



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería



SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOFIBRAS DE ÓXIDO DE
POLIETILENO/QUITOSANO RETICULADAS POR UV DOPADAS CON
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

Presenta:

José Ignacio del Río de Vicente

Dirigido por:

Dr. Eduardo Arturo Elizalde Peña
Dra. Gethzemani Mayeli Estrada Villegas

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Marzo 2019
México



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Especialidad en Ingeniería en Nanotecnología

Síntesis y Caracterización de nanofibras de óxido de polietileno/quitosano reticuladas por UV dopadas con nanopartículas de óxido de zinc

Opción de titulación
Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Ingeniero en Nanotecnología

Presenta:

José Ignacio del Río de Vicente

Dirigido por:

Dr. Eduardo Arturo Elizalde Peña
Dra. Gethzemani Mayeli Estrada Villegas

Dr. Eduardo Arturo Elizalde Peña
Presidente

Dra. Gethzemani Mayeli Estrada Villegas
Secretaria

Dr. José Alberto Rodríguez Morales
Vocal

Dr. Carlos Guzmán Martínez
Suplente

Firma

Firma

Firma

Firma

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Marzo 2019
México

Agradecimientos

Se agradece al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) por el acceso sus instalaciones para desarrollar este trabajo de tesis

Un agradecimiento al proyecto Apoyo a la Infraestructura: “Fortalecimiento de la infraestructura para el desarrollo de biomateriales y dispositivos médicos a través de la modificación de la técnica de electrohilado del laboratorio de reciente creación CIQA Unidad Monterrey” a través del CONACYT- 293350 por el soporte financiero para el desarrollo de la técnica.

Se agradece al Laboratorio Nacional en Innovación y Desarrollo de Materiales Ligeros para la Industria Automotriz (LANIAUTO), a través del CONACYT-294030 por la beca otorgada para desarrollar el presente trabajo.

Se agradece además a al proyecto “Desarrollo de materiales nanoestructurados en CIQA y su impacto en el sector industria” a través del CONACYT- 296395 por dar parte del soporte financiero al presente trabajo.

Se agradece al PRODEP a través del Proyecto UAQ-PPTC-340 por el apoyo brindado a la difusión de este proyecto.

Se agradece a la QFB Lourdes Palma Tirado por su apoyo con diversas microscopías.

Dedicatoria

A mi familia, que han dado una parte de ellos mismos para permitirme crecer.

A mi madre, por apoyarme y darme la libertad de convertirme en lo que soy.

***“Sí he logrado ver más lejos, ha sido porque he subido a
hombros de gigantes”***

- Isaac Newton

ÍNDICE GENERAL

Índice General	i
Índice de Figuras.....	iv
Índice de Tablas	vi
Resumen.....	vii
Abstract	viii
Capítulo I. Introducción	1
Capítulo II. Marco Teórico	3
2.1 Ingeniería de Tejidos.....	3
2.1.1 Matriz Extracelular	4
2.1.2 Sistemas de andamiaje.....	5
2.2 Proceso de Electrohilado	6
2.2.1 El sistema de electrohilado	7
2.2.2 Funcionamiento del electrohilado.....	7
2.3 Tipos de electrohilado	8
2.3.1 Variaciones de la técnica	10
2.4 Parámetros del electrohilado.....	11
2.4.1 Parámetros de solución	12
2.4.2 Parámetros de Proceso	15
2.4.3 Parámetros ambientales	17
2.5 Aplicaciones.....	20
2.5.1 Ingeniería de Tejidos	20
A) Andamiaje Celular.....	20
B) Apósitos	21
C) Liberación de Fármacos.....	21
2.5.2 Filtración	21
2.5.3 Industria textil.....	22
2.6 Quitosano.....	23
2.7 Óxido de Polietileno (PEO)	24
2.8 Fibras de Quitosano/PEO	25

2.9 Reticulación (cross-linking)	25
2.9.1 Reticulación por UV	26
Capítulo III. Hipótesis y Objetivos	28
3.1 Hipótesis	28
3.2 Objetivo General	28
3.3 Objetivos Particulares	28
Capítulo IV. Justificación.....	29
Capítulo V. Metodología	30
5.1 Materiales y Reactivos	30
5.1.1 Reactivos.....	30
5.1.2 Materiales	30
5.1.3 Equipos para la fabricación del material.....	31
5.1.3.1 Equipo de electrospinning	31
5.1.3.2 Sistema de irradiación UV	31
5.1.4 Equipos de caracterización	32
5.1.4.1 Microscopio Óptico	32
5.1.4.2 Microscopio electrónico de Barrido (SEM).....	32
5.1.4.3 Espectroscopia por rayos X (XRD)	33
5.1.4.4 Espectroscopia de Infrarrojo (FT-IR)	33
5.1.4.5 Radiómetro.....	33
5.2 Metodología	33
5.2.1 Síntesis de nanopartículas de ZnO	33
5.2.2 Proceso de electrohilado	34
5.2.3 Inclusión de Nanopartículas	37
5.2.4 Reticulación	37
5.2.5 Hinchamiento.....	38
Capítulo VI. Resultados y Discusión	39
6.1 Síntesis de nanopartículas de Óxido de Zinc	39
6.1.1 XRD de NPs de ZnO.....	40

6.2 Optimización de Parámetros de solución	41
6.3 Caracterización de Fibras	48
6.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido.....	48
6.4 Inclusión de Nanopartículas de ZnO	50
6.4.1 XRD de Fibras obtenidas	52
6.4.2 Fluorescencia de rayos X por energía dispersiva (EDF)	55
6.4.3 Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR)	56
6.5 Hinchamiento	60
Capítulo VII. Conclusiones	63
Capítulo VIII. Perspectivas	64
Bibliografía	65
Anexos	74

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Pilares de la ingeniería de tejidos (Akter F, 2016)
- Figura 2. Ambiente extracelular (Mescher et al 2013)
- Figura 3. Patente de Formhals para la producción de fibras por medio de un campo eléctrico (US1975504A)
- Figura 4. Sistema de electrohilado y sus partes
- Figura 5. Formación del cono de Taylor en presencia de un campo eléctrico (Subbiah, et al 2005)
- Figura 6. Cuadro comparativo de los tipos de electrospinning A) Melt-spinning (Ko et al 2015), B) Needle-Less electrospinning (Begum et al 2017) C) Near field Electrospinning (He et al. 2018) y D) Stable jet electrospinning (Zhou et al 2013).
- Figura 7. Sistema de electrohilado coaxial (X. Qin, et al 2017)
- Figura 8. Parámetros que influyen en el proceso de electrohilado (Afshari et al 2017)
- Figura 9. Comparación entre la matriz extracelular de varios tejidos (A, C, E) y fibras electrohiladas (B, D, F) reproducido de Bridge et al. (Bridge et al. 2015)
- Figura 10. Estructura química del quitosano
- Figura 11. Estructura del Óxido de Polietileno
- Figura 12. Mecanismo de reacción propuesto por Zhou et al. (Zhou et al, 2012)
- Figura 13. NS24 Nanospinner™ de la marca Inovenso® (Turquía).
- Figura 14. A) Diagrama de sistema de irradiación UV, B) Sistema usado en este proyecto
- Figura 15. Diagrama de flujo representando el proceso que se utilizó para determinar la solución a utilizar para la fabricación de fibras.
- Figura 16. Sistema de electrohilado
- Figura 17. A) Nanopartículas de ZnO, B) tamaño de partícula
- Figura 18. XRD de las nanopartículas de ZnO sintetizadas
- Figura 19. XRD Referencia del Óxido de Zinc
- Figura 20. Formación del cono de Taylor y proyección de fibra de la muestra PEO670QM303
- Figura 21. Vista de Microscopio óptico de fibras exitosas

Figura 22. A) Fibras de la muestra PEO670QM303 y B) Histograma de tamaño de la muestra PEO670QM303

Figura 23. A) Fibras de la muestra PEO₆70QM303T y B) Histograma de tamaño de la muestra PEO₆70QM303T

Figura 24. SEM de las fibras con un dopaje de ZnO NPs del 1% en A) magnificación 50,000x y B) magnificación 100,000x

Figura 25. A) SEM de la muestra D con un contenido de 17% de PETA, B) Histograma de la muestra D. C) SEM de la muestra E con un contenido de 25% de PETA, D) Histograma de la muestra E.

Figura 26. A) SEM de la muestra D irradiada durante 80 minutos. Y B) Histograma de la muestra D

Figura 27. XRD de a) ZnO NPs, b) Quitosano Peso medio y C) Material finales: Quitosano/PEO/ZnO NPs y D) PEO

Figura 28. Espectro XRD de la mezcla Quitosano/PEO/ZnO procesado para eliminar el ruido.

Figura 29. EDS de la muestra CS-PE-ZnO

Figura 30. Muestra CS-PEO-ZnO NPs

Figura 31 Espectro IR de A) PEO, B) Quitosano y C) PETA.

Figura 32. Espectro IR de A) Mezcla Quitosano/PEO, B) Mezcla CS/PEO dopada con ZnO y C) Mezcla CS/PEO con PETA y dopada con ZnO

Figura 33. Porcentaje de hinchamiento a 60, 80, 100 y 120 minutos

Figura 34. SEM de muestra con 17% de PETA posterior al proceso de hinchamiento.

Figura 35. SEM de muestra con 25% de PETA posterior al proceso de hinchamiento.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características que debe tener un sistema de andamiaje (O'Brien, 2011)

Tabla 2. Efecto de los parámetros en la morfología de las fibras (Duque et al 2013).
Tabla 3. Reactivos utilizados

Tabla 4. Parámetros evaluados en las pruebas de electrohilado

Tabla 5. Resumen de las soluciones finales obtenidas y parámetros a los cuales se hilaron.

Tabla 6. Pruebas realizadas con PEG y Quitosano de alto peso molecular a una concentración total del 5% usando ácido acético al 2%.

Tabla 7. Pruebas realizadas con PEG y Quitosano de alto peso molecular a una concentración total del 3% usando ácido acético al 2% como solvente.

Tabla 8. Pruebas realizadas con PEG y Quitosano de medio peso molecular a una concentración total del 3% con quitosano de Peso molecular medio.

Tabla 9. Pruebas realizadas con PEO 100000 gmol^{-1} y Quitosano de medio peso molecular a una concentración total del 3%.

Tabla 10. Pruebas realizadas con PEO 600000 gmol^{-1} y Quitosano de peso molecular medio a una concentración total del 3% con un solvente de ácido acético al 70%.

Tabla 11 A) Rango de parámetros que se fueron variando para optimizar el proceso,
B) parámetros finales para la producción de fibras

Tabla 12. Adición de Tritón-X100® como tensoactivo

Tabla 13 Muestras finales obtenidas

Tabla. 14 Contenido por elemento

Tabla. 15 Componentes y parámetros de las muestras finales

RESUMEN

La técnica de electrohilado permite la generación de fibras poliméricas ultrafinas con una gran variedad de aplicaciones como en la ingeniería de tejidos. En particular, las estructuras fibrosas electrohiladas basadas en el quitosano (CS) y el óxido de polietileno (PEO) son ampliamente utilizadas en la ingeniería de tejidos gracias a sus propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad en el caso del quitosano y, biotolerancia en el caso del PEO además presentan la ventaja de que su estructura mimetiza la matriz extracelular y fomenta la migración celular. De igual manera se ha reportado el uso de nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs) como agentes antimicrobianos dentro de estas estructuras para su uso en la curación de heridas. El quitosano por si solo presenta dificultad para ser utilizado en la técnica de electrohilado debido a su distribución de cargas, en cambio el PEO es fácilmente electrohilable pero tiene la limitación de ser soluble en un medio acuoso. Con frecuencia se utilizan mezclas Quitosano/PEO para trabajar la técnica de electrohilado pero se mantiene el PEO en bajas proporciones debido a que por su solubilidad no resulta ideal para aplicaciones dentro del cuerpo humano. En este trabajo se obtuvieron fibras de quitosano/PEO dopadas con ZnO NPs y sometidas a un proceso de reticulación por radiación UV. Se determinaron los parámetros de la fabricación de fibras con una proporción CS: PEO de 30:70 dopadas con 3% de ZnO NPs. La caracterización por SEM mostró que se obtienen fibras de alrededor de 250 nm de grosor con ZnO NPs de alrededor de 80 nm. La espectroscopia por XRD mostró la presencia de las nanopartículas en las fibras con una estructura cristalina de Wurzita. Las fibras obtenidas se sometieron a un proceso de reticulación por UV utilizando dos concentraciones de iniciador Pentaeritrol triacrilato (PETA) y sometidas a diferentes tiempos de exposición al UV. Se utilizó la prueba de hinchamiento para demostrar el grado de reticulación. Se logró demostrar que fibras con un 25% de iniciador PETA e irradiadas por un tiempo de 120 min llegan a hinchar hasta un 770% de su peso inicial. Esta técnica permite la fabricación de hidrogeles fibrosos con buena resistencia a un medio acuoso, que tienen la posibilidad de doparse con nanopartículas y que mantienen su estructura fibrosa lo cual presenta un gran potencial para su uso en la ingeniería de tejidos.

Palabras clave: Quitosano, electrohilado, ingeniería de tejidos, reticulación

ABSTRACT

The electrospinning technique allows the fabrication of ultrafine polymeric fibers with a great variety of applications such as tissue engineering. In particular, the fabrication of fibrous structures based on chitosan (CS) and polyethylene oxide (PEO) are widely used in tissue engineering due to the biocompatibility and biodegradability of chitosan and the biotolerability of PEO while their fibrous structure mimics the extracellular matrix and enhances cellular migration. Additionally, it has been reported the use of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) as antimicrobial agents in these structures to use them as wound dressings. Chitosan by itself is hard to electrospin due to its deficient charge distribution, meanwhile PEO is easily electrospun but has the limiting property that it is soluble in an aqueous medium. Frequently, Chitosan/PEO mixtures are used in the electrospinning technique but the proportion of PEO is maintained to a minimum in tissue engineering applications due to the fact that its solubility limits its use in the human body. In this project ZnO NPs doped chitosan/PEO fibers were produced and crosslinked by an UV irradiation process. First, fabrication parameters were optimized for 30:70 CS:PEO fibers with a 3% ZnO NPs content. Scanning electron microscopy showed fibers around 250nm thick with ZnO NPs of around 80nm. X-ray spectroscopy confirmed the presence of ZnO NPs within the fibers with a crystalline wurzite structure. The produced fibers were UV irradiated using two concentrations of pentaerythritol triacrylate (PETA) as initiator and using different exposure times. Swelling test was used to show the crosslinking achieved. We demonstrate that fibers with a 25% PETA concentration irradiated 120 min achieve a swelling of up to 770% of their initial weight. This technique allows the fabrication of fibrous hydrogels that have a good resistance against dissolution in an aqueous medium, they can be doped with nanoparticles and they maintain their fibrous structure, all of which represents a great potential for its use in tissue engineering.

Key Words: Chitosan, electrospinning, Tissue Engineering, UV Crosslinking, nanofibers.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El cuidado de la salud y la medicina han hecho grandes avances en la calidad de vida de la humanidad y se ha aumentado exponencialmente la capacidad que tenemos para cuidar, atender y curar diferentes enfermedades y condiciones. A pesar de los grandes avances en la ciencia y tecnología de la salud, la pérdida o el funcionamiento defectuoso de un tejido siguen siendo de los problemas más frecuentes, costosos y complicados en el cuidado de la salud moderno. La ingeniería de tejidos surge como la combinación multidisciplinaria entre diferentes áreas del conocimiento como como la biología, la física, la química, la ciencia de materiales, la ingeniería y muchas disciplinas más para atender este problema en la salud que ha estado presente durante toda la historia de la humanidad (Ratner et al, 2013).

Una de las áreas donde la ingeniería de tejidos ha tenido un gran impacto es en el desarrollo de materiales con aplicaciones biomédicas. En este sentido se han desarrollado materiales de todo tipo que pueden ser utilizados como prótesis, como interfaces entre dispositivos y el cuerpo, como apósitos, o como matrices extracelulares para el crecimiento de tejidos (Kim, E. et al, 2014). Para estos últimos materiales, materiales que imiten la matriz extracelular, existen diversas técnicas de fabricación, cada una con sus ventajas y desventajas. Una de estas técnicas que se ha explorado ampliamente durante los últimos años es el electrohilado, o electrospinning, que permite crear estructuras fibrosas que asemejan a la estructura de una matriz celular.

Este trabajo busca el desarrollo de un nuevo material basado en quitosano y óxido de polietileno, utilizando la técnica de electrohilado, que posea características aptas para una futura aplicación dentro de la ingeniería de tejidos. Aunado al electrohilado, que nos permite la obtención de estructuras fibrosas, un proceso de reticulación permite mejorar las propiedades mecánicas del material, generando un material que asemeja de manera más fiel a una matriz extracelular (Muzzarelli, et al 2009). Las principales características que este material debe poseer son: una estructura fibrosa

con una porosidad adecuada, ser biocompatible, biodegradable y tener una adecuada resistencia a la solubilidad en un medio acuoso (Zhang, et al 2015).

Se eligieron dichos materiales, el quitosano y óxido de polietileno, debido a que son materiales versátiles que ya han sido explorados dentro de la ingeniería de tejidos. Investigaciones previas han utilizado el quitosano y el óxido de polietileno en una gran variedad de presentaciones, ya sea en películas, geles, membranas, fibras, perlas, redes, nanopartículas, esponjas, etc (Popat, 2010; Frantz, et al. 2010; Gunatillake et al 2003, Elsabee et al, 2012). De igual manera hay investigaciones que respaldan el uso de la técnica de electrohilado para la fabricación de fibras de quitosano y óxido de polietileno (Kumar, 2000). Este trabajo se fundamenta en estas investigaciones y utiliza un método de reticulación para mejorar la estructura fibrosa generada para que asemeje de manera más fiel a una matriz extracelular con buenas características para su uso en la ingeniería de tejidos.

Este trabajo busca expandir en los métodos de fabricación de biomateriales para obtener un biomaterial con características óptimas para su uso en ingeniería de tejidos. De esta manera en este trabajo se exploran los parámetros, condiciones, materiales y procedimiento necesario para la elaboración de un material que cumpla con todo lo mencionado y que sirva como punto de partida para futuras investigaciones.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Ingeniería de Tejidos

La ingeniería de tejidos es un área de la medicina que se deriva de la necesidad de reemplazar o reconstruir con tejidos funcionales aquellos perdidos o dañados. El término es reciente en la ciencia, utilizándose a partir de 1988, para describir el campo de la medicina enfocado a la regeneración de tejidos a partir de células con el apoyo de los biomateriales, sistemas de andamiaje y factores de crecimiento. (Heineken y Skalak, 1991)

A pesar de los avances en la medicina moderna, los tratamientos modernos, que incluyen prótesis artificiales, trasplantes y terapias farmacológicas, no logran una restauración completa del tejido dañado lo que puede derivar en tejidos que no sean del todo funcionales o que no sean estéticamente satisfactorios. Para enfrentar esta problemática la ingeniería de tejidos reúne los esfuerzos, avances y desarrollos de diversas áreas entre las que se pueden enlistar la ingeniería, las ciencias físicas, las ciencias biológicas, la bioquímica, la biología molecular, la ciencia de materiales y la nanotecnología. La ingeniería de tejidos consta de tres pilares en los que se basan todos los desarrollos de esta área los cuales se muestran en la figura 1.



Figura 1. Pilares de la ingeniería de tejidos (Akter F, 2016)

Las células son la materia prima en la ingeniería de tejidos en donde se busca la su diferenciación. Los sistemas de andamiaje tienen la función de ser una matriz extracelular artificial donde las células puedan crecer, proliferar y orientarse para adquirir la estructura y funcionalidad deseadas. Las señales bioquímicas y los factores de crecimiento son las moléculas necesarias para un correcto crecimiento y una correcta diferenciación de las células que se están utilizando.

2.1.1 Matriz Extracelular

Una matriz extracelular (MEC) es el componente no celular presente en los tejidos el cual cumple una función estructural. Una MEC forma una red heterogénea la cual es compuesta de aproximadamente hasta 300 proteínas (Yue, 2014). Los componentes principales incluyen colágenos, proteoglicanos, elastinas, y glicoproteínas de adhesión. Cada proteína tiene distintas propiedades físicas y químicas. Los colágenos, en sus diferentes tipos, confieren elasticidad al tejido, mientras que las glicoproteínas de adhesión mantienen a las células fijas en su lugar.

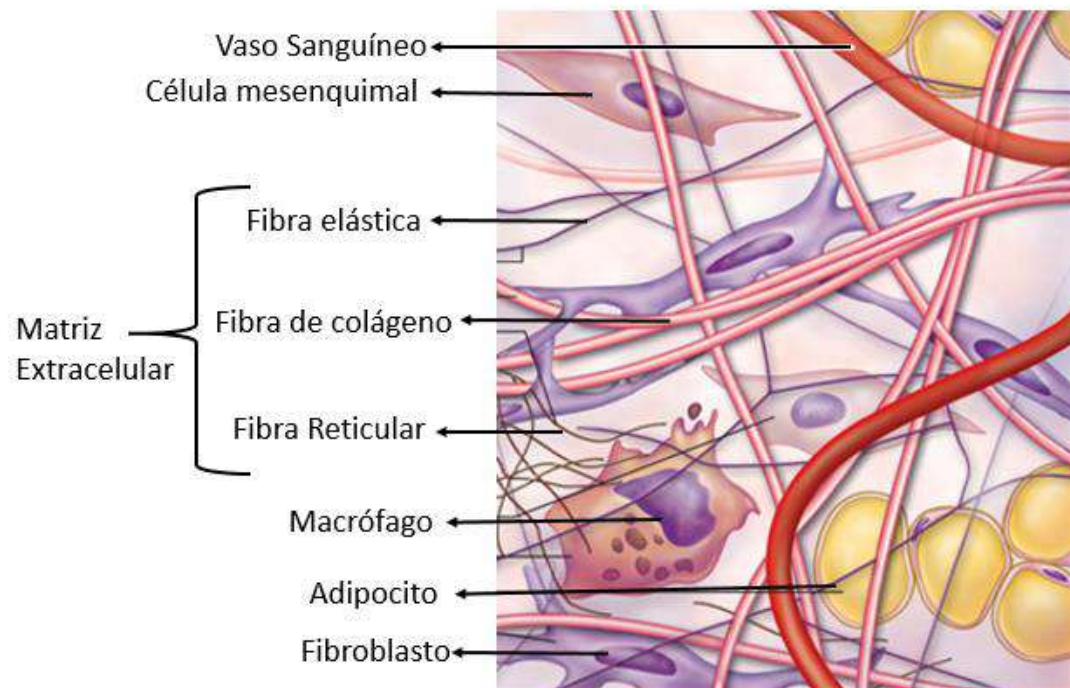


Figura 2. ambiente extracelular (Mescher et al 2013)

Como se observa en la figura 2, los principales componentes de una matriz extracelular son componentes fibrosos. Estos componentes fibrosos varían en tamaño dependiendo de su composición y ubicación, llegando a ser de fibras de unos cuantos nanómetros. Es debido a esto que se busca utilizar técnicas como el electrohilado, que produce fibras, para generar sistemas de andamiaje que mimeticen la matriz extracelular.

2.1.2 Sistemas de andamiaje

Los sistemas de andamiaje, o *scaffolds*, son un pilar fundamental de la ingeniería de tejidos pues es en este espacio en el que las células se desarrollaran. Un sistema de andamiaje celular tiene como objetivo fungir como un sustituto de matriz extracelular de manera temporal, de igual manera un sistema de andamiaje tiene que cumplir con las principales funciones de una MEC: soporte estructural, fomentar la diferenciación, proliferación y migración celular (Chan et al 2008). Para poder cumplir con su función, los sistemas de andamiaje deben tener las propiedades descritas en la tabla 1.

