

Síntesis y caracterización de biopelículas de almidón para el estudio de las propiedades de liberación de vitamina B12

Synthesis and characterization of starch biofilms for the study of vitamin B12 release properties

Gema D. García-Olaiz ^{a, *}, Yadira D. Cerda-Sumbarda ^a, Angel Licea-Claverie ^a, Arturo Zimzumbo-López ^a

^a TECNM/IT de Tijuana, Blvd. Industrial s/n. Cd. Industrial, Tijuana 22435, Baja California, México.

Resumen

Las biopelículas son capas delgadas hechas de polímeros naturales, son biodegradables y se utilizan en diversas aplicaciones como el envasado de alimentos, la agricultura y la medicina, debido a sus propiedades sostenibles. En este trabajo se elaboraron películas de almidón adicionadas con vitamina B12. Se evaluaron sus propiedades mecánicas, térmicas, físicas, biológicas y la capacidad de liberación de vitamina B12 en un medio fisiológico simulado. Las películas mostraron un aumento en su capacidad de estiramiento a mayor cantidad de glicerol. Las películas presentaron una temperatura de pérdida de masa máxima alrededor de los 250 y 350 °C, sin embargo, no mostraron patrones visibles de temperatura de transición vítrea o temperatura de fusión, por último, las biopelículas demostraron ser capaces de liberar vitamina B12 de manera sostenida por cuatro horas, con porcentajes de liberación de hasta el 69%, lo cual indica una oportunidad de desarrollar un nuevo material médico.

Palabras Clave: Biopelículas, almidón, vitamina B12, biomaterial, carga y liberación.

Abstract

Biofilms are thin layers made of natural polymers, they are biodegradable and are used in various applications such as food packaging, agriculture and medicine, due to their sustainable properties. In this work, starch films added with vitamin B12 are made. Their mechanical, thermal, physical, and biological properties and vitamin B12 release capacity were evaluated in a simulated physiological environment. The films showed greater stretchability at higher amounts of glycerol, more loss temperature around 250 and 350 °C, however, no visible patterns of glass transition temperature or melting temperature were shown; Finally, the biofilms demonstrated the ability to release vitamin B12 in a sustained manner for four hours, with release percentages of up to 69%, which indicates an opportunity to develop a new medical material.

Keywords: Biofilms, starch, vitamin B12, biomaterial, loading and release.

1. Introducción

Actualmente, los polímeros son ampliamente utilizados como biomateriales, debido a sus diversas propiedades físicas, químicas, mecánicas y su bajo costo, lo cual da como resultado materiales ideales para diversas aplicaciones médicas, sin embargo, genera a su vez grandes cantidades de desechos de plásticos de un solo uso (Savencu, *et al.*, 2021). La no degradabilidad de estos materiales representa un gran desafío para el ecosistema, lo que lleva a una gran crisis ambiental (You, *et al.*, 2020). El residuo de los plásticos representa el 79 % de los desechos que fueron vertidos en rellenos sanitarios, registrando más de 300 millones de toneladas en el 2015; solo el 12 % de estos residuos eran incinerables y un 9 % se podían

reciclar (Aboitina, *et al.*, 2021). Por todo lo anterior, la mejor alternativa para suplir a los polímeros sintéticos no biodegradables, son los biopolímeros. En este grupo se encuentran la celulosa, el quitosano, la gelatina, el almidón, entre otros.

En los últimos años, los materiales a base de almidón han recibido una mayor atención debido a su capacidad como matriz de unión entre rellenos orgánicos e inorgánicos tales como SiO₂, Al₂O₃, Au, ZnO, TiO₂, Cr₂O₃ y Fe₂O₃ para diferentes aplicaciones como embalaje de alimentos, remediación en medio ambiente, hasta potenciales productos médicos (Haniffa, *et al.*, 2016). Numerosas investigaciones han mostrado la funcionalidad del almidón para ser utilizado

*Autor para la correspondencia: gema.garcia@tectijuana.edu.mx

Correo electrónico: gema.garcia@tectijuana.edu.mx (Gema Danira García-Olaiz), yadira.cerda@tectijuana.edu.mx (Yadira Denisse Cerda-Sumbarda), aliceac@tectijuana.mx (Angel Licea-Claverie), azizumbo@tectijuana.mx (Arturo Zimzumbo-López).

como sustrato para la siembra de células, andamio para ingeniería de tejidos, sistemas de liberación de fármacos y remplazo de implantes de hueso. Las propiedades mecánicas de las biopelículas de almidón no cumplen con los requerimientos para su aplicación ya que la resistencia a la tracción de biopelículas de almidón, está alrededor de los 3.14 MPa (Warsiki, *et al.*, 2018) por lo que aún sigue siendo un reto obtener propiedades mecánicas óptimas las cuales requieren de una resistencia a la tracción entre 1 a 32 MPa (Farshi, *et al.*, 2022), sin embargo el intervalo es tan amplio debido a que depende de la zona de la piel, por lo que es deseable que la resistencia a la tracción estuviera en la media del intervalo para las biopelículas de almidón (Torres, *et al.*, 2013).

