technologies.....	23
Figura 13. Ejemplo de portamuestras marcados.	25
Figura 14. Estufa empleada para el curado de las muestras, JP Selecta 2005161.....	25
Figura 15. Malla de nylon sobre placa Petri para lavado de portamuestras.	26
Figura 16. Equipo medidor de ángulo de contacto Dataphysics OCA25.....	27
Figura 17. Equipo de espectroscopía FTIR Bruker Alpha.	28
Figura 18. Vista al microscopio óptico x10 aumentos, de la irregularidad superficial en forma de gotas, generada por un exceso de pre-PGS sobre el portamuestras.....	31

Figura 19. Vista al microscopio óptico x10 de la superficie del portamuestras recubierto de pre-PGS, mayoritariamente homogénea y regular.....	31
Figura 20. Gráfico de caja y bigotes comparativo de espesores para dos muestras de PGS frente a un portamuestras sin polímero.....	32
Figura 21. Imágenes de AFM de superficie de PGS curado a 130°C sin lavado post-curado, para un área de 5x5 μm (izquierda) y acercamiento a un área de 1x1 μm (derecha). Rango de la leyenda: 0-15nm.....	33
Figura 22. Imágenes de AFM de superficie de PGS curado a 130°C y lavado con un 10% de etanol en agua miliQ, para un área de 5x5 μm (izquierda) y acercamiento a un área de 1x1 μm (derecha). Rango de la leyenda: 0-5nm.....	33
Figura 23. Imágenes de AFM de superficie de PGS curado a 150°C sin lavado post-curado, para un área de 5x5 μm (izquierda) y acercamiento a un área de 1x1 μm (derecha). Rango de la leyenda: 0-5nm.....	34
Figura 24. Medidas, n=10 repeticiones, de ángulo de contacto a lo largo del tiempo para una combinación de fluidos: agua, diyodometano, dietilenglicol, glicerol y formamida; con distintos materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C.....	37
Figura 25. Gráficos de caja y bigotes junto con la mediana para cada combinación de fluido y material.....	39
Figura 26. Rectas de OWRK aproximadas por interpolación para portamuestras vacíos, PGS 130, PGS 150 y PGS 170.....	42
Figura 27. Comparación gráfica de la polaridad del portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C Y PGS 170°C.....	43
Figura 28. Medidas de absorbancia ajustados a la recta, ecuación incluida, obtenida de la regresión lineal de la absorbancia de las disoluciones preparadas para el ensayo de cuantificación de proteína.....	44
Figura 29. Espectroscopía FTIR para la combinación de los materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C; antes y después de la exposición a colágeno en superficie durante 10 minutos.....	45
Figura 30. Acotación del espectro FTIR en el rango desde 3800 a 3000 cm^{-1} para los siguientes materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C; antes y después de la exposición a colágeno en superficie durante 10 minutos.....	46
Figura 31. Acotación del espectro FTIR en el rango desde 1600 a 1700 cm^{-1} para los siguientes materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C; antes y después de la exposición a colágeno en superficie durante 10 minutos.....	47

Índice de tablas

Tabla 1. Resumen con los valores óptimos para cada variable.....	24
Tabla 2. Detalles comerciales de los fluidos utilizados.	27
Tabla 3. Concentración de las disoluciones para el ensayo μ BCA.	28
Tabla 4. Parámetros de ensayo de espectroscopía FTIR.....	29
Tabla 5. Medida de espesores para dos muestras de PGS frente a un portamuestras sin polímero.	31
Tabla 6. Ángulo medido a los 60s para el glicerol.	39
Tabla 7. Ángulo medido a los 60s para el agua.	40
Tabla 8. Ángulo medido a los 60s para el diyodometano.	40
Tabla 9. Ángulo medido a los 60s para el dietilenglicol.	41
Tabla 10. Ángulo medido a los 60s para la formamida.....	41
Tabla 11. Componentes dispersiva y polar de los fluidos ensayados y el cálculo de la abscisa de OWRK en base a estos datos.....	41
Tabla 12. Valores de la ordenada de OWRK para cada combinación de fluido y material.....	42
Tabla 13. Componentes polar y dispersiva del sólido, tensión superficial y polaridad para el portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C Y PGS 170°C.	43
Tabla 14. Medidas de absorbancia para la recta patrón del ensayo de cuantificación de proteína.	43
Tabla 15. Medida de concentración obtenida despejando la ecuación 6 para la combinación de materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C y proteínas: fibronectina y colágeno.	44

Agradecimientos

Gracias a mi familia, por proporcionarme los recursos y cubrir las necesidades que han hecho posible que llegue hasta aquí.

A mis amigos, por proporcionarme el ánimo y la energía necesaria para superar cualquier dificultad.

A mis tutores y miembros del Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto, además de enseñarme los conocimientos y prácticas propios de un laboratorio.

Y en definitiva a todos aquellos que en este largo camino han tenido un mayor o menor impacto sobre mí y han esculpido la persona que soy en la actualidad.

Resumen

El poliglicerol sebacato (PGS) es un biomaterial polimérico sintético, elastomérico y biocompatible. El proceso de síntesis transcurre en dos etapas, obteniendo en primer lugar un prepolímero, tras la que sucede una segunda fase de curado, en la que se determinan las características finales específicas del material dependiendo de la temperatura y duración de este proceso; en especial las características superficiales, teniendo un gran impacto en su comportamiento en medio biológico. A día de hoy no se han llevado a cabo los estudios de evaluación de la tensión superficial, polaridad y cuantificación de proteína, teniendo como variable la temperatura de curado del PGS. Esta temperatura regula principalmente el grado de entrecruzamiento de la red polimérica sintetizada.

Para evaluar únicamente el papel de las funcionalidades químicas y su distribución en las superficies de estos materiales sobre los procesos de adsorción de proteínas, es necesario obtener muestras con rugosidades superficiales muy bajas (del orden de nanómetros). Para ello, en primer lugar se establece el proceso de fabricación de las muestras mediante la técnica de recubrimiento por centrifugación, *spin-coating*, partiendo del prepolímero en disolución y variando los parámetros del equipo, obteniendo un protocolo para la deposición de superficies, curado, lavado y secado de las muestras.

Los films así obtenidos son caracterizados aplicando técnicas fisicoquímicas (medida de tensión superficial y polaridad en base al ángulo de contacto y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier). Análisis *in vitro* en medios acelulares, mediante técnicas de cuantificación de proteínas de la matriz extracelular adsorbidas en los films (principalmente fibronectina y colágeno tipo I), junto con análisis de imagen. Los resultados obtenidos permitirán comprender el comportamiento biológico de estructuras de PGS con distinto tratamiento de curado, cada vez más propuestas en el campo de la Ingeniería Biomédica (en medicina regenerativa, como soportes de cultivo celular, etc). Por otro lado, las potenciales aplicaciones de superficies finas de PGS abarcan distintos campos como recubrimientos antimicrobianos, recubrimientos antiadhesivos, regeneración de tejidos, etc.

Resum

El poliglicerol sebacato (PGS) és un biomaterial polimèric sintètic, elastomèric i biocompatible. El procés de síntesi transcorre en dues etapes, obtenint en primer lloc un prepolímer, després de la qual succeeix una segona fase de curat, en la qual es determinen les característiques finals específiques del material depenent de la temperatura i duració d'aquest procés; especialment les característiques superficials, tenint un gran impacte en el seu comportament al medi biològic. Hui dia no s'han dut a terme els estudis d'avaluació de la tensió superficial, polaritat i quantificació de proteïna, tenint com a variable la temperatura de curat del PGS. Aquesta temperatura regula principalment el grau d'entrecruament de la xarxa polimèrica sintetitzada.

Per a avaluar únicament el paper de les funcionalitats químiques i la seua distribució en les superfícies d'aquests materials sobre els processos d'adsorció de proteïnes, és necessari obtenir mostres amb rugositats superficials molt baixes (de l'ordre de nanòmetres). Per a això, en primer lloc s'estableix el procés de fabricació de les mostres mitjançant la tècnica de recobriment per centrifugació, *spin-coating*, partint del prepolímer en dissolució i variant els paràmetres de l'equip, obtenint un protocol per a la deposició de superfícies, curat, neteja i assecat de les mostres.

Els films així obtinguts són caracteritzats aplicant tècniques fisicoquímiques (mesura de tensió superficial i polaritat basant-se en la mesura de l'angle de contacte i espectroscopia infraroja per transformada de Fourier). Anàlisi in vitro en mitjans acel·lulars, mitjançant tècniques de quantificació de proteïnes de la matriu extracel·lular adsorbides en els films (fibronectina i col·lagen tipus I), juntament amb anàlisi d'imatge. Els resultats obtinguts permetran comprendre el comportament biològic d'estructures de PGS amb diferent tractament de curat, cada vegada més proposades en el camp de l'Enginyeria Biomèdica (en medicina regenerativa, com a suports de cultiu cel·lular, etc). D'altra banda, les potencials aplicacions de superfícies fines de PGS abasten diferents camps com a recobriments antimicrobians, recobriments antiadhesius, regeneració de teixits, etc.

Abstract

Polyglycerol sebacate (PGS) is a synthetic, elastomeric and biocompatible polymeric biomaterial. The synthesis process takes place in two stages, obtaining in the first place a prepolymer, after which a second stage of curing takes place, in which the specific final characteristics of the material are determined depending on the temperature and duration of this process; especially the superficial characteristics, having a great impact on their behaviour in biological environment. To date, the evaluation studies of surface tension, polarity and protein quantification have not been carried out, having as a variable the curing temperature of the PGS. This temperature mainly regulates the degree of crosslinking of the polymer network.

To evaluate only the role of chemical functionalities and their distribution on the surfaces of these materials on the processes of protein adsorption, it is necessary to obtain samples with very low surface roughness (order of nanometres). For this, first of all, the manufacturing process of the samples is established by spin-coating, starting from the prepolymer in solution and varying the parameters of the equipment, obtaining a protocol for the deposition of surfaces, curing, cleaning and drying the samples.

The films obtained are characterized by applying physicochemical techniques (measurement of surface tension and polarity based on the contact angle and Fourier transformed infrared spectroscopy). In vitro analysis in acellular environment, using quantification techniques of extracellular matrix proteins adsorbed in the films (mainly fibronectin and collagen type I), together with image analysis. The results obtained will make it possible to understand the biological behaviour of PGS structures with different curing treatments, growing proposals in the field of Biomedical Engineering (in regenerative medicine, as cell culture supports, etc.). On the other hand, the potential applications of fine surfaces of PGS cover different fields such as antimicrobial coatings, anti-adhesive coatings, tissue regeneration, etc.

Glosario

AFM: Microscopia de fuerza atómica (*atomic force microscopy*)

ECM: Matriz extracelular (*Extracellular matrix*)

FTIR: Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier (*Fourier Transformed Infrared spectroscopy*)

PBS-DLA: poli(butileno succinato - butileno dilinoleato)

PGS: poliglicerol sebacato (*polyglycerol sebacate*)

pPGS: prepolímero de PGS

PLA: ácido poliláctico (*polylactid acid*)

PLC: policaprolactona

PMMA: poli(metil metacrilato) (*poly(methyl methacrylate)*)

RAE: Real Academia de la Lengua Española

TFM: Trabajo Fin de Máster

DOCUMENTO I: MEMORIA

1. Introducción

1.1. El ser humano y su interacción con los biomateriales

Según la Real Academia Española (RAE) un biomaterial es un “*material tolerado por el organismo, utilizado para prótesis y otros fines*” (Real Academia Española. *Biomaterial*). A lo largo de la historia se han utilizado los biomateriales con el fin de solucionar problemas relacionados con la salud, aumentando su complejidad con el tiempo. La primera prótesis data de antes del año 600a.C. siendo esta una prótesis de dedo, figura 1, realizada usando biomateriales como el cuero y la madera. Esta prótesis funcional se encontró aún integrada a los restos momificados donde fue hallada. Anteriormente se había descubierto en Capua, Italia, los restos de una prótesis de pierna, figura 1, fabricada en cobre y madera datada en torno al 300a.C.(Nerlich *et al.*, 2000)



Figura 1. Prótesis de dedo encontrado en momia egipcia (izquierda), réplica de prótesis de pierna romana (derecha).(Finch, 2011)(London, no date)

Sin embargo, no es hasta después de la segunda guerra mundial que se plantean las aplicaciones de los polímeros como biomateriales. Los polímeros son macromoléculas resultado de la unión de varias unidades más simples, moléculas, mediante enlaces covalentes. El primer biopolímero, polímero tolerado por el organismo, en ser usado con aplicación médica es el polimetilmetacrilato (PMMA), como lente intraocular en 1949, implantado por Harold Ridley como se muestra en la Figura 2. (Apple and Sims, 1996)

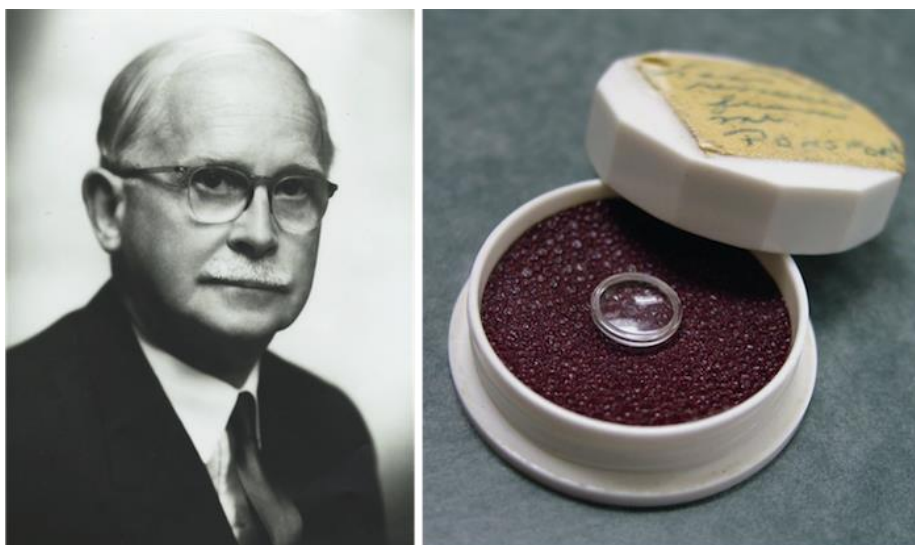


Figura 2. Sir Nicholas Harold Lloyd Ridley (1906-2001) (izquierda) y una de sus lentes intraoculares (derecha). (American Academy of Ophthalmology, no date)

En estos ejemplos la característica de interés de los biomateriales es que son tolerados por el cuerpo humano. Sin embargo, en este Trabajo de Fin de Máster (TFM) se pretende ir más allá y caracterizar algunas propiedades, lo que ayuda a comprender por qué se comporta de tal manera. Se profundiza más acerca del poliglicerol sebacato (PGS) en el siguiente apartado.

En general los biomateriales poliméricos o biopolímeros, ofrecen muchas posibilidades de composición y por consiguiente una gran variedad de propiedades dependiendo de su diseño. Se puede encontrar polímeros naturales o bien sintéticos, en caso de querer obtener una composición específica no disponible en la naturaleza. Estos biomateriales pueden ser bioestables si permanecen a lo largo del tiempo inalterables o pueden ser biodegradables, esto es, se degradan a lo largo del tiempo en contacto con los seres vivos, y por tanto su presencia es temporal. La ingeniería tisular es la disciplina que entra en juego en el diseño y control de estas y otras propiedades dependiendo de la aplicación y función final. (García, 2001)

Los campos de aplicación de los biomateriales en medicina son tales como los medios de distribución de medicamentos de forma controlada, tejidos o estructuras de soporte de tejido (*scaffolds*), aplicaciones en el campo de los implantes quirúrgicos como recubrimientos de estos para favorecer o dificultar la interacción con células, disminuir el riesgo de infecciones, etc. Todo ello con el objetivo de reducir complicaciones a la vez que se disminuye el tiempo de recuperación; entre otros. (Park and Lakes, 1992; Agrawal and Ray, 2001; Liu and Ma, 2004; HARRISON, 2007; Liechty et al., 2010; Roy et al., 2016)

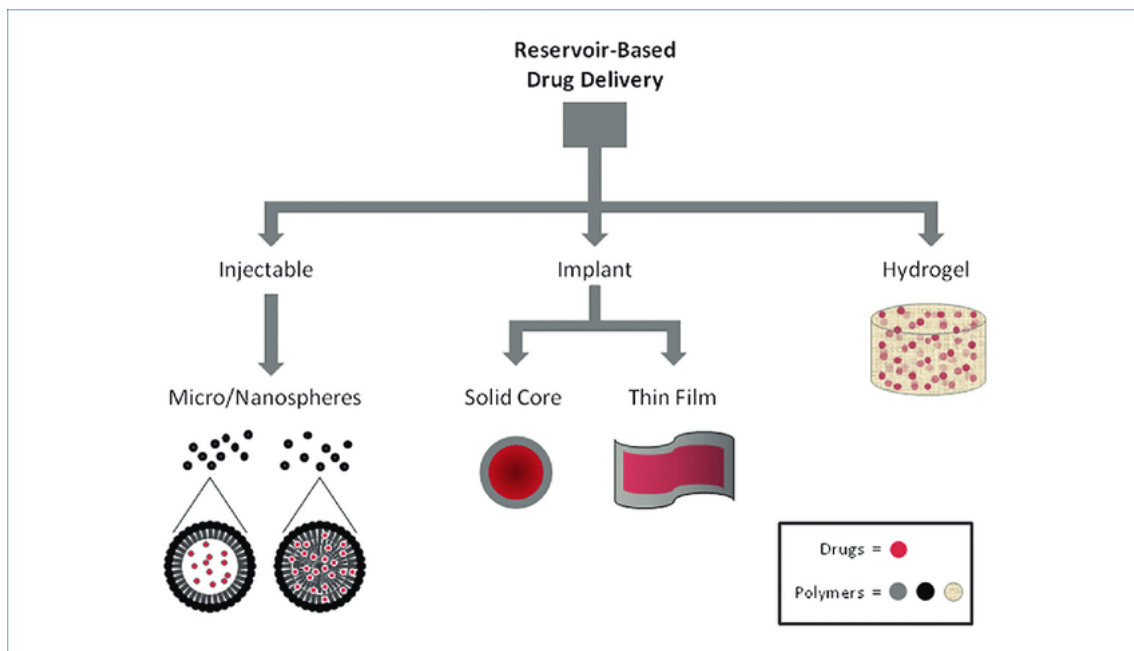


Figura 3. Ejemplos de administración controlada de fármacos (de izquierda a derecha): Inyectables: micro/nanoesferas; Implantables: núcleo sólido, láminas finas; Hidrogel. (Liechty et al., 2010; Yang and Pierstorff, 2012)

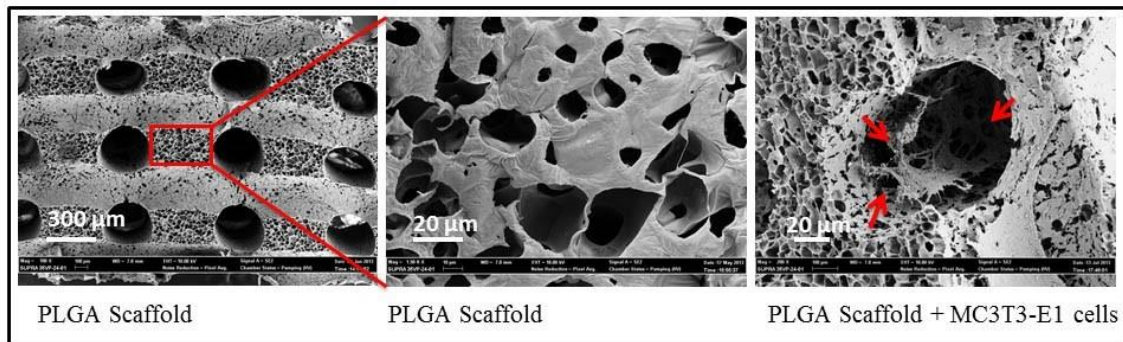


Figura 4. Ejemplo de scaffold de Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) visto al microscopio electrónico de barrido. (Akbarzadeh, James and Yousefi, 2015)

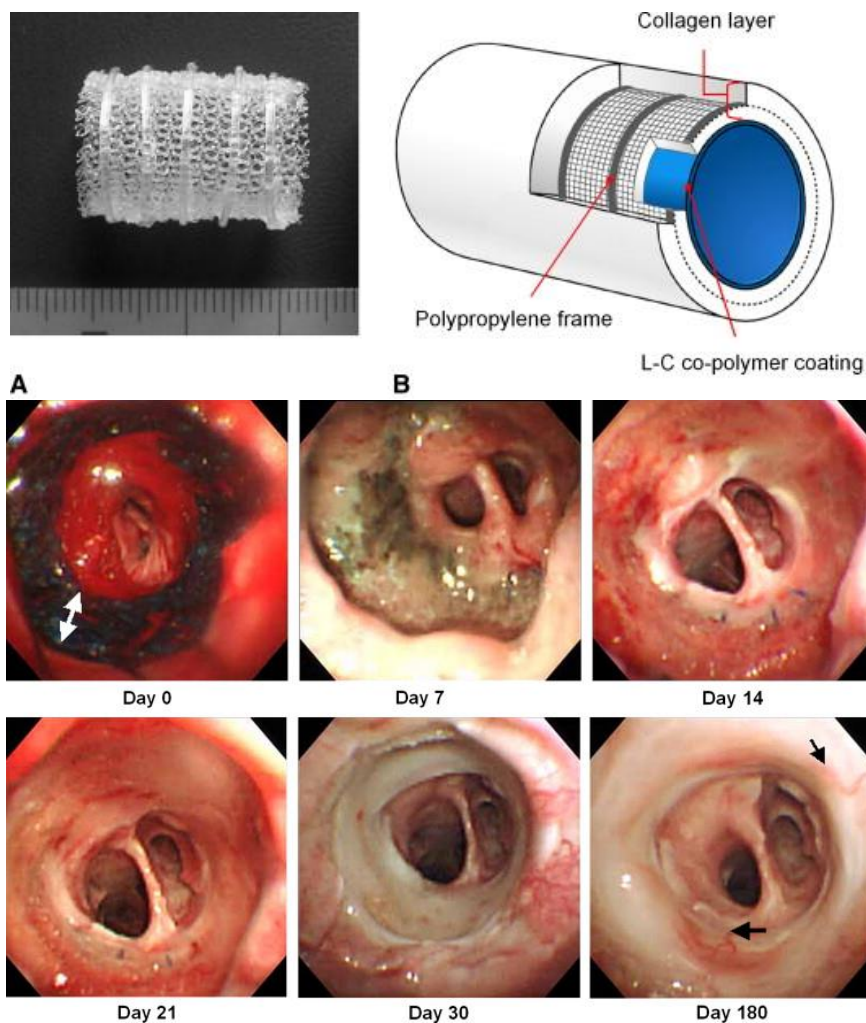


Figura 5. Prótesis de tráquea con recubrimiento de copolímero azulado. Se observa cómo desaparece de la vista el copolímero azul. En el día 180 hay presencia de vascularización señalado por las flechas. (Sato et al., 2010)

El campo de los biomateriales y la ingeniería tisular es un sector en crecimiento por su relativamente novedosa aproximación a los problemas que presenta la salud del ser humano. Con cada vez más población y mayor esperanza de vida, los retos que aparecen son de mayor complejidad, siendo ineficiente tratar de solucionar dichos problemas mediante la eliminación de las estructuras dañadas. Este nuevo enfoque se centra en la reparación de estas o bien su sustitución conservando en la medida de lo posible o incluso mejorando su función. Se relaciona pues con otros campos como son la medicina regenerativa y la terapia celular. (Bandyopadhyay and Bose, 2013)

Algunos de los polímeros sintéticos y biodegradables son por ejemplo el ácido poliláctico (PLA) por su elevado módulo elástico, la policaprolactona por presentar una resistencia similar al polietileno de baja densidad pero con la ventaja de presentar una alta permeabilidad al agua, oxígeno y CO₂. (Zapata, Pujol and Coda, 2012)

1.2. Poliglicerol Sebacato: definición, síntesis, degradación y biocompatibilidad

El PGS es un biomaterial polimérico, un poliéster, ensamblado a partir del glicerol y el ácido sebácico que presenta buenas propiedades mecánicas en cuanto a resistencia y módulo elástico se refiere. El origen del PGS se inspiraba en las propiedades de la matriz extracelular: una red proteica blanda, resistente, elastomérica y biodegradable, con el objetivo de que se minimizasen las tensiones e irritaciones mecánicas allá donde sea aplicado. El biopolímero en su planteamiento debía ser capaz de aguantar grandes deformaciones, es decir tener un límite elástico elevado; se supone un análogo a la goma vulcanizada en cuanto a que forma una red tridimensional entrecruzada de ramificaciones aleatorias de monómero polimerizado. La matriz extracelular (ECM) lo logra de forma natural entrecruzando colágeno y elastina, principales proteínas fibrosas de esta. Por otro lado, las interacciones de los grupos hidroxilos de la hidroxiprolina mediante puentes de hidrógeno aportan un incremento en la estabilidad mecánica a la red.

Los autores (Wang *et al.*, 2002) que describieron por primera vez la síntesis del PGS seleccionaron el glicerol y el ácido sebácico porque cumplían con una serie de requisitos: el mecanismo de degradación del polímero resultante, PGS, era por hidrólisis ya que presentaba enlaces hidrolizables entre ambas moléculas y en los entrecruzamientos, para minimizar el efecto de la degradación enzimática y así presentar una degradación en bloque. Esto resultaba en una pérdida de las propiedades mecánicas de forma progresiva en vez de abrupta. Por otro lado presentaba un bajo nivel de entrecruzamiento para no tener una rigidez excesiva. Finalmente una de las unidades era éster (ácido sebácico), ya que facilitaba su síntesis y presentaba enlace hidrolizable, una de ellas era trifuncional (glicerol), para permitir los entrecruzamientos y ninguna de ellas era tóxica. Otra ventaja era que ambos estaban aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para su uso y comercialización.

Esta estructura cumplía con sus dos hipótesis iniciales: en primer lugar, la estabilidad mecánica se obtendría mediante entrecruzamientos con enlaces covalentes y puentes de hidrógeno. La segunda hipótesis era que la elasticidad se obtendría con una disposición tridimensional de una red de copolímeros en la que uno de ellos debía ser trifuncional.

La síntesis del PGS descrita por (Wang *et al.*, 2002) transcurre en dos etapas, la primera fase consiste en la reacción del glicerol y el ácido sebácico mediante policondensación para crear una resina de prepolímero. Se describe originalmente esta primera fase en primer lugar manteniendo los compuestos en conjunto a una temperatura de 120°C, en atmósfera de nitrógeno, hasta que se forma una mezcla homogénea. Una vez logrado esto, se calienta durante otras 24 horas. Pasado este tiempo se coloca el reactor en vacío entre 40mTorr y 10Torr durante otras 24-48 horas dependiendo del grado de polimerización deseado. Tras este paso ya se dispone del prepolímero.

La segunda fase es el curado del prepolímero, la cual da lugar a los entrecruzamientos de la estructura que le otorga las propiedades mecánicas comentadas en los criterios de diseño. Este curado se realiza durante 24-96 horas. A mayor temperatura, mayor será la cinética de la reacción, esto es, mayor será el grado de entrecruzamiento. Con el mismo resultado, a mayor tiempo de curado, mayor será el grado de entrecruzamiento. Recordemos que el grado de entrecruzamiento está directamente relacionado con la estabilidad mecánica: mayor módulo elástico.

