



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

## Facultad de ingeniería



### “DESARROLLO DE UN APÓSITO A BASE DE MUCÍLAGO DE NOPAL PARA LA RECUPERACIÓN DE TEJIDO EPITELIAL DAÑADO POR QUEMADURAS.”

#### TESIS INDIVIDUAL

PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:  
*INGENIERO BIOMÉDICO*

#### PRESENTA:

*RAMÍREZ ÁLVAREZ CARLO IVÁN*

#### DIRIGIDO POR:

*M. en C. TONANTZI PÉREZ MORENO*

#### SINODALES:

- **M. en C. TONANTZI PÉREZ MORENO**  
*Directora*
- **Dra. ALEJANDRA ÁLVAREZ LÓPEZ**  
*Secretaria*
- **Dra. SANDRA VIRGINIA RIVAS GÁNDARA**  
*Vocal*
- **Dra. Vanessa Vallejo Becerra**  
*Suplente*

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO. JUNIO DE 2025.

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

## **AGRADECIMIENTOS PROFESIONALES**

A cada profesor, doctor, maestro y licenciado que se tomó el tiempo de enseñarme desde conceptos básicos que desconocía hasta temas más complejos; de aclarar mis dudas y, sobre todo, de guiarme académicamente. A cada uno de ellos, que me ha marcado y motivado a seguir adelante.

También agradezco a mi actual asesora, la M. en C. Tonantzi Pérez Moreno, quien desde el comienzo me ayudó a comprender, aterrizar y vincular mis conocimientos con este proyecto de investigación.

A mis sinodales: a la Dra. Sandra Rivas, quien me ha inspirado desde el segundo semestre de la carrera a seguir el camino de la investigación y a no rendirme a pesar de las dificultades; al M.en C. José Isidoro, quien desde el primer semestre me ha aclarado dudas sobre procesos dentro del laboratorio; y a la Dra. Alejandra Álvarez, que durante más de un semestre me enseñó a ser más ético en los procesos de investigación y a asegurar que mis metodologías cumplan con un régimen moral.

Agradezco profundamente al Dr. Carlos Andrés Pérez Ramírez, quien desde hace tiempo ha procurado por mi bienestar académico y personal.

Finalmente, agradezco a mi primer asesor de tesis, el Dr. Eduardo Arturo Elizalde Peña, quien confió en mí durante mi servicio social y me brindó la oportunidad de participar activamente en su laboratorio. Sin su apoyo, no me habría animado a seguir mi sueño de dedicarme a la ciencia, y esta tesis no habría sido posible.

## **AGRADECIEMIENTOS PERSONALES**

Agradezco a mi familia, quien no solo me apoyó con el tiempo y el dinero necesarios para este proyecto, sino que también me brindaron la oportunidad de crecer fuera de mi zona de confort.

A mis amigas, la M.C. Daniela Parra y la M.C. Italia Rizzuto, cuya capacitación y guía fueron esenciales para evitar posibles errores durante mi tesis. Además, su apoyo fue crucial para profundizar mi comprensión en microbiología.

A mi amigo, el Q. F.B. Orlando García, quien me ayudó a alcanzar objetivos significativos tanto en mi vida personal como académica, y por facilitarme el acceso a herramientas clave para el desarrollo de este proyecto.

A las amistades que he construido en el camino de la divulgación científica, quienes me ofrecieron respaldo moral y académico a lo largo de este proceso. En especial, a Tania Montiel Amador quien a pesar de sus propios proyectos se dio el tiempo de brindarme su atención y apoyo.

A cada uno de mis amigos más cercanos, que han estado a mi lado en este y otros proyectos, tanto académicos como personales.

Finalmente, gracias a mi comunidad de la divulgación, que he visto crecer desde que inicié esta tesis y que ha sido testigo de mi crecimiento profesional y académico.

## RESUMEN

Las quemaduras son una de las heridas más frecuentes en el mundo. Los decesos relacionados con este tipo de lesión no ocurren por la quemadura en sí, sino por el ambiente propicio que se genera en el cuerpo, el cual favorece el desarrollo de colonias bacterianas. Para reducir la mortalidad por quemaduras, se busca el desarrollo de un apósito que propicie la regeneración de células epiteliales, que sea biocompatible, antimicrobiano y con resistencia mecánica, además de actuar como una capa protectora entre la zona afectada y los agentes externos.

En este estudio, se desarrolló una membrana a partir de electrohilado compuesta por partes iguales de quitosano, PVA y mucílago de nopal. Este último ha sido utilizado desde hace tiempo en la medicina tradicional mexicana para tratar quemaduras debido a sus propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias. Por su naturaleza hidrocoloidal, le permite formar un hidrogel al contacto con el exudado de la herida, permitiendo así una capa protectora.

Por otra parte, el quitosano es una molécula altamente biocompatible, antimicrobiana y que estimula la regeneración celular.

La interacción molecular existente entre el mucílago, quitosano y PVA permitió obtener resultados prometedores. Las membranas obtenidas fueron analizadas mediante FTIR para identificar su “huella dactilar” molecular. Analizando las interacciones químicas entre grupos funcionales presentes, se puede descartar la presencia de compuestos no deseados, así como asegurar la presencia de grupos funcionales de interés, como los grupos aromáticos interaccionando con los carbonilos.

Además, se realizó un análisis SEM para visualizar los diámetros de las nanofibras que resultaron ser de entre 10 nm a 750 nm. Los resultados señalan que la presencia de mucílago de nopal en membranas de quitosano y PVA mejora significativamente su efectividad antimicrobiana contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, además de aumentar la resistencia mecánica de las membranas. En contraparte, la variación en la concentración de quitosano no presentó diferencias significativas.

---

### *Palabras clave*

---

Quitosano, PVA, mucílago, electrohilado.

## **ABSTRACT**

Burns are among the most common injuries worldwide. Deaths related to this type of injury are not caused by the burn itself but rather by to the favorable environment created in the body, which promotes the growth of bacterial colonies. To reduce burn-related mortality, the development of a dressing that promotes epithelial cell regeneration, is biocompatible, antimicrobial, and mechanically resistant, and acts as a protective layer between the affected area and external agents is sought.

In this study, a membrane was developed through electrospinning, composed in equal parts of chitosan, PVA, and nopal mucilage. The latter has been used for a long time in traditional Mexican medicine to treat burns due to its antimicrobial and anti-inflammatory properties. Its hydrocolloid nature allows it to form a hydrogel upon contact with wound exudate, thus creating a protective layer.

On the other hand, chitosan is a highly biocompatible, antimicrobial molecule that stimulates cell regeneration.

The molecular interaction between mucilage, chitosan, and PVA resulted in promising results in all tests. The membranes obtained were analyzed by FTIR spectroscopy to identify their molecular "fingerprint". By analyzing the chemical interactions between the functional groups present, it was possible to rule out the presence of undesired compounds and confirm the presence of functional groups of interest, such as aromatic groups interacting with carbonyl groups.

Additionally, SEM analysis was performed to visualize the diameters of the nanofibers, which ranged from 10 nm to 750 nm. The results indicate that the presence of nopal mucilage in chitosan and PVA membranes significantly improves their antimicrobial effectiveness against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, as well as increases the mechanical resistance of the membranes. In contrast, variations in chitosan concentration did not produce significant differences.

---

### *Keywords*

---

Chitosan, PVA, mucilage, electrospinning.

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Tabla comparativa de la frecuencia teórica y experimental por grupo funcional. ....	33
Tabla 2 Diámetro de las primeras 5 nanofibras medidas con ImageJ.....	35
Tabla 3 Mapeo de la resistencia a la rayadura por sectores y su grosor.....	42
Tabla 4 Valores promedio de ruptura y grosor de las muestras.....	42
Tabla 5 Valores equivalentes entre el número de lápiz y el valor utilizado para calcular la diferencia relativa.....	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Apósitos pioneros llamados "Hidrocoloides", recuperado de B. Fornes (2008)	7
Figura 2 Diferencia estructural entre celulosa (superior) y quitina (inferior). (Romero-Serrano, A, Perira, J, 2020)	9
Figura 3 Ejemplificación de la transformación de quitina a quitosano (Romero-Serrano, A, Perira, J, 2020)	10
Figura 4 Fórmula química del PVA	11
Figura 5 Fórmula química del Mucílago de Nopal	13
Figura 6 Ejemplificación del proceso de electrohilado y del fenómeno "cono de Taylor"	14
Figura 7 Síntesis de Quitosano	18
Figura 8 Síntesis de PVA	19
Figura 9 Extracción del mucílago de nopal, con etanol como anti solvente.	20
Figura 10 Síntesis de mucílago de nopal, a partir de mucílago en polvo	21
Figura 11 Síntesis del polímero final, PVA-Mucílago-quitosano	22
Figura 12 Comparación de dos síntesis de quitosano, mucílago y PVA: con y sin Tritón	23
Figura 13 Carrito de la prueba Wolff-Wilborn adaptado y calibrado	25
Figura 14 Lápiz lijado para obtener una punta homogénea y concéntrica	26
Ilustración 15 Recorrido de la rayadura finalizado con un ángulo de incidencia de 45°	27
Figura 16 Visualización de rayaduras que no rompieron la membrana	27
Figura 17 Solución homogénea de PVA (6%), quitosano (.55%) y mucílago de nopal (3%)	28
Figura 18 Comparación entre electrohilado a alta humedad (izquierda) y a condiciones óptimas (derecha).	29
Figura 19 Comparación del espectro FTIR de la membrana M4 y M7	30
Figura 20 FTIR de la membrana M7	31
Figura 21 FTIR de la membrana M4	32
Figura 22 Micrografías analizadas con acercamiento de a) 1000x, b) 2500x y c) 5000x	34
Figura 23 Histograma de los diámetros de las nanofibras.	35
Figura 24 Morfología de la membrana analizada. En amarillo, impurezas encontradas; en rojo, bifurcaciones.	36
Figura 25 En morado, nanofibras con un diámetro menor a 100 nm	37
Figura 26 Gráfica comparativa de la actividad antimicrobiana según los tiempos de incubación de E. Col	38
Figura 27 Gráfica comparativa de la actividad antimicrobiana según los tiempos de incubación de S. aureus	39
Figura 28 Representación gráfica de la rayadura de 1 cm y las secciones tomadas para para obtener los datos de la gráfica.	41

<b>Figura 29 Comparación de los valores promedio de resistencia a la rayadura por sección en las tres muestras de PVA-Quitosano-Mucílago de nopal.</b>	<b>44</b>
<b>Figura 30 Ejemplificación del funcionamiento del FTIR</b>	<b>59</b>
<b>Figura 31 Componentes principales de un microscopio SEM. Recuperado de Inkson, B. J. (2016)</b>	<b>60</b>
<b>Figura 32 Ejemplificación de la prueba de rayadura</b>	<b>62</b>
<b>Figura 33 Lápices ordenados por dureza, siendo la familia “B” la que presenta menos dureza</b>	<b>64</b>

## ÍNDICE

<b>CAPÍTULO I: ANTECEDENTES</b> .....	2
1.1 PROBLEMÁTICA.....	2
1.1.1 HERIDAS .....	3
1.1.2 HERIDAS POR QUEMADURA.....	5
1.2 BIOMATERIALES.....	6
1.3 APÓSITOS.....	6
1.4 BIOMATERIALES EN LA NANOTECNOLOGÍA .....	8
1.5 QUITOSANO.....	9
1.5.1 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL QUITOSANO .....	10
1.6 ALCOHOL POLI VINÍLICO (PVA) .....	11
1.7 NOPAL.....	12
1.7.1 MUCÍLAGO DE NOPAL .....	12
1.8 ELECTROHILADO.....	14
<b>CAPÍTULO II: OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	17
2.1 HIPÓTESIS .....	17
2.2 OBJETIVO GENERAL.....	17
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
<b>CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL</b> .....	18
3.1 SOLUCIÓN DE QUITOSANO.....	18
3.2 SOLUCIÓN DE PVA.....	19
3.3 EXTRACCIÓN DE MUCÍLAGO DE NOPAL .....	19
3.4 SOLUCIÓN DE MUCÍLAGO DE NOPAL .....	21
3.5 SOLUCIÓN DE QUITOSANO-PVA-MUCÍLAGO.....	21
3.6 ELECTROHILADO.....	22
3.7 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA .....	23
3.7.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	24
3.7.2 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) .....	24

3.7.3 PRUEBA MICROBIANA.....	24
3.7.4 PRUEBA DE RAYADURA .....	25
<b>CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>28</b>
4.1 SOLUCIÓN Y ELECTROHILADO DEL POLÍMERO QUITOSANO-PVA-MUCÍLAGO DE NOPAL.....	28
4.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) .....	30
4.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM) .....	34
4.3 PRUEBA MICROBIANA.....	38
4.4 PRUEBA DE RAYADURA.....	41
<b>CAPÍTULO V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>45</b>
<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>46</b>
6.1 CONCLUSIONES .....	46
6.2 RECOMENDACIONES .....	47
<b>CAPÍTULO VII: BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXO I: TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.....</b>	<b>58</b>
A.1.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) ..	58
A.1.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	59
A.1.3 PRUEBA MICROBIANA .....	61
A.1.4 PRUEBA DE RAYADURA .....	61
<b>ANEXO II: VALORES EQUIVALENTES PRUEBA DE RAYADURA .....</b>	<b>63</b>

## CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

### 1.1 PROBLEMÁTICA

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) la cifra anual de muerte por quemaduras en el mundo es de aproximadamente 180 mil. En México, se tiene registro de que alrededor del 56% de quemaduras han ocurrido en adultos de entre 20 y 50 años, mientras que el 32% es en niños de entre 0 y 19 años. Además, en el segundo caso, la principal causa es por contacto con líquidos calientes en el hogar y ocurren con mayor frecuencia en niños de 4 años [53].

En cualquiera de los dos casos, si las quemaduras no son tratadas correctamente, pueden dejar cicatrices que, a su vez, provocan un daño en la identidad de la persona afectada. Según la clínica Mayo [45] las complicaciones causadas por lesiones de quemaduras incluyen, entre otras:

- Infecciones bacterianas (sepsis): Se refiere a la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo, lo que puede llevar a una respuesta inflamatoria generalizada del cuerpo. La sepsis es una afección grave que puede resultar de infecciones no controladas.
- Pérdida de líquidos (hipovolemia): Esto ocurre cuando una persona pierde una cantidad significativa de líquidos, como sangre o fluidos corporales, lo que puede llevar a una disminución peligrosa en el volumen sanguíneo. La hipovolemia puede tener diversas causas, como hemorragias o deshidratación.
- Crecimiento excesivo de tejido cicatrizal (queloides): Los queloides son un tipo de cicatriz que se forma después de una lesión en la piel, como una herida o una cirugía. En lugar de sanar de manera normal, los queloides crecen de manera excesiva y pueden sobresalir en la piel. Son una respuesta anormal del cuerpo al proceso de cicatrización.
- Cáncer de piel: En las zonas donde existe alguna cicatriz por quemadura, es probable desarrollar este tipo de cáncer, debido a la alteración celular que se sufre al estar expuesto a altas temperaturas.

Tratándose de quemaduras una de las mejores maneras para curarlas son los apósitos. Si bien anteriormente los apósitos se definían como un producto que aislaba una herida de factores y patógenos externos, los apósitos modernos buscan ir más allá del simple aislamiento de la herida de bacterias y elementos infecciosos que puedan iniciar una contaminación dentro del cuerpo.

Actualmente los apósitos están compuestos de biomateriales capaces de imitar algunas funciones de la matriz extracelular (MEC) de la piel.

Si bien los apósitos aún tienen como objetivo ser aplicados directamente sobre la herida, actuar como barrera y no depender de algún mecanismo de acción para poder actuar, los apósitos actuales tienen la cualidad de absorber el exudado y actuar como andamio para la regeneración celular.

Estas propiedades pueden ser mejoradas con el uso de funciones biológicas como agentes antimicrobianos o desbridantes [44]. Siguiendo con esta idea, es posible hacer apósitos que, en su estructura, contengan proteínas, polisacáridos, etc. Tomando esto en cuenta, junto con las complicaciones de las quemaduras, se busca desarrollar un apósito no adhesivo a base de mucílago de nopal (un polisacárido) que no solo estimule la regeneración celular, sino que también manifieste la propiedad antibacteriana presente en el mucílago de nopal.

Las propiedades analgésicas y antiinflamatorias presentes en el mucílago de nopal y en el quitosano, los convierte en candidatos ideales para la fabricación de una membrana que ayude al tratamiento de quemaduras [71].

Además, las investigaciones sobre membranas realizadas con electrohilado muestran que sus características como la uniformidad, flexibilidad y comportamiento mecánico las convierte en una mejor alternativa en comparación a las membranas obtenidas por otros métodos. Para la elaboración de la membrana en esta tesis, se extraerá mucílago de nopal, el cual se combinará con PVA y quitosano, para su posterior electrohilado. Esta combinación de materiales busca una manera eficiente e innovadora de tratar heridas ocasionadas por quemaduras mediante apósitos funcionales y biocompatibles.

### 1.1.1 HERIDAS

La herida se puede definir como la interrupción en la continuidad celular de la piel o de la mucosa generada por algún factor físico o químico. Esta alteración tiene como síntomas: dolor; inflamación, hemorragias; ruptura de bordes en la piel, entre otros. [49]

Las heridas pueden clasificarse según diversos aspectos, tales como su apariencia, el mecanismo de acción, si comprometen otras estructuras no cutáneas, la pérdida de sustancia, si penetran en alguna cavidad o compartimiento, y según su grado de contaminación. No obstante, el enfoque se centrará en el primer criterio, el cual se subdivide en 9 tipos de heridas [57], siendo la última de particular interés para esta investigación:

- 1) Contusa: Se produce por el impacto de un objeto obtuso. Este tipo de herida se identifica porque el tejido impactado presenta aplastamiento. Los bordes de la herida no son nítidos ni regulares, ya que el daño se extiende a los tejidos circundantes.
  - Ej. Un golpe con un martillo en la piel o un hematoma por una caída sobre una superficie dura.
- 2) Cortante con bordes netos: Herida causada por un objeto afilado, que atraviesa la piel de manera limpia. Los bordes de la herida son lisos y bien definidos.
  - Ej. Un con un cuchillo de cocina o una herida producida por un bisturí durante una cirugía.
- 3) Contuso-cortante: Es una herida que combina características de una herida contusa y una cortante. Se produce cuando un objeto obtuso y afilado causa un corte mientras aplasta los tejidos.
  - Ej.: Un machetazo, donde el impacto no solo corta la piel, sino que también aplasta los tejidos subyacentes, causando daño tanto superficial como profundo.
- 4) Punzante: Se refiere a una herida producida por un objeto afilado y delgado que perfora la piel y penetra en los tejidos. Generalmente, el daño puede ser mayor en los tejidos internos que en la piel superficial.
  - Ej. Una herida causada por una navaja. Estas heridas son peligrosas, ya que pueden afectar órganos internos.
- 5) Atrición: Esta herida ocurre cuando una parte del cuerpo es aplastada o comprimida de manera intensa, lo que destruye el tejido blando y, en ocasiones, los huesos. Puede haber daño muscular, fracturas y sangrado interno.
  - Ej. Un accidente de coche donde la pierna queda prensada entre dos piezas metálicas.
- 6) Avulsión: Es una herida que implica la pérdida de una parte del cuerpo, ya sea por arrancamiento o amputación.
  - Ej.: La pérdida de un dedo a causa de la mordida de un animal.
- 7) A colgajo: Esta herida se produce cuando un trozo de piel y tejido subyacente se separa del cuerpo, pero permanece unido por una pequeña porción.
  - Ej. Una mordida de algún animal que, en vez de arrancar un dedo, este quede aún conectado a la mano por una pequeña porción de piel.

- 8) Abrasiva o erosiva: Se caracteriza por la pérdida de la capa más superficial de la piel, la epidermis, sin afectar las capas profundas. Estas heridas suelen ser dolorosas debido a la exposición de las terminaciones nerviosas.
- Ej. La caída de una bicicleta en movimiento, que provoca una herida abrasiva en la rodilla de un niño
- 9) Herida por Quemadura: Son heridas producidas por calor, productos químicos, radiación o electricidad.
- Ej. Una quemadura en el dedo por contacto con el comal encendido.

### 1.1.2 HERIDAS POR QUEMADURA

Las heridas por quemaduras se pueden producir por productos químicos y/o agentes físicos y son lesiones tisulares con destrucción celular, lo que conlleva pérdida de líquidos, destrucción de vasos sanguíneos y formación de edemas. Las causas más comunes que generan estas heridas son por fuego, objetos o líquidos calientes, vapor, exposición prolongada a los rayos del sol, electricidad y sustancias químicas [28,31].