Tabla 1. Características que debe tener un sistema de andamiaje (O'Brien, 2011)

Propiedad	
Biocompatibilidad	<ul style="list-style-type: none"> • El sistema debe ser biocompatible para permitir la adhesión celular • El sistema debe generar una respuesta inmune mínima o inexistente
Biodegradabilidad	<ul style="list-style-type: none"> • El sistema debe ser biodegradable para permitir a las células formar su propia MEC • Los productos de la degradación deben ser no-tóxicos
Propiedades Mecánicas	<ul style="list-style-type: none"> • El sistema debe tener propiedades mecánicas consistentes con el sitio anatómico de implante • Deben ser lo suficientemente resistentes para resistir el manejo durante su implantación
Arquitectura	<ul style="list-style-type: none"> • El sistema debe permitir la adecuada difusión de nutrientes y células

En la actualidad se han utilizado una gran variedad de estructuras para emular a una matriz extracelular. Entre las estructuras que más se asemejan a una MEC para ser utilizadas como sistema de andamiaje se destacan las nanofibras, los hidrogeles y las impresiones 3D (Laurencin et al, 2015). Este proyecto pretende fabricar fibras

electrohiladas que cumplan los requisitos para poder tener un potencial uso dentro de la ingeniería de tejidos como un sistema de andamiaje.

2.2 Proceso de Electrohilado

El proceso de electrohilado, o *electrospinning*, se encuentra basado en el principio de la unión de los conceptos del hilado en seco o extrusión junto al electrospray que se remonta hasta 1897. Desde esa época, la influencia de un campo electrostático en una solución polimérica ya era conocida y fue detallado en los estudios de Zeleny en 1914 (Zeleny, 1914). El primer dispositivo de electrohilado comercial fue patentado en Estados Unidos por Formhals en 1934, figura 3, (patente **US1975504A**). Formhals patentó un dispositivo para electrohilar una solución de acetato de celulosa en etilenglicol

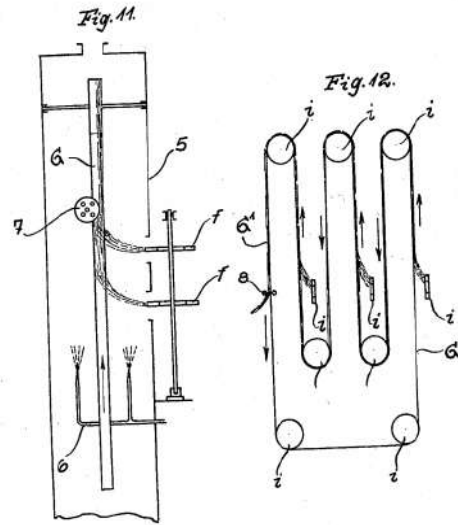


Figura 3 .Patente de Formhals para la producción de fibras por medio de un campo eléctrico (US1975504A)

utilizando un voltaje de 57kV (Formhals, 1934). El estudio sobre el proceso de electrohilado continuó a partir de ese momento, pero fue hasta 1994 que se le dio difusión a la técnica bajo el nombre de “electrohilado” (*electrospinning*).

El electrohilado se basa en el uso de fuerzas electrostáticas junto con las propiedades conductivas y de viscosidad de una solución polimérica para la generación de una fibra. La diferencia de potencial entre los dos extremos de un campo electrostático de alto voltaje es lo suficientemente grande para atraer el polímero, rompiendo así la tensión superficial de la gota de solución generándose una fibra continua de polímero. La calidad de las fibras generadas depende de diferentes parámetros, tanto de la solución polimérica utilizada como de las condiciones en el proceso de la generación de fibras. En los últimos años se ha investigado principalmente la optimización de los parámetros por lo que se han

podido obtener fibras electrohiladas que van desde los 2nm hasta los 500nm (Bhardwaj, 2010). EL mayor control que se ha desarrollado en los últimos años sobre la calidad de las fibras electrohiladas ha generado un nuevo interés por este procedimiento ya que permite generar fibras específicas de manera rápida y de bajo costo. Las características que han generado interés en el electrohilado son la gran área superficial con relación al volumen, la porosidad controlable y la morfología de las fibras que se pueden emplear en diversas aplicaciones como lo son sistemas de filtrado, sistemas textiles o como biomateriales ya sea en la liberación de fármacos o como sistemas de andamiaje para la ingeniería de tejidos.

2.2.1 El sistema de electrohilado

El sistema de electrohilado estándar, figura 4, consta de 4 componentes principales: la fuente de voltaje, la cual genera el campo eléctrico que acarreará a la solución, la aguja o “*spinneret*”, que determinará el tamaño de la gota de la solución lo que influye en la tensión superficial presente, la bomba, la cual determina el flujo que alimentara a la solución, y por último, la placa recolectora, la cual funciona como contra-electrodo y es donde se acumularán las fibras formadas (Afshari, 2016).

2.2.2 Funcionamiento de la técnica de electrohilado

El proceso de electrohilado comienza con la generación de un campo eléctrico entre la punta de la aguja y el colector, los cuales actúan como electrodos. Al aplicarse el campo eléctrico, el menisco de la gota de solución polimérica que se encuentra en la punta de la aguja sufre una deformación por la influencia de las fuerzas

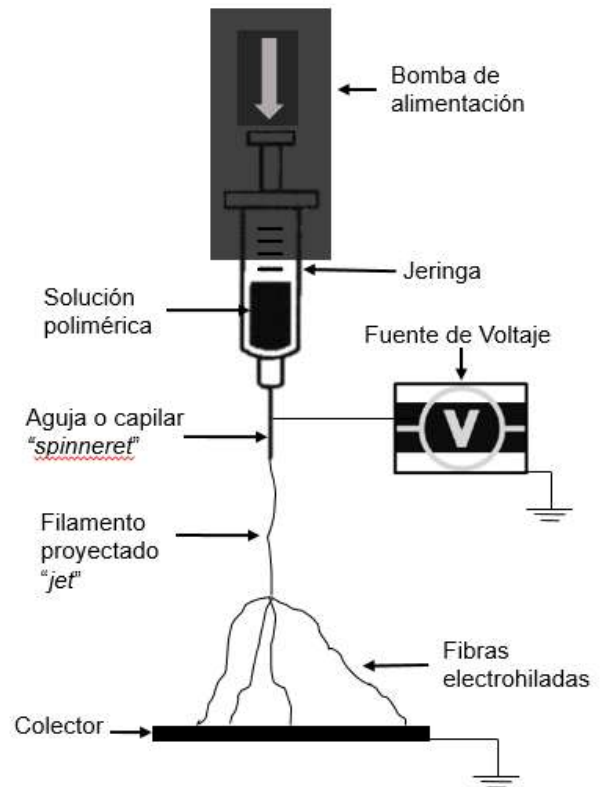


Figura 4 Sistema de electrohilado y sus partes

electroestáticas. Para que ocurra la deformación en la gota de solución es necesario que la solución polimérica presente una distribución de cargas. Esta distribución de cargas puede ser lograda con la adición de sales o iones, el uso de un co-polímero

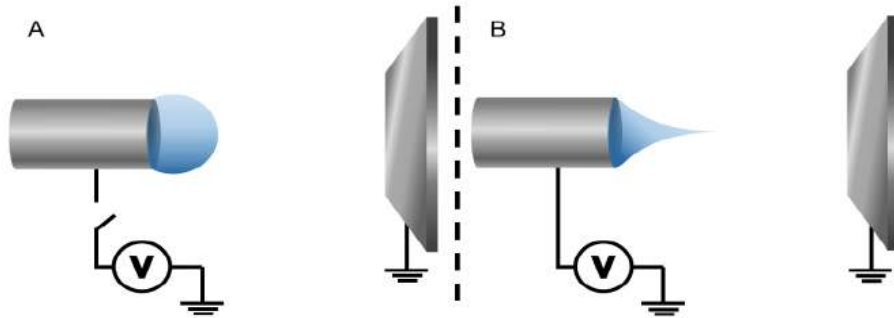


Figura 5. Formación del cono de Taylor en presencia de un campo eléctrico (Subbiah, et al 2005)

acarreador, o el uso de una segunda solución impulsora en el caso del electrohilado coaxial. Al sufrir la influencia del campo electroestático la gota se deforma en forma de cono el cual es conocido como “cono de Taylor”, figura 5. Una vez que la fuerza de atracción electroestática es lo suficientemente intensa para superar la tensión superficial de la gota se genera un chorro proyectado en forma de fibra hacia el colector.

La solución es alimentada al sistema por medio de una bomba que tiene un flujo que ronda la magnitud de mililitros por hora (mL/h). La fuerza con la que las fibras son atraídas hacia la placa recolectora es varios órdenes de magnitud mayor a la fuerza de gravedad por lo que el sistema de electrohilado puede orientarse en cualquier dirección sin alterar las características de las fibras obtenidas. El acomodo más utilizado es un acomodo horizontal en los sistemas pequeños, y vertical hacia arriba en sistemas de mayor producción. El colector, en donde se depositan las fibras, suele ser la parte más modificada del sistema ya que el tipo de colector utilizado influye en el acomodo y ordenamiento de las fibras obtenidas y depende tanto del tipo de polímero utilizado como de la función para la cual serán utilizadas las fibras.

2.3 Tipos de electrohilado

Existen una variedad de tipos de electrohilado, de las cuales podemos considerar cinco tipos generales: El electrohilado fundido (melt-electrospinning), el electrohilado libre de aguja (Needle-less electrospinning), el electrohilado de campo cercano (Near-field electrospinning o NFES), el electrohilado de chorro estable (Stable jet electrospinning o SJES) y el electrohilado por solución (solution-electrospinning). Cada variación de la técnica a su vez tiene la posibilidad de manejar varias modificaciones que afectan el tipo de fibras obtenidas. La técnica a utilizar depende principalmente del tipo de polímero que se esté utilizando y de la función final que se le va a dar (Afshari, 2016).

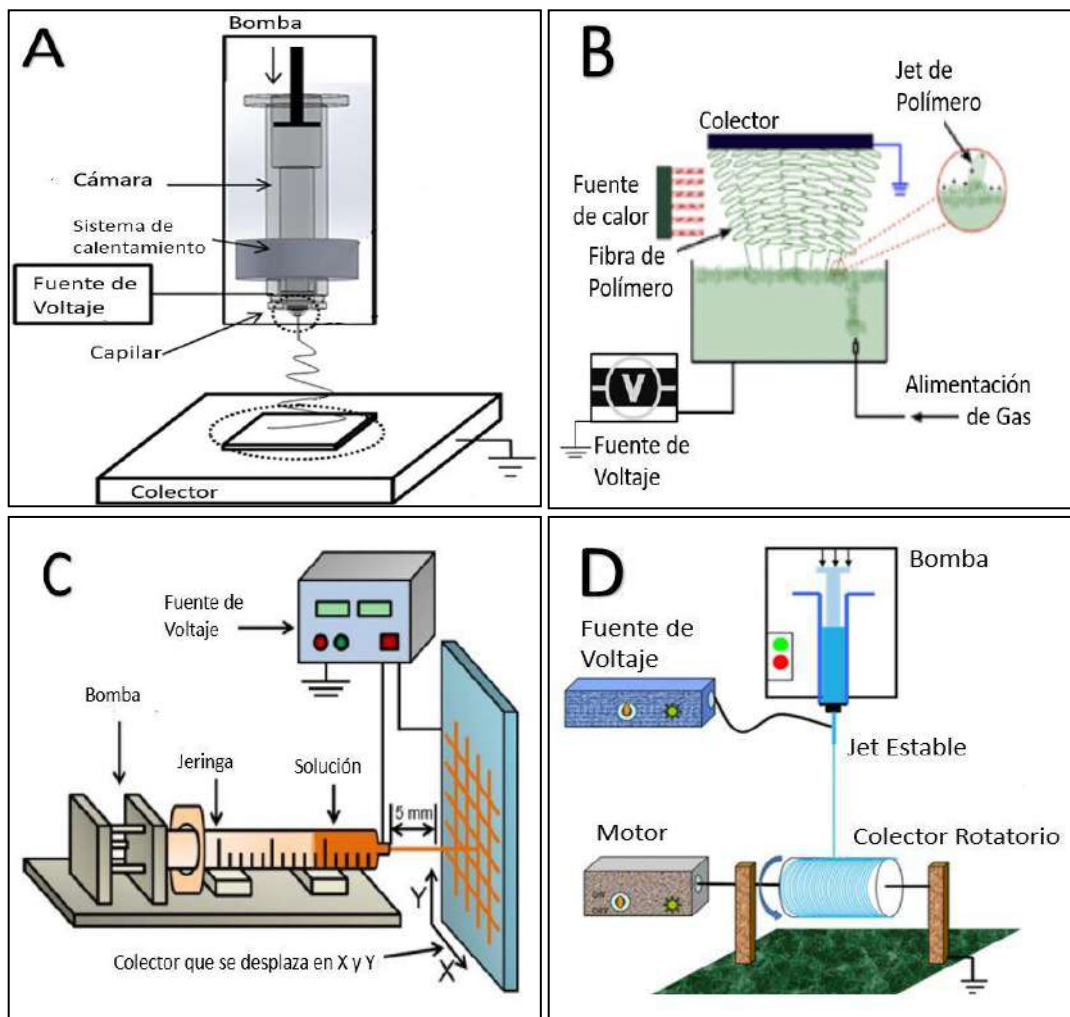


Figura 6. Cuadro comparativo de los tipos de electrospinning A) Melt-spinning (Ko et al 2015), B) Needle-Less electrospinning (Begum et al 2017) C) Near field Electrospinning (He et al. 2018) y D) Stable jet electrospinning (Zhou et al 2013).

El electrohilado fundido, *melt-electrospinning*, no utiliza un polímero en solución, sino que éste se funde para estar en estado líquido al momento de entrar al capilar (Nayak et al. 2016). El componente característico de este sistema es la cámara de calentamiento, figura 6A, donde se funde el polímero a hilar. Se utiliza principalmente para óxidos y materiales inorgánicos (Brown et al. 2016). El electrohilado de campo cercano (NFES) tiene como característica principal el uso de una mínima distancia entre la punta de la aguja y el colector. La distancia reportada para este diseño de electrohilado es de entre 500 μm a 3mm (Sun, D. et al.). El objetivo de manejar una distancia corta es poder tener un mayor control en la alineación de las fibras obtenidas así como requerir un menor voltaje para generar el campo eléctrico. El electrohilado libre de aguja (*needle-less electrospinning*) es una variación del electrohilado de campo cercano en donde no se utiliza una aguja para suministrar la solución. En lugar de esto se deposita la solución en forma de gota o en forma de una película extremadamente delgada en el ánodo del sistema (Yuan, 2016). El electrohilado de chorro estable (*Stable-jet electrospinning*) también trabaja con distancias menores a las distancias del electrohilado tradicional pero utiliza una mayor distancia que el electrohilado de campo cercano. El chorro de polímero que sale expulsado del cono de Taylor por la atracción electrostática tiene dos regímenes de comportamiento. El primero, el régimen corto, es estable, se comporta de forma predecible y ocurre en los primeros centímetros de la trayectoria. El electrohilado de chorro estable busca aprovechar la predictibilidad de este primer régimen de comportamiento para obtener fibras con una mayor alineación (Yuan, 2016).

2.3.1 Variaciones de la técnica

A partir de las de los tipos de electrohilado anteriores se pueden realizar varias variaciones para obtener diferentes tipos de fibras. Dentro de las variaciones más utilizadas se encuentran el electrohilado en húmedo (wet electrospinning), el electrohilado coaxial y el electrohilado en paralelo, entre otros.

En el electrohilado coaxial se utilizan un conjunto de agujas coaxiales, es decir que comparten el mismo eje, para generar fibras del tipo “core-shell” figura 7. En este caso al sistema se alimentan dos o más soluciones para generar la fibra. Esta técnica permite crear fibras polímero/polímero, polímero/inorgánica, o inorgánica/inorgánica. La principal ventaja de esta técnica es que facilita el electrohilado de sustancias poco conductoras, las cuales son difíciles de electroestirar por si solas. En esta técnica, la fibra conductora se somete a la fuerza electroestática que hala el polímero, sin embargo, la segunda fibra es arrastrada a causa de la primera por medio de una “fuerza de arrastre viscosa”. La solución conductora se dice que es el líquido impulsor, si la solución conductora es la externa se dice que es un líquido impulsor exterior, en cambio si la solución conductora es la interna se dice que es un líquido impulsor interno (Qin, 2016).

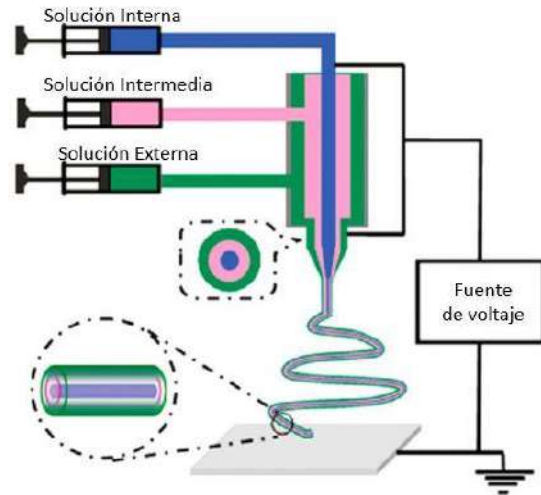


Figura 7. Sistema de electrohilado coaxial (X. Qin, et al 2017)

En el electrohilado húmedo, la principal diferencia se encuentra en el tipo de colector. En lugar de utilizar una placa como colector, se utiliza un recipiente con fluido, usualmente agua, en donde impactarán las fibras para formarse. Esta técnica se utiliza para polímeros que requieran un medio acuoso donde irán a precipitar para formarse de manera más estable. (Kostakova et al. 2014).

2.4 Parámetros del electrohilado

En el proceso de electrohilado existen una gran variedad de parámetros que influyen en las características finales de la fibra obtenida. De manera general, estos parámetros se dividen en tres categorías: parámetros de la solución, parámetros del proceso y parámetros ambientales (**Salas, 2016**). Dentro de los parámetros de la solución se encuentran: peso molecular del polímero, concentración de la solución,

solvente, viscosidad, tensión superficial, conductividad y volatilidad del solvente. Cada uno de estos parámetros está relacionado con el resto, la concentración influye en la viscosidad, la conductividad está relacionada con la tensión superficial, etc. Debido a esto es importante encontrar un equilibrio que permita obtener una solución electrohilable. En los parámetros del proceso se encuentran el voltaje, la distancia entre la punta de la aguja y el colector, el calibre de la aguja utilizada, el tipo de colector utilizado y el flujo de alimentación de la solución. Por último, los parámetros ambientales son la temperatura y la humedad relativa a la que se lleva a cabo el proceso.

Cada parámetro afecta un aspecto importante de la morfología de las fibras obtenidas. Varios parámetros pueden influir un mismo parámetro por lo que es necesario encontrar un equilibrio entre todos los parámetros para poder obtener las fibras ideales. Se han intentado desarrollar varios modelos que puedan predecir la combinación de parámetros adecuados para la obtención de fibras, sin embargo la cantidad de variables y parámetros que influyen hacen casi imposible el desarrollo de un modelo (Suresh, 2005). Los modelos desarrollados hasta ahora son de carácter semi-empírico y consideran solamente un número limitado de parámetros, es por esto que gran parte de la literatura actual sobre la fabricación de fibras electrohiladas se centra en la optimización de parámetros para el proceso.

2.4.1 Parámetros de la solución

Los parámetros de la solución son quizás los parámetros más importantes para la técnica de electrohilado por solución, la cuál será la técnica empleada en este trabajo. Como se mencionó anteriormente, los parámetros a considerar en la solución son: peso molecular del polímero, concentración de la solución, solvente, viscosidad, tensión superficial, conductividad y volatilidad del solvente.

Los primeros cuatro parámetros, peso molecular del polímero, solvente a utilizar, concentración de la solución y viscosidad, están estrechamente relacionados entre sí. En primer lugar, la selección correcta del solvente es vital para obtener una solución homogénea del polímero o de la mezcla polimérica. El polímero debe ser capaz de disolverse por completo en el polímero y generar en la solución una

viscosidad adecuada que le permita fluir por el sistema. El peso molecular importa y la concentración del polímero en la solución son importantes pues la combinación de estos parámetros es lo que confiere la viscosidad. Los polímeros con un mayor peso molecular generan soluciones con mayor viscosidad y entre mayor concentración tenga el polímero en la solución, más viscosa será.

La viscosidad es quizá el parámetro más importante de una solución que será utilizada en electrohilado. Si se prepara una solución demasiado viscosa, esta fluirá con dificultad y no se podrá alimentar al sistema lo que hace que el electrohilado no sea continuo por lo que no se generarían fibras. Además una solución extremadamente viscosa tendría una tensión superficial más alta lo que haría que se requiriera un voltaje mucho mayor. Si se prepara una solución muy poco viscosa, la solución fluirá demasiado y no se mantendrá la tensión superficial necesaria para mantener un cono de Taylor estable. Uno de los modelos más completos para determinar la viscosidad óptima para una solución que se electrohilará es el parámetro de solubilidad de Hansen (Hansen, 2007). Estos se basan en la energía cohesiva presente en la solución:

$$E = \Delta H - RT$$

Donde E es la energía cohesiva, ΔH es el calor latente de vaporización del solvente, T es la temperatura absoluta y R es la constante universal de los gases.

La energía cohesiva total de la solución es la suma de la energía cohesiva por las diferentes fuerzas dentro de la solución. De acuerdo al parámetro de Hansen estas se pueden reducir a las fuerzas de dispersión, a las interacciones polares (dipolo-dipolo) y a las interacciones de enlace interatómico como los puentes de hidrógeno:

$$E = E_D + E_P + E_H$$

Donde E_D representa la energía proveniente de las fuerzas de dispersión, E_P representa la energía proveniente de las interacciones dipolo-dipolo, y E_H representa la energía proveniente de los puentes de hidrógeno.

Otros modelos que intentan gobernar sobre la viscosidad de una solución son los que se enfocan en el grado de traslape entre fibras dependiendo del régimen de concentración en el que se encuentren. El modelo de Colby y Rubinstein (Colby & Rubinstein, 1990) define 4 regímenes de concentración para una solución polimérica. Los 4 regímenes son: diluido, semi-diluido no enredado, semi-diluido enredado, y concentrado. Dentro de estos regímenes, los de mayor interés para el proceso de electrohilado son los regímenes semi-diluidos. La transición del régimen semi-diluido no enredado al régimen semi-diluido enredado ocurre cuando las cadenas poliméricas empiezan a interactuar entre ellas aumentando exponencialmente la viscosidad (Suresh, 2005). Esta concentración crítica se alcanza a diferentes concentraciones dependiendo de las características de las cadenas poliméricas, su peso y su ramificación. De forma general se puede considerar que las mejores fibras se obtienen en soluciones que apenas sobrepasan la concentración crítica y se encuentran en el régimen semi-diluido enredado. Las soluciones que sobrepasan esta concentración y llegan al régimen concentrado suelen presentar deformaciones morfológicas en forma de perlas o cuentas (Feng, 2003).

El otro aspecto que influye en la posibilidad de electrohilar una solución son sus propiedades eléctricas. Estas se dan por la distribución y densidad de cargas que se encuentren en la solución y que afectaran la tensión superficial del menisco, la atracción de la solución por el campo electrostático descrito por las fuerzas de coulomb y por el modelo de Maxwell y la resistencia por los efectos viscoelásticos. A diferencia de la viscosidad general de la solución, las propiedades eléctricas cuentan con mejores modelos de las interacciones. La fuerza del campo eléctrico al que se somete la solución esta descrito por:

$$E = \sqrt{\frac{4\delta}{\epsilon_0 R}}$$

Donde E es el campo electrostático, δ es la tensión superficial de la solución polimérica, ϵ_0 es la permisividad del espacio libre y R es el radio de la curvatura del menisco.

