

TRABAJO FIN DE GRADO



UNIVERSIDAD EUROPEA DE MADRID

ESCUELA DE ARQUITECTURA, INGENIERÍA Y DISEÑO

ÁREA INGENIERÍA INDUSTRIAL

GRADO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

TRABAJO FIN DE GRADO

**PUESTA A PUNTO Y OPTIMIZACIÓN DE
UNA BIOIMPRESORA 3D PARA LA
PRODUCCIÓN DE ANDAMIOS
POLIMÉRICOS NATURALES POR
EXTRUSIÓN**

Alumno: D. Alejandro de Miguel Martín

Directores: D. Carlos Castellote Varona

D. Adrián Esteban Arraz

D^a. Elena Pérez Izquierdo

JULIO 2025

TÍTULO: Puesta a punto y optimización de una bioimpresora 3D para la producción de andamios poliméricos naturales por extrusión

AUTOR: Alejandro de Miguel Martín

DIRECTORES DEL PROYECTO: Carlos Castellote Varona, Adrián Esteban Arraz, Elena Pérez Izquierdo

FECHA: 11 de julio de 2025

RESUMEN

Este Trabajo Fin de Grado está enmarcado dentro del área de investigación y de realidad profesional de la bioimpresión, técnica novedosa para la creación de estructuras con diferentes aplicaciones en ingeniería de tejidos, medicina regenerativa y estudios biomédicos.

A lo largo de este Trabajo Fin de Grado se ha aprendido a usar una bioimpresora 3D, se han optimizado sus parámetros de impresión para la obtención de estructuras funcionales y se ha experimentado con diferentes formulaciones de componentes predeterminados (alginato-cloruro cálcico) con objeto de conseguir una formulación óptima para su uso como tinta de biomaterial imprimible.

El criterio de selección de una formulación óptima de biotinta ha venido dado por los resultados que se han obtenido en los múltiples ensayos reológicos realizados, de forma que se ha relacionado la viscosidad de la tinta de biomaterial con su concentración de entrecruzante, concluyendo con una muestra viable para futuras líneas de investigación.

Palabras clave: Bioimpresión; Tintas de biomaterial; Viscosidad; Reología

ABSTRACT

This Final Degree Project is framed within the research and professional field of bioprinting, a novel technique for creating structures with diverse applications in tissue engineering, regenerative medicine, and biomedical studies.

Throughout this Final Degree Project, students have learned how to use a 3D bioprinter, optimized its printing parameters to obtain functional structures, and experimented with different formulations of predetermined components (alginate-calcium chloride) to achieve an optimal formulation for use as a printable biomaterial ink.

The selection criteria for an optimal bioink formulation were based on the results obtained from the multiple rheological tests performed. The viscosity of the biomaterial ink was related to its crosslinker concentration, resulting in a viable sample for future lines of research.

Key words: Bioprinting, Biomaterial inks, Viscosity, Rheology

Índice

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
Capítulo 1. OBJETIVOS Y ALCANCE	11
1.1 Bioimpresoras y biotintas	11
1.2 <i>Scaffolds</i> (Andamios)	15
1.3 Aplicaciones generales	16
1.4 Objetivos del proyecto	16
Capítulo 2. MARCO TEÓRICO	17
2.1 Módulo de pérdida y módulo de almacenamiento	17
2.2 Viscosidad	18
2.3 Capacidad de entrecruzamiento	19
2.4 Temperatura	19
2.5 Fidelidad de impresión	20
2.6 Velocidad de impresión (<i>Printing rate</i>)	20
Capítulo 3. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 Estudio de entrecruzamiento cloruro cálcico con alginato	21
3.2 Preparación de las tintas	22
3.3 Preparación y pruebas reológicas	25
3.4 Impresión 3D por extrusión	28
Capítulo 4. RESULTADOS	30
4.1 Apariencia física de las tintas de biomaterial	30
4.2 Resultados de los ensayos reológicos	33
4.3 Impresión de tintas alginato - CaCl₂	40
Capítulo 5. CONCLUSIONES	42
5.1 Parámetros óptimos para la impresora	42
5.2 Creación y estudio de tintas de biomaterial	42
5.3 Relación entre agente entrecruzante y viscosidad	42
BIBLIOGRAFÍA	43

ANEXOS	46
TRABAJO FIN DE GRADO - ANEXO I.....	46
1. Pantalla inicial	46
2. Configuración de objetos	47
2.1.1 Andamio/ <i>Scaffold</i>	47
2.1.2 Relleno.....	50
2.2 Tool configuration	51
2.3 Proceso de impresión.....	52
TRABAJO FIN DE GRADO - ANEXO II.....	53
TRABAJO FIN DE GRADO - ANEXO III.....	55

Índice de Figuras

Fig1. Impresión por extrusión.....	13
Fig2. Impresión por inyección de tinta.....	13
Fig3. Impresión por láser.....	13
Fig4. Esquema de bioimpresión de <i>scaffolds</i> para uso clínico.....	15
Fig5. Curva de Flujo en relación a tensión y velocidad de corte.....	18
Fig6. Esferas formadas por el entrecruzamiento entre distintas concentraciones de $CaCl_2$ y una gota de alginato(8%).....	21
Fig7. Concentración 160mM $CaCl_2$	22
Fig8. Concentración 35mM $CaCl_2$	22
Fig9. Equipo de análisis reológico ThermoSpecific RheoStress6000 y termostato HUBER KISS K6.....	25
Fig10. Rotor levantado con muestra en placa.....	27
Fig11. Rotor aplastando muestra para medición.....	27
Fig12. Baño de silicona como refrigerante.....	27
Fig13. Foto de la bioimpresora REGEMAT 3D BioV1.....	28
Fig14. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con $CaCl_2$ 35Mm.....	30
Fig15. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con $CaCl_2$ 50Mm.....	31
Fig16. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con $CaCl_2$ 60mM.....	31
Fig17. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con $CaCl_2$ 80Mm.....	32
Fig18. Gráfica de valor de viscosidad de cada mezcla en el punto $1s^{-1}$	33
Fig19. Gráfica de viscosidad de la muestra 35Mm.....	34
Fig20. Gráfica de viscosidad de la muestra 50mM.....	34
Fig21. Gráfica de viscosidad de la muestra 60mM.....	35
Fig22. Gráfica de viscosidad de la muestra 80mM.....	35
Fig23. Gráfica de valor de n de cada mezcla.....	37

Fig24. Gráfica de valor de K de cada mezcla.....	38
Fig25. Cubo de Alg:CaCl ₂ 35mM extruido.....	40
Fig26. Cubo de Alg:CaCl ₂ 50mM extruido.....	40
Fig27. Cubo de Alg:CaCl ₂ 60mM extruido.....	41
Fig28. Cubo de Alg:CaCl ₂ 80mM extruido.....	41
Fig29. Pantalla inicial de Regemat3D <i>designer</i>	46
Fig30. Pantalla de configuración.....	47
Fig31. Dimensiones predeterminadas del cubo.....	48
Fig32. Dimensiones predeterminadas del cilindro.....	48
Fig33. Patrón de relleno diagonal.....	48
Fig34. Patrón de relleno triangular.....	48
Fig35. Patrón de relleno hexagonal.....	49
Fig36. Patrón de relleno en zigzag.....	49
Fig37. Patrón de relleno objeto sólido (diagonal).....	49
Fig38. Configuración de boquillas.....	49
Fig39. Configuración de relleno.....	50
Fig40. Relleno linear, por puntos y puntos/área.....	51
Fig41. Pantalla inicial con configuración de herramienta seleccionada.....	51
Fig42. Estado del <i>software</i> si se pulsa <i>Emergency Stop</i>	52
Fig43. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl ₂ 100mM reparto 3:1.....	53
Fig44. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl ₂ 100mM reparto 1:3.....	53
Fig45. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl ₂ 100mM reparto 2,5:1,5.....	54
Fig46. Gráfica de viscosidad 35mM ensayo 1.....	55
Fig47. Gráfica de viscosidad 35mM ensayo 2.....	55
Fig48. Gráfica de viscosidad 35mM ensayo 3.....	56
Fig49. Gráfica de viscosidad 50mM ensayo 1.....	56
Fig50. Gráfica de viscosidad 50mM ensayo 2.....	57
Fig51. Gráfica de viscosidad 50mM ensayo 3.....	57

Fig52. Gráfica de viscosidad 50mM ensayo 4.....	58
Fig53. Gráfica de viscosidad 60mM ensayo 1.....	58
Fig54. Gráfica de viscosidad 60mM ensayo 2.....	59
Fig55. Gráfica de viscosidad 60mM ensayo 3.....	59
Fig56. Gráfica de viscosidad 80mM ensayo 1.....	60
Fig57. Gráfica de viscosidad 80mM ensayo 2.....	60
Fig58. Gráfica de viscosidad 80mM ensayo 3.....	61

Capítulo 1. OBJETIVOS Y ALCANCE

La tecnología de la bioimpresión es un campo novel para todo el dominio de la medicina y la salud. Lo que en su momento comenzó como una herramienta para prototipar mecanismos simples o crear piezas de ensamblaje a bajo costo usando plásticos y filamentos de ácido poliláctico (PLA), ha encontrado una rama para revolucionar completamente el *modus operandi* de una gran cantidad de estudios y proyectos. [1]

Desde crear bases biocompatibles para cultivo celular, soportes para construir simulaciones funcionales de vascularización del corazón e incluso para fabricar piel sintética capa por capa, el uso de la bioimpresión ha sido vital para alcanzar nuevos hitos que no se veían posibles. Muchos proyectos que llegaron a un punto muerto, ya sea por falta de recursos o soluciones, han encontrado la solución a sus correspondientes dificultades gracias a un uso inteligente de la bioimpresión.

En el caso del rendimiento, uso y funcionamiento de cada pieza impresa, primero se debe conocer con qué se está trabajando y qué se necesita para trabajar.

1.1 Bioimpresoras y biotintas

BIOIMPRESORAS:

Una bioimpresora es una máquina que permite fabricar estructuras biológicas gracias a la tecnología de impresión 3D. Estas estructuras son biocompatibles, ya que se usan materiales que no interaccionan negativamente con el cuerpo humano. Su objetivo es actuar como un tejido funcional, capaz de imitar sus propiedades y replicar sus funciones.

Existen varios tipos de bioimpresoras, con diferencias según la precisión y complejidad de las estructuras que pueden llegar a crear, lo cual las lleva a tener diferentes usos o aplicaciones:

- Bioimpresión por extrusión (extrusion-based bioprinting)

Este método utiliza una boquilla que empuja la biotinta de manera continua, formando estructuras capa a capa. Esta extrusión se puede realizar con presión neumática, mecánica o térmica.

Los usos más comunes de este tipo de impresión son para trasplantes de piel sintética y medicina regenerativa. Eso es posible gracias a la capacidad de creación de tejidos más gruesos y complejos.

Han llegado a desarrollarse modelos de cartílago de nariz y oído utilizando este método, todo ello con el objetivo de usarlo para cirugía reconstructiva. [2]

Las impresoras de extrusión constan de un depósito controlado por presión y temperatura y un mecanismo de dispensación con la capacidad de moverse en los ejes x, y, z.

Un uso clave de este método de bioimpresión es la creación de *scaffolds*.

Los *scaffolds* son andamios biocompatibles que pueden usarse como soporte para el cultivo celular.

A continuación, se muestran las ventajas e inconvenientes de este tipo de bioimpresoras:

- ✓ Permite la creación de *scaffolds* y su uso en otras especialidades
- ✓ Capacidad de creación más robusta.
- X Dificultad a la hora de crear estructuras que necesiten precisión.
- X Es el método que más presión aplica a las células en la biotinta.

- Bioimpresión por inyección de tinta (inkjet-based bioprinting)

Este es el método más parecido a las impresoras 3D convencionales. Usa un cabezal de impresión que expulsa gotas de biotinta una a una, formando la estructura capa por capa.

Suele usarse sobre todo en investigación biomédica, ya que este método en particular, gracias a su alta precisión, permite el desarrollo de tejidos finos como piel artificial, patrones celulares específicos o láminas celulares ultra finas; son algunos de los resultados a esperar cuando se usa este tipo de bioimpresión en un proyecto. [2]

Hay que tener en cuenta las siguientes características de este tipo de bioimpresora:

- ✓ Alta resolución y precisión.
- ✓ Menor coste en comparación con las otras técnicas.
- X Dificultad a la hora de crear estructuras gruesas.

- Bioimpresión por láser (laser-based bioprinting)

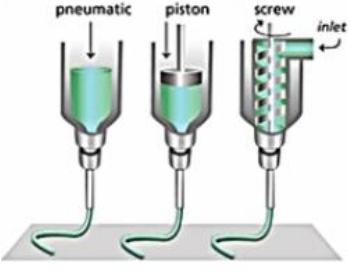
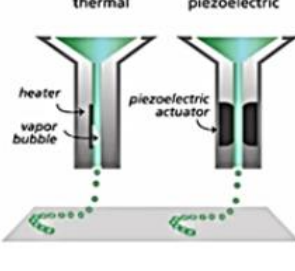
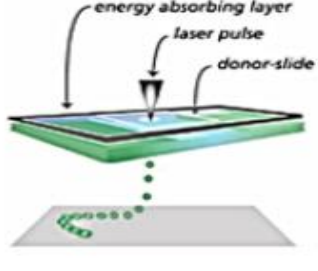
Utiliza pulsos láser para depositar biotintas con altísima precisión y sin necesidad de contacto directo con las células. La concentración del láser provoca que caigan gotas de biotinta, permitiendo una colocación controlada de cada célula.

Al poseer tanta precisión, su uso principal es la impresión de estructuras celulares complejas. Estas estructuras pueden acabar dando lugar a tejidos neuronales o estudios de interacción intercelular, es decir, estructuras donde la disposición de las células es crucial para su funcionamiento. [2]

Como en los otros casos, este tipo de bioimpresora tiene propiedades únicas:

- ✓ Permite estudios complejos gracias a su precisión.
- ✓ Evita el daño celular que puedan causar los otros métodos al interactuar con las biotintas.
- X Más cara y difícil de implementar en comparación a los otros métodos.
- X Las biotintas han de ser compatibles con el láser.

Tabla 1 – Tipos de procedimientos de bioimpresión

	EXTRUSIÓN	INYECCIÓN DE TINTA	LÁSER
	 Fig1. Impresión por extrusión [2]	 Fig2. Impresión por inyección de tinta [2]	 Fig3. Impresión por láser [2]
Expulsión de tinta	Dispensado robótico (neumática, mecánica, térmica)	Mediante calor o presión	Pulso láser
Método de expulsión	Hebras continuas	Gotas individuales	Gotitas desde una capa de biotinta
Precisión	Media (200µm)	Alta (1-50 µm)	Muy alta (Micro escala)

BIOTINTAS:

Las biotintas, por su parte, son materiales biocompatibles que se usan para crear estructuras celulares estables. Aunque no necesariamente deben de tener células, pueden estar compuestas por componentes extraídos de órganos o tejidos que atraigan o retengan células. Su función principal es proporcionar un entorno adecuado para la adhesión, proliferación y diferenciación de células vivas, permitiendo así la fabricación de tejidos funcionales.

Una biotinta debe de pasar por varios test antes de poder ser comercializada. En estas pruebas se verifican sus principales características:

- Biocompatibilidad -> no debe causar rechazo celular ni presentar toxicidad.
- Viscosidad -> la capacidad de no colapsar ni deformarse durante la impresión.
- Soporte mecánico -> la estructura debe poder mantenerse hasta que las células generen su matriz extracelular.
- Degradabilidad -> un tiempo de vida adecuado. Debe permitir a las células reemplazar el tejido natural.

Para poder darlas un uso correcto, es necesario averiguar más propiedades sobre las biotintas. Debemos conocer detalles como su composición, usos o biocompatibilidad:

Tabla 2 – Ejemplos de tipos de biotintas

TIPO DE BIOTINTA	DESCRIPCIÓN	MATERIALES Y USOS PRINCIPALES	RESISTENCIA MECÁNICA	BIOCOMPATIBILIDAD
Basadas en hidrogeles	Los hidrogeles son redes tridimensionales de polímeros que pueden retener grandes cantidades de agua, simulando la matriz extracelular de los tejidos naturales. (Son los biomateriales más utilizados en bioimpresión)	Algina-> creación de tejidos blandos como cartílago y piel. Colágeno-> tejido cardíaco y vasos sanguíneos.	Baja. Tienen limitación en aplicaciones de tejidos duros.	Alta
Basadas en polímeros naturales	Los polímeros naturales, además de formar hidrogeles, también se pueden utilizar como soportes estructurales para mejorar la resistencia mecánica de la biotinta.	Quitano-> cicatrización de heridas por sus propiedades antimicrobianas.	Media	Alta
Basadas en polímeros sintéticos	Los polímeros sintéticos ofrecen mayor control sobre las propiedades mecánicas y la degradabilidad, permitiendo crear estructuras más resistentes.	Poliácido láctico (PLA) y Poliprolactona (PCL)-> impresión de hueso y cartílago en combinación con células. Se usan como <i>scaffolds</i> (andamios celulares.)	Alta	Media
Basadas en células vivas	Las biotintas celulares contienen células vivas en suspensión, sin necesidad de un biomaterial portador. Estas células pueden auto-organizarse y secretar su propia matriz extracelular.	Células endoteliales-> creación de vasos sanguíneos funcionales. Osteoblastos-> bioimpresión de tejido óseo	Baja	Muy alta

1.2 Scaffolds (Andamios)

Esencialmente, los *scaffolds* son estructuras con muchos poros. Dentro de estos, las células pueden acoplarse y diferenciarse al tipo de célula más conveniente según el tipo de tejido del que esté formado el *scaffold*. Esa característica es muy importante para su uso en medicina regenerativa, ya que la regeneración del tejido dañado se realiza mucho más rápido y con el mismo tipo de células de las estructuras adyacentes, evitando la creación de tejido cicatrizal. La utilidad del uso de *scaffolds* ha quedado demostrada por una integración más rápida de los tejidos implantados, un menor riesgo de rechazo y un crecimiento celular uniforme *in vivo*. [3]

Un *scaffold* funcional debe tener las siguientes características:

- Una estructura propicia para la unión celular
- Apoyar la perfusión de líquidos.
- Estabilidad mecánica.

Si la porosidad del *scaffold* es lo suficientemente alta (>60%), habrá un flujo adecuado de líquidos y la adhesión celular será más sencilla. [3]

En la impresión 3D, los *scaffolds* son creados mediante una microarquitectura que permita el crecimiento celular además de ofrecer estabilidad mecánica.

Es necesario tener en cuenta distintas características durante su creación para asegurarse de que las células que vayan a cultivarse en este *scaffold* no se vean dañadas. La citotoxicidad química causada por el uso de solventes o el efecto apoptótico inducido por la presión producida durante la extrusión del material [1] suelen ser los problemas que impiden el crecimiento celular en un *scaffold*.