Estas lesiones, sin importar la causa, se dividen en 3 tipos [35]:

- Quemaduras de *primer grado*: Solo afectan la capa más externa de la piel y se caracterizan por enrojecimiento, dolor y sensibilidad al tacto.
- Quemaduras de *segundo grado*: Afectan tanto la capa superior como la inferior de la piel, lo que resulta en ampollas, dolor y enrojecimiento intenso.
- Quemaduras de *tercer grado*: Dañan todas las capas de la piel, incluidos los tejidos subyacentes, lo que produce una piel carbonizada, insensible al dolor y de color blanco o negro.

Para evitar complicaciones, se han desarrollado tratamientos específicos según el tipo de quemadura. En las quemaduras de primer grado, generalmente se recomienda lavar la zona con abundante agua, además del uso de cremas y ungüentos. En las quemaduras de segundo y tercer grado, aunque se usan pomadas o ungüentos para hidratar la piel, también son necesarios otros tratamientos, como medicamentos para prevenir infecciones y la aplicación de apósitos [31,54]. Ante estas necesidades, los biomateriales han cobrado relevancia al ofrecer apósitos biocompatibles y bioactivos que favorecen la regeneración celular.

## 1.2 BIOMATERIALES

Existen registros históricos que avalan el uso de biomateriales desde hace siglos. Un ejemplo es la ligadura de vasos sanguíneos en situaciones de hemorragia, utilizando cabellos y plantas con propiedades hemostáticas, esta técnica se ha documentado tanto en Egipto como en México [43]. Sin embargo, el término "*biomaterial*" es relativamente nuevo.

En 1987 se propuso por primera vez una definición formal de biomaterial, este concepto fue introducido por David F. Williams, quien lo definió como un material presente en los dispositivos médicos que, a pesar de estar destinado a interactuar con sistemas biológicos, tenía que ser inerte. Aunque esta definición ha sido ampliamente citada, ha evolucionado con el tiempo, y no fue hasta 1991, en la "*Consensus Conference*" de Chester, Reino Unido donde se definió de manera contundente lo que es un biomaterial [41]:

*"Cualquier sustancia o combinación de sustancias, distinta a los fármacos, de origen sintético o natural, que pueda ser utilizada por cualquier periodo de tiempo para reemplazar o mejorar parcial o totalmente cualquier tejido, órgano o función del cuerpo, con el fin de mantener o mejorar la calidad de vida del individuo."*

Tomando en cuenta que la piel es un órgano, los apósitos modernos entran en la categoría de biomateriales, ya que, dependiendo del enfoque, pueden ser reabsorbidos por el cuerpo o retirados tras un cierto tiempo. En todos los casos, se busca mantener o incluso mejorar la calidad de vida del paciente tras una herida por quemadura, esto a partir de una regeneración celular más rápida o evitando complicaciones como infecciones [51].

## 1.3 APÓSITOS

Un apósito se puede definir como un producto de cuidado de la salud que cubre, protege y aísla una herida (como las causadas por quemaduras, úlceras, etc.) de factores y patógenos externos potencialmente perjudiciales para el organismo. Además, actúa activamente en la cicatrización de la herida y absorbe exudados de manera pasiva. Si bien todos los apósitos cumplen estas funciones, se tienen que tomar en cuenta los síntomas de la herida a tratar para poder seleccionar el apósito adecuado. Algunos de estos síntomas a considerar son el dolor, la cantidad de exudado, la posición anatómica donde se encuentre la herida, la presencia de colonización microbiana, entre otros factores [26].

La Figura 1, muestra que los apósitos diseñados para tratar heridas por úlceras son específicos y no se pueden reemplazar por apósitos hechos para tratar otras heridas, como las ocasionadas por quemaduras.



Figura 1 Apósitos pioneros llamados "Hidrocoloides", recuperado de B. Fornes (2008)

Debido a su utilidad, los apósitos han sido objeto de estudio y desarrollo durante varios años, lo que ha dado como resultado una gran variedad de estos, enfocados en distintas aplicaciones como un mejor control antimicrobiano o un mejor andamio celular. Un ejemplo de esto son los apósitos de plata, que poseen características antimicrobianas de amplio espectro. A pesar de estar diseñados para una mejor actividad antimicrobiana, si el paciente no presenta signos de infección o es sensible a la plata, no será candidato para el uso de este apósito. Además, debido a la presencia de un metal dentro de su estructura, no son recomendables en mujeres embarazadas o en lactancia [47]. En otras palabras, tienen limitaciones y solo deben usarse en casos correctivos y no preventivos.

También se pueden encontrar apósitos de origen animal, como el elaborado de piel del pescado *Oreochromis niloticus*, comúnmente conocido como tilapia, que ha mostrado resultados prometedores debido al alto nivel de colágeno presente en la piel del pescado [6,8]. Sus propiedades mecánicas y su alta biocompatibilidad son idóneas para el tratamiento de quemaduras de segundo y tercer grado. Sin embargo, el hecho de que sea un apósito de origen animal implica que solo se puede usar en ambientes muy controlados, como hospitales, para asegurar la inocuidad del producto. Además, el proceso necesario para garantizar que tenga las propiedades deseadas eleva el costo de este apósito.

Con el avance de la nanotecnología, se han desarrollado apósitos que buscan poseer propiedades cruciales para minimizar las dificultades del tratamiento, estas características son [69]:

1. Permitir ser usado sin el riesgo de toxicidad para el organismo.
2. Absorción de exudado y componentes potencialmente tóxicos de las heridas superficiales.
3. Mantener un nivel de humedad idóneo sobre la herida.
4. Permitir el intercambio de gases entre la herida y el ambiente.
5. Mantener una temperatura idónea en la herida.
6. Tener una actividad antimicrobiana para proteger la herida de la penetración de bacterias y, en algunos casos, hongos.
7. Promover la regeneración celular y estimular el crecimiento de tejido nuevo.
8. Poder ser retirado, si es el caso, del organismo sin generar trauma.

Dentro de estos apósitos se encuentran las mallas no tejidas, que ayudan a crear un microambiente adecuado para la proliferación celular, además de eliminar el exudado de la herida, retener humedad y lograr hemostasia [44].

La creación de estos apósitos se realiza a través de un proceso denominado electrohilado. Este método de fabricación permite la producción de fibras poliméricas con diámetros variables de entre 3 nm y 5  $\mu\text{m}$  [30]. En este proceso, se introduce un polímero líquido en una jeringa, que luego es estirado para formar las fibras mediante la aplicación de un campo eléctrico entre la aguja metálica de la jeringa y un colector conductor de metal. Las fibras resultantes, denominadas nanofibras, exhiben propiedades únicas, como una alta superficie específica y posibles propiedades antimicrobianas, entre otras características notables. Estas cualidades las hacen adecuadas para su utilización en aplicaciones de apósitos médicos.

#### *1.4 BIOMATERIALES EN LA NANOTECNOLOGÍA*

El campo de estudio de la nanotecnología comprende los fenómenos y la manipulación a escala nanométrica ( $1 \times 10^{-9}$  m). Actualmente, se han desarrollado tecnologías de interés gracias a la manipulación nanométrica, como las nanopartículas, nanoencapsulados, nanofibras, entre otras. Estas estructuras pueden ser de gran ayuda al incorporarlas en biomateriales ya que están diseñados para interactuar con organismos biológicos que tienen una escala nanométrica, lo que les permite ser potenciados por la nanotecnología y utilizarse para diagnosticar, tratar o incluso prevenir enfermedades [38,60].

Como se ha mencionado anteriormente, el hecho de que un biomaterial pueda ser la combinación de dos sustancias hace que la influencia de la nanotecnología sea más evidente ya que, a través de

diversos procesos, como el electrohilado, se pueden combinar sustancias que normalmente no serían aptas para su uso como tratamiento. Sin embargo, gracias a la intervención de la nanotecnología, se pueden utilizar nanoestructuras para retener moléculas, partículas o fármacos a fin de crear biomateriales para diversas aplicaciones [46].

El uso de electrohilado para crear películas a base de polímeros naturales como lo es el quitosano, permite la incorporación eficiente de nanoestructuras funcionales. Esta técnica hace posible aprovechar las propiedades individuales de los polímeros y, en conjunto, obtener apósitos con una adecuada resistencia mecánica, actividad antimicrobiana y potencial para favorecer la regeneración celular [29,66].

### 1.5 QUITOSANO

Si bien el quitosano es una biomolécula con amplias aplicaciones en la medicina y nanotecnología, su obtención requiere procedimientos precisos puesto que no es una molécula que por sí sola se encuentre en la biomasa. Para obtenerlo es necesaria su extracción de la quitina, la segunda biomolécula más abundante en el planeta después de la celulosa. La quitina se localiza en las paredes celulares de hongos, en el caparazón de crustáceos, en el exoesqueleto de insectos y en las rádulas de moluscos. Al ser la segunda más común en el mundo, tiene varias similitudes con la celulosa. Sin embargo, su principal diferencia se encuentra en el carbono C2: grupos acetamidos que remplazan los grupos -OH como se puede observar en la Figura 2 [7,20,64].

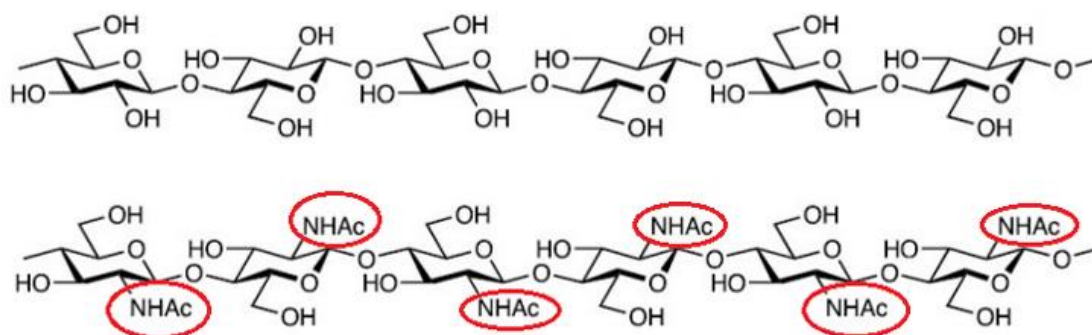


Figura 2 Diferencia estructural entre celulosa (superior) y quitina (inferior). (Romero-Serrano, A, Perira, J, 2020)

El proceso de extracción del quitosano comienza con la recolección de la biomasa, que se procesa para obtener la quitina. De esta, se extrae el quitosano mediante la eliminación de los restos de acetato de la quitina mediante hidrólisis de amida en condiciones alcalinas o por hidrólisis enzimática en presencia de quitina desacetilada. Este proceso consiste en que al menos el 60% de los grupos amidos se conviertan a grupos aminos ( $\text{-NH}_2$ ) dando como resultado la biomolécula: poli  $[\beta\text{-(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranos}]$ , cuya estructura se muestra en la Figura 3. Debido a este tipo de arreglo, el quitosano muestra una estructura cristalina rígida a través de enlaces de hidrogeno inter e intramoleculares [56].

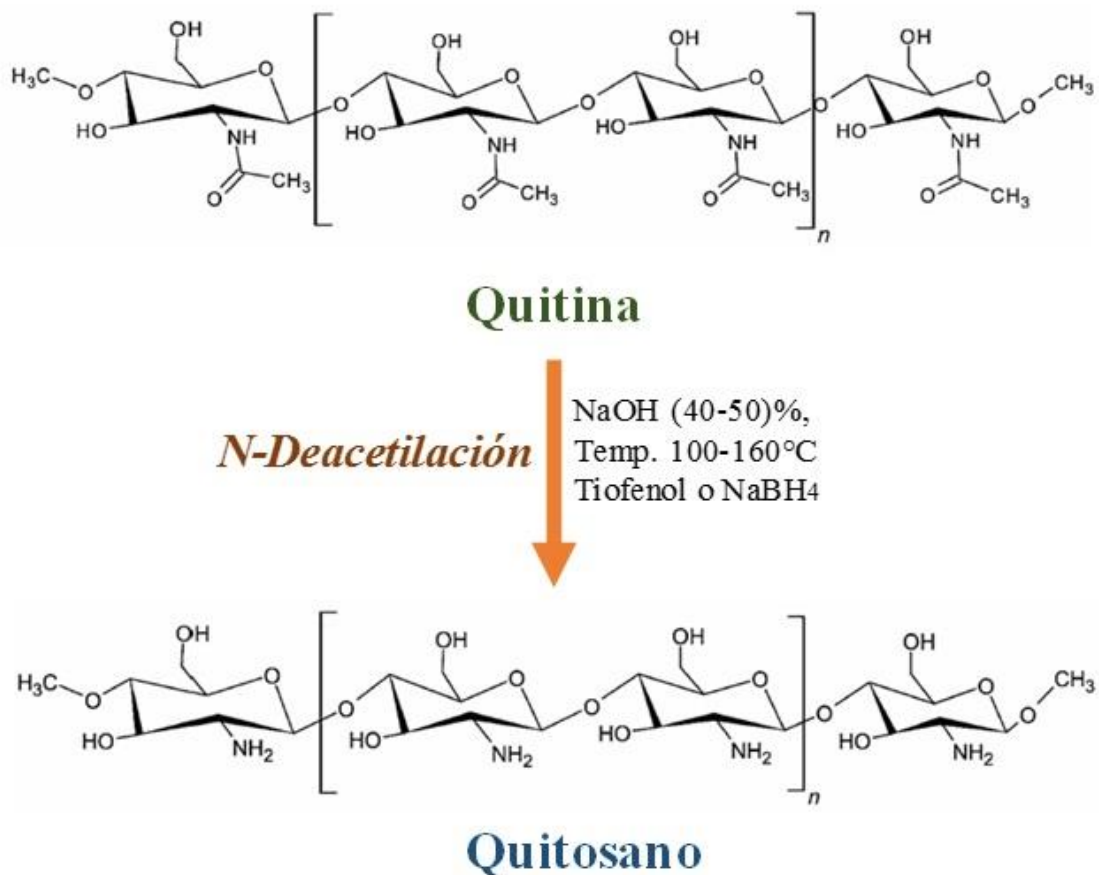


Figura 3 Ejemplificación de la transformación de quitina a quitosano (Romero-Serrano, A, Perira, J, 2020)

### 1.5.1 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL QUITOSANO

El quitosano es una biomolécula con propiedades bactericidas y bacteriostáticas además de propiedades antifúngicas. Estas características se conocen desde 1980 y desde entonces, diversos

artículos han documentado entre dos y tres mecanismos generales que explican el porqué de estas propiedades [11]. Sin embargo, los que más resaltan son:

- 1) Primer mecanismo: Todos concuerdan en que el quitosano, al tener una carga neta positiva, puede interactuar con las cargas negativas en la superficie de las células bacterianas. Como consecuencia, altera la permeabilidad, la cual es una característica fundamental, puesto que sin ella el intercambio de solventes y solutos entre el interior y el exterior de la célula bacteriana se imposibilita, lo que ocasiona una lisis bacteriana. No obstante, este mecanismo depende del microorganismo afectado, funcionando mejor en las células bacterianas Gram-negativas que en las Gram-positivas, ya que, en las primeras, se presenta una doble membrana celular ocasionando que el cambio de morfología al interactuar con el quitosano sea más notable y este se pueda adherir mejor a su superficie [19]
- 2) Segundo mecanismo: Estudios realizados por microscopía de barrido láser confocal confirman que algunos oligómeros del quitosano pueden atravesar las membranas de las células bacterianas, ocasionando una unión entre el quitosano y el ADN celular, lo que da lugar a una inhibición del ARNm y la síntesis de proteínas [32]. Sin embargo, pese a las evidencias, diversos autores sostienen que es poco probable que este mecanismo se lleve a cabo, ya que el quitosano actúa más como un disruptor de la membrana celular bacteriana y no tanto como un penetrante de la membrana plasmática [50].

## 1.6 ALCOHOL POLI VINÍLICO (PVA)

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero sintético extraído del acetato de polivinilo a través de hidrólisis, proceso ocurrido en presencia de ácidos. En la Figura 4 se muestra la estructura química del PVA, en ella se observa el grupo funcional hidroxilo (-OH) unido a la cadena carbonada principal.

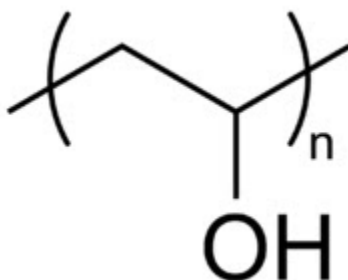


Figura 4 Fórmula química del PVA

Este polímero ha sido objeto de estudio por sus características hidrofílicas (especialmente alrededor de 90° C), biocompatibles y su estabilidad ante cambios de temperatura y pH. Además, destaca por ser no tóxico, biocompatible y su biodegradabilidad. Gracias a estas características, se han fabricado diversos productos con el fin de no contaminar el medio ambiente, como bolsas o textiles. Sin embargo, en el área de nanocompósitos el PVA es utilizado debido a sus excelentes propiedades mecánicas, resistencia al corte y su facilidad para formar películas mediante electrohilado. Se ha observado que las películas formadas por PVA tienen resistencia a grasas y aceites, además de ser una excelente barrera al oxígeno y los aromas. Estas propiedades favorecen el uso de otros polímeros, como el quitosano, ya que facilitan su electrohilado y manejo como películas. [22,74]

## 1.7 NOPAL

El nopal que tiene por nombre científico *Opuntia ficus-indica*, es una planta nativa de México cuya distribución abarca gran parte del territorio nacional, pues es altamente resistente a varios tipos de clima y se adapta fácilmente a su entorno. El nopal es una planta arborescente que puede llegar a medir hasta 5 metros de altura. Presenta un tallo leñoso y, en lugar de hojas, tiene cladodios que miden entre 30 y 60 cm de largo, 20 a 40 cm de ancho y aproximadamente de 1.9 a 2.8 cm de grosor. En estos cladodios se retiene agua y otros nutrientes gracias al mucílago de nopal y otras sustancias. [36,72]

A pesar de que mayor uso es para el consumo, se tienen registros que en la medicina tradicional mexicana se ha utilizado para tratar heridas por quemaduras, así como ungüento hidratante para la piel.

### 1.7.1 MUCÍLAGO DE NOPAL

El mucílago de nopal es una sustancia hidrocoloidal y heteropolisacárido que se encuentra dentro del cladodio del nopal. La literatura afirma que el mucílago está compuesto principalmente de arabinosa, xilosa, ácido galacturónico y ramnosa. Posee propiedades hidratantes, antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas, prebióticas y de regeneración celular favorables para diversas aplicaciones como la aplicada en la cavidad oral, donde se ha demostrado que el mucílago de nopal, aplicado de varias maneras (Espray, pasta dentífrica, entre otros), induce la proliferación celular. La cavidad bucal está formada por distintos tipos de tejido, incluyendo el epitelial, que recubre la mucosa oral [5,23,72]. Por lo tanto, se puede plantear que la aplicación del mucílago de nopal en heridas por

quemadura podría favorecer la regeneración de tejido epitelial, así como contribuir en la cicatrización. Además, estudios recientes han apuntado a que el mucílago de nopal posee propiedades fotoprotectoras frente a la radiación ultravioleta (UV) y en ciertos contextos, puede inhibir la producción de melanina [18].

No se tiene registrado efectos tóxicos para el cuerpo humano en condiciones normales; sin embargo, su consumo puede generar algunos efectos secundarios como flatulencias o frecuencia de heces [4].

El mucílago de nopal actúa como un prebiótico capaz de fomentar el crecimiento de lactobacilos. Sin embargo, también posee propiedades bactericidas, ya que disminuye el conteo de bacterias nocivas para el cuerpo humano como lo son los enterococos, enterobacterias, estafilococos y clostridios [39].

El nopal ha sido utilizado desde tiempos ancestrales en la medicina tradicional mexicana como tratamiento para diversas afecciones. Gracias a esto, ha sido objetivo de diversos estudios y, como consecuencia, se ha registrado que presenta efectos antioxidantes, propiedades analgésicas que son muy parecidas al ácido acetilsalicílico (aspirina), acción antiinflamatoria gracias al compuesto  $\beta$ -sitosterol. Además, el nopal presenta efectos diuréticos, propiedades antiulcerogénicas, entre otros beneficios [18,58,61].

Si bien el nopal en su conjunto presenta estas propiedades, muchas de ellas se deben específicamente al mucílago de nopal, que se puede considerar como un compuesto nutracéutico, ya que comparte efectos antidiabéticos, antihipertensivos e hipocolesterolémicos, además de propiedades antioxidantes, antimicrobianos y cicatrizantes [39,68].

La combinación entre diversos biopolímeros y mucílago de nopal ha sido previamente explorada para crear recubrimientos comestibles [1]. Esta evidencia sugiere que, mediante técnicas como el electrohilado, se pueden aprovechar las propiedades biomédicas del mucílago de nopal al combinarlo con otros biopolímeros en estructuras nanofibras con alta superficie activa.