Una vez que se rompe la tensión superficial y el polímero sale disparado en forma de chorro se tienen dos etapas que son descritas por diferentes modelos. En la primera etapa, el chorro de polímero se comporta bajo un régimen estable que es descrito por la ley de Coulomb.

$$F = \frac{kq_1q_2}{r^2}$$

El segundo régimen, en el cual el solvente se ha volatilizado en su mayoría y el chorro empieza a tener un comportamiento de látigo, es modelado aproximadamente por modelo de viscoelasticidad de Maxwell que trata las inestabilidades elásticas como un sistema resorte-pistón. El comportamiento errático del chorro de polímero en este segundo régimen es una de las principales desventajas de la técnica de electrohilado pues dificulta el poder orientar las fibras obtenidas. Debido a esto existen diferentes variaciones que intentan mejorar la orientación de las fibras como el uso de colectores diferentes o incluso la modificación a la técnica en forma de Electrohilado de campo cercano (NFES) o Electrohilado de chorro estable (SJES) (Renecker, 2008).

2.4.2 Parámetros del proceso

El siguiente conjunto de parámetros, los parámetros de proceso, son los más fáciles de manipular y de los que más información hay reportada. Aunque los parámetros para cada tipo de polímero y para cada morfología específica de las fibras son únicas, se observa un comportamiento generalizado sobre cómo influye cada parámetro en la morfología final de las fibras. Los parámetros de proceso son: Voltaje, Calibre de la aguja, Velocidad del Flujo, Distancia de la punta de la aguja al colector y tipo de colector.

El Voltaje es el parámetro fundamental en el que se basa el electrohilado. El voltaje determina la intensidad del campo electroestático al que se somete la solución y por lo tanto determina la fuerza con la que se va a halar la solución polimérica. El voltaje aplicado se combina con el parámetro de la distancia de la punta de la aguja al colector para determinar el campo eléctrico por centímetro al que se someten las fibras. La intensidad de voltaje se ve reflejado principalmente en el grosor de las

fibras obtenidas. Un menor voltaje resulta en fibras más gruesas, sin embargo, si el voltaje no es lo suficientemente alto, no se genera un campo electroestático lo suficientemente fuerte para iniciar o mantener la proyección del polímero. Si esto ocurre se puede generar más un electrospaying, que un electrohilado. Un mayor voltaje hala con mayor fuerza la solución polimérica causando que el solvente tal vez no tenga el tiempo suficiente para evaporarse o que la cantidad de polímero halado sea demasiado generando fibras más gruesas o fibras con defectos en forma de grumos. Dependiendo la relación entre la viscosidad de la solución, su velocidad de alimentación y la fuerza del campo electroestático y la distancia, puede darse el caso en que se jale con demasiada fuerza el polímero generando un rompiendo lo que resulta nuevamente en asemejarse más a un proceso de electrospaying. El voltaje ideal es aquel que logre generar una protección del polímero estable y continuo, dando suficiente tiempo al solvente para evaporarse, para que el resultado sean fibras con el grosor deseado.

La aguja, o "*spinneret*", es a veces el parámetro menos considerado para la fabricación de fibras electrohiladas, sin embargo, como todos los demás parámetros, incluye en la morfología final de las fibras. El calibre de la aguja, el diámetro interno, determina el tamaño de la gota de la solución polimérica por lo que influye en la tensión superficial presente y el tamaño del menisco. Un calibre demasiado grande y habrá una gota demasiado grande con una menor tensión superficial, lo que la hace más fácil de electroestirar. Un calibre demasiado pequeño y el tamaño de la gota puede ser muy pequeña, por lo que, dependiendo del campo electroestático aplicado y la velocidad de alimentación de la solución, puede consumir todo el polímero de la gota antes de ser resurtido.

El flujo con el que se alimenta la solución polimérica es usualmente un parámetro que está subordinado al parámetro de voltaje. Se considera un flujo que sea justo el suficiente para reponer la cantidad de solución que se va perdiendo con la formación de la fibra. Idealmente, la gota en la punta de la aguja debe tener siempre el mismo volumen para no alterar el proceso. De manera general se ha encontrado

que un flujo lento o reducido genera fibras con un menor diámetro pero fomenta la aparición de defectos en forma de perla.

La distancia al recolector influye en la fuerza electroestática que habrá por centímetro en el campo. Una mayor distancia puede resultar en un rompimiento de las fibras bajo su propio peso ya que tienen que recorrer una mayor distancia en el aire. De igual manera, entre mayor sea la distancia más delgadas serán las fibras finales y habrá un mayor tiempo para la evaporación del solvente lo que brinda una mayor estabilidad a las fibras finales, dependiendo del material. Por el otro lado, una distancia muy corta generará fibras gruesas, y debido al poco tiempo para la evaporación del solvente, pueden quedar residuos de solvente en las fibras además de disminuir su estabilidad. Si la distancia no es adecuada, tanto demasiada distancia o no la suficiente, se pueden generar defectos en forma de perlas en las fibras.

El tipo de colector es el último parámetro del proceso y uno de los más variables. En primer lugar, el material del colector, el material más común es el metal pues la placa colectora cumple la doble función de ser el cátodo del sistema. Otras variaciones colocan una película recolectora sobre el cátodo sin embargo esto dificulta la recolección de fibras y requiere de voltajes más altos. Una variación del electrohilado, el electrohilado en húmedo (*wet electrospinning*), utiliza como placa colectora un recipiente con agua, y se utiliza para generar estructuras de fibras en 3D (**Kostakova, 2014**). Las placas más comunes utilizadas en el proceso de electrohilado son la placa lisa y el rodillo rotatorio. El rodillo rotatorio consta, como su nombre lo indica, de un rodillo metálico cuya velocidad de rotación es controlada. La rotación del rodillo fomenta la orientación de las fibras recolectadas. La placa lisa es la placa colectora más simple, sin embargo las estructuras de fibras recolectadas en esta placa presentan una orientación aleatoria (Yuan et al, 2016).

2.4.3 Parámetros ambientales

Por último, la temperatura y humedad relativa son los parámetros ambientales que se controlan. La temperatura y la humedad influyen en la habilidad del solvente utilizado para evaporarse. El solvente debe evaporarse en el trayecto de la fibra

para que la fibra “precipite” y se colecte con la mayor estabilidad posible. En esto también influye el solvente utilizado para la solución polimérica pues es necesario que tenga la habilidad de evaporarse para poder formar las fibras. De igual manera, un exceso de temperatura puede llegar a causar una degradación térmica en el polímero utilizado. Se ha encontrado que la humedad, además de influir en la evaporación del solvente, puede llegar a crear poros en las fibras, dependiendo el material utilizado. Entre mayor humedad, mayor número y tamaño de poros (Khajavi & Abbasi, 2016). Esto puede ser ventajoso ya que en la ingeniería de tejidos y en la liberación de fármacos se busca que los materiales tengan cierta porosidad.

Como se mencionó anteriormente, todos los parámetros se relacionan entre sí por lo que a continuación se presenta la figura 8 con un diagrama para clarificar la interacción entre diferentes parámetros:

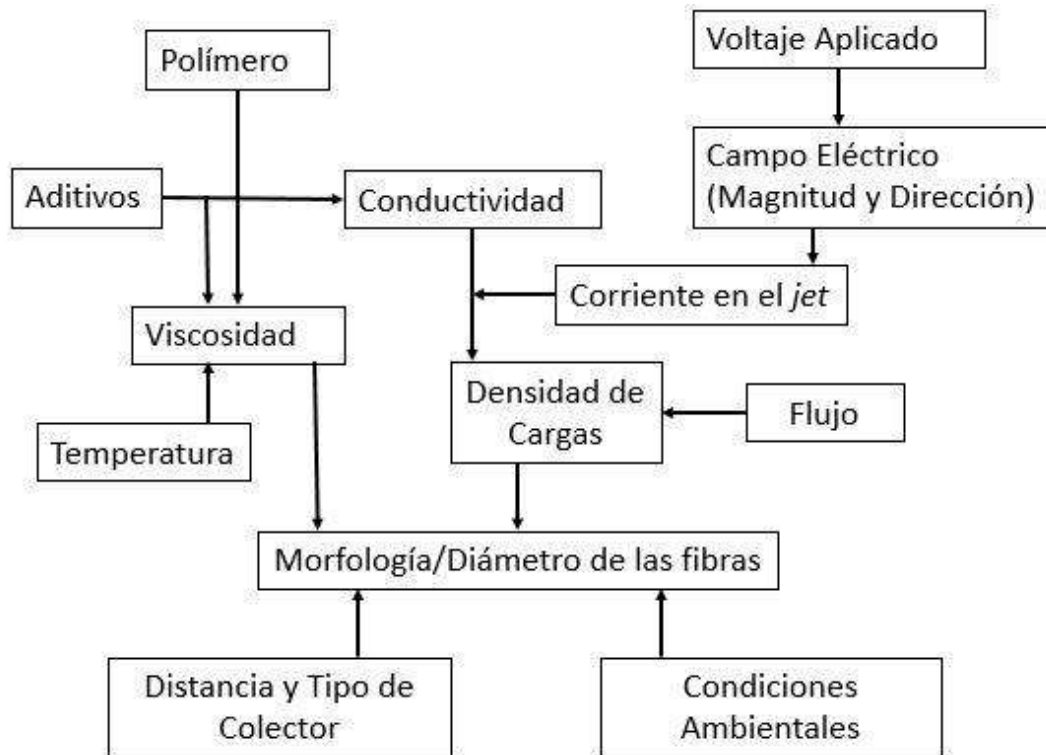


Figura 8 Parámetros que influyen en el proceso de electrohilado (Afshari et al 2017)

Por último se presenta en la tabla 2 un resumen de cómo afecta cada parámetro la morfología final de las fibras.

Tabla2. Efecto de los parámetros en la morfología de las fibras (Duque et al 2013).

Parámetro		Influencia
Concentración de la solución	Incremento	Aumento en la viscosidad, dificulta el flujo, fibras gruesas
	Disminución	Las fibras se rompen antes de llegar al colector
Tensión Superficial	Incremento	Aparición de defectos
	Disminución	Obtención de fibras lisas
Conductividad de la solución	Incremento	Fibras más delgadas
	Disminución	Fibras más gruesas
Voltaje	Incremento sustancial	Fibras gruesas y cortas, aparición de defectos
	Disminución	Poco impulso para la llegada de las fibras al colector
Flujo	Incremento	Fibras más gruesas y aparición de defectos
	Disminución	Fibras sin defectos
Distancia de la aguja al colector	Incremento sustancial	Aparición de defectos
	Incremento	Fibras más delgadas, pero con riesgo de romperse en el trayecto
	Disminución	Las fibras llegan húmedas al colector por lo que pueden no formarse del todo
	Disminución sustancial	Aparición de defectos
Humedad relativa	Incremento	Aparición de poros
Peso molecular del polímero	Incremento	Fibras más lisas y con menos defectos

2.5 Aplicaciones del proceso de electrohilado.

2.5.1 Ingeniería de tejidos

Las fibras electrohiladas tienen un gran potencial en su aplicación para la ingeniería de tejidos. Dentro de esta área, las fibras electrohiladas son comúnmente categorizadas en tres aplicaciones: andamios tisulares, apósitos para heridas y sistemas de liberación de fármacos (Daikelly et al, 2014).

A) Andamios

Es en el uso como andamiaje tisular en el que las fibras electrohiladas han recibido más atención y ha

habido una mayor investigación (Hunley, 2008). La principal característica de interés de las fibras electrohiladas es que forman estructuras que se asemejan e imitan la matriz extracelular (Fig. 9). Aunado a esto, se puede controlar la porosidad y grosor de las fibras, además de su alineación, para fomentar la migración celular de diferentes tipos de tejidos. La gran variedad de polímeros naturales, biocompatibles y biodegradables que se pueden usar la técnica de electrohilado permiten crear una gran variedad de materiales para su uso como andamios celulares. Por último, la técnica de electrohilado permite dopar las fibras con partículas o funcionarlas con componentes específicos de manera relativamente sencilla por lo se pueden intensificar las propiedades de las fibras.

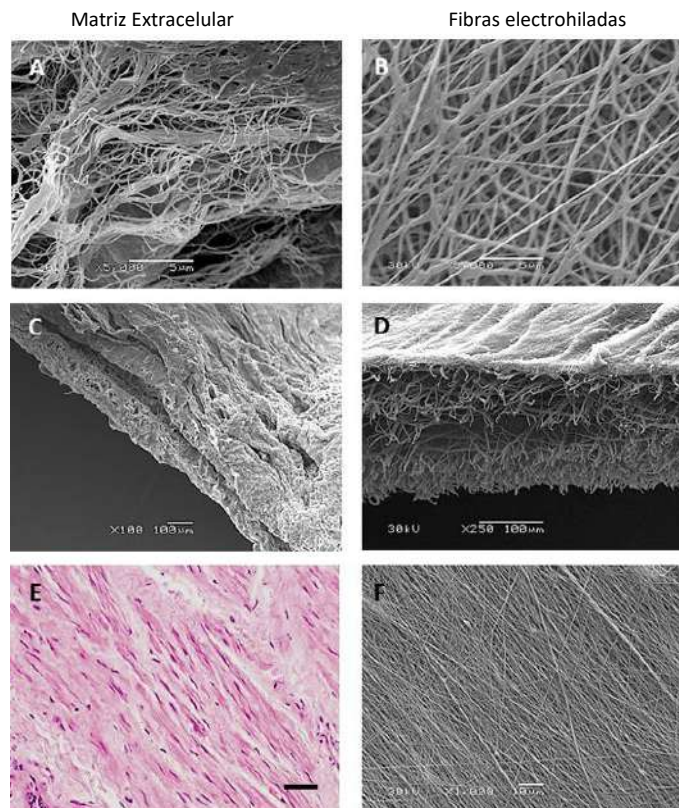


Figura 9. Comparación entre la matriz extracelular de varios tejidos (A, C, E) y fibras electrohiladas (B, D, F) reproducido de Bridge et al. (Bridge et al. 2015)

B) Apósitos

Como apósitos para heridas las fibras electrohiladas son utilizadas por la mayoría de los motivos por los cuales son usadas como andamiaje celular. Además de estos motivos, la simplicidad de fabricación, su bajo costo y la facilidad con la que fomentan la migración celular hacen que esta sea una de las áreas más exploradas para el uso de las fibras electrohiladas (Miguel et al. 2018). Las mallas de fibras electrohiladas, por su similitud con la matriz extracelular, fomentan la adhesión, la migración, el crecimiento y la diferenciación celular, además de permitir la angiogénesis, proceso de vital importancia para el proceso de curación. (Daikelly et al, 2014).

C) Liberación de fármacos

Dentro de la liberación de fármacos la morfología y estructura de las fibras es de gran importancia. La porosidad y tamaño controlable de las fibras las hacen medios adecuados para esta función. De igual manera las fibras son fácilmente susceptibles a estímulos como lo son los diferenciales de pH y temperatura o la aplicación de campos eléctricos y magnéticos (Weng & Xie, 2015). La tasa de biodegradación de los polímeros también juega un papel importante en la liberación de fármacos. Todas estas propiedades pueden ser controladas en las fibras electrohiladas por lo que tienen un gran potencial en la liberación de fármacos.

2.5.2 Aplicaciones en filtración

En la actualidad, la industrialización y los procesos de manufactura han generado una problemática de contaminación de índole global. Los materiales utilizados, los residuos de los procesos y hasta los mismos productos terminan siendo contaminantes ya sea en la tierra, la atmósfera, el océano o en los mantos acuíferos, convirtiéndose en un riesgo constante para la salud de las personas, principalmente las más desprotegidas. En general, la contaminación más preocupante se trata de la contaminación del aire y de las fuentes de agua pues suelen ser las que menos detecta la gente y a la que está más expuesta. Los métodos convencionales de filtrado, como deposición o adsorción, son demasiado lentos o costosos por lo que

se buscan mejores alternativas. Una de estas alternativas es la fabricación de membranas a partir de fibras electrohiladas para actuar como sistemas de filtración.

Las propiedades de alta área superficial con relación al volumen, la porosidad y el diámetro de las fibras, hacen que las fibras sean materiales óptimos para la fabricación de filtros de agua y aire (Balamurugan, 2011). Una de las ventajas que presentan los filtros a base de nanofibras con respecto a los tradicionales es que dependiendo del polímero empleado pueden ser permeables de manera selectiva permitiendo el paso de gases inocuos y bloqueando vapores químicos. La aplicación de un filtro en campo es afectado en gran medida por el grosor del filtro, debido a esto se ha limitado su implementación debido a la dificultad actual de escalar la producción para generar mallas de fibras electrohiladas con un grosor más allá de unos milímetros (Sundarrajan, 2014).

2.5.3 Aplicaciones en la industria textil

Las fibras electrohiladas se están usando en dos áreas principales dentro de la industria textil: la industria textil comercial, que incluye la ropa de uso común y la industria de la ropa de protección. Dentro de la ropa de protección, se trata de ropa que tiene como función proteger al usuario de riesgos físicos, patogénicos, químicos, biológicos o nucleares (Lee, 2007), o bien, para realizar funciones de filtrado. De igual forma se han desarrollado fibras con aplicación antibalística para darle una mayor resistencia a los uniformes de las fuerzas armadas. Mientras que, dentro de la ropa de uso común, se busca utilizar las fibras electrohiladas en conjunto con sistemas de generación de energía para poder usarse con las nuevas tendencias de “ropas inteligentes” (*wearable technologies*) (Gorji, 2017) .

2.6 Quitosano

El quitosano es una (1-4) 2-amino-2-deoxi-D-glucopiranososa que es producto de la desacetilación de la quitina, uno de los polisacáridos naturales más abundantes de la tierra. En la naturaleza funciona como un elemento estructural del exoesqueleto de los crustáceos e insectos, y está presente también en algunos tipos de hongos. El quitosano es utilizado debido a que es biocompatible, biodegradable y

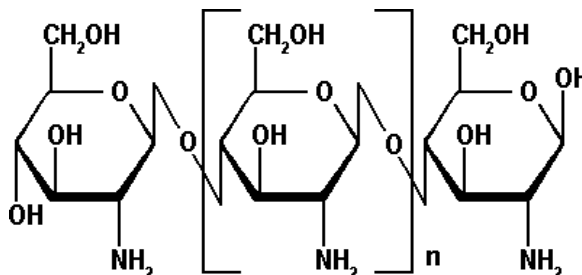


Figura 10 Estructura química del quitosano

no presenta toxicidad en el organismo. Además, tiene propiedades bactericidas y fungicidas por lo que es un material frecuentemente utilizado en aplicaciones biomédicas. De igual forma, el quitosano puede unirse a varios metales pesados por lo que también puede ser utilizado en aplicaciones de filtración.

El electrohilado del quitosano puro presenta varias complicaciones y raramente se obtienen fibras puras. Esto se debe a que en el proceso se comporta de manera inestable y tiende a formar grumos debido a un estiramiento inadecuado en la fase inestable del chorro polimérico proyectado por la baja densidad de cargas que posee el polímero. Es debido a esto a que usualmente se combina el quitosano con otros polímeros que cumplan una función de “acarreamiento” al ser polielectrolitos y provean una mayor densidad de cargas para facilitar la electrohilabilidad. Dentro de estos polímeros acarreadores se encuentran el PVA y el PEO (Elsabee, M. Z, 2012).

Las propiedades del Quitosano surgen por la protonación de los grupos NH₂ en la cadena del polímero (Tayerani et al. 2014). De igual forma estos grupos aminos pueden ser utilizados como puntos para la funcionalización del polímero, añadiendo fármacos u otros componentes específicos.

El quitosano se puede utilizar fácilmente en una gran variedad de estructuras, se ha reportado su uso como geles, membranas, fibras, perlas, redes, nanopartículas, y esponjas. (Jayakumar, 2010). El uso del quitosano está limitado principalmente

debido a sus pobres propiedades mecánicas. Muchas de las investigaciones actuales entorno al quitosano tratan de mejorar sus propiedades mecánicas para que pueda ser utilizado en un mayor número de aplicaciones.

2.7 PEO

El óxido de polietileno es un polímero cristalino, termoplástico y soluble en agua que es utilizado en una amplia gama de

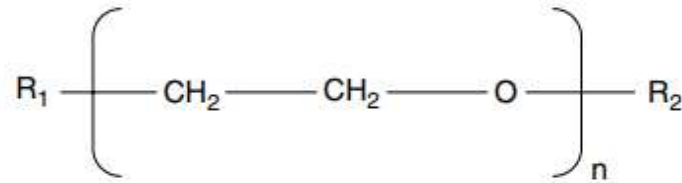


Figura 11 Estructura del Óxido de Polietileno

aplicaciones. Su estructura se representa en la figura 11. Al ser un compuesto extremadamente versátil y ampliamente utilizado en la industria, se encuentra disponible comercialmente en un amplio rango de pesos moleculares. Tanta variedad tiene el óxido de polietileno en sus pesos moleculares y el tamaño de sus cadenas que el nombre utilizado cambia al cambiar de tamaño. Comúnmente se refiere como Polietilenglicol (PEG) al óxido de polietileno de bajo peso molecular ya que los grupos R_1 y R_2 suelen ser grupos terminales hidroxilos cuando se trata de pesos pequeños, alrededor o menos de un peso de 20,000. En cambio, al tratarse de un mayor peso molecular se le refiere como PEO que puede llegar a tener un peso hasta de M_v 8,000,000. A partir de un mayor peso molecular se le conoce como PEO de alta densidad (Schoen & Levy, 2013). El PEO es un polímero de interés en la ingeniería de tejidos y ha sido utilizado exitosamente como andamiaje para el crecimiento celular. A diferencia de lo que se busca en muchos biomateriales, el PEO no es completamente biodegradable y su especificidad biológica es poca, sin embargo este material posee la ventaja de ya estar aprobado por la FDA como un material biocompatible (Dvir et al., 2005). Esto es de importancia en el desarrollo de nuevos materiales compósitos ya que al ya estar aprobado por la FDA, la cantidad de pruebas que se requieren hacer se reducen (Bailey & Koleske, 1976).

2.8 Fibras Quitosano-PEO

Como se mencionó anteriormente, por sí solo, el quitosano es considerado un polímero difícil de electrohilar. La distribución de cargas que posee genera una presencia de grumos, acumulaciones y defectos en el proceso. De igual manera las soluciones de quitosano preparadas con solventes ligeramente ácidos, como ácido acético al 2%, muestran una gran viscosidad, lo que genera problemas en el proceso por su dificultad para fluir. De manera general, para obtener fibras puras de quitosano se utilizan solventes fuertes que presentan toxicidad y limitan las aplicaciones de estas fibras en áreas biomédicas.

Para contrarrestar las dificultades de usar Quitosano en el proceso de electrohilado se ha encontrado que se puede utilizar una mezcla con PEO. La adición del PEO reduce la tensión superficial y la viscosidad de la solución y homogeniza la distribución de cargas lo que permite la formación de fibras ultrafinas (Subramanian, Vu, Larsen, & Lin, 2005).

La adición del PEO a las fibras de quitosano suele mantenerse en proporciones bajas cuando se trata de aplicaciones biomédicas como los sistemas de andamiaje. Esto se debe a que el PEO tiene una alta solubilidad en medios acuosos (Wypych, 2016). Para contrarrestar esta limitante, este proyecto explorará el uso de un proceso de reticulación (*cross-linking*) para aumentar la resistencia del PEO y poder utilizarlo en una mayor proporción.