En caso de ser usadas para cultivo celular, la vascularización de los andamios es uno de los pasos más importantes. Con la vascularización adecuada, los *scaffolds* tienen un flujo continuo de entrada de nutrientes/oxígeno y salida de carbono, evitando necrosis en el núcleo. [1]

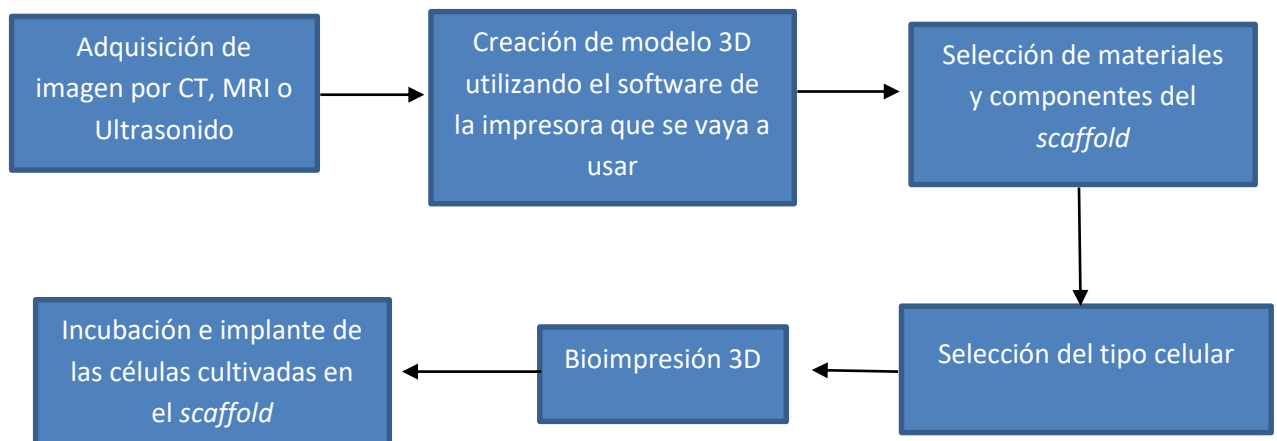


Fig 4. Esquema de bioimpresión de scaffolds para uso clínico.

Un ejemplo de la utilidad de los *scaffolds* es en su uso clínico.

Siguiendo la explicación del esquema, se pueden utilizar modalidades de imagen médica como la tomografía computarizada (CT), la resonancia magnética nuclear (MRI) o la ecografía para crear un modelo digital en 3D del defecto en el tejido dañado. Usando software de impresión 3D para crear un diseño capaz de mimetizar la forma del tejido dañado en condiciones *in vivo*, se incorporará al modelo la arquitectura interna y externa del *scaffold*, junto con la porosidad y el tamaño de los poros.

Teniendo en cuenta datos como la ubicación y el estado del tejido dañado, se hará una selección de materiales, tipos de células y moléculas bioactivas para fabricar una biotinta apta para la impresión.

Por último, se fabrican los *scaffolds* mediante tecnología de bioimpresión y se implantan las células para comenzar el cultivo. Una vez se haya terminado el crecimiento celular, se implantan directamente en el paciente para comenzar la regeneración del tejido.

1.3 Aplicaciones generales

Existe una gran cantidad de ejemplos de aplicaciones y proyectos que usan bioimpresoras, cada uno con sus propias características y diferencias. Pero todos ellos tienen algo en común, el estudio del tejido impreso.

Medicina regenerativa-> actualmente se usa para proyectos relacionados con la producción de piel, cartílago o vasos sanguíneos. Aunque el campo de estudio e innovación es la creación de órganos funcionales para trasplantes.

Investigación farmacéutica y cosmética-> es uno de los campos actuales en los que la bioimpresión facilita bastante la obtención de resultados gracias a los modelos de estudio reproducibles, es decir, la posibilidad que nos presenta la bioimpresión de poder crear tejidos ajenos al cuerpo con sus mismas propiedades, reduce el riesgo para los pacientes y facilita la realización de estudios toxicológicos que requiere la industria farmacéutica y cosmética.

Un ejemplo puede ser el desarrollo de modelos de enfermedades humanas para investigar tratamientos personalizados usando tejido bioimpreso.

Estudios biomédicos-> se usan principalmente para estudiar enfermedades y comprender mejor sus procesos biológicos, creando modelos in vitro que simulen las condiciones del paciente y, reduciendo así, el riesgo que podría suponer su aplicación directa sobre pacientes inmunodeprimidos.

Por ejemplo, la impresión de tejidos cerebrales para estudio de su comportamiento en enfermedades neurodegenerativas o modelos de tejido tumoral para su estudio y posterior creación de terapias oncológicas.

1.4 Objetivos del proyecto

Objetivos principales:

- Creación y estudio de tintas de biomaterial.
- Aprender a usar una bioimpresora 3D y encontrar los parámetros óptimos para su uso.

Objetivos secundarios:

- Aprender a usar un equipo de reología y encontrar la compatibilidad con el método de impresión mediante análisis reológico de las tintas.
- Estudiar la correlación que pueda existir entre la viscosidad y el entrecruzante con las condiciones de impresión.
- Hallar la relación entre viscosidad óptima y el entrecruzante.

Capítulo 2. MARCO TEÓRICO

El método de bioimpresión que se va a usar en este proyecto es la bioimpresión basada en extrusión. Este, además de un bajo coste y la facilidad de operación, es compatible con hidrogeles, esferoides celulares y polímeros biocompatibles.

El control de los parámetros de impresión es más fácil con las bioimpresoras basadas en extrusión a pesar de la falta de parámetros físicos estandarizados de biotintas. [4]

Para poder realizar una bioimpresión por extrusión óptima, es necesario conocer los siguientes parámetros:

2.1 Módulo de pérdida y módulo de almacenamiento

El límite elástico es un parámetro muy importante a la hora de tratar con impresión mediante extrusión. Este límite define la divisoria entre el campo elástico y el plástico en cualquier material. En nuestro caso, sería la cantidad de estrés (esfuerzo) que puede aguantar la tinta para que pueda fluir por la boquilla de la impresora y se comporte como un material pseudoplástico.

A mayor límite elástico, mayor presión de extrusión, lo que puede acabar afectando negativamente a la viabilidad de las células. [5]

Podemos poner a prueba esta propiedad si conocemos el módulo de almacenamiento (G'), que representa la parte elástica del material y el módulo de pérdida (G''), que representa la parte viscosa. [6]

$$G' = \frac{\tau_0}{\gamma_0}$$

Ecuación 1 – Módulo de almacenamiento

$$G'' = \frac{\tau_0}{\gamma_0}$$

Ecuación 2 – Módulo de pérdida

Siendo, τ_0 valor máximo de la tensión de corte.

γ_0 valor máximo de deformación.

Ambos módulos afectan a la capacidad de impresión de la tinta, por lo que, si calculamos la relación entre estos, obtendremos un valor aproximado que nos ayudará a predecir el comportamiento elástico de la tinta.

El factor de pérdida (“*Loss Factor*”) se calcula usando la ecuación:

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'}$$

Ecuación 3 – Factor de pérdida

El resultado nos mostrará las características elásticas.

Si el resultado es excesivamente alto en comparación con el límite elástico, la tinta presentará un comportamiento similar al de un fluido, provocando que la estructura no se mantenga rígida y colapsará. [6]

En caso de ser un resultado mucho menor, la estructura será difícil de extruir, estaría formada por filamentos poco uniformes.

2.2 Viscosidad

La viscosidad es resistencia de un fluido a moverse. Tiene que ver con la capacidad de un material de ser extruido a través de una boquilla de extrusor sin obstruirse después de aplicarle presión.

Si el fluido con el que tratamos es *newtoniano*, su viscosidad será constante $\mu = \text{cte}$

En caso de que el fluido sea no newtoniano depende de la velocidad de corte (*shear rate*).

$$\dot{\gamma} = \frac{\text{Cambio en deformación } (d\gamma)}{\text{Tiempo } (t)}; \text{Unidad } 1/s$$

Ecuación 4 – Ecuación de velocidad de corte

Gracias a eso podemos vincularlo con la tensión de corte (*shear stress*).

$$\tau = \frac{\text{Fuerza } (F)}{\text{Área } (A)}; \text{Unidad Pascales } (Pa)$$

Ecuación 5 – Ecuación de la tensión de corte

Así se puede conocer el valor de la viscosidad usando la ecuación:

$$\mu = \frac{\text{Esfuerzo de cizalla } (\tau)}{\text{Velocidad de cizalla } (\dot{\gamma})}; \text{Unidad Pascales por segundo } (Pa.s)$$

Ecuación 6 – Relación entre tensión de corte y velocidad de corte

Donde μ es la viscosidad, τ es la tensión de corte y $\dot{\gamma}$ es la velocidad de corte. Se mide en pascales por segundo. 1 pascal *segundo son 1000 milipascales*segundo, que a su vez son 1000 centiPoise (cP).

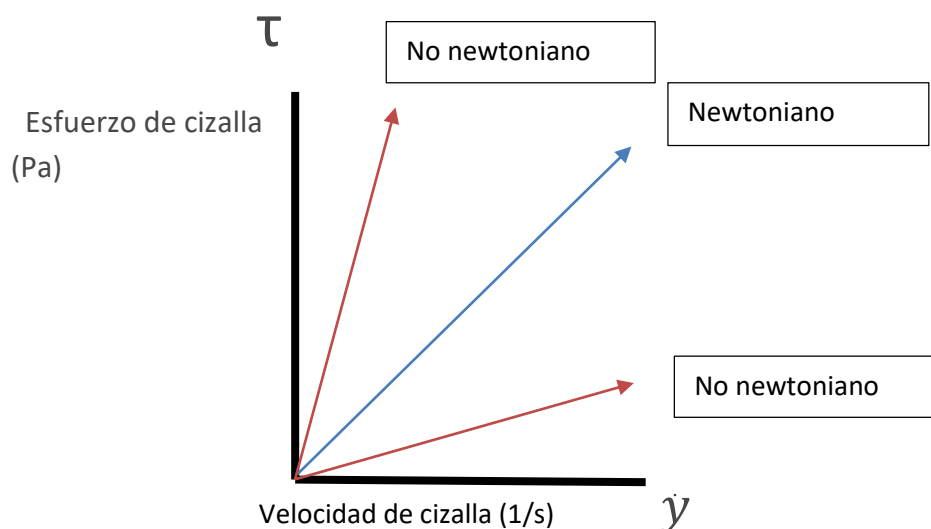


Fig 5. Curva de Flujo en relación a tensión y velocidad de corte.

“La resistencia derivada de la falta de deslizamiento de las partes de un líquido es proporcional a la velocidad a la que se separan entre sí.”

Los hidrogeles son en su mayoría fluidos no newtonianos, lo que significa que su viscosidad cambia con la velocidad de corte. Sin embargo, cuanto más viscosa sea la tinta de biomaterial, mayor será la tensión de corte inducida durante la impresión, lo que da como resultado negativo una mayor posibilidad de muerte celular. [6]

La viscosidad se ve afectada por otras variables importantes durante el proceso de impresión:

- A mayor temperatura, menor viscosidad.
- Si el fluido es no-newtoniano, la viscosidad depende de la velocidad de cizalla. Para el proceso de extrusión, la velocidad de cizalla suele estar en el intervalo $10^2 - 10^3 (s^{-1})$ [6]

2.3 Capacidad de entrecruzamiento

El entrecruzamiento es el proceso por el cual se forman enlaces covalentes entre cadenas de polímeros. Esto afecta a las propiedades físicas del polímero dependiendo del grado de entrecruzamiento y la presencia o ausencia de cristalinidad. [6]

El entrecruzamiento afecta a:

- Elasticidad -> La capacidad de estirarse y volver a su forma original. A medida que aumenta el número de enlaces cruzados, el polímero se volverá más rígido, perdiendo elasticidad. Por tanto, el material se volverá más viscoso y menos elástico, pudiendo llegar a volverse quebradizo. [7]
- Solubilidad -> El entrecruzamiento acaba provocando insolubilidad. Los materiales entrecruzados no se disuelven en solventes, de hecho, pueden absorberlos [7]. Una vez el polímero absorbe la cantidad de solvente necesaria, se forma un gel.
- Disminución del punto de fusión -> El entrecruzamiento introduce resistencia en la orientación de la cadena, dando como resultado un polímero más suave y con un punto de fusión más bajo. Provocando que sea más sencillo alcanzar la temperatura que produce el cambio del estado sólido/semisólido del material a uno completamente líquido. [7]

2.4 Temperatura

Los cambios que se realicen a la temperatura de la tinta afectarán a su capacidad de impresión. Aumentar la temperatura hasta el valor óptimo nos ayudará a encontrar la viscosidad necesaria para que el material pueda ser extruido por la boquilla de extrusión. Sin embargo, si la temperatura no es óptima, podrían ocurrir sucesos como una reducción exagerada de la viscosidad de la tinta, haciendo que se comporte como un fluido en vez de un gel.

Un método de obtención de la temperatura óptima, es hallar la temperatura de gelificación del material con el que se esté trabajando. La temperatura de gelificación se define como la intersección de las curvas reológicas G' y G'' . [8]

En el caso de este trabajo, no se ha realizado este método. En su lugar, se ha optado por trabajar a temperatura corporal interna (37°C).

2.5 Fidelidad de impresión

La relación de dispersión (RD) funciona como una medida representativa de la fidelidad de impresión. La relación de dispersión es el cociente entre el diámetro del filamento que se ha impreso y el diámetro de la boquilla de la impresora. [2]

Es decir,

$$RD = \frac{\text{Diámetro del filamento impreso}}{\text{Diámetro de la boquilla}}$$

Ecuación 7 – Ecuación de la relación de dispersión

Una vez se conozca la relación de dispersión, es posible ajustar la velocidad de impresión (mm/s) y la velocidad del flujo de extrusión (mL/min) a la tinta que se vaya a usar.

En caso de aumentar el flujo de extrusión, el filamento se volvería más grueso (RD más alto).

Si en su lugar, se aumenta la velocidad de impresión, el filamento se volvería más delgado (RD más bajo). [6]

Para un proceso de impresión óptimo, el patrón que se vaya a imprimir debe ser continuo y uniforme.

2.6 Velocidad de impresión (*Printing rate*)

La imprimibilidad (*printability*), por definición, es la capacidad de un material de ser continuamente extruido sin verse deformado más allá de lo deseado. [9]

Si usamos la ecuación:

$$Pr = \frac{L^2}{16A}$$

Ecuación 8 – Ecuación de tasa de capacidad de impresión

Donde L es el perímetro de un área de sección transversal dada en su base y A es su área de sección transversal.

Esta relación es particularmente útil al evaluar parámetros de aptitud de impresión que relacionan la extensión del filamento y la fidelidad de la forma del filamento. Mostrándose cómo de bien se generan los poros o se imprimen las geometrías generales.

Si el valor de Pr es 1, esto indicaría la capacidad de imprimir un cuadrado perfecto sin deformaciones. [4]

En general, un material puede ser:

-Imprimible-> propiedades físicas aptas para la impresión.

-No imprimible-> la viscosidad del material es demasiado baja y es prácticamente un fluido, provocando fugas a través de la boquilla de impresión.

-No extruible -> la viscosidad del material es demasiado alta como para ser extruido por la boquilla.

Capítulo 3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Estudio de entrecruzamiento cloruro cálcico con alginato

Antes de comenzar con la impresión, se realizó la creación de la tinta de biomaterial que se usará en el proyecto. Una tinta formada con alginato entrecruzado con cloruro de calcio (CaCl_2).

Para poder elegir la cantidad correcta de entrecruzante, se realizaron varias pruebas para determinar cuál presentaba las propiedades más óptimas para el experimento.

Por definición, a mayor cantidad de entrecruzante, mayores son sus efectos : Al entrecruzar alginato con CaCl_2 , se obtiene un endurecimiento del polímero. Cuanto mayor sea la concentración de CaCl_2 , la viscosidad de la tinta será mayor. [10]

Sin embargo, un efecto más potente no indica un efecto óptimo. Se prevé que un mayor volumen de CaCl_2 en la mezcla acabará produciendo una tinta de biomaterial tóxica, incompatible para las células que se dispongan a cultivar dentro.

En el laboratorio, se realizó un experimento que consistía en dejar caer gotas de alginato en distintos tubos de precipitados que contenían CaCl_2 a concentraciones cada vez mayores.

Observando los resultados en la siguiente imagen, podemos asegurar que, a mayor concentración de CaCl_2 mezclado con alginato, obtenemos:

- Mayor definición
- Mayor resistencia a la rotura
- Más opacidad
- Menor deformación



Fig 6. Esferas formadas por el entrecruzamiento entre distintas concentraciones de CaCl_2 y una gota de alginato(8%)

Al poner en contacto alginato con cloruro de calcio, se generan esferas. Eso es debido a que, durante el entrecruzamiento, hay un intercambio de iones entre el calcio y el gel de alginato. Los iones se acumulan, provocando endurecimiento, que a su vez provoca la viscosidad. Cuanto más tiempo se deje el entrecruzamiento, mayor endurecimiento y espesor caracterizará a las esferas resultantes. Para este experimento, las gotas de alginato se mantuvieron aproximadamente 1 minuto en el agitador dentro de cada concentración de CaCl_2 .

Las diferencias entre la mayor y menor cantidad de concentración eran bastante notables, como se ve en las siguientes figuras:

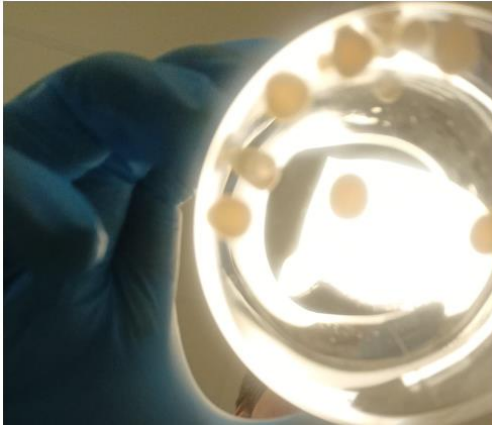


Fig7. Concentración 160mM CaCl_2



Fig8. Concentración 35mM CaCl_2

Como se ha señalado anteriormente, a mayor concentración de cloruro cálcico, se obtiene una esfera más opaca, con mejor definición y forma.

3.2 Preparación de las tintas

Una vez comprobada la esferificación de cada concentración, se puede crear una tinta de biomaterial.