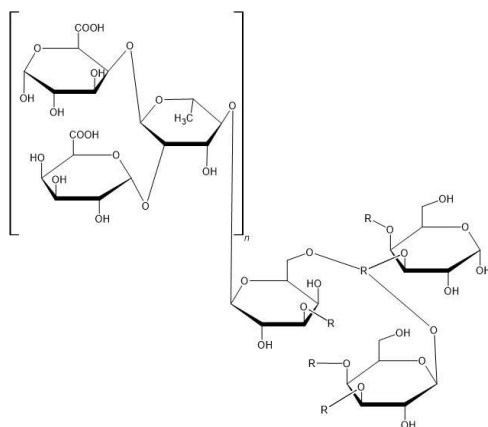


Figura 5 Fórmula química del Mucílago de Nopal, donde R es Xilosa o Arabinosa

## 1.8 ELECTROHILADO

El electrohilado se conoce desde hace más de 100 años, fue documentado por primera vez por Rayleigh en 1897. Durante todo este tiempo, la técnica se ha ido perfeccionando para mejorar el control, modelado, forma y análisis de las fibras, obteniendo así un producto final de mayor calidad.

Este proceso se basa en tener dos polos, uno positivo y uno negativo que se posicionan a una cierta distancia, provocando así una diferencia de potencial. Con la ayuda de una bomba inyectora, se consigue que el polímero se acumule en la punta del capilar, donde, gracias a la tensión superficial del polímero este se mantiene en su lugar. Sin embargo, la diferencia de potencial generada por una fuente de alto voltaje supera esta tensión superficial, dando lugar al efecto conocido como *cono de Taylor*. En este efecto, ejemplificado en la Figura 5, la gota de polímero se deforma y estira en forma de cono, lo que provoca la evaporación del solvente y la formación de nanofibras sólidas que se depositan en un colector metálico, generalmente de aluminio [9,24,59,62].

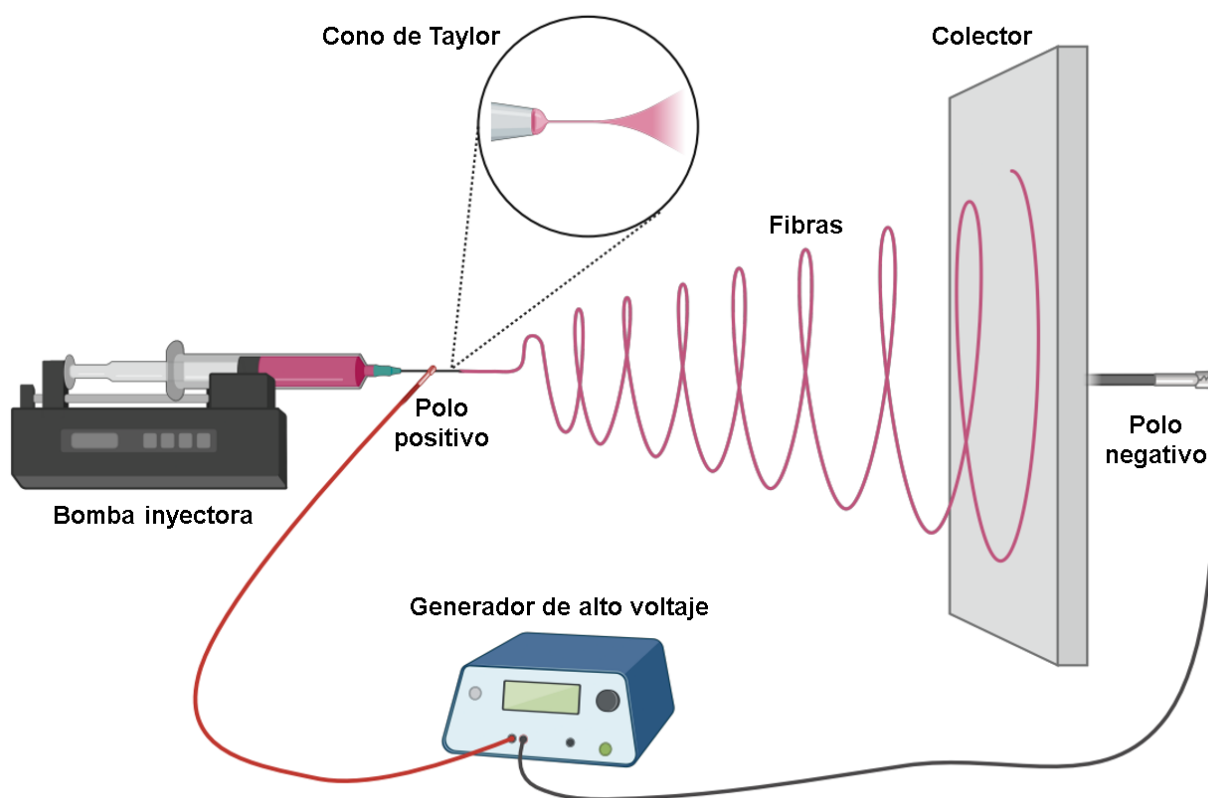


Figura 6 Ejemplificación del proceso de electrohilado y del fenómeno "cono de Taylor"

A pesar de lo anterior, para que el cono de Taylor pueda formarse, no es suficiente el solo considerar únicamente el gradiente de potencial. Hay que tomar en cuenta distintos parámetros como se detalla a continuación [9,10,29,62].

➤ Parámetros en la solución:

Al preparar la solución a electrohilar, se tiene que conocer de antemano la concentración que se desea tener, ya que esto da pie a las propiedades fisicoquímicas tales como la viscosidad, la conductividad y su tensión superficial. En el primer caso, a mayor viscosidad, mayor será el enmarañamiento de las fibras en la membrana final. Además, con una viscosidad adecuada se permite el flujo constante al capilar. En cuanto a la tensión superficial del reactivo, es una de las características que más se relaciona al cono de Taylor, ya que es la fuerza en la capa externa que se opone a la penetración o a la separación, formando así la gota en el capilar. Si esta se rompe abruptamente, generará gotas diminutas en lugar de nanofibras. En ocasiones, se necesita incorporar un surfactante capaz de bajar la viscosidad junto a la tensión superficial del polímero, haciendo más fácil el flujo al capilar y la formación del cono de Taylor con un gradiente de potencial menor al requerido sin la presencia del surfactante. La conductividad del polímero es importante en el transporte de cargas: entre mayor conductor sea se conseguirán fibras más homogéneas y con una mejor morfología.

➤ Parámetros en el equipo:

Existen tres parámetros que se tienen que tomar en cuenta al momento de usar el equipo de electrohilado. El primero es el voltaje, ya que con un voltaje bajo no se rompe la tensión superficial y con un voltaje demasiado alto puede causar arcos de energía y el rompimiento abrupto de la tensión superficial, evitando la formación del cono de Taylor. En segundo lugar, está la distancia entre el capilar y el colector; a distancia influye en el campo generado, a menor distancia, mayor será la fuerza del campo eléctrico y viceversa. Al igual que en el primer caso, puede generar arcos eléctricos y evitar la formación del cono de Taylor. Finalmente, tenemos al ritmo de bombeo, dado que, si el ritmo de acumulación en el capilar es demasiado bajo, no se acumulará suficiente polímero para formar el cono de Taylor. Por otro lado, si el ritmo es demasiado rápido, se generarán gotas de polímero grandes que serán incapaces de romperse generando así imperfecciones en el producto final.

➤ Parámetros ambientales:

La La humedad juega un papel muy importante al momento de electrohilar, ya que, a mayor humedad en el aire, menor será el efecto del campo electromagnético generado sobre la tensión superficial, Casper y col. demostraron la formación de poros circulares en la superficie de las fibras al haber una humedad elevada. La temperatura también influye en el producto final del electrohilado; según Mit-Uppatham entre mayor temperatura menor viscosidad y, por ende, menor diámetro en las nanofibras.

## CAPÍTULO II: OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1 HIPÓTESIS

Mediante el método de electrohilado se puede generar una membrana de nanofibras compuestas de mucílago de nopal, PVA y quitosano con la resistencia mecánica, propiedades antimicrobianas y biocompatibilidad adecuadas para su aplicación como apósitos que puedan aprovechar las características del mucílago de nopal y regenerar tejido epitelial dañado por quemaduras.

### 2.2 OBJETIVO GENERAL

- Desarrollar membranas de nanofibras mediante electrohilado compuestas de quitosano, PVA y mucílago de nopal, con propiedades antimicrobianas y capacidad de regeneración de tejido epitelial para su posible aplicación como apósitos en heridas ocasionadas por quemaduras.

### 2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extraer mucílago de la planta *Opuntia ficus-indica* utilizando la metodología de Domínguez (2011) modificada con etanol como solvente.
- Elaborar membranas mediante electrohilado de mucílago de nopal, PVA y quitosano.
- Evaluar las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las membranas elaboradas con quitosano, PVA y mucílago de nopal, mediante análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y ensayos de rayado.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de las membranas elaboradas con quitosano, PVA y mucílago de nopal, mediante cultivos de bacterias Gram positivas (*S. aureus*) y Gram negativas (*E. coli*).

## CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 3.1 SOLUCIÓN DE QUITOSANO

Se sintetizaron dos muestras a partir de quitosano de medio peso molecular (CAS:9012-76-4) de la marca Sigma-Aldrich, con un grado de desacetilación 75-85 % y peso molecular 190-310 kDa. En ambas muestras se utilizó como solvente ácido acético al 70% (v/v). La concentración deseada de este ácido se obtuvo diluyendo ácido acético glaciar (CAS: 64-19-7) de la marca J.T. Bakerd de 99.8% de pureza en agua destilada.

Para la primera solución de quitosano, se calculó la masa necesaria de quitosano para obtener una solución al 1% (p/v); para la segunda disolución igualmente se calculó la masa necesaria pero esta vez para obtener una concentración del 1.66% (p/v).

En ambos casos, se utilizó el mismo método de síntesis: a través de agitación magnética se homogeneizó la muestra a temperatura ambiente por 14 horas  $\pm$  2 horas. Este procedimiento se ilustra en la Figura 6.



Figura 7 Síntesis de Quitosano

### 3.2 SOLUCIÓN DE PVA

Se calculó la masa necesaria de Alcohol de polivinilo (PVA) (CAS: 9002-89-5) de la marca Sigma-Aldrich para conseguir una solución al 18% (p/v) en agua destilada.

Para la solución, se utilizó una parrilla de laboratorio la cual ayudó a calentar el agua destilada a 90°C para facilitar la disolución del PVA. La solución se homogeneizó mediante agitación magnética durante 3 horas, como se muestra en la Figura 7. Finalmente, se dejó reposar hasta alcanzar una temperatura menor a 55 °C, evitando así la desnaturalización del mucílago de nopal al mezclarse para la preparación del reactivo final.

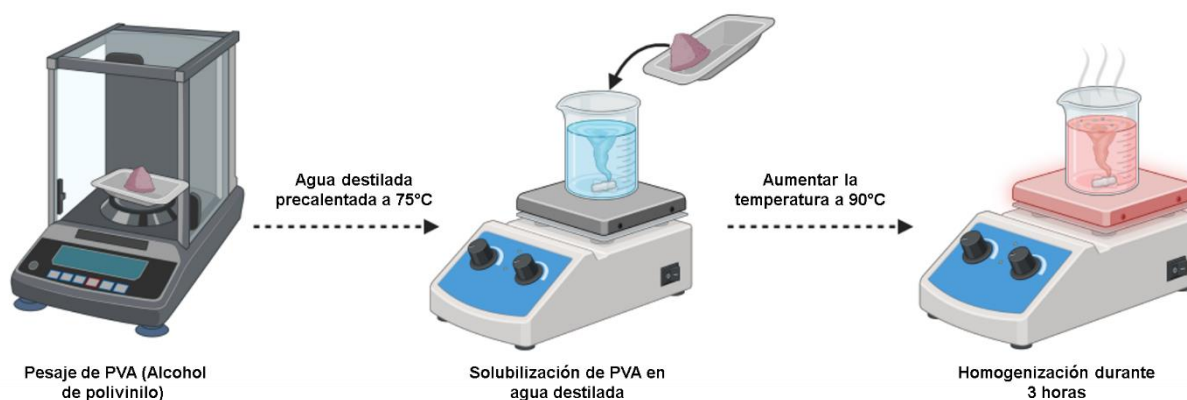


Figura 8 Síntesis de PVA

### 3.3 EXTRACCIÓN DE MUCÍLAGO DE NOPAL

En función de la metodología referenciada en diversas fuentes, se adaptó un protocolo de extracción del mucílago de nopal conforme a las necesidades y capacidades del presente estudio [21,27,33, 37,50,70]. Como se muestra en la Figura 8, para llevar a cabo la extracción del mucílago de la planta *Opuntia ficus-indica*, los cladodios se recolectan por la mañana y se pesan inmediatamente, en su estado más fresco. Utilizando un cuchillo previamente lavado y desinfectado con etanol al 70%, se eliminan las espinas y se realiza un lavado con abundante agua y jabón. Al finalizar, se pasa un paño limpio impregnado con etanol al 70% para asegurar la inocuidad del producto.

Una vez preparados, los cladodios se dividen longitudinalmente para facilitar el acceso a la baba del nopal, que contiene la mayor concentración de mucílago. Las muestras vegetales resultantes se cortan en trozos de aproximadamente 2 cm x 2 cm y se someten a maceración en agua destilada

durante 24 horas a  $20^{\circ}\text{C} \pm 6^{\circ}\text{C}$ , en una proporción de 1:2 (peso/volumen). Pasadas las 24 horas, se filtran los residuos sólidos del sobrenadante rico en mucílago utilizando una tela de ángel. A continuación, se realiza una centrifugación a 5000 revoluciones por minuto durante 5 minutos para separar los tejidos vegetales que no fueron eliminados con la tela. Luego, se somete la solución a un baño maría a una temperatura controlada entre  $75^{\circ}\text{C}$  y  $80^{\circ}\text{C}$  durante  $18 \pm 4$  horas, con el fin de reducir el contenido de agua destilada y precipitar algunos residuos presentes en la baba del nopal. Este proceso permite obtener una solución acuosa más concentrada y provoca la precipitación de minerales.

Posteriormente, se deja enfriar y se realiza una segunda filtración utilizando papel filtro y una bomba de vacío, eliminando así los minerales del sobrenadante y obteniendo una solución sin impurezas visibles.

Después de la segunda filtración, se agrega el solvente (alcohol etílico al 99.5%) para precipitar el mucílago y, finalmente, proceder al secado en un horno a  $45^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. El mucílago de *Opuntia ficus-indica* se muele hasta obtener un polvo.

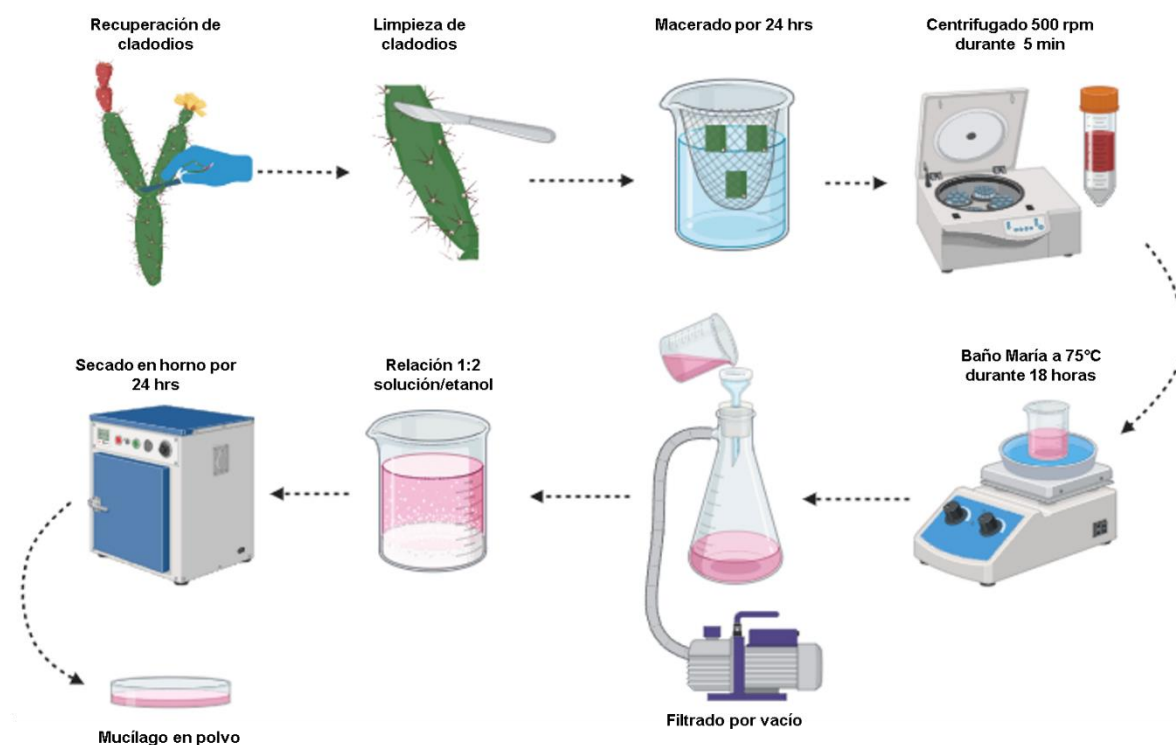


Figura 9 Extracción del mucílago de nopal, con etanol como anti solvente.

### 3.4 SOLUCIÓN DE MUCÍLAGO DE NOPAL

Para la preparación de la solución final, fue necesario elaborar una disolución de mucílago de nopal al 9% (p/V) en agua destilada; este proceso se ilustra en la Figura 9. Como primer paso, se calculó la masa necesaria de mucílago de nopal en polvo que se consiguió a partir de la extracción.

Para la solución, se utilizó una parrilla de laboratorio la cual ayudó a calentar el agua destilada a 45°C para facilitar la disolución del mucílago de nopal. La solución se homogenizó mediante agitación magnética durante dos horas.

El mucílago de nopal, es una sustancia hidrofílica cuya función principal en el nopal es la de retener agua y regular la humedad. Al mezclarse en agua destilada, tiene una naturaleza coloidal por lo que en reposo prolongado tiende a precipitarse. Como consecuencia de ello, se necesita mezclar el mucílago con las soluciones de quitosano y PVA lo más rápido posible.

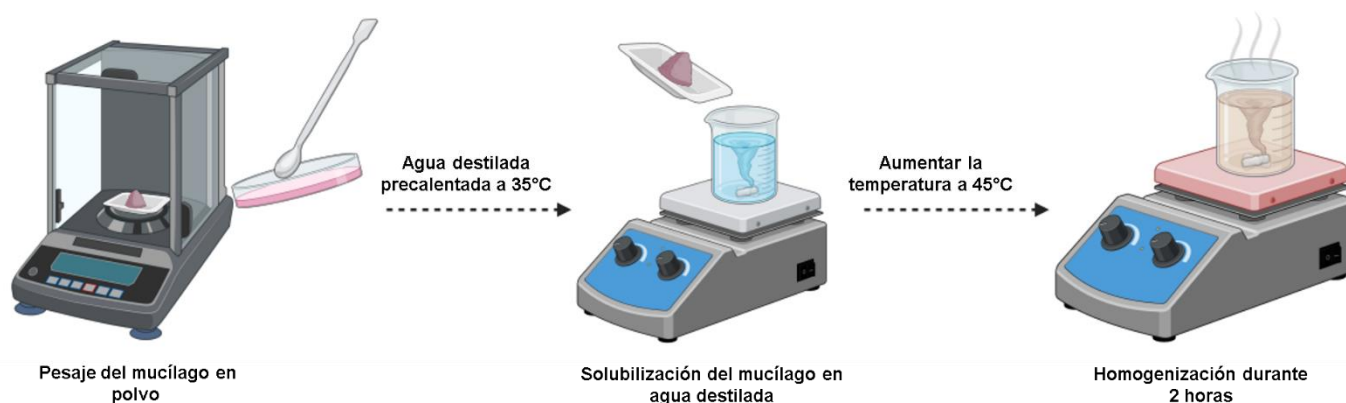


Figura 10 Síntesis de mucílago de nopal, a partir de mucílago en polvo

### 3.5 SOLUCIÓN DE QUITOSANO-PVA-MUCÍLAGO

A partir de las soluciones sintetizadas, se extrajeron alícuotas de igual volumen utilizando jeringas de 5 ml para formar dos soluciones homogéneas con las concentraciones de: [6%, .33%, 3%] y [6%, .55%, 3%], donde los valores, de izquierda a derecha, corresponden a PVA, quitosano y mucílago.