2.9 Reticulación (Cross-linking)

La reticulación es un proceso en el que fibras compuestas de un material se unen para generar una red con estructura tridimensional. La reticulación puede ocurrir tanto por interacciones físicas como por uniones químicas. En una reticulación física, las cadenas del polímero están unidas entre sí por medio de fuerzas físicas, principalmente interacciones electroestáticas por presencia de iones o puentes de hidrógeno. Este tipo de reticulación es generalmente más débil que una reticulación química, sin embargo presenta la ventaja de que no se altera la estructura individual de cada fibra. Por el otro lado, la reticulación química presenta una unión entre las

fibras individuales por medio de enlaces covalentes. En este caso la fibra cesa de ser una fibra individual y se convierte en una parte estructural de la estructura tridimensional del material. La reticulación confiere nuevas propiedades o mejora las propiedades del material (Qing et al. 2005). Comúnmente, el proceso de reticulación se lleva a cabo para mejorar las propiedades mecánicas del material.

En el caso del electrohilado, el cual genera fibras de diámetros en la escala micro y nanométrica, una de las principales desventajas del proceso es la resistencia mecánica de las fibras. Debido a esto se busca generar un proceso de reticulación, preferentemente químico, para poder generar una estructura 3D que amplíe la gama de aplicaciones. La reticulación química aumenta la resistencia mecánica al formar dos tipos de uniones entre fibras, uniones interfibra y uniones intrafibra. En el caso del electrohilado, cada fibra es en realidad un conjunto de fibras más pequeñas enrolladas para formar una de mayor tamaño, cuando se genera una unión por reticulación entre las fibras que componen una fibra se le llama unión intrafibra. Las uniones interfibra, las más comunes, ocurren entre las fibras individuales del material, dando pie a una estructura tridimensional.

2.9.1 Reticulación por UV

La reticulación por radiación ultra-violeta, como su nombre lo indica, utiliza la energía UV para excitar cierto grupo funcional dentro de las cadenas o una molécula iniciadora para llevar a cabo el proceso de reticulación. La reticulación por UV presenta un gran número de ventajas entre las que destacan: facilidad de realización, esterilización simultánea y que puede ser incorporado fácilmente al equipo de síntesis.

El procedimiento para la reticulación asistida por UV utilizado en este proyecto es una adaptación del procedimiento descrito por Zhou et al. (Zhou et al, 2012). En este sistema se utiliza como iniciador de la reacción polimérica el pentaeritritol triacrilato (PETA). Esta molécula es excitada por la radiación UV e inicia la reacción de entrecruzamiento entre las cadenas de PEO por el mecanismo de reacción mostrado en la figura 12.

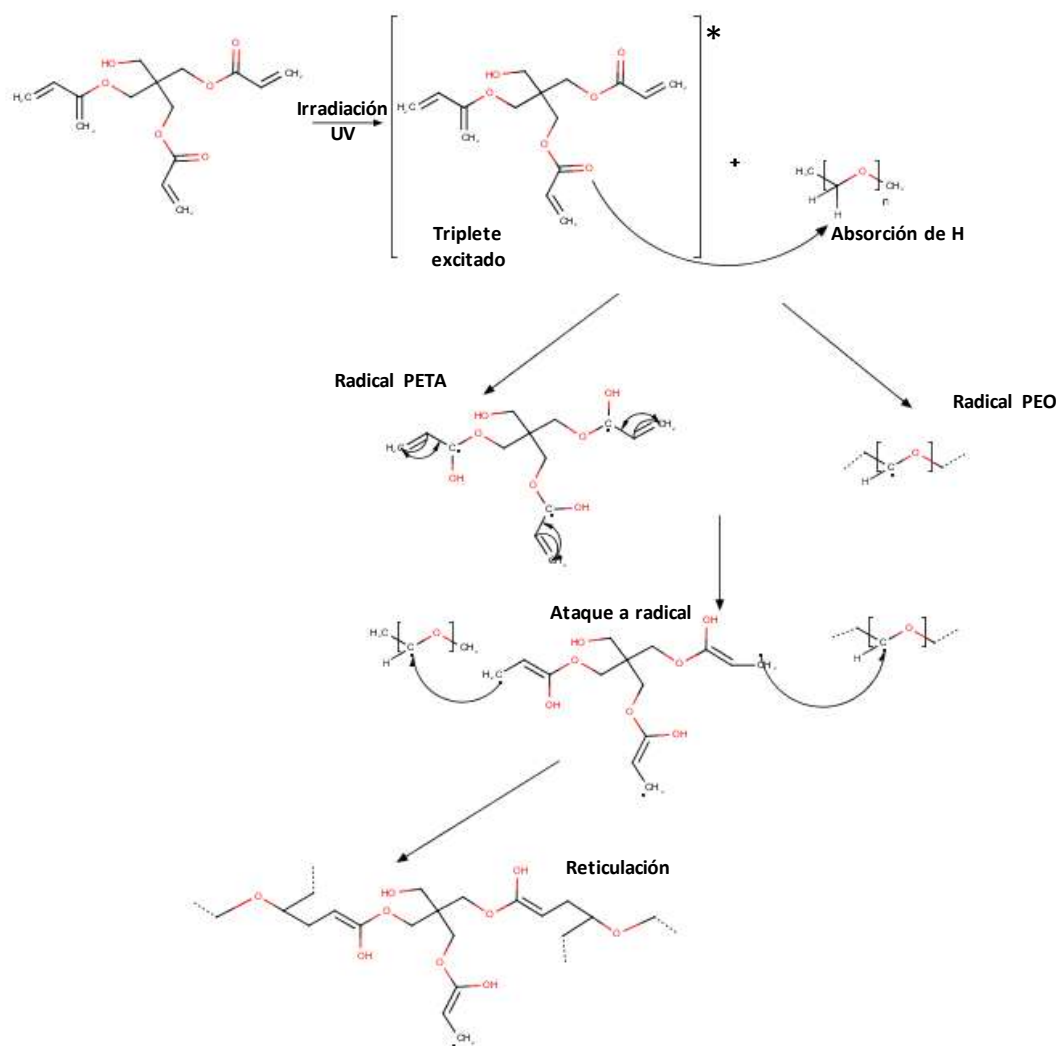


Figura 12 Mecanismo de reacción propuesto por Zhou et al. (Zhou et al, 2012)

CAPÍTULO III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.2 Hipótesis

Un proceso de fabricación de electrospinning de quitosano-PEO, seguido de un proceso de reticulación por UV permitirá la fabricación de un material fibroso con propiedades tales como resistencia a la disolución, biocompatibilidad, y biodegradabilidad que le permitan ser utilizado en aplicaciones de ingeniería de tejidos.

3.3 Objetivo General

Sintetizar y caracterizar nanofibras electroestiradas de Quitosano-PVA-PEO reticuladas y dopadas con nanopartículas de óxido de zinc (ZnO).

3.4 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de óxido de zinc que posean un tamaño de 50-150nm y caracterizarlas por medio de espectroscopia de barrido (SEM) y difracción de rayos X (XRD).
- Determinar los parámetros adecuados de solución para generar una fibra electrohilada dopada con ZnO NPs.
- Optimizar los parámetros del proceso de obtención de fibras con la morfología requerida para aplicaciones biomédicas, caracterizando por SEM y FT-IR.
- Establecer el tiempo de irradiación de UV para generar una malla reticulada y realizar la posterior caracterización de las mismas

CAPÍTULO IV. JUSTIFICACIÓN

En la medicina moderna una de las áreas de mayor crecimiento es la ingeniería de tejidos, la cual tiene como objetivo restaurar, sustituir o mejorar los diferentes tejidos del ser humano. Dentro de la ingeniería de tejidos se utilizan biomateriales porosos o fibrosos que fomenten el crecimiento celular para imitar la matriz extracelular para ser utilizados en aplicaciones biomédicas.

El propósito de este trabajo es la producción de una malla electrohilada reticulada por medio de una modificación innovadora a la técnica de electrohilado al integrar una etapa de radiación UV al proceso de formación de fibras para mejorar sus propiedades para potenciales usos dentro de la ingeniería de tejidos. La técnica de electrohilado presenta un gran número de ventajas y facilidades para la producción de fibras y ha adquirido un gran impulso y desarrollo en los últimos años debido al potencial que tienen estas fibras para su uso en diversas áreas como la ingeniería de tejidos, la farmacología, los sistemas de filtración, las tecnologías textiles, entre otros.

Las principales ventajas que presenta la técnica de electrohilado son la versatilidad y control que se puede tener en la fabricación de fibras. Adecuando el procedimiento se pueden controlar la composición de la fibra, la morfología y las propiedades finales. El Quitosano y el PEO son polímeros que frecuentemente se trabajan juntos para aplicaciones biomédicas debido a su alta Biocompatibilidad.

A pesar del potencial de estos polímeros en la técnica del electrohilado, una de las principales desventajas que presenta el PEO es su susceptibilidad a la disolución en un medio acuoso. La re-disolución de la malla fibrosa que se obtiene como producto del electrohilado es una de las principales limitantes para su uso extendido. Por este motivo se deben encontrar técnicas para mejorar la resistencia, tanto física como química, del material.

Para mejorar la resistencia del material este trabajo propone el uso de la técnica de Reticulación asistida por UV. Al reticular las fibras se generarán enlaces interfibra e intrafibra que aumentarán la resistencia a los ataques químicos, al desgaste y principalmente a la re-disolución.

CAPÍTULO V. METODOLOGÍA

5.1 Reactivos y materiales

5.1.1 Reactivos:

La tabla 3 muestra los reactivos utilizados en este trabajo, todos se utilizaron sin purificación adicional.

Tabla 3. Reactivos utilizados

Reactivo	Fórmula	Proveedor
Acetato de Zinc (dihidratado)	$Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$	Meyer®
Hidróxido de sodio	NaOH	Sigma Aldrich®
Ácido acético glacial	CH_3CO_2H	Meyer®
Quitosano- Alto peso molecular	$(C_6H_{11}NO_4)_n$	Sigma Aldrich®
Quitosano- Medio Peso molecular		Sigma Aldrich®
PEO 6000 (PEG)	$(-CH_2CH_2O-)_n$	Sigma Aldrich®
PEO 100,000		Sigma Aldrich®
PEO 600,000		Sigma Aldrich®
Tritón X-100®	$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$	Sigma Aldrich®
Pentaeritritol Tetraacrilato (PETA)	$C_{17}H_{20}O_8$	Sigma Aldrich®

5.1.2 Materiales:

Se utilizaron los siguientes materiales para la preparación de las soluciones:

- Plancha de calentamiento y agitación
- Viales ámbar de 30 mL (uno por solución).
- Agitadores magnéticos 35 mm
- Jeringas BD con capacidad de 10 mL
- Láminas de papel aluminio
- Agujas con diámetro interno entre 18G y 22G (capilar metálico)
- Manguera de plástico con diámetro interno de 0.9 cm

5.1.3 Equipos para la fabricación del material:

Para la fabricación del material se utilizaron los siguientes equipos:

5.1.3.1 Equipo de electrohilado:

Se utilizó un equipo Nanospinner™ NS24 marca Inovenso® (Turquía), figura 13, el cual permite controlar y monitorear todos los parámetros involucrados en el proceso de electrohilado: voltaje, distancia, flujo, tipo de colector, temperatura y humedad. Además, el sistema posee una cámara integrada que permite observar la gota y monitorear la formación del cono de Taylor.



Fig. 13. NS24 Nanospinner™ de la marca Inovenso® (Turquía).

5.1.3.2 Sistema de irradiación UV:

Para el proceso de reticulación se utilizó un sistema de irradiación adaptado de Zhou (Zhou. Et al, 2012) el cuál se muestra en la figura 14. En este sistema se utilizó una lámpara UV minimax® (Spectroline®, EUA) como fuente de la radiación UV con una longitud de onda de 365 nm.

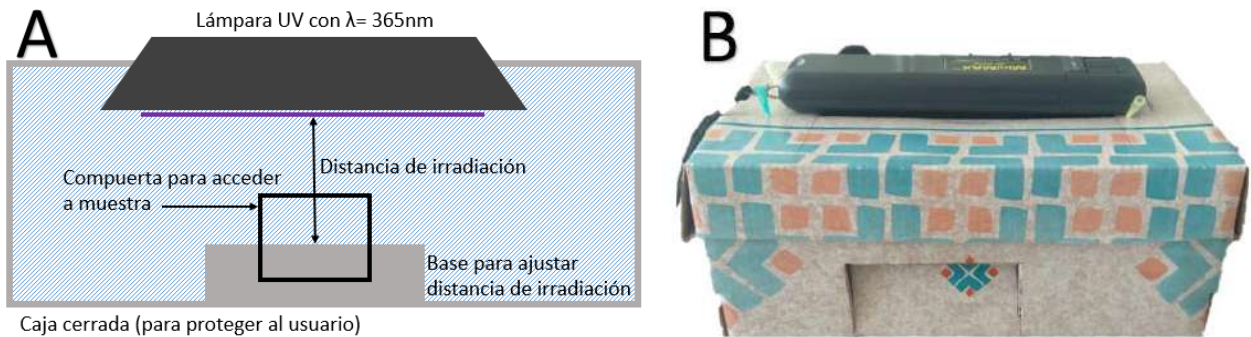


Figura 14. A) Diagrama de sistema de irradiación UV, B) Sistema usado en este proyecto

5.1.4 Equipos de caracterización

5.1.4.1 Microscopio óptico

Las muestras fueron analizadas preliminarmente con un microscopio óptico marca VELAB® modelo Siedentopf VE-B6 utilizando resoluciones 4,10 y 40X para observar en primera instancia la formación de fibras electrohiladas.

5.1.4.2 Microscopio electrónico de barrido

Los materiales, nanopartículas y fibras, fueron caracterizados por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM). Se utilizó un microscopio JCM-6000Plus® SEM (JEOL, Estados Unidos) el cual tiene una resolución máxima de 2 micrómetros. Las muestras para SEM se prepararon recubriéndolas de una aleación Oro-paladio (Au/Pd) por medio de sputtering.

Este microscopio también tiene la habilidad de realizar un análisis de Fluorescencia de rayos X por energía dispersiva (EDS) y un análisis de mapeo elemental.

5.1.4.3 Espectroscopia por difracción de Rayos X (XRD)

Se realizó un análisis de espectroscopia por difracción de Rayos X (XRD) utilizando un equipo HyPix-400, (SmartLab SE, Japón), operado con una fuente de radiación de Cu K α y detector luminiscente. El análisis fue llevado a cabo en 2θ de 0° a 60° , en intervalos de 0.05° a temperatura ambiente.

5.1.4.4 Espectroscopia de Infrarrojo

Se realizó un análisis de espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) utilizando un equipo FT-IR Nicolet™ iS™ 5 (ThermoScientific®, Estados Unidos). Cada espectro se obtuvo en modo transmitancia utilizando un cristal de diamante con acumulación de 32 escaneos y un rango espectral de 4000 a 600 cm^{-1} .

5.1.4.5 Radiómetro

Se utilizó un radiómetro UV 850009 light meter (Sper Scientific®, Estados Unidos) para medir la irradiación UV a la que se expone la muestra.

5.2 Metodología

5.2.1 Síntesis de nanopartículas de óxido de Zinc

Se sintetizaron nanopartículas de óxido de Zinc (ZnO NPs) utilizando una variación del proceso de síntesis hidrotérmal descrito por Yuvaraja et al. Se prepararon dos soluciones de 100 mL, una solución de acetato de zinc, $\text{Zn}(\text{Ac})_2$, con una concentración de 0.4 molL^{-1} y una solución de hidróxido de sodio, NaOH, con una concentración de 1 molL^{-1} . A la solución de acetato de zinc se le agregó la solución de hidróxido de sodio gota a gota a una temperatura de 40°C y agitación constante. La solución de hidróxido de sodio vertió en un tiempo de 5 minutos totales (tiempo de reacción). El tiempo que tardan las dos soluciones en mezclarse es de vital importancia debido a que, en este tipo de síntesis, el tamaño de la partícula viene dado por el tiempo de reacción. En el momento en el que empieza el goteo, la solución se torna un color blanco lechoso, el cual es un indicador de que la reacción se está llevando a cabo. La solución se dejó reaccionar un total de 10 minutos, 5 minutos agregando la solución de hidróxido de sodio y 5 más para llevar a cabo la reacción, en agitación constante. Al finalizar el tiempo de reacción se notaba la formación de un precipitado color blanco. La solución se filtró a vacío, tres veces para recuperar la mayor cantidad posible de precipitado. Al filtrado se le realizó un total de 6 lavados, intercalando lavados con agua destilada y etanol. La muestra se

secó en un desecador a una temperatura de 40°C y se almacenó en el mismo hasta su uso.

5.2.2 Proceso de electrohilado

El proceso de electrohilado consta de dos etapas, la primera etapa consistió en la preparación de la solución óptima y la segunda etapa en la generación de fibras en el equipo de electrohilado. En la primera etapa se prepararon soluciones (solvente-polímeros) buscando una relación ideal entre quitosano, PEO y la concentración del solvente, ácido acético diluido. De acuerdo a la literatura, existe una gran variedad de proporciones y concentraciones a partir de las cuales se pueden obtener fibras de quitosano. En el anexo A se describen de manera general varias combinaciones utilizadas para la fabricación de fibras de quitosano.

Basado en lo reportado por diversos autores, las soluciones se fabricaron disolviendo el óxido de polietileno y el quitosano por separado. Cada solución se agitó durante 24 horas, después, la solución de PEO, la cual es más fluida, se le agregó a la de quitosano y se dejaba en agitación durante 4 horas más. Cualquier aditivo que se le agregara a la solución se le agrega en este paso.

El primer paso fue variar el peso molecular de los polímeros utilizando el Quitosano de medio y alto peso molecular así como PEO de peso 6,000 (PEG), peso 100,000 y peso 600,000 gmol^{-1} . Cada solución se puso a electrohilar en pruebas de tiempo corto variando los parámetros de proceso para observar si la solución presentaba la capacidad de formar fibras. De manera general el proceso a seguir se describe en la figura 15, explicada más adelante.

Cada solución que presentaba una viscosidad adecuada, es decir, que podía fluir a través de la jeringa y la manguera, fue puesta a electrohilar en una prueba de tiempo corto para observar si la solución presentaba la capacidad de formar fibras. En esta prueba de tiempo corto se trabajó con un intervalo de cada parámetro de proceso, presentados en la tabla 4. Cada muestra obtenida en esta prueba corta se analizó en un microscopio óptico para determinar si existía la presencia de fibra

Tabla 4. Parámetros evaluados en las pruebas de electrohilado

Parámetros	Valores
Voltaje	20-25 kV
Flujo	0.4 mL/h
Distancia	10-20cm
Temperatura	30°C
Humedad	<50%
Gauge de aguja.	16G-22G

Cada muestra se recolectó en una lámina de aluminio de 39cm X 30cm. El sistema utiliza una jeringa tipo BD de 10mL. Para conectar la jeringa a la aguja se utilizó una manguera de PET de 10 cm de largo con un diámetro interno de 2mm. Se utilizaron una variedad de puntas con un gauge de G18 a G22, es decir, de 1.2mm a 0.7mm. El sistema montado de electrohilado se puede observar en la figura 16.

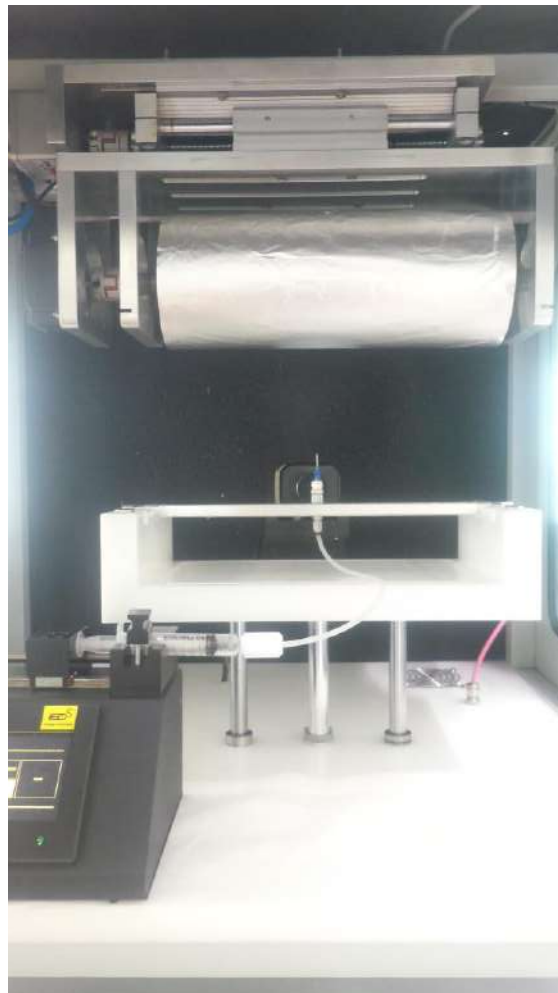


Figura 16. Sistema de electrohilado

Para el proceso de optimización de la solución, se siguió el siguiente diagrama mostrado en la figura 15 para guiar el procedimiento.

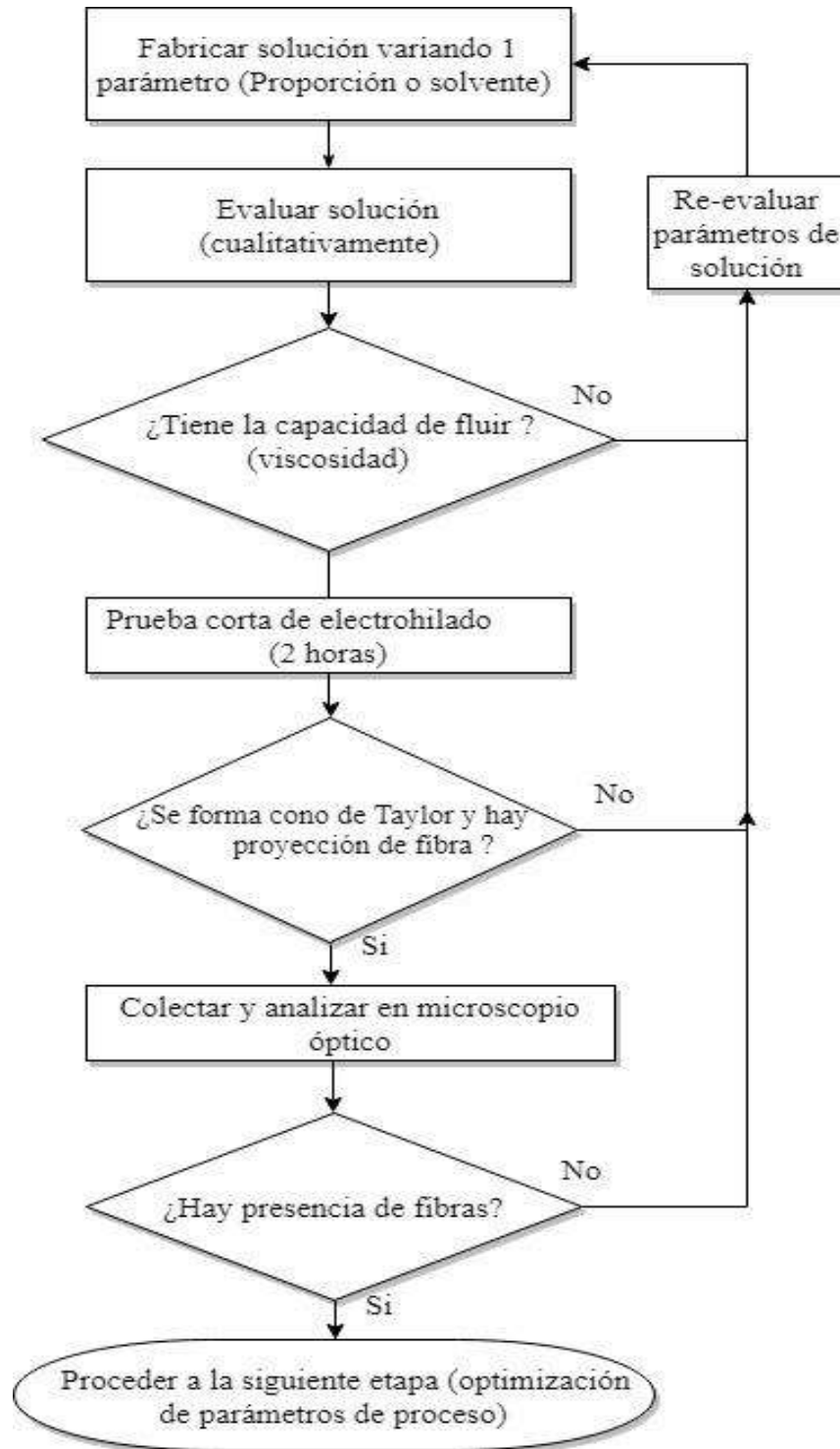


Figura15. Diagrama de flujo representando el proceso que se utilizó para determinar la solución a utilizar para la fabricación de fibras.