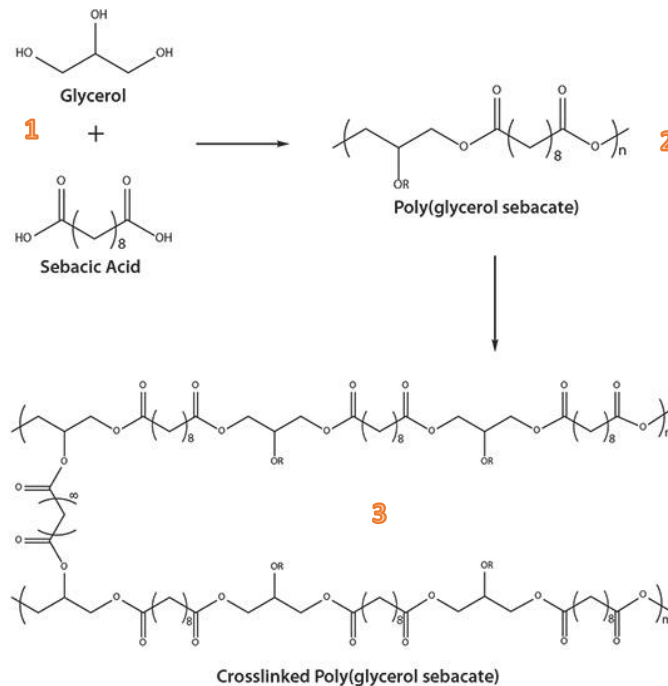


Figura 6. Fases de síntesis: 1- monómeros; 2- prepolímero, 3- polímero entrecruzado. (Wang et al., 2016)

En cuanto a las propiedades mecánicas del PGS, como se ve en las figuras 7 y 8, se ha observado que el módulo de Young se encuentra en el rango de 0.05 a 2.5MPa, solapando los rangos tanto de músculo (0.01-0.5MPa) como de la piel (0.7-16MPa) como de la matriz extracelular (0.1-11.1MPa). Recordemos que es importante que el biomaterial tenga unas características similares a la del tejido en el que se integra o al cuál sustituye para mantener intacta su función. Para aplicaciones que necesiten de un módulo elástico mayor, se combina el PGS con otros compuestos que aumentan la rigidez del polímero más allá de lo que el curado puede lograr, un ejemplo de esto es el PGS dopado con hidroxapatita (HA). (Teruel, Kuthirummal and Levi, 2011; Li et al., 2013; Halil Murat and Atakan, 2017)

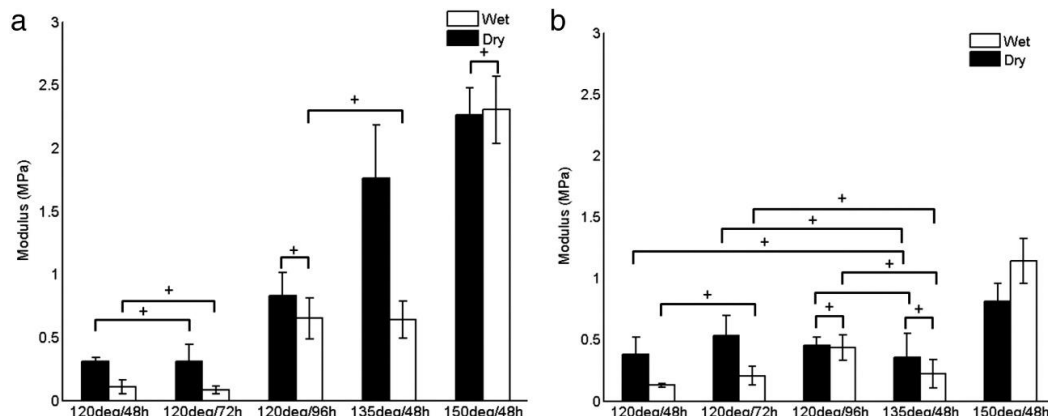


Figura 7. Ensayos de caracterización del Módulo de Young a 50mm/min. (Mitsak, Dunn and Hollister, 2012)

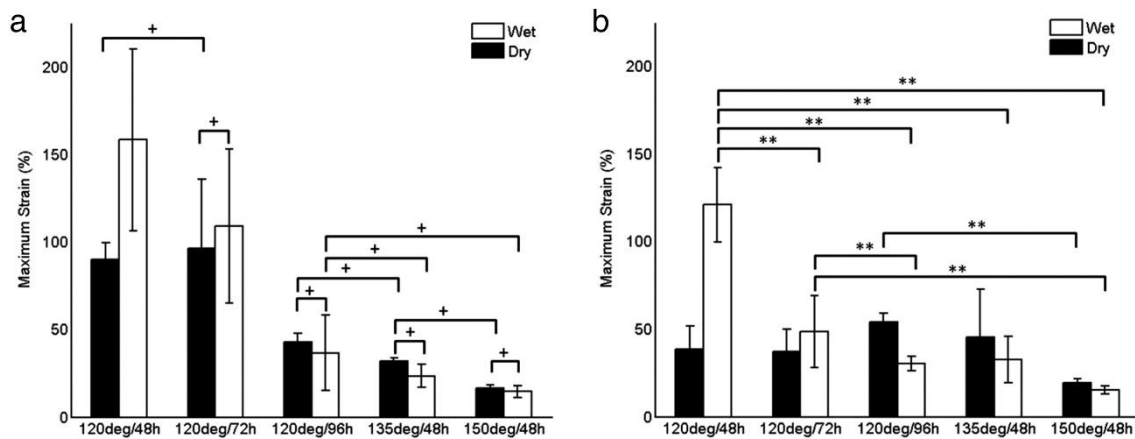


Figura 8. Ensayos de caracterización de la deformación máxima soportada a 50mm/min. (Mitsak, Dunn and Hollister, 2012)

En cuanto a la degradación, se produce, deseado por criterio de diseño, por hidrólisis, tanto los enlaces de las cadenas largas que dan lugar a la formación del prepolímero, como los enlaces que generan los entrecruzamientos, indistintamente a un ritmo similar. El mecanismo de erosión es superficial a diferencia de otros polímeros que se degradan en bloque. La degradación superficial permite la pérdida progresiva y controlada de las propiedades mecánicas, a diferencia de la pérdida brusca de resistencia que supone la degradación en bloque. Cabe destacar que no existe una buena correlación de los resultados obtenidos en ensayos *in vitro* frente a los ensayos *in vivo*, observándose unas cinéticas de degradación, por ejemplo, del 30% de pérdida de masa a los 30 días frente al 70% respectivamente. Recordemos que pese a esta situación se pueden regular las propiedades mecánicas en función del proceso de síntesis. (Wang, Kim and Langer, 2003; Wang *et al.*, 2016)

1.2.1. Estado del arte – aplicaciones y comercialización

En la actualidad el PGS tiene multitud de aplicaciones en el campo de la ingeniería tisular como por ejemplo su uso en relación con el tejido cardíaco, óseo, cartilaginoso, nervioso, tejidos blandos, retina, etc. Si buscamos aplicaciones de PGS modificado encontramos combinaciones con cristales bioactivos para aplicaciones en tejidos óseos, con el mismo fin se trabaja con fosfato tricálcico, a parte de la hidroxiapatita ya comentado en el párrafo anterior. Para aplicaciones de sutura de tejidos encontramos el PGS asociado con acrilato y ácido poliláctico (PLA). Otro uso relacionado con el tejido cardíaco es en combinación con policaprolactona (PLC) o poli(butileno succinato-butylene dilinoleato) (PBS:DLA). Para tejido de córnea se combina con ϵ -policaprolactona (ϵ -PCL). Estos son solo algunos ejemplos. (Halil Murat and Atakan, 2017)

Siendo un compuesto aprobado por la FDA, pese al poco tiempo que ha pasado desde su descripción en 2002, ya se encuentra en el mercado alguna propuesta que ofrece este polímero en forma de resina biorreabsorbible. Se trata del producto Regenez®. Este anuncia una respuesta inflamatoria mínima por parte del cuerpo humano, además destaca su comportamiento antimicrobiano sin necesidad de incorporar antibióticos. Por último, muestra la capacidad de controlar la cinética de degradación y las propiedades elastoméricas. (Secant Group, no date)

1.3. Técnicas desarrolladas en este Trabajo de Fin de Máster

1.3.1. *Spin-coating* y microscopía de fuerza atómica

Dada la naturaleza de este trabajo, la caracterización de superficies poliméricas en este caso PGS, un requisito del proyecto fue la obtención de dichas superficies que cumplieren una serie de condiciones, la más importante de ellas fue que no presentase ningún tipo de topografía, ya que esto influiría en los resultados sin ser una variable de interés para el proyecto. Para lograr una superficie homogénea se decidió emplear la técnica de recubrimiento por centrifugación, *spin-coating* en adelante.

El *spin-coater* es un dispositivo el cual consta de una plataforma que rota a altas velocidades y sobre la cual se fija un portamuestras por succión. Esta técnica se fundamenta en la difusión y la evaporación de los componentes de una disolución dada, en nuestro caso la disolución de prepolímero de PGS. Recordemos que estamos en la primera etapa de obtención del material. El objetivo último es depositar de forma homogénea el soluto sobre el portamuestras. Para controlar esto se debe llevar a cabo un equilibrio entre la disolución que sale despedida por efecto de la fuerza centrífuga y la evaporación del disolvente. (Bornside, Macosko and Scriven, 1985; Hall, Underhill and Torkelson, 1998)

Esta aproximación de creación de capas finas y homogéneas de PGS no se ha llevado a cabo anteriormente por la comunidad científica. Por tanto, se partió de la base del comportamiento de otras disoluciones poliméricas y de la experiencia de los compañeros de laboratorio. Ante esta situación surge la necesidad de experimentar con todas las variables disponibles como son la concentración de la disolución, la velocidad angular, la aceleración angular, los tiempos de espera y de ejecución, etc. En el apartado de materiales y métodos se hace un análisis en profundidad de la influencia de cada una de las variables sobre la superficie.

Para comprobar la topografía de la superficie, en primer lugar, se hizo uso del microscopio óptico, suficiente para comprobar si hubo grandes cúmulos de material. Posteriormente, para observar la superficie con mayor detalle se empleó el microscopio de fluorescencia. Esto fue posible gracias a la auto fluorescencia del PGS una vez curado. Finalmente, para obtener unos resultados objetivos se consideró hacer uso del servicio de microscopía de la universidad, en concreto con la técnica de la microscopía de fuerza atómica (AFM).

El microscopio de fuerza atómica consiste en una punta fina (cantiléver, en contacto o no con la muestra dependiendo del modo de uso, un láser que proyecta su haz sobre la punta, y unos diodos sensores que reciben la señal del láser tras ser reflejada por el cantiléver. La interacción de la punta con la muestra se debe a las fuerzas atómicas presentes, las cuales deforman el cantiléver variando la señal reflejada. Esta deformación ilustra los cambios presentes en la superficie de la muestra y es la que genera la imagen, como por ejemplo la figura 9. El equipamiento disponible ofrecía una resolución del orden de los nanómetros (nm).

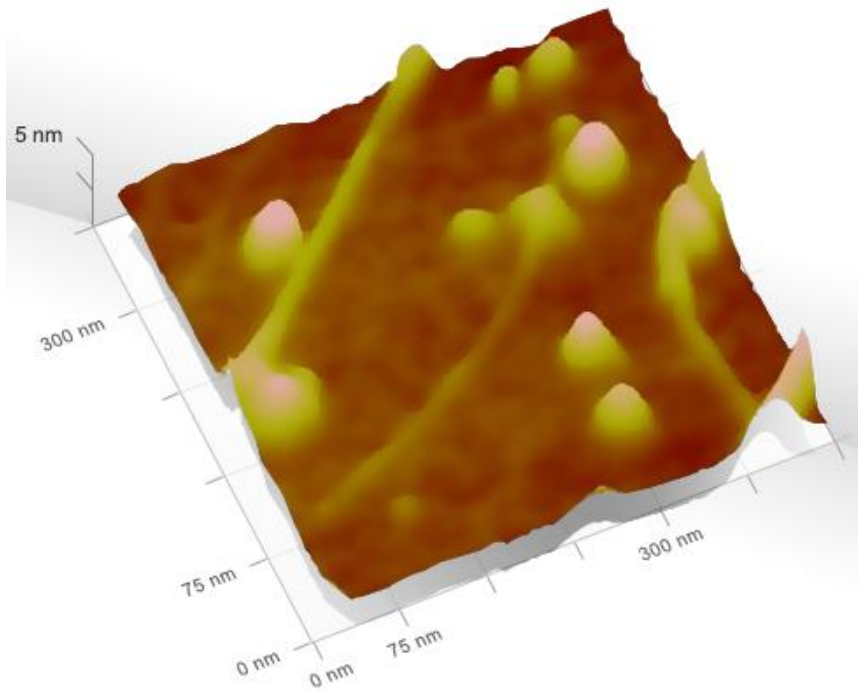


Figura 9. Ejemplo de imagen de nanotubos de carbono y partículas de hierro, obtenida en un microscopio de fuerza atómica.

Existen tres modos de funcionamiento, cada uno de ellos más adecuado a un tipo de muestra. El primero de ellos es el modo de imagen por contacto. Como su nombre indica, la punta permanece en contacto con la superficie todo el tiempo. Este modo es óptimo para aquellas muestras que no sufran alteraciones de su superficie a causa de este contacto. El segundo modo de imagen es sin contacto, esto es, se mantiene la punta a una distancia arbitraria constante de la superficie. Este modo es adecuado para aquellas muestras que sean susceptibles de ser alteradas a causa del contacto con la punta del cantiléver. El último modo de imagen es por repiqueteo de la punta (*tapping*). En este caso la punta entra en contacto con la muestra a una frecuencia determinada. De esta forma se evita que la punta arrastre o arañe el material, pero sí que toca la superficie real. Este modo es de gran utilidad especialmente cuando en la superficie hay algún tipo de líquido que pueda interferir la señal. Este es el modo de imagen seleccionado ya que fuera del marco de este TFM se llevan a cabo imágenes de la superficie con proteínas adsorbidas, las cuales se depositan disueltas en un fluido. Así pues, el uso del modo de imagen por repiqueteo es para mantener la consistencia de los datos. (*AFM imaging modes | MyScope, no date*)

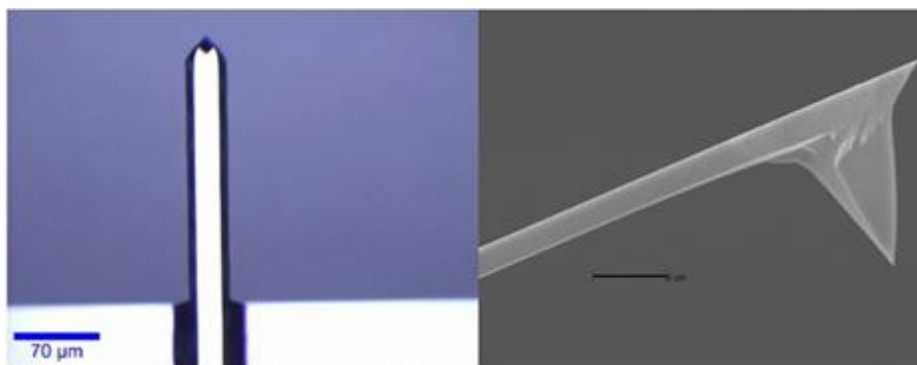


Figura 10. Imagen óptica (izquierda) e imagen de microscopio electrónico de barrido (SEM) (derecha) de un cantiléver de modo de imagen por repiqueteo. (*Tapping mode | MyScope, no date*)

1.3.2. Ángulo de contacto

Con el objetivo de caracterizar la superficie del biomaterial, se decidió realizar un estudio de ángulo de contacto. Este dispositivo permite mediante un procesado matemático obtener propiedades como la polaridad del material, la tensión superficial, la energía superficial etc. El dispositivo consiste en una cámara que capta la imagen de la gota de un fluido de interés en contacto con el material de forma que es capaz, mediante software, de calcular el ángulo que forma la gota con la superficie del material en el punto de contacto de ambos.

Entra en juego la hipótesis de Fowkes: cuando hay interacciones específicas la tensión superficial tiene componente dispersiva (no polar) y polar, la cual relaciona la tensión superficial de la siguiente manera:

$$\sigma_S = \sigma_{SL} + \sigma_L \cdot \cos \theta \quad (1)$$

Siendo σ_S la tensión superficial del sólido, el PGS en nuestro caso; σ_{SL} la tensión entre el sólido y el líquido en cuestión, y σ_L la tensión superficial del líquido. El objetivo es obtener la σ_S ; de tablas y de bibliografía se puede obtener la σ_L , por lo que para poder despejar la tensión superficial del sólido, se debe conocer la tensión entre el sólido y el líquido. Existen varias aproximaciones, pero se seleccionó el método de Owens-Wendt-Rabel-Kälble (OWRK). Este método además permite conocer la polaridad del sólido, previo cálculo de la componente polar (σ^d) y dispersiva (σ^p) de la tensión superficial de este.

$$\sigma = \sigma^d + \sigma^p \quad (2)$$

$$\sigma_{SL} = \sigma_L + \sigma_S - 2(\sigma_L^d \cdot \sigma_S^d)^{\frac{1}{2}} - 2(\sigma_L^p \cdot \sigma_S^p)^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

Despejando estas ecuaciones se obtiene la siguiente relación lineal, ecuación 4, la cuál será representada en el apartado de resultados.

$$\frac{1+\cos \theta}{2} \frac{\sigma_L}{(\sigma_L^d)^{\frac{1}{2}}} = (\sigma_S^p)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{\sigma_L^p}{\sigma_L^d} \right)^{\frac{1}{2}} + (\sigma_S^d)^{\frac{1}{2}} \quad (4)$$

Finalmente se define la polaridad como el cociente entre tensión de la componente, dividido entre la tensión superficial total (Gedde, 1995).

$$polaridad = \frac{\sigma^p}{\sigma} \quad (5)$$

1.3.3. Espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier

Otro aspecto de interés para el proyecto es la utilización de la espectroscopía FTIR en relación con la evaluación cuantitativa de adsorción de proteína, fibronectina y colágeno concretamente, como ya se ha mencionado, componentes mayoritarios de la matriz extracelular. Esta técnica permite identificar los grupos funcionales presentes en los compuestos analizados. La aplicación en este TFM es la cuantificación de proteína por comparación de señales. La señal que se obtiene con este dispositivo es el resultado de la transmisión de la señal original. Los grupos funcionales absorben la energía en aquella longitud de onda en la que se produce la resonancia, y por tanto esta zona del espectro no es transmitida. Así pues, a mayor presencia de grupos funcionales, menor es la señal transmitida.

Por otro lado, cada material tiene un espectro singular, el cual se ve distorsionado en presencia de otros compuestos, grupos funcionales diferentes o en mayor cantidad, como por ejemplo las proteínas. La lectura de los espectros para las diferentes muestras nos permite comparar de forma cuantitativa la adsorción de proteína a la superficie del material.

2. Objetivos

La finalidad de este Trabajo de Fin de Máster es la caracterización de la superficie del PGS, formado a partir de redes poliméricas con grados de entrecruzamiento y presencia de grupos terminales dependientes de la temperatura de curado. Puesto que la topografía superficial tiene gran influencia en el comportamiento de los polímeros en medio biológico se definieron los siguientes objetivos.

El primer objetivo que se fija como punto de partida es la obtención de superficies planas que evite cualquier influencia de la topografía en cuanto a la interacción con fluidos, proteínas y en definitiva, con células. Para ello, es necesario definir un protocolo de síntesis nunca descrito utilizando la técnica del *spin-coating*. Finalmente se debe confirmar que la superficie cumple con las características de topografía deseada.

El segundo objetivo, una vez obtenidas las muestras con dichas características de superficie, es caracterizar otras propiedades de esta como son la tensión superficial y la polaridad, haciendo uso del equipo de medición de ángulo de contacto.

Por último se marca como objetivo el estudio de la influencia de la temperatura de curado del material con respecto a la interacción de su superficie con las proteínas colágeno y fibronectina. Este estudio se basa en dos técnicas, la cuantificación de proteína adsorbida mediante el kit de μ BCA, y mediante el uso del equipo de espectroscopía FTIR.

Con la recogida de estos datos se logrará tener más información que acerque a la comunidad científica a la comprensión del comportamiento y las propiedades que presenta el PGS.

3. Materiales y métodos

3.1. Lavado inicial portamuestras

El objetivo del lavado inicial es disponer de una superficie homogénea y plana para que en la próxima etapa, *spin-coating* (recubrimiento por centrifugación), el prepolímero se distribuya de manera homogénea y plana. Si existiera contaminante que genere cierta topología, la cual no se puede controlar y por tanto reproducir, influiría en los resultados de adsorción. En primer lugar, se comenzó con el protocolo de lavado de portamuestras que eran la base de aplicación del prepolímero pPGS.

Para llevar a cabo el proceso de lavado de portamuestras se decidió arbitrariamente seleccionar el diámetro de 10mm entre los disponibles en las instalaciones. Además, se requirió de un vaso de precipitados para alojar las muestras en el baño de ultrasonidos (VWR USC600TH). Los disolventes utilizados fueron agua destilada y etanol (>99.7% Sigma Aldrich 51976). Por último, se hizo uso de una placa Petri de vidrio y un colador.



Figura 11. Portamuestras y equipo de lavado por ultrasonidos VWR USC600TH.

En primer lugar, se colocaron los portamuestras en el vaso de precipitados. Se llenó el vaso hasta que todos los portamuestras quedaron cubiertos. Posteriormente se introdujo el vaso de precipitados en el baño de ultrasonidos hasta que el nivel del baño de ultrasonidos estuvo por encima del nivel del disolvente dentro del vaso. Los ciclos fueron de 15 minutos de duración en el orden que se describe a continuación:

agua destilada – etanol – agua destilada – etanol

Finalizados los 15 minutos del ciclo de lavado con el disolvente, se retiró el disolvente del vaso, empleando para ello el colador. Una vez retirada la mayor parte del disolvente, se continuó con el siguiente ciclo hasta completar los 4 lavados. El motivo por el que se finalizó con el lavado de etanol es puesto que su evaporación es más rápida.

Inmediatamente después de lavar continuó el proceso con el secado. Para ello se empleó una placa Petri, sobre la que se distribuyeron los portamuestras de la forma más separada posible. La situación ideal hubiera sido no tener un portamuestras superpuesto sobre otro. Una posible mejora a introducir en el secado hubiera sido la disposición de una rejilla de material inerte, al igual que en la etapa posterior de lavado post-curado, sobre la que depositar los portamuestras y evitar en primer lugar que se adhirieran los portamuestras a la placa, así como haber dispuesto de un espacio en el que los restos contaminantes que pudiese existir no hubieran estado en contacto con los portamuestras. El secado se realizó al aire, con la tapa de la placa Petri puesta. Opcionalmente se podía asegurar la placa Petri mediante el uso de Parafilm.

3.2. Spin-coating

Como ya se ha mencionado en la introducción, la técnica que se empleó para la deposición del prepolímero sobre el portamuestras fue el *spin-coating*. A continuación, se detallan las distintas variables como son la concentración de la disolución, el volumen de esta, la velocidad angular, la aceleración angular, el tiempo de ejecución y el tiempo de espera antes de ejecutar el programa.



Figura 12. Equipo de spin-coating: WS-650MZ-23NPPB, Laurell Technologies.

3.2.1. Efecto de la concentración

En primer lugar, se expone la variable más influyente en cuanto a los resultados del *spin-coating* y curado. La concentración de la disolución es la cantidad de soluto, prepolímero pPGS, respecto a la unidad de volumen de disolvente, etanol. El principal problema que se presentó fue la formación de cúmulos de material por exceso de este, por tanto, se generaba cierta topología en contra de la superficie lisa de interés. Para solucionarlo se consideró disminuir la concentración de prepolímero, encontrando el óptimo en el 0.01% de prepolímero de PGS (pPGS) en Etanol.

3.2.2. Efecto de otras variables

- **Volumen de disolución:** Como ya se ha expuesto, el principal problema fue el exceso de material. Por lo tanto, una vez definida la concentración (constante) fue posible variar el volumen para así modificar la cantidad de masa de prepolímero que se distribuiría sobre el portamuestras.

$$\text{concentración} = \frac{\text{masa}}{\text{volumen}}$$

En este caso hubo que fijarse en que el portamuestras quedase recubierto en su totalidad ya que, un volumen demasiado pequeño, generaba zonas del disco sin material. Sin embargo, al depositar un exceso de volumen, el material excedente salía despedido por la fuerza centrífuga ya explicada anteriormente, recubriendo la superficie por completo. Por otro lado, a mayor volumen, mayor es la cantidad de masa de soluto depositada, en cuyo caso se observó la formación de cúmulos mencionado dos párrafos atrás. Se encontró el volumen óptimo en 15 μ l.

- **Velocidad angular o de giro:** La velocidad angular está relacionada con la aceleración normal o centrípeta. A mayor velocidad angular, mayor es la fuerza centrípeta y por ende la fuerza centrífuga a la que se ven sometidas las moléculas de la disolución. Por tanto, a mayor velocidad de giro, mayor es el número de partículas despedidas. Como ya se ha comentado, el soluto era más propenso a mantenerse en el portamuestras que el disolvente, así pues, esta variable permitió controlar la cantidad final de material que recubre el portamuestras. Se encontró el óptimo en 10.000 rpm.
- **Aceleración angular:** la aceleración angular afectaba a la homogeneidad de la distribución del material sobre la superficie del portamuestras. Una baja aceleración suponía una acumulación de material sobre el centro del portamuestras mientras que una aceleración elevada daba lugar, en combinación con un mal ajuste de volumen de disolución depositado, a zonas del portamuestras no recubiertas. La situación ideal es una distribución homogénea igual en el centro que en la zona exterior del portamuestras. Se encontró el óptimo en 1500 rpm/s.
- **Tiempo de ejecución:** el tiempo de ejecución afectaba a la cantidad total de partículas despedidas e indirectamente a la proporción de soluto respecto a disolvente que se mantenía sobre el portamuestras. Esto es, a mayor tiempo de ejecución, menor era el número de moléculas que se mantenían sobre el portamuestras. Además, como ya se ha comentado, debido a que el disolvente era más volátil, salía despedido en mayor medida que el soluto. Se encontró el óptimo en 30s.
- **Tiempo de espera antes de ejecutar el programa:** es el tiempo que pasa entre que se deposita la disolución sobre el portamuestras hasta que se inicia la ejecución del programa. Esto influye en el acondicionamiento de la atmosfera tras la colocación del tapón. Esto permite mantener una atmósfera controlada, quedando en segundo lugar la importancia de que el material no interactúe con el ambiente. Se encontró el óptimo en 15s.

Variable	Valor óptimo (unidades)
Concentración	0.01%
Volumen de disolución	15 (µl)
Velocidad angular	10.000 (rpm)
Aceleración angular	1.500 (rpm/s)
Tiempo de espera	15 (s)
Tiempo de ejecución	30 (s)
Atmósfera de Nitrógeno	4 (bar)

Tabla 1. Resumen con los valores óptimos para cada variable.

Cada portamuestras se identificó con un número seguido de un punto dependiendo de la temperatura a la que iba a ser curado. El número se escribió por la parte inferior del portamuestras, teóricamente sin material. Esto permitió identificar la cara en la que estaba el material, así como la temperatura a la que había sido tratado. El código empleado fue el siguiente: “3.” para las muestras curadas a 130°C, “5.” y “7.” para 150°C y 170°C respectivamente.

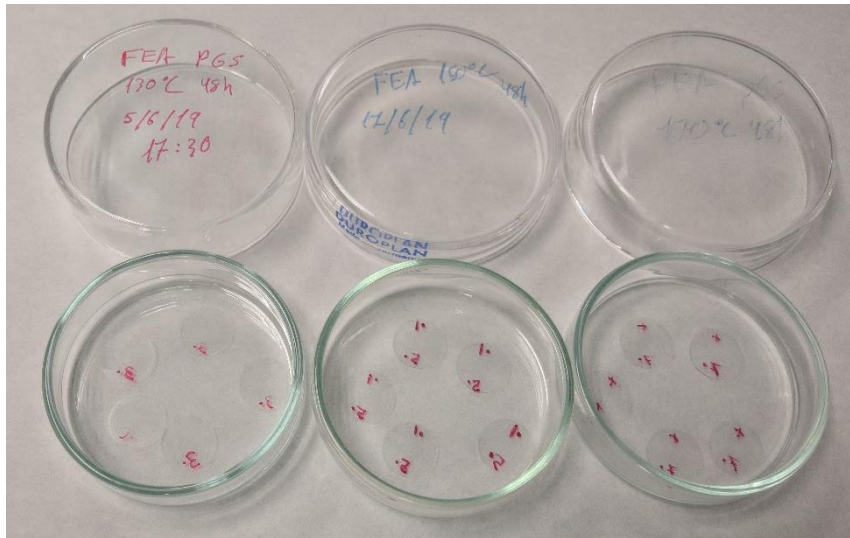


Figura 13. Ejemplo de portamuestras marcados.

3.3. Curado

Tras el proceso de *spin-coating* se inició la segunda fase de síntesis del biomaterial, el curado. Se utilizó la misma estufa (JP Selecta 2005161) en todos los procesos de curado. En esta etapa el prepolímero se entrecruza dotando de estabilidad principalmente y otras propiedades finales del material.

El curado se realizó a 130°C, 150°C o 170°C dependiendo del lote. El tiempo de curado fue de 48h, tiempo suficiente para que el entrecruzamiento de las cadenas tuviera lugar. Se precalentó la estufa hasta la temperatura correspondiente antes de introducir los portamuestras ya que, si se hubiesen introducido a temperatura ambiente, hasta que llegase a la temperatura de interés el material iba interaccionando de forma no controlada. Una vez se llegaba a la temperatura deseada, se introdujo la placa Petri con las muestras de manera que se perturbó mínimamente la temperatura de la estufa. Pasadas 48h desde la introducción de la placa Petri en la estufa, se extrajo para un enfriamiento rápido a temperatura ambiente. En este caso las instalaciones se mantuvieron a una temperatura aproximada de 22°C.



Figura 14. Estufa empleada para el curado de las muestras, JP Selecta 2005161.

El siguiente paso fue el lavado final para preparar las muestras de cara a realizar los diferentes estudios. Sin embargo, el estado en el que se encontraron tras el curado fue óptimo para ser almacenadas, ya que el polímero fue estable en las condiciones ambientales de temperatura y humedad presentes en las instalaciones.

3.4. Lavado post-curado

Una vez se han curado las muestras, el siguiente paso fue el lavado de estas para retirar tanto la suciedad que se hubiese podido depositar sobre ellas como la retirada del prepolímero que no había logrado interactuar y entrecruzarse para formar parte del material final. La disolución empleada para el lavado fue etanol disuelto al 5% en agua miliQ (Agua ultra pura Direct-Q® 3 Merck Millipore).