Para ambas muestras, se siguió la metodología que se muestra en la Figura 10:

La muestra de PVA, una vez enfriada a una temperatura de 55°C, se transfirió el volumen deseado a un vaso de precipitado mediante una jeringa de 5 ml. Posteriormente, la solución se mantuvo

agitación magnética constante y manteniendo la temperatura de 55°C, todo esto gracias a una parrilla de laboratorio. En el mismo vaso, se añadió el mismo volumen de mucílago de nopal en suspensión y casi inmediatamente se incorporó el mismo volumen de quitosano para obtener el polímero final que se llevaría a electrohilar, este polímero final se homogenizó mediante agitación magnética por 20 minutos  $\pm$  5 minutos.

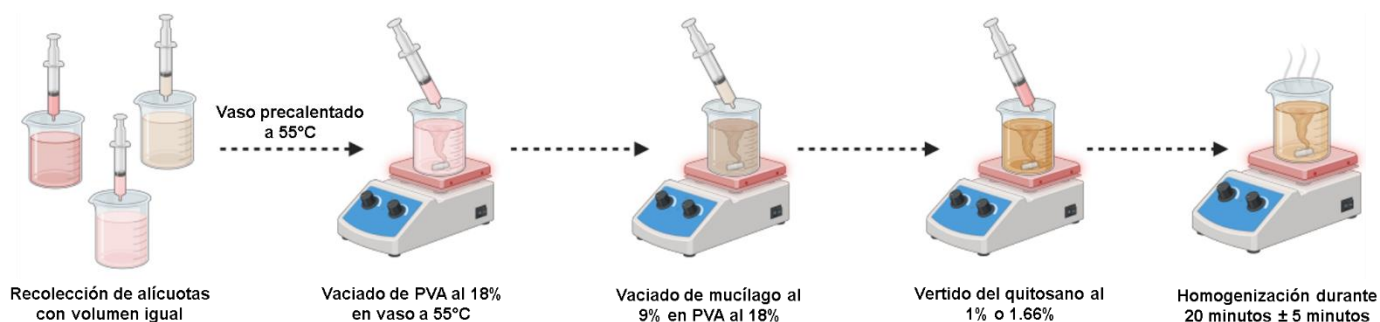


Figura 11 Síntesis del polímero final, PVA-Mucílago-quitosano

### 3.6 ELECTROHILADO

Para obtener las membranas finales y analizar sus propiedades fisicoquímicas, fue necesario que la solución final de PVA-Mucílago-Quitosano pasara por diversas etapas experimentales. Se consideraron las variables controlables del equipo, así como las variables no controlables del ambiente, las cuales se documentaron a fin de poder replicar los resultados. Se tomó en cuenta la literatura para definir parámetros iniciales y poder ajustarlos hasta conseguir una membrana homogénea y sin imperfecciones. También se evaluó la adición de un surfactante a la muestra final para mejorar su electrohilado, estrategia que no resultó favorable.

Para el proceso de optimización, entre los criterios de calidad considerados estuvieron la ausencia de nanopartículas no deseadas (*beading*), la posibilidad de trabajar con un voltaje inferior a 30 kilovoltios y que no fuera necesaria la intervención de un surfactante. Esto último debido a que la adición de Tritón X-100 como surfactante provocaba una deshomogeneización significativa de la muestra, como se observa en la Figura 11.



Figura 12 Comparación de dos síntesis de quitosano, mucílago y PVA: con y sin Tritón

Los mejores resultados se obtuvieron al trabajar con un voltaje de 27 kilovoltios, un flujo de bombeo de 0.6 ml/h y con una distancia entre el capilar y el colector de 12 cm. Con estos parámetros, la viscosidad de la muestra no presentó un impedimento para generar nanofibras uniformes; además, el cono de Taylor se formó de manera correcta y no hubo presencia de arcos eléctricos.

Cabe destacar que la fase de electrohilado coincidió con la temporada de lluvias, lo que dificultó la obtención de resultados óptimos. La humedad relativa registrada oscilaba entre un 27% y un 43%. A pesar de esto, el electrohilado final resultó satisfactorio, ya que las membranas no mostraron formación de poros circulares en la superficie. En cuanto a la temperatura, se procuró mantenerla constante, electrohilando diariamente a la misma hora. La temperatura más alta registrada fue de 35°C y la mínima fue de 16°C. Sin embargo, la viscosidad no sufrió cambios notables a esas temperaturas debido a la naturaleza hidrocoloidal del mucílago y a la función de soporte del quitosano con el PVA.

### 3.7 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

La caracterización fisicoquímica es fundamental para evaluar el cumplimiento de la hipótesis y verificar si se alcanzaron los objetivos. A partir de los resultados obtenidos, se puede hacer un análisis cuantitativo y una interpretación para compararlos con estudios previos sobre membranas similares obteniendo así conclusiones precisas y certeras.

### 3.7.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Para confirmar que la membrana obtenida no estuviera contaminada y contenía las moléculas de interés (mucílago de nopal, quitosano y PVA), se realizó un análisis en colaboración con la Universidad Autónoma de México (UNAM), campus Juriquilla, Querétaro. La membrana fue examinada con un espectrómetro Perkin Elmer GX (modelo Spectrum One), en el rango de ondas 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando la técnica de reflectancia total atenuada (ATR) con punta de diamante, 34 barridos, 4  $\text{cm}^{-1}$  de resolución.

### 3.7.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Con la ayuda de un microscopio Hitachi UHR FE-SEM SU8200 Series, se analizaron las membranas para obtener su caracterización morfológica y asegurar que estaban hechas de nanofibras. Se utilizó un voltaje de 1 kV y aumentos de 1000,2500,5000,10000,20000, 25000 y 60000 X.

Para observar las muestras con SEM, fue necesario preparar las muestras sobre una tira de carbón y recubrirlas con una película de oro. Para obtener el diámetro de las fibras, fue necesario calibrar el programa ImageJ utilizando referencias de medida conocidas dentro de las imágenes generadas. Finalmente, como parte del muestreo, se midieron 330 fibras para generar un histograma.

### 3.7.3 PRUEBA MICROBIANA

La evaluación de la actividad antimicrobiana de las membranas obtenidas se llevó a cabo siguiendo la norma ASTM E2149-Actividad antimicrobiana de antimicrobianos inmovilizados en superficies irregulares. No obstante, se tuvieron que realizar algunas modificaciones, como el que se utilizara una bacteria Gram-positiva (*S. aureus*) y una Gram-negativa (*E. coli*) [3,63].

Se realizó un cultivo Müller Hilton con las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, el cual se incubó por 18 horas a 37 °C. Posteriormente, se estandarizó la concentración bacteriana a  $1 \times 10^5$ .

Se recolectaron películas de 1  $\text{cm}^2$  de las membranas MB (6%,.55%,0%), M7 (6%,.33%,3%) y M4 (6%, .55%, 3%), las cuales fueron colocadas en el centro de una caja Petri con dos trozos de papel filtro. El papel filtro se humedeció con agua desionizada y estéril. Sobre la muestra a evaluar se colocaron 20  $\mu\text{L}$  de inóculo bacteriano y posteriormente fueron cubiertas con un cubreobjetos. Estas muestras se incubaron por 1 y 3 horas.

Por otro lado, para el control positivo, se siguió el mismo procedimiento, con la excepción de que el inóculo bacteriano se depositó directamente en la caja Petri.

Después del tiempo de incubación, se retiran los trozos de papel filtro y se lava la cámara húmeda con 2 mL de PBS + Tween 80 al 0.5%. Se agita suavemente en círculos hasta desprender el cubreobjetos de la película. Posteriormente, se toma una alícuota de 50  $\mu$ L y se siembra en un medio sólido para ser incubadas por 18 horas a 37 °C. Este proceso de lavado se realizó en todas las muestras.

Se contabilizaron las colonias y aplicando la fórmula de la Ecuación 1, donde  $n$  son las colonias del control y  $n_2$  las colonias de las películas analizadas, se obtiene el porcentaje de la actividad antimicrobiana.

*Ecuación 1 Fórmula para calcular el porcentaje de actividad antimicrobiana.*

$$\left(\frac{n - n_2}{n}\right) \times 100$$

#### 3.7.4 PRUEBA DE RAYADURA

Para esta etapa experimental, se adaptó y calibró un dispositivo de prueba siguiendo la prueba ASTM D3363 (Wolff-Wilborn) [17], con el fin de establecer un sistema de medición reproducible. Se diseñó un carro de ensayo en el cual, las llantas traseras y el punto de apoyo del lápiz mantuvieran un eje horizontal uniforme, asegurando un ángulo de incidencia constante, como se muestra en la Figura 12.



*Figura 13 Carrito de la prueba Wolff-Wilborn adaptado y calibrado*

Con la finalidad de minimizar variaciones en los resultados, los lápices fueron obtenidos de un mismo proveedor y lote. Previo a cada ensayo, las puntas de los lápices fueron afiladas y lijadas con un papel abrasivo (lija de agua) para tener una superficie concéntrica, como se observa en la Figura 13. Este proceso garantiza que el ángulo de incidencia con la superficie de la membrana fuera de 45°.



*Figura 14 Lápiz lijado para obtener una punta homogénea y concéntrica*

Las membranas seleccionadas para esta prueba se dividieron en dos mitades iguales: la primera mitad se dispuso para la medición de su grosor con un micrómetro, mientras que la segunda mitad se destinó para los ensayos de rayadura. Para esto, la membrana seleccionada se colocó en una superficie de aluminio previamente lavado y desinfectado con el fin de evitar interferencias por partículas o irregularidades.

Para cada ensayo, cada lápiz fue colocado en el soporte a un ángulo de 45° respecto a la horizontal. Una vez el lápiz entró en contacto con la base de la membrana a evaluar, se aplicó una fuerza constante mientras se trazaba un recorrido de aproximadamente 1 cm de largo, como se muestra en la Figura 14.



*Ilustración 15 Recorrido de la rayadura finalizado con un ángulo de incidencia de 45°*

En caso de no haber ruptura de la membrana, el proceso se repetía con un lápiz de mayor dureza (ver Anexo 2) hasta alcanzar una ruptura en la membrana. Cabe destacar que, en el caso donde no se alcanzaba el estrés suficiente sobre la membrana para su ruptura, los lápices solo dejaron marcas de grafito sobre la superficie de la membrana, como se puede observar en la Figura 15. Finalmente, los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis estadísticos para evaluar la significancia y poder comparar entre membranas con y sin presencia de mucílago de nopal.



*Figura 16 Visualización de rayaduras que no rompieron la membrana*

## CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1 SOLUCIÓN Y ELECTROHILADO DEL POLÍMERO QUITOSANO-PVA-MUCÍLAGO DE NOPAL

Tal y como se muestra en la Figura 16, las soluciones finales mostraron ser homogéneas y viscosas. A pesar de tener una concentración alta de PVA, las soluciones no se solidificaban a temperatura ambiente ni a temperaturas de 4°C. Las muestras revelaron que el mucílago de nopal tiende a precipitarse una vez extraído. Sin embargo, el quitosano y PVA funcionan de soporte para la red tridimensional del mucílago de nopal; además, gracias a esta interacción se da lugar a una sustancia con características gelatinosas.

En la etapa experimental del electrohilado, se demostró que no es necesaria la presencia de un surfactante y que gracias a la excelente interacción entre mucílago y la solución PVA-Quitosano, se puede obtener fibras adecuadas para generar una membrana uniforme.



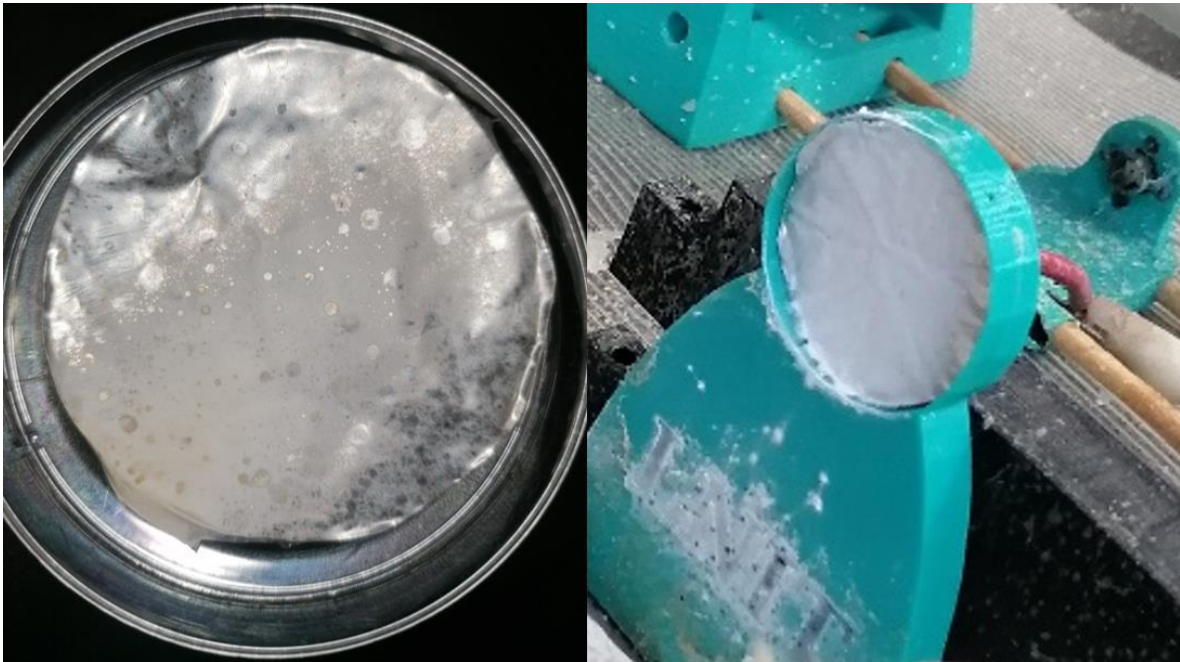
Figura 17 Solución homogénea de PVA (6%), quitosano (.55%) y mucílago de nopal (3%)

Las impurezas de tipo *beading*, es decir, el polímero alcanzó el colector en forma de nanopartículas o gotas, en lugar de nanofibras continuas, observadas en algunas membranas durante la etapa de

experimentación, se atribuyeron principalmente a la elevada humedad dentro del laboratorio. Sin embargo, durante los meses de mayo, junio, julio y agosto, la humedad relativa no fue elevada. Al realizar el electrohilado en las horas con mayor intensidad solar, se generaron condiciones más favorables, permitiendo así la formación de una capa uniformemente distribuida sobre el colector, tal y como se muestra en la Figura 17.

Aunque las membranas aparentaban ser uniformes a nivel macroscópico, gracias a la microscopía electrónica de barrido (SEM), se pudieron obtener imágenes que revelaron acumulaciones localizadas de fibras en ciertos puntos debido al rompimiento abrupto de la gota en el capilar.

Este rompimiento abrupto pudo haber sido producido por el alto voltaje usado durante el electrohilado, ya que la solución, al ser demasiado viscosa, en ocasiones generaba que se acumulara polímero en el capilar.



*Figura 18 Comparación entre electrohilado a alta humedad (izquierda) y a condiciones óptimas (derecha).*

#### 4.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A partir del análisis de las membranas por FTIR, se generó una tabla de 3400 elementos donde se registró el número de onda, en unidad de  $\text{cm}^{-1}$ , y el porcentaje de transmitancia (%T) que se generó al momento del análisis.

En la Figura 18, se puede apreciar que a pesar de que las membranas M4 y M7 tienen distinta concentración de quitosano, la zona dactilar de los FTIR mostró una alta similitud.

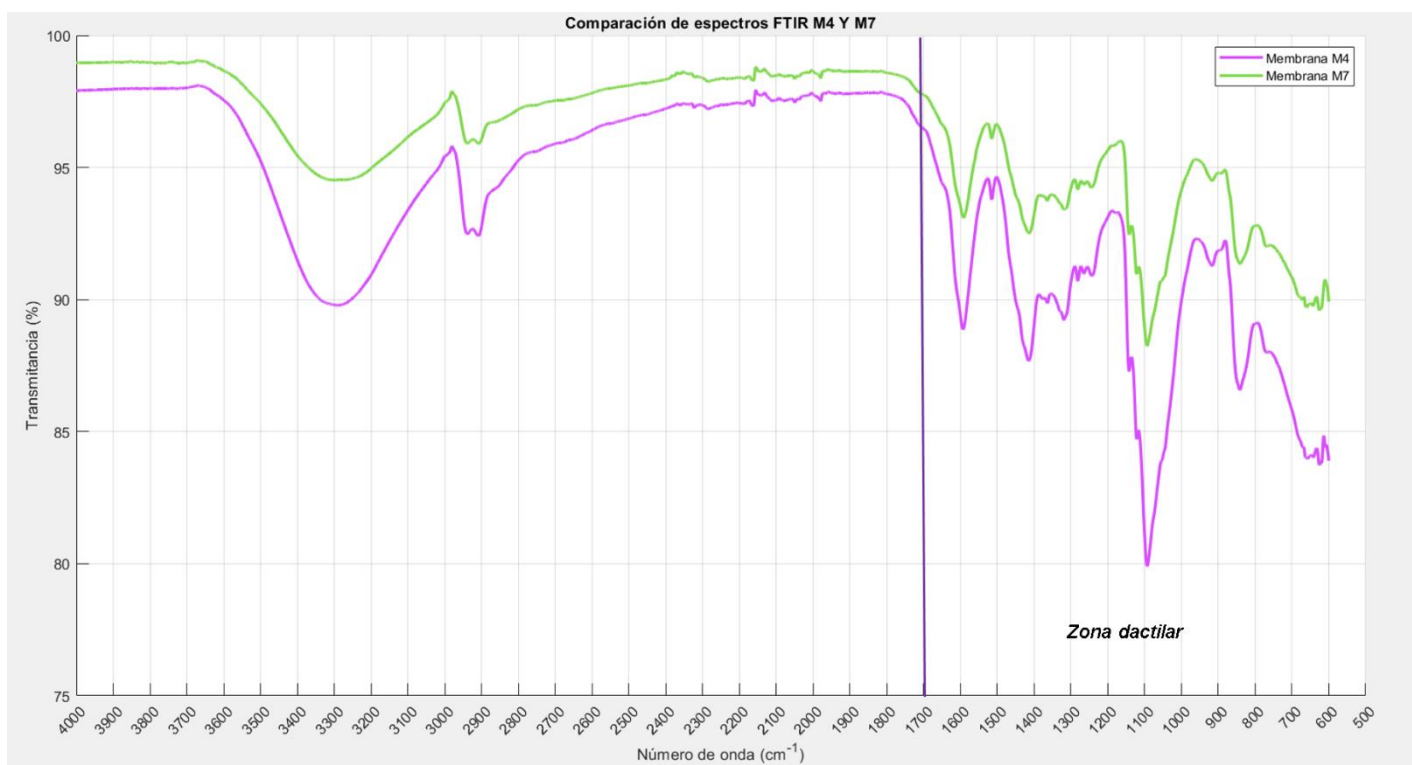


Figura 19 Comparación del espectro FTIR de la membrana M4 y M7

Para el análisis del espectro FTIR de las membranas y asegurar que efectivamente el mucílago de nopal estuviera presente, se utilizaron como referencia los espectros obtenidos a partir de extractos que se realizaron mediante dos métodos: maceración durante 7 días y cocción [65]. En comparación, el mucílago utilizado en esta tesis fue extraído mediante maceración durante 24 horas con procesos térmicos posteriores, lo que permite la comparación entre los espectros de la literatura y los obtenidos experimentalmente, como se muestra en las Figuras 19 y 20

En dichas figuras, se puede observar que entre las bandas  $1600 \text{ cm}^{-1}$  y  $1750 \text{ cm}^{-1}$ , existe una señal descendente que se atribuye a los grupos aldehídos presentes en los azúcares del mucílago de

nopal. Además, en las bandas de  $1550\text{ cm}^{-1}$  y  $1450\text{ cm}^{-1}$  existe una señal prominente que está presente en el FTIR de la literatura. Esta señal se asocia al sometimiento del mucílago a calor constante [65].

Según la literatura, la existencia de grupos C-O-C entre la banda de  $1000\text{ cm}^{-1}$  y  $1100\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la presencia de quitosano, ya sea comercial o sintetizado en el laboratorio [2]. En los resultados, tanto en la membrana M4 como en la M7, hay existencia de enlaces carbono-oxígeno-carbono en torno a la banda  $1100\text{ cm}^{-1}$ , lo que confirma la presencia de quitosano en ambas muestras.

Finalmente, de la base de datos pública «*Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)*» se obtuvo el FTIR del PVA, y se observa que en el rango de bandas  $1000\text{ cm}^{-1}$  -  $900\text{ cm}^{-1}$ , se identificó una señal característica del PVA.