Materiales:

- 50 mL de alginato (8%)
- 80mL de CaCl_2 concentración 35mM
- 80mL de CaCl_2 concentración 50mM
- 80mL de CaCl_2 concentración 60mM
- 80mL de CaCl_2 concentración 100mM
- 80mL de CaCl_2 concentración 160mM
- Pipeta de 100-1000mL
- Puntas para pipeta
- Tubos de muestreo de 15mL.
- Mezclador de vórtice /Vortex

Métodos:

Como la dilución será distribuida en relación 1:1, el 8% de concentración de alginato pasará a ser un 4%. Por su parte, la molaridad de CaCl_2 también se verá reducida a la mitad. (Si se usa una concentración de 100mM, en la mezcla, esa concentración pasará a ser de 50mM.)

Teniendo en cuenta que la molaridad de cada concentración de CaCl_2 acabará teniendo su valor partido por la mitad, es necesario preparar las soluciones con el volumen y molaridad óptima.

Si se quiere una concentración de 35mM en la mezcla, se necesitará una concentración de 70mM natural.

La ecuación usada es la siguiente:

$$Mf = \frac{M_{V1} + M_{V2}}{V1 + V2}$$

Ecuación 9 – Obtener la molaridad final de una mezcla

Se busca una molaridad final de 70mM. Para ello se mezclan las concentraciones de 100mM y 60mM.

$$70 = \frac{100V1 + 60V2}{V1 + V2} \rightarrow -100V1 + 70V1 = 60V2 - 70V2$$

$$3V1 = V2$$

Ecuación 10 – Obtener la molaridad final de una mezcla, usada para calcular los volúmenes de las concentraciones de 100mM y 60mM.

V2 es el triple que V1.

Si se quiere 2,5mL para la mezcla. Entonces:

$$2,5\text{mL} = 3V1 + V2$$

$$2,5 = 3V1 + 3V1 \rightarrow V1 = \frac{2,5}{6} = 0,41\text{mL}$$

$$V2 = 3V1 \rightarrow V2 = 3 * 0,41 = 1,25\text{mL}$$

Ecuación 11 – Calcular los volúmenes necesarios para la mezcla.

Conociendo los volúmenes necesarios de cada concentración de CaCl_2 , es posible realizar la mezcla para obtener la molaridad deseada.

En caso de buscar una concentración de 60mM en la mezcla, será necesaria una concentración de 120mM de CaCl_2 natural. Para ello habrá que mezclar las concentraciones de 100mM y 160mM.

$$120\text{mM} = \frac{160V_1 + 100V_2}{V_1 + V_2}$$

$$-160V_1 + 120V_1 = 100V_2 - 120V_2 \rightarrow -40V_1 = -20V_2$$

$$2V_1 = V_2$$

Ecuación 12 – Obtener la molaridad final de una mezcla, usada para calcular los volúmenes de las concentraciones de 160 y 100mM.

V2 es el doble que V1.

Si se quiere 2,5mL para la mezcla. Entonces:

$$2,5\text{mL} = 2V_1 + V_2$$

$$2,5 = 2V_1 + 2V_1 \rightarrow V_1 = \frac{2,5}{4} = 0,625\text{mL}$$

$$V_2 = 1,25\text{mL}$$

Ecuación 13 – Calcular los volúmenes necesarios para la mezcla.

Conociendo los volúmenes necesarios de cada concentración de CaCl_2 , se pueden realizar las mezclas para obtener la molaridad deseada.

En los casos de las concentraciones de 50mM y 80mM, como ya existen concentraciones de 100mM y 160mM ya hechas, se añaden a su mezcla correspondiente con alginato para obtener la molaridad deseada.

A la hora de hacer la mezcla, destacar que hay que pipetear los 2'5mL de alginato en el tubo antes que el cloruro de calcio para evitar la esferificación, pudiendo así obtener una mezcla homogénea.

3.3 Preparación y pruebas reológicas

Para medir la viscosidad de cada mezcla de Alginato y CaCl_2 , se usó un reómetro/viscómetro rotacional de la marca ThermoSpecific (modelo RheoStress6000) con su correspondiente termostato de la marca HUBER (modelo KISS K6).

Se muestran en la siguiente imagen:



Fig9. Equipo de análisis reológico ThermoSpecific RheoStress6000 y termostato HUBER KISS K6

Materiales:

- Rotor con eje cerámico resistente a altas temperaturas
- Placa/Disco de titanio
- Círculo de sujeción de placa
- Silicona como refrigerante para el termostato de baño de frío

1.- Equipo de análisis reológico Thermo / HAAKE RheoStress 6000 [\[11\]](#) [\[12\]](#)

Las especificaciones más importantes de dicho equipo son:

- Torque de rotación mín. CS (Controlled Stress) 200 nNm
- Torque de rotación mín. CR (Controlled Rate) 200 nNm
- Oscilación de torque mín. CS (Controlled Stress) 200 nNm
- Oscilación de torque mín. CD (Controlled Deformation) 200 nNm
- Torque máx. 200 mNm

- Resolución de torque 0,5 nNm
- Inercia del motor 10 μNms^2
- Resolución angular 12 nrad
- Velocidad angular mín. CS (Controlled Stress) 10^{-7} min^{-1}
- Velocidad angular mín. CR (Controlled Rate) 10^{-5} min^{-1}
- Velocidad angular máx. 1500, 4500 min^{-1}
- Frecuencia de oscilación mín. 10-5 Hz
- Frecuencia de oscilación máx. 100 Hz
- Fuerza normal mín. 0,01 N
- Fuerza normal máx. 50 N
- Resolución de fuerza normal 0,001 N
- Mín. Velocidad máxima de elevación: 0,2 $\mu\text{m/s}$
- Velocidad máxima de elevación: 7 mm/s
- Precisión de posicionamiento del elevador: 0,5 μm
- Rango de temperatura: -80 °C a +500 °C
- Dimensiones (An. x Pr. x Al.): 400 x 400 x 780 mm
- Peso neto: 42 kg

2.- Termostato de baño de frío KISS K6 [\[13\]](#)

Las especificaciones más importantes de dicho equipo son:

- Temperatura: -25°C a 200°C
- Constancia de la temperatura: $\pm 0,05^\circ\text{C}$
- Visualización de la temperatura: OLED Display
- Mensaje de alarma: óptico, acústico
- Dimensiones (An x Pr x Al) 210 x 400 x 546 mm
- Peso neto 25 kg
- Capacidad de suministro de la bomba de presión máx: 0,25 bar
- Capacidad de aspiración de la bomba máx: 0,17 bar
- Bomba de presión y aspiración, velocidad no regulable
- Temperatura ambiente admisible: 5°C a 40 °C
- Volumen del baño 4,5
- Volumen de llenado mín. 2

Métodos:

Para poder usar el equipo de análisis reológico, es necesario activar la válvula de aire que conecta con el equipo. Una vez comprobado que el refrigerante de la máquina adyacente está recargado y no aparece ningún aviso de error en el monitor, se puede comenzar la medición. Primero, se coloca la muestra debajo de la placa de presión. Encima de ella hay un rotor, que bajará poco a poco hasta aplastar la masa y aplanarla contra el disco de superficie.

A continuación, unas imágenes del equipo descrito:

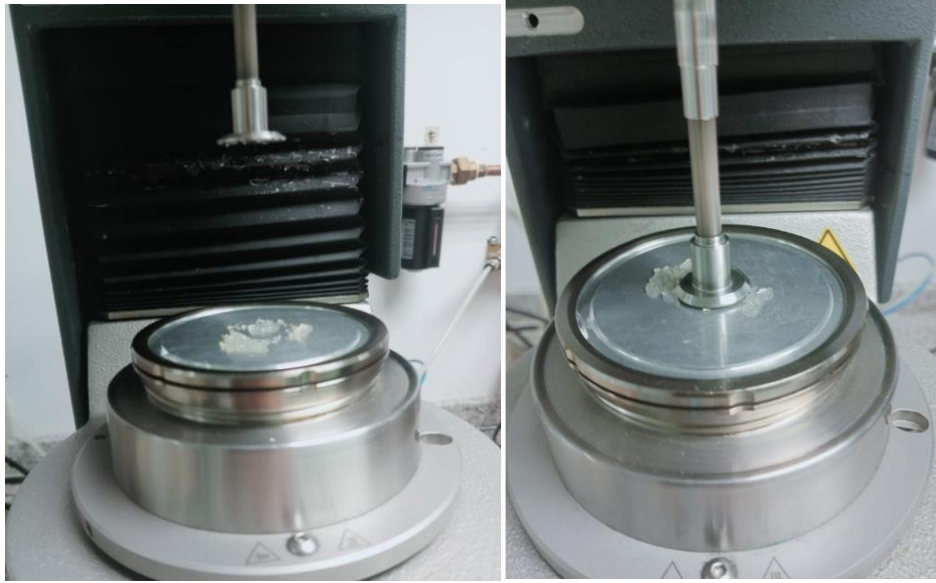


Fig10. Rotor levantado con muestra en placa--- Fig 11. Rotor aplastando muestra para medición.

Una vez hay una distancia de 1mm entre la placa y el disco, la máquina comienza a calentar el disco hasta la temperatura configurada. Para este experimento, la temperatura elegida es de 37°C (temperatura ambiente corporal).

El termostato que se usó en este proyecto es el siguiente:



Fig.12 Baño de silicona como refrigerante.

Tras calibrar distintos parámetros como la temperatura o la velocidad de rotación del disco, se va formando una curva de flujo y de viscosidad. Esa gráfica se muestra en una tabla cuyos datos

se pueden usar para calcular la viscosidad de la tinta que se haya colocado en la placa durante el periodo de tiempo de la medición.

Para obtener unas medidas coherentes, se cambió el tiempo de rotación a 100 1/s.

Una vez obtenidas las gráficas de viscosidad de cada muestra mediante adquisición logarítmica, se aplicó el modelo matemático conocido como *Power Law equation*:

$$\eta = K * \dot{\gamma}^{n-1}$$

Ecuación 14 – Ecuación de la Ley de la Potencia

Donde η es la viscosidad, $\dot{\gamma}$ es la velocidad de corte, K representa la viscosidad del material en una velocidad de cizalla a 1Pa/s y n es el comportamiento del material frente a la velocidad de corte. Para este experimento, conocer el valor de n es muy importante. [6]

El objetivo de conocer n es:

Si $n > 1$, la viscosidad aumenta cuanto mayor sea la velocidad de cizalla. Es directamente proporcional. [14]

Si $n < 1$, la viscosidad disminuye cuanto mayor sea la velocidad de cizalla. [14]

3.4 Impresión 3D por extrusión

Una vez ya se conocen los datos y valores de cada tinta de biomaterial, hay que poner a prueba sus propiedades en un proceso de impresión por extrusión.

Para ello, se usó la bioimpresora que se muestra en la siguiente imagen:

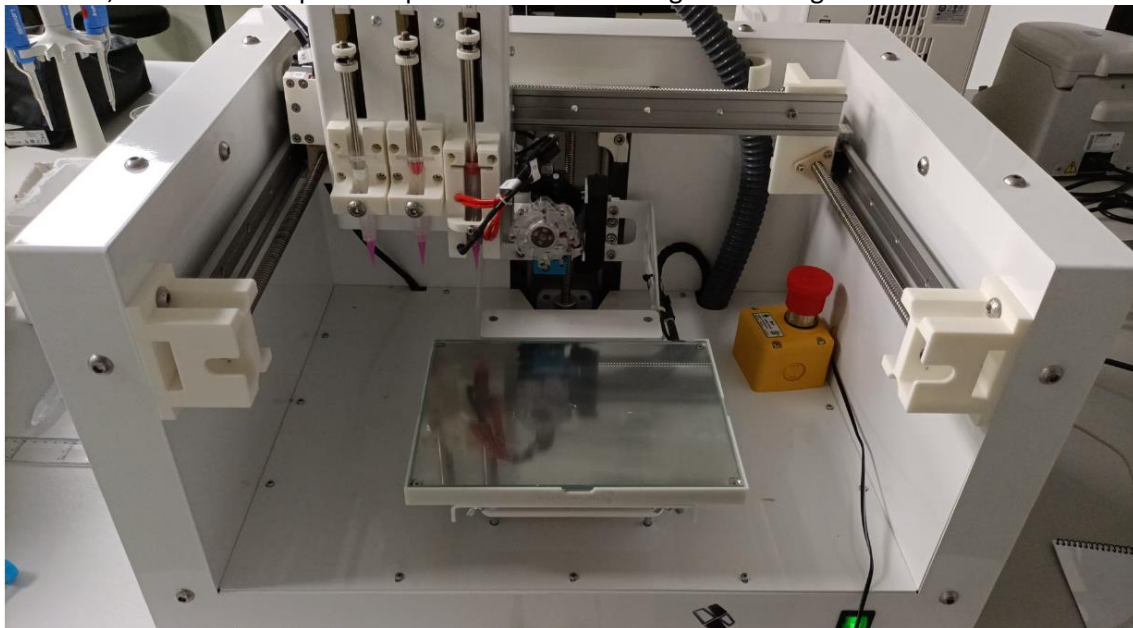


Fig.13 foto de la bioimpresora REGEMAT 3D BioV1

Materiales:

- La bioimpresora dispone de 4 extrusores, de nombre T0, T1, T2 y T3. Siendo T2 un extrusor calefactado y T3 un extrusor de filamento de PLA.
- Las boquillas disponibles son de tamaño 0,15mm, 0,25mm, 0,41mm y 0,58 mm diferenciados por color morado, rosa, azul y rosa claro respectivamente.
- Se dispone de placa calefactada.
- Botón de emergencia.
- Cable USB para conectar la impresora al SOFTWARE en un ordenador aparte.
- Mezcla entrecruzada de alginato sódico (8%) + cloruro cálcico (CaCl_2).
- Bioimpresora REGEMAT 3D BioV1 [\[15\]](#) [\[16\]](#)

Las especificaciones más importantes de dicho equipo son:

- Velocidad de flujo mínima 0,01 mm/s
- Velocidad de flujo máxima 100 mm/s
- T2 temp max -> 25°C T3 temp max -> 250°C
- Tamaño de poro mínimo-> 0,01mm
- Tamaño de poro máximo-> 99mm
- Altura de capa mínima-> 0,01mm
- Altura de capa máxima-> 0,58mm
- Nº de capas-> 1 a 39
- Dimensiones (An x Pr x Al) máximas de impresión-> 100mm

Métodos:

En la mayoría de impresiones, se usó el extrusor T0 con una boquilla de 0,58 mm rosa.

El objeto de impresión siempre fue *CUBE* (cubo), sin *infill* y se usó el patrón de relleno predeterminado (diagonal).

Las unidades elegidas durante la selección de parámetros fueron las siguientes:

- Velocidad de flujo/*Flow speed* -> 2,5 mm/s
- Altura de capa/*Layer Height* -> 0,31mm
- Nº de capas/*Layers*-> 39
- Dimensiones (An x Pr x Al) de impresión-> 10 x 10 x 10mm

El proceso de impresión, una vez terminada la configuración, se llevó a cabo sin problema. El extrusor T0 se movía linealmente por encima de la placa de la bioimpresora, donde comenzaba poco a poco a extruir la tinta del interior de su extrusor hasta terminar el nº total de capas estipuladas o hasta pulsar el botón de parada de emergencia.

La duración de este proceso hasta completarse suele durar entre 10-20 minutos. Esta aproximación puede variar dependiendo de los parámetros velocidad de flujo y número de capas.

El proceso seguido en esta parte del experimento, se encuentra en el ANEXO I adjunto al final de este documento.

Capítulo 4. RESULTADOS

4.1. Apariencia física de las tintas de biomaterial.

Se ha hecho un análisis macroscópico de las tintas de biomaterial donde se ha comprobado si las mezclas realizadas cumplen con los requisitos de impresión y calidad para su uso en el experimento.

En base a lo anterior, algunas mezclas han sido descartadas. Consultar ANEXO II, adjunto al final de este documento.

Entrecruzando el alginato (8%) con la concentración de 35mM de $CaCl_2$, se obtiene esta mezcla:

A simple vista, la tinta de biomaterial es homogénea y fluida. No hubo problema al rellenar la jeringa de extrusión:

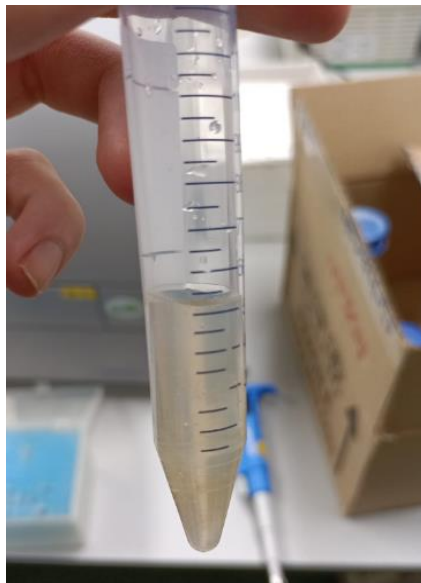


Fig14. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con $CaCl_2$ 35Mm

Entrecruzando el alginato (8%) con la concentración de 50mM de CaCl_2 , se obtiene esta mezcla:

A simple vista, la tinta de biomaterial es homogénea y fluida. No hubo problema al rellenar la jeringa de extrusión:



Fig15. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl_2 50Mm

Entrecruzando el alginato (8%) con la concentración de 60mM de CaCl_2 , se obtiene esta mezcla:

A simple vista, la tinta de biomaterial es homogénea y fluida. No hubo problema al rellenar la jeringa de extrusión:



Fig16. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl_2 60mM

Entrecruzando el alginato (8%) con la concentración de 80mM de CaCl_2 , se obtiene esta mezcla.

Al ser esta la tinta con mayor concentración de CaCl_2 , es también la que muestra una mayor viscosidad. Por ello, ha sido necesario duplicar la velocidad de impresión (*flow speed*) de 3 mm/s a 6mm/s.

A continuación, se enseña la tinta de biomaterial:



Fig17. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl_2 80Mm

4.2 Resultados de los ensayos reológicos

Una vez terminado el proceso de medición, los datos se guardan en un formato .xml para su próximo procesado.