5.2.3 Inclusión de nanopartículas de ZnO

La inclusión de las nanopartículas de ZnO se realizó durante el proceso de la obtención de la solución, previo al proceso de electrohilado. Las ZnO NPs se dispersaron en 1 mL de solvente por medio de un baño ultrasónico por una hora. Las ZnO NPs se agregaron a la solución polimérica inmediatamente después del proceso de sonicado para evitar su precipitación y la solución se dejó en agitación constante durante una hora para garantizar la distribución homogénea de las nanopartículas dentro de la solución. Cabe aclarar que el porcentaje de nanopartículas agregadas se calculó con respecto a la cantidad total de la mezcla de polímeros. Se utilizaron dos porcentajes de dopaje, 1% y 3%.

En cada ocasión, se prepararon 10 mL de solución total, es decir 4.5 mL de solución de quitosano, 4.5 mL de solución de PEO y 1 mL de solución de ZnO NPs. Las concentraciones de cada solución se fueron variando en cada prueba lo cual se explica más detalladamente en el capítulo de resultados. Al final, se obtuvieron las siguientes soluciones.

Muestra	NPs	PETA	Distancia [mm]	Aguja [G]	Flujo [mLh ⁻¹]	Voltaje [kV]	Humedad relativa [%]	Temp. [°C]
A	No	No	15	18	0.4	25	30-50	32
B	1%	No	15	18	0.4	25	30-50	32
C	3%	No	15	18	0.4	25	30-50	32
D	3%	17%	15	18	0.4	25	30-50	32
E	3%	25%	15	18	0.4	25	30-50	32

Tabla 5. Resumen de las soluciones finales obtenidas y parámetros a los cuales se hilaron.

5.2.4 Reticulación

Para el proceso de reticulación se agregó el iniciador, pentaeritritol triacrilato (PETA), con respecto a la cantidad de PEO, ya que es el PEO el que sufrirá el proceso de reticulación y en donde se forman las conexiones inter- e intrafibra.

Debido a que la adición del PETA cambió los parámetros de la solución haciéndola ligeramente menos viscosa, se eligieron dos concentraciones para descartar la influencia de la viscosidad en el sistema; una de concentración de 25% como indica

el trabajo realizado por Zhou et al, y la segunda de 17% de iniciador y con ello ver la influencia sobre los parámetros de la solución.

El grado de reticulación se encuentra directamente relacionado con la intensidad de radiación UV a la cual el material se expone. A una distancia y longitud de onda de UV fija, la intensidad viene dada por el tiempo de exposición del material. Se utilizó el sistema de irradiación adaptado de Zhou et al, descrito en el capítulo anterior en donde se colocaron las muestras a una distancia de 3.53 cm de tal manera que la irradiación del sistema sobre la muestra fue de 4.77 Wcm^{-2} . El sistema se trabajó en condiciones de presión y temperatura ambiente. Las muestras fueron cortadas en cuadros de 25 cm^2 e irradiadas durante tiempos de 0, 60, 80, 100 y 120 minutos.

5.2.5 Hinchamiento

El proceso de hinchamiento se llevó acabo utilizando las muestras de 25 cm^2 previamente irradiadas. Cada muestra fue pesada previo al procedimiento de hinchamiento. Se sumergió cada muestra en 50 mL de agua destilada en vasos de precipitado durante 3 horas. Al final de este tiempo a las muestras se le retiró el exceso de agua y se pesaron nuevamente.

Capítulo VI - Resultados y discusión

6.1 Síntesis de nanopartículas de óxido de Zinc

Se sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc utilizando una variación del proceso de síntesis hidrotérmal descrito por Yuvaraja, *et al.* Se prepararon 200mL de solución para obtener un máximo teórico de 3.24 g de nanopartículas de óxido de zinc. Al agregar la solución de hidróxido de sodio a la solución de acetato de zinc se observó inmediatamente un cambio en la coloración tendiendo a un blanco lechoso, indicador de que la reacción se llevó a cabo. Una vez terminado el proceso de lavado, se filtró y el producto secado se recolectó obteniendo 3.016 g de nanopartículas de óxido de zinc cuya apariencia es un polvo fino blanco. Consiguiendo, una eficiencia del 93% donde la pérdida pudo darse posiblemente en el proceso de filtrado.

La eficiencia se calcula mediante:

$$Eficiencia = \frac{Material\ obtenido}{Máximo\ teórico} * 100$$

Las nanopartículas obtenidas se pueden observar en la figura 17. A partir de esta imagen se realizaron mediciones de tamaño con el software imageJ® para determinar el tamaño de partícula y su dispersión mediante el histograma correspondiente.

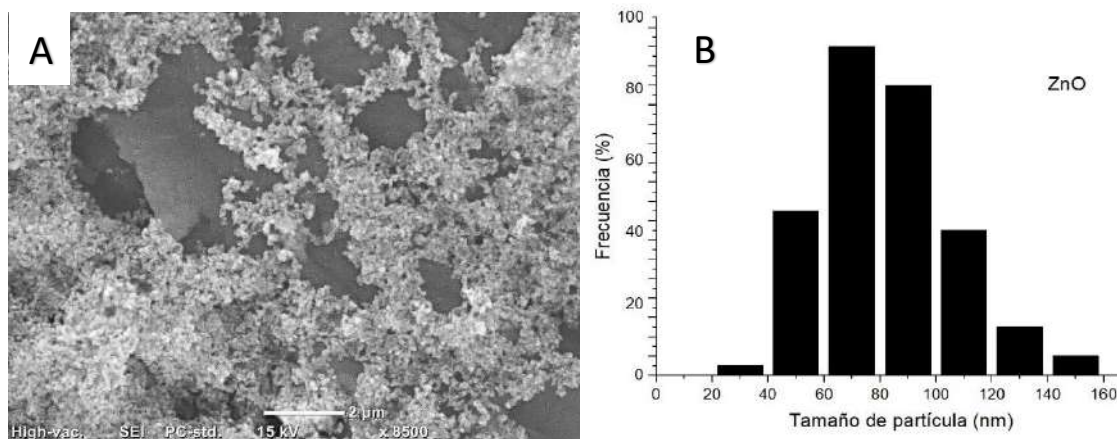


Figura 17. A) Nanopartículas de ZnO, B) tamaño de partícula

Se observa que la gran mayoría de las nanopartículas se encuentran en un tamaño promedio entre 60 y 100 nm. En un proceso de síntesis hidrotérmal, como el utilizado para sintetizar estas nanopartículas, el tamaño de partícula es determinado por el tiempo de reacción. Con un mayor tiempo de reacción las nanopartículas tienden a aglomerarse y obtener un mayor tamaño. En este caso, se utilizó un tiempo de reacción total de 10 minutos con el cual se obtuvieron tamaños de partícula con una distribución relativamente homogénea.

6.1.1 XRD de NPs de ZnO

En la figura 18 se observa un difractograma obtenido por XRD realizado a las nanopartículas de ZnO para determinar su estructura cristalina. Al comparar los planos obtenidos con la referencia del *Joint Committee on Powder Diffraction Data Standards* (JCPDS), figura 19, se observa que los planos corresponden a nanopartículas de óxido de zinc, confirmando la síntesis realizada. Se puede asumir, por el tamaño del plano principal (101) y la relación con los planos (100) y (002), que se trata de una estructura hexagonal (Naqvi et al, 2014).

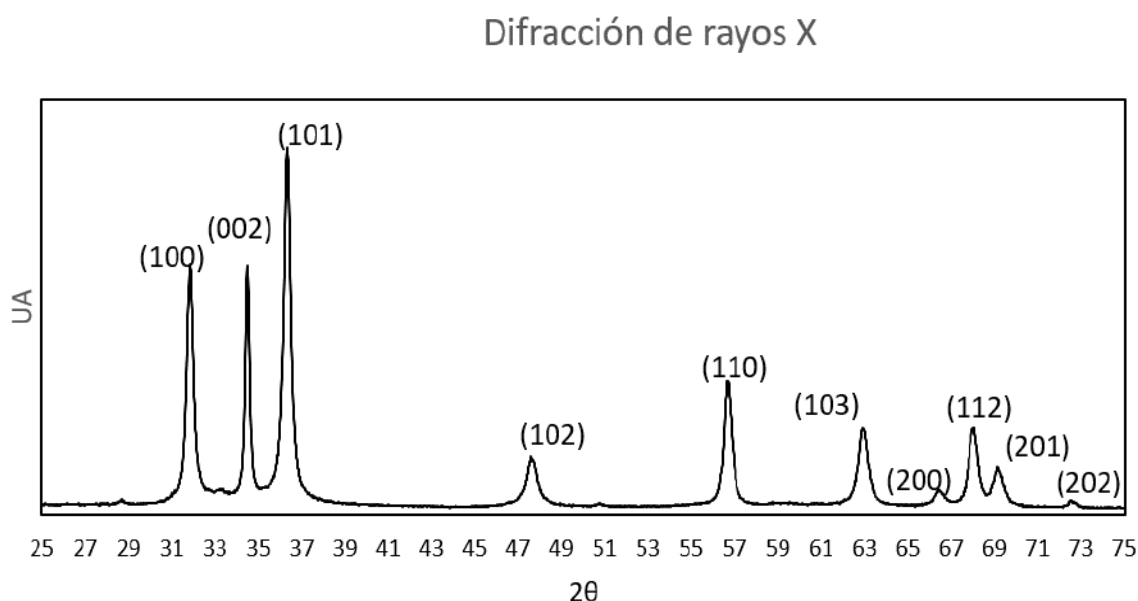


Figura 18. XRD de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.

Esta estructura corresponde a la estructura de wurzita, estructura que de acuerdo a Sirelkhatim (Sirelkhatim et al, 2015) presenta una mayor actividad antimicrobiana que su contraparte estructural cúbica. La presencia de estas nanopartículas con esta estructura hace posible que este material pueda ser utilizado en aplicaciones biomédicas.

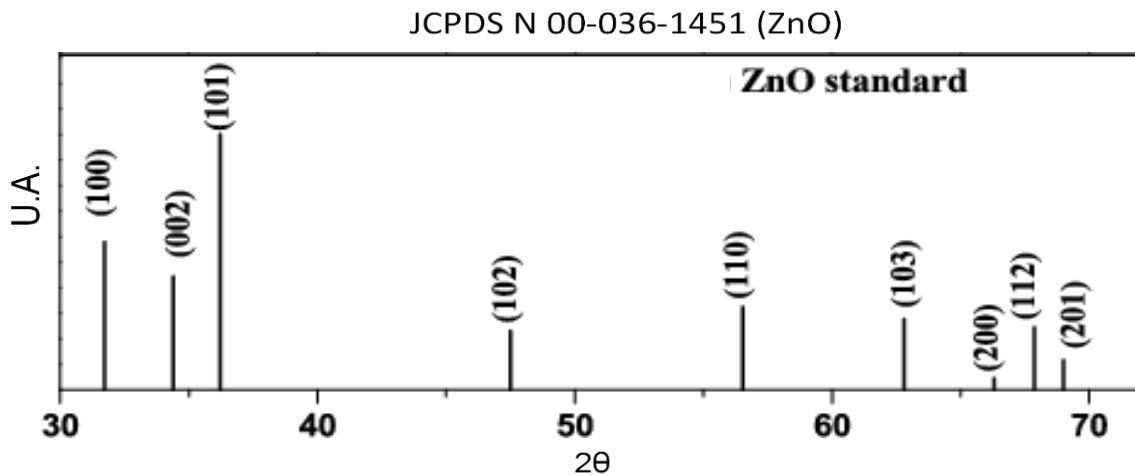


Figura 19. XRD Referencia del Óxido de Zinc

6.2 Optimización de parámetros de solución

A continuación se describen los resultados de las muestras obtenidas en cada paso de la optimización de la solución.

La tabla 6 muestra las primeras pruebas, realizadas con PEO de bajo peso molecular ($\text{PEG } 6000 \text{ g mol}^{-1}$) a diferentes concentraciones con el objetivo de generar fibras donde el Quitosano se encontrase en mayor proporción. De acuerdo con la literatura consultada, Anexo A, el medio más común para disolver quitosano es un medio ligeramente ácido lo que es suficiente para disolverlo. Las concentraciones de PEO/Quitosano están dadas en razón porcentual. La tabla 6 muestra las relaciones Quitosano-PEO usando ácido acético al 2%.

Tabla 6. Pruebas realizadas con PEG y Quitosano de alto peso molecular a una concentración total del 5% usando ácido acético al 2%.

Muestra	Relación PEO:CS		Concentración Polimérica total	Observaciones
	PEO 6000 (PEG)	Quitosano Alto PM		
PEG20QA805	20	80	5%	Las soluciones presentan una alta viscosidad y no tienen la capacidad de fluir dentro del sistema.
PEG30QA705	30	70	5%	
PEG40QA605	40	60	5%	
PEG50QA505	50	50	5%	
PEG60QA405	60	40	5%	
PEG70QA305	70	30	5%	

Las soluciones en este caso tuvieron una viscosidad que no les permitía la capacidad de fluir ni de ser empujadas por la bomba del sistema. Debido a esto se decidió reducir la concentración polimérica total a un 3% de concentración para reducir así su viscosidad. Debido a que el quitosano es el principal factor que influye en el aumento de la viscosidad en esta mezcla específica, se optó por probar mezclas con una menor proporción del mismo. Estas pruebas se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Pruebas realizadas con PEG y Quitosano de alto peso molecular a una concentración total del 3% usando ácido acético al 2% como solvente.

Muestra	Relación PEO:CS		Concentración Polimérica total	Observaciones
	PEO 6000 (PEG)	Quitosano Alto PM		
PEG50QA503	50	50	3%	Las soluciones presentaban una viscosidad excesiva y no poseían la capacidad de fluir.
PEG60QA403	60	40	3%	
PEG70QA303	70	30	3%	Se podía hacer fluir con esfuerzo de presión de la jeringa.

A pesar de haber reducido la concentración, las soluciones continuaron siendo demasiado viscosas lo que imposibilitaba utilizarlas. Debido a estas viscosidades

se descartó el uso de quitosano de peso molecular alto, sustituyéndolo por quitosano de peso molecular medio. Estas pruebas se presentan en la tabla 8.

Tabla 8. Pruebas realizadas con PEG y Quitosano de medio peso molecular a una concentración total del 3% con quitosano de Peso molecular medio.

Muestra	Relación PEO:CS		Concentración Polimérica Total	Observaciones
	PEO 6000 (PEG)	Quitosano Medio PM		
PEG30QM703	30	70	3%	Las soluciones presentaban una viscosidad excesiva y no poseían la capacidad de fluir
PEG40QM603	40	60	3%	La solución fluye con dificultad. Genera cono de Taylor pero no fibras.
PEG50QM503	50	50	3%	La solución presenta una mucha mayor fluidez. Genera cono de Taylor pero no fibras.
PEG60QM403	60	40	3%	La solución es extremadamente fluida. Genera cono de Taylor pero no fibras.
PEG70QM303	70	30	3%	

De la tabla anterior, las soluciones PEG50QM503, PEG60QM403 y PEG70QM303 presentaron la viscosidad adecuada que permite que sean utilizadas en el sistema de electrohilado. Por lo tanto estas soluciones pasaron a la siguiente etapa del proceso como se describe en el diagrama de flujo presentado en la figura 15 en el capítulo anterior. Al probar estas soluciones en el sistema de electrohilado se observó que se generaba un cono de Taylor, sin embargo no se alcanzó a formar una proyección de fibra en ninguna de las muestras. De forma general se presentó una proyección de gotas hacia la placa recolectora. Esto puede deberse a la influencia del peso molecular del PEO, ($\text{PEG } 6000 \text{ g mol}^{-1}$) debido a que polímeros con bajo peso molecular puede causar formación de gotas o bien electrospaying (Cansever et al, 2018) que no alcanzan a generar un jet que permita una proyección continua de fibra polimérica. Por lo tanto se sustituyó el uso de $\text{PEG } 6000 \text{ g mol}^{-1}$

por uno de mayor tamaño, PEO 100,000 gmol^{-1} , variando la concentración como se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Pruebas realizadas con PEO 100000 gmol^{-1} y Quitosano de medio peso molecular a una concentración total del 3%.

Muestras	Relación PEO:CS		Concentración	Observaciones
	PEO 100,000	Quitosano Peso Medio	Polimérica Total	
PEO ₁ 50QM503	50	50	3%	Las soluciones presentan una viscosidad media que permite que fluyan lentamente a través del sistema. Se genera un cono de Taylor pero no hay proyección de fibras, solo proyección de grumos y gotas.
PEO ₁ 60QM403	60	40	3%	
PEO ₁ 70QM303	70	30	3%	

Las muestras descritas en la tabla 9 presentaron una fluidez adecuada. Al realizar la prueba corta de electrohilado se generaba un cono de Taylor pero no se lograba una proyección constante de fibras. Debido a que no se alcanzó la proyección de una fibra continúa utilizando PEO 100000 gmol^{-1} se decidió utilizar PEO 600,000 gmol^{-1} como el reportado por Schiffman et al, 2008. Al utilizar PEO 600000 gmol^{-1} la viscosidad de las soluciones aumenta en gran medida. De acuerdo a la literatura consultada, presentada en el anexo A, aunque el solvente más común para el quitosano es ácido acético con una concentración del 2%, también es posible utilizar un medio ácido más fuerte, Por ello se decidió aumentar la concentración del ácido acético a una concentración del 70%. Al utilizar este medio de mayor acidez se logró reducir la viscosidad de la solución polimérica para que fuese lo suficientemente fluida para ser utilizada en el sistema de electrohilado.

Antes de continuar con las pruebas de las mezclas poliméricas, se realizó una prueba control hilando una solución al 3% de PEO 600000 gmol^{-1} disuelto en el medio ácido de ácido acético al 70%. Debido a que el PEO es comúnmente disuelto en un medio acuoso (Schiffman et al, 2008) se realizó esta prueba control para evaluar si el medio ácido podría tener un efecto negativo en el PEO y la formación

de fibras. La solución de PEO resultó en la formación de fibras por lo que se concluyó que es factible trabajar con un medio ácido fuerte ($\text{pH} = 2$) como solvente. Las condiciones de hilado para la solución de PEO fueron: un voltaje de 20kV, 10 cm de distancia, un flujo de 0.5 mLh^{-1} , una aguja con gauge 18G (1.02 mm), una temperatura de 25°C y una humedad relativa de 40%.

Las muestras realizadas con PEO $600,000\text{gmol}^{-1}$ y quitosano de peso medio con el nuevo solvente de ácido acético al 70% se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Pruebas realizadas con PEO 600000 gmol^{-1} y Quitosano de peso molecular medio a una concentración total del 3% con un solvente de ácido acético al 70%.

Muestra	Relación PEO:CS		Concentración Polimérica Total	Observaciones
	PEO 600000	Quitosano Peso Medio		
PEO ₆ 50QM503	50	50	3%	La solución fluye a través del sistema aunque es capaz de formar el cono de Taylor no es capaz de formar fibras, presenta proyección de grumos.
PEO ₆ 60QM403	60	40	3%	La solución fluye a través del sistema aunque es capaz de formar el cono de Taylor no es capaz de formar fibras, presenta proyección de grumos y fibras e manera intercalada.
PEO ₆ 70QM303	70	30	3%	Proyecta en su mayoría un jet de fibra constante
PEO ₆ 80QM203	80	20	3%	Proyecta fibras de manera constante.

En la muestra PEO₆60QM403, se observaron fibras de mediana calidad (fibras con grumos de polímero en varias regiones) y fibras de buena calidad en las muestras

PEO₆70QM303 y PEO₆80QM203. Debido a que se busca la mayor cantidad de quitosano posible en las fibras, se eligió la muestra PEO₆70QM303 para continuar con el procedimiento.

Una vez que se eligió la solución PEO₆70QM303, se continuó con la optimización de parámetros. El rango de parámetros que se probaron se presenta en la tabla 11A.

Tabla 11 A) Rango de parámetros que se fueron variando para optimizar el proceso, B) parámetros finales para la producción de fibras

A) Parámetros variables	
Parámetros	Valores
Voltaje	20-25 kV
Flujo	0.4 -0.8 ml/h
Distancia	10-20cm
Temperatura	30-40°C
Humedad	30-75%
Gauge de aguja.	16G-22G

B) Parámetros finales	
Parámetros	Valores
Voltaje	25 kV
Flujo	0.4 ml/h
Distancia	15cm
Temperatura	32°C
Humedad	30-50%
Gauge de aguja.	18G

En la tabla 11B se observan los parámetros de proceso finales que se eligieron para la fabricación de fibras. La elección de parámetros se llevó a cabo de manera cualitativa utilizando la cámara integrada del equipo. Se eligieron los parámetros que permitían una formación adecuada de fibras como se muestra en la figura 20



Figura 20 Formación del cono de Taylor y proyección de fibra de la muestra PEO₆70QM303

donde se observa la formación de un cono de Taylor definido y la proyección de un jet delgado de fibra lo que indica que el proceso se está llevando a cabo de manera correcta.

Dentro de estos parámetros se hace una mención enfática a la humedad relativa. La humedad relativa suele ser un parámetro que en la mayoría de equipos, tanto caseros como comerciales, no es controlado y está sujeto a las variaciones del clima y ubicación del laboratorio. Dentro de la experiencia de este y anteriores proyectos, la humedad relativa puede variar en un mismo lugar entre un 30% y un 80%. Se observó que cuando se realizaba el proceso de electrohilado en condiciones altas de humedad, el cono de Taylor tenía mayor dificultad para formarse, la proyección de jet se volvía intermitente y de manera general las fibras salían con mayores defectos y presencia de grumos. Se realiza la hipótesis de que esto se puede deber a que el porcentaje de humedad relativa cambia la presión sobre la gota en la punta del capilar lo cual causa que cambie la tensión superficial que tiene que romper la fibra polimérica. Se hace énfasis en este parámetro debido a que suele ser un parámetro el cual es difícil de controlar, en la gran mayoría de sistemas no es monitoreado y de manera general no suele ser reportado en la literatura. El equipo que se utilizó permite cierto control y monitoreo de la humedad relativa, logrando mantenerla entre un 30% y 50% dependiendo de las condiciones ambientales.

Por otro lado, la literatura reporta que es posible utilizar al agente Tritón X-100® como aditivo para mejorar la calidad de las fibras (disminución de defectos) (Roca, 2017). El Tritón X-100® funciona como tensoactivo disminuyendo la tensión superficial del solvente y facilitando la formación de las fibras. Por tanto, se adicionó 0.03g de Tritón X-100® a la muestra PEO₆70QM303 obtener la muestra PEO₆70QM303T (Tabla 12).

Tabla 12. Adición de Tritón-X100® como tensoactivo.

Muestra	Relación PEO:CS		Tritón X-100®	Concentración	Observaciones
	PEO 600000	Quitosano Peso Medio		Polimérica Total	
PEO ₆ 70QM303T	70	30	1%	3%	Fibras ligeramente más delgadas que las muestras sin Tritón X-100®.