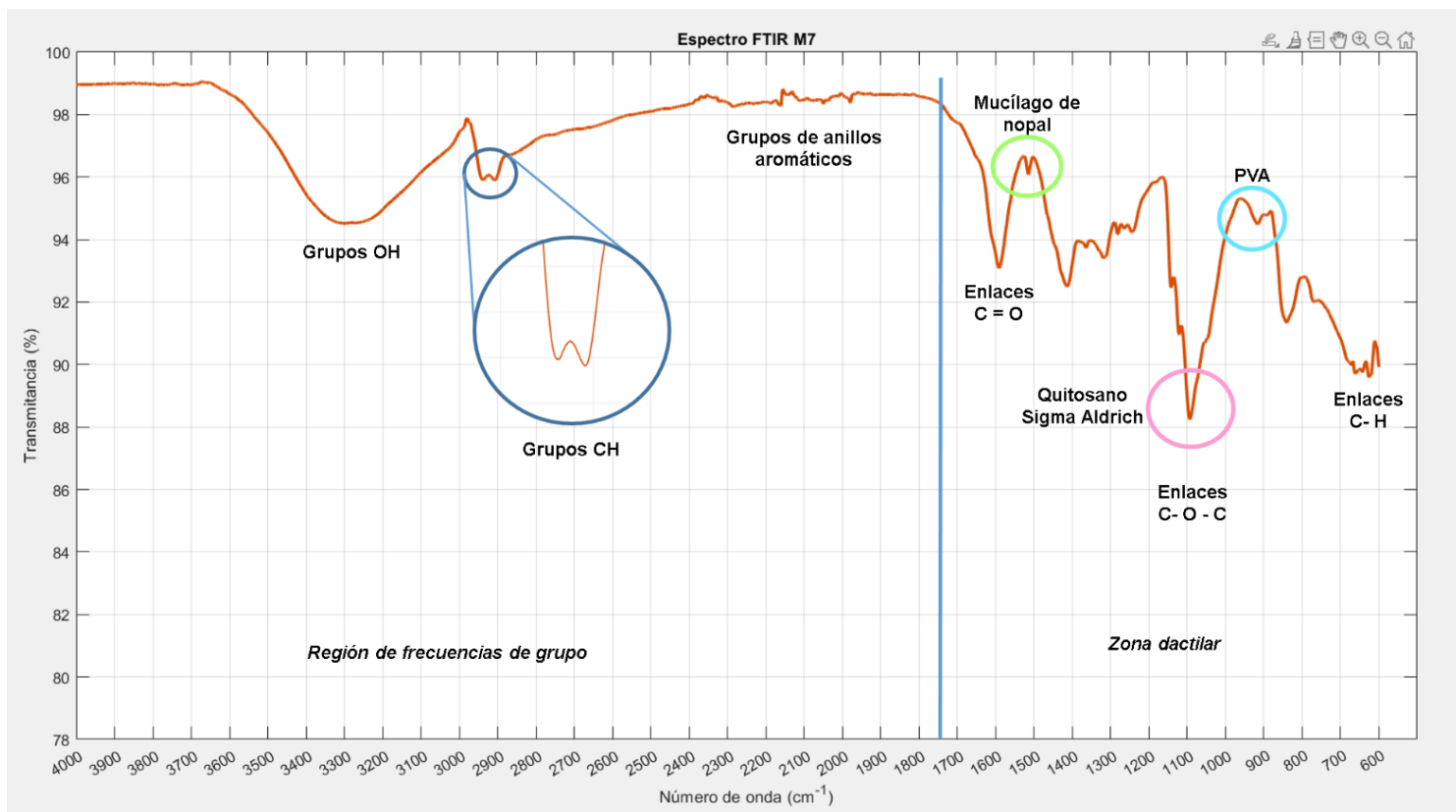


Figura 20 FTIR de la membrana M7

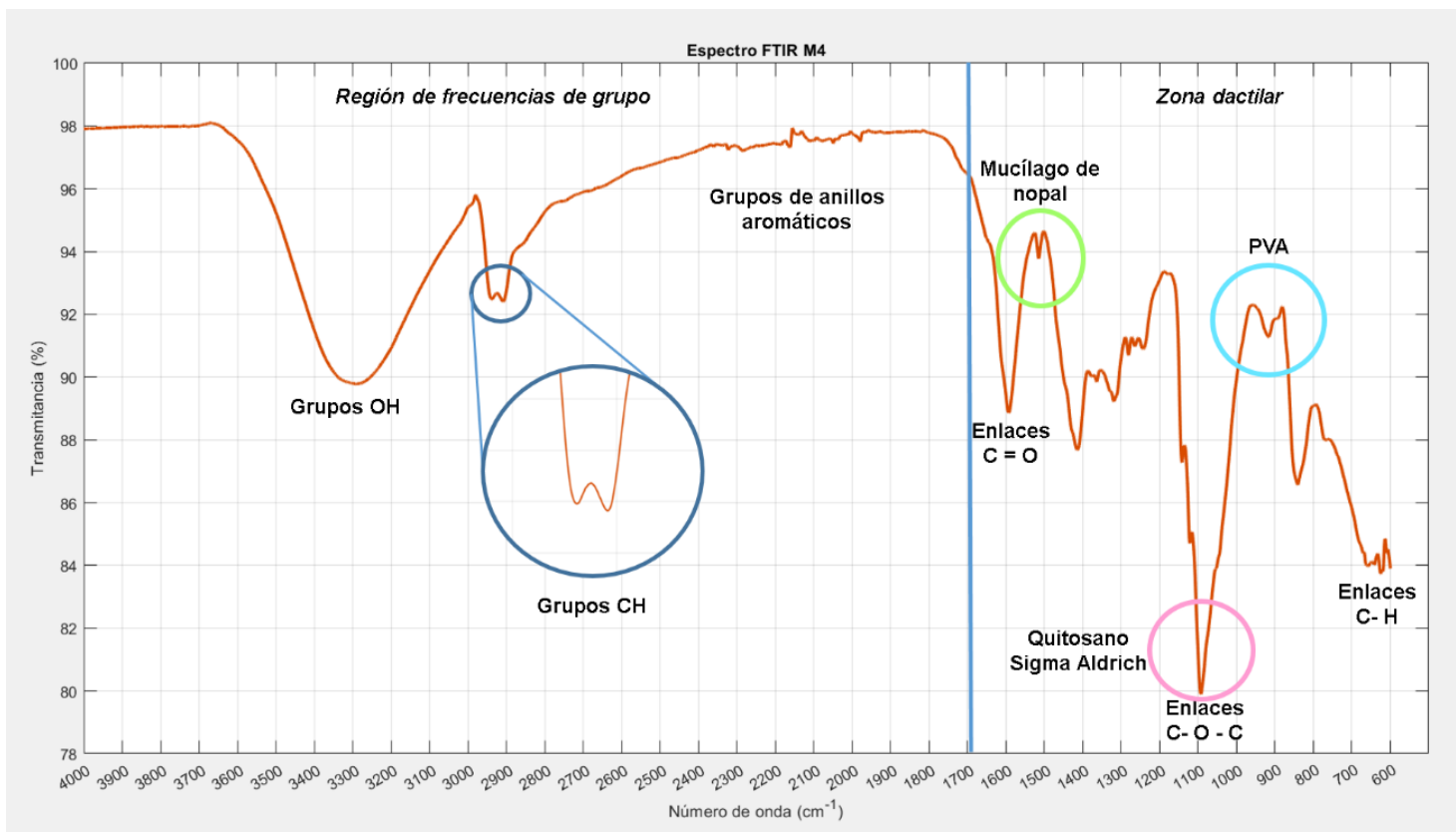


Figura 21 FTIR de la membrana M4

El análisis concluyó que las membranas no presentaron contaminación por elementos ajenos a los de interés. Tomando en cuenta los valores teóricos recopilados en la Tabla 1, en la región de frecuencias de grupo, se confirmó la interacción entre PVA, quitosano y Mucílago de nopal. Por ejemplo, en la región de bandas de  $3200\text{ cm}^{-1}$  y  $3000\text{ cm}^{-1}$ , se observó un solapamiento de grupos OH y NH, mientras que en la banda de entre  $2950\text{ cm}^{-1}$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  se identificaron los enlaces CH [2,38,48].

Finalmente, un rastro de la interacción del mucílago de nopal con el PVA y quitosano es que, en la banda de  $2400\text{ cm}^{-1}$ - $1800\text{ cm}^{-1}$ , se ven señales un poco débiles. Estas señales son la combinación de los anillos aromáticos presentes en la estructura de los mucílagos, junto con algunas señales de PVA y quitosano que, por su estructura, no corresponden a ningún grupo funcional [2,48,65].

En las siguientes tablas, se resumen los grupos, su frecuencia teórica aproximada y su frecuencia experimental aproximada [38,48].

Tabla 1 Tabla comparativa de la frecuencia teórica y experimental por grupo funcional.

Grupo	Frecuencia teórica (cm <sup>-1</sup> )	Frecuencia experimental (cm <sup>-1</sup> )
OH	3650 - 3300	3400-3100
CH	3100-2975, 990-910	3000-2900, 900-600
CH <sub>2</sub>	2940 - 2915	3000-2900
CH <sub>3</sub>	1410 - 1350	1400-1300
C=O	1740 - 1720	1650-1550
C-O-C	1140 - 820	1150-1050
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	3150 - 3050, 1600 - 1450	2400-1950

## 4.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Para analizar las micrográficas obtenidas, se utilizó la aplicación de código abierto llamada “ImageJ”. Se calibró la relación píxel-micrómetro ( $\mu\text{m}$ ), tomando como referencia la escala ubicada en la esquina inferior derecha de cada micrografía. Posteriormente, esta calibración permitió trazar una línea transversal en cada fibra de interés y obtener su longitud en  $\mu\text{m}$ . El muestreo incluyó 55 nanofibras por acercamiento, utilizando dos micrográficas con acercamiento 1000x, 2500x y 5000x como se muestra en la Figura 21.

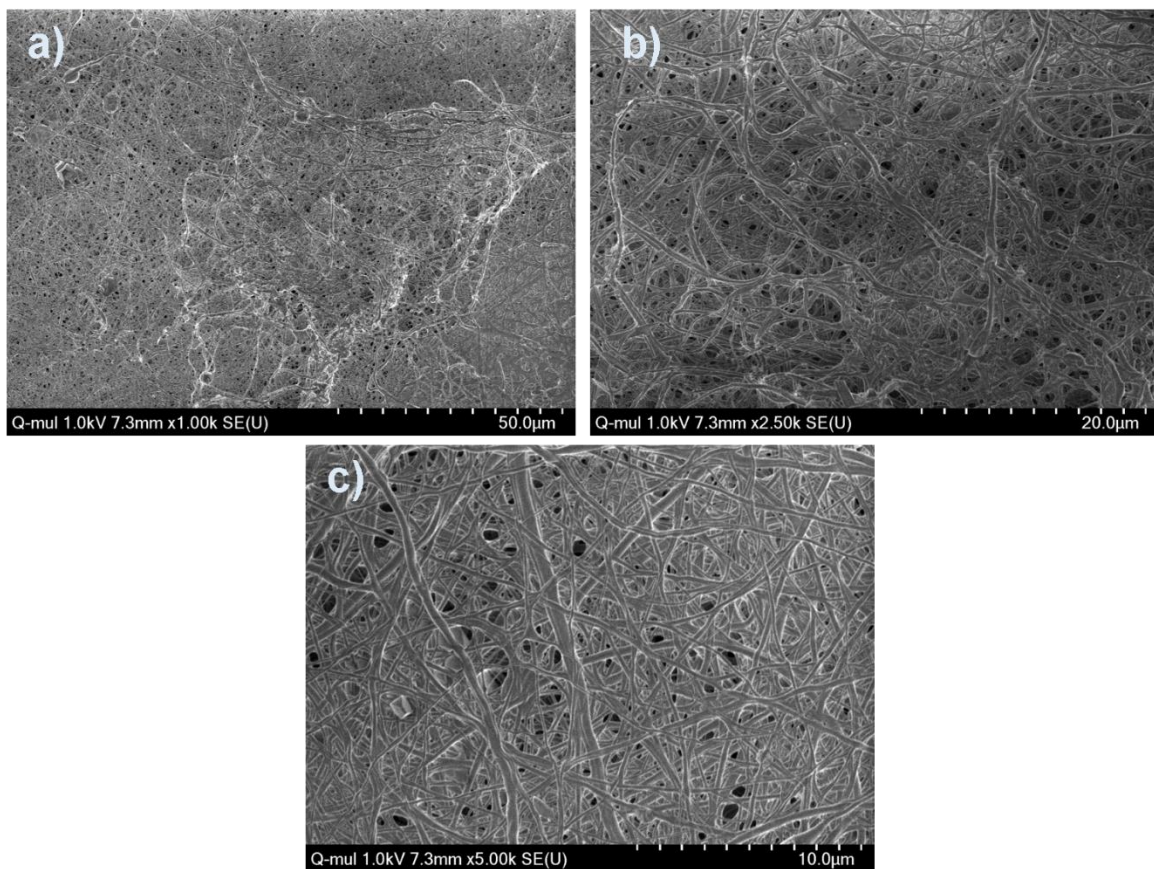


Figura 22 Micrográficas analizadas con acercamiento de a) 1000x, b) 2500x y c) 5000x

Una vez realizado este procedimiento, “ImageJ” genera una tabla con todas las mediciones. Sin embargo, estas medidas están en  $\mu\text{m}$  por lo que es necesario multiplicar por 1000 para convertirlas a nanómetros (nm), tal y como se muestra en la Tabla 2, donde se presentan las primeras 5 nanofibras medidas con este método.

Tabla 2 Diámetro de las primeras 5 nanofibras medidas con ImageJ.

	Longitud [ $\mu\text{m}$ ]	Longitud [nm]
1	0.297	297
2	0.399	399
3	0.35	350
4	0.535	535
5	0.49	490

En la Figura 22, se puede observar que las nanofibras con un diámetro entre 120 nm y 360 nm son las más comunes dentro de la membrana analizada.

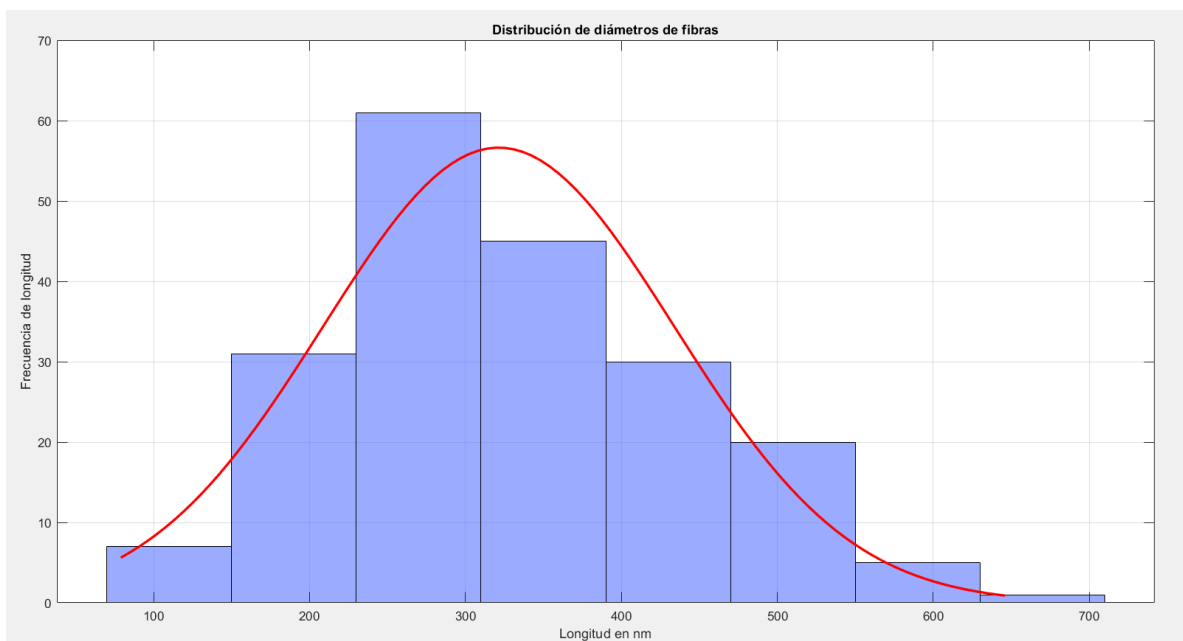


Figura 23 Histograma de los diámetros de las nanofibras.

La distribución normal e histograma se obtuvieron con la herramienta de Matlab. En este mismo programa, se calculó la desviación estándar la cual fue igual a 167.1733 nm, y la media, la cual resultó ser de 323.2667 nm.

La formación de fibras de hasta 960 nm, junto con la presencia de nanofibras menores a 100 nm, señaladas de color morado en la Figura 24, indica que la viscosidad de la solución PVA-Mucílago-

Quitosano, es relativamente alta, lo que podría estar impidiendo uniformidad del diámetro de las nanofibras.

Por otra parte, se analizó la morfología de las nanofibras. Como se muestra en la Figura 23, a pesar del manejo de la humedad y electrohilado estandarizado, en un aumento de 5000x se observan impurezas (señaladas con color amarillo). Además, se puede apreciar que hay fibras que se bifurcan (señaladas de color rojo) y, aunque no presenta una desventaja, es señal de que el cono de Taylor, en ocasiones no se formaba correctamente.

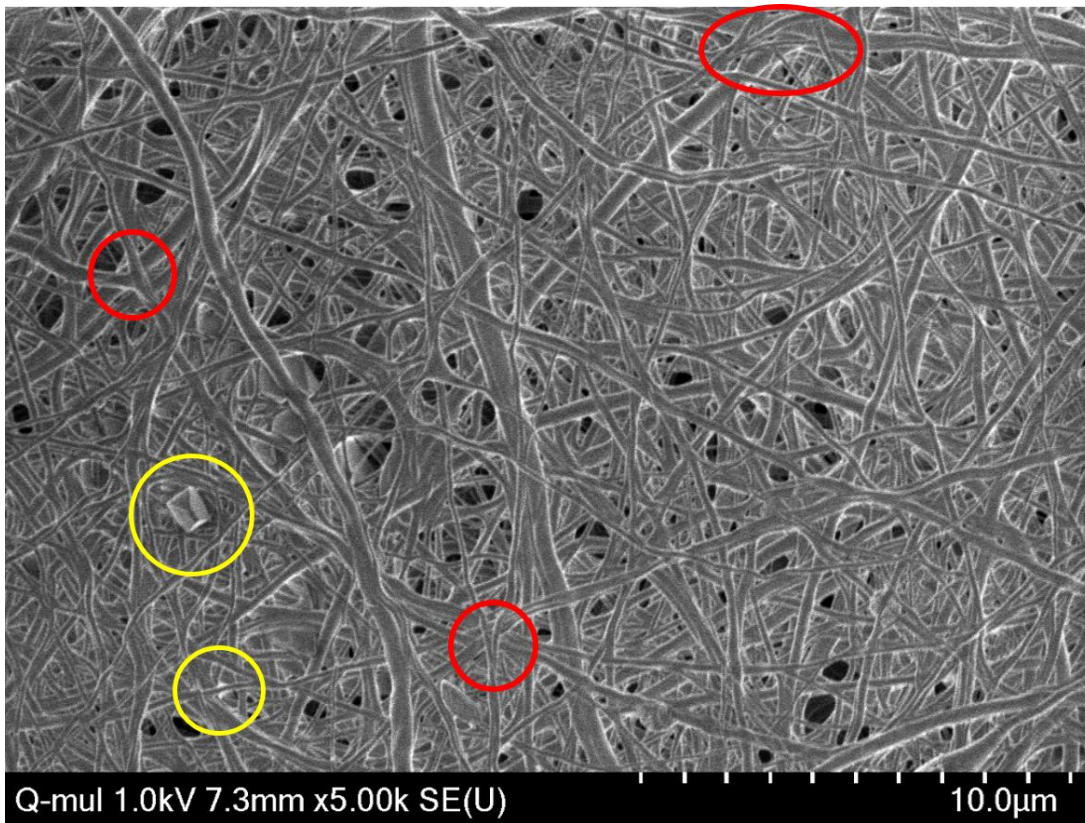
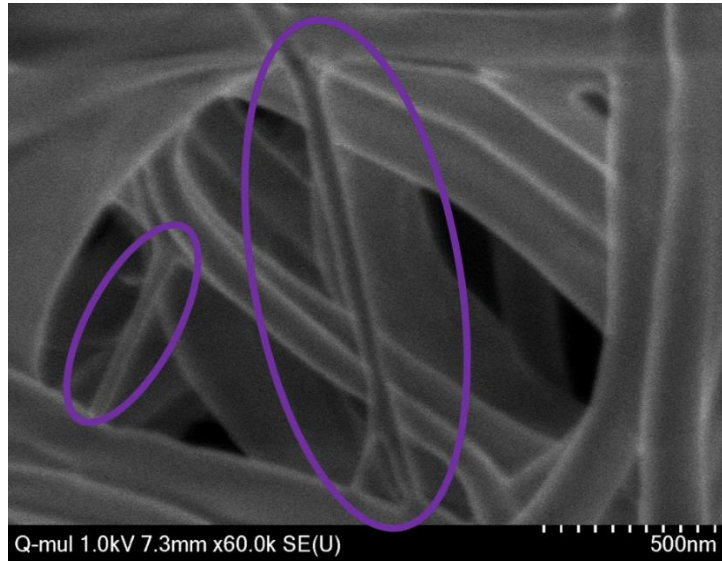


Figura 24 Morfología de la membrana analizada. En amarillo, impurezas encontradas; en rojo, bifurcaciones.