Se ha explorado el uso de biopelículas de almidón primero porque es considerado un plástico biodegradable por lo tanto amigable con el ambiente (Narancic, *et al.*, 2020). Por otro lado, es prometedor en apósitos para heridas debido a las excelentes propiedades que pueden moderar el paso de oxígeno o vapor de agua, sin embargo, sus bajas propiedades mecánicas han sido una limitante, la cual se ha tratado de mejorar gracias a la variación de los porcentajes de glicerol (Tarique, *et al.*, 2019) y metodología utilizada (Datta, *et al.*, 2019). Algunas otras estrategias consisten en mejorar sus propiedades a través del uso de refuerzos mecánicos, tales como nanorellenos de partículas de dióxido de titanio, las cuales han demostrado mejorar la resistencia a la tracción hasta un 37.7% (Chemiru, *et al.*, 2023).

Por otro lado, el cargado de apósitos con fármacos ha cobrado relevancia en los últimos años, esto con el propósito de generar un efecto sinérgico en la recuperación del tejido epitelial; debido a la transparencia, la flexibilidad y fácil remoción que ofrecen las biopelículas es fácil monitorear la recuperación en una herida (Hassan, *et al.*, 2018). En cuanto a la liberación de principios activos en biopelículas de almidón, se ha probado en aplicaciones dentales, la liberación se ve influenciada por la composición de la biopelícula e incluso el tamaño de las partículas del principio activo (Jahanizadeh, *et al.*, 2017).

Entre los principios activos de interés para liberación se encuentra la vitamina B12, que es un eliminador de óxido nítrico eficaz que puede suprimir la producción de citoquinas y presentar efectos antiinflamatorios propiedades útiles en la recuperación efectiva de tejidos (Carrera-Castro, 2013). Hay estudios sobre el complejo vitamínico B que confirman la eficacia en la cicatrización de heridas para el tratamiento de úlceras cutáneas (New, *et al.*, 2011). Una úlcera por presión es una lesión de la piel, que puede afectar aquellas zonas de la epidermis, dermis, tejido subcutáneo y músculo donde se asientan, incluso pueden llegar a afectar articulaciones y huesos (Delavari, *et al.*, 2022). Tales efectos en las heridas ocasionan infecciones y son la causa principal de amputaciones de las extremidades inferiores en pacientes con diabetes mellitus, de los cuales el 73% que sufren alguna amputación, fallece en menos de 5 años (Martínez, *et al.*, 2021). Las terapias avanzadas para este tipo de heridas incluyen la aplicación de sustitutos de piel artificial creados con bioingeniería para superar el problema del rechazo de injerto, así como la administración tópica de agentes

terapéuticos para reducir la inflamación y acelerar el proceso de curación (Dominguez, *et al.*, 2021).

Es común que los apósitos que se encuentran disponibles en el mercado contengan algún agente (fármaco, antibiótico, factor de crecimiento, etc.) que mejore la acción del apósito y propicie el crecimiento de tejido nuevo, por lo que en este trabajo se propuso cargar las biopelículas de almidón con vitamina B12, ya que se ha reportado que esta vitamina promueve la formación de tejido nuevo al aplicarse de manera tópica, lo cual podría propiciar una liberación más sostenida hacia el área objetivo; obteniendo beneficios como acortar el tiempo de tratamiento y recuperación de una úlcera crónica. Por otro lado, el uso de materiales biodegradables puede evitar la producción de nuevos desechos plásticos que aumenten la contaminación ambiental.

2. Metodología

En la Figura 1 se describe el esquema general de la síntesis, caracterización, cargado y liberación de la vitamina B12 en las biopelículas de almidón.