Se compararon las muestras PEO₆70QM303 y PEO₆70QM303T por medio de SEM para observar las posibles diferencias en la morfología. El análisis, descrito a detalle más adelante, mostró que la diferencia entre las fibras con y sin tritón X-100® es mínima. Debido a que la influencia del tritón X-100® no es significativa, se optó por continuar con la muestra PEO₆70QM303 ya que se busca obtener las fibras de la manera más pura posible.

6.3 Caracterización de las fibras

6.3.1 Microscopía electrónica de Barrido (SEM)

La solución PEO₆70QM303 formó fibras las cuales se confirmaron primero por medio de un microscopio óptico como se describió en el proceso, figura 15. Una vez confirmada la presencia de las fibras, la muestra PEO₆70QM303 y su variación con tritón X-100®, la muestra PEO₆70QM303T, fueron analizadas por medio de SEM para observar la morfología. La figura 22

muestra las fibras obtenidas con la muestra PEO₆70QM303 junto con su respectivo histograma, mientras que la figura 23 muestra las fibras obtenidas con la muestra PEO₆70QM303T. En ambos casos se observan fibras homogéneas de buena calidad sin presencia de defectos notorios.

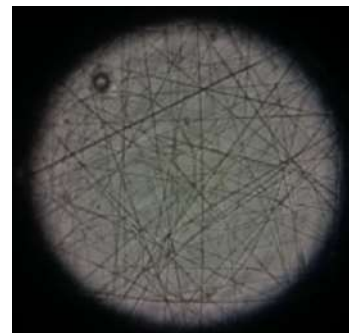


Figura 21. Vista de Microscopio óptico de fibras exitosas

Como se observa en la figura 22B, la mayoría de las fibras de esta muestra tienen un grosor entre 100 y 250 nanómetros. En contraste, en la figura 23B se observa que la mayoría de las fibras tienen un grosor igual entre 100 y 250 nanómetros pero con una mayor proporción de fibras que tienden a tamaños ligeramente más pequeños que rondan los 100 nanómetros. Debido a la poca diferencia entre ambas muestras, se descartó el uso de la muestra PEO₆70QM303T y se continuó solamente con la muestra PEO₆70QM303.

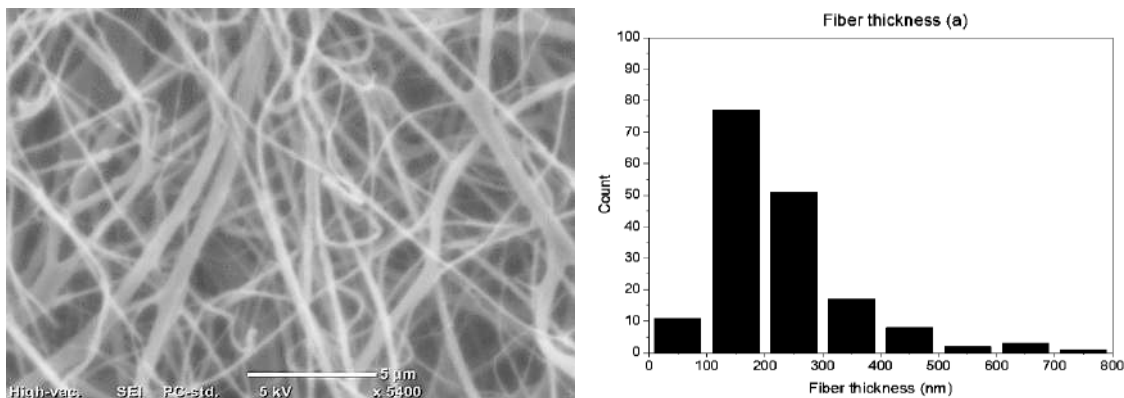


Figura 22 A) Fibras de la muestra PEO₆70QM303 y B) Histograma de tamaño de la muestra PEO₆70QM303

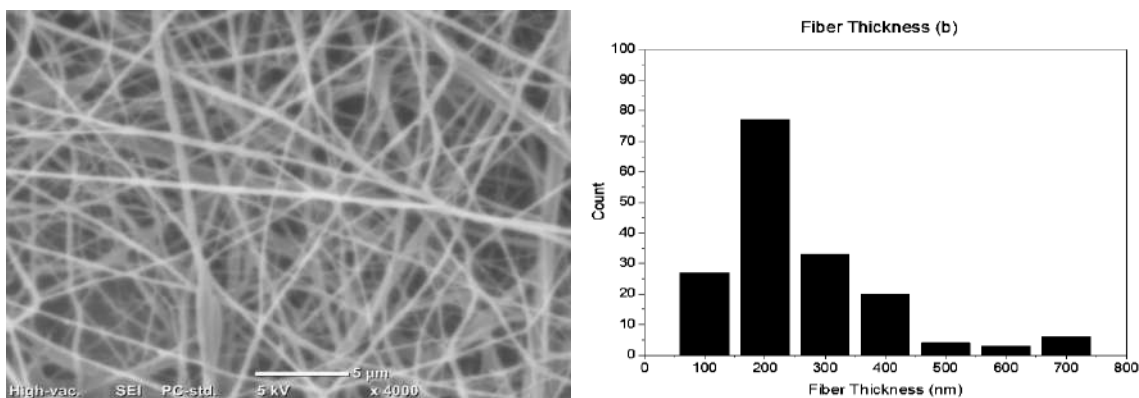


Figura 23 A) Fibras de la muestra PEO₆70QM303T y B) Histograma de tamaño de la muestra PEO₆70QM303T

6.4 Inclusión de nanopartículas de ZnO

La muestra PEO₆70QM303 fue dopada con 1% de ZnO NPs. La microscopía de barrido se observa en la figura 24.

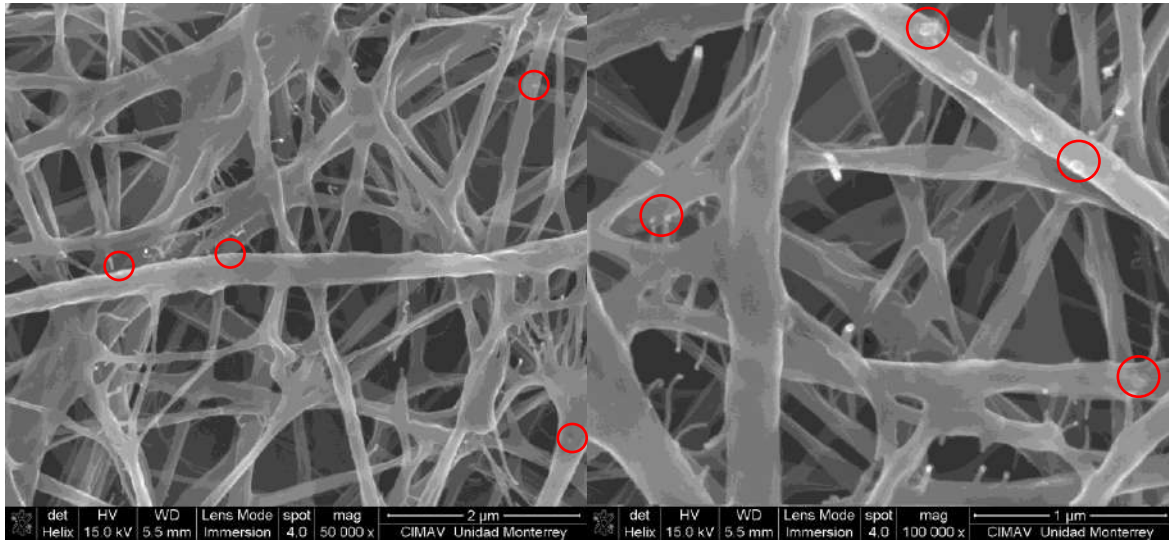


Figura 24 SEM de las fibras con un dopaje de ZnO NPs del 1% en A) magnificación 50,000x y B) magnificación 100,000x

En la figura 24 se pueden observar las nanopartículas de distribuidas a lo largo de las fibras. De manera general se observas que las nanopartículas están tanto en la superficie como al interior de las fibras. El tamaño de las nanopartículas observadas en esta imagen van entre los 20nm hasta los 80 nm lo que corresponde con el tamaño analizado anteriormente, figura 17. De igual manera se observa que el tamaño de fibra ronda los 200nm lo que es consistente con lo encontrado anteriormente, figura 22, y muestra que las nanopartículas no afectaron de manera significativa la formación de las fibras. Debido a que inclusión de las ZnO NPs no tuvo efectos visibles en la morfología de las fibras como se puede observar en la figura 24, se decidió aumentar la concentración de nanopartículas al 3%.

Una vez realizada la inclusión de las nanopartículas, se procedió a la inclusión del agente iniciador PETA para la reticulación.

Como se mencionó en el capítulo anterior, se hicieron dos muestras, adicionando 17% y 25% de PETA respectivamente para dar lugar a las muestras finales, tabla 13. Estas muestras pasaron a las subsecuentes fases de reticulación por UV y a su respectiva prueba de hinchamiento.

Tabla 13 Muestras finales obtenidas que pasaron a la etapa de irradiación.

Muestra	NPs	PETA	Distancia [mm]	Aguja [G]	Flujo [mlh ⁻¹]	Voltaje [kV]	Humedad relativa [%]	Temp. [°C]
D	3%	17%	15	18	0.4	25	30-50	32
E	3%	25%	15	18	0.4	25	30-50	32

La figura 25 muestra la microscopía electrónica de barrido de las muestras con la inclusión del PETA y su respectivo histograma de tamaño. De esta manera se puede observar la influencia del PETA en la morfología y tamaño de las fibras.

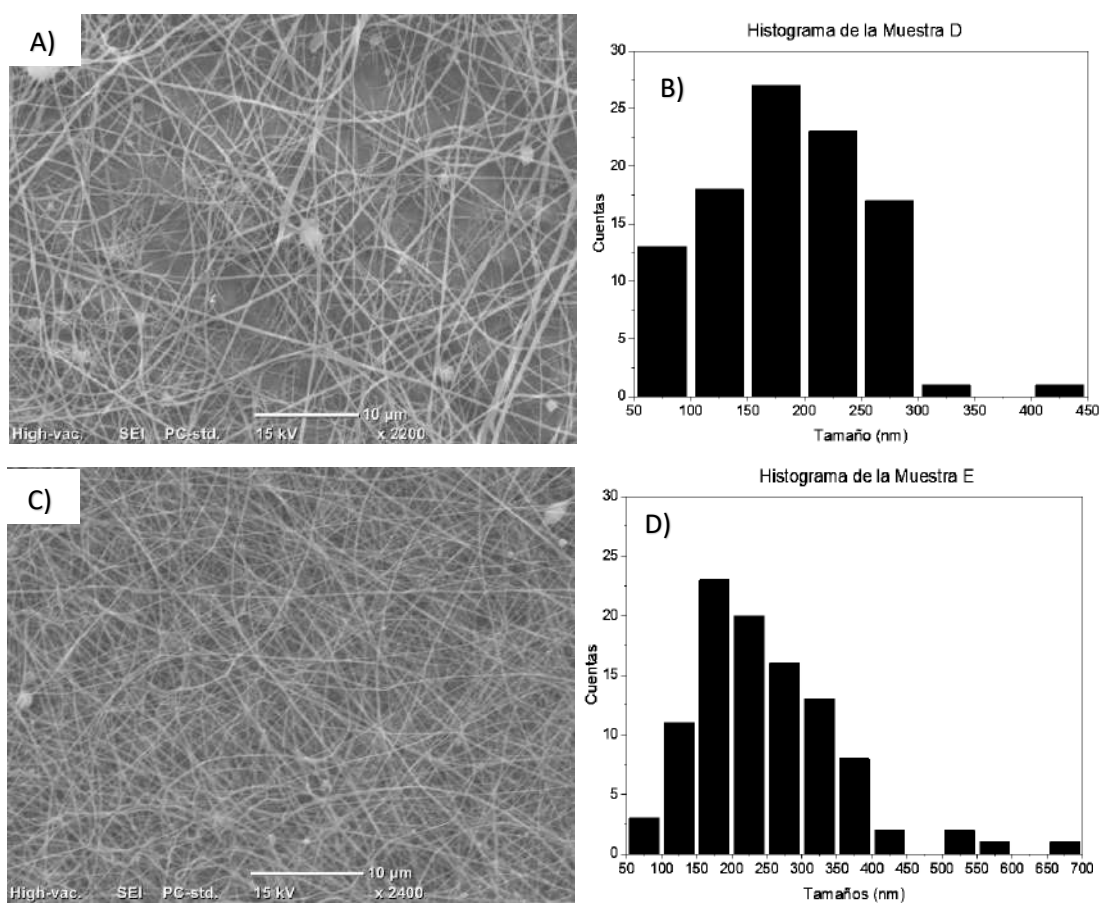


Figura 25. A) SEM de la muestra D con un contenido de 17% de PETA, B) Histograma de la muestra D. C) SEM de la muestra E con un contenido de 25% de PETA, D) Histograma de la muestra E.

En primera instancia se pueden observar la aparición de defectos en forma de “rosarios” en las fibras. Se observa que el tamaño cambia ligeramente tendiendo a fibras más gruesas con una concentración de PETA al 25% con respecto a las fibras con una concentración de PETA al 17%, sin embargo no difiere el tamaño significativamente con respecto a las fibras sin iniciador y sin nanopartículas. Las diferencias de concentraciones en el PETA no parecen generar una gran diferencia en la morfología de las fibras pues ambas concentraciones presentan aparentemente la misma cantidad y calidad de defectos.

Una vez generadas las fibras, se irradiaron con UV para generar las conexiones inter e intrafibras. En la figura 26 podemos observar una microscopía de la muestra D irradiada por un tiempo de 80 minutos. Se puede apreciar la presencia de los defectos, los cuales no sufrieron ningún cambio con el proceso de irradiación. De

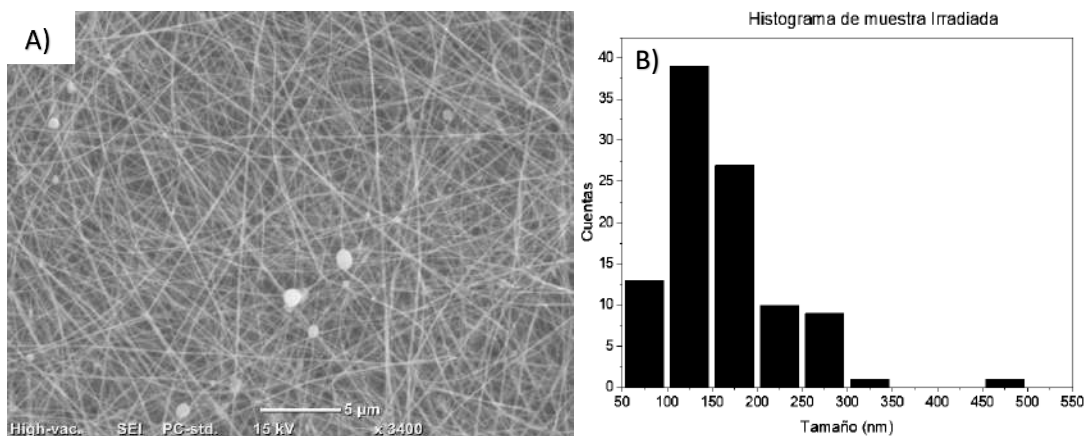


Figura 26. A) SEM de la muestra D irradiada durante 80 minutos. Y B) Histograma de la muestra D

igual manera, a simple vista es difícil percibir las uniones inter e intra fibra que pudieran haber ocurrido, por lo que se tiene que realizar un posterior análisis para determinar el nivel de reticulación.

6.4.1 XRD de las fibras obtenidas

Una vez obtenido el material final, se realizó un XRD para corroborar la presencia de las nanopartículas de ZnO dentro del material. En la figura 27 se observan los

patrones XRD para A) ZnO NPs, B) Quitosano Peso medio, C) Material finales: Quitosano/PEO/ZnO NPs y D) PEO.

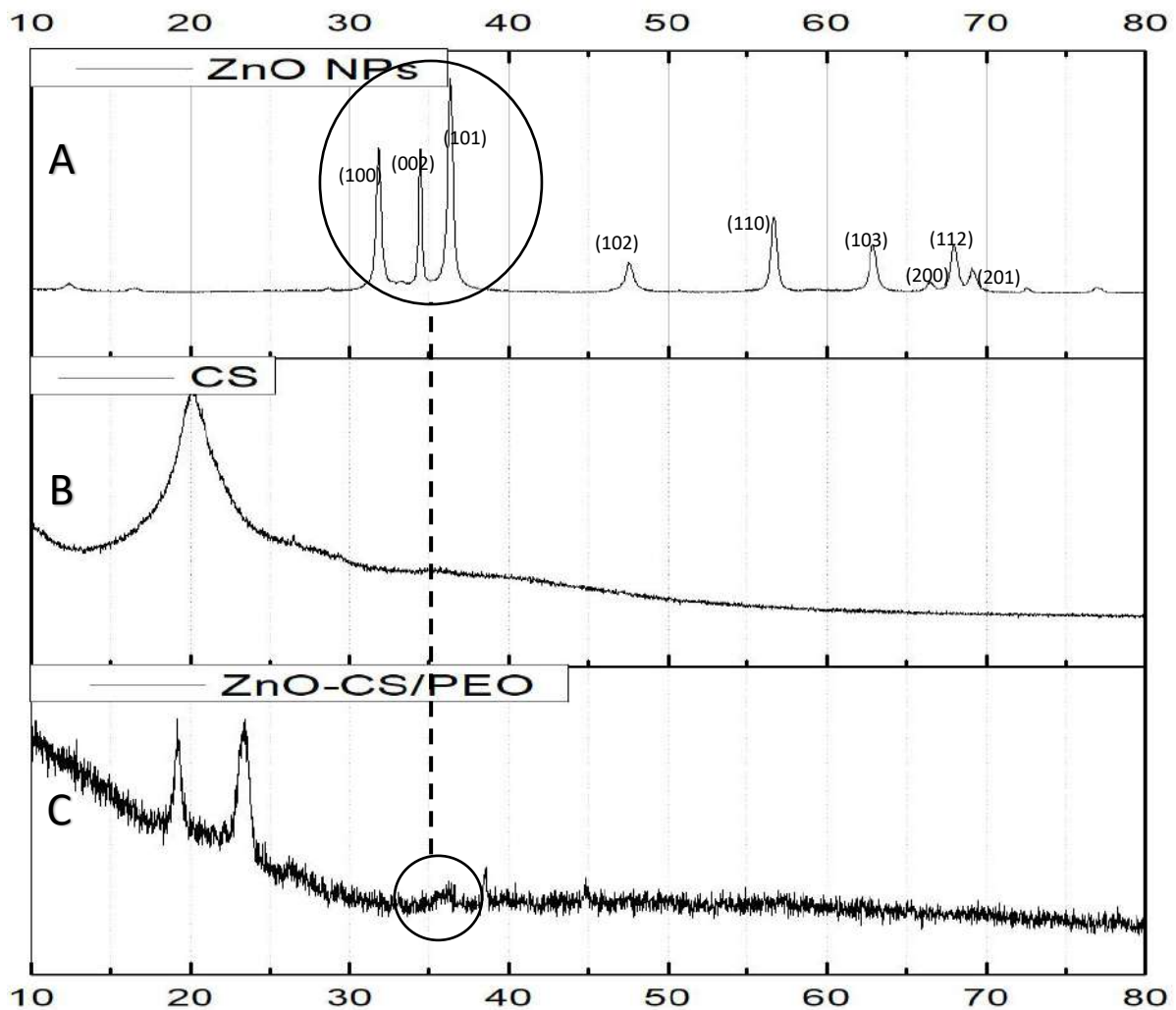


Figura 27, XRD de a) ZnO NPs, b) Quitosano Peso medio, y C) Material finales: Quitosano/PEO/ZnO NPs. El XRD de las nanopartículas fue analizado a mayor profundidad anteriormente en la sección 6.1 de este capítulo confirmando que se trata de nanopartículas de ZnO en fase cristalina de hexagonal. En la figura 27B se puede apreciar que el quitosano presenta una banda ancha alrededor de $2\theta=20^\circ$ lo cual muestra principalmente que se trata de una estructura amorfa debido al alto nivel de desacetilación del compuesto y que presenta solamente un leve ordenamiento de las cadenas y va acorde con lo reportado por Kumar et al. (Kumar et al, 2012). De igual manera el PEO presenta dos planos principales en $2\theta=19^\circ$ y $2\theta=24^\circ$ que definen una parte semicristalina, lo cual va acorde con lo reportado por Alya et al (alya et al, 2015).

Ambos polímeros presentan bandas cercanas, el PEO en $2\theta=19^\circ$ y el quitosano en $2\theta=20^\circ$, sin embargo la banda que se mantiene visible en el material compuesto es la del PEO en $2\theta=19^\circ$. Esto puede deberse al traslape de la banda de quitosano o a que pierde su cristalinidad en el proceso de electrospinning al romperse el poco ordenamiento de sus cadenas. En la figura 27C no se alcanza a distinguir visiblemente la presencia de las bandas principales de las nanopartículas de óxido de zinc en $2\theta=31^\circ$, $2\theta=34^\circ$ y $2\theta=37^\circ$, sin embargo se alcanza a distinguir una pequeña región de bandas con un poco más de intensidad entre $2\theta=37^\circ$ y $2\theta=40^\circ$. Estas pequeñas bandas pueden corresponder a las nanopartículas y su poca intensidad se pueden deber a la poca concentración de las nanopartículas y el gran comportamiento amorfo del polímero. Se utilizó el programa MATCH® para realizar un ajuste y eliminar el ruido de la muestra, limpiando la región para observar los planos en ese rango. En la figura 28 se observan los planos resultantes de este ajuste.

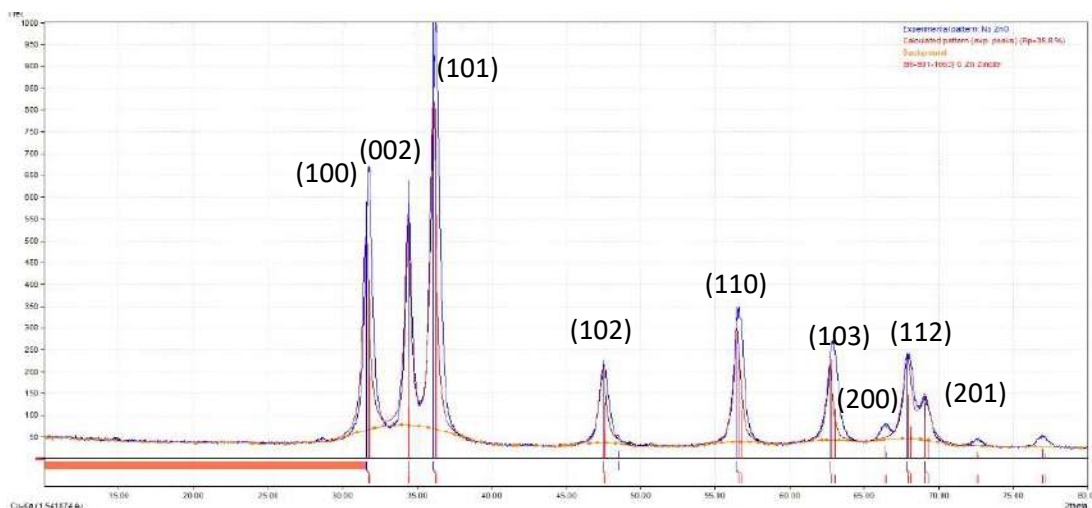


Figura 28, espectro XRD de la mezcla Quitosano/PEO/ZnO procesado para eliminar el ruido.