*Figura 25 En morado, nanofibras con un diámetro menor a 100 nm*

### 4.3 PRUEBA MICROBIANA

Con base en la muestra de control, se realizaron los cálculos correspondientes para obtener el porcentaje de la actividad antimicrobiana. Tomando en cuenta que las bacterias Gram negativas tienen dos membranas en su estructura, una externa y una interna, estas presentan más resistencia ante sustancias antibacteriales.

Si bien en todas las membranas se presentó actividad antimicrobiana debido al quitosano. Las membranas con presencia de mucílago de nopal potenciaron esta actividad.

El quitosano, al tener carga positiva, interactúa con la carga negativa de las membranas y se adhiere a la superficie de las membranas bacterianas, evitando el paso de nutrientes y la salida de sus desechos celulares causando una lisis bacteriana. Por otro lado, el mucílago de nopal tiene dificultades para ejercer sus propiedades bactericidas ante las bacterias Gram negativas, pero, gracias a la interacción que tiene con el quitosano, este último se vuelve más eficaz, como se puede observar en la Figura 25 donde se compran las membranas MB (6%,.55%,0%), M7 (6%,.33%,3%) y M4 (6%, .55%, 3%) en sus distintos tiempos de incubación.

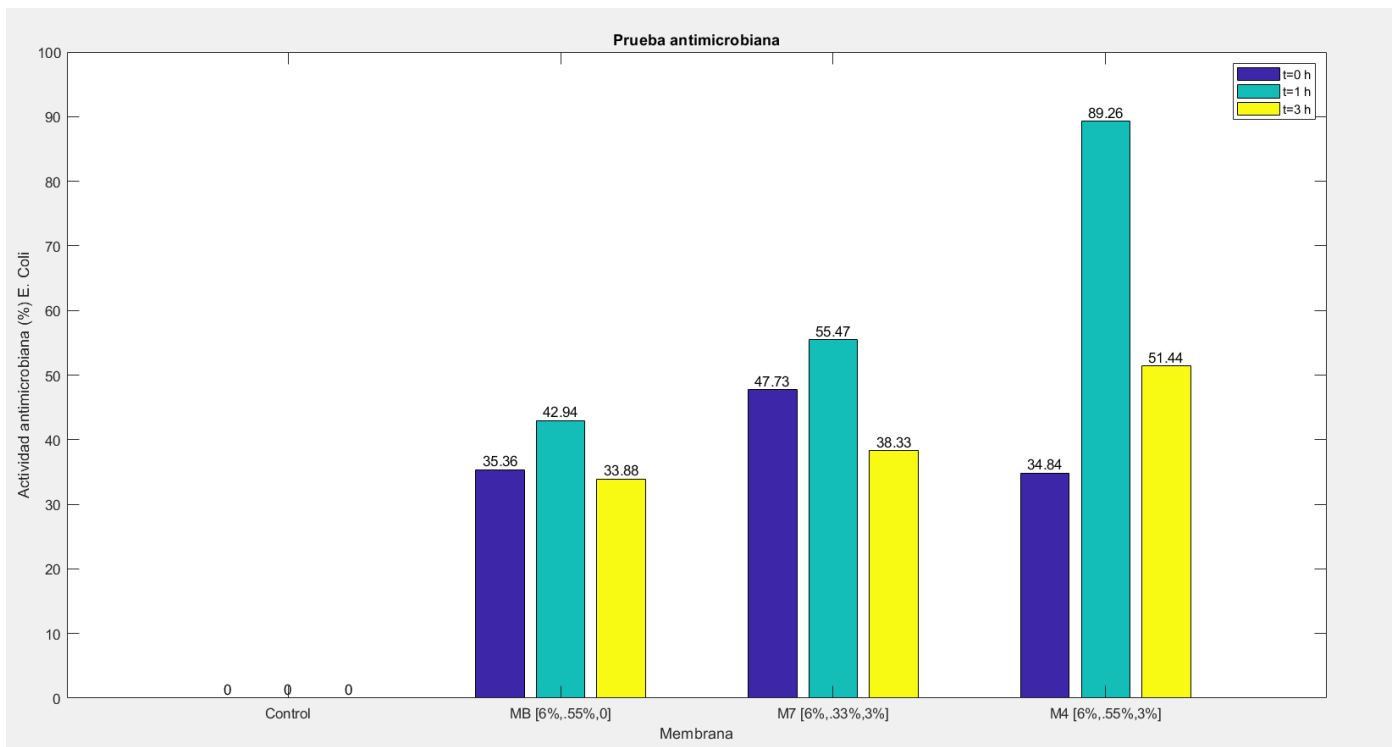


Figura 26 Gráfica comparativa de la actividad antimicrobiana según los tiempos de incubación de E. Coli

A partir de la gráfica se pueden destacar los siguientes puntos:

- La membrana MB mostró actividad en los tres tiempos contra *E. coli*; sin embargo, durante su mayor actividad en la hora 1, no presentó un gran cambio en comparación a la hora 0.
- La membrana M7 tuvo mayor actividad a 1h (55.47%) y disminuyó el efecto antibacteriano a 3h (38.33%). En comparación a la membrana MB, desde el primer contacto con la bacteria *E. coli*, su mayor actividad antibacteriana fue evidente.
- La membrana M4, a pesar de mostrar la mayor actividad a 1h con un 89.26%, la inhibición bacteriana en un inicio fue lenta, con un porcentaje de 34.84%. Durante la hora 3, se muestra una actividad del 51.44%, siendo la tercera actividad más alta entre las membranas.

En promedio, la actividad antibacteriana de la membrana contra *E. coli* fue de 47.69%, por lo que, en general, las membranas evaluadas tienen una actividad antimicrobiana mínima en contra de las bacterias Gramnegativas.

A diferencia de las bacterias Gram-negativas, las células bacterianas Gram-positivas sólo poseen una membrana, por lo que son más susceptibles al efecto antimicrobiano del mucílago del nopal.

Al igual que en la evaluación contra la *E. coli*, todas las membranas presentaron inhibición contra la célula bacteriana *S. aureus*. Se evaluaron las mismas tres membranas MB (6%,.55%,0%), M7 (6%,.33%,3%) y M4 (6%, .55%, 3%), y los resultados se graficaron en la Figura 26.

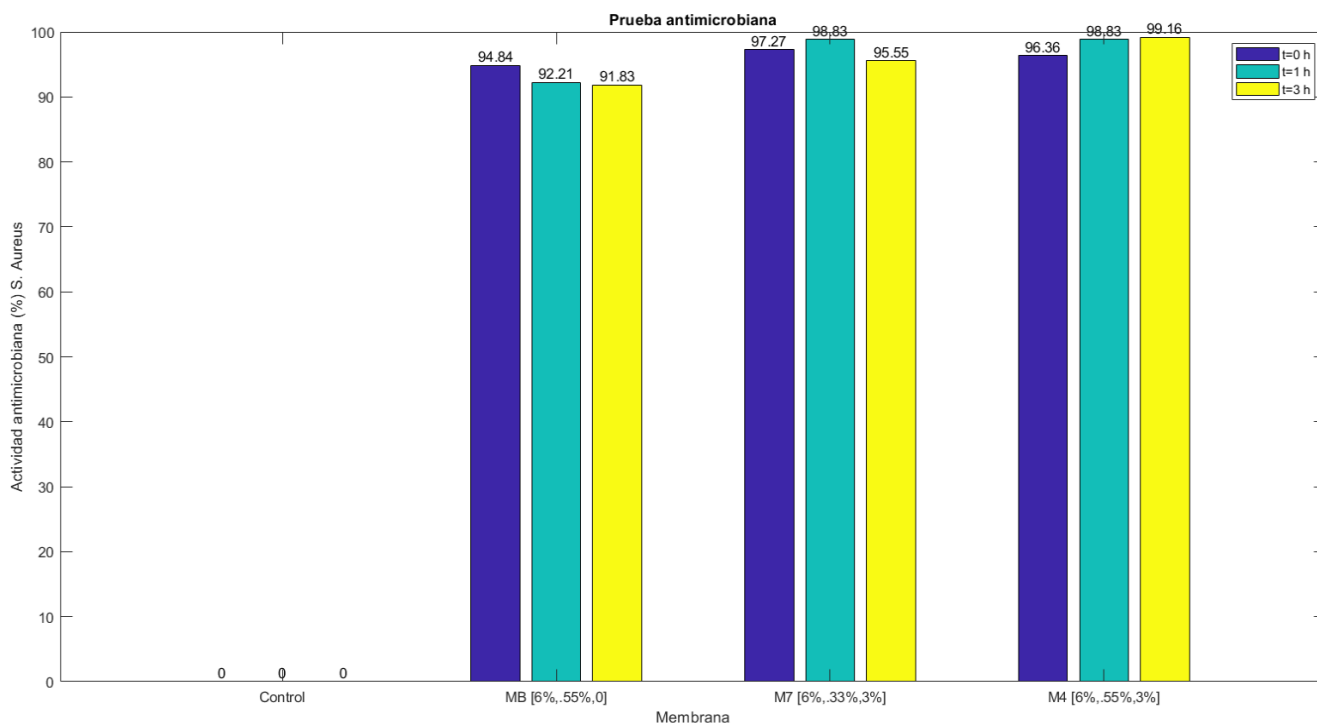


Figura 27 Gráfica comparativa de la actividad antimicrobiana según los tiempos de incubación de *S. aureus*

A partir de la gráfica, se pueden destacar los siguientes puntos:

- La membrana MB mostró actividad desde el primer momento de contacto con un 94.84%. Sin embargo, esta fue su mayor actividad antimicrobiana, ya que disminuyó con el tiempo, llegando a 92.21% en la hora 1 y a 91.83% en la hora 3.
- La membrana M7 tuvo mayor actividad a la hora 1, del 98.83%. En comparación a la membrana MB, desde el primer contacto con la bacteria *S. aureus*, tuvo mayor actividad antibacteriana.
- La membrana M4, se observa que, al tener mayor concentración de quitosano, le permitió ir aumentando su actividad antimicrobiana de manera gradual hasta alcanzar su máximo a la hora 3 con un 99.16%. Al igual que la membrana M7, esta tuvo desde el primer momento una actividad superior a la membrana sin presencia de mucílago de nopal.

En promedio, la actividad antibacteriana de la membrana contra *S. aureus* fue de 96.09%, por lo que, en general, las bacterias Gram positivas como *S. aureus* tienen mayor susceptibilidad a las membranas evaluadas.

#### 4.4 PRUEBA DE RAYADURA

En la Figura 27 se muestran los tres sectores analizados: izquierdo, central y derecho. Cada uno de estos sectores fue rayado de la misma manera en las tres membranas evaluadas y, a pesar de que en esta prueba existe el "factor humano", al ser repetida por la misma persona se aseguró la uniformidad en los resultados. Se decidió dividir en estas tres regiones, ya que permite identificar posibles variaciones en la resistencia a lo largo de la membrana y comparar su comportamiento entre zonas.

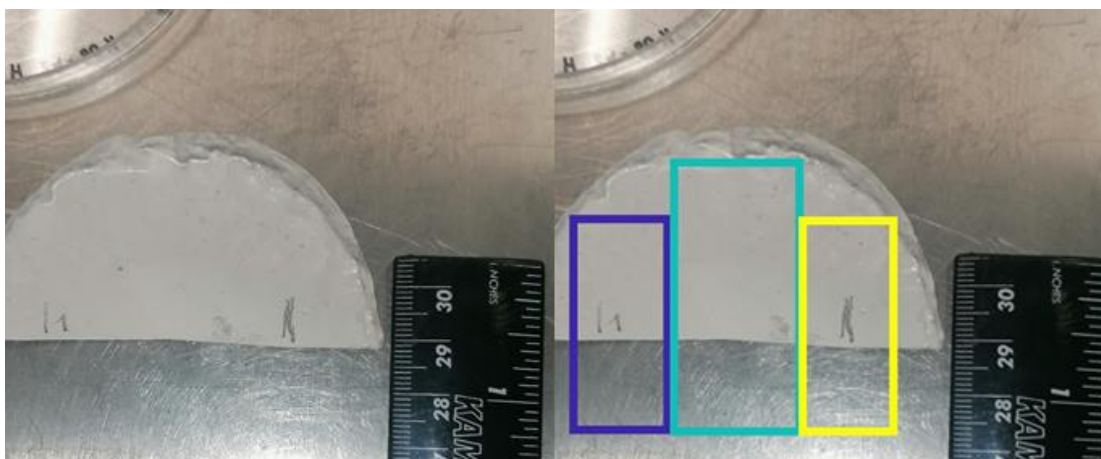


Figura 28 Representación gráfica de la rayadura de 1 cm y las secciones tomadas para para obtener los datos de la gráfica.

Tal y como se muestra en la Tabla 3, se registró el lápiz que generó una ruptura en la membrana y se posicionó según el sector que se analizó. Cada sector, se rayó 3 veces, comenzando por el lápiz 9B. De estas tres rayaduras, gracias al valor equivalente, se puede calcular un promedio y graficarlo para comparar visualmente el aumento de resistencia de las membranas.

Tabla 3 Mapeo de la resistencia a la rayadura por sectores y su grosor

Membrana	Grosor [mm]			Resistencia a la rayadura (escala de lápiz)			Resistencia a la rayadura (valores equivalentes)		
	Sector izquierdo	Sector central	Sector derecho	Sector izquierdo	Sector central	Sector derecho	Sector izquierdo	Sector central	Sector derecho
<b>MB</b> (6%,.55%,0%)	0.048	0.067	0.042	9B	B	9B	1	9	1
				8B	2B	8B	2	8	2
				8B	B	9B	2	9	1
<b>M7</b> (6%,.33%,3%)	0.039	0.055	0.043	2B	2H	B	8	12	9
				B	2H	HB	9	12	10
				B	H	HB	9	11	10
<b>M4</b> (6%,.55%,3%)	0.038	0.066	0.046	H	3H	H	11	13	11
				H	3H	H	11	13	11
				H	3H	H	11	13	11

Para calcular el valor promedio de ruptura, se utilizó únicamente el valor equivalente. Estos promedios se registraron en la Tabla 4 con el fin de visualizar la relación entre la resistencia y el grosor de la muestra, y tener mayor contexto al momento de calcular la diferencia relativa. Por ejemplo, en el sector izquierdo de la membrana sin presencia de mucílago de nopal, teniendo un grosor de .048 mm, se observó que era un 80.83% menos resistente que el sector izquierdo de la membrana “M7” la cual tenía menor concentración de quitosano (0.33%) y una concentración del 3% de mucílago. Además, este sector en la membrana “M7” presentó un grosor menor de 0.039 mm.

Tabla 4 Valores promedio de ruptura y grosor de las muestras

Membrana	Grosor [mm]			Resistencia promedio a la rayadura (valores equivalentes)		
	Sector izquierdo	Sector central	Sector derecho	Sector izquierdo	Sector central	Sector derecho
<b>MB</b> (6%,.55%,0%)	0.048	0.067	0.042	1.66	8.66	1.33
<b>M7</b> (6%,.33%,3%)	0.039	0.055	0.043	8.66	11.66	9.66
<b>M4</b> (6%,.55%,3%)	0.038	0.066	0.046	11	13	11

Los promedios de resistencia se graficaron como se muestra en la Figura 28 agrupando por membrana. Gracias a esta gráfica, se puede confirmar que el mucílago de nopal efectivamente mejora las propiedades mecánicas preexistentes en la membrana de PVA-Quitosano. A partir de esta gráfica y de los valores promedios, se pudo obtener la diferencia relativa para analizar la diferencia porcentual entre las resistencias de las membranas.

La diferencia relativa se calculó entre las membranas con presencia de mucílago y la membrana sin mucílago. Posteriormente, se realizó el mismo cálculo entre membranas con mucílago de nopal. Se obtuvieron los siguientes resultados:

- Entre la membrana “M7” y la membrana “MB”, se observó que la membrana “MB” tiene una resistencia un 80.83% menor en el sector izquierdo, mientras que en el sector central es solo un 25.72% menos resistente y, finalmente, en el sector derecho es un 86.23% menos resistente que la membrana “M7”.
- Entre la membrana “M4” y la membrana “MB”, se observó que la membrana “MB” tiene un grosor mayor de 0.01 mm en sus dos primeros sectores y, a pesar de esto, tiene una resistencia un 84.90% menor en el sector izquierdo, mientras que en el sector central es un 33.38% menos resistente y, finalmente, en el sector derecho es un 87.90% menos resistente que la membrana “M4”.
- Entre las membranas con presencia de mucílago, el grosor no varió por mucho; sin embargo, la membrana con mayor concentración de quitosano mostró una mayor resistencia. En el sector izquierdo, la membrana “M7” tiene un 21.27% menos de resistencia; en el sector central, un 10.30%; y, finalmente, en el sector derecho se observó un 12.18% menos resistente en comparación a la membrana “M4”.

La literatura indica que, en algunos materiales, una mayor resistencia a corte o fractura puede asociarse con un incremento en el módulo de Young, lo que implica una menor deformación frente a esfuerzos de tensión o compresión. También, se ha reportado que el grosor del recubrimiento o membrana puede influir en estas propiedades. La prueba de rayado con lápices permite evaluar la resistencia superficial ante esfuerzos de penetración y fuerzas de fricción, pues estas últimas contribuyen a fallas tanto por delaminación como por agrietamiento. [17]

A partir de los resultados obtenidos, se observa una posible mejora en el desempeño frente a lo reportado en la literatura. Por ejemplo, en estudios con recubrimientos tipo sol-gel con 36% de sílice coloidal, la resistencia alcanzada fue de hasta lápices H y 2H, mientras que las membranas elaboradas con mucílago de nopal, PVA y quitosano alcanzaron resistencia hasta el lápiz 3H. Sin embargo, el recubrimiento de sílice más resistente era de 7.3 - 8.5  $\mu\text{m}$ , en contraste con los 66  $\mu\text{m}$

de la membrana más resistente. Además, el recubrimiento contenía 12 veces concentración de su componente principal (sílice) que las membranas cuya fase principal es el mucílago de nopal.

Al comparar los resultados menos favorables, el recubrimiento de sílice con 2.0-2.3  $\mu\text{m}$  de grosor resistió hasta los lápices B y 2B, mientras que la membrana sin presencia de mucílago de nopal, con un grosor de 48  $\mu\text{m}$  en su sector izquierdo, no superó los lápices 8B y 9B. Estas observaciones refuerzan que la incorporación de mucílago de nopal mejora las propiedades mecánicas, y sugieren que un aumento en la concentración de quitosano y mucílago podría permitir reducir el grosor sin comprometer la resistencia, acercándose al desempeño de un material inorgánico, duro y resistente, como lo es la sílice [17,73].