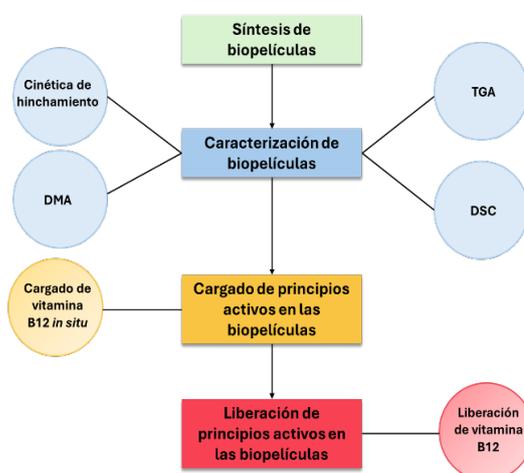


Figura 1: Esquema general de la metodología de síntesis y caracterización de las biopelículas de almidón.

2.1. Materiales

El almidón de maíz se adquirió en Jalmek, el glicerol en Aldrich, así como la vitamina B12. Se utilizó agua destilada (TQE Servicios).

2.2. Síntesis de biopelículas

Las biopelículas fueron preparadas a través de la siguiente metodología (Abotbina, 2021); se agregaron 2.5 g de almidón y el porcentaje de glicerol correspondiente (0, 15, 20, 30, 40, 45 y 60 w/w con respecto a la cantidad de almidón) a 50 mL de agua destilada, posteriormente la mezcla se llevó a un baño de aceite a 85° C por un periodo de 20 minutos. La mezcla resultante se vertió en cajas Petri con 10 g de la mezcla resultante y se llevaron a un horno de secado a 50°C durante 24 horas.

2.3. Cinética de hinchamiento en agua

En esta sección se realizó la caracterización física de las biopelículas utilizando la técnica de la cinética de hinchamiento para analizar la capacidad de absorción de las biopelículas. Se recortaron cinco muestras de 1 cm² de cada una de las biopelículas, posteriormente se pesaron y colocaron en viales con 10 mL de agua destilada a temperatura ambiente, esta prueba se llevó a cabo por quintuplicado para cada tipo de biopelícula. Para realizar el registro de los datos de la cinética de hinchamiento, las muestras se retiraron de los viales con agua y se les removió el excedente de agua con papel absorbente, se realizó el registro de los datos a través de gravimetría y se regresaron las muestras a los viales, este proceso se realizó cada hora por cinco horas durante tres días. Una vez terminados los tres días, se calculó el promedio de los porcentajes de cada biopelícula por hora a través de (1), como se muestra en la en la gráfica.

$$Q = \frac{W_2 - W_1}{W_1} * 100, \quad (1)$$

Donde Q es el hinchamiento, W₁ es el peso en seco y W₂ es el peso hidratado.

2.4. Caracterización mecánica de las biopelículas

Para las pruebas mecánicas de tensión se utilizó el analizador mecánico dinámico (DMA), modelo Q800, marca TA-Instruments; se utilizaron muestras rectangulares de 20 mm x 5 mm de cada biopelícula, el análisis se realizó por triplicado a 25 °C con una rampa de fuerza de 1/min hasta 18 N. El módulo de Young se calculó promediando los módulos de cada lote de biopelículas posteriormente se realizó una comparación de los módulos con cada uno de los promedios de cada lote.

2.5. Caracterización térmica de las biopelículas por análisis termogravimétrico

Se utilizó un equipo de análisis termogravimétrico (TGA), marca TA-Instruments, modelo Discovery TGA. Se colocaron de 1 a 5 mg de muestra en un portamuestras de platino, en flujo de nitrógeno de 60 mL/min, rampa de 10 °C/min, intervalos de temperatura de análisis de 30-600 °C.

2.6. Caracterización térmica de las biopelículas por calorimetría diferencial de barrido

Por medio de DSC se determinaría la temperatura de transición vítrea (*T_g*) de las muestras. El ciclo consistió en equilibrar a -20 °C, mantenerlo a esa temperatura por 5 min, modular +/- 1 °C cada 60 segundos y calentar a una velocidad de 10 °C/min hasta 100 °C.

2.7. Estudio de cargado y liberación de vitamina B12 en biopelículas de almidón

Se preparó una solución madre de vitamina B12 en buffer de fosfatos a pH 7.4 con una concentración de 0.08 mg/mL, posteriormente se procedió a preparar mezclas para sintetizar biopelículas de 0, 15, 30, 45 y 60 % de glicerol, utilizando 2.5 g de almidón y 1.69 mL de solución madre aforado a 50 mL con agua destilada para tener una concentración de 2.7 µg/mL de vitamina B12 en la mezcla. Se procedió a llevar las mezclas

a un baño de aceite durante 10 minutos a 85 °C en agitación constante, hasta obtener la mezcla final. Posteriormente se vaciaron las mezclas en cajas Petri con 10 g cada una y se llevaron al horno de secado a 50 °C durante 24 horas. Una vez terminado el periodo de secado las biopelículas estuvieron listas y cargadas con vitamina B12, presentando un tono ligeramente rosado.