Repitiendo este proceso con cada tinta, obtenemos los datos expuestos en las siguientes tablas y gráficas:

(Valores máximos y mínimos de viscosidad fueron escogidos de las curvas de viscosidad mostradas en las siguientes páginas)

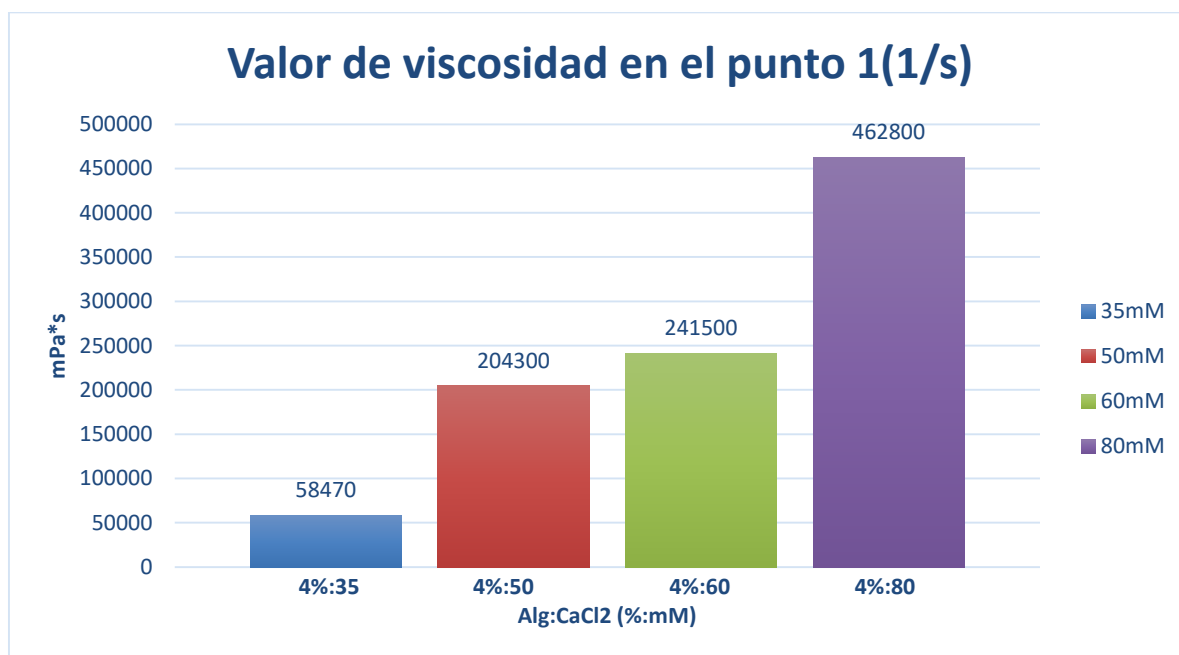


Fig18. Gráfica de valor de viscosidad de cada mezcla en el punto $1s^{-1}$

Se ha seguido un proceso de medición basado en distintos *papers* y literatura estudiada. En este caso, se toma como medida el valor de la viscosidad en el punto 1(1/s) ya que es el que ha sido previamente estudiado en otras investigaciones. [10] [12]

Observando la gráfica anterior, obtenemos las siguientes conclusiones:

- Cuanto mayor sea la molaridad del entrecruzante, mayor será la viscosidad de la tinta de biomaterial. Se obtiene una relación directamente proporcional.
- Puede llegar a observarse un umbral de crecimiento en el que, a partir de cierta concentración de $CaCl_2$ (entre 60mM Y 80mM en este caso) el aumento en viscosidad es bastante mayor al de otras concentraciones (como puede ser de 35mM a 50mM)

A continuación, se muestran las distintas gráficas escogidas con las que se han obtenido los datos presentados en la anterior figura:

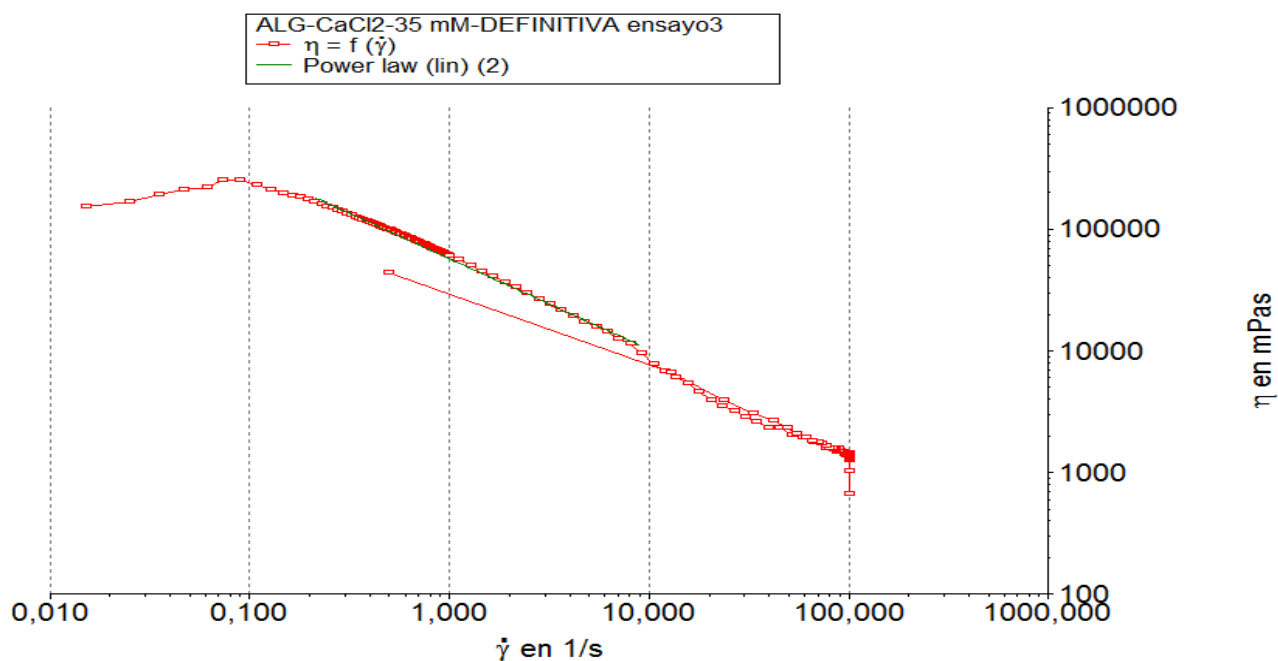


Fig19. Gráfica de viscosidad de la muestra 35Mm

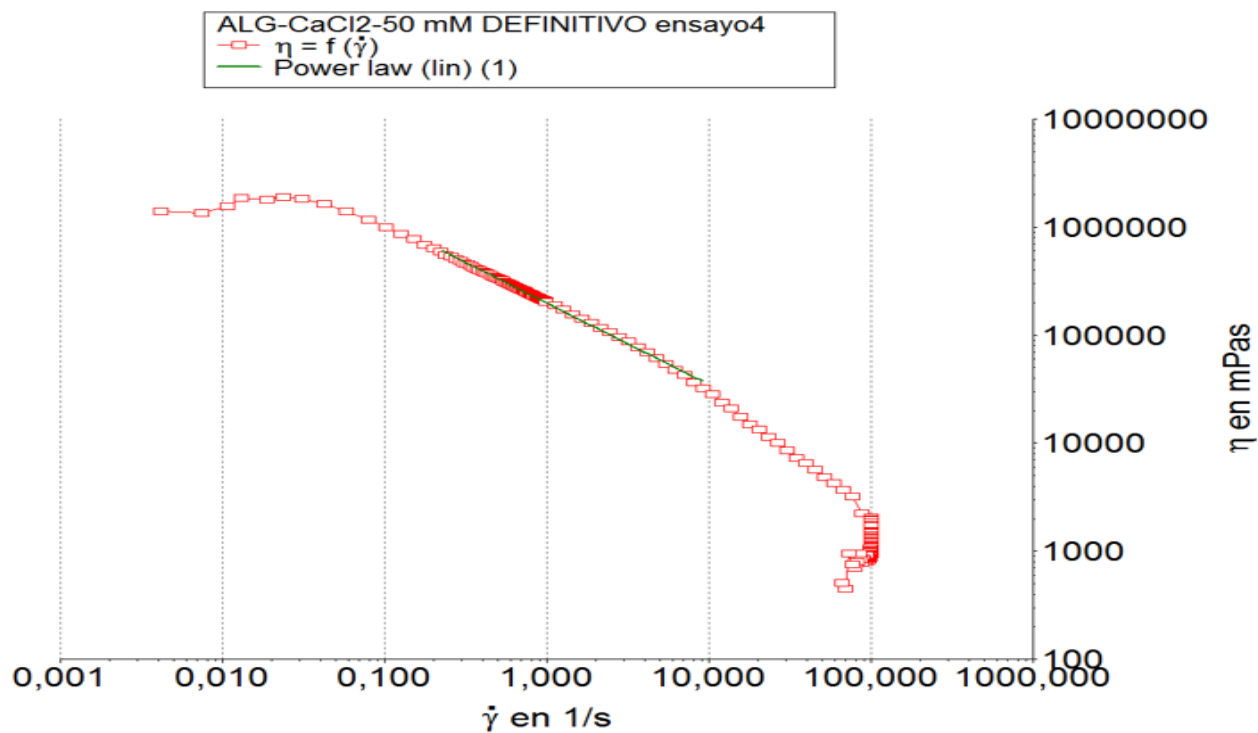


Fig20. Gráfica de viscosidad de la muestra 50mM

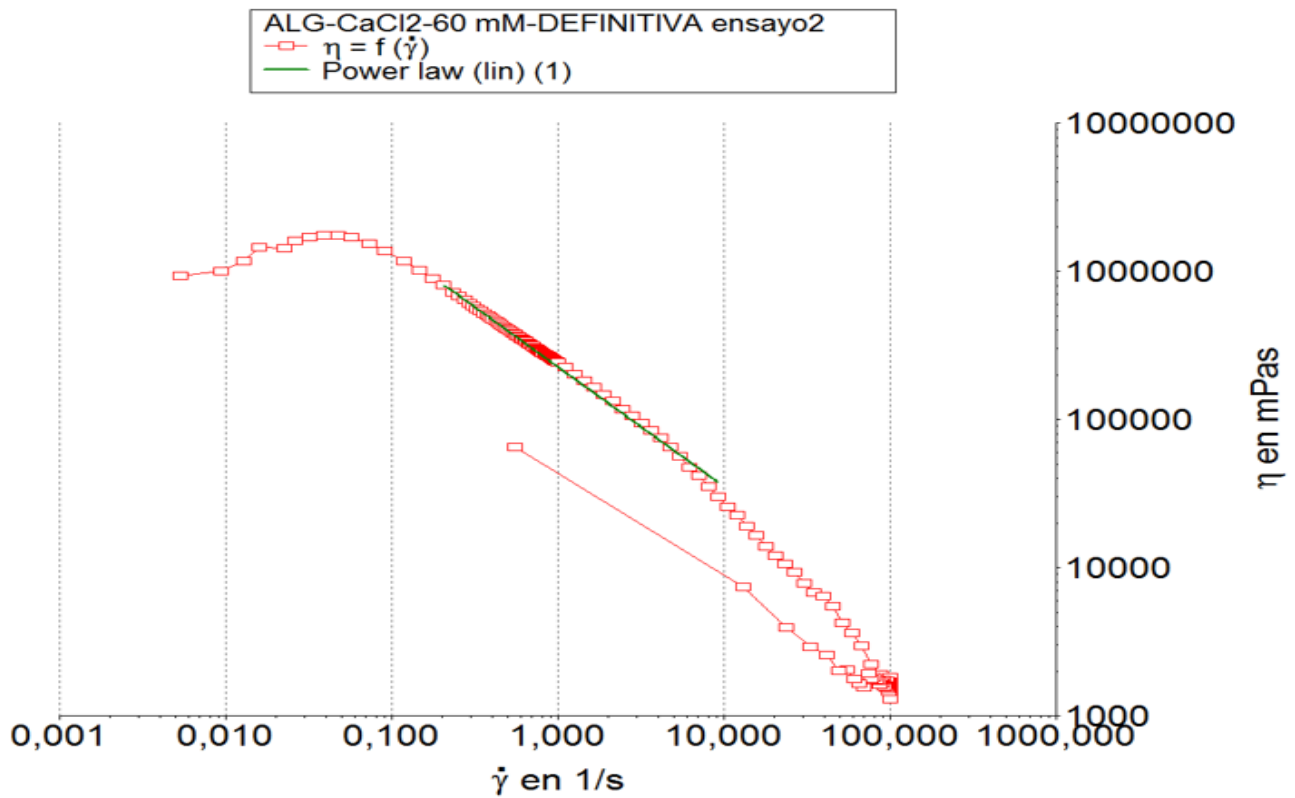


Fig21. Gráfica de viscosidad de la muestra 60mM

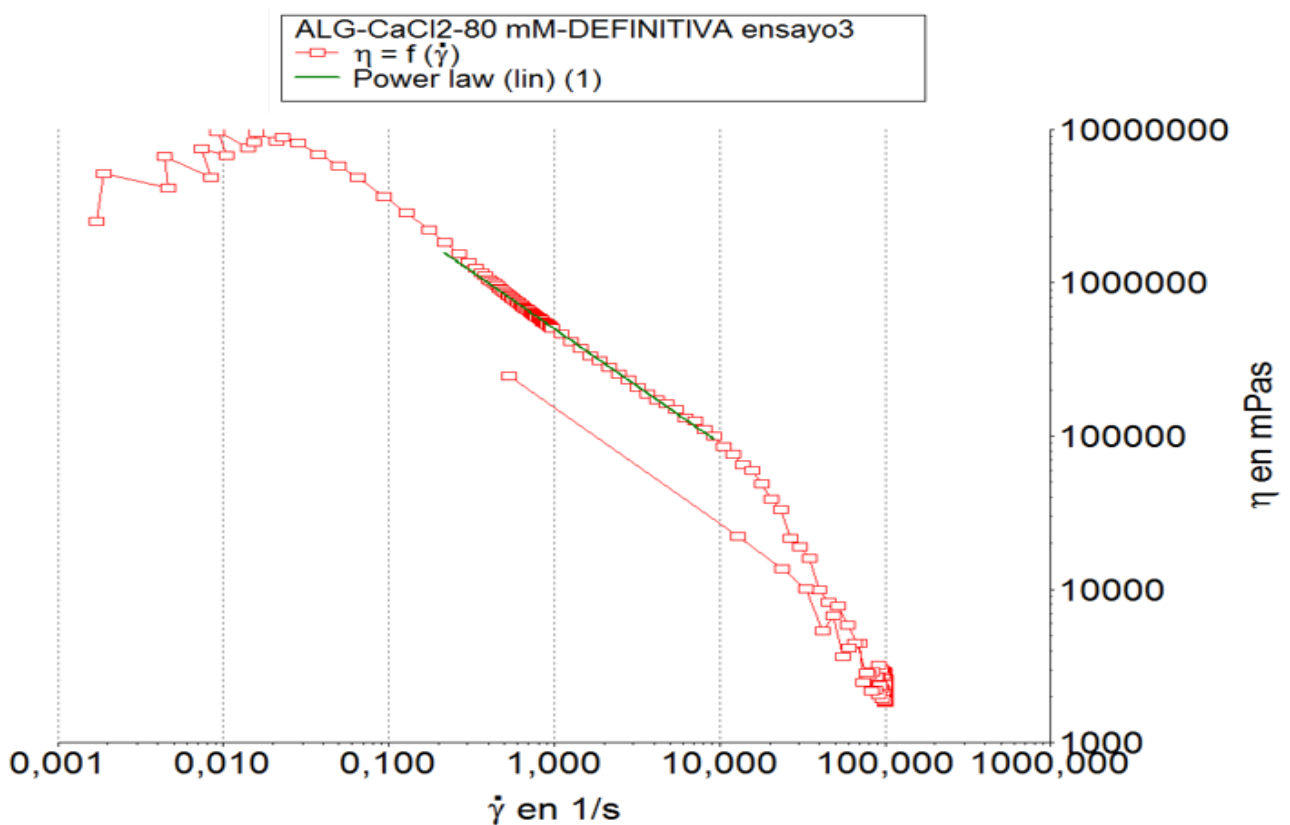


Fig22. Gráfica de viscosidad de la muestra 80mM

Todas las curvas de viscosidad obtenidas para cada ensayo se pueden observar en el ANEXO III, imágenes adjuntas a este TFG.

Tras analizar cada una de las gráficas anteriores, se puede asegurar que se ha estado trabajando con un fluido no-newtoniano. [\[12\]](#)

Una vez obtenidas las gráficas de viscosidad, se resuelve la ecuación de *Power Law* para cada una de las gráficas mostradas en las páginas anteriores.

A continuación, se muestran los resultados en gráficas y tablas:

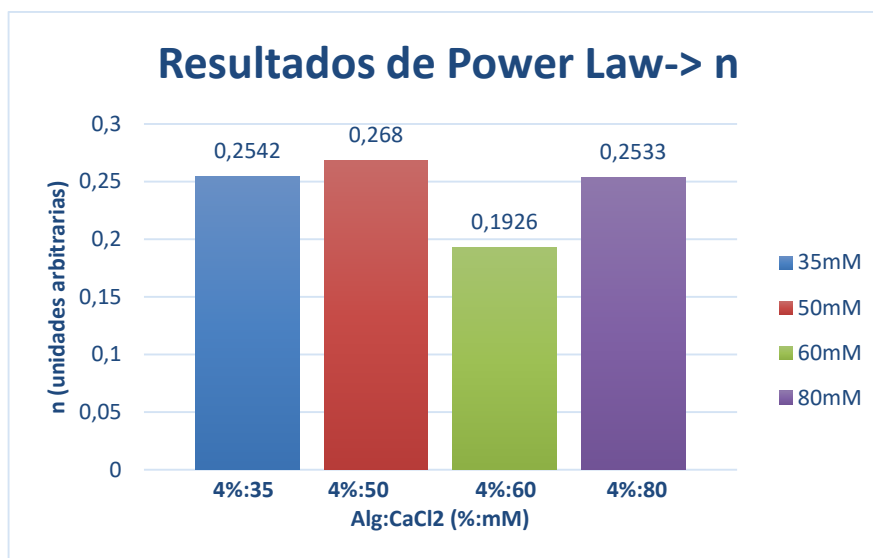


Fig23. Gráfica de valor de n de cada mezcla

Tabla 3 – Valor de n obtenidos de la ecuación *Power Law* para cada tinta de biomaterial (unidades arbitrarias)

35mM – Alginato 8%	50mM – Alginato 8%	60mM – Alginato 8%	80mM – Alginato 8%
$n = 1 + (-0,7458)$	$n = 1 + (-0,7535)$	$n = 1 + (-0,8074)$	$n = 1 + (-0,7467)$

En todos los casos, n ha sido menor que 1:

- Valor de n concentración 35mM-> 0,2542
- Valor de n concentración 50mM-> 0,268
- Valor de n concentración 60mM-> 0,1926
- Valor de n concentración 80mM-> 0,2533

Por lo que todas las tintas verán reducida su viscosidad al aplicarle mayor velocidad de cizalla. [14] Lo cual nos confirma que estamos trabajando con un material pseudoplástico. [17]

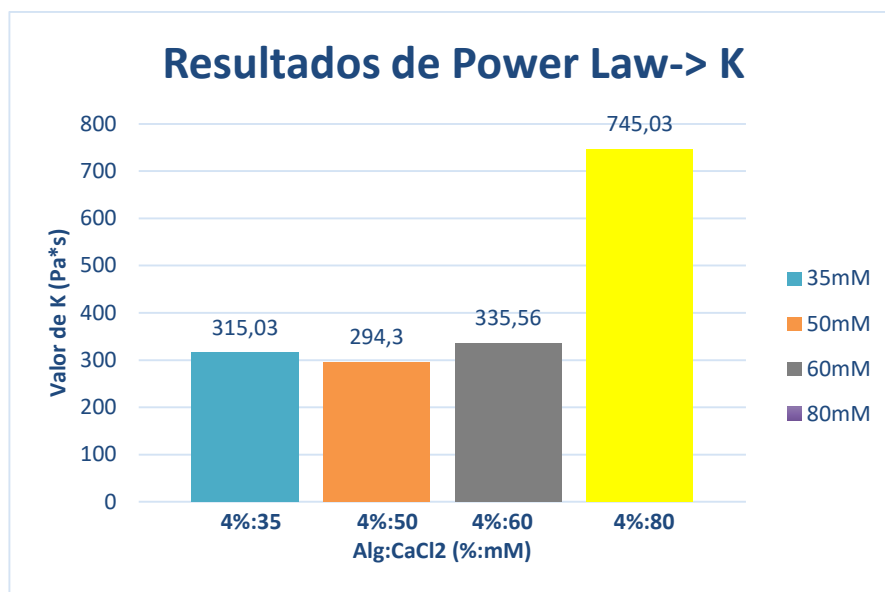


Fig24. Gráfica de valor de K de cada mezcla

Tabla 4 – Valor de k obtenidos de la ecuación *Power Law* para cada tinta de biomaterial (Pa*s)

35mM – Alginato 8%	50mM – Alginato 8%	60mM – Alginato 8%	80mM – Alginato 8%
$K=5,770e^{+04}$	$K=1,983e^{+05}$	$K=2,261e^{+05}$	$K=5,020e^{+04}$

Sabiendo que K se puede entender como la viscosidad del material a una velocidad de cizalla específica 1(1/s) o el índice de consistencia, podemos comparar estos datos con la gráfica de valor de viscosidad en el punto 1(1/s). [\[17\]](#)

Curiosamente, la consistencia de la tinta con concentración de 35mM muestra un mayor valor que las de 50mM a pesar de que esta tenga menor concentración de entrecruzante. Sin embargo, sigue cumpliéndose la conclusión de que a mayor concentración de $CaCl_2$ en la tinta, mayor será la viscosidad de esta, como puede comprobarse en los casos de 60mM y 80mM.