Así pues, se realizaron tres ciclos de lavado cada uno de ellos de 10 minutos de duración. A diferencia del lavado inicial, en este caso se utilizó una malla de nylon recortada circular con el diámetro de las placas Petri. Sobre dicha malla se colocaron las muestras para lavar. Se añadió disolvente hasta cubrir las muestras. A continuación, se colocó la placa Petri con tapa en el agitador a una velocidad angular de 130rpm. Pasados los 10 minutos se retiró del agitador, se sacó la malla con las muestras y se apoyó en un papel para que absorbiese el disolvente. Se retiró el disolvente restante de la placa Petri y una vez se retiró la mayor parte del disolvente, se colocó la malla con las muestras de nuevo tras lo que se añadió el disolvente, comenzando así el segundo ciclo.

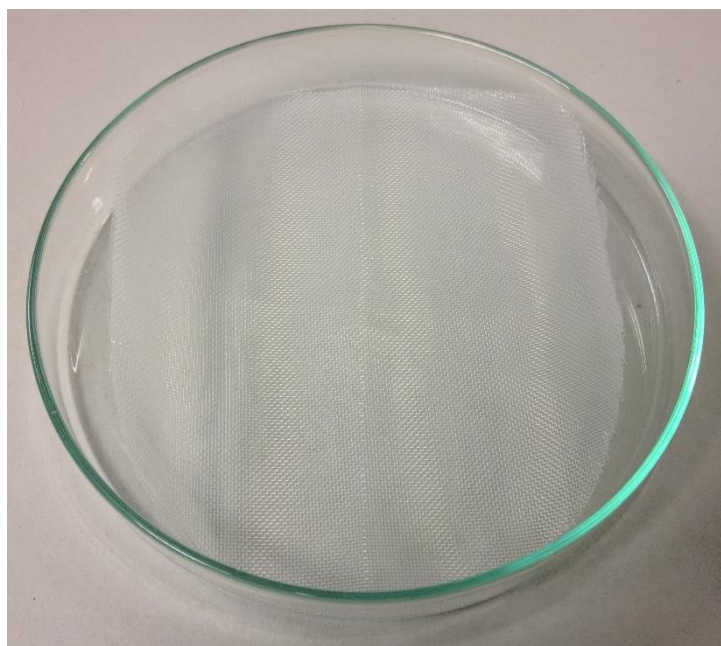


Figura 15. Malla de nylon sobre placa Petri para lavado de portamuestras.

Como resultado de esta operación se obtuvieron las muestras de cada temperatura, preparadas para utilizar en los diferentes estudios. Desde el análisis del ángulo de contacto hasta el uso en cultivos celulares por parte de otros investigadores, fuera del marco de este TFM. Tras este paso, fue recomendable hacer uso de las muestras en la mayor brevedad posible para que no se depositase sobre su superficie ningún elemento que la adulterase.

3.5. Ángulo de contacto y tensión superficial

Con el objetivo de definir las propiedades del biomaterial se optó por utilizar un dispositivo de medición de ángulos de contacto (OCA25, Dataphysics) para evaluar la interacción del material con los fluidos. Esta herramienta permitió obtener, tras un procesamiento matemático, la tensión superficial y la polaridad con los fluidos.

Fluido	Concentración	Proveedor	Referencia
Glicerol	>99.5%	Sigma Aldrich	G9012
Formamida	>99.5%	Sigma Aldrich	221198
Dietilenglicol	99%	Sigma Aldrich	H26456
Diyodometano	99%	Sigma Aldrich	158429
Etanol	>99.7%	Sigma Aldrich	51976

Tabla 2. Detalles comerciales de los fluidos utilizados.

En este caso se emplearon 5 fluidos: diyodometano, dietilenglicol, formamida, glicerol y agua; para disponer de una variedad de datos más amplia a la hora de realizar el ajuste lineal. La toma de datos se realizó para 4 tipos de muestras, la primera de ellas era portamuestras sometidos solamente al proceso de limpieza inicial, los otros 3 tipos correspondían a cada una de las temperaturas de curado: 130°C, 150°C y 170°C. Para cada tipo de muestra y fluido se realizaron 10 medidas (n=10).

Se utilizó el software propio del dispositivo, el programa SCA20. Este permitió tomar medidas a una frecuencia deseada y durante un tiempo definido por el usuario. De tal manera los parámetros establecidos para todas las muestras excepto para el glicerol, que fue de 12 medidas por minuto, en un total de 2 minutos; o lo que es lo mismo, se midió el ángulo de contacto cada 5 segundos durante dos minutos. Para el glicerol se duplicó la frecuencia reduciendo el tiempo total a la mitad, por razones de eficiencia en términos de tiempo tras verse que durante el segundo minuto no variaba apenas el valor del ángulo. El otro parámetro de interés era el volumen de la gota depositada sobre el material, en este caso se empleó un volumen de 5µL. La temperatura leída por el dispositivo en los días de los ensayos osciló entre los 21°C y 23°C.

El equipo del que se dispuso fue un ordenador con el sistema operativo Windows NT 4.0, con el programa SCA20, interfaz del dispositivo de medición de ángulos de contacto.

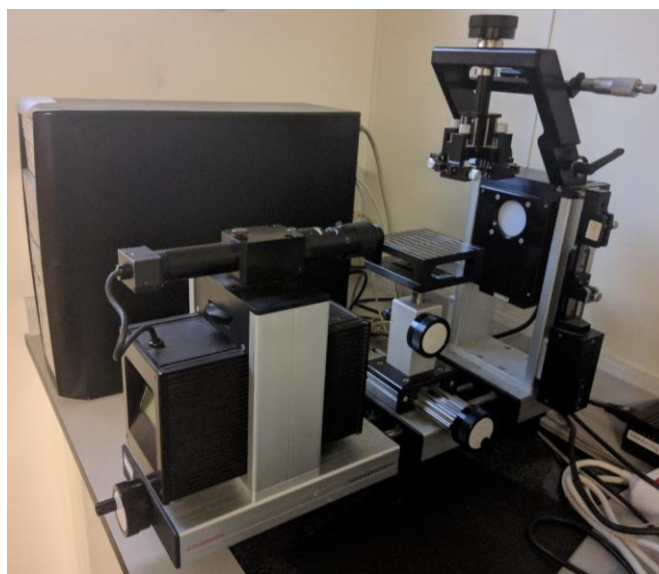


Figura 16. Equipo medidor de ángulo de contacto Dataphysics OCA25.

3.6. Interacción proteína – material

Avanzando un paso más en dirección a la interacción del material con las células, se debe analizar la interacción del material de interés con las proteínas presentes en la matriz extracelular. En este caso se analizó el comportamiento de colágeno tipo I (COL I) y fibronectina (Fn).

Por un lado, se realizó una cuantificación de la cantidad de proteína adsorbida a la superficie, mediante la técnica de cuantificación de proteína. Se utilizó el kit: Micro BCA Protein Assay Kit 23235 de la marca Thermo scientific. Se utilizó la variante de estudio en placa de cultivo celular p96 no tratadas, siguiendo los pasos descritos en el manual de uso proporcionado por el kit. La técnica se basa en el uso de ácido bicincínico (BCA) como reactivo detector de Cu+1, formado a partir de la reducción de Cu+2 cuando este se encuentra en un medio alcalino, situación que se da en presencia de proteínas. Dos agentes quelantes del BCA reaccionan con el Cu+1 generando un producto de tonalidad morada. La absorbancia de este producto tiene su máximo en una longitud de onda de 562nm, aumentando la lectura linealmente con la concentración de este. (Scientific™, no date)

Vial	Concentración final de BSA
B	40µg/mL
C	20µg/mL
D	10µg/mL
E	5µg/mL
F	2.5µg/mL
G	1.25µg/mL
H	0,625µg/mL
I	0µg/mL = Vacío

Tabla 3. Concentración de las disoluciones para el ensayo µBCA.

Otra alternativa empleada fue el uso del FTIR para determinar de manera cualitativa la presencia de proteína adsorbida al material, cuyos parámetros de estudio se recogen en la tabla 3. Esto se logra estudiando la señal de absorción del material en primer lugar. Posteriormente se depositó la proteína de interés durante 10 minutos y se realizó una nueva lectura de la señal de absorción de la muestra con proteína.



Figura 17. Equipo de espectroscopía FTIR Bruker Alpha.

Parámetro	Valor (unidades)
Resolución	4 (cm ⁻¹)
Tiempo de barrido	24 (s)
Tiempo de escaneo	16 (s)
Rango de estudio	4000 - 400 (cm ⁻¹)
Volumen de disolución con proteína	30 µL
Concentración de disolución con proteína	400 mg/mL

Tabla 4. Parámetros de ensayo de espectroscopía FTIR

4. Resultados y discusión

4.1. Estudio de rugosidad superficial y espesor

El primer estudio que se realizó a las muestras fue la comprobación de la rugosidad superficial para comprobar que no se formaron aglomeraciones de material. Como se trató de un proceso, no probado previamente con PGS, para la obtención de recubrimientos finos y planos de portamuestras se comenzó realizando series de 3 muestras por cada condición. Al principio se probó con volúmenes de disolución por muestra de 100 μ L, pero rápidamente se observó a simple vista que esta era una cantidad excesiva y progresivamente se fue reduciendo el volumen hasta realizar pruebas con 10 μ L. En estas primeras pruebas la concentración era del 30% de pre-PGS en Etanol. La velocidad angular se estudió en el rango desde 4000rpm hasta 8000rpm

Se llevó a cabo la prueba de distintas series de 3 muestras en las que se combinaron unos rangos de las variables de interés explicadas en el apartado de métodos y materiales. Los rangos fueron los siguientes, en primer lugar, se estableció la concentración de la disolución en el 30% de pre-PGS en etanol. A priori esta variable se mantuvo constante. La velocidad angular varió en el rango desde 3000rpm hasta 8000rpm en saltos de 1000rpm, observándose que a velocidades elevadas, la distribución de la disolución sobre el portamuestras no fue adecuado y aparecían zonas sin disolución a simple vista. Otra variable fue el tiempo de espera, se probaron tiempos de 15s, 30s y 45s, sin que se observase a simple vista ninguna diferencia sustancial entre ellos, por lo que se decidió por eficiencia establecer 15s como tiempo de espera constante para el resto de los ensayos que se realizaron posteriormente.

Otra variable de estudio fue el tiempo de ejecución. Se probaron tiempos de 15s, 30s y 60s. El efecto de esta que se observó fue la cantidad de material que permaneció sobre el portamuestras. A mayor velocidad angular, menor cantidad de material presente. A simple vista se observó que la muestra era más transparente. La aceleración angular fue estudiada en valores desde 500rpm hasta 1500rpm en saltos de 250rpm. La influencia de esta variable se observó por un lado en que al aumentar, la muestra era fue transparente, pero llegó un punto en el que una aceleración demasiado elevada generó áreas del portamuestras que no quedaron recubiertas a simple vista.

Una variable con estrecha relación con la aceleración fue el volumen de disolución que se depositó sobre el portamuestras al inicio de la ejecución. Se probaron volúmenes de 100, 75, 50, 30, 25, 20, y 10 μ L. En este caso se observó que volúmenes por encima de 20 μ L fueron excesivos ya que al retirar el portamuestras de la plataforma de rotación y depositarlo sobre la placa Petri, la disolución desbordó la superficie. Sin embargo, al reducir en exceso el volumen por ejemplo hasta los 10 μ L, en combinación con una aceleración elevada, superior a las 1000rpm, aparecieron zonas del portamuestras no recubiertos por la disolución a simple vista.

Inicialmente los resultados se evaluaron antes de proceder con el curado de las muestras. Las muestras que a simple vista se vieron más homogéneas y transparentes se observaron también bajo el microscopio óptico. En ellas se apreciaron cúmulos de material en forma de gotas, como en la figura 18, lo que dio lugar a considerar que en estas zonas la superficie no fue plana, sino que tuvo cierta topografía irregular.

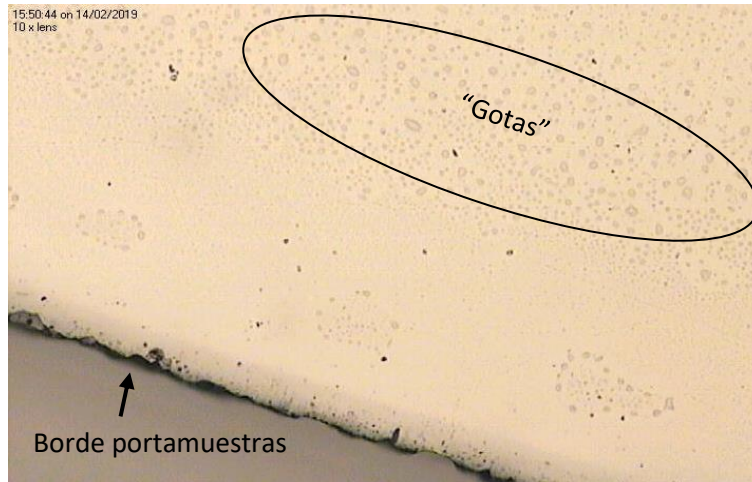


Figura 18. Vista al microscopio óptico x10 aumentos de la irregularidad superficial, en forma de gotas, generada por un exceso de pre-PGS sobre el portamuestras.

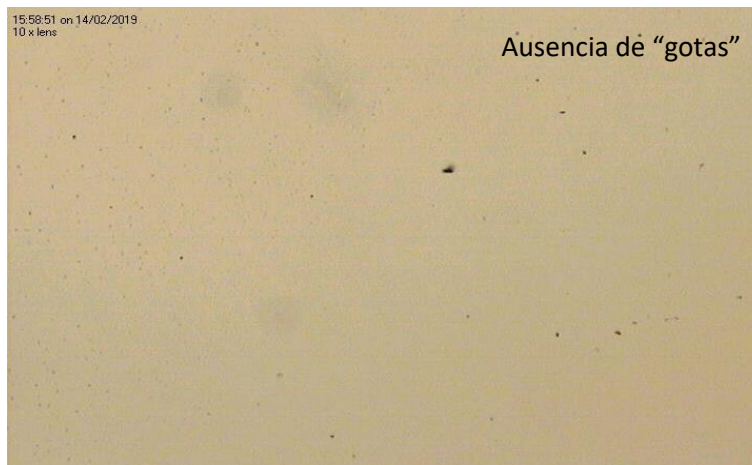


Figura 19. Vista al microscopio óptico x10 de la superficie del portamuestras recubierto de pre-PGS, mayoritariamente homogénea y regular.

Una vez bajo el microscopio óptico se observó que la superficie era homogénea y lisa se estudió el grosor de dichas muestras, en parte para confirmar que realmente había material. Para ello se utilizó un palpador para medir espesores obteniendo los siguientes resultados:

Medida de espesor en micras (μm)	Muestra 12	Muestra 14	Portamuestras limpio
1	170,6	156,2	156,5
2	165,0	188,8	153,6
3	162,0	164,4	156,4
4	175,8	170,6	153,4
5	178,8	175,0	150,6
6	185,5	171,0	152,8
7	165,8	166,8	159,8
8		173,4	155,4
9		170,6	157,8
10		161,6	158,2
Mediana	170,6	170,6	155,9

Tabla 5. Medida de espesores para dos muestras de PGS frente a un portamuestras sin polímero.

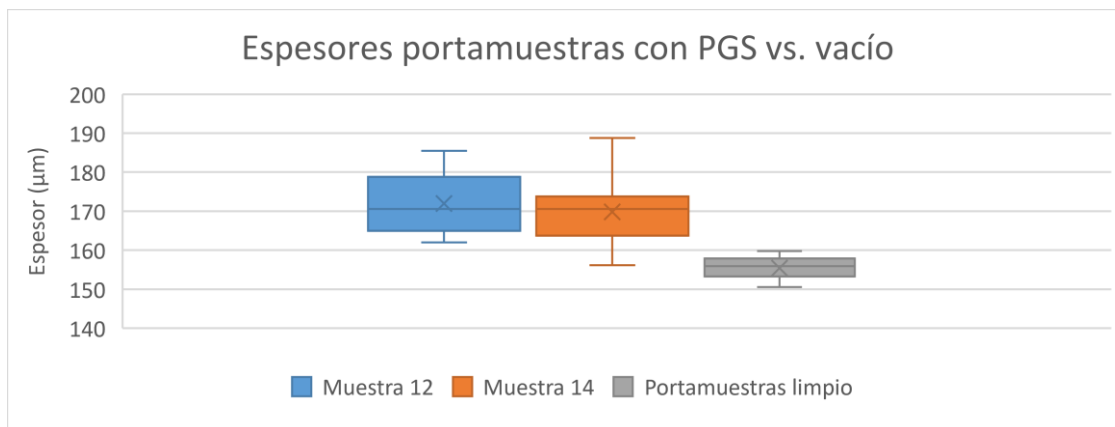


Figura 20. Gráfico de caja y bigotes comparativo de espesores para dos muestras de PGS frente a un portamuestras sin polímero.

Destaca en primer lugar que la mediana de ambas muestras de PGS c y pese a que se observa cierta variabilidad, la diferencia entre ambas muestras no es significativa, pero la diferencia entre las muestras con PGS frente al portamuestras vacío sí que es significativa. Esta diferencia es de unos 15µm aproximadamente. Más adelante, en el apartado de resultados del FTIR vuelve a tratar el espesor.

Pese a que en ocasiones se obtuvieron superficies homogéneas, esta no fue lo común, por lo que se continuaron las pruebas variando la concentración. Además, se recurrió al microscopio de fluorescencia, con el cuál fue más fácil detectar los cúmulos de material al presentar un brillo más intenso, y por tanto el contraste fue superior con respecto al microscopio óptico. Por otro lado, con esta observación se confirmó también la presencia de polímero curado.

Se redujo la concentración al 20%, 10%, 5% y 1% paulatinamente. Se observó que con cada iteración, los resultados mejoraron. A simple vista las muestras fueron más transparentes, mientras que bajo el microscopio óptico apenas se observaron aglomeraciones. Recurriendo al microscopio de fluorescencia, el brillo general, lo que llamaríamos brillo base (frente a los picos de brillo causados por los cúmulos) fue cada vez de menor intensidad. Esto significó que los espesores se fueron reduciendo. Un detalle que llamó la atención fue que con concentraciones mayores, manteniendo el resto de variables constantes, los cúmulos aparecieron más agrupados, mientras que a concentraciones menores, los cúmulos fueron menos intensos en términos de fluorescencia, pero más presente y más dispersos.

Se redujo la concentración al 0'1% de pre-PGS en etanol, con el resto de las variables manteniéndose constantes, siendo las óptimas enunciadas en el apartado de métodos y materiales: velocidad angular = 10.000rpm, aceleración angular = 1.500rpm/s, volumen = 15µl, tiempo de espera = 15s, tiempo de ejecución = 30s. Los resultados obtenidos mostraron menor presencia de cúmulos y de menor tamaño. El espesor a su vez se redujo, puesto que la fluorescencia general disminuyó.

Con concentraciones extremas: 0.05% y 0.01% los resultados mejoraron. Se probaron distintas configuraciones del resto de variables, destacando que a baja velocidad angular (3000rpm), se apreció un efecto vacío, esto es, cúmulos en el centro del portamuestras pero ausencia de material en la periferia. Por otro lado, con una baja aceleración angular (500rpm/s) se generaron aristas de condensación alrededor de zonas homogéneas. Haciendo una analogía

con la formación de granos metálicos, aparecieron bordes de grano y cúmulos allá donde se formaron uniones de 3 o más granos.

Así pues, se definieron las condiciones óptimas aquellas en las cuales mediante la observación a simple vista, microscopio óptico y microscopio de fluorescencia no se encontraron cúmulos de material. Cabe destacar que en estas condiciones el espesor fue muy fino, no se llegó a calcular; y la fluorescencia fue apenas visible al ojo humano.

En vista de que no fue posible evaluar la rugosidad superficial con las técnicas empleadas se recurrió a estudiar las muestras mediante la microscopía de fuerza atómica (AFM). Por otro lado se aprovechó esta técnica para comprobar que el lavado con etanol al 5% tras el curado no tenía efecto adverso sobre la superficie, en cambio era efectivo para retirar cualquier tipo de contaminante. En ellas se observó que la rugosidad era mínima, en torno a 5nm mayoritariamente, pese a que de forma esporádica aparecía alguna irregularidad mayor, como se aprecia en la figura 21. Aun así el defecto no sobrepasa los 15nm. Se evaluaron otras concentraciones, al 2% y 10%, observándose que al 10% se degradaba notablemente el material, así como en ocasiones se borraba el identificativo de las condiciones de curado escrita con rotulador permanente.

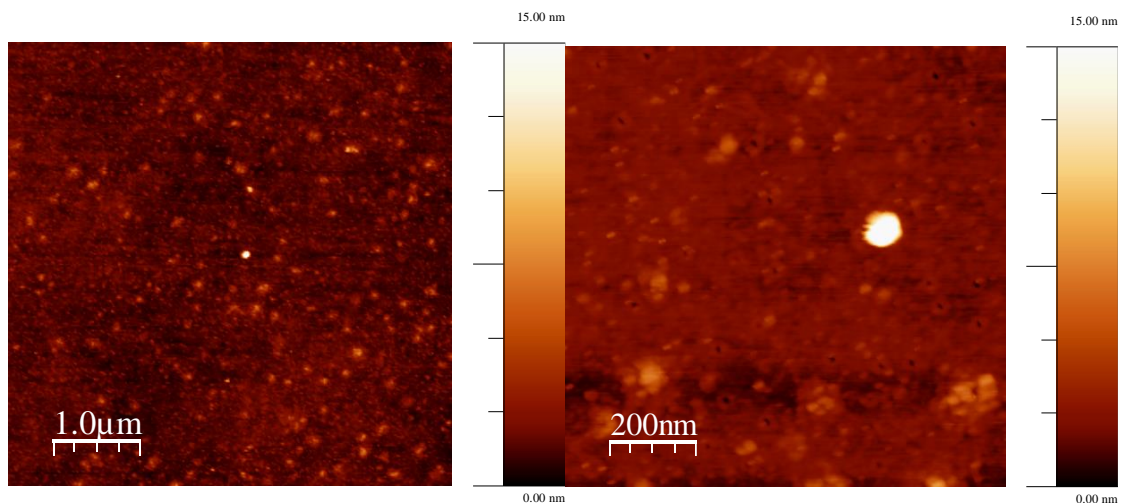


Figura 21. Imágenes de AFM de superficie de PGS curado a 130°C sin lavado post-curado, para un área de 5x5 μm (izquierda) y acercamiento a un área de 1x1 μm (derecha). Rango de la leyenda: 0-15nm.

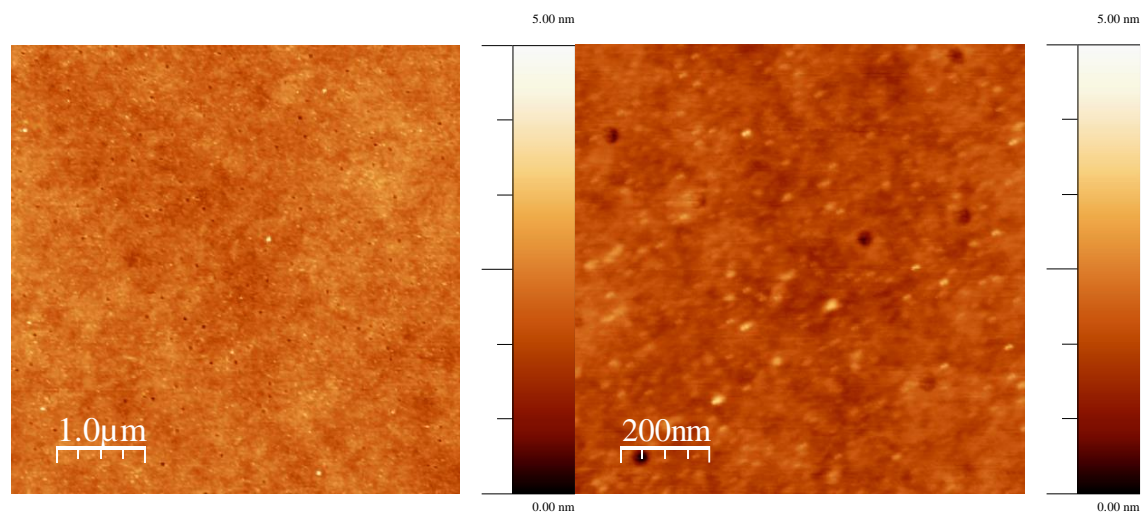


Figura 22. Imágenes de AFM de superficie de PGS curado a 130°C y lavado con un 10% de etanol en agua miliQ, para un área de 5x5 μm (izquierda) y acercamiento a un área de 1x1 μm (derecha). Rango de la leyenda: 0-5nm.

Comparando las figuras 21 y 22 se pudo ver que las muestras lavadas (figura 22) presentaron mayor homogeneidad frente a las que no lo estuvieron (figura 21). Por otro lado cabe destacar la presencia generalizada de huecos, con una profundidad aproximada menor a 3nm.

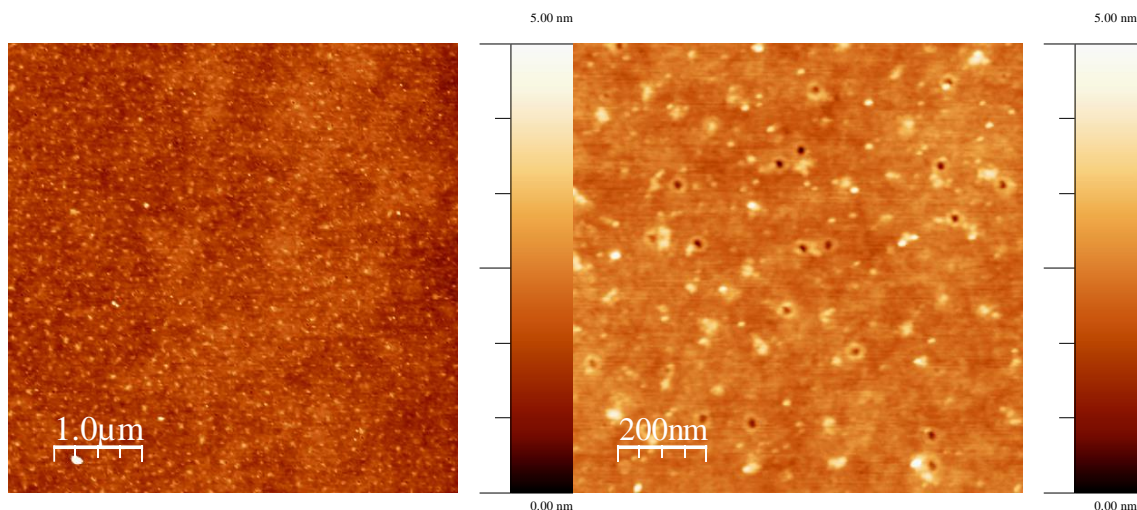


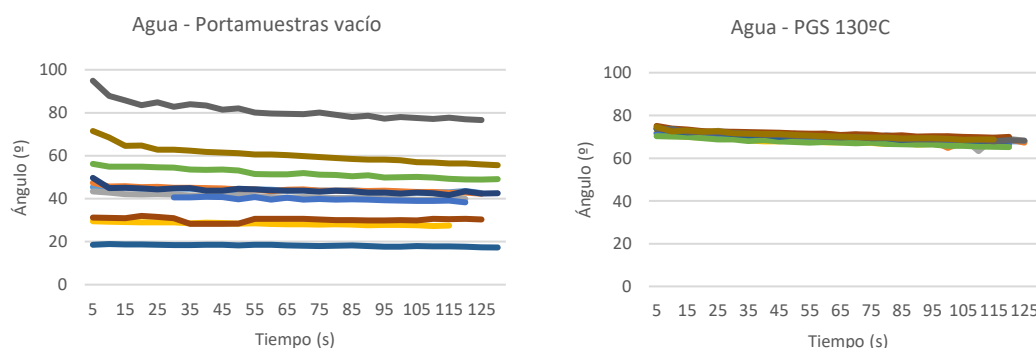
Figura 23. Imágenes de AFM de superficie de PGS curado a 150°C sin lavado post-curado, para un área de 5x5 μm (izquierda) y acercamiento a un área de 1x1 μm (derecha). Rango de la leyenda: 0-5nm.