Se realizó una curva de calibración para la vitamina B12 con el espectrofotómetro UV- vis utilizando diluciones de concentración 3.2, 2.7, 2.3, 1.9, 1.6 y 1.3 µg/mL.

Para llevar a cabo la liberación de vitamina B12 de las biopelículas, estas se colocaron en recipientes de plástico con 25 mL de buffer de fosfatos a pH 7.4 para simular un medio fisiológico a temperatura ambiente, posteriormente se tomaron alícuotas de 3 mL del medio cada 30 minutos durante tres días las cuales se midieron en el espectrofotómetro de UV-visible. Para medir la concentración de cada muestra con el espectrofotómetro de UV-visible fue necesario fijar una longitud de onda basados en la mayor absorptividad molar de la vitamina B12, la cual resultó ser 366 nm.

3. Resultados

3.1. Homogeneidad superficial

Se realizaron diferentes variaciones en la composición de almidón y glicerol para obtener una película optimizada en términos de su apariencia, flexibilidad, transparencia y capacidad de formación de película uniforme y homogénea después del secado. En la Figura 2 se muestra la biopelícula de almidón con 15% de glicerol, justo al salir de la preparación en donde se puede observar que es transparente; pasadas 24 horas en el horno secándose las biopelículas se encuentran completamente secas y homogéneas, pero son semitransparentes.

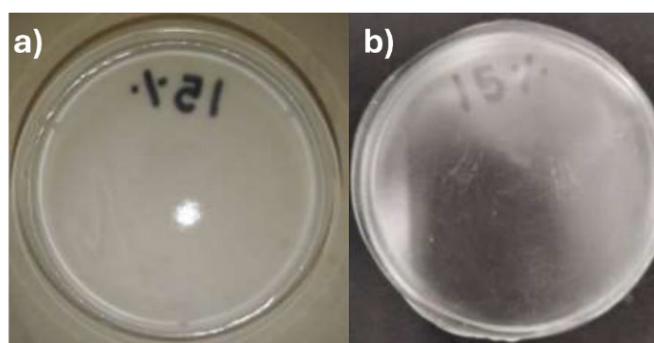


Figura 2: Biopelículas de almidón con 15% de glicerol. a) antes de secar, b) después de las 24 de secado en el horno.

3.2. Grado de hinchamiento de biopelículas de almidón

En la Figura 3 se observa la diferencia entre las biopelículas secas y a una hora de estar sumergidos en agua, en la comparación de las fotografías se alcanza a apreciar que hay un incremento aparente en el tamaño de las biopelículas producto del hinchamiento por agua.

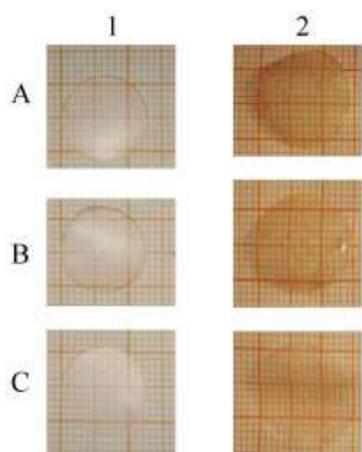


Figura 3: Comparación de biopelículas de almidón secas e hinchadas. Fotografías de la izquierda en vertical (1) de biopelículas secas, a la derecha vertical (2) después de la primera hora de hinchamiento (Biopelículas con diferente porcentaje de glicerol A 15%, B 30% y C 60%).

En cuanto a la cinética de hinchamiento en la Figura 4 se puede observar primero que todas las biopelículas sufren de hinchamiento al estar en contacto con agua y en una hora llegan al máximo hinchamiento empezando un descenso paulatino a partir de la segunda hora para todos los casos. Por otro lado, a medida que incrementa el porcentaje de glicerol en las muestras la absorción disminuye, pero de acuerdo con la proporción de glicerol las biopelículas pueden hincharse entre un 40 a 200%; siendo las de menor hinchamiento las de mayor proporción de glicerol. El glicerol al actuar como plastificante se coloca entre las cadenas del almidón y manteniendo interacciones intermoleculares estables entre los grupos hidroxilos tanto de la amilosa, la amilopectina y el glicerol.