A continuación, se muestran las tablas con las cantidades de concentración de entrecruzante, volúmenes de los materiales y los valores de viscosidad para cada muestra escogida:

Tabla 5 – Tabla de materiales usados

%Alginato y concentración $CaCl_2$ mM	Relación (Alginato - $CaCl_2$)	mL de alginato	mL $CaCl_2$	Volumen total mL
8 - 70	1:1	2,5	2,5	5
8 - 100	1:1	2,5	2,5	5
8 - 120	1:1	2,5	2,5	5
8 - 160	1:1	2,5	2,5	5

Tabla 6 – Resultados reológicos valor de viscosidad

%Alginato y concentración $CaCl_2$ mM en la mezcla	Valor de viscosidad en el punto 1(1/s) mPa*s	Valor mínimo de viscosidad en el punto 1(1/s) mPa*s	Valor máximo de viscosidad en el punto 1(1/s) mPa*s
4 – 35	$5,847 * 10^4$	$5,4093 * 10^4$	$7,89 * 10^4$
4 – 50	$2,043 * 10^5$	$1,92156 * 10^5$	$2,787 * 10^5$
4 – 60	$2,415 * 10^5$	$2,163 * 10^5$	$2,6865 * 10^5$
4 – 80	$4,628 * 10^5$	$3,369 * 10^5$	$5,586 * 10^5$

4.3 Impresión de tintas alginato - CaCl_2

Los resultados que se presentan a continuación muestran la impresión de tintas de biomaterial viables para el experimento.

Caso CaCl_2 35mM:

Se obtiene una estructura estable. Se pueden ver los distintos trazados del proceso de impresión siendo arrastrados por la propia boquilla mientras continua extruyendo el resto de la tinta.

El resultado extruido coincide con las deducciones realizadas al calcular K usando la ecuación de *Power Law*, la estructura muestra consistencia. Sin embargo, esta es muy blanda y no podrá mantener su forma al recibir cualquier fuerza externa, volviéndose no apta según los objetivos dispuestos:



Fig25. Cubo de Alg: CaCl_2 35mM extruido

Caso CaCl_2 50mM:

El resultado es una tinta que, aun comenzando como una estructura estable, no pudo aguantar el peso de las siguientes capas. En la imagen podemos ver como la estructura se derrumba, volviéndose no apta para su uso:



Fig26. Cubo de Alg: CaCl_2 50mM extruido

Caso CaCl_2 60mM:

Teniendo en cuenta los datos previamente mostrados en las gráficas y tablas en el apartado de resultados, esta es la tinta de biomaterial que mejor estructura y propiedades debería presentar. A la hora de realizar la extrusión, el resultado es una estructura homogénea, que mantiene su forma con todas las capas extruidas:



Fig27. Cubo de Alg:CaCl₂ 60mM extruido

Caso CaCl_2 80mM:

Teniendo en cuenta los datos obtenidos en las pruebas reológicas, se puede esperar que esta tinta sea demasiado viscosa como para salir por el extrusor o para formar estructuras correctamente.

A la hora de realizar la impresión, el resultado es una estructura homogénea, que mantiene su forma aún sostenida en la mano. Sin embargo, la tinta no se adhería a la placa, dificultando la construcción de cualquier figura y volviéndose no apta para uso biomédico:



Fig28. Cubo de Alg:CaCl₂ 80mM extruido

Capítulo 5. CONCLUSIONES

Tras todo el tiempo dedicado a este proyecto, se ha obtenido respuesta para la mayoría de los objetivos dispuestos en este Trabajo Fin de Grado.

5.1 Parámetros óptimos para la impresora

Usando los siguientes valores, los resultados impresos deberían mantener su estabilidad y ser extruidos sin problema:

- Velocidad de flujo/*Flow speed* -> 2,5 mm/s
- Altura de capa/*Layer Height* -> 0,31mm
- Nº de capas/*Layers*-> 39
- Dimensiones (An x Pr x Al) de impresión-> 10 x 10 x 10mm

5.2 Creación y estudio de tintas de biomaterial

Compatibilidad con el método de impresión

Se ha demostrado que es posible desarrollar tintas de alginato entrecruzado con cloruro cálcico que cumplan los requisitos reológicos y estructurales para poder aplicarse a la bioimpresión por extrusión.

Correlacionar entrecruzante y viscosidad con la impresora.

La preparación de las tintas de biomaterial a través de distintas concentraciones de CaCl_2 permitió evaluar cómo afecta el grado de entrecruzamiento a las propiedades físicas de la tintas.

Las pruebas cualitativas y reológicas indican que la mezcla con **60mM de CaCl_2** ofrece el mejor equilibrio entre viscosidad, capacidad de impresión y estabilidad estructural.

5.3 Relación entre agente entrecruzante y viscosidad

Los ensayos reológicos permitieron cuantificar cómo aumentar la concentración del entrecruzante da como resultado un aumento notable en la viscosidad de la tinta.

Además, se observó que todas las tintas presentaban un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$), lo cual es ideal para la extrusión. Esta propiedad permite que, durante la extrusión, la tinta fluya a través de la boquilla para posteriormente recuperar su viscosidad original después de ser extruida.

También hay que tener en cuenta los efectos del exceso o falta de entrecruzante: las tintas muy viscosas requerían velocidades de impresión muy altas y mostraban dificultades para pegarse a la placa. Por otra parte, las tintas con menos entrecruzante acababan siendo estructuras débiles que colapsaban sin poder formar estabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. An Introduction to 3D Bioprinting: Possibilities, Challenges and Future Aspects. Željka P. Kačarević, Patrick M. Rider, Said Alkildani, Sujith Retnasingh, Ralf Smeets, Ole Jung, Zrinka Ivanišević, Mike Barbeck.
(26/02/2025) Recuperado de:
<https://www.mdpi.com/1996-1944/11/11/2199>
2. Inkjet-based bioprinting for tissue engineering. Ju An Park, Yunji Lee, Sungjune Jung.
(25/01/2025) Recuperado de:
<https://i-organoid.org/journal/view.php?number=56&viewtype=pubreader#!po=7.89474>
3. Diseño de *scaffolds* para facilitar la comunicación de células madre en frascos de cultivo celular. Marta Panizo Arce. (27/06/2025) Recuperado de:
https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/60485/TFM_MartaPanizoArce.pdf?sequence=5&isAllowed=y
4. Key parameters and applications of extrusion-based bioprinting. Shuyu Tian, Hong Zhao, Nastassja Lewinski.
(26/02/2025) Recuperado de:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2405886621000294>
5. Propiedades viscoelásticas de los polímeros. Instituto de Investigaciones en Materiales – UNAM. (28/06/2025) Recuperado de:
<https://www.iim.unam.mx/investigadores/delcastillo/Notas/capitulo%206.pdf>
6. VII Curso de Introducción a la Reología. Instituto de Cerámica y Vidrio, CSIC. (2015)
7. Cross-linking in hydrogels - a review. Jaya Maitra, Vivek Kumar Shukla.
(1/03/2025) Recuperado de:
https://www.researchgate.net/publication/303025587_Cross-linking_in_hydrogels_-_a_review
8. Reversible physical crosslinking strategy with optimal temperature for 3D bioprinting of human chondrocyte-laden gelatin methacryloyl bioink. Yawei Gu, Lei Zhang, Xiaoyu Du, Ziwen Fan, Long Wang, Weiyan Sun, Yu Cheng, Yufang Zhu, Chang Chen.
(1/03/2025) Recuperado de:
<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0885328218805864>
9. Printability of materials for extrusion 3D printing technologies: a review of material requirements and testing. G. Sotorrío, J. Alonso, N.O.E. Olsson, J.A. Tenorio.
(26/02/2025) Recuperado de:
<https://materconstrucc.revistas.csic.es/index.php/materconstrucc/article/download/2344/3203?inline=1>
10. Optimization of the Rheological Properties of Self-Assembled Tripeptide/Alginate/Cellulose Hydrogels for 3D Printing. Alejandro Hernández-Sosa, Rosa Ana Ramírez-Jiménez, Luis Rojo, Fouzia Boulmedais, María Rosa Aguilar, Miryam Criado-Gonzalez, Rebeca Hernández. (9/02/2025) Recuperado de:
<https://doi.org/10.3390/polym14112229>

11. Thermo Scientific HAAKE RheoStress 6000 modular universal rheometer portfolio. Thermo Scientific. (27/06/2025) Recuperado de:
<http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D11480~.pdf>
12. HAAKE RheoWin Instruction Manual Viscometer/Rheometer. Thermo Scientific. (2014)
13. HUBER KISS K6 datasheet. HUBER. (28/06/2025) Recuperado de:
https://www.huber-online.com/daisy_website_files/datenblaetter/en/2008.0043.98.PDF
14. Modelo de ley de potencia. Netzsch. (28/06/2025) Recuperado de:
<https://analyzing-testing.netzsch.com/es/know-how/glosario/modelo-de-ley-de-potencia>
15. BIO V1 Activity Regemat 3D 2019. Regemat 3D. (28/06/2025) Recuperado de:
<https://www.regemat3d.com/wp-content/uploads/2025/05/V1-catalogue-3D-DIGITAL-VERSION.pdf>
16. V1 Bioprinter review. Aniwaa. (28/06/2025) Recuperado de:
<https://www.aniwaa.com/product/3d-printers/regemat3d-v1-bioprinter/>
17. Caracterización del comportamiento reológico de un alimento fluido pseudoplástico. Pau Talens Oliag. Universitat Politècnica de València. (28/06/2025) Recuperado de:
<https://riunet.upv.es/server/api/core/bitstreams/5a242079-8b33-4a84-9c01-5f99bd0900b7/content>
18. Influence of chain topology on gel formation and direct ink printing of model linear and star block copolymers with poly (ethylene oxide) and poly(ϵ -caprolactone) semi-crystalline blocks. Edward Centeno, Mario Iván Peñas, Pengfei Zhang, Viko Ladelta, Jorge Mercado-Rico, Eider Matxinandiarrena, Manuela Zubitur, Agurtzane Mugica, Nikos Hadjichristidis, Alejandro J. Müller, Rebeca Hernández. (9/02/2025) Recuperado de:
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2023.112526>
19. Composite nano-fibrillated cellulose-alginate hydrogels: Effect of chemical composition on 3D extrusion printing and drug release. Alejandro Hernandez-Sosa, Jorge Mercado-Rico, Elena Usala, Gabriela Cataldi, Adrian Esteban-Arranz, Evis Penott-Chang, Alejandro J. Müller, Zoilo González, Eduardo Espinosa, Rebeca Hernández. (9/02/2025) Recuperado de:
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2024.126845>
20. Estudio reológico de suspensiones de carboximetilcelulosa en presencia de nanomateriales. Alberto Díaz-Alejo, Arisbel Cerpa, María Lourdes Rodríguez, José L. Valverde. Material-ES. (27/06/2025) Recuperado de:
<https://sociemat.es/wp-content/uploads/2022/10/Estudio-reologico-de-suspensiones-de-CMC-en-presencia-de-nanomateriales.pdf>

21. Sistema de extrusión de biopolímeros naturales para la bioimpresión de hidrogeles usados en aplicaciones de ingeniería de tejidos. Bryan Gabriel Guáitara Martínez. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ingeniería en Sistemas, Electrónica e Industrial. (28/06/2025) Recuperado de:
<https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/2ea52ecf-069a-42c9-b12d-e021db18c1b4/content>
22. A practical approach to crosslinking. G. Mattson, E. Conklin, S. Desai, G. Nielander, M. D. Savage & S. Morgensen. (28/06/2025). Recuperado de:
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00986726>
23. Crosslinking. Julio César Hernández-Ortiz, Eduardo Vivaldo-Lima. (28/06/2025) Recuperado de:
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/9781118480793.ch9?saml_referrer#accessDenialLayout

ANEXOS

TRABAJO FIN DE GRADO - ANEXO I Software de impresión (REGEMAT 3D Designer)

REGEMAT3D incluye un software para configurar la bioimpresora y los modelos que vayan a imprimirse. Permite imprimir varios objetos 3D en un único proceso, cada uno se puede configurar de forma independiente.

1. Pantalla inicial

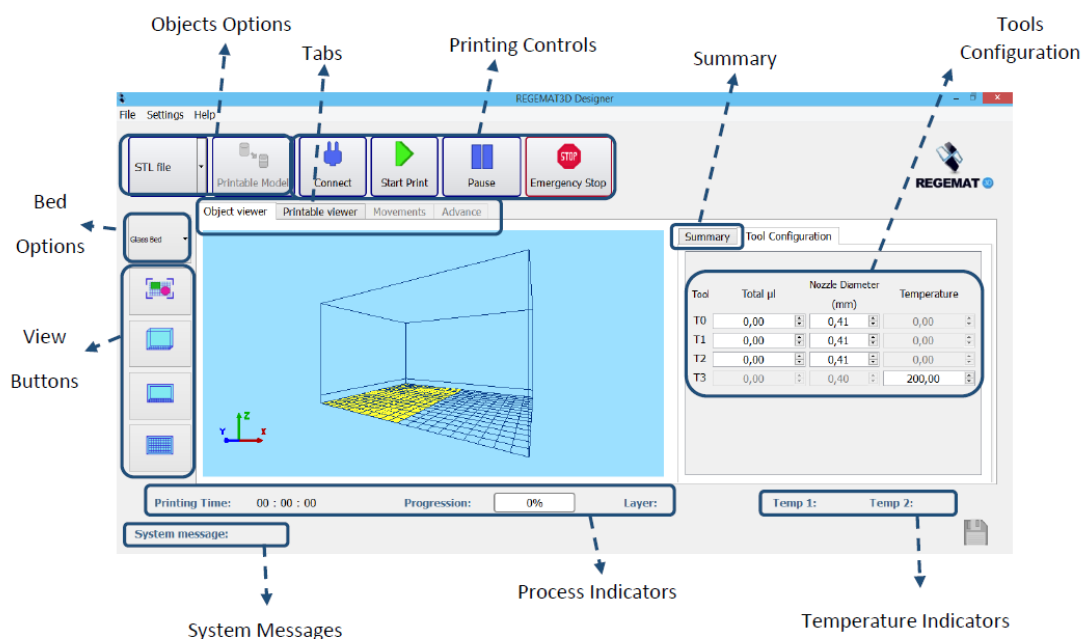


Fig29. Pantalla inicial de Regemat3D designer

En la ventana principal, la pestaña que aparece de forma predeterminada es el visor de objetos 3D. Muestra una representación en cuadrícula de la plataforma de impresión, en la que se colorea una región específica (esta región representa la zona disponible en la plataforma).

Al pulsar el botón STL file, se puede elegir entre las opciones "Cube", "Cylinder" o "New STL file". Elegir cubo o cilindro añade el modelo elegido automáticamente. Si la opción elegida es la de archivo STL, se muestra una ventana de carpetas para seleccionar un archivo.stl de nuestra propiedad.

Una vez añadido un modelo, se puede seleccionar (1 click), mover (mantener click izquierdo) o hacer doble click sobre este.

Al hacer doble click sobre el modelo, se generan las diferentes acciones para elegir:

o Duplicate (Duplicar): Esta acción duplica el modelo seleccionado (forma, tamaño y configuración) y lo añade al visor al lado del original.

o Delete (Eliminar): Esta acción borra el modelo elegido.

o Configuration (Configuración): DETALLADO EN LA SIGUIENTE SECCIÓN

o Rotation along X axis (Rotación en el eje X): La rotación se realizará siguiendo la proyección del puntero del ratón sobre el plano X mientras mantiene pulsado el botón derecho.

o Rotation along Y axis (Rotación en el eje Y): La rotación se realizará siguiendo la proyección del puntero del ratón sobre el plano Y mientras mantiene pulsado el botón derecho.

o Rotation along Z axis (Rotación en el eje Z): La rotación se realizará siguiendo la proyección del puntero del ratón sobre el plano Z mientras mantenemos pulsado el botón derecho.

2. Configuración de objetos

Antes de comenzar cualquier impresión, es necesario configurar los parámetros de cada modelo cargado en el visualizador. La configuración de un modelo se divide en dos pasos:

«1. Andamio» y «2. Relleno».