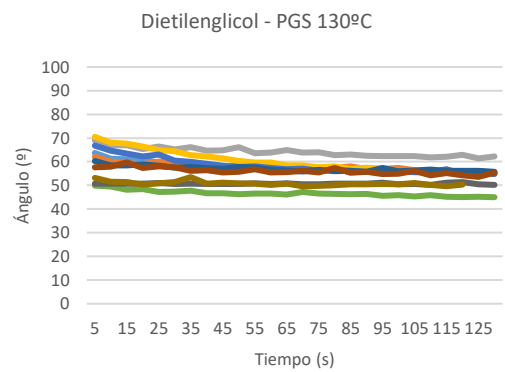
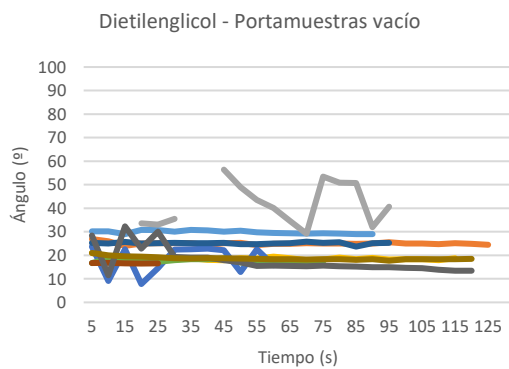
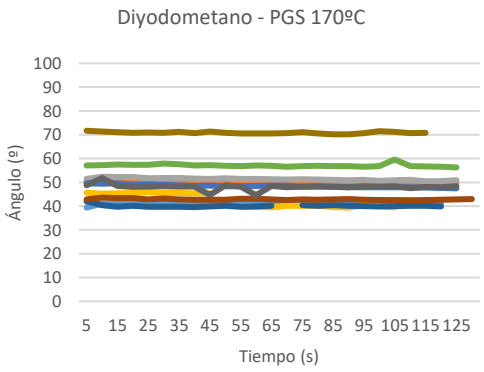
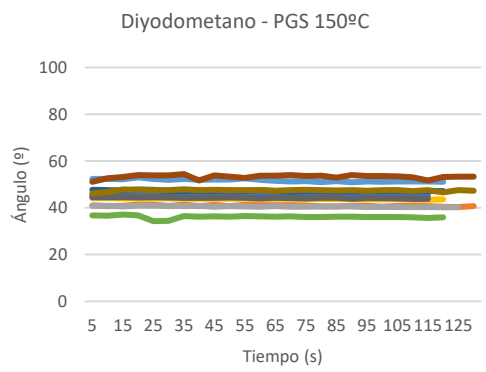
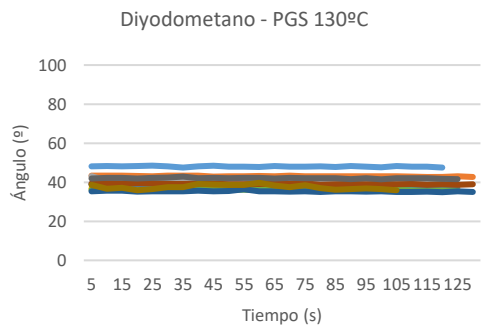
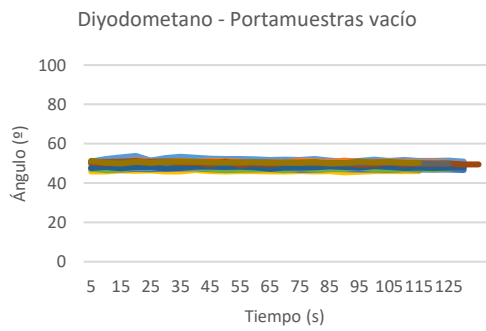
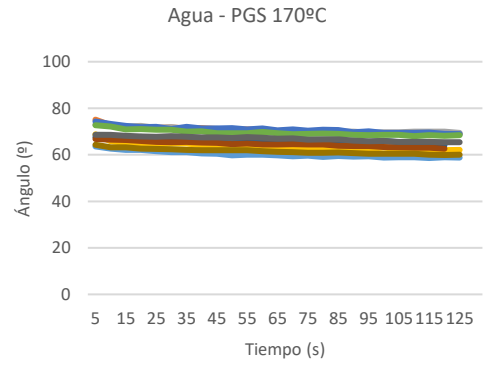
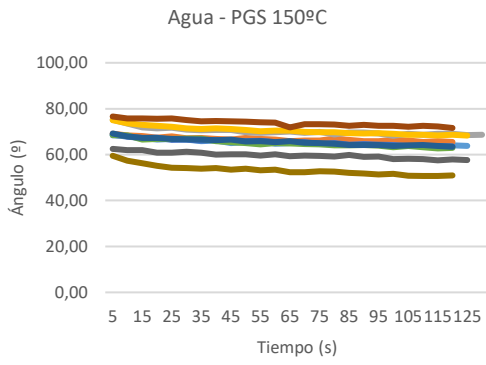
Comparando la figura 23, curado a 150°C frente a las figuras 21 y 22, curado a 130°C; se observó una mayor presencia de estos agujeros comentados en el párrafo anterior.

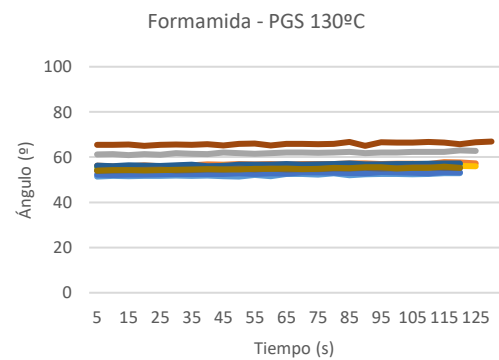
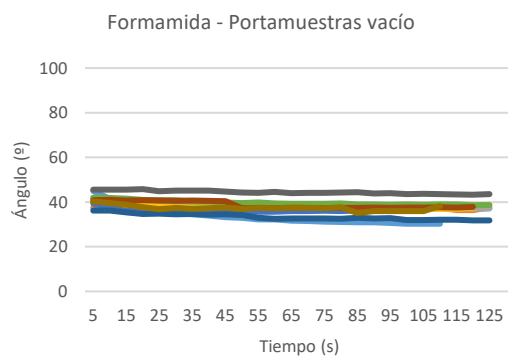
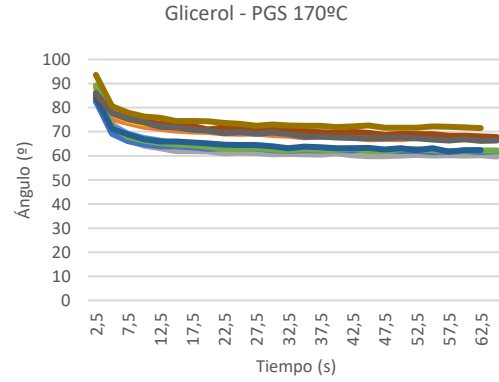
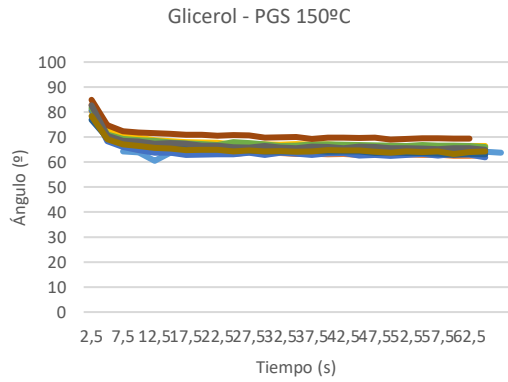
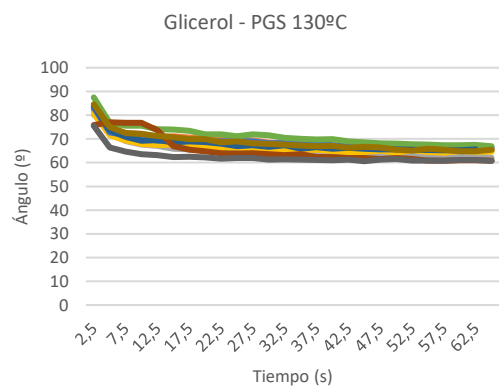
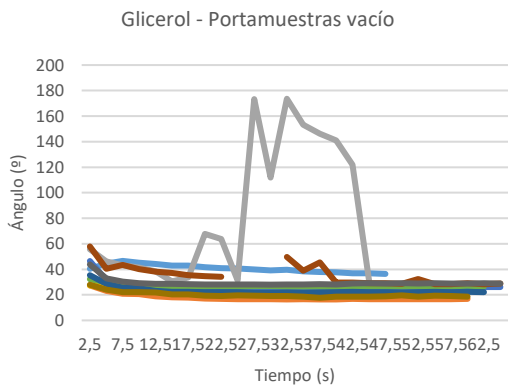
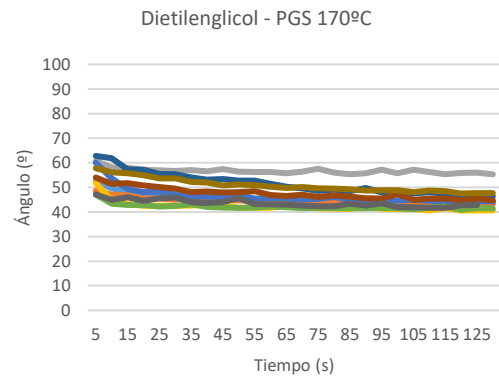
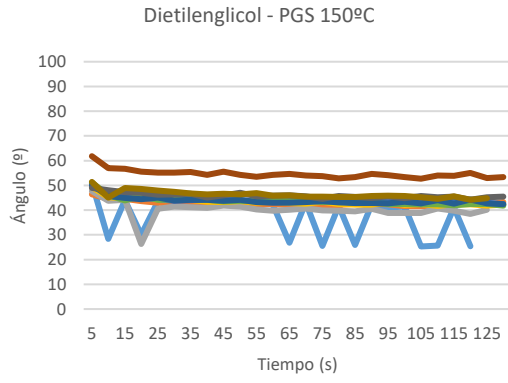
En resumen, de la caracterización de la rugosidad superficial se extrajo que las muestras presentaron una superficie plana con irregularidades en forma de huecos con una profundidad no superior a 5nm. Por lo tanto esta topografía no influyó en los resultados de los estudios posteriormente comentados de medida de ángulo de contacto y adsorción de proteínas.

4.2. Ángulo de contacto, tensión superficial y polaridad

Del estudio de ángulo de contacto se obtuvieron los resultados presentados en el anexo 1, Medidas de ángulo de contacto. En primer lugar se muestran los datos sin procesar, directamente como fueron adquiridos para 10 repeticiones por combinación de fluido y material.







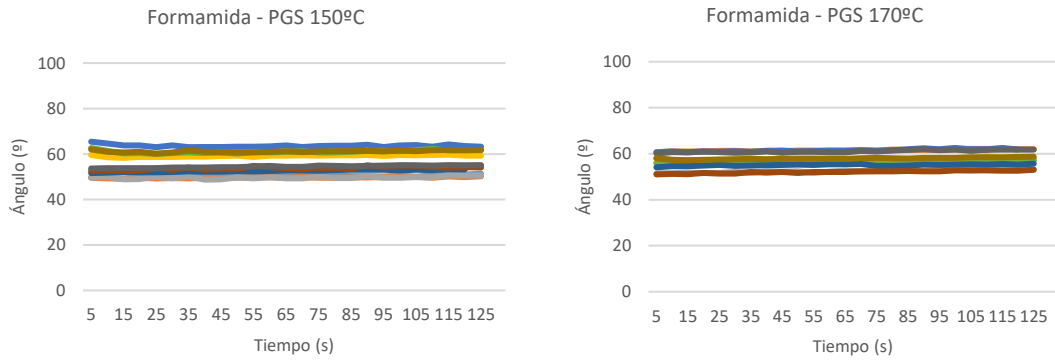
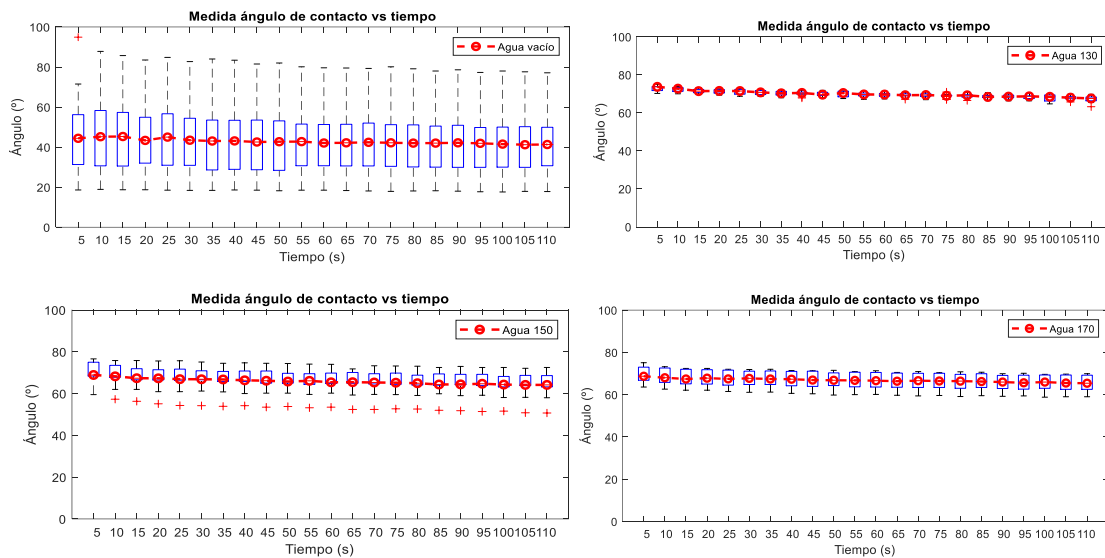
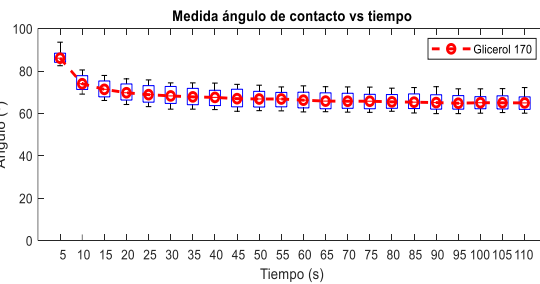
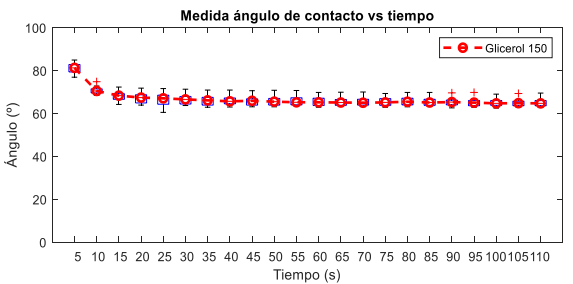
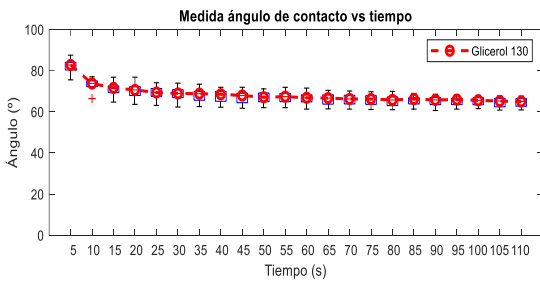
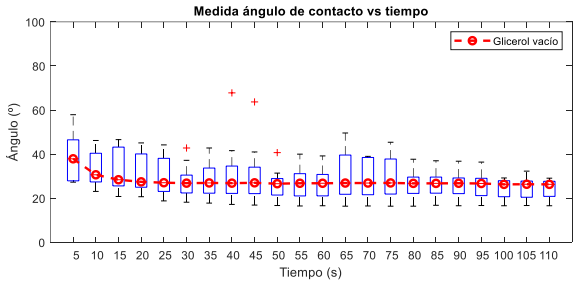
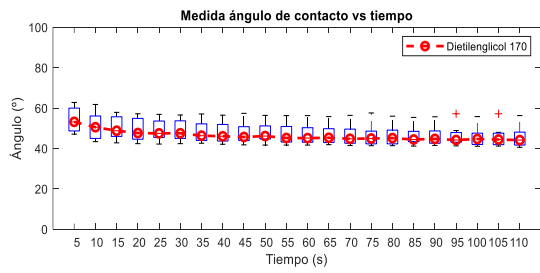
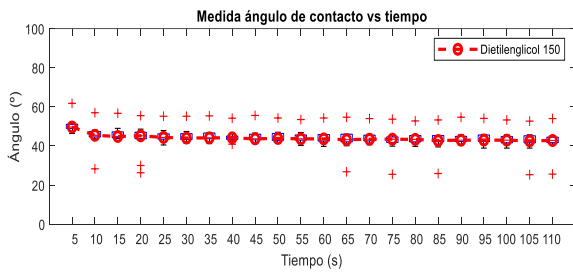
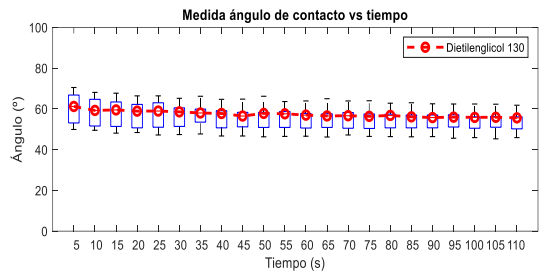
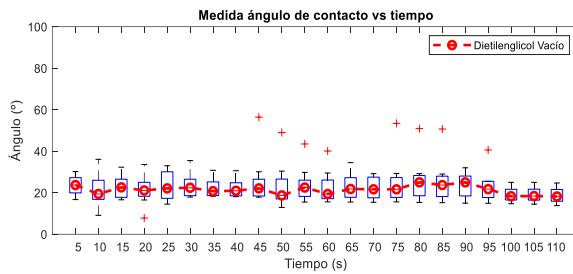
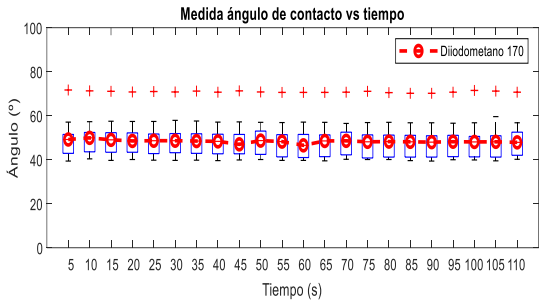
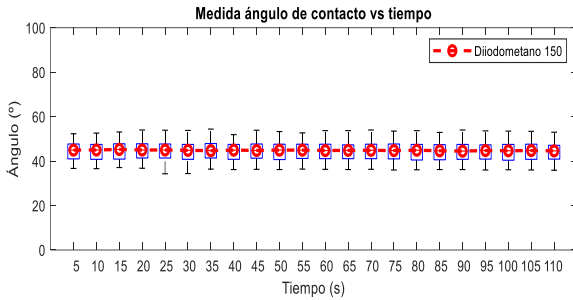
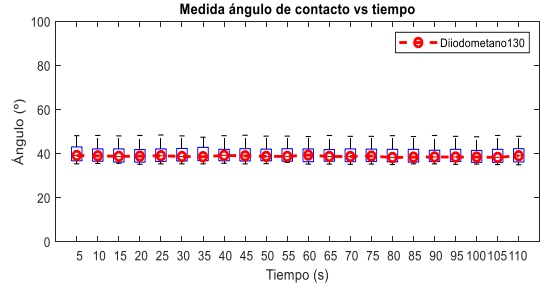
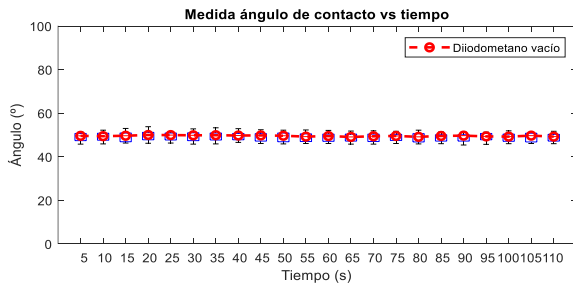


Figura 24. Medidas, $n=10$ repeticiones, de ángulo de contacto a lo largo del tiempo para una combinación de fluidos: agua, diiodometano, dietilenglicol, glicerol y formamida; con distintos materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C.

Cabe destacar la gran variabilidad que existe en la combinación agua-portamuestras vacío; y los errores de lectura observados en las combinaciones de dietilenglicol-portamuestras vacío, dietilenglicol-PGS 150°C y glicerol-portamuestras vacío. En general durante el proceso adquisición de datos, las muestras correspondientes al material “portamuestras vacío” eran las que mayor variabilidad y complicación presentaba. Una causa posible es que eran las primeras muestras con cada fluido, y por lo tanto entraba en juego el periodo de aprendizaje del comportamiento del fluido. Por otro lado los portamuestras vacíos estaban guardados en una placa Petri de plástico. Es posible que durante el proceso de recubrimiento entrase cierta suciedad que influyese en la medición del ángulo de contacto. Este recipiente era el que guardaba los portamuestras en todo momento una vez realizado el proceso de limpieza inicial.

Posteriormente se realizó el cálculo de la mediana en conjunto con una representación de los datos anteriores en un gráfico de caja y bigotes para observar con mayor facilidad la variabilidad y la presencia de datos anómalos o *outliers*. El uso de la mediana en vez de la media se justifica por el bajo número de datos disponibles, tan sólo 10 repeticiones, y por la presencia de los mencionados datos anómalos. Estos gráficos vienen reflejados en la figura 25.





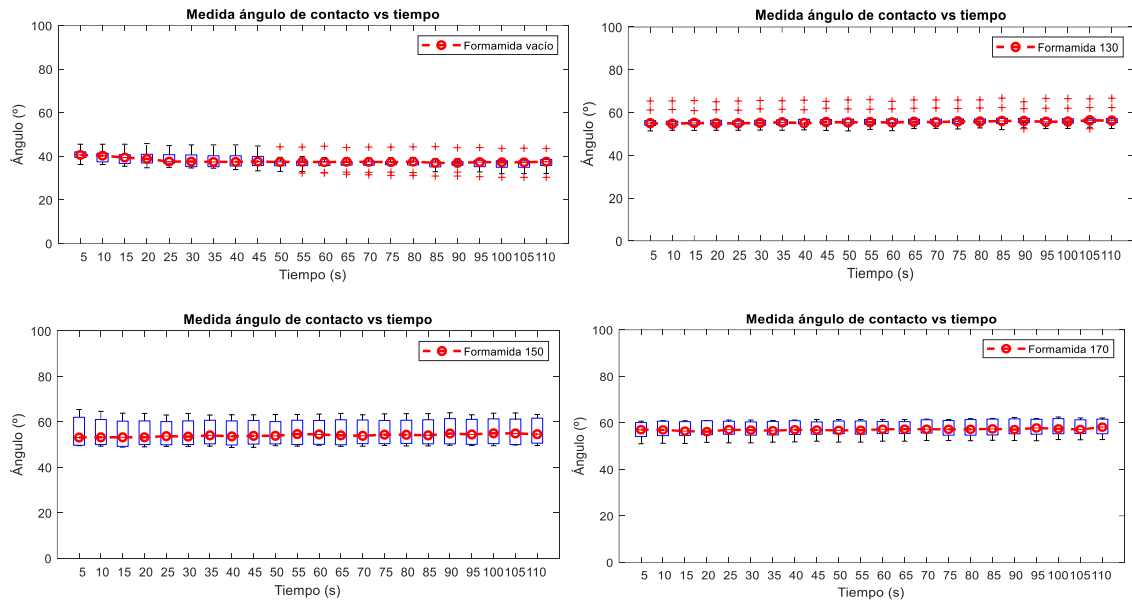


Figura 25. Gráficos de caja y bigotes junto con la mediana para cada combinación de fluido y material.

Se comprobó que la mediana fue una buena representación del ángulo de contacto para cada serie, se seleccionó la medida correspondiente al segundo 60 para proceder con los cálculos de tensión superficial, incluyendo el comportamiento polar y dispersivo, y la polaridad de los materiales. Las medidas para el tiempo de 60s queda recogido en las tablas 6-10.

Fluido	Glicerol			
Material	Vacío	PGS 130	PGS 150	PGS 170
Tiempo(S)	60	60	60	60
n1		65,20	64,10	61,60
n2	16,90	65,80	62,50	67,20
n3		62,40	65,70	60,10
n4		64,90	66,30	66,70
n5	26,30	66,70	63,30	61,90
n6	27,00	67,40	66,60	62,10
n7	22,30	65,20	62,90	62,30
n8	29,20	61,00	69,40	68,30
n9	28,80	61,20	65,50	66,90
n10	18,70	64,80	63,20	71,80
Media (°)	24,17	64,46	64,95	64,89
Mediana (°)	26,30	65,05	64,80	64,50
Desv. típ. (°)	4,93	2,20	2,16	3,79
Rango (°)	12,30	6,40	6,90	11,70

Tabla 6. Ángulo medido a los 60s para el glicerol.

Fluido		Agua			
Material	Vacío	PGS 130	PGS 150	PGS 170	
Tiempo(S)	60	60	60	60	
n1	44,20	69,50	64,80	60,10	
n2	43,40	69,50	66,50	70,60	
n3	40,70	71,50	69,80	70,50	
n4	28,30	67,40	70,40	63,60	
n5	39,60	68,90	65,40	71,30	
n6	51,30	67,50	65,00	69,80	
n7	18,50	70,30	65,40	65,90	
n8	30,70	71,40	74,00	64,40	
n9	79,60	69,90	60,20	67,30	
n10	60,50	70,30	53,50	61,60	
Media (°)	43,68	69,62	65,50	66,51	
Mediana (°)	42,05	69,70	65,40	66,60	
Desv. típ. (°)	17,31	1,40	5,66	4,02	
Rango (°)	61,10	4,10	20,50	11,20	

Tabla 7. Ángulo medido a los 60s para el agua.

Fluido		Diyodometano			
Material	Vacío	PGS 130	PGS 150	PGS 170	
Tiempo(S)	60	60	60	60	
n1	52,10	47,80	51,90	41,00	
n2	50,00	43,20	41,10	50,10	
n3	49,00	41,00	40,40	51,50	
n4	46,10	36,40	43,70	39,70	
n5	47,00	38,30	45,50	48,50	
n6	47,10	36,00	36,30	57,10	
n7	48,00	35,30	47,50	39,90	
n8	50,00	39,10	53,70	43,10	
n9	50,40	42,20	44,00	44,60	
n10	50,60	39,70	47,60	70,60	
Media (°)	49,03	39,90	45,17	48,61	
Mediana (°)	49,50	39,40	44,75	46,55	
Desv. típ. (°)	1,92	3,82	5,28	9,58	
Rango (°)	6,00	12,50	17,40	30,90	

Tabla 8. Ángulo medido a los 60s para el diyodometano.

Fluido		Dietilenglicol			
Material	Vacío	PGS 130	PGS 150	PGS 170	
Tiempo(S)	60	60	60	60	
n1	29,50	57,70	42,20	44,70	
n2	24,90	57,50	42,50	44,10	
n3	40,10	63,90	39,80	56,30	
n4	19,40	59,60	43,40	41,70	
n5	15,70	57,40	43,80	45,60	
n6	17,60	46,60	45,10	42,20	
n7	25,00	56,50	43,00	51,40	
n8		55,40	54,30	46,90	
n9	15,60	50,60	45,80	43,10	
n10	18,40	50,20	45,80	50,30	
Media (°)	22,91	55,54	44,57	46,63	
Mediana (°)	19,40	56,95	43,60	45,15	
Desv. típ. (°)	8,01	5,08	3,87	4,68	
Rango (°)	24,50	17,30	14,50	14,60	

Tabla 9. Ángulo medido a los 60s para el dietilenglicol.

Fluido		Formamida			
Material	Vacío	PGS 130	PGS 150	PGS 170	
Tiempo(S)	60	60	60	60	
n1	32,30	51,50	50,10	57,00	
n2	36,70	57,00	49,70	61,30	
n3	37,50	61,70	49,80	52,20	
n4	37,40	55,50	59,30	57,50	
n5	35,70	52,90	63,40	61,40	
n6	39,40	55,20	60,60	56,30	
n7	32,50	56,60	52,50	55,40	
n8	37,30	65,20	54,20	52,10	
n9	44,60	55,00	54,70	60,60	
n10	37,30	54,80	60,90	57,70	
Media (°)	37,07	56,54	55,52	57,15	
Mediana (°)	37,30	55,35	54,45	57,25	
Desv. típ. (°)	3,47	4,07	5,15	3,36	
Rango (°)	12,30	13,70	13,70	9,30	

Tabla 10. Ángulo medido a los 60s para la formamida.

De la literatura se extrajeron los datos de componente polar y dispersiva de los fluidos ensayados como recoge la tabla 11 Para el cálculo de la componente X, abscisa de OWRK se utilizó la ecuación (4) en la que se identifica la variable independiente X como $(s_1^p/s_1^d)^{1/2}$.

Líquido	Componente dispersiva del líquido	Componente polar del líquido	Abscisa OWRK (X)
Diyodometano	47,40	2,60	0,23
Dietilenglicol	35,91	9,30	0,51
Formamida	23,50	33,40	1,19
Agua	18,70	53,60	1,69
Glicerol	21,20	41,50	1,40

Tabla 11. Componentes dispersiva y polar de los fluidos ensayados y el cálculo de la abscisa de OWRK en base a estos datos.

El cálculo de la ordenada viene determinado también por la ecuación (4) como: $(1+\cos(\alpha)) / 2 * s_1 / (s_1^d)^{1/2}$, donde α es el ángulo de contacto medido, recogido en las tablas 6-10. Se obtienen los siguientes mostrados en la tabla 12.

Ordenada OWRK \ Líquido	Portamuestras vacío	PGS 130	PGS 150	PGS 170
diyodometano	5,99	6,44	6,21	6,13
dietilenglicol	7,33	5,83	6,50	6,43
formamida	10,54	9,21	9,28	9,04
agua	12,91	9,68	9,71	9,74
glicerol	14,57	11,26	11,84	11,68

Tabla 12. Valores de la ordenada de OWRK para cada combinación de fluido y material.