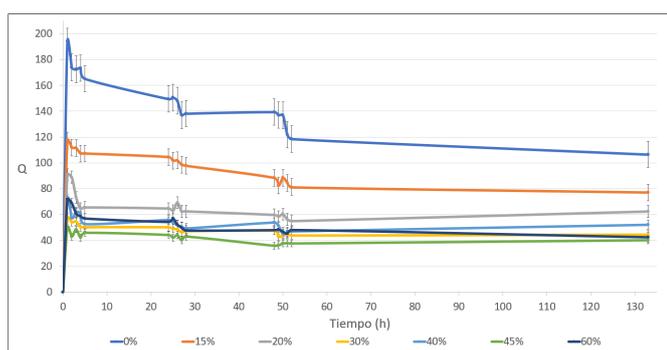


Figura 4: Cinética de hinchamiento de las biopelículas de almidón con diferente porcentaje de glicerol.

3.3. Análisis mecánico por tensión de biopelículas de almidón.

Se llevaron a cabo los ensayos de tensión de biopelículas de almidón, en la Figura 5 se muestra la gráfica de esfuerzo-deformación de las siete muestras sintetizadas. Los resultados obtenidos revelaron que las biopelículas elaboradas con concentraciones de glicerol del 0 y 15 % presentan la capacidad de deformación más reducida en comparación con las demás variantes de biopelículas. En contraste, se observó un notable incremento en la capacidad de deformación en las biopelículas restantes a medida que aumentaba la proporción de glicerol. Como es de esperarse el glicerol está cumpliendo su función de plastificante por lo que en los ensayos de tensión el módulo de Young se ve disminuido, ya que el glicerol colabora posiblemente con el deslizamiento de las cadenas de

almidón lo que se ve reflejado en el aumento de la deformación.

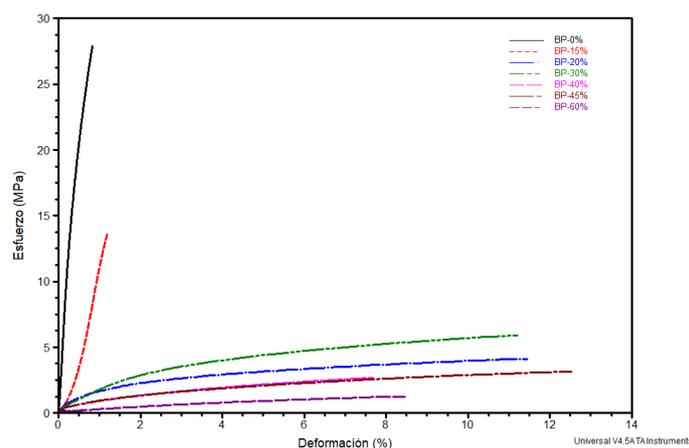


Figura 5: Gráfica de esfuerzo contra deformación obtenida por ensayos de tensión de biopelículas con diferente porcentaje de glicerol.

El módulo de Young se calculó promediando los módulos de cada lote de biopelículas, posteriormente se realizó una comparación de los valores con cada uno de los promedios de cada lote (Tabla 1).

Tabla 1: Resultados de módulo de Young y deformación máxima obtenida por tensión.

Muestra	ϵ (Mpa)	σ (%)
BP-0%	5121 \pm 97	0.8 \pm 0.016
BP-15%	435 \pm 74	3 \pm 0.056
BP-20%	206 \pm 55	13 \pm 3
BP-30%	144 \pm 9	11 \pm 3
BP-40%	50 \pm 3	10 \pm 2
BP-45%	56 \pm 3	16 \pm 3
BP-60%	20 \pm 1	9 \pm 1

Se observa que a medida que incrementa el porcentaje de glicerol el módulo de Young disminuye notablemente sin embargo la deformación aumenta. Todas las biopelículas de almidón muestran valores aceptables e incluso superiores con los deseados (de 1 a 32 MPa).

3.4. Análisis por termogravimetría de biopelículas de almidón

El análisis termogravimétrico de las biopelículas mostró que presentan 3 etapas de descomposición. En la Figura 6 el termograma de las de las biopelículas indica que las muestras presentaron un comportamiento térmico similar entre ellas, dado que después de los 30 °C empieza la degradación de la masa, en la primera fase las muestras de 0, 20 y 40 % de glicerol, pierden alrededor del 17 al 26 % de su masa total por otro lado la muestra de 60 % de glicerol perdió un 40 % de su masa, esto es debido al porcentaje de glicerol que contienen, ya que se degrada alrededor de los 200 °C. En la segunda fase se obtuvieron los rangos de temperaturas donde cada muestra pierde la mayor cantidad de su masa.