2.1.1 Andamio/Scaffold

REGEMAT3D Designer

Total Layers: 28 Change INI file New INI file

1. Scaffold

Size

Height (mm) 10,00 Width (mm) 10,00 Length (mm) 10,00

Object Configuration

Pore Size (mm) 0,60 Layer Height (mm) 0,35 ☐ Mould

Perimeters 1 Solid bottom layers 0 Solid top layers 0

Infill Pattern

☒ Diagonal ☐ Hexagonal

☐ Triangular ☐ Zig Zag

☐ Solid Object (diagonal)

	Use	Temperature (°C)	Layers	Perimeters	Speed
T0	☒	0,00	0-5,10,12	0	1,40
T1	☐	0,00			1,40
T2	☐	0,00			1,40

2. Filling

Save INI File Accept Cancel

Fig30. Pantalla de configuración

En la parte superior se muestra la visualización total de capas (total layers), representa las capas que se imprimirán para ese modelo. Esta se modifica automáticamente al cambiar los valores de "Height (mm)" o "Layer height (mm)".

En la esquina superior derecha hay dos botones para cargar o crear un archivo de configuración (.INI). Este archivo contiene las principales características de la configuración de impresión de

un modelo (número de capas, algoritmo de relleno, capas, tipo de relleno...). Al cargar un archivo INI (change INI file), las propiedades se cargan en el objeto actual.

El botón "New INI file" guarda un nuevo archivo de configuración. Tras configurarla, para guardar los cambios, hay que pulsar el botón "Save INI file" para aplicar los cambios al archivo INI seleccionado.

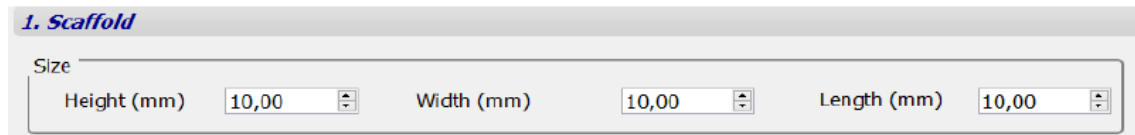


Fig31. Dimensiones predeterminadas del cubo

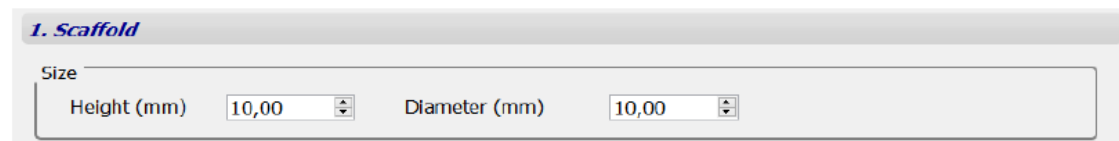


Fig32. Dimensiones predeterminadas del cilindro

En la sección "Configuración del objeto" se pueden configurar los siguientes valores:

- Tamaño de poro (mm).
- Número de perímetros con los que se imprimirá el modelo (este valor puede establecerse en cero, sin perímetros).
- Capas inferiores sólidas.
- Capas superiores sólidas: Igual que el caso anterior, pero con capas superiores.
- Molde-> El modelo quedará hueco, excepto las capas sólidas personalizadas. Con este modo activado, el relleno solo se podrá configurar en función de la herramienta de campo y la cantidad de material por capa. La porosidad del relleno será cero.
- Altura de capa (mm).

En la sección "Patrón de Relleno", se puede configurar el patrón de relleno del andamio. Las geometrías disponibles son:

Diagonal: Se alternan dos direcciones en cada capa.



Fig33. Patrón de relleno diagonal

Triangular: La dirección del relleno se modifica 45° en cada capa.



Fig34. Patrón de relleno triangular

Hexagonal: Patrón de panal.



Fig35. Patrón de relleno hexagonal

Zigzag: Se forma un patrón en zigzag que alterna su dirección en cada capa. Si se configura el relleno, la alternancia y el espacio entre las líneas paralelas del relleno cambian para ajustarse al volumen de relleno requerido y al diámetro de las herramientas.



Fig36. Patrón de relleno en zigzag

Objeto sólido (diagonal): El modelo se rellenará en cada capa con la misma herramienta que se configuró para el andamio, sin porosidad. Este patrón utiliza relleno diagonal.

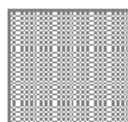


Fig37. Patrón de relleno objeto sólido (diagonal)

Al final de esta sección, el usuario puede configurar la relación entre capas/herramientas o perímetros/herramientas del andamio.

Si se van a usar herramientas, se debe activar la casilla "Usar" correspondiente.

	Use	Temperature (°C)	Layers	Perimeters	Speed
T0	☒	0,00	-	0	1,40
T1	☒	0,00		2	1,40
T2	☒	0,00	4-8,12,15	1,3	1,40

Fig38. Configuración de boquillas

Para especificar las capas de cada herramienta, se usan comas para separar capas individuales o bloques de capas, y guiones para indicar rangos. En el ejemplo (véase la figura anterior), la herramienta 2 construye las capas de la 4 a la 8 (ambas incluidas) y de la 12 a la 15; la herramienta 1 construye el resto de las capas (la herramienta 0 no se utiliza para este andamio: "-").

Para establecer los perímetros, la notación es similar a la de las capas; la principal diferencia es que es obligatorio establecer todos los perímetros. En la imagen, se eligen cuatro perímetros: los perímetros 0 (el más externo) y 2 se construyen con la herramienta 0, el perímetro 1 con la herramienta 1 y el perímetro 3 con T2.

La última columna muestra la velocidad del material de flujo.

2.1.2 Relleno

En este paso se configura el relleno. Consta de dos secciones: la primera corresponde a la configuración de las herramientas de relleno. La última, a la especificación de las capas a rellenar, la cantidad de material y los parámetros del modelo de relleno.

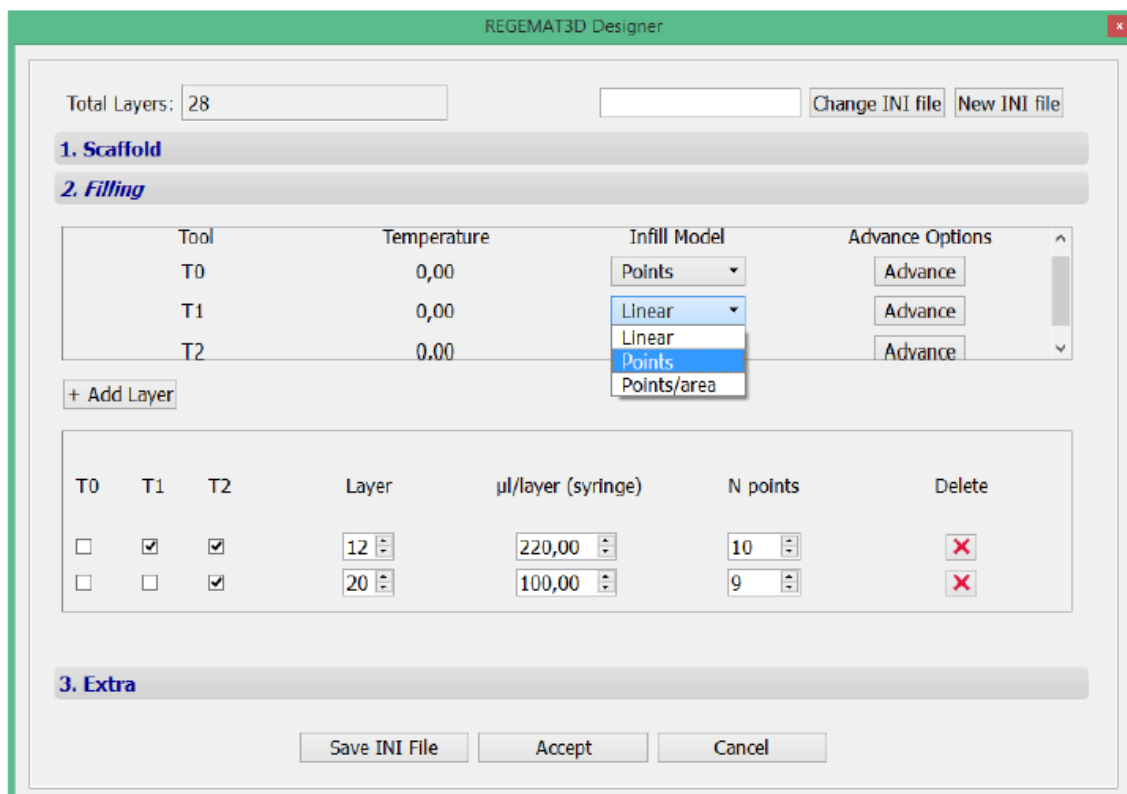


Fig39. Configuración de relleno

Las herramientas se muestran en filas, y para cada una se presenta la temperatura recomendada, el "Infill model" y las opciones avanzadas.

La columna "Modelo de relleno" se refiere al algoritmo de llenado. Hay tres posibilidades disponibles:

1. Lineal-> El material se deposita en líneas rectas, siguiendo la estructura interna del andamio.
2. Puntos-> El material se deposita en el centro de cada poro del patrón de relleno.
3. Puntos/área-> El material se depositará en N puntos distribuidos por toda la capa.

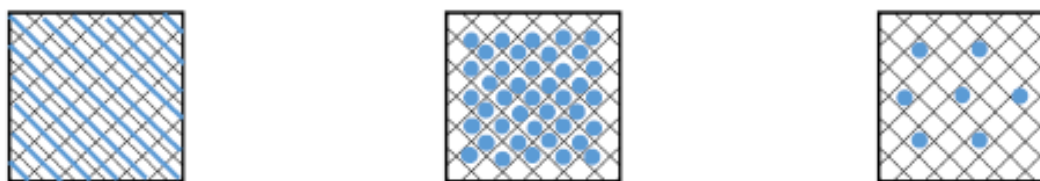


Fig40. Relleno linear, por puntos y puntos/área.

La segunda tabla se utiliza para seleccionar las capas en las que la herramienta seleccionada depositará material.

El primer campo indica las herramientas seleccionadas y el segundo, la capa. Los dos siguientes indican la cantidad de material necesaria en cada capa para cada herramienta:

o « μ l/capa (jeringa)»: Volumen de material para cada capa y herramienta.

o «N puntos»: se utiliza con el modelo de relleno de «puntos/área». Es el número de puntos que una herramienta depositará en esta capa.

La última columna se utiliza para eliminar toda la información de la capa seleccionada.

2.2 Tool configuration

Se debe de hacer una configuración de las herramientas para CADA impresión. Esta configuración se puede hacer en la pantalla inicial.

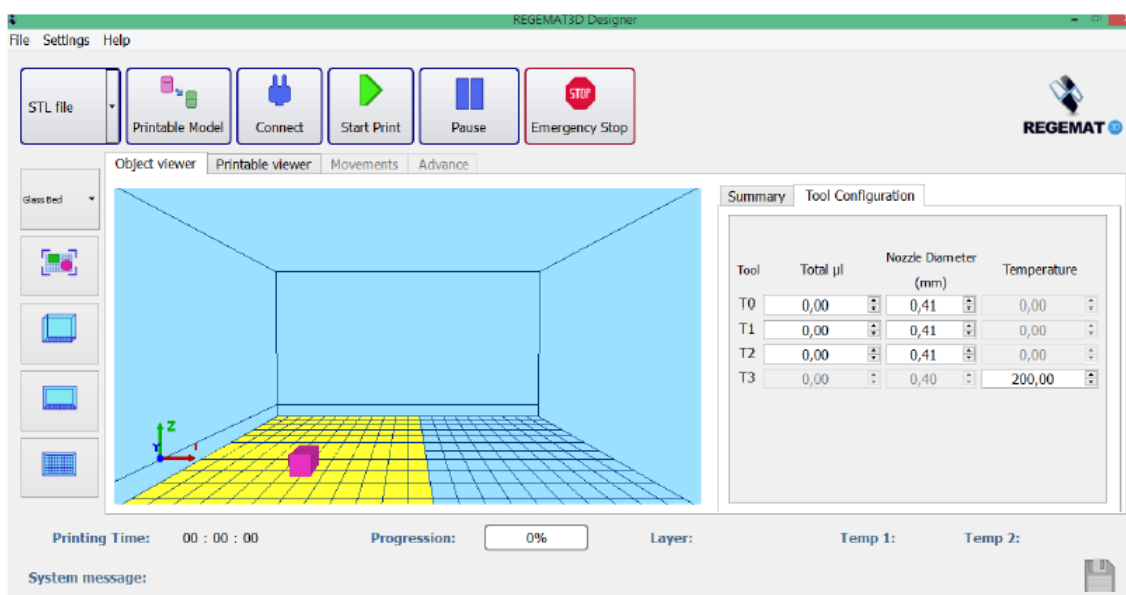


Fig41. Pantalla inicial con configuración de herramienta seleccionada

Para cada jeringa que se vaya a usar, hay que configurar "Total μ l", la cantidad de material relleno. El "Diámetro de la boquilla (mm)" especifica el diámetro de la aguja. La "Temperatura" para la jeringa calentada indica la temperatura objetivo del proceso. Este valor debe ser inferior a la temperatura máxima de la jeringa correspondiente.

2.3 Proceso de impresión

Antes de imprimir, es necesario exportar la configuración a código imprimible. Para ello, hay que pulsar el botón "Printable Model". El "Visor de impresión" mostrará los modelos generados. En la pantalla principal, hay una pestaña de resumen con las características principales (patrón de relleno, jeringas y herramientas, cantidad de material, volúmenes) de los objetos configurados.

Una vez generado el código de impresión (*G code*), se puede iniciar el proceso de impresión. Para iniciar la impresión hay que pulsar "Start printing".

Importante - Antes de pulsar este botón, la impresora debe estar conectada (pulsando el botón "Connect"), además de que el cable USB tiene que estar conectado a un puerto USB del ordenador con el software de impresión.

Durante la impresión, es posible pausar el proceso para reanudarlo más tarde pulsando el botón "Pause" o detenerlo por completo con el botón "Emergency Stop", que también se puede hacer con el botón en forma física incluido con la impresora.

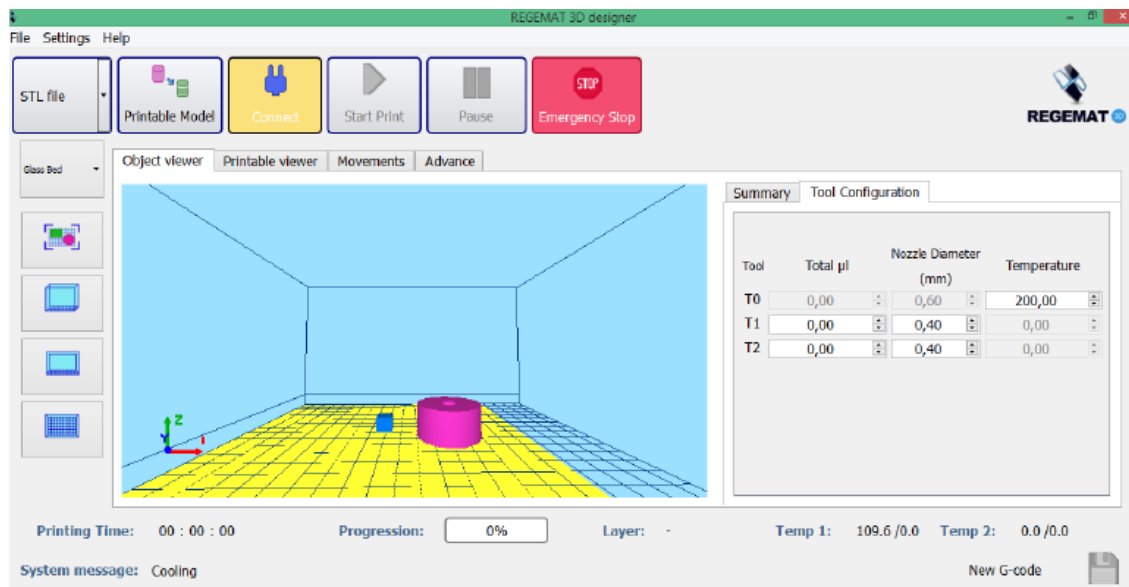


Fig42. Estado del software si se pulsa Emergency Stop

Durante la impresión, los campos en la parte inferior de la ventana principal permiten consultar algunos parámetros en tiempo real de la impresión actual.

El campo "Printing Time" muestra el tiempo de funcionamiento de la impresora.

El campo "Progression" indica el porcentaje aproximado de impresión realizada.

El campo "Layer" muestra la capa actual que se está imprimiendo frente al total a imprimir.

Y el campo "Temperature" muestra las temperaturas del extrusor y las jeringas calentadas frente a la temperatura configurada.

TRABAJO FIN DE GRADO - ANEXO II

Estudio y creación de tintas cambiando el volumen de alginato en la mezcla - tintas descartadas

Durante el proceso de creación de las tintas, se llegó a comentar la posibilidad de cambiar la cantidad de alginato en las mezclas para comprobar el resultado.

Sin embargo, cambiar la cantidad de alginato no tenía sentido para el proyecto. Ya que el objetivo era estudiar las tintas con una misma concentración de alginato.

Se pusieron a prueba:

Caso Alg – CaCl_2 100Mm 3:1 ->

Con 3,5mL de alginato y 1,5mL de cloruro cálcico, obtenemos esta mezcla

Como cambio notable, se puede apreciar un tono más anaranjado que las otras mezclas, debido a la mayor cantidad de alginato.



Fig43. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl_2 100mM reparto 3:1

Caso Alg – CaCl_2 100Mm 1:3 ->

Con 1,5mL de alginato y 1,5mL de cloruro cálcico, se obtiene esta mezcla.

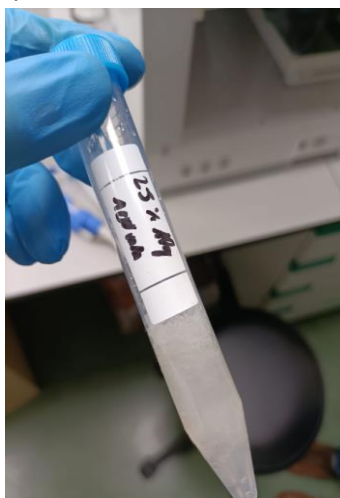


Fig44. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl_2 100mM reparto 1:3

Caso Alg – CaCl₂ 100Mm 2,5:1,5 ->

Con 3mL de alginato y 1,5mL de cloruro cálcico, se obtiene esta mezcla.