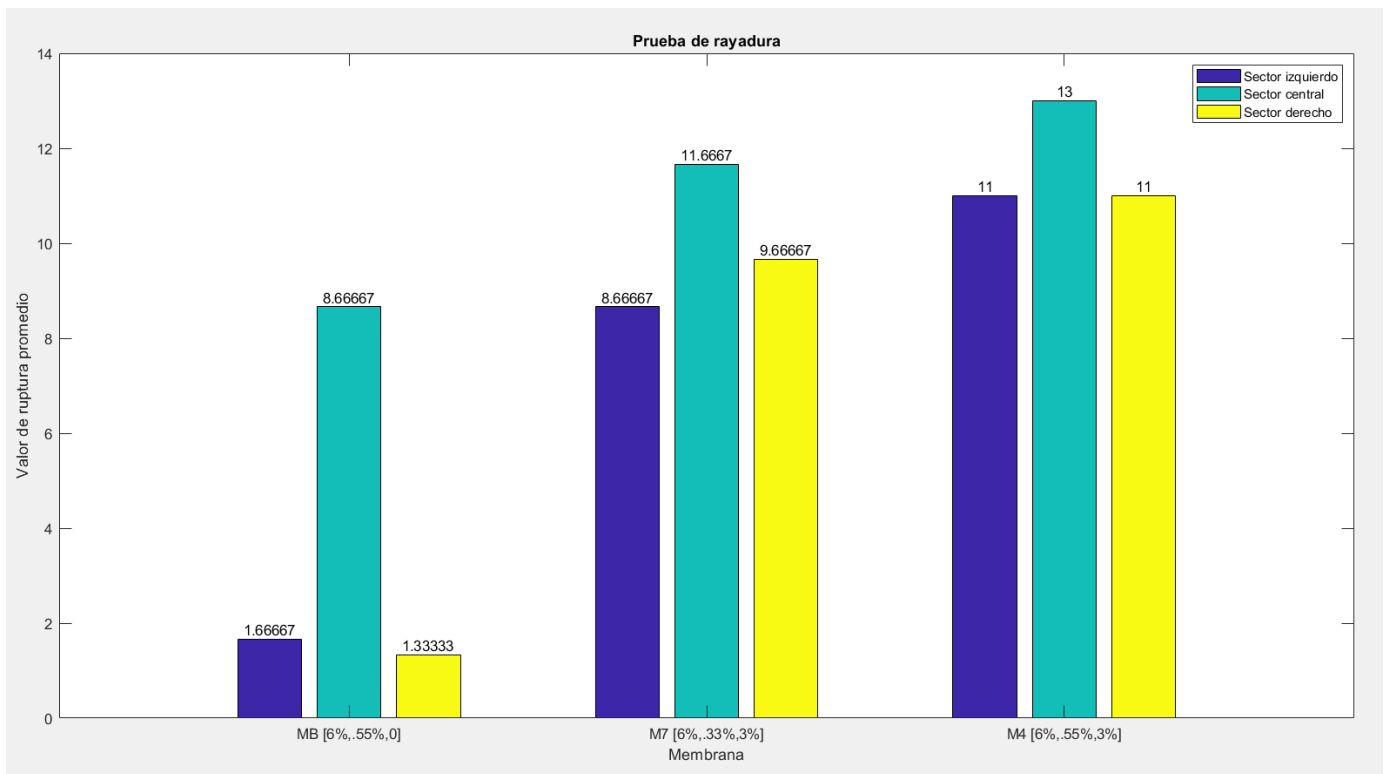


Figura 29 Comparación de los valores promedio de resistencia a la rayadura por sección en las tres muestras de PVA-Quitósano-Mucílago de nopal.

## CAPÍTULO V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A continuación, se analizan los principales hallazgos de este proyecto de investigación:

- Debido a la similitud estructural de la quitina con la celulosa, al procesar la quitina para obtener quitosano, este interactúa muy bien con productos derivados de plantas, como el mucílago de nopal.
- Aunque la extracción del mucílago de nopal se llevó a cabo en varias etapas para mantener una temperatura constante de 55°C, este presentó oxidación después de las 24 hrs expuesto al calor. Esto pudo haber contribuido a su reducción en la actividad antimicrobiana en la membrana "M4" que pasó de 35.36 a 34.84 en la hora 0 respecto a la membrana blanco.
- La interacción entre quitosano, mucílago y PVA, es de tipo no covalente, específicamente puentes de hidrógeno entre sus grupos funcionales. La adición de un surfactante como Tritón X-100, o el enfriamiento de la solución a 4°C, debilitan estas interacciones. Resultando en la precipitación del mucílago y la separación entre diferentes elementos, evitando la formación de nanofibras.
- Con base en los resultados obtenidos, se sugiere que aumentar la concentración de quitosano hasta un 1% y de mucílago de nopal hasta un 9% podría mejorar las propiedades fisicoquímicas de las membranas, especialmente las antimicrobianas.
- Los tres materiales utilizados son biodegradables, por lo que después de su uso se pueden desechar de manera segura. Además, estos mismos son altamente biocompatibles y no se han registrado efectos adversos graves.
- Las membranas obtenidas, al ser en su mayoría productos orgánicos, su uso preferente se reduce en comparación a membranas hechas a partir de plata o que contengan fármacos: sin embargo, se incrementa en comparación a las hechas con piel de tilapia.

## CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1 CONCLUSIONES

El objetivo general de esta investigación fue alcanzado, ya que se lograron generar membranas compuestas por quitosano, PVA y mucílago de nopal mediante electrohilado. Estas membranas, mostraron propiedades antimicrobianas frente a la *E. coli* y *S. aureus*, lo que respalda su uso como apósito en heridas causadas por quemaduras.

La extracción del mucílago de opuntia ficus-indica fue exitosa; las adaptaciones implementadas a la literatura mostraron excelentes resultados en la optimización del tiempo y en impedir su desnaturalización, preservando así sus propiedades bioactivas.

Las membranas mostraron estructuras de nanofibras continuas. Aunque no se logró tener una uniformidad total en el diámetro de las fibras, por la naturaleza de los polímeros, estas fibras permanecieron en el rango nanométrico.

Los análisis FTIR confirmaron la presencia de grupos funcionales característicos de los tres polímeros utilizados, y el SEM evidenció una integración en su estructura adecuada. Por otra parte, los ensayos mecánicos por rayado demostraron que la adición de mucílago de nopal aumenta significativamente la resistencia de las membranas, lo cual es esencial para poder entrar en contacto con el tejido epitelial.

La interacción entre mucílago de nopal y el quitosano mostró sinergia al aumentar la actividad antimicrobiana. En particular, se observó que individualmente estos polímeros tienen dificultad en combatir bacterias Gram negativas como la *E. coli*; sin embargo, gracias a su sinergia, las membranas mostraron la capacidad de controlar mejor la población de esta bacteria, lo que resalta su viabilidad para minimizar el riesgo por infección bacteriana.

En conjunto, estos resultados validan la hipótesis planteada al inicio de esta tesis. Se puede concluir que el mucílago de nopal posee un potencial extraordinario en aplicaciones biomédicas, no solo como material de soporte, sino también como agente bioactivo.

## 6.2 RECOMENDACIONES

- Para mejorar la eficiencia de las membranas en la actividad antimicrobiana y evitar oxidación del mucílago de nopal, este último se puede obtener a través de liofilización
- Ampliar la concentración de mucílago y nopal en relación 1:1 podría permitir mayor resistencia mecánica.
- Disminuir la concentración de PVA, permitiría que la interacción entre mucílago y quitosano se incrementara, provocando que el electrohilado necesitase de más voltaje, pero a cambio se obtendrían nanofibras más uniformes
- Se recomienda electrohilar en verano, en especial en las horas de mayor actividad solar. Con este parámetro se podrá obtener una membrana más uniforme.
- Irradiar la membrana con luz UV por 12 minutos, mejorará los enlaces de la membrana y permitirá que se reajuste su morfología, permitiendo una mejor adsorción de agua.
- Evaluar las membranas con pruebas de hinchamiento para cuantificar su viabilidad en la adsorción de exudado.
- Evaluar las membranas en cultivos celulares epiteliales, esto permitirá definir si tiene mejores resultados que otros apósitos.

## CAPÍTULO VII: BIBLIOGRAFÍA

- [1] Abraján Villaseñor, M. A. (2008). Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago del nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible [Tesis doctoral]. Universidad politécnica de valencia.  
Recuperado de: [<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/3794/tesisUPV2920.pdf>]
- [2] Achig Vega, B. A. (2019). *Síntesis de nanopartículas de quitosano a partir de quitina de exoesqueleto de camarón para encapsulamiento de colorantes naturales* [Tesis de licenciatura]. Universidad Central del Ecuador. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.17004.82563>
- [3] Alonso, R. M., & Constans, A. (2001). *NTP 585: Prevención del riesgo biológico en el laboratorio: trabajo con bacterias*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.
- [4] Arroyo Hernández, A., & Villarreal Díaz, L. (2014). *Estudios de preformulación y formulación de extracto de nopal (Opuntia ficus-indica) en polvo dispersable como tratamiento alternativo para la diabetes mellitus* [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. [https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis\\_arroyo\\_hernandez.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_arroyo_hernandez.pdf)
- [5] Barrón Vilchis, D., Zavala Martínez, L. G., San Juan Meza, P. X., & Reyes Escogido, M. de L. (2023). Evaluación del mucílago de nopal para la encapsulación de *Lactobacillus plantarum* 1449. *Jóvenes en la Ciencia*, 16(XXVII Verano de la Ciencia). ISSN 2395-9797. [www.jovenesenlaciencia.ugto.mx](http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx)
- [6] BBC Mundo. (2017, 10 de enero). *El revolucionario método desarrollado en Brasil para tratar quemaduras graves con piel de tilapia*. BBC News. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-38558721>
- [7] Blanquicet Macea, R., Flórez De Hoyos, C., González Montes, Y., Meza Fuentes, E., & Rodríguez Ruiz, J. I. (2015). Síntesis y propiedades de filmes basados en quitosano/lactosuero. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 25(1), 58-69.

- [8] Cabral, A. J. M., Lima, C. A. N., Cruz Filho, E. F. C., Soares, G. L. de C., Espínola, P. F. L. de A., Alves, F. A., & Cruz, A. S. de G. M. (2021). Piel de tilapia: ¿avance tecnológico en el tratamiento de quemaduras? *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento*, 6(12), 50-64.
- [9] Cabrera, L., Felix, M., Pérez Puyana, V. M., & Romero García, A. (2019). Membrana de nanofibras procesadas mediante electrohilado con potencial uso en la encapsulación de enzimas. [Dialnet]. *Afinidad: Revista de química teórica y aplicada*, 76(587), 180-188.
- [10] Cajero Vázquez, P., Meléndez Lira, M., Camacho López, M. Á., Castillo Rubí, M. A., & González Díaz, F. R. (2010). Armazones Celulares por la Técnica de Electrohilado. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 41, 1-15. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1816205000>
- [11] Campo Vera, Y., Delgado, M. A., Roa, Y., & Mora, G.. (2017). Efecto antimicrobiano del quitosano y cascara de naranja en el tratamiento de aguas residuales. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(4), 381-388. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.312>
- [12] Carl Roth GmbH + Co. KG. (2020). *Ficha de datos de seguridad: TRITON® X 100 para el centelleo* (SDB-6683-ES-ES). Roth. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-6683-ES-ES.pdf>
- [13] Carl Roth GmbH + Co. KG. (2021). *Ficha de datos de seguridad: Ácido acético 60 %, puro* (SDB-7329-ES-ES). Roth. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-7329-ES-ES.pdf>
- [14] Carl Roth GmbH + Co. KG. (2021). *Ficha de datos de seguridad: Quitosano para la bioquímica* (SDB-5375-ES-ES). Roth. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-5375-ES-ES.pdf>
- [15] Carl Roth GmbH + Co. KG. (2022). *Ficha de datos de seguridad: Agua, destilada doble* (SDB-3478-ES-ES). Roth. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-3478-ES-ES.pdf>
- [16] Chapra, S. C., & Canale, R. P. (2015). *Métodos numéricos para ingenieros* (7a ed.; S. M. Sarmiento Ortega, Trad.). Editorial McGraw-Hill.
- [17] Chen, Z., Wu, L. Y. L., Chwa, E., & Tham, O. (2008). Scratch resistance of brittle thin films on compliant substrates. *Materials Science and Engineering: A*, 493(1-2), 292–298.

- [18] Chiu, CS., Cheng, YT., Chan, YJ. Et al. (2023) Mechanism and inhibitory effects of cactus (*Opuntia dillenii*) extract on melanocytes and its potential application for whitening cosmetics. *Sci Rep*, 13, 501. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26125-x>
- [19] Croisier, F., & Jérôme, C. (2013). Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*, 49(4), 780–792. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009
- [20] Díaz-Montes, E.; Castro-Muñoz, R. (2001) Trends in Chitosan as a Primary Biopolymer for Functional Films and Coatings Manufacture for Food and Natural Products. *Polymers* 2021, 13, 767. <https://doi.org/10.3390/polym13050767>
- [21] Domínguez Canales, V. S. I., Zegbe Domínguez, J. A., Alvarado Nava, M. D., & Mena Covarrubias, J. (2011). *Extracción y purificación de mucílago de nopal (Opuntia ficus-indica)*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Norte-Centro Campo Experimental Zacatecas. <http://zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/extMuNopal.pdf>
- [22] Echeverri, C. E., Vallejo, C., & Londoño, M. E.. (2009). Síntesis y caracterización de hidrogeles de alcohol polivinílico por la técnica de congelamiento/descongelamiento para aplicaciones médicas. *Revista EIA*, (12), 59-66. Retrieved February 18, 2025, [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-12372009000200005&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372009000200005&lng=en&tlng=es)
- [23] Enlace UNAM (2021). Método de extracción de mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) y uso del mismo como adyuvante con actividad proliferativa y antiinflamatoria en células gingivales y pulpares. Recuperado de [[https://enlace.unam.mx/wp-content/uploads/2021/06/12-Muc%C3%ADlago-de-nopal-periodontal\\_CompressPdf.pdf](https://enlace.unam.mx/wp-content/uploads/2021/06/12-Muc%C3%ADlago-de-nopal-periodontal_CompressPdf.pdf)]
- [24] Espinoza Nava, U. (2016). Principios de diseño cinemático aplicados a la reinterpretación del colector de fibras de la técnica de electrohilado [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

- [25] Faraldos, M., & Bahamonde, A. (2019). Multifunctional photocatalytic coatings for construction materials. En *Nanotechnology in Eco-Efficient Construction*, 557–589. doi:10.1016/b978-0-08-102641-0.00023-2
- [26] Fornes Pujalte, B., Palomar Llatas, F., Díez Fornes, P., Muñoz Mañez, V., & Lucha Fernandez, V. (2008). Apósitos en el tratamiento de úlceras y heridas. *Enfermería Dermatológica*, 11(4).
- [27] Gallardo Cabrera, C., Pazmiño Arteaga, J. D., & Enríquez Benavides, I. S. (2013). Extracción y caracterización reológica del mucílago de *Malvaviscus penduliflorus* (San Joaquín). Universidad de Antioquia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(4), 567-574.  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962013000400008&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000400008&lng=es&tlng=es).
- [28] García del Pozo, J. A., & Aragón Martínez, M. J. (2007). Quemaduras. *Offarm*. Elsevier.
- [29] Gómez Campo, A., & Osorno Valencia, I. (2016). *Desarrollo de nanofibras de PVA funcionalizadas con quitosano y obtenidas por electrohilado para su potencial aplicación en el tratamiento de aguas con cobre* [Tesis de pregrado]. Universidad San Buenaventura, Santiago de Cali.
- [30] Gonzales, M., Alcalde, A., Valverde, V., & Villanueva, D. (2020). Electrospinning: Avances y aplicaciones en el campo de la biomedicina. *Revista de La Facultad de Medicina Humana*, 20(4), 706–713. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2308-05312020000400706&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-05312020000400706&lng=es&nrm=iso&tlng=es)  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S2308-05312020000400706&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2308-05312020000400706&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- [31] González Bosqueta, L. (2003). Las quemaduras y su tratamiento. *Offarm*. Elsevier.
- [32] Goy, R. C., Britto, D. de, & Assis, O. B. G. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19(3), 241–247. doi:10.1590/s0104-14282009000300013
- [33] Hernández Madrigal, J. V., Madrigal Ambriz, L. V., Pérez Valadez, M. E., Carvajal García, T. I., & Orendain Sánchez, J. G. (2019). *Comparación de dos métodos de extracción de mucílago de chan sobre sus características físico-químicas*. Universidad de Colima.

- [34] Inkson, B. J. (2016). Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization. En *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*, (pp.17–43). doi:10.1016/b978-0-08-100040-3.00002-x
- [35] Jiménez Serrano, R., & García Fernández, F. P. (2018). Manejo de las quemaduras de primer y segundo grado en atención primaria. *Gerokomos*, 29(1), 45-51.  
[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1134-928X2018000100045&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-928X2018000100045&lng=es&tlng=es).
- [36] Laboratorio de Plantas Vasculares, Facultad de Ciencias UNAM. (s.f.). *Opuntia ficus-indica*. Universidad Nacional Autónoma de México.  
[https://plantasvasculares.fciencias.unam.mx/ArbolesArbustosFCiencias/Angiospermas/opuntia\\_ficus\\_indica.html](https://plantasvasculares.fciencias.unam.mx/ArbolesArbustosFCiencias/Angiospermas/opuntia_ficus_indica.html)
- [37] López-Ramírez, M. A., Aguilar-Rodríguez, M. R., Pérez-Cortés, R., Castañeda-Chávez, M. R., Lango-Reynoso, F., Mata-Alejandro, H., Rodríguez-Martínez, G. y Castellanos-Onorio, O. P. (2021). Obtención del mucílago de nopal (*opuntia ficus-indica*) a partir de un método tradicional. *Innovación y desarrollo tecnológico revista digital*, 13(4), 856-863
- [38] Luna Solache, L. F. (2022). *Síntesis de membrana polimérica mediante electrohilado coaxial para la liberación controlada de neomicina* [Tesis de licenciatura]. Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Hidalgo.
- [39] Luna-Zapién, Edén A., Zegbe, Jorge A., Meza-Velázquez, Jorge Armando, & Minjares-Fuentes, Rafael. (2023). Mucílago de nopal (*Opuntia* spp.) y su aplicación como aditivo alimentario: Una visión general. *Revista fitotecnia mexicana*, 46(1), 51-61. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.1.51>
- [40] Magalhães, S., Goodfellow, B. J., & Nunes, A. (2021). FTIR spectroscopy in biomedical research: how to get the most out of its potential. *Applied Spectroscopy Reviews*, 1–39.  
doi:10.1080/05704928.2021.1946822

- [41] Marin, E. (2023). History of dental biomaterials: biocompatibility, durability and still open challenges. *Heritage Science*, 11. 10.1186/s40494-023-01046-8.
- [43] Martínez Dubois, S. (2013). *Cirugía: Bases del conocimiento quirúrgico y apoyo en trauma* (5ª ed.). McGraw-Hill Interamericana de España S.L.  
<https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookID=1466>
- [44] Martínez-Correa, E., Osorio-Delgado, M. A., Henao-Tamayo, L. J., & Castro-Herazo, C. I. (2020). Clasificación sistemática de apósitos: una revisión bibliográfica. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 41(1), 5-18.
- [45] Mayo Clinic. (s.f.). *Quemaduras: Síntomas y causas*. Mayo Clinic.  
<https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/burns/symptoms-causes/syc-20370539>
- [46] Mendoza Uribe, G., & Rodríguez-López, J. L.. (2007). La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Perfiles latinoamericanos*, 14(29), 161-186.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-76532007000100006&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-76532007000100006&lng=es&tlng=es).
- [47] Miranda Altamirano, A. (2020). Uso de apósitos en quemaduras. *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana*, 46(Supl. 1), 31-38. <https://dx.doi.org/10.4321/s0376-78922020000200008>
- [48] Naumann, D. (2001). FT-INFRARED AND FT-RAMAN SPECTROSCOPY IN BIOMEDICAL RESEARCH. *Applied Spectroscopy Reviews*, 36(2-3), 239–298. doi:10.1081/asr-100106157
- [49] Perdomo Pérez, E., Soldevilla Agreda, J., & García Fernández, F. P.. (2020). Relación entre calidad de vida y proceso de cicatrización en heridas crónicas complicadas. *Gerokomos*, 31(3), 166-172.  
<https://dx.doi.org/10.4321/s1134-928x2020000300008>
- [50] Raafat, D., von Barga, K., Haas, A., & Sahl, H.-G. (2008). Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(23), 7455–7455. doi:10.1128/aem.02290-08

- [51] Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., & Lemons, J. E. (Eds.). (2013). *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, (3ra ed.). Elsevier.
- [52] Reactivos Meyer S.A. de C.V. (2018). *Ficha de datos de seguridad: ALCOHOL POLIVINÍLICO* (HDS 5425). Roth. [https://reactivosmeyer.com.mx/datos/pdf/materias/hds\\_5425.pdf](https://reactivosmeyer.com.mx/datos/pdf/materias/hds_5425.pdf)
- [53] Rendón-Mejía, N. A., Cuervo-Ollervides, L. F., Flores-González, N., & Hernández-Terrazas, C. A.. (2024). Association of survival and mortality with demographics in major burn patients at a Mexican burn center 2022-2023. *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana*, 50(3), 333-340. <https://dx.doi.org/10.4321/s0376-78922024000300013>
- [54] Revista Sanitaria de Investigación (2001). Quemaduras: causas, consecuencias y su tratamiento. <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/quemaduras-causas-consecuencias-y-su-tratamiento/>
- [50] Rodríguez-González, S., Martínez-Flores, H. E., Órnelas-Nuñez, J. L., & Garnica-Romo, M. G. (s.f.). Optimización de la extracción del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*). En *XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Químico Farmacobiología. <https://smbb.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/III/carteles/CIII-71.pdf>
- [56] Romero-Serrano, A., & Pereira, J. (2020). Review: Chitosan, a versatile biomaterial. State of the art from its obtaining to its multiple applications. *Revista Revista Ingeniería UC*, (ISSN: 2610-8240.), 27(2), 118–135.
- [57] Salem Z., C., Pérez P., J. A., Henning L., E., Uherek P., F., Schultz O., C., Butte B., J. M., & González F., P. (2000). Heridas: Conceptos generales. *Cuadernos de Cirugía*, 14(1), 90-99. <https://doi.org/10.4206/cuad.cir.2000.v14n1-15>
- [58] Sánchez Montiel, D. D., Olguin González, K. D., & Castrejón Sánchez, V. H. (2020). *Fibra orgánica de mucilago de nopal con oxido de grafeno para una potencial aplicación en la reestructuración ósea*. Tecnológico de Estudios Superiores de Jocotitlán (TESJO). <https://www.doccity.com/es/fibra-organica-de-mucilago-de-nopal-con-oxido-de-grafeno-para-una-potencial-aplicacion-en-la-reestructuracion-osea/7309978/>