Por último, en la tercera fase se obtuvo una degradación mucho más lenta hasta los 600 °C, en este punto la biopelícula sin glicerol se ha degradado completamente, mientras que las biopelículas con glicerol dejaron residuos que se degradaron hasta poco más de los 700 °C. Es importante resaltar que el

glicerol se descompone a partir de los 200 °C por lo que a medida que se incrementa el porcentaje de glicerol aumenta el porcentaje de pérdida de masa en la primera etapa de descomposición. Esto no es un problema dado que para las posibles aplicaciones no se usarían temperaturas arriba de los 121 °C, en caso de que se tengan que esterilizar con calor.

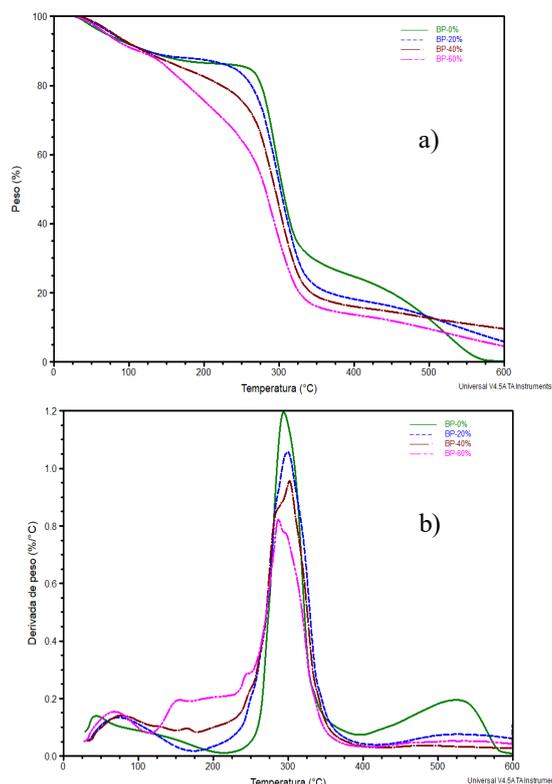


Figura 6: Termogramas de TGA de biopelículas con concentraciones diferentes de glicerol. a) pérdida de peso (%), b) derivada en peso.

Las tres etapas de descomposición de las biopelículas de almidón se resumen en la Tabla 2 en la cual están los valores de pérdida de masa y temperaturas.

Tabla 2: Porcentajes de pérdida de peso por etapa.

Muestra	Primera etapa		Segunda etapa		Tercera etapa		Residuo % masa
	Pérdida de masa (%)	Temperatura (°C)	Pérdida de masa (%)	Temperatura máxima (°C)	Pérdida de masa (%)	Temperatura (°C)	
BP-0%	17	<263	50	293	33	332	0
BP-20%	18	<255	58	299	24	400	5
BP-40%	24	<250	55	302	21	400	9
BP-60%	39	<260	42	291	19	400	4

3.6. Estudios de cargado y liberación de vitamina B12 en biopelículas de almidón.

En la curva de calibración de la vitamina B12 se obtuvo una $R^2 = 0.9903$, indicando que la curva de calibración es confiable para realizar la medición de concentración de las muestras como se muestra en la Figura 8.

La gráfica de liberación acumulada de vitamina B12, indica que la mayor parte del fármaco se libera en 4 horas. La biopelícula con la mayor liberación en la primera media hora

3.5. Análisis por calorimetría diferencial de barrido de biopelículas de almidón.

Con el fin de observar señales que indiquen algún tipo de transición por temperatura se llevó a cabo el análisis por DSC; en la Figura 7 se puede observar en el termograma cuatro de las biopelículas obtenidas en este trabajo. Los resultados revelaron un perfil de flujo de calor con respecto a la temperatura el cual muestra una tendencia lineal, sin evidencia de patrones característicos de transición vítrea, cristalización o fundición en las biopelículas. Una posible explicación es que en estas biopelículas las transiciones vítreas estén por encima de los 100 °C.

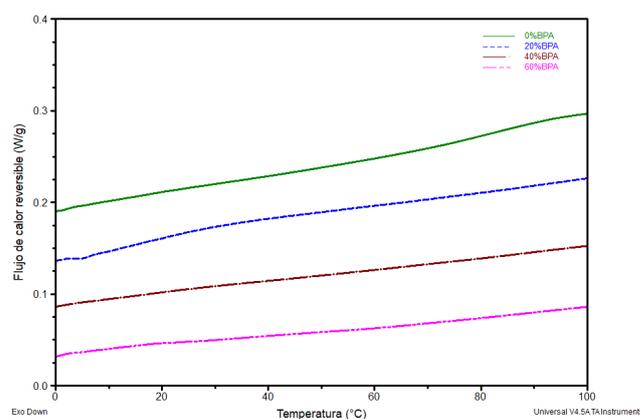


Figura 7: Termogramas de DSC de biopelículas con diferentes porcentajes de glicerol.