Fig45. Tubo con tinta de alginato entrecruzado con CaCl₂ 100mM reparto 2,5:1,5

Tabla 6 - Datos de las tintas descartadas

%Alginato y concentración CaCl ₂	Relación (Alg/CaCL)	%Alginato y concentración CaCL ₂ en la mezcla	mL Alginato	mL CACL ₂	Volumen total	Viscosidad media
ENSAYOS NO VÁLIDOS *						
8% - 100mM	3:1	6% - 25mM	3,75mL	1,25mL	5mL	∅
8% - 100mM	1:3	2% - 75mM	1,25mL	3,75mL	5mL	∅
8% - 100mM	1,5:1	4,8% - 40mM	3mL	2mL	5mL	∅

TRABAJO FIN DE GRADO - ANEXO III
Gráficas de viscosidad

A continuación, se muestran todas las gráficas obtenidas durante las pruebas reológicas con cada tinta de biomaterial:

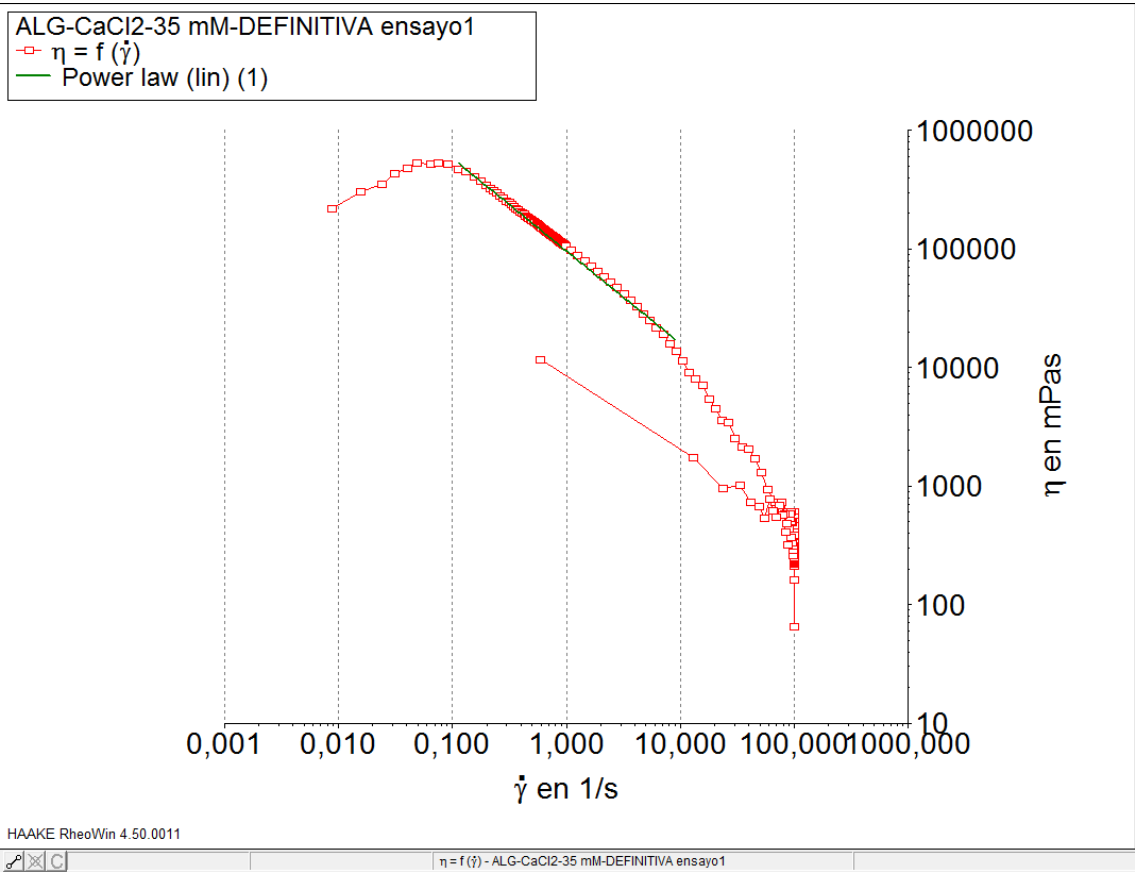


Fig46. Gráfica de viscosidad 35mM ensayo 1

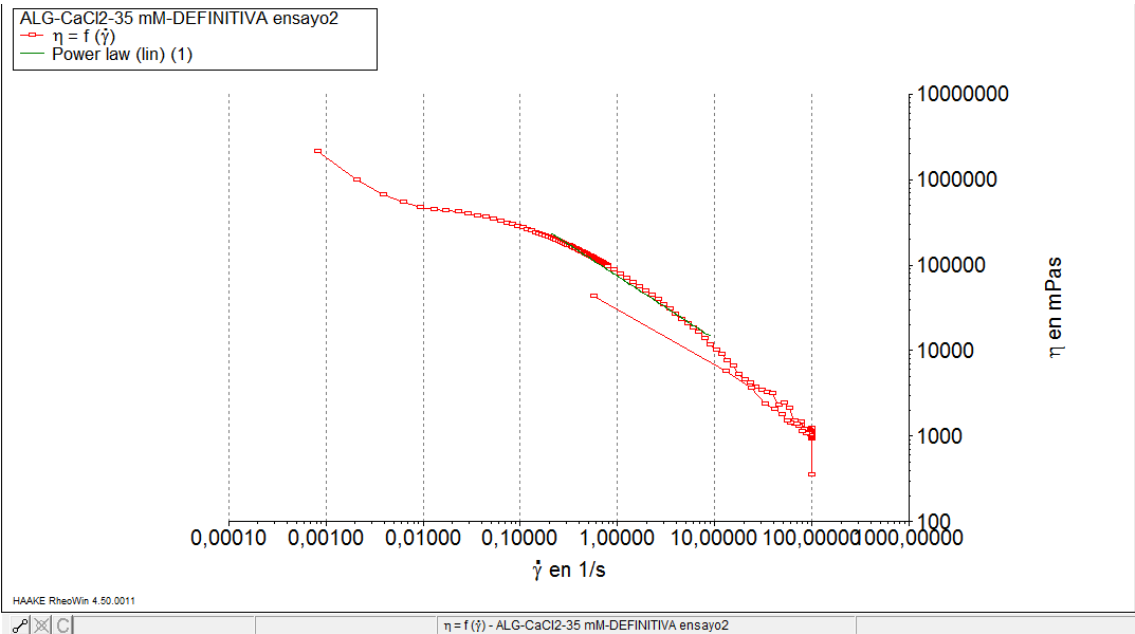


Fig. 47 Gráfica de viscosidad 35mM ensayo 2

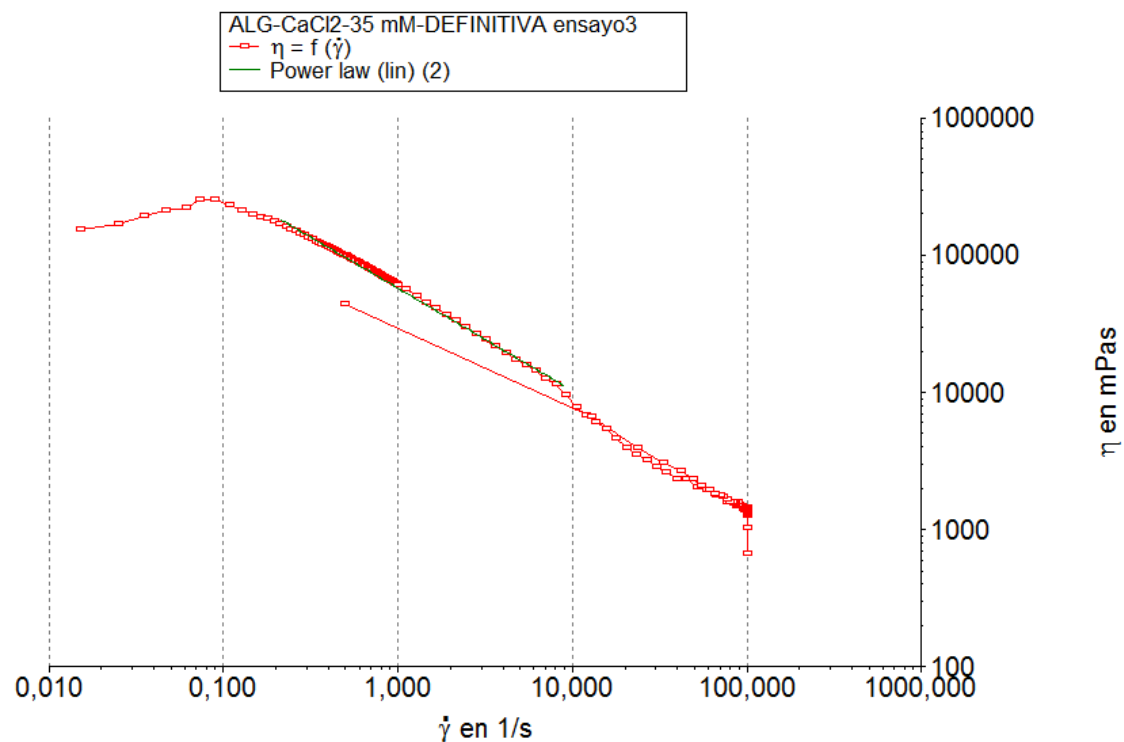


Fig48. Gráfica de viscosidad 35mM ensayo 3

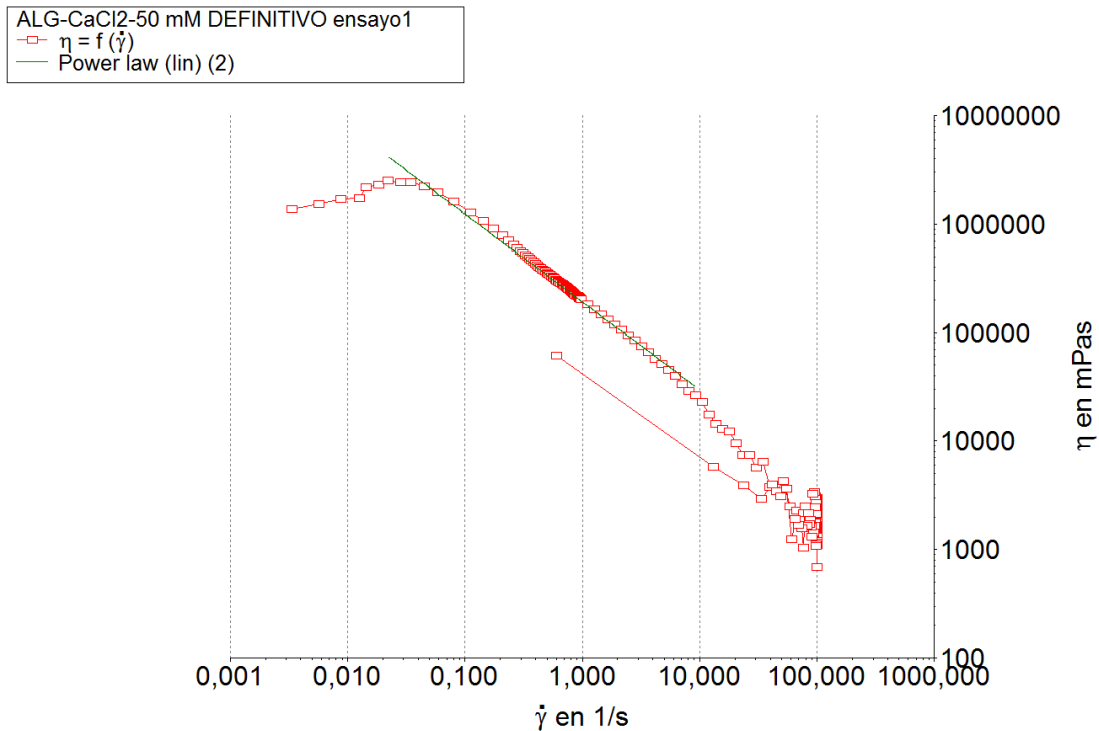


Fig 49. Gráfica de viscosidad 50mM ensayo 1