- [59] Sanchez-Alvarado, D. I., Guzmán-Pantoja, J., Páramo-García, U., Maciel-Cerda, A., Martínez-Orozco, R. D., & Vera-Graziano, R. (2018). Morphological Study of Chitosan/Poly (Vinyl Alcohol) Nanofibers Prepared by Electrospinning, Collected on Reticulated Vitreous Carbon. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1718.
- [60] Sánchez-García, E., Castillo-Hernández, S.L., & García-Palencia, P. (2016). Actividad antimicrobiana. En Rivas-Morales, C., Oranday-Cardenas, M.A., & Verde-Star, M.J. (Eds.). Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona, España: *OmniaScience*. 77-100.
- [61] Sandoval Bautista, Á., Ávalos García, K. X., Llamas Cervera, A. M., Vázquez Domínguez, F. M., Hernández Guerrero, D. G., Pacheco Guerra, N. E., & Morales Padilla, Y. M. (2022). Uso del mucílago del nopal en el tratamiento de aguas para su potabilización. XXVII Verano de la Ciencia. *Jóvenes en la Ciencia*. <http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/7462/1/3786-Texto%20del%20art%C3%ADculo-12471-1-10-20220902.pdf>
- [62] Sandoval Herrera, I. E. (2018). *Fabricación de membranas de nanofibras electrohiladas de poli (ácido  $\gamma$ -glutámico) / poli (vinil alcohol) cargadas con ácido clorogénico* [Tesis de maestría]. Centro de Investigación en Química Aplicada, Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros.
- [63] Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2020). *Ficha Técnica: Aislamiento de bacterias fitopatógenas y pruebas de patogenicidad* [Versión 1.0].
- [64] Sifontes, Á. B. (2014). Biosíntesis de nanomateriales: hacia el avance de la nanotecnología verde. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 7(13), 56-68. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-56912014000200056&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-56912014000200056&lng=es&tlng=es)
- [65] Silva Cascante, A. V., Vazquez Mora, C.A. & Uría Cevallos G. R. (2020). Determinación del uso del mucilago de nopal en la construcción de la época colonial (caso convento de San Diego). *Project, Design and Management*, 2(2), (paginas)-. (agregar url) doi: 10.29314/pdm.v2i1.433
- [66] Solís Arévalo, K. K. (2020). *Actividad antimicrobiana de membranas electrohiladas a base de mucílago y aceite de salvia hispanica l./acetato de celulosa, contra microorganismos de importancia médica*.

Universidad Autónoma de Nuevo León.

<http://eprints.uanl.mx/21053/1/1080314518.pdf>

- [67] Titus, D., James Jebaseelan Samuel, E., & Roopan, S. M. (2019). Nanoparticle characterization techniques. En *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*, 303–319. doi:10.1016/b978-0-08-102579-6.00012-5
- [68] Torres-Ponce, R. L., Morales-Corral, D., Ballinas-Casarrubias, M. de L., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2015). El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(8), 1837-1849.
- [69] Valencia-Gómez, L.E., Martel-Estrada, S.A., Vargas-Requena, C.L., Rodríguez-González, C.A., & Olivas-Armendariz, I. (2016). Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 37(3).
- [70] Vargas Mamani, J. J., Vera Vargas, G. V., & Suppé Tejada, N. A. (2019). Caracterización físico-química, microscópica de barrido y dispersión de rayos x del mucílago de cladodios de *Opuntia ficus indica* en la región alta de Tacna. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(3), 305-314. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2019000300003&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2019000300003&lng=es&tlng=es).
- [71] Vargas Rodríguez, L., Arroyo Figueroa Gabriela, Herrera Méndez Carlos Hernán, Pérez Nieto Antonio, García Vieyra María Isabel, & Rodríguez Núñez Jesús Rubén. (2016). Propiedades físicas del mucílago de nopal. *Acta Universitaria*, 26(NE-1), 8–11. Recuperado de: [https://www.actauniversitaria.ugto.mx/index.php/acta/article/view/839/pdf\\_112](https://www.actauniversitaria.ugto.mx/index.php/acta/article/view/839/pdf_112)
- [72] Vargas Rodríguez, L., Gamiño Arroyo, Z., Fuentes Ramírez, R., & Contreras López, D. (2018). *Mucílago de nopal y su aplicación en la obtención de biopolímeros. Naturaleza y Tecnología*. Universidad de Guanajuato. [http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/6361/1/2\\_Mucilago%20de%20nopal%20y%20su%20aplicaci%C3%B3n%20en%20la%20obteneci%C3%B3n%20de%20biopol%C3%ADmeros.pdf](http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/6361/1/2_Mucilago%20de%20nopal%20y%20su%20aplicaci%C3%B3n%20en%20la%20obteneci%C3%B3n%20de%20biopol%C3%ADmeros.pdf)

- [73] Wu, L. Y. L., Chwa, E., Chen, Z., & Zeng, X. T. (2008). A study towards improving mechanical properties of sol–gel coatings for polycarbonate. *Thin Solid Films*, 516(6), 1056–1062.
- [74] Zanela, J., Bilck, A. P., Casagrande, M., Grossmann, M. V. E., & Yamashita, F. (2018). Polyvinyl alcohol (PVA) molecular weight and extrusion temperature in starch/PVA biodegradable sheets. *Polímeros*, 28(3), 256–265. doi:10.1590/0104-1428.03417

## **ANEXO I: TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN**

La caracterización es el estudio de la estructura, propiedades y composición de una muestra. Para llevar a cabo una correcta caracterización, es necesario realizar pruebas basadas en el método científico. En el caso de esta investigación, se eligieron pruebas para evaluar características específicas que, en teoría, deben cumplir todas las membranas para quemaduras obtenidas mediante electrohilado, tales como: espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), para identificar las señales específicas de la muestra; microscopía electrónica de barrido (SEM), para confirmar que la membrana tenga nanofibras entrelazadas; prueba antimicrobiana y, finalmente, una prueba de rayadura para medir la resistencia al corte o fractura .

### **A.1.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)**

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica ampliamente utilizada para la identificación de estructuras moleculares y la composición química de muestras orgánicas, inorgánicas y poliméricas. Esta caracterización es posible gracias al principio físico de los enlaces presentes en las moléculas, ya que estos absorben ondas específicas de la radiación infrarroja, lo cual permite identificar no solo los grupos funcionales de la muestra sino también contaminantes y aditivos presentes en la muestra estudiada [40,48].

Esta técnica de caracterización se compone de tres fases. La primera consta de un interferómetro de Michelson, el cual, a partir de una fuente de radiación infrarroja, genera una señal de luz que pasará por un divisor de haz, separando la onda en dos partes iguales hacia dos espejos: uno fijo y otro móvil. La luz incidente en estos espejos regresará y se volverá a unir para irradiar la muestra que se interpone entre la onda combinada y el detector. El detector mide los patrones de interferencia para poder generar el interferograma; sin embargo, la información espectral está en dominio del tiempo, por lo cual es necesario aplicar una transformada de Fourier (véase Figura 29) para llevar esta información al dominio de la longitud de onda y así obtener una gráfica con espectros legibles [16].

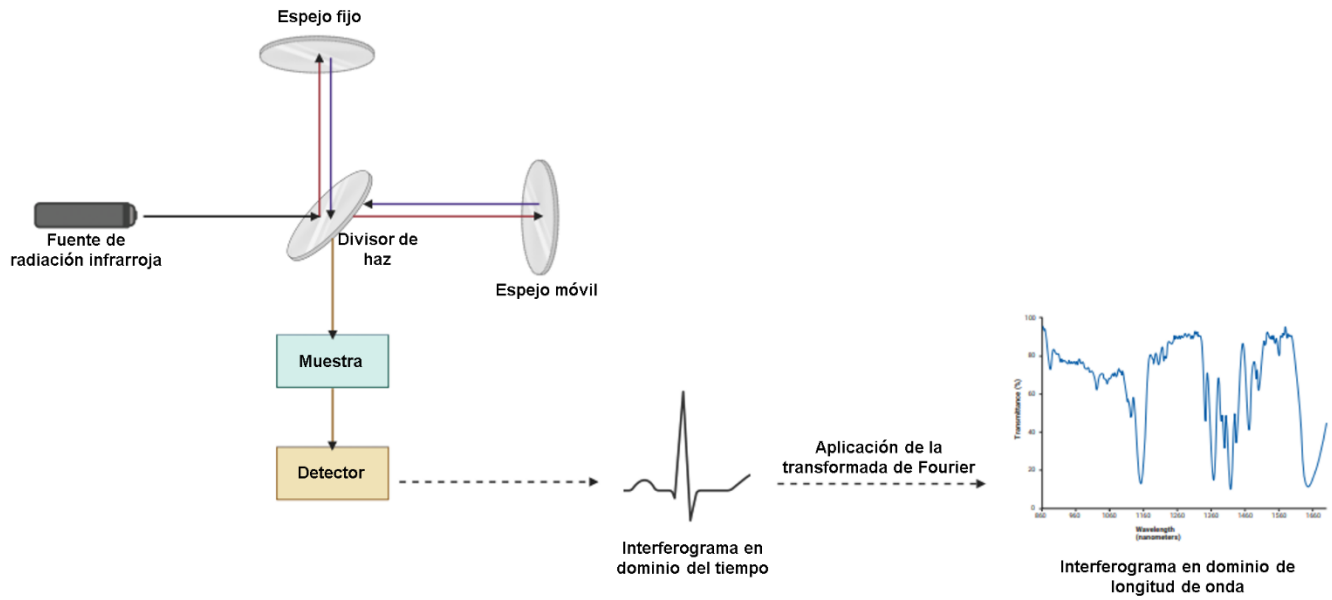


Figura 30 Ejemplificación del funcionamiento del FTIR

Tal y como se muestra en la Figura 29, la señal obtenida después de la aplicación de la transformada de Fourier (Ecuación 2) corresponde a un espectro donde se representa el número de onda ( $\nu$ ) en el eje 'x' frente a la transmitancia (%T), que indica el porcentaje de radiación transmitida, en el eje 'y'. Sin embargo, para el análisis de resultados en la investigación biomédica, se utiliza la absorbancia [40,48]; es decir, se aplica la fórmula matemática mostrada en la Ecuación 3 que permite identificar las moléculas presentes en la muestra, ya que cada una posee una 'huella digital' espectral única [67].

*Ecuación 2 Transformada de Fourier empleada en espectroscopía FTIR para generar el espectro a partir de la señal interferométrica.*

$$F(iw_0) = \int_{-\infty}^{\infty} F(t)e^{-iw_0t} dt$$

Donde  $w_0 = 2\pi f$

*Ecuación 3 Relación matemática entre transmitancia (%T) y absorbancia (A), utilizada para el análisis espectroscópico.*

$$A = -\log(T)$$

### A.1.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

El microscopio más utilizado es el óptico, denominado así porque su funcionamiento se basa en iluminar la muestra con luz blanca y usar lentes de vidrio para ampliar la imagen. La resolución de un microscopio se define como su capacidad de distinguir dos puntos cercanos como objetos

separados; en otras palabras, la distancia entre dos detalles debe ser lo suficientemente grande para que el microscopio pueda distinguirlos como elementos separados y no fusionarlos en una sola imagen. Los microscopios ópticos, al depender de la luz, tienen problemas al analizar muestras menores a 100 nm. Este límite de resolución es consecuencia de la longitud de onda de la luz visible, que varía entre 400 nm y 700 nm [34,62].

Debido a esta limitante, se desarrolló la microscopía electrónica de barrido, o por sus siglas en inglés, *SEM*. Gracias a la dualidad onda-partícula, es posible modificar el *momentum* de un electrón con distintos rangos de voltaje (generalmente entre 1 y 30 keV), consiguiendo así longitudes de onda más pequeñas, aumentando la resolución y la interacción con materiales de escala nanométrica. En la Figura 30 se representan los componentes principales de un microscopio SEM.

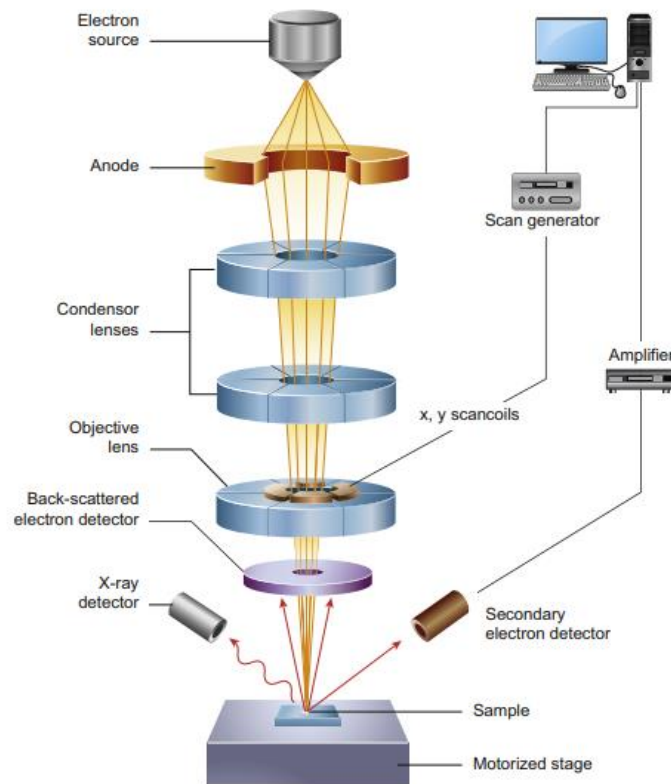


Figura 31 Componentes principales de un microscopio SEM. Recuperado de Inkson, B. J. (2016)

El haz de electrones cargados es guiado por un campo magnético hacia un punto específico de la muestra; al interactuar atómicamente con ella, se emiten señales hacia los detectores. Estas señales se sincronizan con la ubicación de incidencia del haz y su intensidad, generando así un píxel. Al escanear secuencialmente toda la superficie de la muestra, se logra generar una imagen. Esta imagen determina con precisión el grosor, la morfología y la uniformidad de la muestra analizada. [25,34,62]

### *A.1.3 PRUEBA MICROBIANA*

Las células bacterianas han sido responsables de muchas muertes a lo largo de la historia de la humanidad. Por ello, se han desarrollado pruebas estandarizadas para identificar aquellas sustancias que puedan hacerles frente, ya sea eliminándolas (bactericidas) o inhibiendo su crecimiento y reproducción (bacteriostáticas).

Durante décadas, el uso de plantas y sus derivados, como la baba del nopal, ha sido relevante. A pesar de que no se conocía con certeza cómo actuaban en beneficio del humano, era claro que tenían propiedades curativas y, conforme se estandarizaron pruebas, se descubrió que algunas plantas y sus derivados contaban con una alta actividad antibacteriana y ayudaban a la recuperación de ciertas heridas, como las causadas por quemaduras [60].

Para evaluar la actividad antimicrobiana de una membrana generada por electrohilado, se utiliza la norma ASTM E2149, ya que se enfoca en probar agentes microbianos ligados a una superficie no uniforme. Durante este procedimiento, se conoce la concentración inicial de bacterias, lo que facilita una comparación en los resultados. Además, tiene adaptaciones que permiten comparar la actividad antimicrobiana contra bacterias Grampositivas y Gramnegativas. [11,38]

### *A.1.4 PRUEBA DE RAYADURA*

La dureza es una propiedad mecánica que mide la resistencia de un material a ser rayado o penetrado por otro cuerpo. Tomando esto como base, se adapta el análisis ASTM D3363 de Wolff-Wilborn, (véase Figura 31). Las membranas obtenidas mediante electrohilado se someterán a esta adaptación de rayado con diversos lápices de grafito para evaluar su dureza y resistencia mecánica al corte o fractura [17].

Esta adaptación conlleva lo siguiente:

- a) El primer paso consiste en sacarle punta al lápiz para asegurar que el grafito quede lo más uniforme posible en los bordes.
- b) A continuación, se lija la punta del lápiz con lija de agua para obtener una superficie circular, lo que permitirá generar una rayadura con fuerzas constantes al poner el lápiz a 45 grados.

- c) Se reposa el lápiz a 45 grados respecto a la horizontal en un "carrito" nivelado y calibrado, el cual cuenta con dos ruedas traseras y un seguro el cual ayuda a fijar el lápiz en su posición.
- d) Finalmente, se coloca la muestra sobre un trozo de aluminio y se traza una rayadura de 2 cm aplicando una fuerza leve y constante sobre la parte trasera del carrito, para asegurar que la rayadura en la película sea uniforme y se pueda determinar con qué lápiz se desgasta la muestra.

Se utilizarán lápices que van desde el 9B hasta el 10H sin contemplar el lápiz F. A estos lápices se les asignó un valor del 1 al 20 para poder hacer diferencias relativas en la dureza y resistencia mecánica de las muestras.

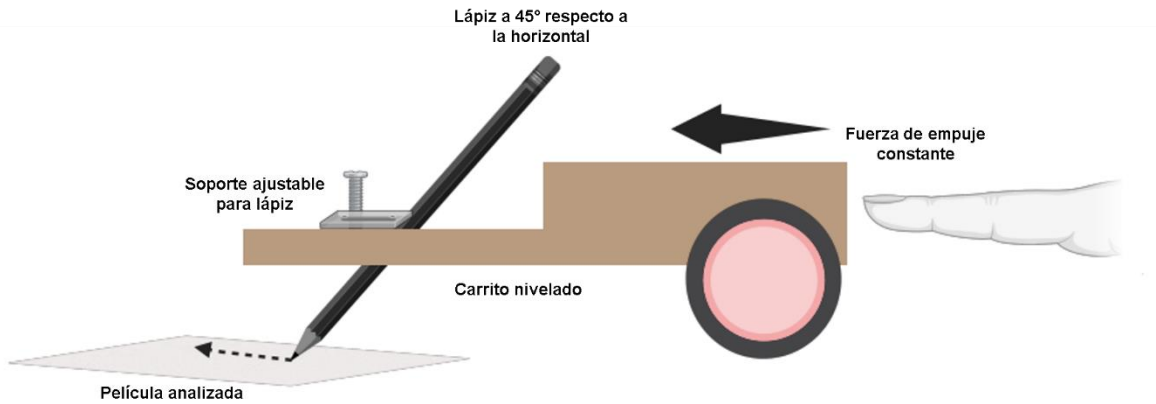


Figura 32 Ejemplificación de la prueba de rayadura

## ANEXO II: VALORES EQUIVALENTES PRUEBA DE RAYADURA

En la Tabla 5 se puede observar que a cada lápiz usado en esta prueba se le asignó un valor equivalente, que va desde el 1 hasta el 20. Esto facilita los cálculos cuantitativos y permite analizar de mejor forma el aumento de la resistencia entre las membranas con mucílago de nopal y aquellas sin mucílago en su estructura.

Tabla 5 Valores equivalentes entre el número de lápiz y el valor utilizado para calcular la diferencia relativa.

Valores equivalentes	
9B	1
8B	2
7B	3
6B	4
5B	5
4B	6
3B	7
2B	8
B	9
HB	10
H	11
2H	12
3H	13
4H	14
5H	15
6H	16
7H	17
8H	18
9H	19
10H	20

Los lápices más duros son aquellos que tienen un valor equivalente más alto, es decir, los de la familia "H". En la Figura 32 se muestran las familias de lápices ordenadas de menor a mayor dureza. Según la literatura consultada, una membrana electrohilada a partir de PVA y quitosano, es muy

elástica y tiene buenas propiedades mecánicas. A partir de esto, se espera que, al introducir el mucílago de nopal, que sirve de soporte y estructura dentro del cladodio del nopal, las características físicas de estas membranas aumenten.



Figura 33 Lápices ordenados por dureza, siendo la familia “B” la que presenta menos dureza