Los resultados revelaron un perfil de flujo de calor con respecto a la temperatura el cual muestra una tendencia lineal, sin evidencia de patrones característicos de transición vítrea, cristalización o fundición en las biopelículas.

es la de 45 % de glicerol; además esta biopelícula muestra el mayor porcentaje de deformación, lo cual propicia mayor movilidad en el material y ejerce un efecto que potencia la liberación; la vitamina B12 es hidrófoba por lo que solo se encuentra adsorbida en la superficie del material, la tendencia de liberación es equiparable en todas las biopelículas como se muestra en la Figura 9.

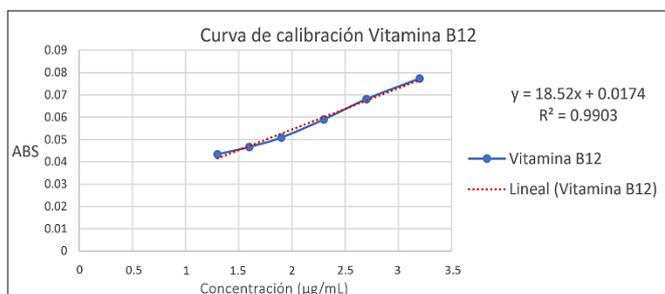


Figura 8: Curva de calibración de la vitamina B12.

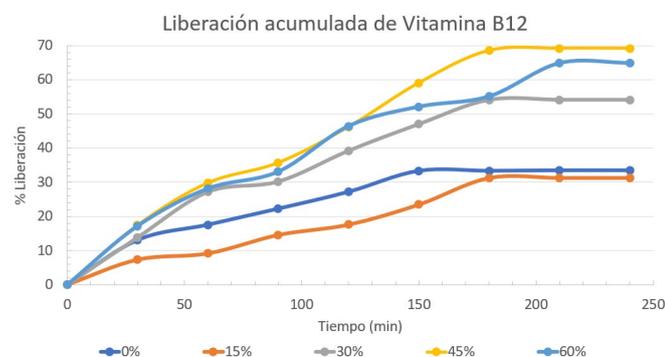


Figura 9: Liberación acumulada de vitamina B12 de las biopelículas.

Se calculó el porcentaje de liberación de vitamina B12 a las cuatro horas, teniendo el mayor porcentaje de liberación en la biopelícula de 45% de glicerol, seguida de la biopelícula de 60% de glicerol. En general se puede observar que, a mayor porcentaje de glicerol, se tiene un mayor porcentaje de recuperación de la vitamina B12, lo cual se propone que es debido a que la rigidez del material impide la salida del compuesto activo hacia el medio líquido, gracias a las interacciones supramoleculares con las cadenas de almidón no plastificadas.

Tabla 3: Vitamina B12 liberada.

Glicerol (%)	Recuperación de vitamina B12 (%)
0	34
15	31
30	54
45	69
60	65

Conclusiones

Se logró sintetizar más de cinco biopelículas de almidón con porcentajes variados de glicerol, incluyendo concentraciones del 0%, 15%, 30%, 45% y 60% en peso. Esta variación en la composición permitió explorar cómo el contenido de glicerol afecta las propiedades mecánicas y térmicas de las biopelículas. A través del análisis mecánico dinámico, se determinaron las propiedades mecánicas, lo que proporcionó información crucial sobre la resistencia y la elasticidad de las biopelículas, siendo las biopelículas con 0% de glicerol las que presentan el mayor módulo de elasticidad de 5121 MPa.

Los análisis mecánicos de las biopelículas revelaron que las biopelículas con concentraciones de glicerol del 0% y 15% presentaron la capacidad de deformación más reducida de

menos del 5%. En contraste, se observó un notable incremento en la capacidad de deformación en las biopelículas restantes a medida que aumentaba la proporción de glicerol. Es importante destacar que las biopelículas con una concentración del 45% de glicerol exhibieron la máxima capacidad de deformación del 16% entre todas las muestras.