Con los datos de las tablas 11 y 12 se obtienen las rectas mostradas en la figura 26, de las cuales nos quedamos con las líneas de tendencia.

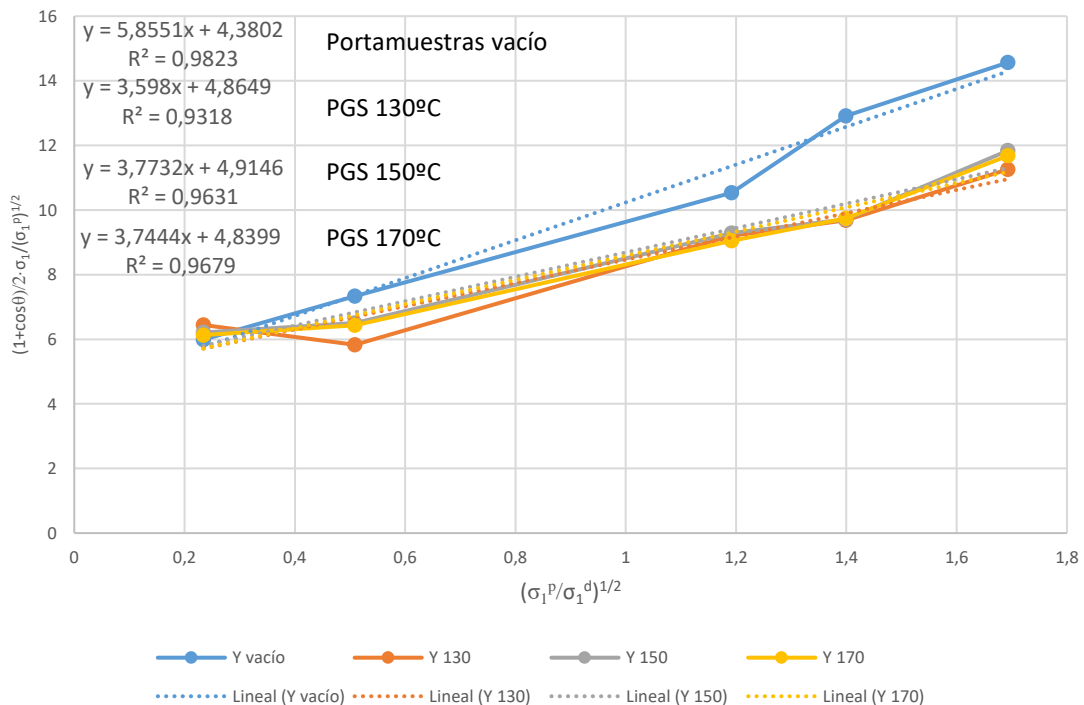


Figura 26. Rectas de OWRK aproximadas por interpolación para portamuestras vacíos, PGS 130, PGS 150 y PGS 170.

A partir de las líneas de tendencia y su comparación con la ecuación 4 se extrajeron las tensiones debidas al comportamiento dispersivo, ordenada en el origen elevado al cuadrado; y al comportamiento polar, pendiente elevada al cuadrado. Posteriormente aplicando la ecuación (1) se obtuvo la tensión superficial. Por último aplicando la ecuación (5) se obtuvo la polaridad de cada material. Estos resultados se reflejan en la tabla 13, a continuación. Como se observa con más detalle en la figura 27, la polaridad del PGS disminuye con la temperatura de curado.

	vacío	PGS 130	PGS 150	PGS 170
Pendiente	5,86	3,60	3,77	3,74
Ordenada en origen	4,38	4,86	4,91	4,84
Comp disp sól	19,19	23,67	24,15	23,42
Comp pol sól	34,28	12,95	14,24	14,02
Tensión superficial	53,47	36,61	38,39	37,45
Polaridad	1,56	2,83	2,70	2,67

Tabla 13. Componentes polar y dispersiva del sólido, tensión superficial y polaridad para el portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C Y PGS 170°C.

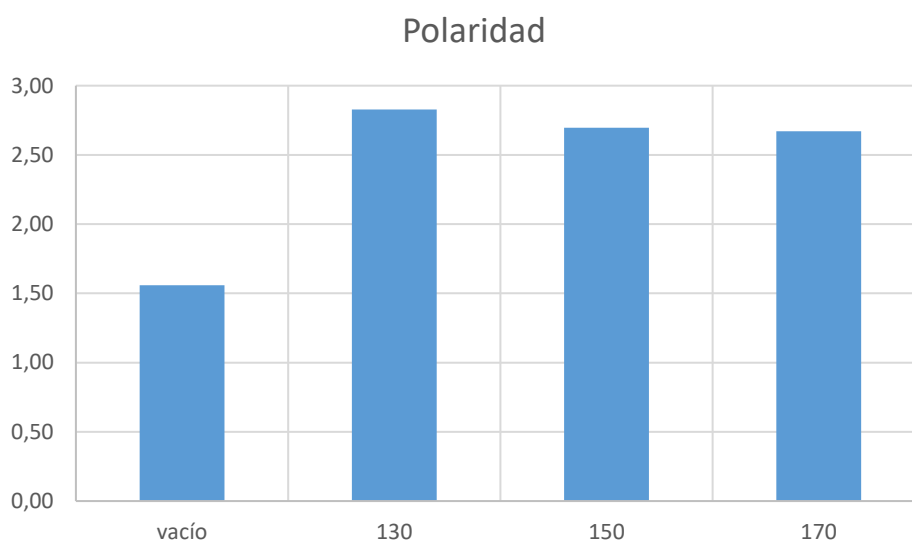


Figura 27. Comparación gráfica de la polaridad del portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C Y PGS 170°C.

4.3. Adsorción de proteínas

4.3.1. Ensayo de cuantificación de proteína

En primer lugar se analizaron las medidas de absorbancia correspondientes a la recta patrón, obteniendo los datos de la tabla 14. Con los datos de dicha tabla se realizó una regresión lineal para obtener la ecuación (6) de la recta que mejor se ajusta a estos, obteniendo una correlación del 99.96% como se observa en la figura 28. Posteriormente, conocida la absorbancia para cada material y proteína, despejando la ecuación 6 se obtuvieron los valores de concentración reflejados en la tabla 15.

Disolución	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbancia
B	40,000	0,269
C	20,000	0,161
D	10,000	0,107
E	5,000	0,083
F	2,500	0,069
G	1,250	0,064
H	0,625	0,059
I	0,000	0,059

Tabla 14. Medidas de absorbancia para la recta patrón del ensayo de cuantificación de proteína.

$$\text{absorbancia} = 0.0053 \times [\text{concentración}] + 0.0564 \quad (6)$$

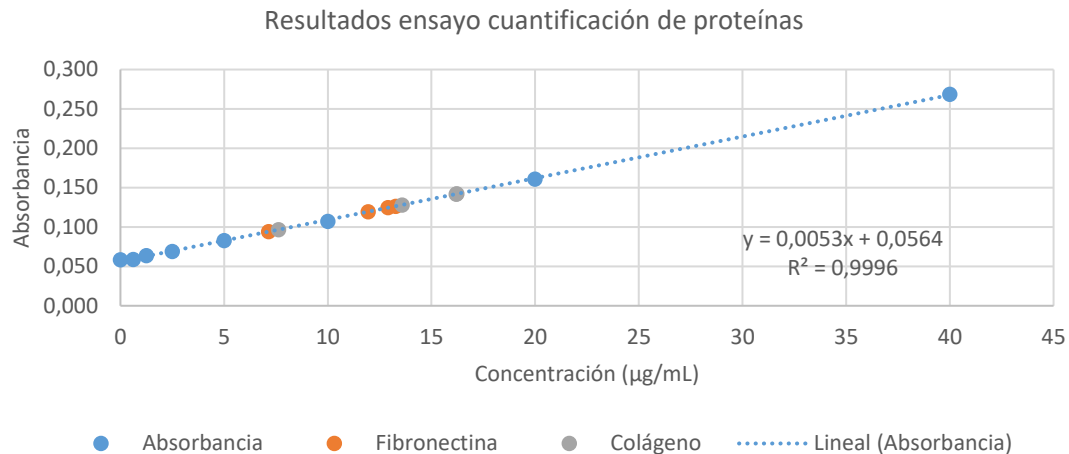


Figura 28. Medidas de absorbancia ajustados a la recta, ecuación incluida, obtenida de la regresión lineal de la absorbancia de las disoluciones preparadas para el ensayo de cuantificación de proteína.

Material	Concentración (µg/mL)	Absorbancia
Control	0,041	0,057
Portamuestras vacío Fibronectina	7,152	0,094
PGS 130 Fibronectina	12,911	0,125
PGS 150 Fibronectina	13,273	0,127
PGS 170 Fibronectina	11,947	0,119
Portamuestras vacío Colágeno	7,623	0,097
PGS 130 Colágeno	16,201	0,142
PGS 150 Colágeno	16,226	0,142
PGS 170 Colágeno	13,583	0,128

Tabla 15. Medida de concentración obtenida despejando la ecuación 6 para la combinación de materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C y proteínas: fibronectina y colágeno.

Con los datos de la tabla 15 podemos confirmar que la presencia de PGS aumenta la adsorción de proteína respecto al portamuestras vacío. Sin embargo no se puede extraer información de la influencia de la temperatura con respecto a la adsorción. Únicamente se observa que el curado a 170°C provoca que la adsorción sea menor respecto al curado a 130 y 150 °C. Esto podría ser porque a menor temperatura el grado de entrecruzamiento del PGS es menor, con lo que quedan grupos terminales OH y COOH sin interactuar. Estos grupos se disocian e interactúan con las proteínas favoreciendo su adsorción. Por lo tanto la adsorción será mayor cuantos mas grupos de estos no hayan interactuado, situación que se da a menor temperatura.

Como ya se ha explicado en la introducción, la adsorción de las proteínas estudiadas, presentes en la matriz extracelular tiene un gran impacto en la posterior adhesión celular. Así pues se puede afirmar que en base a este estudio de adsorción, el PGS favorece la adhesión celular y por tanto la integración del material en el cuerpo.

4.3.2. Estudio espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Gracias al estudio de espectroscopía FTIR se observó con mayor detalle la relación entre la temperatura de curado del PGS y la adsorción del COL I. En la figura 29 se observa que la mayor parte de la energía absorbida se encuentra en el rango de los 1000 a 800 cm⁻¹, es decir las bajas frecuencias. Esta zona de bajas frecuencias, junto con el pico de absorbancia entre 1250 y 1500 cm⁻¹ es característica del portamuestras. Esto supone que en presencia de otras sustancias estos picos se atenuarán lo que se traduce, en este caso, en el espesor de la capa de

PGS; a mayor espesor, será menos visible la señal característica del portamuestras. Por otro lado también se interpreta como que el espesor de las muestras es muy bajo, ya que por defecto el equipo tiene una capacidad de profundizar unas pocas micras, así pues si el equipo es capaz de detectar la presencia del portamuestras, es porque el espesor de esta capa es menor que la capacidad de profundizar del equipo.

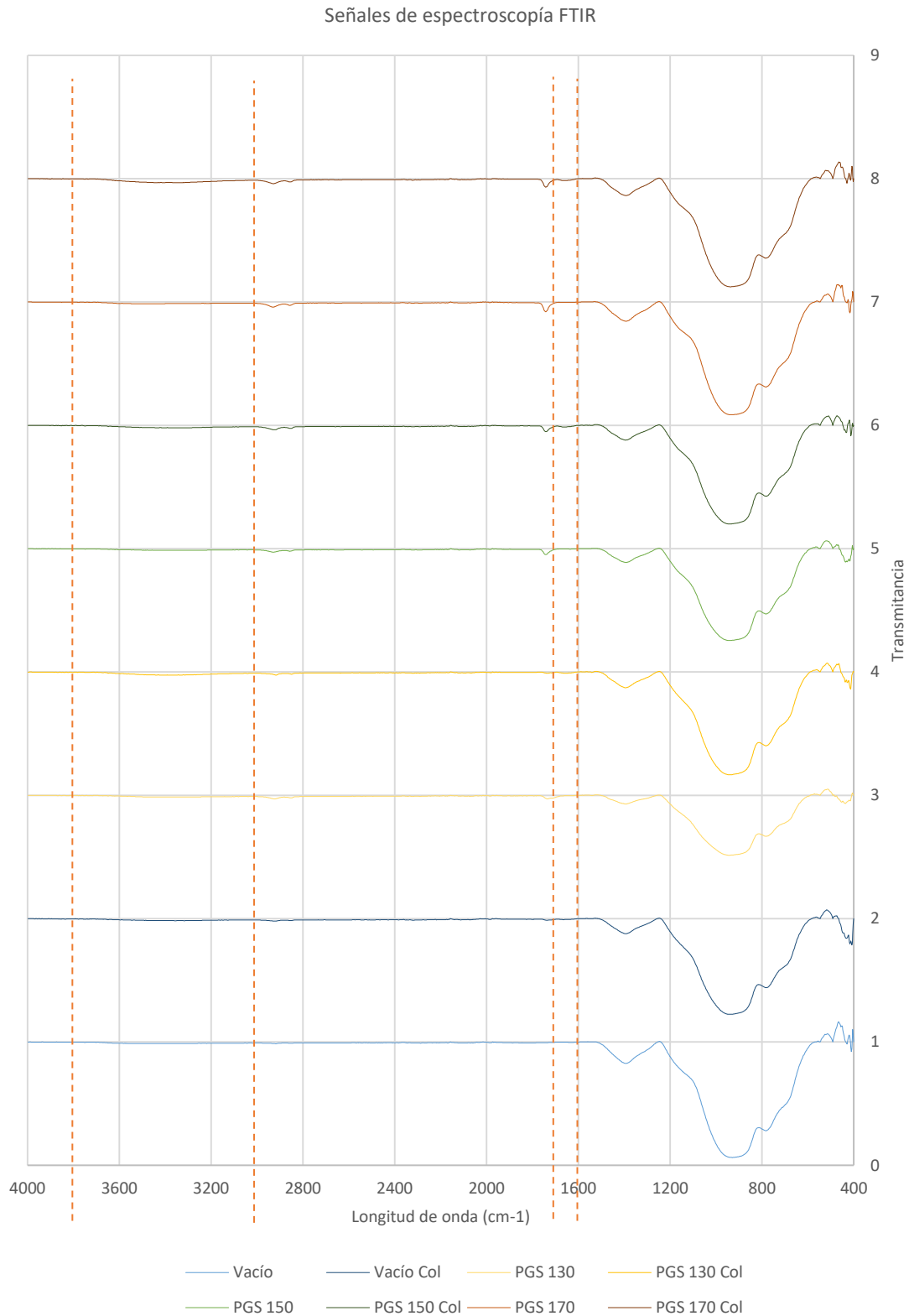


Figura 29. Espectroscopía FTIR para la combinación de los materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C; antes y después de la exposición a colágeno en superficie durante 10 minutos.

A continuación, en la figura 30, se muestra al detalle otro rango de influencia del PGS y por tanto el espesor de dicha capa. Se observa de nuevo que la señal aportada por el PGS es mínima y no depende de la temperatura. Sin embargo sí que existe una diferencia entre las muestras con PGS y con proteína adsorbida frente a aquellas muestras que no tienen proteína adsorbida, incluyendo en este segundo grupo la muestra de portamuestras tras haber sido expuesto a colágeno en superficie.

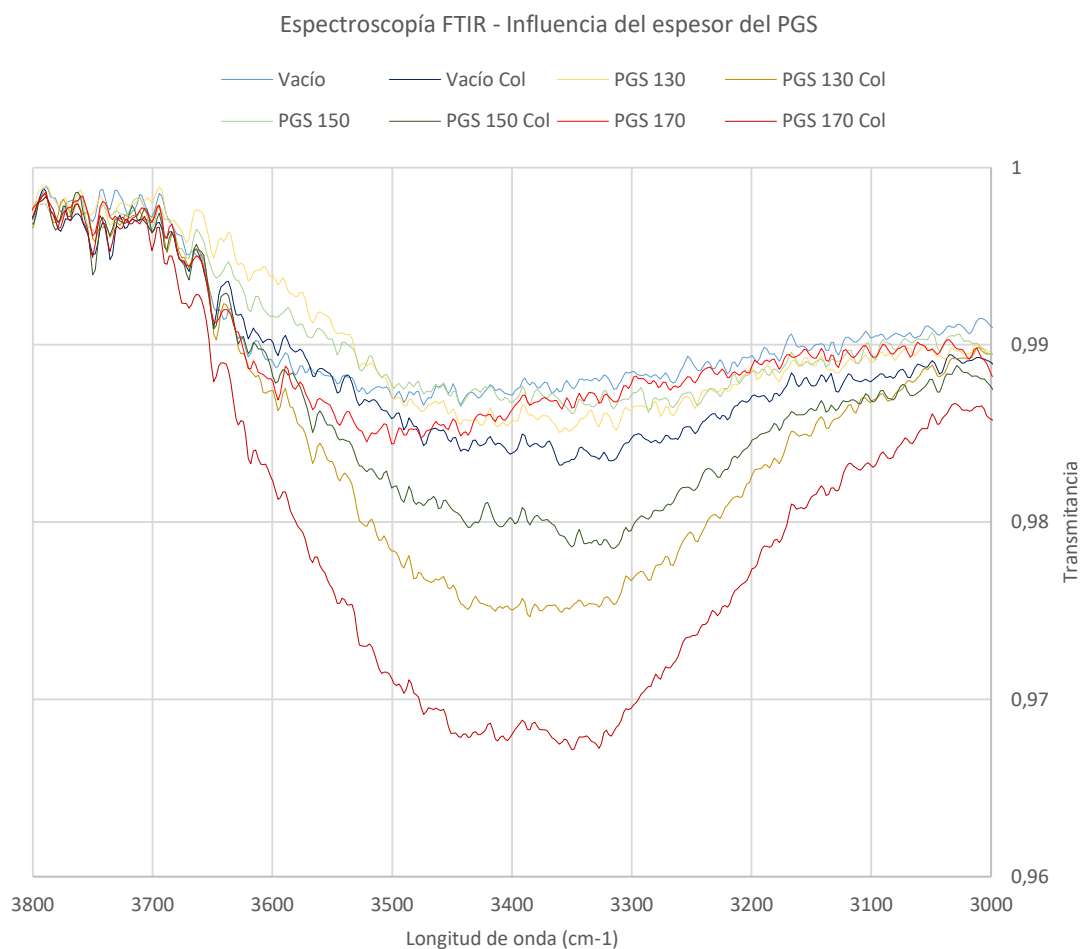


Figura 30. Acotación del espectro FTIR en el rango desde 3800 a 3000 cm^{-1} para los siguientes materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C; antes y después de la exposición a colágeno en superficie durante 10 minutos.

Finalmente donde se observó claramente la presencia de proteína fue en el rango entre 1700 a 1600 cm^{-1} . En la figura 31 se vio como la señal de las muestras tomadas antes de la exposición a la proteína tuvo una transmitancia casi total y sin apenas diferencias. Sin embargo, la señal obtenida de las muestras con colágeno adsorbido presentó diferencias de este primer grupo, siendo su transmitancia menor. Además se observó una tendencia de mayor presencia de proteína conforme aumenta la temperatura de curado. En cualquier caso, es necesario profundizar más en esta técnica para obtener resultados y extraer conclusiones más fiables ya que las diferencias en el nivel de la señal fueron inferiores al 0,15% del máximo de señal transmitida.

Espectroscopía FTIR - Influencia del espesor del PGS

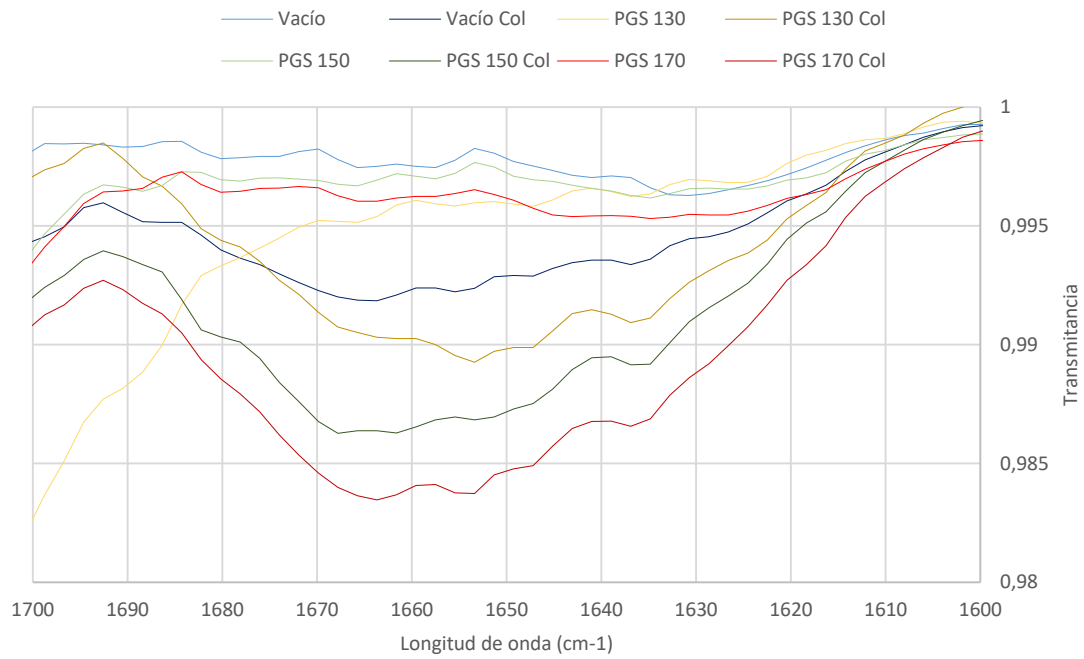


Figura 31. Acotación del espectro FTIR en el rango desde 1600 a 1700 cm^{-1} para los siguientes materiales: portamuestras vacío, PGS 130°C, PGS 150°C, PGS 170°C; antes y después de la exposición a colágeno en superficie durante 10 minutos.

5. Conclusiones

Tras la realización de este Trabajo de Fin de Máster en primer lugar se lograron los objetivos planteados: Se obtuvieron superficies planas de material, PGS, sobre las que realizar todo tipo de ensayos, por lo que la topografía superficial no influyó en los resultados de estos. Además, se obtuvo nueva información acerca del PGS en lo que respecta a la tensión superficial, polaridad e influencia de la temperatura de curado en la interacción de este con las proteínas presentes en la matriz extracelular.

Comenzando por la tensión superficial y la polaridad, se ha descrito unos valores de tensión superficial en el rango entre los 36 y 38 mN/m. Por otro lado, se ha observado que la polaridad disminuye con el aumento de la temperatura de curado, obteniendo unos valores de 2.83 para el PGS curado a 130°C, 2.70 para el PGS curado a 150°C y 2.67 para el PGS curado a 170°C. Este fenómeno es influido por la cantidad de grupos terminales OH y COOH de los monómeros que no se enlazan debido a que a menor temperatura, menor es la cinética de la reacción que enlaza dichos grupos terminales.

Finalmente de los estudios de adsorción de proteína se obtuvieron resultados contradictorios pues, por un lado del ensayo cuantificación de proteína se extrajo que si bien es cierto que la adsorción de esta es mayor en las muestras con PGS que los portamuestras vacíos, no se observó ninguna tendencia que relacionase la temperatura de curado con la cantidad de proteína adsorbida en superficie. Sin embargo, del estudio de espectroscopía FTIR sí que se extrajo cierta tendencia de adsorción en relación con la temperatura de curado. Se observó, para el rango desde 1800 a 1600 cm^{-1} que la señal inducida por la presencia de colágeno fue mayor cuanto mayor fuese la temperatura de curado del material. En lo que respecta al portamuestras sin PGS, la adsorción era marginal tanto en el ensayo de cuantificación de proteína como en la espectroscopía FTIR. Por lo tanto el PGS favorece la adsorción de colágeno y la fibronectina, favoreciendo a su vez la adhesión celular.

6. Estudios en paralelo y líneas futuras

Fuera del marco en el que se establece este TFM se llevan a cabo en paralelo una serie de estudios y ensayos para caracterizar la influencia de diferentes procesos de síntesis así como diferentes temperaturas de curado en relación con la interacción proteica y con especial interés su comportamiento e influencia cuando se pone en contacto con células.

En primer lugar, con base en las muestras obtenidas en este TFM se llevó a cabo un estudio de adsorción de proteína superficial empleando la técnica de la AFM. En estos resultados se observó que a mayor temperatura de curado, la adsorción incrementa, por lo tanto concuerda con los resultados obtenidos de la espectroscopía FTIR.

En cuanto a las líneas futuras, como ya se ha visto en la introducción, los campos de aplicación de este material son varios, sin embargo los productos comercializados no pasan de la venta del propio polímero. En los próximos años es probable que se produzca una transición de los estudios de laboratorio a aplicaciones comerciales como podría ser el recubrimiento de dispositivos o implantes para mejorar la biocompatibilidad de estos, provocando una reacción por parte del cuerpo que sea más interesante que las propuestas actuales.

Sin embargo cabe destacar que el paso previo a la comercialización son los ensayos in vivo y los ensayos clínicos. Estos cobran especial importancia teniendo en cuenta que el PGS en los estudios in vitro muestra una tasa de degradación y pérdida de propiedades mecánicas superior a la observada en los ensayos de caracterización, por lo que la extrapolación de su comportamiento en el organismo está por estudiar.

En definitiva el PGS es un biomaterial prometedor, por sí mismo o en combinación con otros elementos. Es posible que en un futuro cercano veamos soluciones por parte de la industria de la salud que integre dicho material y mejore la calidad de vida de los pacientes.

7. Bibliografía

- AFM imaging modes / MyScope (sin fecha). Disponible en: <https://myscope.training/legacy/spm/background/modes/> (Accessed: 29 June 2019).
- Agrawal, C. M. and Ray, R. B. (2001) *Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering*. Disponible en: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/1097-4636\(200105\)55:2%3C141::AID-JBM1000%3E3.0.CO;2-J](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/1097-4636(200105)55:2%3C141::AID-JBM1000%3E3.0.CO;2-J) (Visitado: 29 June 2019).
- American Academy of Ophthalmology (sin fecha) *Ridley, Harold - American Academy of Ophthalmology*. Disponible en: <https://www.aao.org/biographies-detail/harold-ridley-md> (Visitado: 27 June 2019).
- Apple, D. J. and Sims, J. (1996) 'Harold Ridley and the invention of the intraocular lens.', *Survey of ophthalmology*. Elsevier, 40(4), pp. 279–292. doi: 10.1016/S0039-6257(96)82003-0.
- Bandyopadhyay, A. and Bose, S. (2013) *Characterization of biomaterials*. First Edition.
- D.E. Bornside, C.W. Macosko and L.E. Scriven (1985) *Journal of imaging science., Journal of Imaging Technology*. Society of Photographic Scientists and Engineers. Disponible en: <https://experts.umn.edu/en/publications/modeling-of-spin-coating> (Visitado: 29 June 2019).
- Finch, J. (2011) 'The ancient origins of prosthetic medicine', *The Lancet*. Elsevier, 377(9765), pp. 548–549. doi: 10.1016/s0140-6736(11)60190-6.
- García, C. P. (2001) *BIOMATERIALES (NOTAS DE CLASE)*. First. Edited by Universidad Nacional de Colombia. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/47392/1/claudiapatriciagarciagarciaga.2001.pdf> (Visitado: 27 June 2019).
- Gedde, U. W. (Ulf W. . (1995) *Polymer physics*. Chapman & Hall. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=lem3fC7XdnkC&oi=fnd&pg=PR11&ots=BlmRfkZSeS&sig=Gsnxy4oUdys7BQR3Cy36l8FwaUA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (Visitado: 12 July 2019).
- Halil Murat, A. and Atakan, T. (2017) 'Poly(Glycerol-Sebacate) Elastomer: A Mini Review', *Orthoplastic Surgery & Orthopedic Care International Journal*, 1(2). doi: 10.31031/OOIJ.2017.01.000507.
- Hall, D. B., Underhill, P. and Torkelson, J. M. (1998) 'Spin coating of thin and ultrathin polymer films', *Polymer Engineering & Science*. John Wiley & Sons, Ltd, 38(12), pp. 2039–2045. doi: 10.1002/pen.10373.
- HARRISON, K. (2007) 'Introduction to polymeric drug delivery systems', *Biomedical Polymers*. Woodhead Publishing, pp. 33–56. doi: 10.1533/9781845693640.33.
- Li, Y. *et al.* (2013) 'A comparative study on poly(xylitol sebacate) and poly(glycerol sebacate): mechanical properties, biodegradation and cytocompatibility', *Biomedical Materials*, 8(3), p. 035006. doi: 10.1088/1748-6041/8/3/035006.
- Liechty, W. B. *et al.* (2010) 'Polymers for Drug Delivery Systems', *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.*, 1, pp. 149–173. doi: 10.1146/annurev-chembioeng-073009-100847.
- Liu, X. and Ma, P. X. (2004) *Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering, Annals of Biomedical Engineering*. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1023/B:ABME.0000017544.36001.8e.pdf> (Visitado: 29 June 2019).