Al realizar el ajuste, se observa que los planos coinciden a la perfección con los reportados en la figura 27A. Esto confirma que efectivamente existe la presencia de las nanopartículas de ZnO dentro del polímero fabricado. El XRD también demuestra que las nanopartículas no se degradan ni presentan cambios de fase cristalina durante el proceso de electrohilado.

6.4.2 Espectroscopia de rayos X por energía dispersiva (EDS) y análisis elemental

Se realizó un análisis EDS y un mapeo elemental como confirmación de la presencia y distribución de las nanopartículas de ZnO dentro del material fabricado. La región que se analizó se muestra en la figura 29 ya que se alcanza a distinguir en la imagen lo que parecen ser nanopartículas en las fibras. El rayo fue apuntado específicamente hacia la partícula que sugiere ser ZnO NPs mostrado en la fig. 30 donde se observan los diferentes metales presentes en la muestra.

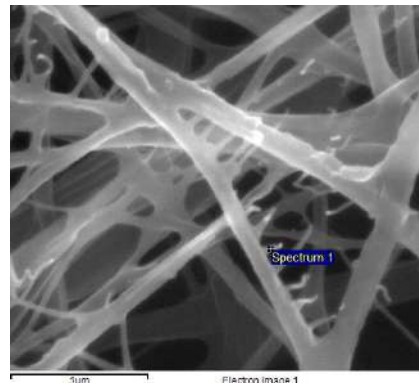


Figura 29 muestra CS-PEO-ZnO NPs

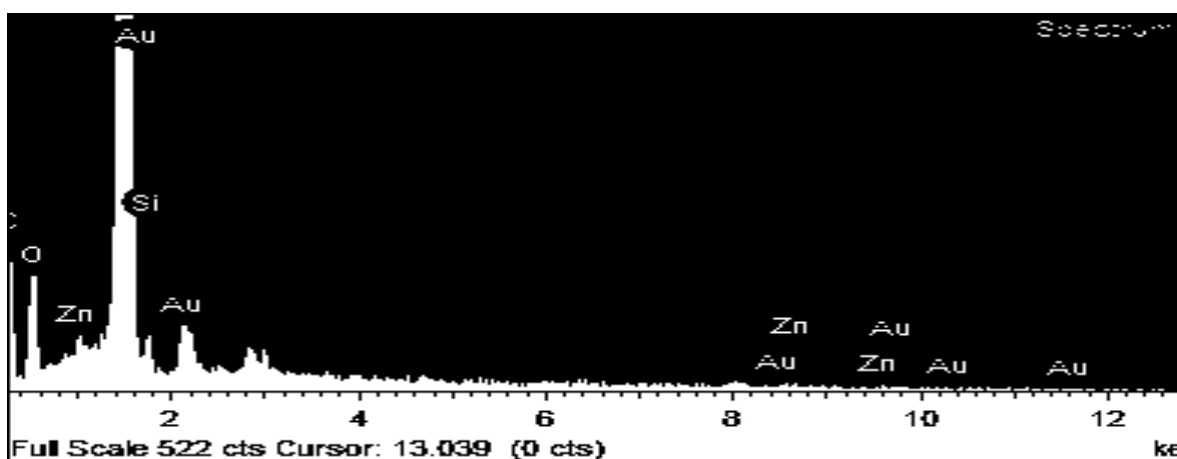


Figura 30. EDS de la muestra CS-PE-ZnO

La tabla 14 muestra las proporciones de los elementos encontrados en el punto analizado, el aluminio, el oro y el paladio pueden ser ignorados del análisis debido a que su presencia se debe a que el porta-muestras está fabricado de aluminio y la muestra está recubierta de una aleación oro/paladio para el análisis. El análisis porcentual realizado por el EDS indica la presencia del Zinc distribuido a lo largo de la muestra. Esto es un indicativo de la presencia de nanopartículas en la fibra en una distribución relativamente homogénea que concuerda tanto con las imágenes SEM como con el XRD realizado previamente.

Tabla. 14 Contenido por elemento

Elemento	Peso t%	Atómico%
C K	44.43	61.48
O K	32.17	33.42
Si K	4.87	2.88
Zn L	3.91	0.99
Au M	14.62	1.23
Total	100.00	

6.4.3 Espectroscopia de infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)

Debido a que las fibras están compuestas por una mezcla de quitosano y óxido de polietileno, se utilizó la espectrometría de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) para identificar los grupos funcionales del material y sus interacciones. De esta manera se puede observar la interacción entre las diferentes partes del quitosano y PEO. En primer lugar la figura 31 muestra el análisis IR de los componentes utilizados en el material: el óxido de polietileno (fig. 31A), el quitosano (fig. 31B) y el iniciador PETA (fig.31C).

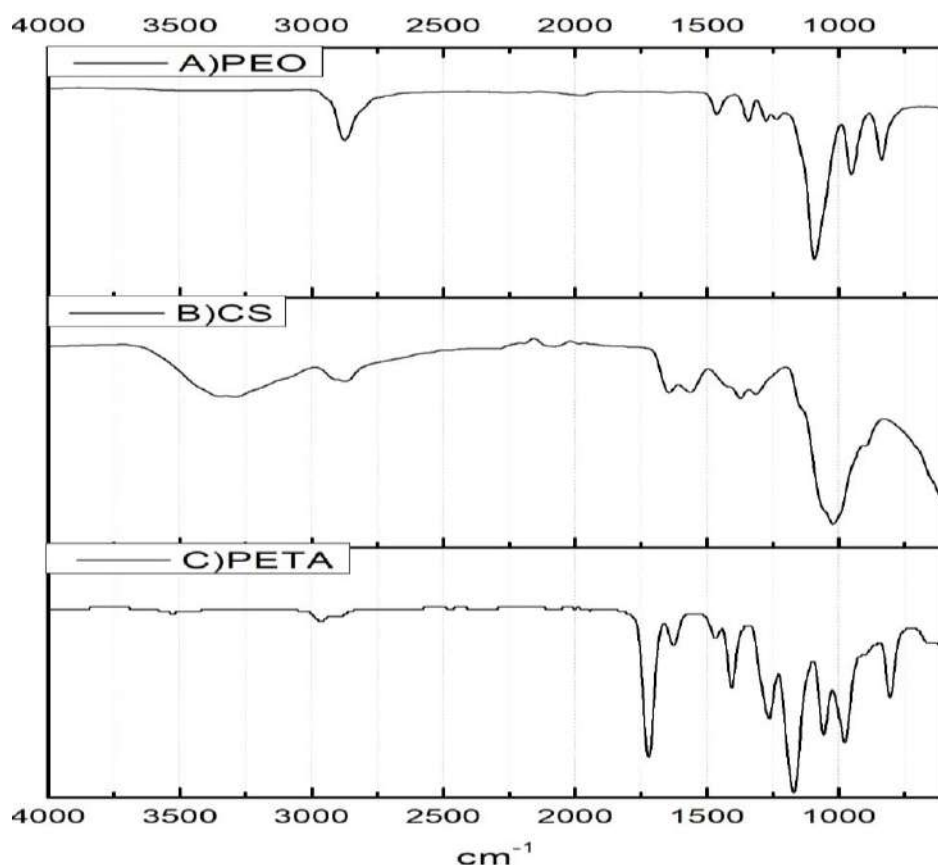


Figura 31, Espectro IR de A) PEO, B) Quitosano y C) PETA.

En el espectro del óxido de polietileno (fig. 31A), la banda a 2875cm^{-1} se debe a la vibración de tensión del enlace CH_2 dentro de los enlaces $-\text{OCH}_2-$ presentes en las cadenas. Las pequeñas bandas observadas en 1460 cm^{-1} y 1345 cm^{-1} se deben a la flexión simétrica del CH_2 y la vibración de tensión del CH_2 respectivamente. La banda de gran tamaño que se observa en 1110 cm^{-1} corresponde a la vibración de

tensión C-O-C. Esta banda es la banda característica del óxido de polietileno. (Kimura et al, 1996. Morsi et al. 2016) La pequeña banda que se encuentra en 1240 cm^{-1} se debe a la torsión simétrica del CH_2 . Las bandas observadas a 965 cm^{-1} , 945 cm^{-1} y 845 cm^{-1} corresponden al balanceo asimétrico del CH_2 con una contribución de la vibración de tensión del grupo C-O-C. (Dissanayaket & Frech, 1995; Y. Wang et al., 2010, Mori et al. 2016).

Con respecto al espectro correspondiente al quitosano (fig. 31B), se puede observar una banda ancha alrededor de los 3420 cm^{-1} que corresponde al aporte de la vibración de tensión del enlace N-H del grupo amino, de las interacciones O-H, ambos grupos presentes en la estructura del quitosano. (AbdElhady, 2012; Alhosseini et al., 2012; Q. Chen, Xin, Saha, & Kim, 2017; Pebdeni, Sadri, & Pebdeni, 2016). El pico alrededor de los 2850 cm^{-1} corresponde a una vibración de tensión del enlace C-H. (AbdElhady, 2012; Alhosseini et al, 2012; Chinh et al., 2015; Pebdeni et al., 2016). Las pequeñas bandas alrededor de 1640 cm^{-1} y 1670 cm^{-1} se deben principalmente a la vibración de tensión del grupo C=O de los enlaces amidas presentes en los residuos de la quitina. (Q. Chen et al., 2017; Chinh et al., 2015). En la banda alrededor de los 1550 cm^{-1} se observa la flexión N-H del enlace amida. (Alhosseini et al, 2012; Dobre, Stroescu, & Jipa, 2010; Q. Chen et al, 2017; Chinh et al 2015). Por último, alrededor de 1370 cm^{-1} se encuentra la vibración de tensión del grupo -NHCO presente en la amida (Alhosseini et al., 2012; Anicuta et al., 2010; Q. Chen et al., 2017). De igual forma en la banda alrededor de 1315 cm^{-1} se puede identificar la vibración de tensión que corresponde al enlace entre el grupo C-N. En la banda alrededor de 1150 cm^{-1} se puede observar la vibración de tensión del grupo característico de los sacáridos. Por el otro lado la vibración de tensión del grupo C-O se observa alrededor de los 1050 cm^{-1} . (Alhosseini et al., 2012; Q. Chen et al., 2017; Chinh et al., 2015; Dennis, Harrison, Agnes, & Erastus, 2016) Una última banda de los sacáridos se puede observar a 895 cm^{-1} (Alhosseini et al., 2012; Anicuta et al., 2010).

Por último, se observa en la figura 31C el espectro correspondiente al iniciador PETA. En este caso, las dos bandas más representativas se encuentran en 1720 cm^{-1} y 1628 cm^{-1} . La gran banda que se observa a 1720 cm^{-1} representa la vibración de tensión del grupo carbonilo presente en la molécula. De igual forma, la banda presente en 1620 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión del doble enlace carbono- carbono ($\text{C}=\text{C}$) (Zhou et al 2012). Este último enlace es de sumo interés

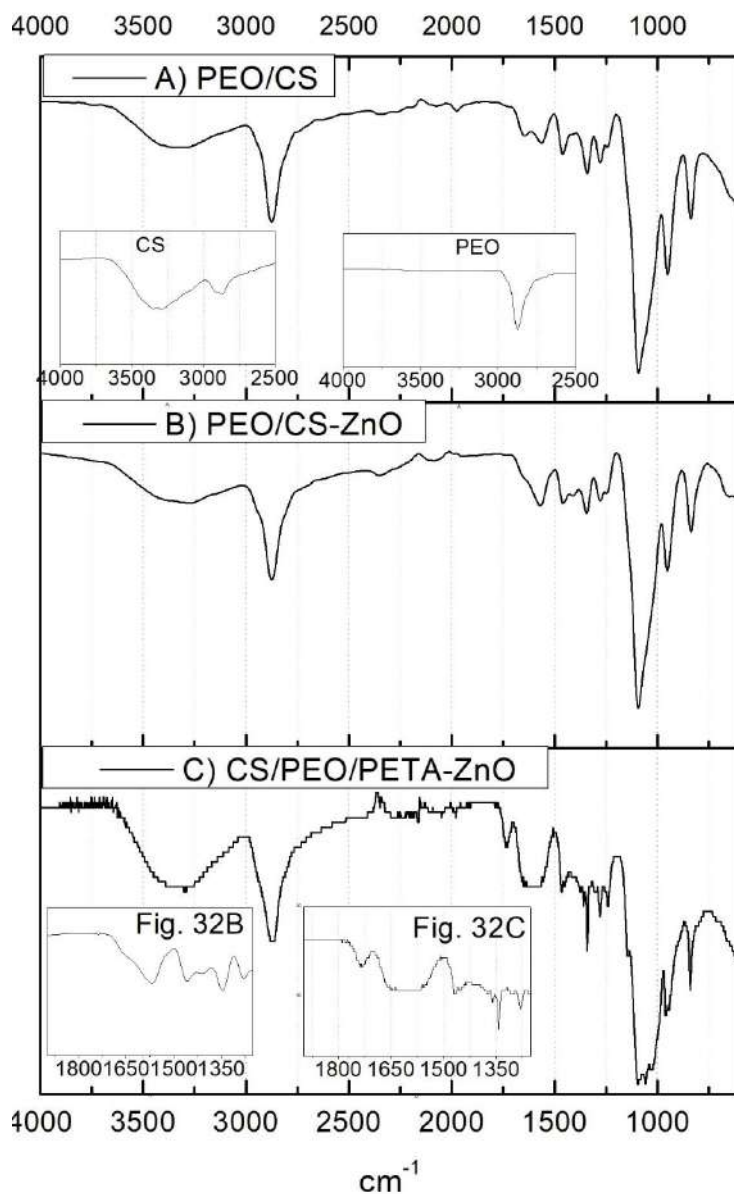


Figura 32. Espectro IR de A) Mezcla Quitosano/PEO, B) Mezcla CS/PEO dopada con ZnO y C) Mezcla CS/PEO con PETA y dopada con ZnO con acercamiento a la región 1990-1250 cm^{-1} de las figuras 32B y 32C

debido a que este es el enlace que se rompe durante el proceso de reticulación que da inicio a la unión entre cadenas.

En la figura 32 se puede observar los espectros IR de los diferentes materiales fabricados a lo largo del proceso: Mezcla quitosano/PEO (fig. 32A), Mezcla quitosano/PEO dopada con ZnO NPs (fig. 32B) y Mezcla quitosano/PEO dopada con ZnO NPs y con iniciador PETA. En primer lugar, en los tres espectros IR se observa un ensanchamiento de la banda principal que se encuentra alrededor de 1100 cm^{-1} , el tamaño de esta banda se debe principalmente a la vibración de tensión C-O-C presente en las cadenas de PEO, sin embargo su ensanchamiento se puede atribuir a la contribución de la banda en 1050 cm^{-1} que corresponde a la vibración de tensión del grupo C-O presente en el quitosano. La banda ancha presente alrededor de los 3420 cm^{-1} que corresponde al aporte de la vibración de tensión del enlace N-H del grupo amino y de las interacciones O-H presentes en el quitosano confirma la incorporación del quitosano ya que es inexistente en el PEO. Esta comparación se observa de manera clara en las gráficas comparativas presentes en la figura 33A. Se pueden observar dos pequeñas bandas en 1245 cm^{-1} y 1260 cm^{-1} relacionado con la torsión simétrica del CH_2 y una banda alrededor de 1350 cm^{-1} relacionado con la flexión del CH_2 en el espectro del PEO, mientras que en el espectro del quitosano se encuentran dos bandas alrededor de 1315 cm^{-1} , una vibración de tensión que corresponde al enlace entre el grupo C-N y de 1370 cm^{-1} correspondiente a la vibración de tensión del grupo $-\text{NHCO}$ presente en la amida. En el espectro de la combinación de ambos polímeros se puede observar que la pequeña banda alrededor de 1240 cm^{-1} se mantiene pues la torsión de los enlaces CH_2 no sufre un gran cambio mientras que hay un crecimiento de la banda alrededor de la banda de 1260 cm^{-1} y la aparición de una banda alrededor de los 1320 cm^{-1} . Estas bandas pueden deberse a un desplazamiento de las bandas en 1300 cm^{-1} y 1350 cm^{-1} del quitosano debido a las interacciones de los enlaces C-N y $-\text{NHCO}$ del quitosano con los enlaces CH_2 presentes en las cadenas del PEO principalmente por medio de la unión por puentes de hidrógeno. (Kimura, Umemura, & Hayashi, 1996; Pebdeni et al., 2016). La influencia del PETA se puede observar en primer lugar en el crecimiento de la intensidad de la banda presente en

1350 cm^{-1} . De manera más clara, figura 32 C, se observa la aparición de una banda en 1630 cm^{-1} correspondiente a la vibración de doble enlace C=C cuya señal se traslapa con la banda en 1550 cm^{-1} del enlace N-H presente en el quitosano por lo que se genera una banda amplia. Por último se observa la aparición de una banda en 1720 cm^{-1} correspondiente al carbonilo del PETA. LA diferencia de intensidad que se aprecia de la banda 1720 cm^{-1} , característica del PETA, entre el IR de la molécula y el IR del compuesto (fig. 31C y fig. 32C) se debe a la baja concentración del PETA presente en el material final.

Se puede observar que no hay una diferencia significativa entre la figura 32A, la mezcla quitosano-óxido de polietileno, y la figura 32B, quitosano-óxido de polietileno dopado con ZnO NPs. Esto se debe a que las bandas generadas por la presencia de las nanopartículas de óxido de zinc se observan alrededor de los 436 cm^{-1} y las características de nuestro equipo solamente permiten un análisis a partir de los 500 cm^{-1} . (Q. Chen et al, 2017; Duan et al. 2004; Pebdeni et al, 2016)

6.5 Hinchamiento

Para comprobar que el proceso de entrecruzamiento fue exitoso se realizaron pruebas a las muestras irradiadas de las fibras obtenidas con las soluciones E y D. En primer lugar se realizó una prueba control sumergiendo una muestra no irradiada en agua destilada. Dicha muestra se disolvió completamente en aproximadamente 15 minutos, mostrando que las fibras sin el proceso de entrecruzamiento son totalmente solubles. Como se puede observar en la figura 33. La cantidad de iniciador PETA utilizado influye fuertemente en la capacidad de hinchamiento del material. De esta manera podemos ver que las fibras con un contenido de PETA del 25% se hinchan hasta 5 veces más que las fibras con un contenido de PETA del 17%.

El tiempo de irradiación también influye en el proceso de hinchamiento, teniendo un hinchamiento máximo en un tiempo de 100 minutos para un contenido del 17% de iniciador y un tiempo de 120 minutos para un contenido del 25%. La diferencia del tamaño de la curva de hinchamiento entre las muestras de la solución D y la solución E pueden deberse a la diferencia de la concentración de PETA, en donde una

concentración del 25% presenta un hinchamiento mayor. Se requieren más pruebas para determinar si el proceso de entrecruzamiento genera más uniones interfibra o intrafibra.

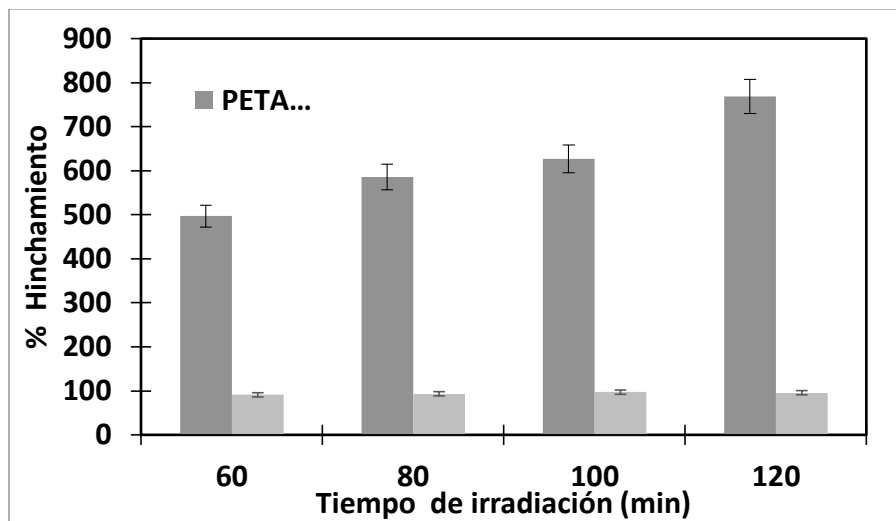


Figura 33 Porcentaje de hinchamiento a 60, 80, 100 y 120 minutos.

Al realizar un análisis SEM de las fibras irradiadas a un tiempo de 100 minutos después del periodo de hinchamiento, se puede observar el comportamiento descrito en la gráfica. La tabla 15 muestra una recapitulación de los componentes y parámetros utilizados para la obtención de las muestras finales (A y B) que se presentan en las figuras 34 y 35.

Tabla. 15 Componentes y parámetros de las muestras finales

Muestra	NPs	PETA	Distancia [mm]	Aguja [G]	Flujo [mlh^{-1}]	Voltaje [kV]	Humedad relativa [%]	Temp. [$^{\circ}\text{C}$]	UV [Wcm^{-2}]	Tiempo [min]
A	3%	17%	15	18	0.4	25	30-50	32	4.77	100
B	3%	25%	15	18	0.4	25	30-50	32	4.77	100

En la figura 34 se observa la muestra A con una concentración de iniciador PETA de 17%. Como se aprecia en la imagen, la mayor parte del polímero, el cual no se entrecruzó, se terminó disolviendo y generando una película polimérica en lugar de una red fibrosa. Se aprecian pequeñas secciones donde las fibras mantuvieron su estructura las cuales son regiones donde se llevó a cabo el entrecruzamiento. Esto

se refleja en la figura 33 donde una concentración de iniciador PETA del 17% solamente obtiene un máximo de un 97% de hinchamiento.

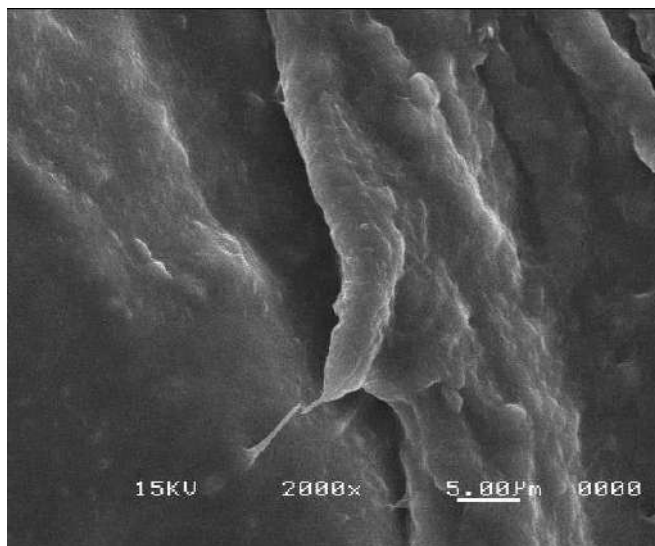


Figura 34 SEM de muestra A con 17% de PETA posterior al proceso de hinchamiento.

Por el otro lado, en la figura 35 se puede apreciar la muestra B con un contenido de iniciador PETA del 25% después de ser irradiada por 100 minutos y sometida al proceso de hinchamiento. Se puede apreciar que las fibras mantienen su estructura y que no hay ningún fenómeno de disolución como ocurre con una concentración de iniciador del 17%. Al mantener su estructura y resistir un proceso de disolución, la muestra que utiliza una concentración de PETA del 25% logró un hinchamiento de hasta el 770%. Esto muestra que el proceso de entrecruzamiento depende fuertemente de la concentración de PETA utilizada.