Se identificaron patrones de degradación térmica en las biopelículas con diferentes concentraciones de glicerol. Las muestras presentaron comportamientos térmicos similares, pero las biopelículas con mayor contenido de glicerol mostraron una mayor pérdida de masa a temperaturas más bajas. Por su parte, el DSC no reveló patrones de transiciones térmicas. La carga *in situ* de vitamina B12 en las biopelículas demostró la capacidad de estos materiales para retener principios activos y liberar de manera sostenida las primeras cuatro horas. Por último, en el análisis de liberación se observó que las biopelículas con concentración de glicerol de 45% presenta una tasa de liberación más alta para la vitamina B12, con un porcentaje de recuperación del 69%.

La metodología y las composiciones utilizadas, para la síntesis y cargado de las biopelículas, demuestran que es posible producir biopelículas con la capacidad para ser un buen apósito para heridas, sin que sea necesario la incorporación de partículas que funcionen como refuerzos mecánicos.

Referencias

- Abotbina, W., Sapuan, S. M., Sultan, M. T. H., Alkbir, M. F. M., Ilyas, R. A. (2021). Development and Characterization of Cornstarch-Based Bioplastics Packaging Film Using a Combination of Different Plasticizers. *Polymers*, 13, 3487. DOI: 10.3390/polym13203487
- Carrera Castro, C. (2013). En la naturaleza está la respuesta: "Micronutrientes: las vitaminas, agentes terapéuticos en las heridas". *Enfermería Global*, 12, 273–289. DOI: 10.6018/eglobal.12.3.152041.
- Delavari, M.M., Stiharu, I. (2022) Preparation and Characterization of Eco-Friendly Transparent Antibacterial Starch/Polyvinyl Alcohol Materials for Use as Wound-Dressing. *Micromachines*, 13, 960. DOI: 10.3390/mi13060960.
- Domínguez-Saavedra, G., & Hernández-Galván, J. M. (2021). Actualización en el manejo de heridas. *Cirugía Plástica*, 31(3), 124–136. <https://doi.org/10.35366/103715>
- Farshi, P., Salarian, R., Rabiee, M., Alizadeh, S., Gholipourmalekabadi, M., Ahmadi, S., & Rabiee, N. (2022). Design, preparation, and characterization of silk fibroin/carboxymethyl cellulose wound dressing for skin tissue regeneration applications. *Polymer Engineering and Science*, 62(9), 2741–2749. <https://doi.org/10.1002/pen.26057>
- Haniffa, M.M., Ching, Y., Abdullah, L., Poh, S., & Chuah, C. (2016). Review of Bionanocomposite coating films and their applications. *Polymers*, 8(7), 246. <https://doi.org/10.3390/polym8070246>
- Hassan, A., Niazi, M. B., Hussain, A. (2018). Development of anti-bacterial PVA/Starch based hydrogel membrane for wound dressing. *Journal of Polymers and the Environment*, 26, 235-243. Doi: 10.1007/s10924.017.0944.2
- Jahanizadeh, S., Yazdian, F., Marjani, A., Omid, M., & Rashedi, H. (2017). Curcumin-loaded chitosan/carboxymethyl starch/montmorillonite bio-nanocomposite for reduction of dental bacterial biofilm formation. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 105, 757-763. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.101>
- Martínez-Escalante, J. E., Romero-Ibargüengoitia, M. E., Plata-Álvarez, H., López-Betancourt, G., Otero-Rodríguez, R., Garza-Cantú, A. A., & Corral-Guerrero, M. E. (2021). Pie diabético en México: factores de riesgo para mortalidad posterior a una amputación mayor, a 5 años, en un hospital de salud pública de segundo nivel. *Cirugía Y Cirujanos*, 89(3). <https://doi.org/10.24875/ciru.20000209>
- New, D., Eaton, P., Knable, A., Callen J.P. (2011). The Use of B Vitamins for Cutaneous Ulcerations Mimicking Pyoderma Gangrenosum in Patients

- With MTHFR Polymorphism. *Archives of Dermatology*. 147, 450–453. DOI:10.1001/archdermatol.2011.77.
- Savencu, I., Iurian, S., Porfire, A., Bogdan, C., & Tomuța, I. (2021). Review of advances in polymeric wound dressing films. *Reactive and Functional Polymers*, 168, 105059. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105059>
- Torres, F. G., Commeaux, S., Troncoso, O. P. (2013). Starch-based biomaterials for wound-dressing applications. *Starch*, 65, 543–551. DOI:10.1002/star.201200259.
- Warsiki, E., Bawardi, J.T. 2018 IOP Conf. Ser.: Earth and Environmental Science, 209, 012003. DOI: 10.1088/1755-1315/209/1/012003
- You, S., Sonne, C., Ok, Y.S. 2020. COVID-19's unsustainable waste management. *Science*. 368, 1438. DOI:10.1126/science.abc7778