- London, S. M. of (sin fecha) *Copy of Roman artificial leg, London, England, 1905-1915 | Science Museum Group Collection*. Disponible en: <https://collection.sciencemuseum.org.uk/objects/co84549/copy-of-roman-artificial-leg-london-england-1905-1915-artificial-leg> (Visitado: 27 June 2019).
- Mitsak, A. G., Dunn, A. M. and Hollister, S. J. (2012) 'Mechanical characterization and non-linear elastic modeling of poly(glycerol sebacate) for soft tissue engineering', *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 11, pp. 3–15. doi: 10.1016/j.jmbbm.2011.11.003.
- Nerlich, A. G. *et al.* (2000) 'Ancient Egyptian prosthesis of the big toe.', *Lancet (London, England)*. Elsevier, 356(9248), pp. 2176–9. doi: 10.1016/S0140-6736(00)03507-8.
- Park, J. B. and Lakes, R. S. (1992) 'Introduction to Biomaterials', in *Biomaterials*. Boston, MA: Springer US, pp. 1–6. doi: 10.1007/978-1-4757-2156-0_1.
- Real Academia de la lengua Española (2018) *libro | Definición de libro - «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario*. Disponible en: <https://dle.rae.es/?id=NG3ktc6> (Visitado: 26 June 2019).
- Roy, H. *et al.* (2016) 'Polymers in Drug Delivery Technology, Types of Polymers and Applications Formulation and Development of Programmable Device for Anti-Retroviral agent View project Projection and Fabrication of Solid Lipid Nanoparticle of Selective anti retroviral drug by vegetable oil View project Polymers in Drug Delivery Technology, Types of Polymers and Applications', *Scholars Academic Journal of Pharmacy (SAJP)*, 5(7), pp. 305–308. doi: 10.21276/sajp.2016.5.7.7.
- Scientific™, T. (sin fecha) 'Micro BCA Protein Assay Kit. Preparation of Standards and Working Reagent', 0747(23235), p. Number 23235.
- Secant Group (sin fecha) *Regenerative Medicine Bioresorbable Resin Technology | Secant Group*. Disponible en: <https://secant.com/technology/biomedical-technology/bioresorbable-resin> (Visitado: 29 June 2019).
- Tapping mode | MyScope* (sin fecha). Available at: <https://myscope.training/legacy/spm/background/modes/tapping.php> (Visitado: 29 June 2019).
- Teruel, M., Kuthirummal, N. and Levi, N. (2011) 'Biopolymers for Medical Applications: Polyglycerol Sebacate (PGS) doped Hydroxyapatite (HA)', *Bulletin of the American Physical Society*. American Physical Society, Volume 56, Number 4. Disponible en: <http://meetings.aps.org/Meeting/APR11/Event/145894> (Visitado: 29 June 2019).
- Wang, Y. *et al.* (2002) *A tough biodegradable elastomer*. Disponible en: <http://biotech.nature.com> (Visitado: 29 June 2019).
- Wang, Y. *et al.* (2016) *Poly(glycerol sebacate) in tissue engineering and regenerative medicine*. Disponible en: www.sigmaaldrich.com (Visitado: 29 June 2019).
- Wang, Y., Kim, Y. M. and Langer, R. (2003) 'In vivo degradation characteristics of poly(glycerol sebacate)', *Journal of Biomedical Materials Research*, 66A(1), pp. 192–197. doi: 10.1002/jbm.a.10534.
- Zapata, D., Pujol, R. and Coda, F. (2012) 'Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente', *Tecnica industrial*, 297, pp. 76–80. Disponible en: <http://www.tecnicaindustrial.es/tiadmin/numeros/82/889/a889.pdf> (Visitado: 29 June 2019).

8. Anexo 1 – Medidas ángulo de contacto en grados (°)

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	N11	MEDIANA	PROMEDIO
5	45,40	47,40	43,40	29,50	42,60	56,20	18,60	31,30	94,90	71,50	49,70	45,40	48,23
10	45,20	45,70	42,90	29,30		54,90	18,90	31,10	87,80	68,40	44,90	45,05	46,91
15	45,30	45,80	42,10	29,20		54,90	18,70	31,00	85,70	64,60	45,10	45,20	46,24
20	44,70	45,40	42,00	29,00	40,40	54,90	18,70	32,00	83,50	64,80	44,80	44,70	45,47
25	45,00	45,50	42,10	29,00		54,60	18,50	31,60	84,80	62,80	44,30	44,65	45,82
30	44,90	45,10	42,00	29,00	40,60	54,40	18,40	30,90	82,70	62,80	44,80	44,80	45,05
35	44,60	45,10	41,50	28,60	40,60	53,50	18,40	28,30	84,00	62,40	44,90	44,60	44,72
40	44,70	44,90	41,50	28,90	40,90	53,40	18,60	28,30	83,40	61,80	43,70	43,70	44,55
45	43,90	44,80	41,20	28,70	40,80	53,50	18,50	28,30	81,50	61,40	43,70	43,70	44,21
50	43,90	44,40	41,50	28,40	39,70	53,10	18,20	28,40	82,00	61,10	44,70	43,90	44,13
55	44,40	44,30	41,20	28,50	40,70	51,50	18,50	30,70	80,10	60,60	44,30	44,30	44,07
60	44,20	43,40	40,70	28,30	39,60	51,30	18,50	30,70	79,60	60,50	43,90	43,40	43,70
65	43,80	44,20	40,50	28,10	40,40	51,40	18,30	30,60	79,50	60,30	43,70	43,70	43,71
70	44,10	44,40	40,70	28,10	39,60	52,00	18,10	30,60	79,30	59,80	43,70	43,70	43,67
75	43,80	43,70	40,60	28,00	39,90	51,20	17,90	30,40	80,10	59,40	43,30	43,30	43,48
80	43,70	43,70	40,30	28,10	39,50	51,10	18,10	30,10	79,10	58,90	43,80	43,70	43,31
85	43,90	43,70	40,30	27,90	39,70	50,50	18,20	30,00	78,00	58,50	43,40	43,40	43,10
90	43,40	43,60	40,90	27,70	39,50	50,90	18,00	29,90	78,60	58,20	42,90	42,90	43,05
95	43,60	43,80	40,20	27,80	39,20	49,80	17,70	29,90	77,30	58,20	42,80	42,80	42,75
100	43,20	43,50	39,80	27,80	39,10	50,00	17,60	30,00	78,00	57,90	42,40	42,40	42,66
105	42,90	43,20	39,50	27,60	39,00	50,20	17,90	29,90	77,60	57,00	42,90	42,90	42,52
110	43,00	43,10	39,60	27,30	39,00	49,90	17,80	30,70	77,10	56,80	42,50	42,50	42,44
115	43,00	42,70	40,50	27,50	39,10	49,30	17,80	30,50	77,70	56,40	41,70	41,70	42,38
120	43,60	42,80	39,90		38,30	49,00	17,60	30,60	77,00	56,40	43,40		
125	42,60	42,30				48,90	17,40	30,30	76,60	56,00	42,40		
130						49,10	17,30			55,60	42,50		

- Fluido: Agua
- Material: portamuestras vacío

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	73,90	73,90	72,10	71,80	71,50	70,30	73,80	75,10	73,70	74,60	73,75	73,07
10	72,80	72,80	73,40	70,50	71,40	70,10	72,80	73,90	73,70	72,50	72,80	72,39
15	71,50	71,50	71,10	69,90	70,70	69,90	72,00	73,40	72,40	73,00	71,50	71,54
20	71,60	71,60	71,40	69,60	70,50	69,40	72,30	72,70	72,20	72,30	71,60	71,36
25	71,20	71,20	72,80	69,70	69,90	68,80	71,90	72,40	72,00	72,70	71,55	71,26
30	70,40	70,40	72,00	69,40	69,70	68,70	71,30	72,40	71,80	71,60	70,85	70,77
35	70,00	70,00	71,40	68,30	69,50	68,00	70,70	72,20	71,40	71,50	70,35	70,30
40	70,20	70,20	71,00	67,90	70,00	68,40	71,00	72,00	70,90	71,30	70,55	70,29
45	69,50	69,50	69,20	67,80	69,80	67,90	69,90	71,90	70,90	71,30	69,65	69,77
50	71,50	71,50	68,10	68,50	69,20	67,60	70,60	71,60	70,40	70,80	70,50	69,98
55	69,10	69,10	71,10	68,10	69,00	67,20	70,40	71,40	70,40	70,50	69,75	69,63
60	69,50	69,50	71,50	67,40	68,90	67,50	70,30	71,40	69,90	70,30	69,70	69,62
65	69,00	69,00	70,50	67,40	69,10	67,20	70,10	70,90	69,60	70,10	69,35	69,29
70	69,10	69,10	71,10	67,70	68,80	67,00	70,10	71,10	69,90	69,80	69,45	69,37
75	68,90	68,90	69,20	67,10	68,90	67,20	69,30	71,00	69,40	69,70	69,05	68,96
80	69,20	68,40	70,90	66,60	68,40	66,70	69,40	70,40	69,50	69,60	69,30	68,91
85	68,50	68,20	69,80	67,20	68,10	66,50	68,40	70,70	68,70	69,20	68,45	68,53
90	68,30	68,50	69,50	66,40	68,00	66,40	69,00	70,10	68,70	69,40	68,60	68,43
95	68,80	68,20	69,00	66,70	67,60	66,40	68,90	70,30	68,70	69,40	68,75	68,40
100	68,20	64,80	70,10	66,30	67,70	65,80	69,50	70,20	68,80	69,10	68,50	68,05
105	67,70	67,50	69,50	66,30	67,60	65,80	68,50	69,90	68,40	68,60	68,05	67,98
110	67,90	67,40	63,30	66,40	66,90	65,50	68,20	69,80	68,40	68,70	67,65	67,25
115	67,70	68,40	69,50	66,10	67,40	65,30	68,00	69,60	67,90	68,70	67,95	67,86
120	67,90	68,70	69,10	66,20	66,80	65,20	68,30	70,00	68,50			
125	67,80	67,20	68,20						68,20			
130												

- Fluido: Agua
- Material: PGS 130°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	68,40	69,10	75,20	75,00	68,70	68,50	69,20	76,60	62,50	59,50	68,90	69,27
10	68,20	68,40	73,50	73,60	67,80	68,30	68,00	75,80	62,00	57,30	68,25	68,29
15	67,40	68,10	71,90	73,00	67,20	66,60	67,30	75,80	62,00	56,30	67,35	67,56
20	66,50	67,40	71,40	72,60	67,40	66,90	67,20	75,60	60,90	55,10	67,30	67,10
25	66,90	67,90	71,70	72,10	66,40	66,80	66,90	75,70	60,90	54,30	66,90	66,96
30	66,60	67,10	70,90	71,40	66,60	67,00	66,70	75,10	61,20	54,20	66,85	66,68
35	65,80	67,20	70,60	71,10	66,10	67,00	66,50	74,50	60,80	53,90	66,75	66,35
40	66,10	66,90	70,80	71,40	66,40	65,80	66,30	74,70	60,00	54,20	66,35	66,26
45	65,00	66,50	70,80	71,10	65,80	65,50	66,60	74,50	60,20	53,50	66,15	65,95
50	65,40	67,30	69,70	70,80	65,80	65,00	65,70	74,40	60,20	53,80	65,75	65,81
55	66,20	66,90	69,50	70,20	66,00	64,40	65,80	74,10	59,60	53,20	66,10	65,59
60	64,80	66,50	69,80	70,40	65,40	65,00	65,40	74,00	60,20	53,50	65,40	65,50
65	65,00	65,80	70,10	70,40	65,10	64,90	65,80	71,80	59,30	52,40	65,45	65,06
70	65,10	66,20	69,50	69,90	65,40	64,60	65,20	73,30	59,60	52,40	65,30	65,12
75	65,40	66,10	69,90	69,80	64,60	64,40	65,00	73,20	59,50	52,70	65,20	65,06
80	64,90	67,00	68,80	69,80	65,00	64,10	64,80	73,10	59,10	52,60	64,95	64,92
85	64,40	66,40	69,60	69,40	64,30	64,00	64,20	72,50	59,90	52,00	64,35	64,67
90	64,20	65,80	69,60	69,20	64,60	64,20	64,20	73,00	59,00	51,80	64,40	64,56
95	65,10	65,90	69,20	69,30	64,30	63,90	64,20	72,50	59,20	51,40	64,70	64,50
100	64,40	66,40	68,20	69,00	64,20	63,20	63,70	72,50	58,10	51,60	64,30	64,13
105	64,20	66,10	69,10	68,70	63,80	63,80	64,10	72,10	58,20	50,80	64,15	64,09
110	64,10	65,50	68,60	68,60	63,70	63,20	64,20	72,50	58,00	50,70	64,15	63,91
115	64,60	65,90	69,00	68,40	63,70	62,70	63,80	72,30	57,50	50,70	64,20	63,86
120	64,00	65,50	69,00	68,60	63,60	62,90	63,40	71,60	57,90	51,00	63,80	63,75
125	63,80		68,50	68,30					57,60			
130			68,60									

- Fluido: Agua
- Material: PGS 150°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	63,60	75,10	73,00	68,80	74,30	72,70	67,60	66,80	68,60	64,30	68,70	69,48
10	62,60	72,70	72,60	65,80	73,20	72,10	67,50	66,50	68,50	63,20	68,00	68,47
15	62,10	72,00	72,10	65,10	72,40	70,90	66,60	66,30	68,20	63,20	67,40	67,89
20	62,10	71,90	72,40	65,00	71,80	71,00	67,70	66,00	67,90	62,70	67,80	67,85
25	61,50	71,60	71,60	64,50	72,00	70,70	67,10	65,60	67,80	62,50	67,45	67,49
30	61,10	71,70	71,90	64,80	71,10	70,80	67,40	65,40	68,00	62,40	67,70	67,46
35	61,20	71,30	71,20	64,80	72,00	70,00	67,00	65,60	67,80	62,10	67,40	67,30
40	60,60	71,40	71,00	64,20	71,30	70,10	67,10	65,20	67,50	61,90	67,30	67,03
45	60,40	71,10	71,20	63,90	71,30	69,30	66,30	65,10	67,50	62,00	66,90	66,81
50	59,80	70,70	70,30	64,30	71,50	69,20	66,40	64,60	67,20	62,00	66,80	66,60
55	60,00	70,90	70,60	63,70	70,90	69,30	65,90	64,90	67,60	61,90	66,75	66,57
60	60,10	70,60	70,50	63,60	71,30	69,80	65,90	64,40	67,30	61,60	66,60	66,51
65	59,70	70,20	70,20	63,50	70,50	69,20	65,80	64,50	66,90	61,30	66,35	66,18
70	59,40	70,40	70,10	63,40	70,90	68,90	66,20	64,60	67,00	61,20	66,60	66,21
75	59,60	70,10	70,20	63,40	70,40	69,00	66,40	64,40	66,50	60,90	66,45	66,09
80	59,10	69,60	70,20	63,00	70,80	69,10	66,20	64,40	66,60	60,80	66,40	65,98
85	59,50	69,90	70,00	63,40	70,60	69,00	65,80	63,90	66,60	61,00	66,20	65,97
90	59,20	69,10	69,90	62,90	69,70	68,50	65,80	63,70	66,10	60,70	65,95	65,56
95	59,40	69,20	69,50	62,60	70,10	68,40	65,40	63,70	65,80	60,40	65,60	65,45
100	58,80	69,30	69,60	63,00	69,40	68,50	65,90	63,40	66,00	60,40	65,95	65,43
105	59,00	69,30	69,70	62,50	69,40	68,50	65,40	63,20	65,60	60,40	65,50	65,30
110	59,00	69,20	69,90	62,50	69,40	68,00	65,20	63,10	65,60	60,50	65,40	65,24
115	58,60	68,40	69,90	62,10	69,50	68,40	64,60	63,00	65,60	60,10	65,10	65,02
120	59,00	68,90	69,90	62,00	69,00	68,10	64,10	62,60	65,40	59,90	64,75	64,89
125	58,80	69,00	69,40	62,10	68,90	68,40			65,40	60,00		
130												

- Fluido: Agua
- Material: PGS 170°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	51,00	50,20	49,00	45,80	47,30	47,40	47,70	50,30	50,70	51,30	49,60	49,07
10	52,20	50,90	48,90	45,90	47,60	46,50	48,20	50,00	50,80	50,20	49,45	49,12
15	53,00	51,30	49,40	46,30	46,80	46,90	47,50	50,80	50,90	49,90	49,65	49,28
20	53,80	51,60	49,30	46,20	47,20	47,80	48,20	51,20	50,80	50,70	50,00	49,68
25	51,40	51,20	49,70	46,30	47,00	47,70	48,20	50,20	50,90	50,30	49,95	49,29
30	52,80	51,00	49,00	45,80	47,40	47,90	47,40	50,70	51,00	50,80	49,85	49,38
35	53,30	51,20	49,70	45,90	47,30	47,70	47,70	50,10	50,80	50,90	49,90	49,46
40	52,90	50,70	49,30	46,60	47,50	47,80	48,30	50,20	50,70	50,70	49,75	49,47
45	52,40	51,30	50,20	46,10	47,10	47,20	48,30	49,40	50,40	50,60	49,80	49,30
50	52,20	51,20	49,00	45,90	46,90	46,60	48,10	50,90	50,30	50,40	49,65	49,15
55	52,30	50,90	49,30	46,10	47,00	46,90	48,30	49,20	50,40	50,50	49,25	49,09
60	52,10	50,00	49,00	46,10	47,00	47,10	48,00	50,00	50,40	50,60	49,50	49,03
65	51,80	50,80	48,70	45,80	47,20	47,00	47,20	49,50	50,40	50,30	49,10	48,87
70	51,90	50,40	48,70	45,80	47,00	46,50	47,90	50,20	50,10	50,40	49,40	48,89
75	51,70	51,40	48,90	46,10	46,70	47,50	47,80	50,30	50,20	50,30	49,55	49,09
80	52,20	51,10	48,20	45,90	46,70	46,80	48,00	50,10	50,40	50,60	49,15	49,00
85	51,40	50,70	49,30	46,00	47,20	47,10	48,50	50,10	49,80	50,10	49,55	49,02
90	51,00	51,40	49,30	45,40	47,10	47,20	48,10	50,10	50,10	50,10	49,70	48,98
95	51,30	50,70	49,40	45,70	46,80	47,80	47,90	49,30	50,10	50,90	49,35	48,99
100	51,90	50,80	48,90	46,00	46,80	47,10	48,60	49,60	50,40	50,40	49,25	49,05
105	51,20	50,90	49,20	46,10	46,70	46,80	48,10	50,20	50,20	50,80	49,70	49,02
110	51,70	50,80	48,80	46,00	47,00	47,20	47,70	49,70	50,30	50,20	49,25	48,94
115	51,20	50,60	48,60	46,00	46,80	47,30	47,90	50,00	49,90	50,30	49,25	48,86
120	51,30	50,70	48,40		46,90	46,80	47,60	49,80	50,00		49,10	48,94
125	51,40	50,40	48,60		46,80	47,30	47,90	49,90	50,00		49,25	49,04
130	50,90		48,80		46,60	47,90	47,90	49,40			48,35	48,58

- Fluido: Diyodometano
- Material: Portamuestras vacío

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	48,20	43,40	43,10	36,80	39,10	36,20	35,40	39,30	41,90	38,60	39,20	40,20
10	48,30	43,40	40,70	36,80	38,60	36,30	35,60	39,50	42,20	36,60	39,05	39,80
15	48,10	43,30	41,00	36,20	38,30	36,20	35,70	39,30	42,20	37,10	38,80	39,74
20	48,30	43,20	41,70	36,80	38,30	36,20	35,20	39,50	41,90	35,90	38,90	39,70
25	48,50	43,10	40,80	36,90	38,70	36,20	35,40	39,50	42,20	36,50	39,10	39,78
30	48,10	43,40	41,00	36,70	38,40	36,20	35,40	39,10	42,40	37,40	38,75	39,81
35	47,50	43,30	40,90	36,90	38,20	36,10	35,40	39,10	42,90	37,50	38,65	39,78
40	48,20	43,30	41,30	36,80	38,60	36,10	35,70	39,30	42,00	39,20	39,25	40,05
45	48,40	42,90	40,80	36,70	38,20	36,30	35,40	39,30	42,30	38,80	39,05	39,91
50	48,00	43,00	40,80	36,80	38,50	36,20	35,50	39,00	42,10	38,60	38,80	39,85
55	48,00	43,00	40,70	36,60	38,30	36,10	36,40	39,00	42,30	38,60	38,80	39,90
60	47,80	43,20	41,00	36,40	38,30	36,00	35,30	39,10	42,20	39,70	39,40	39,90
65	48,30	43,00	40,70	36,60	38,10	36,10	35,30	39,20	41,90	38,30	38,75	39,75
70	47,90	43,30	40,70	36,40	38,40	36,10	35,20	39,10	42,20	37,50	38,75	39,68
75	47,90	43,10	40,70	36,50	38,40	36,20	35,30	39,40	42,10	38,50	38,95	39,81
80	48,20	43,00	41,00	36,30	37,90	35,90	35,10	38,70	42,00	37,00	38,30	39,51
85	47,80	43,00	40,70	36,50	37,90	35,90	35,40	39,00	42,00	36,20	38,45	39,44
90	48,30	43,00	40,80	36,60	38,00	36,10	35,40	39,10	41,60	36,50	38,55	39,54
95	47,90	43,00	40,60	36,50	38,00	35,90	35,20	39,00	42,00	36,90	38,50	39,50
100	47,70	43,00	40,60	36,10	37,80	35,80	35,30	39,20	41,50	36,50	38,50	39,35
105	48,30	43,13	40,40	36,20	37,80	36,10	35,10	38,90	42,00	35,90	38,35	39,38
110	47,90	42,90	41,00	36,40	37,90	35,90	35,00	39,10	42,10		39,10	39,80
115	48,00	42,70	40,50	36,30	37,80	35,70	35,20	38,70	42,00		38,70	39,66
120	47,50	42,80	40,70	36,20	37,90	35,80	34,90	38,90	41,80		38,90	39,61
125		43,00		36,30	37,90	35,70	35,30	38,70	41,60		37,90	38,36
130		42,70					35,00	38,90			38,90	38,87

- Fluido: Diyodometano
- Material: PGS 130°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	52,3	41	40,9	44,1	45,40	36,70	47,70	51,10	44,50	46,1	44,95	44,98
10	52,30	40,70	40,80	44,10	45,50	36,60	47,50	52,60	44,50	46,70	45,00	45,13
15	52,20	40,90	40,60	44,00	46,00	37,10	47,40	53,10	44,50	47,80	45,25	45,36
20	53,00	41,40	40,90	44,00	45,60	36,80	47,80	54,00	44,40	47,70	45,00	45,56
25	52,40	41,40	40,90	44,00	45,50	34,30	47,70	53,90	44,50	47,50	45,00	45,21
30	51,90	40,70	40,80	44,00	45,30	34,40	47,20	53,80	44,40	47,50	44,85	45,00
35	52,30	41,40	40,70	43,80	45,20	36,40	47,20	54,40	44,20	47,90	44,70	45,35
40	51,90	40,70	40,80	43,90	45,60	36,20	47,30	51,70	44,30	47,50	44,95	44,99
45	52,10	41,30	40,40	43,80	45,40	36,30	47,20	53,90	44,20	47,70	44,80	45,23
50	52,10	40,70	40,70	43,90	45,50	36,20	47,40	53,30	44,40	47,60	44,95	45,18
55	52,60	41,20	40,60	43,90	45,70	36,40	47,20	52,70	44,2	47,60	44,95	45,21
60	51,90	41,10	40,40	43,70	45,50	36,30	47,50	53,70	44,00	47,60	44,75	45,17
65	51,50	41,10	40,70	43,80	45,40	36,20	47,10	53,70	44,30	47,30	44,85	45,11
70	51,30	41,10	40,40	43,80	45,60	36,30	46,90	54,00	44,10	47,60	44,85	45,11
75	51,40	41,00	40,40	43,60	45,50	36,00	47,20	53,50	44,00	47,70	44,75	45,03
80	51,00	40,50	40,50	43,70	45,60	36,10	47,10	53,70	44,20	47,50	44,90	44,99
85	51,40	40,60	40,60	43,70	45,10	36,20	47,10	52,90	44,20	47,40	44,65	44,92
90	50,90	40,80	40,60	43,70	45,20	36,20	47,00	54,00	43,80	47,50	44,50	44,97
95	51,20	40,90	40,30	43,60	45,40	36,00	47,20	53,60	44,10	47,30	44,75	44,96
100	51,10	40,40	40,40	43,60	45,20	36,10	47,10	53,50	44,10	47,50	44,65	44,90
105	51,30	40,80	40,30	43,70	45,50	36,00	47,20	53,40	44,00	47,60	44,75	44,98
110	51,20	40,90	40,30	43,40	45,40	35,90	47,00	53,00	43,80	47,10	44,60	44,80
115	51,20	40,70	40,30	43,50	45,20	35,70	47,10	51,60	43,80	47,50	44,50	44,66
120	51,10	40,40	40,20	43,60		35,90	47,10	53,10		46,60		
125		40,30	40,20					53,30		47,60		
130		40,70						53,30		47,30		

- Fluido: Diyodometano
- Material: PGS 150°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	39,40	50,30	51,5	45,70	49,60	57,10	42,00	42,9	48,8	71,70	49,20	49,90
10	41,10	50,40	52,40	45,30	49,50	57,30	40,40	43,60	51,80	71,30	49,95	50,31
15	41,00	50,20	52,30	45,40	49,60	57,50	39,70	43,40	48,50	71,10	49,05	49,87
20	41,50	50,20	52,20	45,60	49,00	57,40	40,10	43,40	48,10	70,80	48,55	49,83
25	41,90	50,50	51,70	45,90	49,10	57,40	39,80	42,80	48,20	71,00	48,65	49,83
30	41,30	50,40	51,90	45,60	48,90	57,90	39,70	43,20	48,40	70,80	48,65	49,81
35	41,20	50,00	51,80	45,60	48,80	57,60	39,80	42,90	48,20	71,20	48,50	49,71
40	41,80	50,40	51,60	45,40	48,50	57,10	39,60	42,70	48,20	70,70	48,35	49,60
45	41,70	50,00	51,50	45,40	48,60	57,20	39,90	42,70	44,70	71,30	47,00	49,30
50	41,60	50,00	51,70		48,40	57,00	40,10	42,70	48,70	70,80	48,70	50,11
55	41,30	50,00	51,40	39,70	48,30	56,90	39,80	43,10	48,20	70,60	48,25	48,93
60	41,00	50,10	51,50	39,70	48,50	57,10	39,90	43,10	44,60	70,60	46,55	48,61
65	41,40	50,00	51,30	39,50	48,60	57,00	40,10	42,90	48,50	70,60	48,55	48,99
70	41,10	50,30	51,20	40,20	48,60	56,50		42,60	48,00	70,70	48,60	49,91
75	40,80	49,80	51,30	40,10	48,10	56,90	40,40	42,90	48,20	71,10	48,15	48,96
80	41,20	49,90	51,20	40,10	48,20	57,00	40,20	42,70	48,30	70,50	48,25	48,93
85	41,20	50,10	51,10	39,60	48,20	56,80	40,40	42,90	48,10	70,20	48,15	48,86
90	41,20	49,70	50,90	39,40	48,00	56,80	40,20	43,00	48,00	70,20	48,00	48,74
95	41,40	50,00	51,10	40,40	48,00	56,60	40,00	42,70	48,40	70,70	48,20	48,93
100	41,30	50,10	50,60	40,00	48,00	56,80	39,90	42,60	48,20	71,50	48,10	48,90
105	41,20	49,90	50,90	39,50	47,90	59,60	40,00	42,60	48,40	71,20	48,15	49,12
110	40,60	49,90	51,10		47,90	56,80	40,20	42,50	47,60	70,70	47,90	49,70
115	41,00	49,70	50,50		47,80	56,70	40,10	42,60	48,10	70,80	48,10	49,70
120	41,00	49,70	50,50		47,70	56,60	39,90	42,70	48,00			
125		49,70	50,90		47,50	56,30		42,90	48,40			
130								43,00				