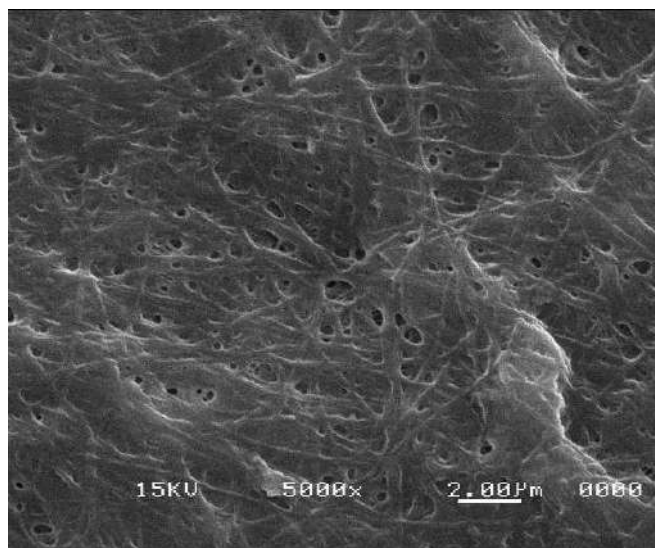


Figura 35 SEM de muestra B con 25% de PETA posterior al proceso de hinchamiento.

Capítulo VII – Conclusiones

En este proyecto se encontraron las condiciones adecuadas para la fabricación de fibras de una mezcla quitosano/PEO que dieran fibras de tamaño controlado y con una morfología sin defectos utilizando una solución al 3% de concentración compuesta de 70% PEO y 30% Quitosano (relación 7:3) en un solvente de 70% ácido acético. Esta solución permitió obtener fibras de alrededor de 200nm de grosor utilizando los parámetros óptimos en el proceso de electrohilado. De igual manera se encontró una concentración óptima de iniciador PETA del 25% junto al tiempo de irradiación adecuado de 100 minutos para el proceso de reticulación.

Por este método se obtuvo un material tipo hidrogel fibroso conformado por fibras nanométricas con una distribución estable en sus diámetros. El proceso de reticulación por UV permitió que este material, previamente soluble en agua, adquiriera una resistencia a la solubilidad, manteniendo su estructura de fibras.

El objetivo principal de este proyecto se logró al demostrar que se pudo generar un hidrogel fibroso compuesto de una mezcla de quitosano-PEO el cual después del proceso de reticulación logró hinchar hasta 770% su peso inicial. De igual manera el proceso no comprometió ni se vio afectada por la presencia de nanopartículas de ZnO. Esto es favorable ya que demuestra que este sistema puede ser dopado con nanopartículas sin alterar significativamente su estructura.

Este procedimiento tiene el potencial de ser utilizado para la generación de estructuras para andamiaje celular debido a su alta biocompatibilidad y la resistencia a la solubilidad conferida por este proceso. Al poder hinchar y crecer su tamaño permite su uso en un medio biológico, mientras que su estructura fibrosa permite la difusión de nutrientes y la proliferación celular. La presencia de nanopartículas de ZnO tienen el potencial de ser bactericidas en caso de usarse en heridas y las propiedades del quitosano hacen que fomente la migración celular. En resumen este material tiene cumple con todas las características que debe tener un material para fungir como andamiaje para la ingeniería de tejidos.

Capítulo VIII- Perspectivas

Un hallazgo de este proyecto el cual puede ser profundizado y explorado es la influencia de la humedad y la temperatura sobre el proceso del electrohilado. De manera empírica se encontró que la humedad relativa presentaba una gran influencia en ciertas soluciones y su capacidad de fluir dentro del sistema. De igual forma se encontró que la mayoría de la literatura no reporta estas condiciones. Debido a esto se requiere un estudio sobre la influencia de la humedad y las condiciones ambientales dentro del procedimiento.

Una vez evaluada la influencia de la humedad sobre la fabricación de las fibras se puede volver a hacer una optimización de las condiciones para encontrar otras mezclas PEO/Quitosano que presenten mejores propiedades mecánicas tales como una mayor resistencia a la tensión y una mayor resistencia a la disolución. Dentro de los parámetros que se pueden mejorar es buscar una orientación controlada para las fibras. De igual manera se pueden explorar con mayor profundidad los efectos de diferentes tipos de nanopartículas dentro del material.

Con respecto al material producido en este proyecto, la siguiente etapa para evaluar su potencial como andamio celular son las pruebas de viabilidad celular.

Bibliografía

- A. Formhals, "Process and apparatus for preparing artificial threads". Patente 1,975,504. (US1975504A) Emitida 10 de febrero, 1934.
- Afshari, M. (2016) "Electrospun nanofibers" Woodhead Publishing, 1st ed. Pp. 648
doi:10.1016/B978-0-08-100907-9.00001-5
- Akter, F. (2016). Principles of Tissue Engineering. Tissue Engineering Made Easy, 3–16. doi:10.1016/b978-0-12-805361-4.00002-3
- Berthiaume, F., Maguire, T. J., & Yarmush, M. L. (2011). Tissue Engineering and Regenerative Medicine: History, Progress, and Challenges. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 2(1), 403–430. doi:10.1146/annurev-chembioeng-061010-114257
- Bridge, J. C., Aylott, J. W., Brightling, C. E., Ghaemmaghami, A. M., Knox, A. J., Lewis, M. P., ... Morris, G. E. (2015). Adapting the Electrospinning Process to Provide Three Unique Environments for a Tri-layered In Vitro Model of the Airway Wall. *Journal of Visualized Experiments*, (101). doi:10.3791/52986
- Cai, Z., Mo, X., Zhang, K., Fan, L., Yin, A., He, C., & Wang, H. (2010). Fabrication of Chitosan/Silk Fibroin Composite Nanofibers for Wound-dressing Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(9), 3529–3539. doi:10.3390/ijms11093529
- Cansever Mutlu, E., Ficai, A., Ficai, D., Birinci Yildirim, A., Yildirim, M., Oktar, F. N., & Demir, A. (2018). Chitosan/poly(ethylene glycol)/hyaluronic acid biocompatible patches obtained by electrospaying. *Biomedical Materials*, 13(5), 055011. doi:10.1088/1748-605x/aad368
- Chan, B. P., & Leong, K. W. (2008). Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European Spine Journal*, 17(S4), 467–479. doi:10.1007/s00586-008-0745-3
- Chengjun, Zhoua, Qingwen Wangb, Qinglin Wu "UV-initiated crosslinking of electrospun poly(ethylene oxide) nanofibers with pentaerythritol triacrylate: Effect

- of irradiation time and incorporated cellulose nanocrystals” *Carbohydrate Polymers* 87 (2012) 1779– 1786 doi:10.1016/j.carbpol.2011.09.095
- Daikelly I. Braghirolli, Daniela Steffens, Patricia Pranke, “Electrospinning for regenerative medicine: a review of the main topics” *Drug Discovery Today* 19 (2014) 743-753 doi:10.1016/j.drudis.2014.03.024
- Dhawan, S & Dhawan, K & Varma, M & R Sinha, V. (2005). Applications of Poly(ethylene oxide) in Drug Delivery Systems Part II. *Pharm Technol.* 29.
- E. Kostakova, M. Seps, P. Pokorny, D. Lukas “Study of polycaprolactone wet electrospinning process” *eXPRESS Polymer Letters* Vol.8, No.8 (2014) 554–564 DOI: 10.3144/expresspolymlett.2014.59
- Elsabee, M. Z., Naguib, H. F., & Morsi, R. E. (2012). Chitosan based nanofibers, review. *Materials Science and Engineering: C*, 32(7), 1711–1726. doi:10.1016/j.msec.2012.05.009
- Francis Suh, J.-K., & Matthew, H. W. (2000). Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. *Biomaterials*, 21(24), 2589–2598. doi:10.1016/s0142-9612(00)00126-5
- Frantz, C., Stewart, K. M., & Weaver, V. M. (2010). The extracellular matrix at a glance. *Journal of Cell Science*, 123(24), 4195–4200. doi:10.1242/jcs.023820
- Geng, X., Kwon, O., & Jang, J. (2005). Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*, 26(27), 5427–5432. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.01.066
- Gorji, M., Bagherzadeh, R., & Fashandi, H. (2017). Electrospun nanofibers in protective clothing. *Electrospun Nanofibers*, 571–598 doi:10.1016/B978-0-08-100907-9.00018-0
- Guenet, J.-M. (2008). Poly ethylene oxide. *Polymer-Solvent Molecular Compounds*, 165–179. doi:10.1016/b978-008045144-2.50021-0

H. L. Ritter and L. C. Drake, "Pressure porosimeter and determination of complete macropore-size distributions. Pressure porosimeter and determination of complete macropore-size distributions," *Industrial and Engineering Chemistry Analytical Edition*, vol. 17, no. 12, pp. 782–786, 1945. Doi:10.1155/2012/327369

Haider, Sajjad & Alzeghayer, Yousef & Al-Masry, Waheed & Ali, Fekri. (2012). Fabrication of Chitosan Nanofibers Membrane with Improved Stability and Britility. *Advanced Science Letters*. 17. 217-223. doi:10.1166/asl.2012.3679.

He, F.-L., Li, D.-W., He, J., Liu, Y.-Y., Ahmad, F., Liu, Y.-L. Yin, D.-C. (2018). A novel layer-structured scaffold with large pore sizes suitable for 3D cell culture prepared by near-field electrospinning. *Materials Science and Engineering: C*, 86, 18–27. doi: 10.1016/j.msec.2017.12.016

Heineken, F. G., & Skalak, R. (1991). Tissue Engineering: A Brief Overview. *Journal of Biomechanical Engineering*, 113(2), 111. doi:10.1115/1.2891223

Hinderer, S., Layland, S. L., & Schenke-Layland, K. (2016). ECM and ECM-like materials — Biomaterials for applications in regenerative medicine and cancer therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 97, 260–269. doi:10.1016/j.addr.2015.11.019

Hosne Ara Begum, Md. Khalilur Rahman Khan, (2017) Study on the Various Types of Needle Based and Needleless Electrospinning System for Nanofiber Production *International Journal of Textile Science* 2017, 6(4): 110-117 doi:10.5923/j.textile.20170604.03

Hunley, M. T., & Long, T. E. Electrospinning functional nanoscale fibers: a perspective for the future. (2008). *Polymer International*, 57(3), 385–389. doi:10.1002/pi.2320

Ingber, D. E., Mow, V. C., Butler, D., Niklason, L., Huard, J., Mao, J., ... Vunjak-Novakovic, G. (2006). Tissue Engineering and Developmental Biology: Going Biomimetic. *Tissue Engineering*, 12(12), 3265–3283. doi:10.1089/ten.2006.12.3265

J.J. Feng "Stretching of a straight electrically charged viscoelastic jet" *J. Non-Newtonian Fluid Mech.* 116 (2003) 55–70 doi:10.1016/S0377-0257(03)00173-3

Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S. V., & Tamura, H. (2010). Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials—A short review. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 227–232. doi:10.1016/j.carbpol.2010.04.074

Kim, Ahn, E. H., Dvir, T., & Kim, D.-H. (2014). Emerging nanotechnology approaches in tissue engineering and regenerative medicine. *International Journal of Nanomedicine*, 1. doi:10.2147/ijn.s61212

Ko, J., Bhullar, S., Cho, Y., Lee, P. C., & Byung-Guk Jun, M. (2015). Design and fabrication of auxetic stretchable force sensor for hand rehabilitation. *Smart Materials and Structures*, 24(7), 075027. doi:10.1088/0964-1726/24/7/075027

Lee, S., & Obendorf, S. K. (2007). Transport properties of layered fabric systems based on electrospun nanofibers. *Fibers and Polymers*, 8(5), 501–506. doi: 10.1007/bf02875872

Li, L., & Hsieh, Y.-L. (2006). Chitosan bicomponent nanofibers and nanoporous fibers. *Carbohydrate Research*, 341(3), 374–381. doi:10.1016/j.carres.2005.11.028

Lin Weng, Jingwei Xie "Smart Electrospun Nanofibers for Controlled Drug Release: Recent Advances and New Perspectives" *Curr Pharm Des.* 2015 ; 21(15): 1944–1959 Doi: 10.2174/1381612821666150302151959

M. Bognitzki, W. Czado, T. Frese, A. Schaper, M. Hellwig, M. Steinhart, et al., Nanostructured fibers via electrospinning, *Adv. Mater.* 13 (1) (2001) 70–72. [https://doi.org/10.1002/1521-4095\(200101\)](https://doi.org/10.1002/1521-4095(200101))

Mescher AL. 2013 Junqueira's Basic Histology Text and Atlas. 13th ed. New York: McGraw-Hill;

Miguel, S.P. et al. "Electrospun polymeric nanofibres as wound dressings: A review" *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 169 (2018) 60–71 doi:10.1016/j.colsurfb.2018.05.011

- Min, L.-L., Zhong, L.-B., Zheng, Y.-M., Liu, Q., Yuan, Z.-H., & Yang, L.-M. (2016). Functionalized chitosan electrospun nanofiber for effective removal of trace arsenate from water. *Scientific Reports*, 6(1).doi:10.1038/srep32480
- Morsi, M & Abdelrazek, E & Abdelghany, Amr. (2016). Evaluation of optical parameters and structural variations of UV irradiated (PEO/PVP)/Au polymer nanocomposites. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 7. 1877-1890.
- Muzzarelli, R. A. A. (2009). Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. *Carbohydrate Polymers*, 76(2), 167–182. doi:10.1016/j.carbpol.2008.11.002
- Nandana Bhardwaj, Subhas C. Kundu “Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique” *Biotechnology Advances* 28 (2010) 325–347
- Naqvi, S. M. A., Soleimani, H., Yahya, N., & Irshad, K. (2014). Structural and optical properties of chromium doped zinc oxide nanoparticles synthesized by sol-gel method. doi:10.1063/1.4898517
- O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88–95. doi:10.1016/s1369-7021(11)70058-x
- Ohkawa, K., Cha, D., Kim, H., Nishida, A., & Yamamoto, H. (2004). Electrospinning of Chitosan. *Macromolecular Rapid Communications*, 25(18), 1600–1605. doi:10.1002/marc.200400253
- Ohkawa, K., Minato, K.-I., Kumagai, G., Hayashi, S., & Yamamoto, H. (2006). Chitosan Nanofiber. *Biomacromolecules*, 7(11), 3291–3294. doi:10.1021/bm0604395
- Park, W. H., Jeong, L., Yoo, D. I., & Hudson, S. (2004). Effect of chitosan on morphology and conformation of electrospun silk fibroin nanofibers. *Polymer*, 45(21), 7151–7157. doi:10.1016/j.polymer.2004.08.045

- Pham, Q. P., Sharma, U., & Mikos, A. G. (2006). Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review. *Tissue Engineering*, 12(5), 1197–1211. doi:10.1089/ten.2006.12.1197
- Pillay, V., Dott, C., Choonara, Y. E., Tyagi, C., Tomar, L., Kumar, P. Ndesendo, V. M. K. (2013). A Review of the Effect of Processing Variables on the Fabrication of Electrospun Nanofibers for Drug Delivery Applications. *Journal of Nanomaterials*, 2013, 1–22. doi:10.1155/2013/789289
- Popat, K. (2011). *Nanotechnology in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 1a edición CRC Press, Nueva York. ISBN 978-1-43-980141-3
- Qasim, S., Zafar, M., Najeeb, S., Khurshid, Z., Shah, A., Husain, S., & Rehman, I. (2018). Electrospinning of Chitosan-Based Solutions for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 407. doi:10.3390/ijms19020407
- Qin, X. (2017). Coaxial electrospinning of nanofibers. *Electrospun Nanofibers*, 41–71. doi:10.1016/b978-0-08-100907-9.00003-9
- Ramalingam Balamurugan, Subramanian Sundarrajan, and Seeram Ramakrishna “Recent Trends in Nanofibrous Membranes and Their Suitability for Air and Water Filtrations” *Membranes* 2011, 1, 232-248 doi:10.3390/membranes1030232
- Ratner, B., Hoffman, A. Schoen, F. Lemons, J. (2013) "Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine" 3a edición. Elsevier ISBN: 978-0-12-374626-9
- S. Brunauer, P. H. Emmett, and E. J. Teller, “Adsorption of gases in multimolecular layers,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 60, no. 2, pp. 309–319, 1938 DOI: 10.1021/ja01269a023
- Schiffman, J. D., & Schauer, C. L. (2007). Cross-Linking Chitosan Nanofibers. *Biomacromolecules*, 8(2), 594–601. doi:10.1021/bm060804s

Schiffman, J. D., & Schauer, C. L. (2008). A Review: Electrospinning of Biopolymer Nanofibers and their Applications. *Polymer Reviews*, 48(2), 317–352. Doi: 10.1080/15583720802022182

Shafiee, A., & Atala, A. (2017). Tissue Engineering: Toward a New Era of Medicine. *Annual Review of Medicine*, 68(1), 29–40. doi:10.1146/annurev-med-102715-092331

Shalumon, K. T., Binulal, N. S., Selvamurugan, N., Nair, S. V., Menon, D., Furuike, T., Jayakumar, R. (2009). Electrospinning of carboxymethyl chitin/poly(vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 863–869. doi:10.1016/j.carbpol.2009.03.009

Širc, J., Hobzová, R., Kostina, N., Munzarová, M., Juklíčková, M., Lhotka, M. Michálek, J. (2012). Morphological Characterization of Nanofibers: Methods and Application in Practice. *Journal of Nanomaterials*, 2012, 1–14. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/327369>

Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M, Mohamad, D. (2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219–242. Doi: 10.1007/s40820-015-0040-x

Subbiah, T., Bhat, G. S., Tock, R. W., Parameswaran, S., & Ramkumar, S. S. (2005). Electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 96(2), 557–569. doi:10.1002/app.21481

Subramanian, A., Vu, D., Larsen, G. F., & Lin, H.-Y. (2005). Preparation and evaluation of the electrospun chitosan/PEO fibers for potential applications in cartilage tissue engineering. *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, 16(7), 861–73. Doi: 10.1163/1568562054255682

Sun, D. Chang, C. Li, S. Liwei, Lin. “Near-Field Electrospinning” *Nano Letters* 6 (4) (2006) 839-842 doi: 10.1021/nl0602701

Sundarrajan, S., Tan, K. L., Lim, S. H., & Ramakrishna, S. (2014). Electrospun Nanofibers for Air Filtration Applications. *Procedia Engineering*, 75, 159–163. Doi: 10.1016/j.proeng.2013.11.034

Suresh L. Shenoya, W. Douglas Batesa, Harry L. Frischb, Gary E. Wnek “Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit” *Polymer* 46 (2005) 3372–3384 doi:10.1016/j.polymer.2005.03.011

Tayerani, E., Ghoreishi, S. M., Habibi, N., Pastorino, L., & Ruggiero, C. (2014). Electrospun chitosan nanofibers for tissue engineering. 14th IEEE International Conference on Nanotechnology. doi:10.1109/nano.2014.6968179

Toby D. Browna, Paul D. Daltona,b, Dietmar W. Hutmachera, “Melt electrospinning today: An opportune time for an emerging polymer process” *Progress in Polymer Science* 56 (2016) 116–166 doi:10.1016/j.progpolymsci.2016.01.001

Vogel, V. (2018). Unraveling the Mechanobiology of Extracellular Matrix. *Annual Review of Physiology*, 80(1), 353–387. doi:10.1146/annurev-physiol-021317-121312

Wei, Q., Tao, D., & Xu, Y. (2012). Nanofibers: principles and manufacture. *Functional Nanofibers and Their Applications*, 3–21. doi:10.1533/9780857095640.1.1

Wypych, G. (2016). PEO poly(ethylene oxide). *En Handbook of Polymers* (pp. 390–393). Elsevier. Doi: 10.1016/B978-1-895198-92-8.50120-8

Yue, B. (2014). Biology of the Extracellular Matrix. *Journal of Glaucoma*, 23, S20–S23. doi:10.1097/ijg.0000000000000108

Zeleny, J. (1914). “The Electrical Discharge from Liquid Points, and a Hydrostatic Method of Measuring the Electric Intensity at Their Surfaces.” *Physical Review*, 3(2), 69–91. Doi: 10.1103/PhysRev.3.69

Zhang, Lijie Grace; Fisher, John; Leong Kam. (2015) 3D Bioprinting and Nanotechnology in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. 1a edición, Academic Press. ISBN: 978-0-12-800547-7

Zhou, Q., Bao, M., Yuan, H., Zhao, S., Dong, W., & Zhang, Y. (2013). Implication of stable jet length in electrospinning for collecting well-aligned ultrafine PLLA fibers. *Polymer*, 54(25), 6867–6876. DOI: 10.1016/j.polymer.2013.10.042

Anexo A – Tabla de parámetros reportados en la literatura para la fabricación de fibras electrohiladas de Quitosano.

Autor	Quitosano	Composito	Aditivo	Proporción	Conc.	Solvente	Voltaje (kV)	Flujo (mL.h ⁻¹)	Distancia (cm)	Colector	Temp.	Humedad	Aguja
Bhattacharai et al, 2005	190,000 g mol ⁻¹	PEO 900,000 g mol ⁻¹	0.5% tritón X-100	40:60	5%	0.5M A.A.	20-25	NR	17-20	Rotor 2000 RPM	Ambiente	NR	0.5mm
Semnani et al 2016	1,000,000 g mol ⁻¹	PCL 80,000 g mol ⁻¹	0-10% DMF	30:70	10%	TFE	22	0.5	15	Placa	NR	NR	0.6mm
Haider et al 2018	Medio Peso	-	-	-	6%	TFA	21	0.1	NR	Placa	NR	NR	0.8mm
Mengistu Lemma et al 2016	120,000 g mol ⁻¹	PEO 1,000,000 g mol ⁻¹	-	60:40	5%	0.5N A.A	20	0.05	10	Placa	NR	NR	0.8mm
Ohkawa, K et al 2006	100,000 g mol ⁻¹	-	-	-	6%	TFA	15	NR	15	Placa	Ambiente	NR	NR
Min et al 2016	150,000 g mol ⁻¹	PEO 1,000,000 g mol ⁻¹	FeCl ₃ 3%	14:1	4%	50% A.A	16	0.9	15.5	Placa	50°C	Seco	0.8mm
Geng X. et al 2005	106,000 g mol ⁻¹	-	-	-	7%	90% A.A	40	1.2	10	Placa	NR	NR	0.58mm
Park W. et al 2004	220,000 g mol ⁻¹	Fibrina de Seda	-	60:40	3.60%	ácido Fórmico	16	1	8	Rodillo	NR	NR	0.495mm
Klossner, R et al 2008	148,000 g mol ⁻¹	PEO 900,000 g mol ⁻¹	-	50:50	2.50%	45% A.A	10.5	0.6	10	placa	NR	NR	0.9mm
Ohkawa, K et al 2004	210,000 g mol ⁻¹	PVA 88,000 g mol ⁻¹	-	50:50	7%	ácido Fórmico	15	NR	15	Placa	NR	NR	0.6mm
Li, L et al 2006	1,600,000 g mol ⁻¹	PVA 186,000 g mol ⁻¹	Dimetil sulfoxido	90:10	2.05%	2% A.A	18	NR	25	NR	NR	NR	0.4mm
Schiffman, J. D et al 2007	Bajo Peso	-	-	-	2.70%	TFA	26	1.2	6.4	placa	ambiente	ambiente	0.8mm
Chen, Z. G. et al 2010	1,000,000 g mol ⁻¹	Colágeno 100,000	-	90:10	8%	TFA	16	0.8	13	placa	ambiente	ambiente	0.495mm
Cai, Z et al 2010	Medio Peso	Fibrina de Seda	-	90:10	5%	HFIP	20	0.8	15	Placa	Ambiente	NR	0.21mm
Zhou, Y et al 2013	Medio Peso	PVA	-	40:60	2.50%	80°C Agua	25	NR	12	Placa	NR	NR	0.57mm

DMF- Dimetilformamida

TFA- Ácido Trifluoroacético

A.A- Ácido Acético

HFIP -1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol

TFE- Trifluoroetanol

NR No -reportado