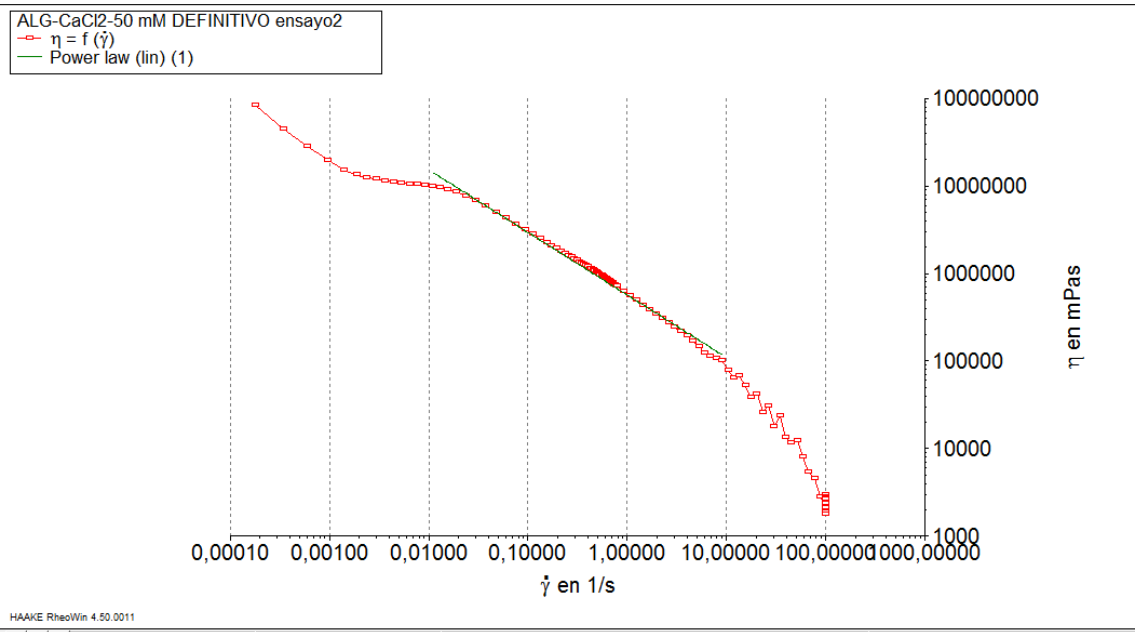


Fig 50. Gráfica de viscosidad 50mM ensayo 2

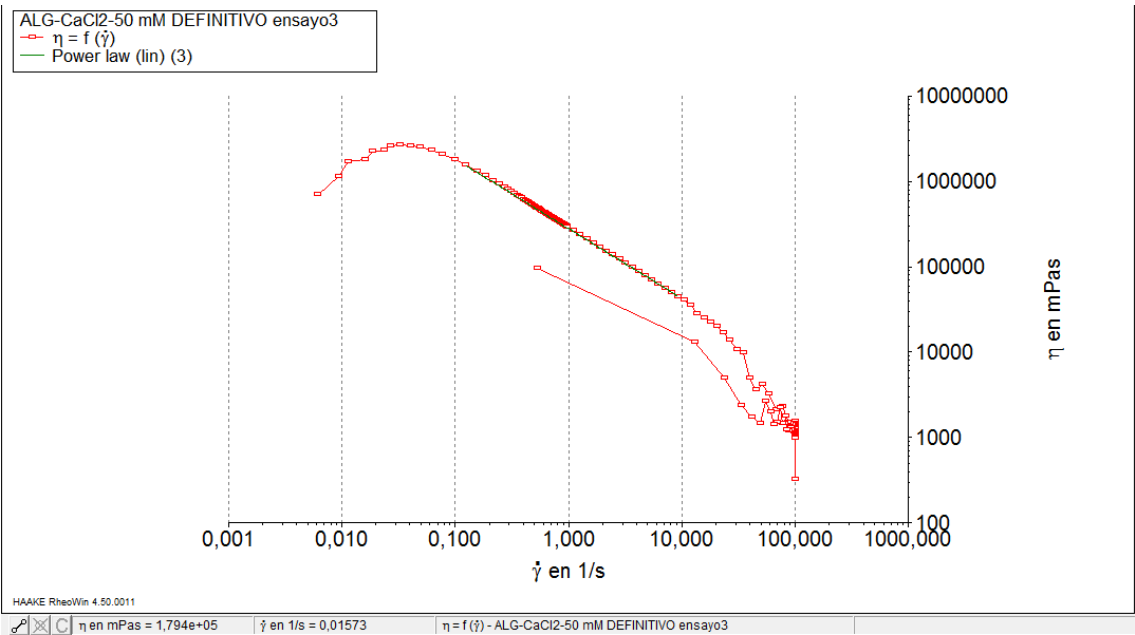


Fig 51. Gráfica de viscosidad 50mM ensayo 3

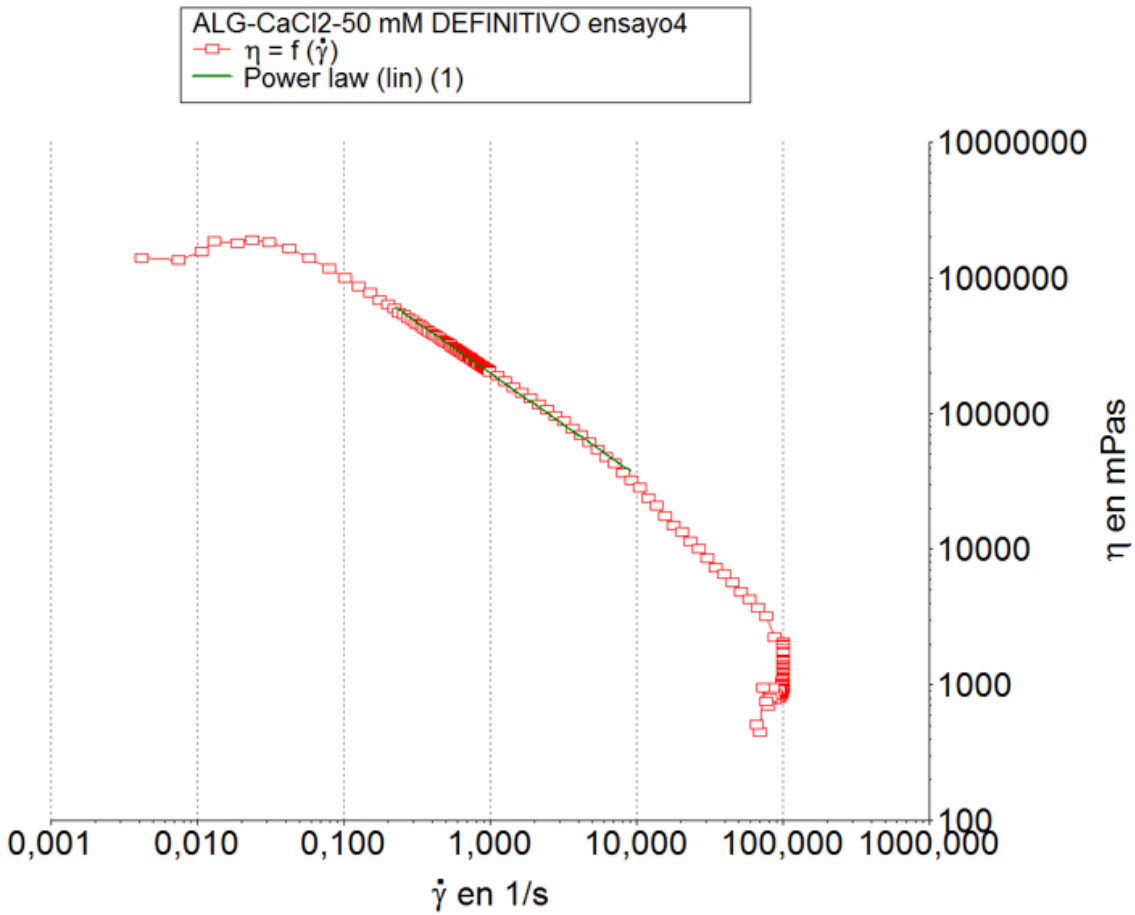


Fig.52. Gráfica de viscosidad 50mM ensayo 4

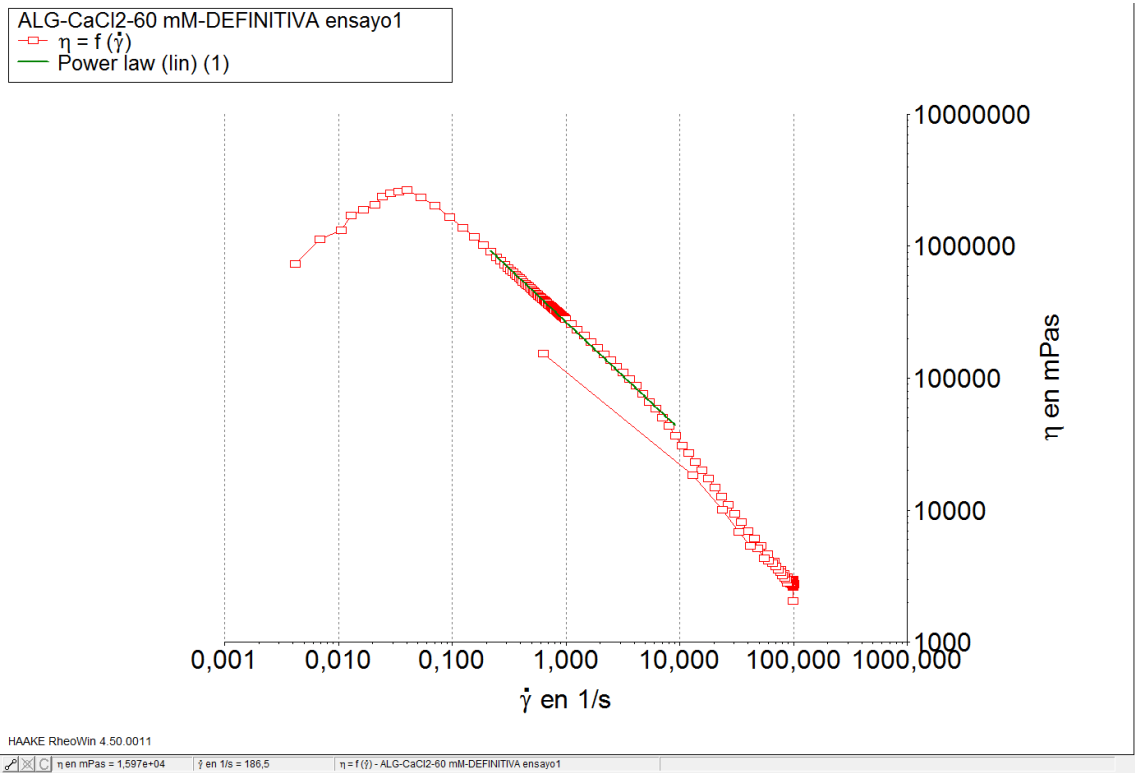


Fig 53. Gráfica de viscosidad 60mM ensayo 1

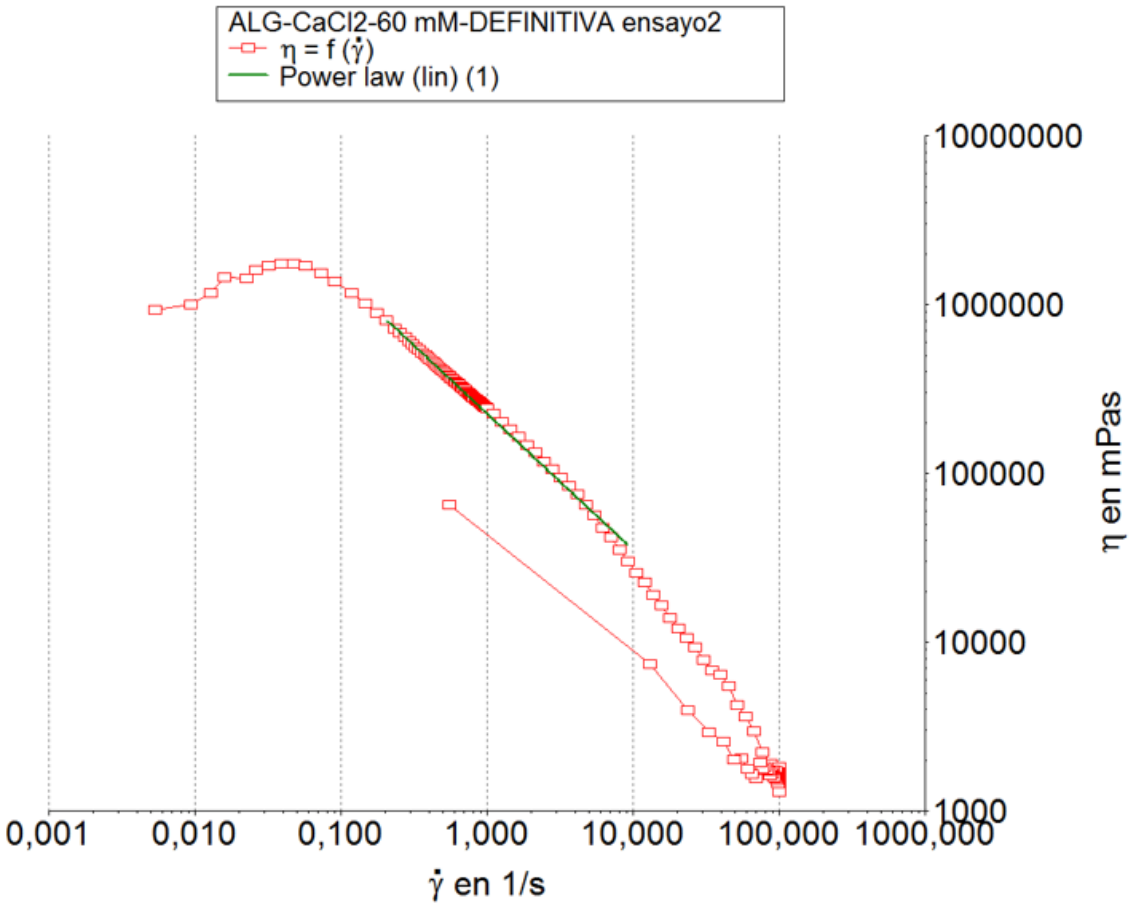
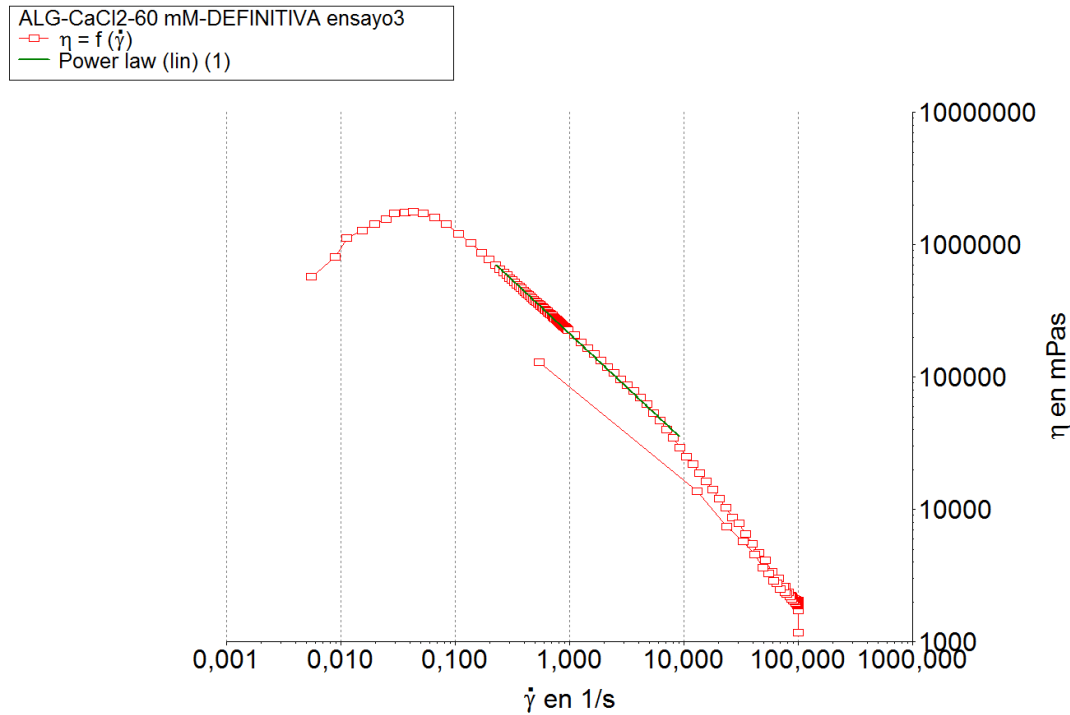


Fig 54. Gráfica de viscosidad 60mM ensayo 2



HAAKE RheoWin 4.50.0011

η en mPas = 4,962e+05

$\dot{\gamma}$ en 1/s = 19,4

$\eta = f(\dot{\gamma})$ - ALG-CaCl₂-60 mM-DEFINITIVA ensayo3

Fig 55. Gráfica de viscosidad 60mM ensayo 3

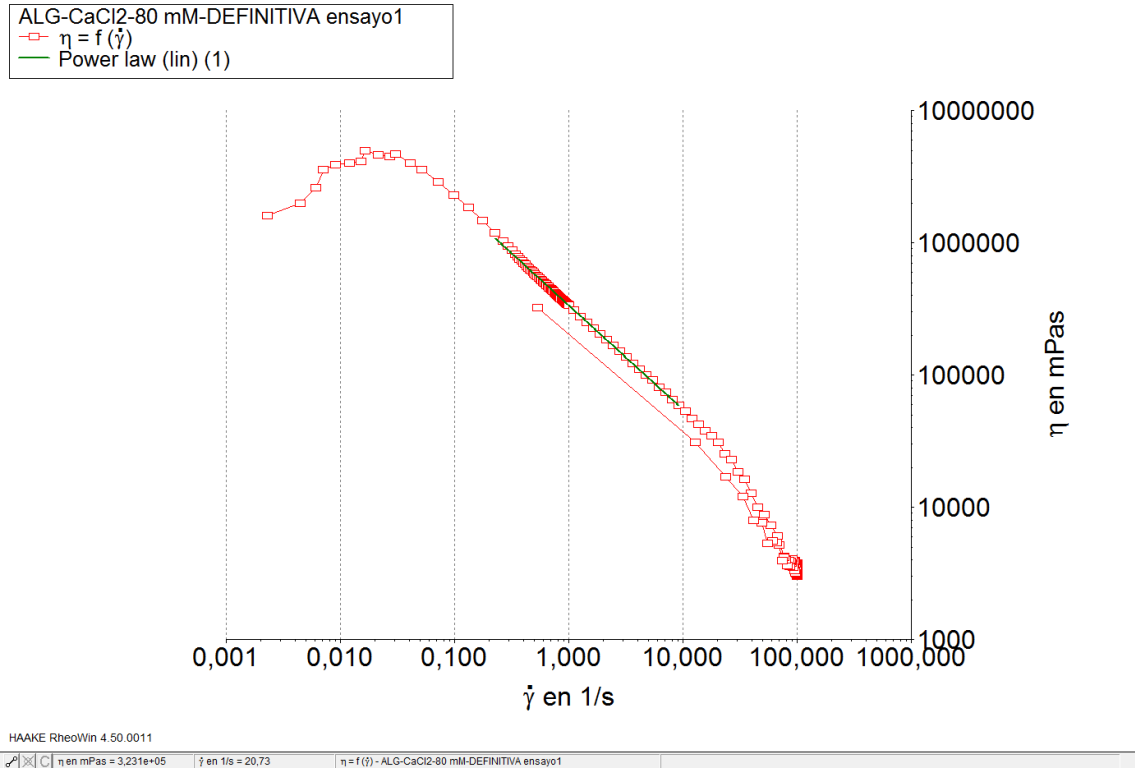


Fig 56. Gráfica de viscosidad 80mM ensayo 1

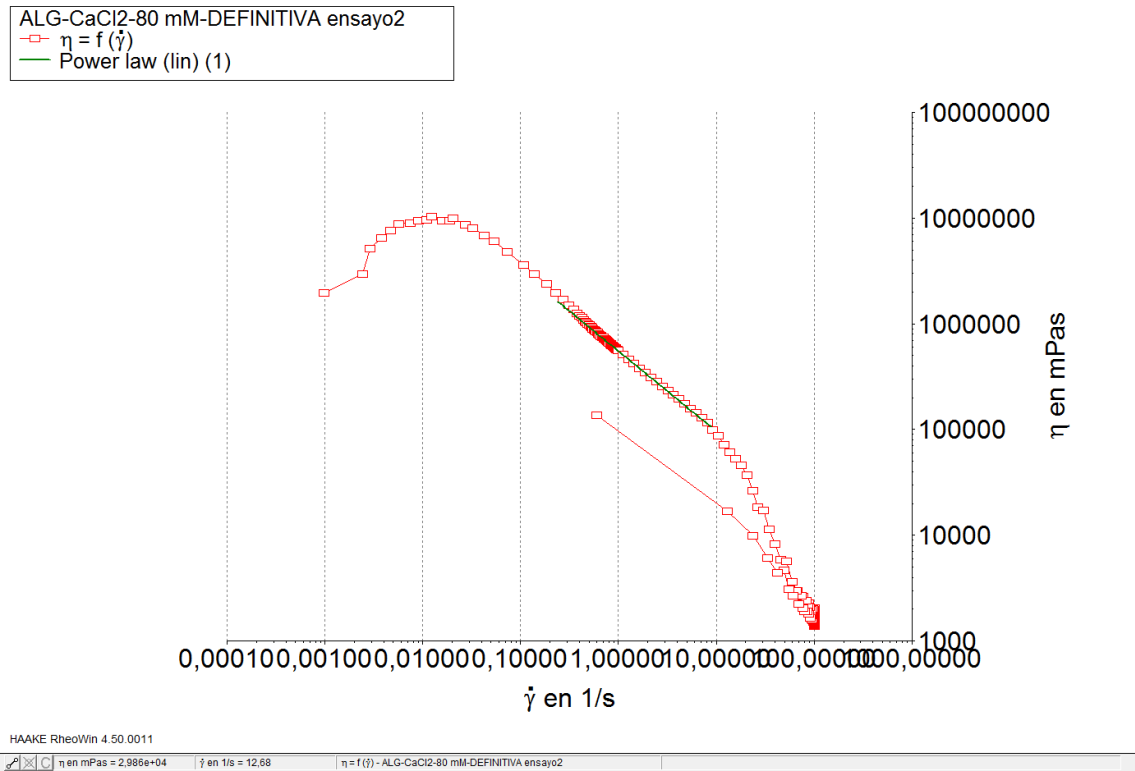


Fig 57. Gráfica de viscosidad 80mM ensayo 2

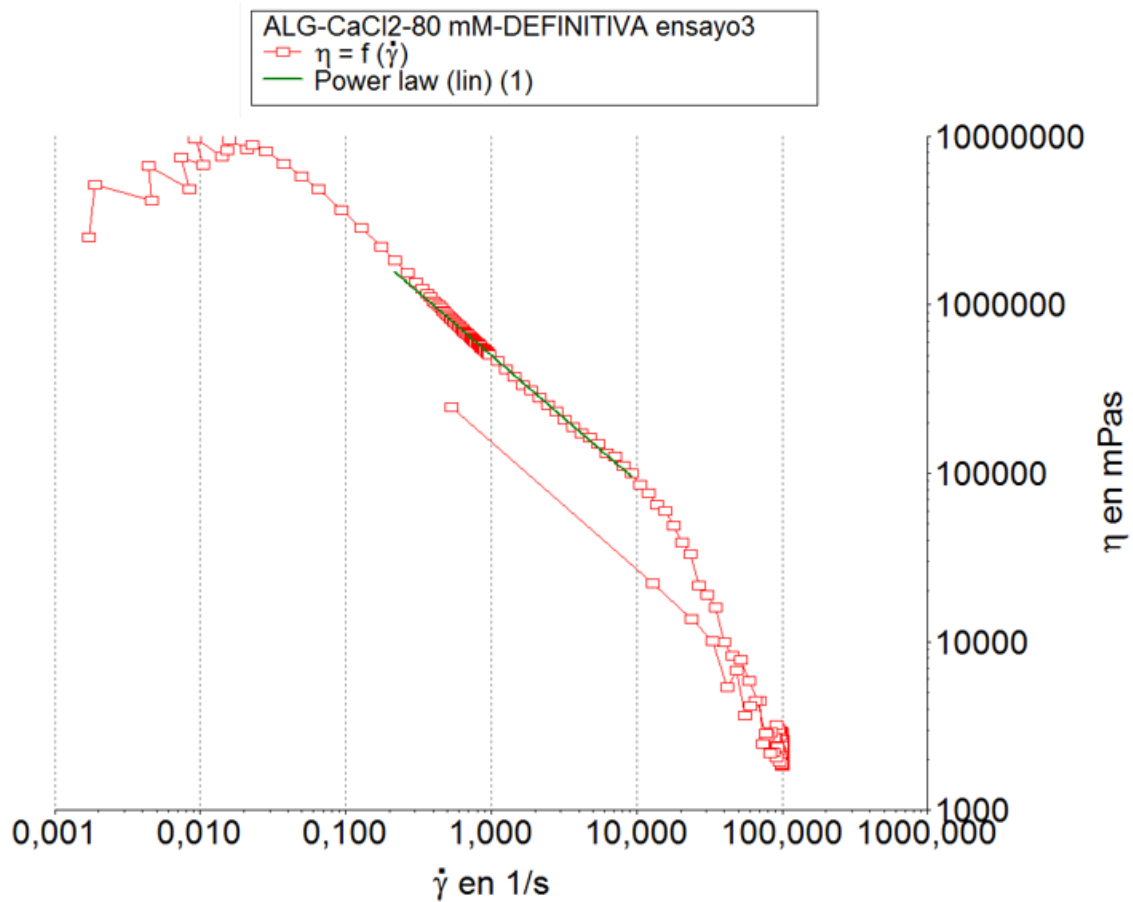


Fig 58. Gráfica de viscosidad 80mM ensayo 3