- Fluido: Diyodometano
- Material: PGS 170°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	30,20	26,90		21,00	23,70	16,70	25,30	16,70	28,40	21,00	23,70	23,32
10	30,20	26,00	36,10	18,80	9,10	18,70	25,00	16,80	11,50	20,00	19,40	21,22
15	29,00	24,00		18,00	22,60	17,10	25,70	16,60	32,30	19,60	22,60	22,77
20	30,80	25,00	33,60	18,70	7,80	18,30	25,00	16,50	22,80	19,40	21,10	21,79
25	30,70	25,10	33,00	18,50	14,50	17,30	25,10	16,60	30,10	19,10	22,10	23,00
30	30,10	25,20	35,50	18,20	22,40	17,90	25,30		19,30	18,70	22,40	23,62
35	30,80	25,20		18,70	22,50	18,30	25,20		19,00	18,60	20,75	22,29
40	30,60	24,40		18,10	22,90	18,30	25,20		19,00	18,70	20,95	22,15
45	30,10	25,10	56,40	17,90	22,10	18,60	25,30		17,90	18,70	22,10	25,79
50	30,40	25,30	49,00	18,70	12,90	17,00	24,80		17,00	18,60	18,70	23,74
55	29,80	24,40	43,50	18,60	22,50	17,40	24,80		15,50	18,50	22,50	23,89
60	29,50	24,90	40,10	19,40	15,70	17,60	25,00		15,60	18,40	19,40	22,91
65	29,30	24,90	34,50	18,70		17,30	25,20		15,50	18,30	21,80	22,96
70	29,20	25,10	29,20	18,00		17,10	25,80		15,40	18,20	21,65	22,25
75	29,30	25,00	53,40	18,20		17,30	25,30		15,60	18,30	21,65	25,30
80	29,20	25,00	50,90	19,00			25,60		15,30	18,40	25,00	26,20
85	29,00	24,90	50,70	18,40			23,70		15,20	18,10	23,70	25,71
90	29,00	25,00	32,00	18,90			25,10		15,00	18,30	25,00	23,33
95		25,50	40,60	18,20			25,30		14,90	17,70	21,75	23,70
100		25,00		18,30					14,70	18,30	18,30	19,08
105		25,00		18,40					14,50	18,40	18,40	19,08
110		24,70		18,00					13,80	18,40	18,20	18,73
115		25,10		18,80					13,50	18,30	18,55	18,93
120		24,90							13,50	18,50	18,50	18,97
125		24,50									24,50	24,50
130												

- Fluido: Dietilenglicol
- Material: Portamuestras vacío

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	63,70	62,10	69	70,50	66,80	49,90	60,30	57,60	50,80	53,10	61,20	60,38
10	61,30	60,00	67,00	68,10	64,70	49,50	58,50	57,90	50,80	51,60	59,25	58,94
15	61,00	59,30	67,00	67,70	63,40	48,10	58,40	59,70	50,70	51,40	59,50	58,67
20	60,90	59,00	65,30	66,40	62,20	48,40	58,80	57,30	50,70	50,30	58,90	57,93
25	59,60	60,10	66,40	65,00	63,00	47,20	58,30	58,00	51,00	50,90	58,95	57,95
30	60,00	59,50	65,20	64,40	60,50	47,40	57,50	57,60	50,60	51,40	58,55	57,41
35	58,50	58,30	66,20	62,80	59,90	47,70	57,70	56,20	50,70	53,50	58,00	57,15
40	58,40	58,30	64,70	62,20	59,10	46,70	57,20	56,40	50,60	50,70	57,75	56,43
45	58,00	56,10	64,80	61,40	58,30	46,70	56,90	55,50	50,60	51,20	56,50	55,95
50	58,30	58,20	66,20	60,40	57,80	46,30	57,80	55,70	50,60	50,90	57,80	56,22
55	58,70	57,70	63,60	59,60	58,00	46,50	57,50	56,80	50,90	50,70	57,60	56,00
60	57,70	57,50	63,90	59,60	57,40	46,60	56,50	55,40	50,60	50,20	56,95	55,54
65	57,60	57,40	65,00	58,40	56,80	46,20	56,30	55,60	50,90	50,70	56,55	55,49
70	58,20	57,30	63,90	58,40	57,10	47,20	55,90	56,20	50,50	49,60	56,65	55,43
75	57,10	57,50	64,00	57,60	56,10	46,50	56,60	55,50	50,40	49,80	56,35	55,11
80	56,90	57,30	62,80	58,00	56,70	46,40	56,00	57,40	50,70	50,10	56,80	55,23
85	56,30	58,10	63,00	57,00	56,10	46,30	56,10	55,30	50,70	50,40	56,10	54,93
90	56,30	57,00	62,50	57,50	55,70	46,40	55,70	55,80	50,70	50,50	55,75	54,81
95	55,90	57,00	62,40	57,10	56,00	45,60	57,30	54,80	51,10	50,60	55,95	54,78
100	56,00	57,30	62,40	56,10	55,70	45,90	56,00	54,90	50,50	50,50	55,85	54,53
105	55,60	56,40	62,30	56,20	55,60	45,30	56,30	56,20	50,60	51,00	55,90	54,55
110	55,80	56,10	61,80	55,80	55,40	45,90	56,70	54,30	50,20	50,20	55,60	54,22
115	56,60	55,90	62,10	55,70	56,80	45,20	56,10	55,20	51,10	49,70	55,80	54,44
120	54,70	56,00	62,90	55,80	54,80	45,10	56,20	54,30	51,40	50,30	54,75	54,15
125	55,60	55,90	61,40	54,80	55,00	45,20	56,10	53,60	50,40		55,00	54,22
130	55,10	55,50	62,20		54,80	45,00	55,80	55,30	50,20		55,20	54,24

- Fluido: Dietilenglicol
- Material: PGS 130°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	50,90	46,40	47,70	49,3	49,3	51,1	50,1	61,8	49,00	51,40	49,70	50,70
10	28,30	44,60	43,80	45,20	47,40	46,10	45,70	57,00	48,10	45,00	45,45	45,12
15	44,00	44,50	44,20	44,80	44,90	43,90	44,90	56,70	47,20	49,00	44,85	46,41
20	30,00	43,70	26,30	45,40	45,00	45,80	44,40	55,50	47,00	48,60	45,20	43,17
25	43,50	43,00	40,50	44,30	44,40	44,10	45,00	55,20	46,20	47,90	44,35	45,41
30	43,30	42,60	41,40	44,20	43,80	44,40	43,90	55,20	46,30	47,40	44,05	45,25
35	43,70	43,00	41,20	44,10	44,00	45,30	44,20	55,40	46,60	46,80	44,15	45,43
40	43,60	42,60	40,90	43,40	44,30	44,20	44,10	54,20	45,00	46,40	44,15	44,87
45	42,80	43,10	41,80	43,20	44,70	43,50	43,80	55,60	46,00	46,60	43,65	45,11
50	42,90	42,60	41,40	43,70	43,90	43,80	44,10	54,30	47,00	46,40	43,85	45,01
55	43,90	42,30	40,30	43,00	43,80	43,50	43,30	53,50	45,60	46,90	43,65	44,61
60	42,20	42,50	39,80	43,40	43,80	45,10	43,00	54,30	45,80	45,80	43,60	44,57
65	26,80	42,10	40,10	42,90	44,40	43,40	43,00	54,70	46,00	46,00	43,20	42,94
70	43,10	42,10	40,60	42,60	43,60	44,30	43,30	54,00	45,60	45,50	43,45	44,47
75	25,50	41,80	39,90	43,40	43,50	43,30	43,70	53,70	44,60	45,40	43,45	42,48
80	41,70	42,10	39,80	42,50	44,20	43,60	43,10	52,80	45,70	45,30	43,35	44,08
85	25,90	42,60	39,50	42,20	43,70	42,80	42,80	53,30	45,30	45,30	42,80	42,34
90	42,30	42,60	40,50	42,20	43,50	43,00	42,90	54,70	44,90	45,70	42,95	44,23
95	41,10	42,30	38,90	43,30	43,30	42,50	42,70	54,10	45,60	45,90	43,00	43,97
100	41,40	41,60	38,90	42,10	43,70	42,50	43,40	53,30	44,80	45,70	42,95	43,74
105	25,30	41,60	38,90	42,50	43,70	42,40	42,70	52,70	45,70	45,20	42,60	42,07
110	25,60	41,80	40,70	41,70	43,30	42,30	44,00	54,00	45,20	44,50	42,80	42,31
115	41,00	42,20	39,70	42,40	44,30	42,00	42,60	53,80	45,40	45,60	42,50	43,90
120	25,40	42,70	38,50	42,40	42,90	42,50	44,30	55,00	44,20	44,20	42,80	42,21
125		42,20	40,10	41,80	43,00	42,50	42,70	52,90	45,20	44,80	42,70	43,91
130		43,20		42,20	42,40	41,80	42,40	53,40	45,50		42,40	44,41

• Material: PGS 150°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	52,4	48,7	60,8	51,8	60	47,10	62,8	54	47,1	57,80	53,20	54,25
10	49,60	47,00	58,10	44,70	53,70	43,40	61,80	51,50	45,00	56,10	50,55	51,09
15	48,20	46,80	57,90	43,40	49,40	42,80	57,30	51,70	46,00	55,70	48,80	49,92
20	47,30	45,50	57,20	42,40	48,00	42,80	57,20	50,80	44,60	54,90	47,65	49,07
25	46,70	45,50	56,90	42,60	48,30	42,20	55,50	50,10	45,60	53,60	47,50	48,70
30	48,30	45,00	56,60	42,40	46,80	42,40	55,30	49,50	45,90	53,70	47,55	48,59
35	46,30	46,40	57,10	42,60	46,30	43,10	54,10	48,00	44,00	52,20	46,35	48,01
40	45,80	44,80	56,50	43,10	46,30	42,10	53,20	48,30	43,70	51,90	46,05	47,57
45	45,40	44,80	57,40	42,70	46,00	41,80	53,40	47,90	44,00	50,80	45,70	47,42
50	45,10	44,70	56,40	41,70	46,70	41,70	52,70	48,00	45,60	51,20	46,15	47,38
55	44,90	44,70	56,30	41,70	45,50	41,80	52,80	48,50	43,20	50,90	45,20	47,03
60	44,70	44,10	56,30	41,70	45,60	42,20	51,40	46,90	43,10	50,30	45,15	46,63
65	44,40	45,10	55,80	42,60	45,50	41,90	50,30	46,50	43,00	49,80	45,30	46,49
70	44,50	44,10	56,40	42,30	45,10	41,50	49,60	47,00	42,60	50,20	44,80	46,33
75	44,60	44,30	57,60	41,40	45,30	41,70	48,60	46,10	42,30	49,60	44,95	46,15
80	44,10	44,20	56,00	41,40	46,10	41,60	49,10	46,70	42,30	49,50	45,15	46,10
85	44,00	43,70	55,40	41,20	44,90	41,50	48,50	46,30	43,40	49,20	44,45	45,81
90	43,60	45,00	55,70	42,40	44,50	41,50	49,70	45,60	42,60	48,70	44,75	45,93
95	43,10	43,90	57,20	41,30	44,50	41,70	47,90	45,40	43,50	48,90	44,20	45,74
100	43,40	44,70	55,80	41,10	44,70	41,60	47,60	47,30	42,00	48,80	44,70	45,70
105	43,90	43,70	57,20	41,20	45,00	41,20	47,60	45,00	41,90	48,00	44,45	45,47
110	42,80	43,80	56,30	40,60	44,50	41,70	48,10	45,50	41,70	48,70	44,15	45,37
115	43,40	43,80	55,40	41,60	44,20	42,20	47,40	45,50	41,70	48,50	44,00	45,37
120	43,50	43,90	55,90	40,60	44,30	40,90	46,90	44,70	42,70	47,50	44,10	45,09
125	43,30	44,00	56,00	40,70	44,40	41,50	46,70	45,40	42,90	47,70	44,20	45,26
130	43,20	43,40	55,30	40,60	44,30	41,40	46,30	44,70		47,70	44,30	45,21

- Fluido: Dietilenglicol
- Material: PGS 170°C

Tiempo(s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
2,5	40,40	27,40	55,70	27,30	46,50	32,30	35,40	57,90	43,80	27,90	37,90	39,46
5,0	44,40	23,10	46,20	27,40	31,40	29,90	28,70	40,40	32,80	24,20	30,65	32,85
7,5	46,60	20,80	43,20	27,30	28,90	27,90	25,60	43,30	30,40	22,20	28,40	31,62
10,0	45,10	20,70	41,40	27,30	27,60	27,10	25,00	40,10	29,20	22,00	27,45	30,55
12,5	44,20	18,80	38,40	27,30	26,80	26,80	23,10	38,10	28,60	21,90	27,05	29,40
15,0	42,80	18,20	30,50	27,10	26,50	26,60	22,40	37,20	28,60	20,30	26,85	28,02
17,5	42,80	17,80	33,70	27,20	26,00	26,70	22,30	35,50	28,30	20,30	26,95	28,06
20,0	41,60	17,20	67,80	27,00	26,00	26,70	22,20	34,60	28,20	19,40	26,85	31,07
22,5	41,00	16,90	63,70	27,20	25,70	26,80	22,10	34,10	28,20	19,20	27,00	30,49
25,0	40,70	16,70	31,40	27,30	25,90	26,60	22,10		28,10	19,50	26,60	26,48
27,5	40,00	16,50	173,20	27,10	25,80	26,80	21,60		28,20	19,40	26,80	42,07
30,0	39,20	16,60	111,80	27,00	25,70	26,80	21,70		28,00	19,20	26,80	35,11
32,5	39,60	16,40	173,60	27,20	25,90	26,60	21,80	49,60	28,20	19,00	26,90	42,79
35,0	38,50	16,50	153,20	27,20	26,10	26,60	21,60	39,00	28,20	18,60	26,90	39,55
37,5	37,80	16,40	146,30	27,20	25,90	26,70	21,90	45,40	28,40	17,70	26,95	39,37
40,0	37,70	16,40	140,90	27,20	26,00	26,30	22,20	29,60	28,20	18,70	26,75	37,32
42,5	37,00	16,80	121,90	26,90	26,10	26,60	22,30	29,60	29,00	18,50	26,75	35,47
45,0	36,80	16,60	31,50	26,90	26,10	26,70	22,10	29,10	29,20	18,50	26,80	26,35
47,5	36,40	16,70		26,90	26,10	26,70	22,00	29,20	29,00	18,80	26,70	25,76
50,0		16,60		27,20	25,90	26,70	21,80	28,70	29,20	19,60	26,30	24,46
52,5		16,70		26,80	26,00	26,70	22,20	32,30	28,80	18,70	26,35	24,78
55,0		16,60		26,90	25,90	26,70	22,30	28,50	29,10	19,40	26,30	24,43
57,5		16,70		27,20	25,80	26,70	22,00	28,50	29,00	19,00	26,25	24,36
60,0		16,90			26,30	27,00	22,30	29,20	28,80	18,70	26,30	24,17
62,5					26,20	26,70	22,10	28,30	29,10			
65,0					26,10			28,80	29,00			

- Fluido: Glicerol
- Material: Portamuestras vacío

Tiempo(s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
2,5	80,30	82,30	83,50	80,60	83,20	87,50	84,00	75,90	75,50	84,60	82,75	81,74
5,0	73,90	73,90	72,20	71,50	72,80	76,80	73,60	77,00	66,40	75,00	73,75	73,31
7,5	71,60	72,50	69,10	69,30	71,60	75,60	70,80	76,80	64,70	72,40	71,60	71,44
10,0	70,20	72,20	67,60	67,90	71,00	75,60	69,20	76,80	63,60	72,10	70,60	70,62
12,5	69,20	70,80	67,10	67,50	69,20	74,10	69,50	73,70	63,10	71,30	69,35	69,55
15,0	69,30	71,10	65,90	67,60	69,70	73,90	68,50	66,90	62,30	70,70	68,90	68,59
17,5	68,70	70,60	65,60	66,90	69,60	73,40	68,90	65,50	62,50	69,90	68,80	68,16
20,0	68,30	70,30	65,10	66,70	69,00	71,90	68,70	64,80	62,20	69,90	68,50	67,69
22,5	67,80	69,70	64,40	65,90	69,00	71,90	68,00	63,90	61,70	68,60	67,90	67,09
25,0	67,20	69,50	64,90	66,40	69,10	71,10	66,90	63,80	62,00	69,00	67,05	66,99
27,5	67,40	69,30	64,90	65,10	68,90	71,90	67,30	64,00	62,00	68,20	67,35	66,90
30,0	66,90	68,40	64,80	65,50	68,20	71,50	66,70	63,60	61,30	67,90	66,80	66,48
32,5	66,00	68,20	63,70	65,30	68,30	70,40	67,30	63,20	61,40	67,60	66,65	66,14
35,0	66,50	68,20	63,80	65,50	68,00	70,10	65,90	63,60	61,30	67,20	66,20	66,01
37,5	65,90	67,80	63,60	65,40	68,00	69,70	66,50	62,40	61,10	67,00	66,20	65,74
40,0	65,70	67,20	63,00	64,90	67,30	69,90	65,80	62,30	61,00	67,10	65,75	65,42
42,5	66,30	66,80	63,80	64,40	67,10	68,90	66,20	61,90	61,30	66,20	66,20	65,29
45,0	65,70	67,10	63,50	64,50	66,90	68,50	65,80	61,90	60,60	66,60	65,75	65,11
47,5	66,20	66,80	63,50	65,00	66,60	68,10	65,60	61,50	61,30	66,40	65,90	65,10
50,0	65,70	66,80	63,40	64,30	67,30	68,00	65,60	61,90	61,50	65,50	65,55	65,00
52,5	65,00	66,60	62,40	65,30	66,50	67,70	65,40	61,60	60,80	65,10	65,20	64,64
55,0	64,70	66,40	62,70	64,50	66,60	67,60	65,30	60,90	60,90	65,90	65,00	64,55
57,5	65,30	66,80	62,30	64,20	66,50	67,30	65,20	60,80	60,90	65,50	65,25	64,48
60,0	65,20	65,80	62,40	64,90	66,70	67,40	65,20	61,00	61,20	64,80	65,05	64,46
62,5	65,30	66,20	62,60	64,70	66,20	67,50	65,60	61,00	61,20	64,80	65,05	64,51
65,0	65,00	65,60	62,10	64,60	66,40	66,90		60,90	60,70	65,40	65,00	64,18

- Fluido: Glicerol
- Material: PGS 130°C

Tiempo(s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
2,5	80,30	82,30	83,50	80,60	83,20	87,50	84,00	75,90	75,50	84,60	82,75	81,74
5,0	73,90	73,90	72,20	71,50	72,80	76,80	73,60	77,00	66,40	75,00	73,75	73,31
7,5	71,60	72,50	69,10	69,30	71,60	75,60	70,80	76,80	64,70	72,40	71,60	71,44
10,0	70,20	72,20	67,60	67,90	71,00	75,60	69,20	76,80	63,60	72,10	70,60	70,62
12,5	69,20	70,80	67,10	67,50	69,20	74,10	69,50	73,70	63,10	71,30	69,35	69,55
15,0	69,30	71,10	65,90	67,60	69,70	73,90	68,50	66,90	62,30	70,70	68,90	68,59
17,5	68,70	70,60	65,60	66,90	69,60	73,40	68,90	65,50	62,50	69,90	68,80	68,16
20,0	68,30	70,30	65,10	66,70	69,00	71,90	68,70	64,80	62,20	69,90	68,50	67,69
22,5	67,80	69,70	64,40	65,90	69,00	71,90	68,00	63,90	61,70	68,60	67,90	67,09
25,0	67,20	69,50	64,90	66,40	69,10	71,10	66,90	63,80	62,00	69,00	67,05	66,99
27,5	67,40	69,30	64,90	65,10	68,90	71,90	67,30	64,00	62,00	68,20	67,35	66,90
30,0	66,90	68,40	64,80	65,50	68,20	71,50	66,70	63,60	61,30	67,90	66,80	66,48
32,5	66,00	68,20	63,70	65,30	68,30	70,40	67,30	63,20	61,40	67,60	66,65	66,14
35,0	66,50	68,20	63,80	65,50	68,00	70,10	65,90	63,60	61,30	67,20	66,20	66,01
37,5	65,90	67,80	63,60	65,40	68,00	69,70	66,50	62,40	61,10	67,00	66,20	65,74
40,0	65,70	67,20	63,00	64,90	67,30	69,90	65,80	62,30	61,00	67,10	65,75	65,42
42,5	66,30	66,80	63,80	64,40	67,10	68,90	66,20	61,90	61,30	66,20	66,20	65,29
45,0	65,70	67,10	63,50	64,50	66,90	68,50	65,80	61,90	60,60	66,60	65,75	65,11
47,5	66,20	66,80	63,50	65,00	66,60	68,10	65,60	61,50	61,30	66,40	65,90	65,10
50,0	65,70	66,80	63,40	64,30	67,30	68,00	65,60	61,90	61,50	65,50	65,55	65,00
52,5	65,00	66,60	62,40	65,30	66,50	67,70	65,40	61,60	60,80	65,10	65,20	64,64
55,0	64,70	66,40	62,70	64,50	66,60	67,60	65,30	60,90	60,90	65,90	65,00	64,55
57,5	65,30	66,80	62,30	64,20	66,50	67,30	65,20	60,80	60,90	65,50	65,25	64,48
60,0	65,20	65,80	62,40	64,90	66,70	67,40	65,20	61,00	61,20	64,80	65,05	64,46
62,5	65,30	66,20	62,60	64,70	66,20	67,50	65,60	61,00	61,20	64,80	65,05	64,51
65,0	65,00	65,60	62,10	64,60	66,40	66,90		60,90	60,70	65,40	65,00	64,18

- Fluido: Glicerol
- Material: PGS 130°C

Tiempo(s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
2,5		82,90		80,30	80,80	81,70	76,90	84,90	82,70	78,40	81,25	81,08
5,0		70,10	70,50	72,80	68,40	71,00	69,70	74,80	70,60	69,10	70,50	70,78
7,5	64,20	66,60	68,60	70,50	66,00	69,20	68,10	72,30	68,50	67,10	68,30	68,11
10,0	63,90	64,90	67,50	69,80	64,80	68,70	67,30	71,80	68,20	66,40	67,40	67,33
12,5	60,50	64,30	67,30	68,80	63,70	68,50	66,80	71,60	67,40	65,70	67,05	66,46
15,0	63,80	64,40	67,00	68,40	63,70	67,90	66,10	71,30	67,60	65,40	66,55	66,56
17,5	63,90	63,60	66,90	68,00	62,90	67,50	65,30	70,90	67,30	64,80	66,10	66,11
20,0	64,50	63,80	66,10	67,80	63,00	67,20	65,20	70,90	66,60	64,90	65,65	66,00
22,5	63,90	63,60	66,80	67,70	63,10	66,80	65,20	70,60	66,60	64,90	65,90	65,92
25,0	63,90	63,30	66,30	67,00	63,10	68,00	65,10	70,80	65,90	64,30	65,50	65,77
27,5	64,00	63,90	66,00	67,30	63,80	67,60	64,60	70,70	65,80	64,60	65,20	65,83
30,0	63,70	63,50	66,10	67,10	62,90	67,10	64,30	69,80	66,40	64,20	65,20	65,51
32,5	63,80	63,60	65,90	67,00	63,80	66,50	64,20	69,90	65,80	64,40	65,10	65,49
35,0	63,90	63,20	66,00	67,20	63,40	66,60	64,40	70,00	65,60	64,10	65,00	65,44
37,5	63,80	63,40	65,80	66,90	62,90	67,10	64,50	69,30	66,20	64,20	65,15	65,41
40,0	64,00	63,10	66,10	67,10	63,50	67,10	64,10	69,80	66,10	64,80	65,45	65,57
42,5	63,80	63,30	66,10	66,60	63,60	67,00	64,20	69,80	65,60	64,60	65,10	65,46
45,0	64,00	62,80	66,00	66,00	62,60	66,80	64,20	69,60	66,20	64,60	65,30	65,28
47,5	63,60	63,10	66,00	66,00	62,90	66,70	63,60	69,80	66,00	64,10	65,05	65,18
50,0	63,80	62,90	66,00	66,00	62,50	66,60	63,90	69,00	65,50	63,80	64,70	65,00
52,5	63,60	63,10	65,40	65,70	62,90	66,50	63,60	69,30	65,60	64,20	64,80	64,99
55,0	64,00	62,90	65,50	66,00	63,30	66,80	63,60	69,50	65,40	64,00	64,70	65,10
57,5	64,20	63,00	64,90	65,70	62,60	66,60	63,40	69,50	65,10	64,30	64,60	64,93
60,0	64,10	62,50	65,70	66,30	63,30	66,60	62,90	69,40	65,50	63,20	64,80	64,95
62,5	63,90	62,50	65,40	66,40	63,00	66,40	63,30	69,40	65,60	64,00	64,70	64,99
65,0	64,10	62,80	65,80	66,50	61,90	66,00	63,10		64,90	64,30	64,30	64,38

- Fluido: Glicerol
- Material: PGS 150°C

Tiempo(s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
2,5	82,50	88,40	86,10	86,00	82,70	89,20	84,10	85,40	86,20	93,60	86,05	86,42
5,0	72,80	75,20	70,60	77,70	69,10	72,00	71,30	77,80	77,80	80,50	74,00	74,48
7,5	69,10	73,60	66,50	74,70	66,10	67,80	68,90	75,80	75,30	77,90	71,35	71,57
10,0	67,40	72,10	64,20	73,40	64,80	66,30	66,90	74,40	73,90	76,30	69,75	69,97
12,5	66,40	71,30	63,20	73,10	64,00	65,30	65,90	73,20	72,00	75,80	68,85	69,02
15,0	65,00	70,50	62,00	72,70	64,00	64,70	66,00	73,40	71,80	74,40	68,25	68,45
17,5	64,10	70,10	62,00	71,80	63,60	64,30	65,50	72,50	70,80	74,40	67,80	67,91
20,0	64,40	69,90	61,80	71,10	62,90	63,70	65,20	70,90	70,40	74,30	67,55	67,46
22,5	63,10	69,30	61,00	71,40	63,20	62,90	64,60	71,80	69,40	73,70	66,95	67,04
25,0	63,40	69,10	61,30	70,40	63,00	62,90	64,50	71,60	69,80	73,30	66,80	66,93
27,5	63,30	69,30	61,20	69,90	63,00	63,10	64,50	70,70	69,10	72,50	66,80	66,66
30,0	62,70	68,60	60,70	70,00	62,40	62,60	63,90	70,70	69,70	73,00	66,25	66,43
32,5	63,10	68,40	60,80	69,70	62,10	62,20	63,20	70,40	69,00	72,60	65,80	66,15
35,0	62,10	67,70	60,60	69,50	62,40	62,70	63,80	70,30	68,00	72,50	65,75	65,96
37,5	62,00	68,10	60,50	69,00	62,20	62,50	63,50	69,80	68,00	72,40	65,75	65,80
40,0	62,30	67,70	61,00	68,90	62,40	62,40	63,20	69,60	67,70	71,90	65,45	65,71
42,5	62,30	67,50	60,20	69,20	62,20	63,00	63,20	69,90	67,40	72,20	65,30	65,71
45,0	62,00	66,90	59,90	68,80	62,70	62,00	63,30	69,50	67,30	72,60	65,10	65,50
47,5	61,90	67,00	59,90	68,40	62,40	62,00	62,60	68,70	67,30	71,60	64,80	65,18
50,0	62,20	66,90	60,10	67,90	61,90	62,70	63,20	69,10	67,50	71,60	65,05	65,31
52,5	61,90	67,40	60,40	68,30	62,10	62,70	62,40	69,00	67,30	71,70	65,00	65,32
55,0	61,90	67,30	60,10	67,80	61,50	62,30	63,10	69,00	66,80	72,20	64,95	65,20
57,5	61,90	67,20	60,30	68,00	61,80	61,90	61,70	68,30	66,30	72,10	64,10	64,95
60,0	61,60	67,20	60,10	66,70	61,90	62,10	62,30	68,30	66,90	71,80	64,50	64,89
62,5	61,40	66,80	60,20	67,40	61,60	62,20	62,30	68,10	66,20	71,50	64,25	64,77
65,0	61,50	66,80	59,70	67,40	61,90	62,20		67,80	66,30		64,25	64,20

- Fluido: Glicerol
- Material: PGS 170°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	45,00	37,50	41,80	39,70	39,40	42,00	36,20	40,90	45,50	40,30	40,60	40,83
10	41,40	37,20	41,30	39,00	37,40	41,80	36,20	41,00	45,50	39,50	40,25	40,03
15	39,90	36,70	39,90	38,60	36,10	41,60	35,40	40,70	45,50	38,90	39,40	39,33
20	38,30	36,90	40,10	39,30	36,30	41,00	34,70	40,90	45,80	37,70	38,80	39,10
25	37,20	36,80	39,60	37,90	36,40	40,90	34,80	40,70	44,90	36,80	37,55	38,60
30	35,20	37,00	39,50	37,70	35,10	40,90	34,60	40,60	45,20	37,40	37,55	38,32
35	34,50	37,20	38,80	37,60	35,20	40,20	34,70	40,70	45,20	37,00	37,40	38,11
40	33,90	36,90	37,90	37,60	35,50	40,20	34,40	40,50	45,20	37,20	37,40	37,93
45	33,30	36,80	37,90	37,60	35,70	39,90	34,50	40,40	44,70	37,50	37,55	37,83
50	33,00	37,80	37,40	37,60	35,60	39,50	34,20	37,30	44,30	37,00	37,35	37,37
55	32,30	36,80	37,80	37,40	35,70	39,80	33,00	37,40	44,20	37,40	37,40	37,18
60	32,30	36,70	37,50	37,40	35,70	39,40	32,50	37,30	44,60	37,30	37,30	37,07
65	31,70	36,90	37,60	37,60	35,90	39,20	32,70	37,40	44,00	37,50	37,45	37,05
70	31,50	36,70	37,80	37,40	35,90	39,20	32,60	37,40	44,20	37,40	37,40	37,01
75	31,20	36,60	37,50	37,50	36,10	39,30	32,70	37,30	44,20	37,30	37,30	36,97
80	31,10	36,70	37,60	37,70	36,00	39,40	32,50	37,40	44,30	37,70	37,50	37,04
85	30,90	36,60	37,30	37,30	36,20	39,00	32,90	37,40	44,40	35,10	36,95	36,71
90	30,90	36,50	37,30	37,40	36,10	39,00	32,70	37,50	43,90	35,90	36,90	36,72
95	30,60	37,90	37,30	37,20		38,90	32,80	37,40	44,00	36,00	37,30	36,90
100	30,30	36,70	37,20	37,20		39,00	32,00	37,60	43,60	35,90	37,20	36,61
105	30,30	37,30	37,20	37,10		38,80	32,00	37,50	43,70	35,90	37,20	36,64
110	30,30	37,50	37,10	37,00		39,00	32,10	37,70	43,60	38,30	37,50	36,96
115		36,40	37,10	37,00		39,00	32,10	37,60	43,40		37,10	37,51
120		36,40	37,00	37,40		38,60	31,80	37,80	43,30		37,40	37,47
125		37,50	37,10			38,70	31,80		43,50			
130												

- Fluido: Formamida
- Material: Portamuestras vacío

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	51,40	56,20	61,20	54,50	52,30	55,50	56,20	65,40	54,00	54,00	55,00	56,07
10	51,70	55,90	61,40	54,50	52,10	54,90	56,00	65,40	54,10	54,20	54,70	56,02
15	51,60	55,90	60,90	54,80	52,30	55,50	56,40	65,60	54,30	54,20	55,15	56,15
20	51,70	56,40	61,30	54,90	52,30	54,90	56,30	65,00	54,40	54,10	54,90	56,13
25	51,70	56,00	61,10	54,60	52,40	55,30	56,10	65,40	54,50	54,20	54,95	56,13
30	51,80	56,10	61,70	54,80	52,50	55,50	56,40	65,60	54,10	54,40	55,15	56,29
35	51,70	56,40	61,50	55,10	52,60	55,70	56,60	65,50	54,20	54,50	55,40	56,38
40	51,90	56,80	61,30	54,80	52,50	55,30	56,00	65,80	54,60	54,70	55,05	56,37
45	51,60	56,70	62,00	55,00	52,60	56,20	56,10	65,20	54,50	54,50	55,55	56,44
50	51,40	56,90	61,70	55,10	52,80	55,60	56,60	65,90	55,00	54,60	55,35	56,56
55	52,10	56,80	61,50	55,00	52,60	56,00	56,60	66,00	54,50	54,80	55,50	56,59
60	51,50	57,00	61,70	55,50	52,90	55,20	56,60	65,20	55,00	54,80	55,35	56,54
65	52,50	56,70	62,00	55,00	52,70	56,30	56,90	65,90	54,60	54,90	55,65	56,75
70	52,60	56,90	62,10	55,30	53,20	55,60	56,70	65,90	54,70	54,70	55,45	56,77
75	52,30	57,00	61,90	55,50	53,20	56,20	56,80	65,80	54,70	54,80	55,85	56,82
80	52,80	56,90	62,10	55,50	53,10	56,00	57,00	65,90	55,00	55,20	55,75	56,95
85	52,00	57,30	62,30	55,60	53,00	56,50	57,20	66,70	54,90	55,10	56,05	57,06
90	52,40	57,20	61,80	55,70	52,90	56,40	56,80	65,00	55,30	55,50	56,05	56,90
95	52,50	57,00	62,00	55,50	53,40	55,80	56,80	66,60	55,00	55,50	55,65	57,01
100	52,50	57,10	62,00	55,60	53,30	55,90	57,00	66,50	55,10	55,00	55,75	57,00
105	52,40	57,10	62,30	55,80	53,10	57,00	56,90	66,40	55,50	55,30	56,35	57,18
110	52,50	57,00	62,30	55,70	52,90	56,70	57,10	66,70	55,60	55,20	56,20	57,17
115	52,90	57,80	62,30	55,70	53,40	56,50	57,20	66,50	55,20	55,80	56,15	57,33
120	52,90	57,60	63,00	56,10	53,30	56,80	57,20	65,80	55,20	55,30	56,45	57,32
125		57,30	62,70	56,00				66,60				
130								66,90				

- Fluido: Formamida
- Material: PGS 130°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	49,70	49,50	49,70	59,60	65,40	62,60	51,60	52,60	53,60	62,00	53,10	55,63
10	49,50	49,30	50,00	58,50	64,60	61,40	51,80	52,70	53,70	61,00	53,20	55,25
15	49,10	49,20	48,90	58,30	63,80	60,30	52,10	52,60	53,80	60,70	53,20	54,88
20	50,00	49,50	49,00	58,70	63,70	60,40	51,90	52,70	53,70	60,90	53,20	55,05
25	49,70	49,20	49,90	58,70	63,00	60,10	52,00	53,60	53,80	60,10	53,70	55,01
30	50,00	49,40	49,20	58,70	63,70	60,40	52,10	53,00	54,00	60,60	53,50	55,11
35	50,30	49,30	49,90	58,90	63,00	60,70	52,40	54,00	54,10	61,50	54,05	55,41
40	49,80	49,60	48,70	58,80	63,10	60,40	52,20	53,10	54,10	61,00	53,60	55,08
45	50,20	49,60	48,80	59,10	63,10	60,80	52,20	53,50	54,20	60,60	53,85	55,21
50	50,30	49,50	49,70	59,20	63,20	60,10	52,50	53,50	54,20	60,60	53,85	55,28
55	50,00	49,70	49,30	58,70	63,20	61,00	52,30	54,70	54,50	60,70	54,60	55,41
60	50,10	49,70	49,80	59,30	63,40	60,60	52,50	54,20	54,70	60,90	54,45	55,52
65	49,90	49,60	49,20	59,20	63,70	60,90	52,70	53,80	54,30	61,30	54,05	55,46
70	50,40	49,80	49,30	59,40	63,10	61,20	52,80	53,40	54,30	60,80	53,85	55,45
75	50,40	49,60	50,00	59,30	63,50	60,60	52,70	53,80	54,90	61,10	54,35	55,59
80	50,50	49,50	49,40	59,40	63,60	60,70	52,90	53,80	54,80	61,20	54,30	55,58
85	50,30	49,70	49,40	59,40	63,60	60,90	53,00	53,50	54,60	61,20	54,05	55,56
90	50,20	49,70	50,30	59,50	64,00	61,40	53,10	55,00	54,70	61,40	54,85	55,93
95	50,10	49,80	49,60	59,10	63,10	61,40	53,00	54,00	54,90	61,10	54,45	55,61
100	50,40	50,20	49,50	59,50	63,80	61,30	52,80	54,90	55,00	61,50	54,95	55,89
105	50,00	50,00	49,80	59,40	63,90	61,60	53,10	54,80	55,00	61,20	54,90	55,88
110	50,60	49,60	49,70	59,50	63,20	62,20	52,90	54,20	54,90	61,60	54,55	55,84
115	50,80	50,10	50,60	59,70	64,20	61,50	53,30	54,10	55,10	61,80	54,60	56,12
120	50,90	49,80	50,50	59,30	63,50	61,70	53,20	54,20	55,00	61,60	54,60	55,97
125	51,30	50,20	50,50	59,20	63,20	61,60		54,10	55,10	61,80	55,10	56,33
130												

- Fluido: Formamida
- Material: PGS 150°C

Tiempo (s)	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10	MEDIANA	PROMEDIO
5	57,90	60,70	51,50	56,20	60,60	55,80	54,10	51,00	60,10	58,10	57,05	56,60
10	57,40	60,90	51,50	56,50	60,90	55,50	54,50	51,20	60,70	57,40	56,95	56,65
15	56,90	60,90	51,80	56,00	60,70	56,00	54,60	51,10	60,50	57,20	56,45	56,57
20	56,50	61,00	51,60	55,90	60,90	55,60	54,90	51,60	60,90	57,30	56,20	56,62
25	56,80	61,20	51,70	57,30	60,80	55,90	55,10	51,40	60,70	57,50	57,05	56,84
30	56,70	61,20	52,00	57,00	61,10	55,50	54,70	51,40	60,40	57,60	56,85	56,76
35	56,50	61,00	51,70	56,70	60,80	56,50	54,80	52,00	60,60	57,70	56,60	56,83
40	56,60	61,20	52,30	57,40	61,20	56,40	55,00	51,80	60,90	57,60	57,00	57,04
45	56,80	61,10	52,20	57,00	61,40	55,80	55,10	52,10	60,40	57,80	56,90	56,97
50	56,70	61,40	52,30	56,80	60,90	56,20	55,30	51,70	60,80	57,90	56,75	57,00
55	56,30	61,40	51,70	57,20	61,10	56,40	55,10	52,10	60,80	57,90	56,80	57,00
60	57,00	61,30	52,20	57,50	61,40	56,30	55,40	52,10	60,60	57,70	57,25	57,15
65	57,00	61,40	52,60	57,50	61,20	55,90	55,40	52,10	60,50	57,80	57,25	57,14
70	56,90	61,60	52,40	57,60	61,40	56,30	55,60	52,40	61,30	58,10	57,25	57,36
75	57,40	61,40	52,50	57,00	61,30	56,20	54,70	52,40	61,00	58,20	57,20	57,21
80	57,10	61,80	52,80	57,30	61,50	56,60	54,70	52,30	61,40	58,10	57,20	57,36
85	57,10	61,60	52,50	57,70	61,90	56,10	54,80	52,50	61,70	57,90	57,40	57,38
90	57,40	61,70	52,60	56,80	62,30	56,60	55,30	52,40	62,00	58,20	57,10	57,53
95	57,40	61,70	52,80	58,20	61,90	56,40	55,10	52,30	61,50	58,20	57,80	57,55
100	57,70	61,80	52,90	57,10	62,50	56,70	55,30	52,80	61,80	58,20	57,40	57,68
105	57,60	62,10	52,80	56,70	62,00	56,60	55,40	52,70	61,30	58,50	57,15	57,57
110	57,80	62,10	53,00	59,00	61,90	56,70	55,30	52,80	61,60	58,50	58,15	57,87
115	57,40	62,00	53,10	57,90	62,50	56,70	55,50	52,60	61,80	58,40	57,65	57,79
120	57,40	61,90	53,10	57,10	61,80	57,00	55,20	52,60	61,80	58,60	57,25	57,65
125	57,70	61,90	53,30	57,50		57,00	55,70	53,00	61,80	58,70	57,50	57,40
130												

- Fluido: Formamida
- Material: PGS 170°C

DOCUMENTO II: Presupuesto

1. ALCANCE Y DESARROLLO DEL PRESUPUESTO

El presupuesto del presente Trabajo de Fin de Máster comprende los gastos correspondientes a la realización de las diferentes actividades en los laboratorios del Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular, así como los relacionados con el planteamiento, gestión y seguimiento del trabajo. Con ello, el objetivo del presupuesto es calcular el presupuesto de ejecución material para, finalmente, obtener el presupuesto total del trabajo llevado a cabo.

El presupuesto de ejecución material está constituido básicamente por tres factores: los gastos asociados a la mano de obra, la maquinaria y el material necesarios en los diferentes procesos del laboratorio. Además, se añaden los gastos auxiliares en cada una de las actividades realizadas. En los siguientes apartados, se detallan una serie de cuadros presupuestarios que plasman los gastos llevados a cabo. En todos ellos, tanto la columna correspondiente a precio como la correspondiente a importes, su unidad de medida es el euro.

Cuando se calcula el coste de la maquinaria se tiene en cuenta el precio de amortización el cual es considerado de 10 años para todas las máquinas empleadas. Los medios auxiliares suponen un coste adicional que equivale al 2% del total de la partida. Además, se han de tener en cuenta otros coeficientes a la hora de obtener el presupuesto total del trabajo que son los gastos generales los cuales suponen un 13%, el beneficio industrial el cual supone un 6% y el IVA el cual supone un 21%.

1.1. Cuadro de precios de recursos por clase

A continuación se listan los recursos necesarios para la realización del proyecto y su precio. Se distinguen en mano de obra, materiales, maquinaria o medios auxiliares.

CUADRO DE PRECIOS DE RECURSOS POR CLASE		Pág.: 1	
		Ref.: PrTFMFEA	
		Fec.: 6.JUL.2019	
Código	Ud.	Descripción del recurso	Precio (€)
1		Mano de Obra	
MO.DIR	h	Director del proyecto	30,00
MO.INV	h	Ingeniero investigador	15,00
MO.TLAB	h	Técnico de laboratorio	12,50
2		Maquinaria	
MAQ.AFM	h	Servicio AFM UPV	30,00
MAQ.ANG	h	Medidor de ángulo de contacto Dataphysics OCA25	0,09
MAQ.BLZ	h	Balanza Mettler AX205	0,01
MAQ.BUS	h	Baño ultrasonidos VWR USC600TH	0,50
MAQ.CAB	h	Cabina de extracción Tel Star AV-30/70	0,05
MAQ.DV	h	Desecador de vacío JP Selecta	0,02
MAQ.FTIR	h	Equipo de espectroscopía infrarroja Bruck Alpha	0,19
MAQ.HR	h	Horno de ventilación forzada JP Selecta	0,11
MAQ.MC	h	Microscopio invertido Nikon Eclipse TS 100	0,62
MAQ.MCF	h	Microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse Ni-U	1,02
MAQ.SPN	h	Spin-Coater WS-650MZ-23NPPB, Laurell Technologies	0,12
MAQ.PAL	h	Palpador medidor de espesores	1,22
MAQ.PCA	h	Placa calefactora con agitación MR Hei-Standard	0,01
3		Material	
MAT.AC	u	Bala de aire comprimido 100L	115,50
MAT.ACE	l	Acetona Sigma Aldrich 99.5% pureza	3,15
MAT.AD	l	Agua destilada	0,15
MAT.AGJ	u	Aguja	0,60
MAT.AMQ	l	Agua ultra pura Direct-Q® 3 Merck Millipore	3,40
MAT.BAM	u	Barra de agitación magnética	0,68
MAT.BCA	u	Thermo Scientific™ Micro BCA™ Protein Assay Kit	285,00
MAT.BL	u	Bata de laboratorio	14,90
MAT.CGL	u	Caja de guantes de látex	5,72
MAT.COL	l	Colágeno 400mg/ml	650,00
MAT.DIET	l	Dietilenglicol Sigma Aldrich 99% pureza	14,65
MAT.DIIO	l	Diyodometano Sigma Aldrich 99% pureza	19,56
MAT.EPP	u	Tubo eppendorf 0.5 ml	0,01
MAT.ET	l	Etanol Sigma Aldrich >99.7% pureza	0,50
MAT.FCN1	u	Falcon de 50 ml	84,40

CUADRO DE PRECIOS DE RECURSOS POR CLASE			Pág.: 2 Ref.: PrTFMFEA Fec.: 6.JUL.2019
Código	Ud.	Descripción del recurso	Precio (€)
MAT.FI	l	Frasco ISO 1L	17,42
MAT.FI1	l	Frasco ISO 250 ml	12,32
MAT.FOR	l	Formamida Sigma Aldrich >99.5% pureza	12,36
MAT.GI	u	Gafa integral	5,77
MAT.GLI	l	Glicerol Sigma Aldrich >99.5% pureza	15,89
MAT.GTT	u	Guantes térmicos	12,49
MAT.MGA	u	Máscara de gases	29,50
MAT.MPP	u	Caja de puntas de micropipeta 1000 µl	29,31
MAT.MPP1	u	Caja de puntas de micropipeta 20 µl	29,31
MAT.NIL	u	Rejilla Nylon 1m2	14,36
MAT.NIT	l	Bala de nitrógeno	61,60
MAT.P24	u	Placa de 24 pocillos	0,79
MAT.P96	u	Placa de 96 pocillos	0,79
MAT.PA	u	Papel de aluminio	85,00
MAT.PET	u	Placa Petri	33,23
MAT.PF	u	Parafilm	34,00
MAT.PIN	u	Pinzas de laboratorio	20,12
MAT.POR	u	Caja 100 unidades portamuestras	31,21
MAT.PPGS	kg	Prepolímero de PGS	108,91
MAT.PV	u	Probeta de vidrio 50 ml	22,58
MAT.ROT	u	Rotulador permanente	1,75
MAT.VP		Vaso de precipitado 50 ml	3,10
MAT.VP2	u	Vaso de precipitado 250 ml	1,15
	4	Medio auxiliar	
C.AUX		Costes auxiliares 2%	

1.2. Cuadro de mediciones y presupuesto

En él se descomponen cada una de las unidades de obra consideradas y, en cada apartado correspondiente a las diferentes actividades se definen los recursos empleados y sus respectivos costes obteniendo así los precios por unidad de obra y el presupuesto de ejecución del material.

MEDICIONES Y PRESUPUESTO				Pág.: 1	
Preparación de muestras				Ref.: PrPrMTFMFEA	
Preparación de muestras				Fec.: 6.JUL.2019	
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Uds.	Precio (€)	Importe (€)	
	Fase 1				
01-01	Lavado				
MO.DIR	Director del proyecto	1,00	h 30,00	30,00	
MO.INV	Ingeniero investigador	15,00	h 15,00	225,00	
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1,00	h 12,50	12,50	
MAQ.BUS	Baño ultrasonidos VWR USC600TH	10,00	h 0,50	5,00	
MAT.AC	Bala de aire comprimido 100L	1,00	u 115,50	115,50	
MAT.ACE	Acetona Sigma Aldrich 99.5% pureza	0,50	l 3,15	1,58	
MAT.AD	Agua destilada	9,00	l 0,15	1,35	
MAT.AGJ	Aguja	1,00	u 0,60	0,60	
MAT.BL	Bata de laboratorio	1,00	u 14,90	14,90	
MAT.ET	Etanol Sigma Aldrich >99.7% pureza	9,00	l 0,50	4,50	
MAT.FI1	Frasco ISO 250 ml	1,00	l 12,32	12,32	
MAT.PET	Placa Petri	3,00	u 33,23	99,69	
MAT.PIN	Pinzas de laboratorio	1,00	u 20,12	20,12	
MAT.POR	Caja 100 unidades portamuestras	10,00	u 31,21	312,10	
MAT.VP	Vaso de precipitado 50 ml	1,00	u 3,10	3,10	
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	% 858,26	17,17	
	Clase: Mano de obra			267,50	
	Clase: Maquinaria			5,00	
	Clase: Material			585,76	
	Clase: Medio auxiliar			17,17	
	Total partida 01-01			875,42	

MEDICIONES Y PRESUPUESTO				Pág.: 2	
Preparación de muestras				Ref.: PrPrMTFMFEA	
				Fec.: 6.JUL.2019	
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Uds.	Precio (€)	Importe (€)	
01-02	<i>Spin-coating</i>				
MO.DIR	Director del proyecto	1,50	h 30,00	45,00	
MO.INV	Ingeniero investigador	25,00	h 15,00	375,00	
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1,00	h 12,50	12,50	
MAQ.CAB	Cabina de extracción Tel Star AV-30/70	25,00	h 0,05	1,25	
MAQ.SPN	Spin-Coater WS-650MZ-23NPPB, Laurell Technologies	25,00	h 0,12	3,00	
MAQ.PCA	Placa calefactora con agitación MR Hei-Standard	1,00	h 0,01	0,01	
MAT.BAM	Barra de agitación magnética	1,00	u 0,68	0,68	
MAT.MPP1	Caja de puntas de micropipeta 20 µl	2,00	u 29,31	58,62	
MAT.NIT	Bala de nitrógeno	1,00	l 61,60	61,60	
MAT.PPGS	Prepolímero de PGS	0,05	kg 108,91	5,45	
MAT.ROT	Rotulador permanente	1,00	u 1,75	1,75	
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	% 564,86	11,30	
	Clase: Mano de obra			432,50	
	Clase: Maquinaria			4,26	
	Clase: Material			128,10	
	Clase: Medio auxiliar			11,30	
	Total partida 01-02			576,15	
	Fase 2				
01-03	Curado				
MO.DIR	Director del proyecto	1	h 30	30,00	
MO.INV	Ingeniero investigador	1,5	h 15	22,50	
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1	h 12,5	12,50	
MAQ.HR	Horno de ventilación forzada JP Selecta	1200	h 0,11	132,00	
MAT.GTT	Guantes térmicos	1	u 12,49	12,49	
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	% 209,49	4,19	
	Clase: Mano de obra			65,00	
	Clase: Maquinaria			132,00	
	Clase: Material			12,49	
	Clase: Medio auxiliar			4,19	
	Total partida 01-03			213,68	

MEDICIONES Y PRESUPUESTO Preparación de muestras				Pág.: 3 Ref.: PrPrMTFMFEA Fec.: 6.JUL.2019	
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Uds.	Precio (€)	Importe (€)	
01-04	Lavado y secado post-curado				
MO.DIR	Director del proyecto	1	h 30	30,00	
MO.INV	Ingeniero investigador	9	h 15	135,00	
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1	h 12,5	12,50	
MAQ.DV	Desecador de vacío JP Selecta	200	h 0,02	4,00	
MAT.AMQ	Agua ultra pura Direct-Q® 3 Merck Millipore	5	l 3,4	17,00	
MAT.FCN1	Falcon de 50 ml	3	u 84,4	253,20	
MAT.NIL	Rejilla Nylon 1m2	0,1	u 14,36	1,44	
MAT.PV	Probeta de vidrio 100 ml	1	u 22,58	22,58	
MAT.VP2	Vaso de precipitado 250 ml	1	u 1,15	1,15	
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	% 476,87	9,54	
	Clase: Mano de obra			177,50	
	Clase: Maquinaria			4,00	
	Clase: Material			295,37	
	Clase: Medio auxiliar			9,54	
	Total partida 01-04			486,40	
	Total capítulo 1			2151,66	

MEDICIONES Y PRESUPUESTO Ensayos de Caracterización				Pág.: 1 Ref.: PrEsyTFMFEA Fec.: 6.JUL.2019	
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Uds.	Precio (€)	Importe (€)	
Ensayos de caracterización					
02-01	Caracterización de superficie				
MO.DIR	Director del proyecto	1,00	h 30,00	30,00	
MO.INV	Ingeniero investigador	7,50	h 15,00	112,50	
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1,00	h 12,50	12,50	
MAQ.AFM	Servicio AFM UPV	10,00	h 30,00	300,00	
MAQ.MC	Microscopio invertido Nikon Eclipse TS 100	5,00	h 0,62	3,10	
MAQ.MCF	Microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse Ni-U	3,00	h 1,02	3,06	
MAQ.PAL	Palpador medidor de espesores	0,50	h 1,22	0,61	
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	% 461,77	9,24	
	Clase: Mano de obra			155,00	
	Clase: Maquinaria			306,77	
	Clase: Material			0,00	
	Clase: Medio auxiliar			9,24	
	Total partida 02-01			471,01	
02-02	Ángulo de contacto				
MO.DIR	Director del proyecto	1,00	h 30,00	30,00	
MO.INV	Ingeniero investigador	50,00	h 15,00	750,00	
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1,00	h 12,50	12,50	
MAQ.ANG	Medidor de ángulo de contacto Dataphysics OCA25	30,00	h 0,09	2,70	
MAT.AMQ	Agua ultra pura Direct-Q® 3 Merck Millipore	0,50	l 3,40	1,70	
MAT.DIET	Dietilenglicol Sigma Aldrich 99% pureza	0,05	l 14,65	0,73	
MAT.DIIO	Diyodometano Sigma Aldrich 99% pureza	0,05	l 19,56	0,98	
MAT.FOR	Formamida Sigma Aldrich >99.5% pureza	0,05	l 12,36	0,62	
MAT.GLI	Glicerol Sigma Aldrich >99.5% pureza	0,05	l 15,89	0,79	
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	% 800,02	16,00	
	Clase: Mano de obra			792,50	
	Clase: Maquinaria			2,70	
	Clase: Material			4,82	
	Clase: Medio auxiliar			16,00	
	Total partida 02-02			816,02	

MEDICIONES Y PRESUPUESTO Ensayos de Caracterización				Pág.: 2 Ref.: PrEsyTFMFEA Fec.: 6.JUL.2019	
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Uds.		Precio (€)	Importe (€)
02-03	µBCA				
MO.DIR	Director del proyecto	2,00	h	30,00	60,00
MO.INV	Ingeniero investigador	2,00	h	15,00	30,00
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1,00	h	12,50	12,50
MAT.BCA	Thermo Scientific™ Micro BCA™ Protein Assay Kit	1,00	u	285,00	285,00
MAT.COL	Colágeno 400mg/ml	0,01	l	650,00	6,50
MAT.P96	Placa de 96 pocillos	1,00	u	0,79	0,79
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	%	394,79	7,90
	Clase: Mano de obra				102,50
	Clase: Maquinaria				0,00
	Clase: Material				292,29
	Clase: Medio auxiliar				7,90
	Total partida 02-03				402,69
02-04	Espectroscopía FTIR				
MO.DIR	Director del proyecto	1,00	h	30,00	30,00
MO.INV	Ingeniero investigador	2,00	h	15,00	30,00
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1,00	h	12,50	12,50
MAQ.FTIR	Equipo de espectroscopía infrarroja Bruck Alpha	1,00	h	0,19	0,19
MAT.ET	Etanol Sigma Aldrich >99.7% pureza	0,05	l	0,50	0,03
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	%	72,72	1,45
	Clase: Mano de obra				72,50
	Clase: Maquinaria				0,19
	Clase: Material				0,03
	Clase: Medio auxiliar				1,45
	Total partida 02-04				74,17
	Total capítulo 2				1763,88

MEDICIONES Y PRESUPUESTO				Pág.: 1	
Reuniones				Ref.: PrReuTFMFEA	
				Fec.: 6.JUL.2019	
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Uds.	Precio (€)	Importe (€)	
	Reuniones				
03-01	Reuniones de supervisión del trabajo				
MO.DIR	Director del proyecto	100,00	h 30,00	3000,00	
MO.INV	Ingeniero investigador	33,33	h 15,00	499,95	
MO.TLAB	Técnico de laboratorio	1,00	h 12,50	12,50	
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	% 3512,45	70,25	
	Clase: Mano de obra			3512,45	
	Clase: Medio auxiliar			12,50	
	Total partida 03-01			3524,95	
	Total capítulo 3			3524,95	

MEDICIONES Y PRESUPUESTO Equipos de protección individual				Pág.: 1 Ref.: EPISTFMFEA Fec.: 6.JUL.2019	
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Uds.	Precio (€)	Importe (€)	
	EPIS				
04-01	Material de protección individual				
MAT.BL	Bata de laboratorio	1,00	u 14,90	14,90	
MAT.CGL	Caja de guantes de látex	1,00	u 5,72	5,72	
MAT.GI	Gafa integral	1,00	u 5,77	5,77	
MAT.GTT	Par de guantes térmicos	1,00	u 12,49	12,49	
MAT.MGA	Máscara de gases	1,00	u 29,50	29,50	
C.AUX	Costes auxiliares 2%	0,02	% 68,38	1,37	
	Clase: Material			53,48	
	Clase: Medio auxiliar			1,37	
	Total partida 04-01			54,85	
	Total capítulo 4			54,85	

1.3. Cuadro de presupuesto resumido

En este apartado, se muestran de manera más resumida los costes del cuadro de mediciones y presupuesto y, de este modo, se puede observar el precio que conlleva cada unidad de obra, la suma de ellas la cual establece el coste del capítulo y, la suma de todos ellos para dar lugar al presupuesto de ejecución del material.

MEDICIONES Y PRESUPUESTO		Pág.: 1
Resumen		Ref.: PrResTFMFEA
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Importe (€)
	Preparación muestras	
01-01	Lavado	875,42
01-02	<i>Spin-coating</i>	576,15
01-03	Curado	213,68
01-04	Lavado y secado post-curado	486,40
	Total capítulo 1	2151,66
	Ensayos de caracterización	
02-01	Caracterización de superficie	471,01
02-02	Ángulo de contacto	816,02
02-03	μBCA	402,69
02-04	Espectroscopía FTIR	74,17
	Total capítulo 2	1763,88
	Reuniones	
03-01	Reuniones de supervisión del trabajo	3524,95
	Total capítulo 3	3524,95
	EPIS	
04-01	Material de protección individual	54,85
	Total capítulo 4	54,85
	Total presupuesto	7495,34

1.4. Cuadro de resumen de capítulos

En este cuadro se muestra el coste de cada capítulo, el presupuesto de ejecución del material, el presupuesto por contrata al considerar los gastos generales y el beneficio industrial y, el presupuesto total al considerar el IVA.

MEDICIONES Y PRESUPUESTO Resumen con IVA		Pág.: 1 Ref.: PRIVATFMFEA Fec.: 6.JUL.2019
N.º Orden	Descripción de las unidades de obra	Importe (€)
01	Preparación muestras	2.151,66
02	Ensayos de caracterización	1.763,88
03	Reuniones	3.524,95
04	EPIS	54,85
	Total ejecución material	7.495,34
	13% Gastos generales	974,39
	6% Beneficio industrial	58,46
	Total ejecución por contrata	8.528,19
	21% IVA	1.790,92
	Total presupuesto con IVA	10.319,12

Asciende el presupuesto proyectado a la expresada cantidad de:
DIEZ MIL TRESCIENTOS DIECINUEVE EUROS CON DOCE CÉNTIMOS